



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0094183
(43) 공개일자 2020년08월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/543 (2006.01) G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/54393 (2013.01)
G01N 33/6854 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7018546
(22) 출원일자(국제) 2018년11월27일
심사청구일자 2020년06월26일
(85) 번역문제출일자 2020년06월26일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2018/082664
(87) 국제공개번호 WO 2019/105916
국제공개일자 2019년06월06일
(30) 우선권주장
17204316.8 2017년11월29일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
에프. 호프만-라 로슈 아게
스위스 체하-4070 바젤 그렌짜체스트라쎄 124
(72) 발명자
달 우베
독일 82377 펜츠베르크 노넨발트 2 로슈 디아그노
스틱스 게엠베하
요르단 그레고르
독일 82377 펜츠베르크 노넨발트 2 로슈 디아그노
스틱스 게엠베하
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

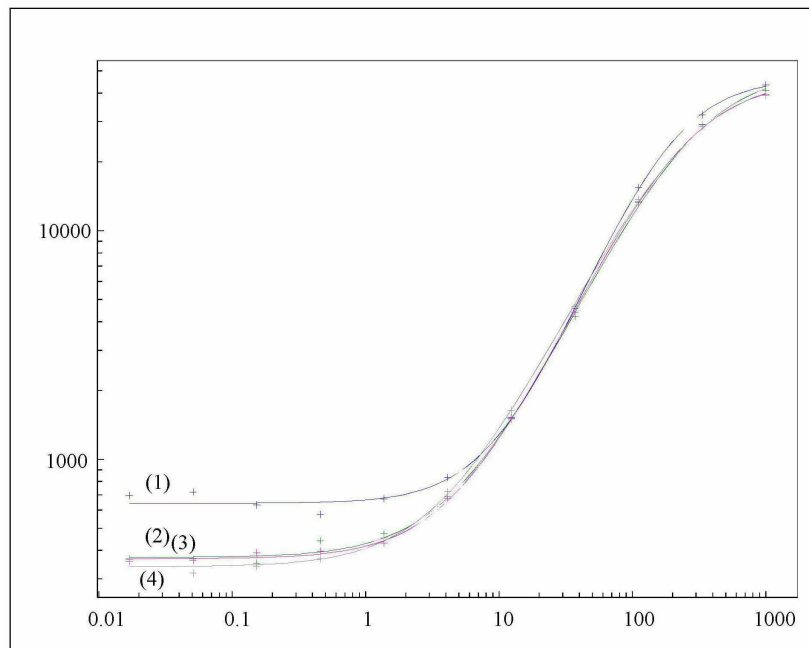
전체 청구항 수 : 총 31 항

(54) 발명의 명칭 표적 간섭이 억제된 항-약물 항체 분석

(57) 요약

혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 정량화하는 면역 분석이 본원에 보고되되, 상기 항-약물 항체는 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체는 치료 표적에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 면역 분석은, a) 혈청 또는 혈장 샘플을 대략 표적의 pI 값인 pH 값에서 항온처리하고, 임의적으로 항온처리 후에 형성 (뒷면에 계속)

대표도 - 도1



된 침전물을 제거하는 단계, b) 상기 단계 a)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 약 2의 pH 값에서 항온처리하고, 임의적으로 상기 항온처리한 샘플을 원심분리하여 형성된 침전물을 제거하는 단계, c) pH 값을 약 7.4로 조정하고, 결합쌍의 제1 구성원에 접합된 포획 항체 및 검출가능한 표지에 접합된 추적 항체를 상기 단계 b)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플에 첨가하고, 상기 혼합물을 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 형성하는 단계, 및 d) 상기 단계 c)에서 형성된 복합체를 정량화하여 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 정량화하는 단계를 포함한다.

(72) 발명자

스타크 볼란트

독일 82377 펜츠베르크 노넨발트 2 로슈 디아그노
스틱스 게엠베하

모헤이젠-차데 미리암

독일 82377 펜츠베르크 노넨발트 2 로슈 디아그노
스틱스 게엠베하

명세서

청구범위

청구항 1

표적 간섭이 감소된, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 정량화하는 면역 분석으로서,

상기 항-약물 항체가 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체가 치료 표적에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 면역 분석이

- 고정된 포획 항체를 약물, 표적 및 항-약물 항체를 포함하는 혈청 또는 혈장 샘플과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체 복합체를 형성하는 단계,
- 상기 단계 a)에서 형성된 복합체를, 대략 상기 표적의 pI 값인 pH 값을 갖는 당 및 세제를 포함하는 완충제로 세척하는 단계,
- 12 내지 24시간 동안 상기 단계 b)의 세척된 복합체를 표지에 접합된 추적 항체와 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체 복합체를 형성하는 단계, 및
- 상기 단계 c)에서 형성된 복합체의 표지를 측정함으로써 항-약물 항체의 양을 정량화하는 단계를 포함하는, 면역 분석.

청구항 2

제1항에 있어서,

추적 항체 및 포획 항체가 약물 항체인, 면역 분석.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

면역 분석이 포획 항체, 추적 항체 및 검출 항체를 포함하되, 상기 포획 항체가 결합쌍의 제1 구성원에 접합된 약물이고, 상기 추적 항체가 검출가능한 표지에 접합된 약물 항체이고, 상기 검출 항체가 효소에 접합된 검출가능한 표지에 특이적으로 결합하는 항체인, 면역 분석.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

포획 항체 및/또는 추적 항체가 서로 독립적으로 전장 약물 항체, F(ab')₂, Fab 및 scFv로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 분석.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

당이 모노사카라이드, 디사카라이드 또는 트라이사카라이드인, 면역 분석.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서,

당이 사카로스, 락토스, 말토스, 이소-말토스 및 트레할로스로 이루어진 디사카라이드의 군으로부터 선택되는, 면역 분석.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서,

당이 약 6.5 중량%의 농도를 갖는, 면역 분석.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서,
세제가 비-이온성 세제인, 면역 분석.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서,
세제가 폴리알킬렌 글리콜 에터(상표 Brij), 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노에스터(상표 Tween), 옥틸페놀 에톡시레이트(상표 Trion 또는 Nonident), 옥틸-베타-글리코시드, n-지방산-N-메틸-D-글루카미드(상표 MEGA) 및 N,N'-비스-(3-D-글루콘아미도프로필) 콜아미드(상표 CHAP)로 이루어진 세제의 군으로부터 선택되는, 면역 분석.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서,
항온처리가 14 내지 24시간 동안 수행되고, 한 실시양태에서 항온처리가 15 내지 17시간 동안 수행되는, 면역 분석.

청구항 11

제3항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,
결합쌍의 제1 구성원이 합텐, 항원 및 호르몬으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 분석.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서,
결합쌍이 비오틴/(스트렙트)아비딘, 테오피린/항-테오피린 항체, 5-브로모-데옥시-우리딘/항-5-브로모-데옥시-우리딘 항체, 디곡시제닌/항-디곡시제닌 항체 및 헬리카/항-헬리카 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 분석.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,
약물이 항-C5 항체이고, 표적이 인간 C5인, 면역 분석.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서,
당이 사카로스이고, 세제가 폴리에틸렌 글리콜 도데실 에터이고, 약물이 항-C5 항체이고, 표적이 인간 C5이고, 완충제가 약 5.5의 pH 값을 갖는, 면역 분석.

청구항 15

표적 간섭이 감소된, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 정량화하는 면역 분석으로서,
상기 항-약물 항체가 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체가 치료 표적에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 면역 분석이
a) 혈청 또는 혈장 샘플을 대략 표적의 pI 값인 pH 값에서 항온처리하고, 임의적으로 항온처리 후에 형성된 침전물을 제거하는 단계,
b) 상기 단계 a)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 약 2의 pH 값에서 항온처리하고, 임의적으로 상기 항온처리한 샘플을 원심분리하여 형성된 침전물을 제거하는 단계,
c) pH 값을 약 7.4로 조정하고, 결합쌍의 제1 구성원에 접합된 포획 항체 및 검출가능한 표지에 접합된 추적 항

체를 상기 단계 b)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플에 첨가하고, 상기 혼합물을 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 형성하는 단계, 및

d) 상기 단계 c)에서 형성된 복합체를 정량화하여 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 정량화하는 단계를 포함하는, 면역 분석.

청구항 16

제15항에 있어서,

포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 정량화하는 단계(단계 d)가

d1) 단계 c)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 고체 표면에 접합된 결합쌍의 제2 구성원과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 포획하고, 임의적으로 상기 표면을 세척하는 단계, 및

d2) 상기 단계 d1)에서 형성된 복합체의 검출가능한 표지를 측정하여 항-약물 항체의 양을 정량화하는 단계를 포함하는, 면역 분석.

청구항 17

제15항 또는 제16항에 있어서,

대략 표적의 pI 값에서의 항온처리가 상기 표적의 pI 값보다 0.5 pH 단위 낮은 값 내지 상기 표적의 pI 값보다 0.5 pH 단위 높은 값의 범위의 pH 값에서 수행되는, 면역 분석.

청구항 18

제15항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서,

단계 a)의 항온처리가 교반과 함께 수행되는, 면역 분석.

청구항 19

제15항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서,

단계 a)의 항온처리가 1.5 내지 2.5시간 동안 수행되는, 면역 분석.

청구항 20

제15항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서,

단계 b)의 항온처리가 약 5분 동안 수행되는, 면역 분석.

청구항 21

제15항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서,

단계 d)의 항온처리가 약 60분 동안 수행되는, 면역 분석.

청구항 22

제15항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서,

추적 항체 및 포획 항체가 약물 항체인, 면역 분석.

청구항 23

제15항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서,

면역 분석이 포획 항체, 추적 항체 및 검출 항체를 포함하되, 상기 포획 항체가 결합쌍의 제1 구성원에 접합된 약물이고, 상기 추적 항체가 검출가능한 표지에 접합된 약물 항체이고, 상기 검출 항체가 효소에 접합된 검출가능한 표지에 특이적으로 결합하는 항체인, 면역 분석.

청구항 24

제15항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서,

포획 항체 및/또는 추적 항체가 서로 독립적으로 전장 약물 항체, F(ab')₂, Fab 및 scFv로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 분석.

청구항 25

제15항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서,

결합쌍의 제1 구성원이 합텐, 항원 및 호르몬으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 분석.

청구항 26

제15항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서,

결합쌍이 비오틴/(스트렙트)아비딘, 테오피린/항-테오피린 항체, 5-브로모-데옥시-우리딘/항-5-브로모-데옥시-우리딘 항체, 디곡시제닌/항-디곡시제닌 항체 및 헬리카/항-헬리카 항체로 이루어진 군으로부터 선택되는, 면역 분석.

청구항 27

제15항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서,

약물이 항-C5 항체이고, 표적이 인간 C5이고, 한 실시양태에서 단계 a)의 pH 값이 pH 4.7 내지 pH 5.5 범위인, 면역 분석.

청구항 28

제15항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서,

혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 정량화하는 면역 분석으로서,

상기 항-약물 항체가 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체가 인간 C5에 특이적으로 결합할 수 있는 항-C5 항체이고, 상기 면역 분석이

- 혈청 또는 혈장 샘플을 4.7 내지 5.5 범위의 pH 값에서 1.5 내지 2.5시간 동안 항온처리하고, 임의적으로 상기 항온처리 후에 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- 상기 단계 a)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 약 2의 pH 값에서 약 5분 동안 항온처리한 후에, 임의적으로 상기 항온처리한 샘플을 원심분리하여 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- pH 값을 약 7.4로 조정하고, 비오틴에 접합된 포획 약물 항체 및 디곡시제닌에 접합된 추적 약물 항체를 상기 단계 b)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플에 첨가하고, 상기 혼합물을 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 형성하는 단계,
- 상기 단계 c)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 고체 표면에 접합된 (스트렙트)아비딘과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 포획하고, 임의적으로 상기 표면을 세척하는 단계, 및
- 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합된 항-디곡시제닌 항체와 함께 항온처리한 후에, HPPA 또는 TMB와 함께 항온처리하여 상기 단계 d)에서 형성된 복합체의 디곡시제닌을 측정하여 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체를 검출함으로써 항-약물 항체를 검출하는 단계(형성된 복합체와 샘플의 ADA의 양의 상관관계를 보여주는 단계)

를 포함하는, 면역 분석.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서,

샘플이, 샘플을 수득하기 전에 약물을 투여한, 약물에 의한 치료가 필요한 환자로부터 유래되는, 면역 분석.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서,
복합체가 비-공유결합 복합체인, 면역 분석.

청구항 31

제1항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서,

- a) 포획 항체를 고체 표면 상에 고정시키고, 임의적으로 상기 고정 단계 후에 상기 표면을 세척하여 미결합된 포획 항체 및 비-특이적으로 결합된 포획 항체를 제거하는 단계,
- b) 상기 단계 a)의 고정된 포획 항체를, 면역 분석의 검출 범위 내의 항-약물 항체 농도를 갖도록 임의적으로 희석된 혈청 또는 혈장 함유 샘플과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-복합체를 형성하고, 임의적으로 상기 항온처리 단계 후에 표면을 세척하여 미결합된 샘플 및 비-특이적으로 결합된 샘플을 제거하는 단계,
- c) 상기 단계 b)의 포획 항체-항-약물 항체-복합체를, 표지된 추적 항체와 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체 복합체를 형성하고, 임의적으로 상기 항온처리 단계 후에 표면을 세척하여 미결합된 추적 항체 및 비-특이적으로 결합된 추적 항체를 제거하는 단계,
- d) 상기 단계 c)의 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체 복합체를, 효소에 접합된 추적 항체의 표지에 특이적으로 결합하는 항체와 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-검출 항체 복합체를 형성하고, 임의적으로 상기 항온처리 단계 후에 표면을 세척하여 미결합된 검출 항체 및 비-특이적으로 결합된 검출 항체를 제거하는 단계,
- e) 상기 단계 d)의 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-검출 항체 복합체를, 기질 상에서 효소의 작용시 효소의 무색 기질이 유색 반응 생성물로 전환되는 효소의 무색 기질과 함께 항온처리하고, 사전 정의된 시간 후에 광학 밀도를 측정하는 단계, 및
- f) 상기 단계 e)에서 측정한 광학 밀도를 검량선과 상호연관시켜 샘플의 항-약물 항체의 양을 측정하는 단계를 포함하는 면역 분석.

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 본 발명은 항-약물 항체 분석의 분야에 속한다. 치료 약물의 표적으로부터의 간섭이 감소된 항-약물 항체 분석이 본원에 보고된다.

배경 기술

- [0002] 문헌[Moxness, M., et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. USA 1005 (2003) 265-268]은 인슐린 항체(IAB)의 전체 및 Ig 클래스의 방사리간드 결합 분석을 보고하였다. 시험 및 대조군 혈청을 먼저 산성화시켜 결합된 인슐린을 해리시키고, 숯을 첨가하여 혈청 인슐린을 흡착시켰다. 중화 후에, 숯 및 결합된 인슐린을 혈청으로부터 원심분리에 의해 제거하였다. 각각의 분석에서, 인슐린-추출된 혈청 샘플을 방사선 표지된 인슐린과 함께 고수준의 표지되지 않은 인슐린의 존재 및 부재 하에 항온처리하여 비-특이적 결합 및 전체 결합을 각각 측정하였다. 따라서, Moxness 등은 밤새 항온처리 및 산 해리를 비교한, 2개의 ADA 분석 프로토콜의 비교를 보고하였다.
- [0003] 문헌[Patton, A., et al., J. Immunol. Meth. 304 (2005) 189-195]은, 산 해리 단계와 조합으로, 공유결합으로 커플링된 고밀도 항원 표면을 사용하여 인간 혈청에서 항원의 존재 하에, 즉, 과량의 항원의 제거 없이 항체 검출을 가능하게 하는 가교(bridging) ELISA를 보고한다. 따라서, Patton 등은 과량의 항원이 치료 항체의 분석 전에 제거되지 않는 분석 프로토콜을 보고하였다. 상기 저자는 동일한 분석 절차로 산 전처리된 샘플을 전처리되지 않은 샘플과 비교한다.
- [0004] 문헌[Lee, J.W., et al., AAPS J. 13 (2011) 99-110]은 약물 개발을 뒷받침함에 있어서 생분석의 두드러진 추진 요인이 데이터의 의도된 용도임을 보고한다. 현재 사용되는 mAb 및 이의 항원 리간드(L)의 측량의 신뢰할만한 방법론은 효능 및 안전성 평가 및 투여량 선택의 지지에 있어서 노출-반응 관계의 평가에서 중요하다. 리간드-결합 분석(LBA)은 약동력학/약력학(PK/PD) 및 안전성 평가를 지지하는 단백질 생물치료제 및 항원 리간드(L)의 분석을 위해 널리 사용된다. 단클론 항체 약물(mAb), 특히 L에 비-공유결합으로 결합되는 단클론 항체

약물의 경우, 유리 mAb, 유리 L, 및 mAb 및 L의 일가 및/또는 이가 복합체를 포함하는 mAb 및 L의 다수의 형태가 생체내 존재할 수 있다. 투여 후 체내에서 발생하는 동적 결합 평형의 복잡성 및 생분석 동안 평형의 동요의 다수의 근원을 고려하면, 관심 형태(유리 mAb 및 L, 결합된 mAb 및 L, 및 전체 mAb 및 L)의 생체외 정량화는 생체내 실제의 것과 상이할 수 있음이 분명하다. LBA 시약 및 분석 포맷은 이론상으로 mAb 및 L의 전체 또는 유리 형태를 측정하도록 설계될 수 있다. 그러나, 명시된 조건 하에 측정되는 형태의 확인은 기술적으로 도전적일 수 있다.

- [0005] 문헌[Kelly, M., et al., AAPS J., 15 (2013) 646-658]은 최근 증가하는 주목을 받는 한 분야가 "유리" 및 "전체" 분석물의 평가 및 상기 평가에 대한 분석 포맷의 영향이라는 것을 보고한다. 상기 저자는 입수가 가능한 문헌의 중요한 리뷰를 제공하고, PK 분석 측량에 대한 항-약물 항체의 잠재적 영향을 경감시키는 방법을 향후 탐구한다. 또한, ADA(항-약물 항체) 분석에서 약물 내성을 증가시키는 방법이, 일반적으로 면역 복합체를 분해하고 약물을 추출하는 준비 단계를 수반하여, PK 분석에서 ADA 내성을 평가하거나 증가시키기 위해 다른 용도에 맞게 고쳐질 수 있다. 이러한 도전적인 조건의 이행이 후기 임상 생분석에서 통상적인 것으로 간주되지 않으나, 방법 개발의 조사 단계에서 초기에 가치있는 정보를 약동력학에 해석을 위해 제공할 수 있는 곳에 주목해야 한다. 궁극적으로, 약물의 정량화를 보조하는 데 사용되는 임의의 추출 공정이 "전체" 평가를 초대할 수 있다.
- [0006] 문헌[Davis, R.A., et al., J. Pharm. Biomed. Anal. 48 (2008) 897-901]은 포획/산 용리 포맷으로 단일 비-경쟁 MoAb를 사용하여 고수준의 치료적 MoAb의 존재 하에 전체(유리 + 결합된) 바이오마커 농도의 정량화 방법을 보고하였다. 이러한 분석은 200 μ /ml 이상의 치료적 MoAb의 존재 하에 순환하는 바이오마커 수준(ng/ml)를 정확히 검출하고 정량화하는 능력을 갖는다.
- [0007] 문헌[Salimi-Moosavi, H., et al., J. Pharm. Biomed. Anal. 51 (2010) 1128-1133]은 단백질 결합을 해리시키고 우선적으로 ThA를 변성시키는 알칼리 및 산/구아니딘 처리 접근법을 보고하였다. 중화된 항원 단백질은 ELISA에 의해 측정될 수 있다. 이들 방법은 ThA 간섭 없이 전체 항원 단백질의 재현가능한 측량을 제공한다. 항원 단백질 및 ThA를 함유하는 혈청 샘플, 기준물 및 QC를 카제인 또는 산/구아니딘 완충제(pH < 1)를 함유하는 알칼리성 완충제(pH > 13)로 처리하였다. 2개의 상이한 ThA 시스템의 전체 항원 단백질을 성공적으로 측정하였고, 간섭을 처리에 의해 완전히 제거하였다. 이들 방법은 전임상 혈청 샘플의 분석에 성공적으로 적용되었다.
- [0008] 문헌[Smith, H.W., et al., Regul. Toxicol. Pharmacol. 49 (2007) 230-237]은 ELISA 전에 산 해리에 의한 고상 추출(SPEAD) 샘플 처리를 사용하여 잔여 치료 단백질의 존재 하에 치료 단백질에 붙은 항체의 검출을 개시하였다.
- [0009] 고수준의 약물의 존재 하에 단클론 항체 치료제에 대한 항-약물 항체의 검출을 위한 친화도 포획 용리(ACE) 분석이 문헌[Bourdage, J.S., et al., J. Immunol. Meth. 327 (2007) 10-17]에 개시되어 있다.
- [0010] 문헌[Zoghbi, J., et al., J. Immunol. Meth. 426 (2015) 62-69]은 환자 샘플에서 약물의 존재 하에 전체 ADA(유리 ADA 및 약물 결합된 ADA)의 검출을 위한 4가지 요소를 포함하는, 면역원 분석에서 약물 및 표적 간섭 문제를 해결하는 약진적이고 새로운 방법을 개시하였다: (1) 과량의 약물을 사용하여 유리 ADA를 포화시켜 약물 결합된 ADA를 약물:ADA 복합체로서 형성한다, (2) 체제, 예컨대 PEG를 사용하여 복합체를 침전시킨다, (3) 산성 조건 하에 (중화 없이) ADA를 약물로부터 산 해리시키고 대용량 표면 상에 유리 ADA(및 유리 약물)를 고정(포획)시킨다, (4) 특이적 항-인간 Ig 검출 시약을 사용하여 유리 ADA(포획된 약물이 아님)를 검출한다.
- [0011] 고수준의 약물의 존재 하에 단클론 항체 치료제에 대한 항-약물 항체의 검출을 위한 친화도 포획 용리(ACE) 분석이 문헌[Bourdage, J.S., et al., J. Immunol. Meth. 327 (2007) 10-17]에 개시되어 있다.
- [0012] 현재 항-약물 항체(ADA) 분석 최전 기준은 형성된 복합체의 양면 상의 약물(이것이 검출됨)을 사용하는 가교 분석이다. 이는 ADA 동형 및 ADA 특이성을 검출하는 적절한 분석 포맷으로 보인다.
- [0013] 문헌[Collet-Brose, J., et al., J. Immunol. Res., Article ID 5069678 (2016)]은 가장 적절한 약물 및 표적 내성을 나타내는 항-약물 항체 분석을 선택하는 다수의 면역 분석 기술 플랫폼의 평가를 개시하였다. 이러한 연구의 목적은 분석 개발 단계에서 적절한 정도의 정확도에 의해 ADA 분석을 위해 가장 적절한 기술 플랫폼 및 샘플 전처리 절차를 선택하는 것이었다.
- [0014] WO 2008/031532는 인간 IgG에는 결합하지 않는 것을 특징으로 하는 시노물구스 IgG에 특이적으로 결합하는 항체, 및 이중 항원 가교 면역 분석을 사용한 원숭이 종의 샘플에서 약물 항체(DA) 및 상기 약물 항체에 붙은 항체(항-약물 항체, ADA)의 면역 복합체(DA/ADA 복합체)의 면역학적 측정 방법을 개시하였다. 여기서, 인간

IgG에 교차 결합하지 않는 특이적 항-시노물구스 원숭이 IgG가 사용되어, 이러한 분석은 인간 샘플을 분석하는데 사용될 수 없다. 또한, 가용성 치료 표적의 존재는 WO 2008/031532에 보고된 바와 같이 분석에서 위양성 신호를 야기하지 않을 것이다.

[0015] WO 2015/123315는 면역 복합체(약물 및 ADA)의 침전을 야기하는 침전 단계 후에, 복합체로부터 ADA의 방출을 야기하는 침전물의 산성화 및 측량가능한 복합체의 최종 설정을 위한 표면에 대한 ADA의 산성 흡착을 포함하는 항-약물 항체의 존재 또는 양의 검출을 위한 분석을 개시하였다.

[0016] 문헌[Llinares-Tello, F., et al., BMJ 73 (2014) THU0166]은 표준 ADA 분석에서 항-TNF 약물에 의한 처리에서 환자의 면역원 검출에 있어서 산 해리의 유용성을 개시하였다.

발명의 내용

[0017] 약물의 (치료) 표적에 의해 항-약물 항체의 차폐가 감소되거나 심지어 제거되는 항-약물 항체 분석이 본원에 보고된다.

[0018] 약물의 (치료) 표적의 간섭이 감소되거나 심지어 제거되는, 약물, 이의 표적 및 항-약물 항체를 포함하는 샘플에 특히 유용한 항-약물 항체 분석이 본원에 보고된다.

[0019] 본 발명은 적어도 부분적으로, 항-약물 항체의 검출 전에 표적의 pI 값 또는 산성 pH 값에서 수행되는 항온처리 단계가 항-약물 항체 (검출) 분석에서 혈청 또는 혈장 샘플에 존재하는 치료 항체(약물)의 표적으로부터 간섭을 감소시키는 데 사용될 수 있다는 발견을 기반으로 한다. 본 발명에 따른 분석은, 치료 약물의 표적이 응집하는 경향이 있어 비-특이적 결합을 초래하는 경우, 및/또는 표적이 이가/다가여서 분석에서 위양성 신호를 일반적으로 야기하는 경우 특히 유용하다.

[0020] 본 발명은 적어도 부분적으로, 면역 분석에서 분석할 샘플에 존재하는 약물(치료 항체)의 가용성 (치료) 표적의 간섭이 분석 절차에서 2개 이상의 산 해리 단계를 사용함으로써 감소되거나 심지어 제거될 수 있다는 발견을 기반으로 한다.

[0021] 본 발명은 적어도 부분적으로, 가용성 (치료) 표적의 침전/응집 특성이 ADA 및 약물의 존재 하에 사용되어 면역 분석에서 가용성 (치료) 표적의 간섭을 감소시킬 수 있다는 발견을 기반으로 한다. 일반적으로 사용되는 낮은 pH 값으로의 산성화는 높은 (백그라운드) 신호를 초래하여 감도 손실을 야기한다(예를 들어 도 18 참조). 가용성 표적 불활성화 단계를 개선하고/표적 간섭을 감소시키기 위해, 분석 절차에 면역 복합체의 침전을 포함시키는 것이 필요하지 않다는 것이 밝혀졌다. 면역 분석의 분석 감도의 개선/가용성 (치료) 표적 간섭의 감소가 침전물의 임의의 분리 및/또는 재현탁 없이 산성화 및 중화에 의해 달성될 수 있다는 것이 밝혀졌다.

[0022] 본 발명은 적어도 부분적으로, 산 처리 단계가 가용성 표적을 (예를 들어 이의 등전점에서/근처에서) 제거, 즉, 침전시키는 데 사용될 수 있다는 발견을 기반으로 한다. 상기 산 처리 단계를 사용하여 샘플의 가용성 (치료) 표적을 제거하고 면역 분석에서 표적 간섭을 감소시키는 것은 본 발명에 따른 방법을 일반적으로 적용가능하게 만든다. 이러한 이론에 구속되지 않고, 가용성 (치료) 표적이 상이한 개체에서 비슷한 양으로 존재하는 것으로 추정될 수 있기 때문에 본 발명에 따른 방법이 미공지된 면역 반응을 사용하는 임상 샘플의 분석에 보다 적합한 것으로 추정된다.

[0023] 본 발명은 적어도 부분적으로, 가용성 표적의 pI에서의 항온처리가 면역 분석의 수행의 개선을 위해, 예를 들어 표적 간섭의 감소 또는 분석 감도의 개선에 있어서 유리하다는 발견을 기반으로 한다.

[0024] 본 발명에 따른 한 양태는, 하기 단계를 (하기 순서로) 포함하는, 표적 간섭이 감소된, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 면역 분석이다(여기서, 상기 항-약물 항체는 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체는 치료 표적에 특이적으로 결합할 수 있다):

[0025] a) 고정된 포획 항체를 약물, 표적 및 항-약물 항체를 포함하는 혈청 또는 혈장 샘플과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체 복합체를 형성하는 단계,

[0026] b) 상기 단계 a)에서 형성된 복합체를, 대략 상기 표적의 pI 값인 pH 값을 갖는 당 및 세제를 포함하는 완충제로 세척하는 단계,

[0027] c) 상기 단계 b)의 세척된 복합체를 (검출가능한) 표지에 접합된 추적 항체와 함께 12 내지 24시간 동안 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체 복합체를 형성하는 단계, (및)

- [0028] d) 상기 단계 c)에서 형성된 복합체에서 (검출가능한) 표지를 측정함으로써 항-약물 항체를 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계.
- [0029] 한 실시양태에서, 약물은 항체(약물 항체)이다.
- [0030] 한 실시양태에서, 추적 항체 및 포획 항체는 약물 항체이다.
- [0031] 한 실시양태에서, 면역 분석은 포획 항체, 추적 항체 및 검출 항체를 포함하되, 상기 포획 항체는 결합쌍의 제1 구성원에 접합된 약물이고, 상기 추적 항체는 검출가능한 표지에 접합된 약물 항체이고, 효소에 추가로 접합되는 검출가능한 표지에 특이적으로 결합하는 항체이다.
- [0032] 한 실시양태에서, 포획 항체 및/또는 추적 항체는 서로 독립적으로 전장 약물 항체, 및 약물 항체의 F(ab')₂, Fab 및 scFv로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 포획 항체 및 추적 항체는 각각 전장 약물 항체, 약물 항체의 F(ab')₂ 또는 약물 항체의 Fab이다.
- [0033] 한 실시양태에서, 당은 모노사카라이드, 디사카라이드 또는 트라이사카라이드이다. 한 실시양태에서, 당은 디사카라이드이다. 한 실시양태에서, 당은 사카로스, 락토스, 말토스, 이소-말토스 및 트레할로스로 이루어진 디사카라이드의 군으로부터 선택된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 당은 사카로스이다.
- [0034] 한 실시양태에서, 당은 약 6.5 중량%의 농도를 갖는다.
- [0035] 한 실시양태에서, 당은 약 6.5 중량% 농도의 사카로스이다.
- [0036] 한 실시양태에서, 세제는 비-이온성 세제이다. 한 실시양태에서, 세제는 폴리알킬렌 글리콜 에터(상표 Brij), 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노에스터(상표 Tween), 옥틸페놀 에톡시레이트(상표 Trion 또는 Nonident), 옥틸-베타-글리코시드, n-지방산-N-메틸-D-글루카미드(상표 MEGA) 및 N,N'-비스-(3-D-글루콘아미도프로필) 콜라미드(상표 CHAP)로 이루어진 세제의 군으로부터 선택된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 세제는 폴리에틸렌 글리콜 도데실 에터이다.
- [0037] 한 실시양태에서, 당은 사카로스이고, 세제는 폴리에틸렌 글리콜 도데실 에터이다.
- [0038] 한 실시양태에서, 항온처리는 14 내지 20시간 동안 수행된다. 한 실시양태에서, 항온처리는 15 내지 17시간 동안 수행된다. 한 실시양태에서, 항온처리는 약 16시간 동안 수행된다.
- [0039] 한 실시양태에서, 당은 사카로스이고, 세제는 폴리에틸렌 글리콜 도데실 에터이고, 항온처리는 15 내지 17시간 동안 수행된다.
- [0040] 한 실시양태에서, 결합쌍의 제1 구성원은 합텐, 항원 및 호르몬으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 결합쌍은 항원/항체 쌍 또는 합텐/항-합텐 항체 쌍이다.
- [0041] 한 실시양태에서, 결합쌍은 비오틴/(스트렙트)아비딘, 테오필린/항-테오필린 항체, 5-브로모-데옥시-우리딘/항-5-브로모-데옥시-우리딘 항체, 디곡시제닌/항-디곡시제닌 항체 및 헬리카/항-헬리카 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 결합쌍은 비오틴 및 (스트렙트)아비딘이다.
- [0042] 한 실시양태에서, 약물은 항-C5 항체이고, 표적은 인간 C5이다.
- [0043] 한 실시양태에서, 당은 사카로스이고, 세제는 폴리에틸렌 글리콜 도데실 에터이고, 약물은 항-C5 항체이고, 표적은 인간 C5이다.
- [0044] 한 실시양태에서, 당은 사카로스이고, 세제는 폴리에틸렌 글리콜 도데실 에터이고, 약물은 항-C5 항체이고, 표적은 인간 C5이고, 완충제는 약 5.5 또는 약 5.0의 pH 값을 갖는다.
- [0045] 한 실시양태에서, 샘플은 인간 샘플(인간 혈청 또는 혈장 샘플)이다.
- [0046] 본원에 보고된 한 양태는, 하기 단계를 포함하는, 표적 간섭이 감소된, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 면역 분석이다(여기서, 상기 항-약물 항체는 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체는 치료 표적에 특이적으로 결합할 수 있다):
- [0047] a) 혈청 또는 혈장 샘플을 대략 표적의 pI 값인 pH 값에서 항온처리하고, 임의적으로 항온처리 후에 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- [0048] b) 상기 단계 a)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 약 2의 pH 값에서 항온처리하고, 임의적으로 상기 항온처리

한 샘플을 원심분리하여 형성된 침전물을 제거하는 단계,

- [0049] c) pH 값을 약 7.4로 조정하고, 결합쌍의 제1 구성원에 접합된 포획 항체 및 검출가능한 표지에 접합된 추적 항체를 상기 단계 b)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플에 첨가하고, 상기 혼합물을 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 형성하는 단계, (및)
- [0050] d) 상기 단계 c)에서 형성된 복합체를 측정하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하여 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계.
- [0051] 한 실시양태에서, 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 측정하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계(단계 d))는 하기 단계를 포함한다:
- [0052] d1) 단계 c)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 고체 표면에 접합된 결합쌍의 제2 구성원과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 포획하고, 임의적으로 상기 표면을 세척하는 단계,
- [0053] d2) 상기 단계 d1)에서 형성된 복합체의 검출가능한 표지를 측정하여 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 결정하고/하거나 정량화하는 단계.
- [0054] 한 실시양태에서, 대략 표적의 pI 값에서의 항온처리가 상기 표적의 pI 값보다 0.5 pH 단위 낮은 값 내지 상기 표적의 pI 값보다 0.5 pH 단위 높은 값의 범위의 pH 값에서 수행된다.
- [0055] 한 실시양태에서, 단계 a)의 항온처리는 교반과 함께 수행된다.
- [0056] 한 실시양태에서, 단계 a)의 항온처리는 1.5 내지 2.5시간 동안 수행된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 단계 a)의 항온처리는 약 2시간 동안 수행된다.
- [0057] 한 실시양태에서, 단계 b)의 항온처리는 약 5분 동안 수행된다.
- [0058] 한 실시양태에서, 단계 d)의 항온처리는 약 60분 동안 수행된다.
- [0059] 한 실시양태에서, 추적 항체 및 포획 항체는 약물 항체이다.
- [0060] 한 실시양태에서, 면역 분석은 포획 항체, 추적 항체 및 검출 항체를 포함하되, 상기 포획 항체는 결합쌍의 제1 구성원에 접합된 약물이고, 상기 추적 항체는 검출가능한 표지에 접합된 약물 항체이고, 효소에 접합된 상기 검출 항체는 검출가능한 표지에 특이적으로 결합하는 항체이다.
- [0061] 한 실시양태에서, 포획 항체 및/또는 추적 항체는 서로 독립적으로 전장 약물 항체, 및 약물 항체의 F(ab')₂, Fab 및 scFv로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 포획 항체 및 추적 항체는 각각 전장 약물 항체, 약물 항체의 F(ab')₂ 또는 약물 항체의 Fab이다.
- [0062] 한 실시양태에서, 결합쌍의 제1 구성원은 합텐, 항원 및 호르몬으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 결합쌍은 항원/항체 쌍 또는 합텐/항-합텐 항체 쌍이다.
- [0063] 한 실시양태에서, 결합쌍은 비오틴/(스트렙트)아비딘, 테오피린/항-테오피린 항체, 5-브로모-데옥시-우리딘/항-5-브로모-데옥시-우리딘 항체, 디곡시제닌/항-디곡시제닌 항체 및 헬리카/항-헬리카 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 결합쌍은 비오틴 및 (스트렙트)아비딘이다.
- [0064] 한 실시양태에서, 약물은 항-C5 항체이고, 표적은 인간 C5이다. 한 실시양태에서, 단계 a)의 pH 값은 pH 4.7 내지 pH 5.5 범위이다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 단계 a)의 pH 값은 약 pH 5.0 또는 약 pH 5.5이다.
- [0065] 한 실시양태에서, 표적 간섭이 감소된, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 면역 분석은 하기 단계를 포함한다(여기서, 상기 항-약물 항체는 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체는 인간 C5에 특이적으로 결합할 수 있는 항-C5 항체이다):
- [0066] a) 혈청 또는 혈장 샘플을 4.7 내지 5.5 범위의 pH 값에서 1.5 내지 2.5시간 동안 항온처리하고, 임의적으로 상기 항온처리 후에 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- [0067] b) 상기 단계 a)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 약 2의 pH 값에서 약 5분 동안 항온처리한 후에, 임의적으로 상기 항온처리한 샘플을 원심분리하여 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- [0068] c) pH 값을 약 7.4로 조정하고, 비오틴에 접합된 포획 약물 항체 및 디곡시제닌에 접합된 추적 약물 항체를 상기 단계 b)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플에 첨가하고, 상기 혼합물을 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-

추적 항체-복합체를 형성하는 단계,

- [0069] d) 상기 단계 c)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 고체 표면에 접합된 (스트랩트)아비딘과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 포획하고, 임의적으로 상기 표면을 세척하는 단계, (및)
- [0070] e) 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합된 항-디곡시제닌 항체와 함께 항온처리한 후에, HPPA 또는 TMB와 함께 항온처리하여 상기 단계 d)에서 형성된 디곡시제닌을 측정하여 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화함으로써 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계(형성된 복합체를 샘플의 ADA의 양과 상관관계를 보여주는 단계).
- [0071] 모든 양태의 한 실시양태에서, 샘플은 동물로부터 기원한다. 한 실시양태에서, 동물은 인간 및 실험 동물로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 샘플은, 샘플을 수득하기 전에 약물을 투여받은 동물로부터 기원한다. 한 실시양태에서, 샘플은, 샘플을 수득하기 전에 약물을 투여 받은, 약물에 의한 치료가 필요한 환자로부터 기원한다. 어떤 경우에도, 본원에 보고된 방법이 샘플에 의해 수행된 후에 샘플은 생물에 재적용되지 않는다.
- [0072] 모든 양태의 한 실시양태에서, 샘플은 인간 샘플(인간 혈청 또는 혈장 샘플)이다.
- [0073] 모든 양태의 한 실시양태에서, 복합체는 비-공유결합 복합체이다.
- [0074] 일반적으로, 면역 분석은 하기 단계를 포함한다:
- [0075] a) 포획 항체를 고체 표면 상에 고정시키고, 임의적으로 상기 고정 단계 후에 상기 표면을 세척하여 미결합된 포획 항체 및 비-특이적으로 결합된 포획 항체를 제거하는 단계,
- [0076] b) 상기 단계 a)의 고정된 포획 항체를, 면역 분석의 검출 범위 내의 항-약물 항체 농도를 갖도록 임의적으로 희석된 혈청 또는 혈장 함유 샘플과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-복합체를 형성하고, 임의적으로 상기 항온처리 단계 후에 표면을 세척하여 미결합된 샘플 및 비-특이적으로 결합된 샘플을 제거하는 단계,
- [0077] c) 상기 단계 b)의 포획 항체-항-약물 항체-복합체를, 표지된 추적 항체와 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체 복합체를 형성하고, 임의적으로 상기 항온처리 단계 후에 표면을 세척하여 미결합된 추적 항체 및 비-특이적으로 결합된 추적 항체를 제거하는 단계,
- [0078] d) 상기 단계 c)의 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체 복합체를, 효소에 접합된 추적 항체의 표지에 특이적으로 결합하는 항체와 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-검출 항체 복합체를 형성하고, 임의적으로 상기 항온처리 단계 후에 표면을 세척하여 미결합된 검출 항체 및 비-특이적으로 결합된 검출 항체를 제거하는 단계,
- [0079] e) 상기 단계 d)의 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-검출 항체 복합체를, 기질 상에서 효소의 작용시 효소의 무색 기질이 유색 반응 생성물로 전환되는 효소의 무색 기질과 함께 항온처리하고, 사전 정의된 시간 후에 광학 밀도를 측정하는 단계, (및)
- [0080] f) 상기 단계 e)에서 측정된 광학 밀도를 검량선과 상호연관시켜 샘플의 항-약물 항체의 양을 측정하는 단계.
- [0081] 시험관내 또는 생체내 기관의 샘플의 치료 항체(약물 또는 간략히 D) 및 상기 치료 항체에 붙은 각각의 항체(항-약물 항체 또는 또는 간략히 ADA)의 분석을 위해, 각각의 분석이 필요하다.
- [0082] ADA는 이의 항원(시험관내 및 생체내), 즉, 치료 항체/약물에 결합하고, 유리 ADA와 유리 약물 사이의 평형, 뿐만 아니라 모노- 및 다이-복합체화된 약물(이가 단일특이적 약물을 나타냄)이 형성된다. 이러한 평형은 동적 평형이다, 즉, 이러한 평형에 가담하는 하나의 요소의 농도 변화가 이러한 평형에 가담하는 모든 다른 요소의 농도를 변화시킨다.
- [0083] 유리 ADA, 즉, 결합하지 않은 ADA의 분율이 생체내 결합에 대한 약물의 유용성 및 ADA의 항원, 즉, 약물에 대한 ADA의 결합 능력과 연관성을 나타내는 반면에, 전체 ADA의 측정은 ADA와 약물 사이의 상호 작용을 특성규명하는데 사용될 수 있다.
- [0084] 약물의 전체 약동학 평가를 위해, 예를 들어 전신 순환에 있어서 유리, 즉, 약물-결합 역량이 있거나 약물과의 복합체로 존재하는 ADA 농도의 이해가 중요하다. 유리 ADA는 잠재적 바이오마커로서 평가될 수 있다.
- [0085] 샘플의 ADA 측정을 위한 분석은 약물의 항원이 샘플에 존재하는 경우 간접 당할 수 있다. 약동학 평가를 위해, 약물에 결합할 수 있거나 결합한 ADA 분율이 중요하다.

- [0086] 용어 "치료 항체" 및 "약물"은 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 상기 용어는 가장 넓은 의미로 사용되며, 비제한적으로 단클론 항체, 다클론 항체, 다중특이적 항체(예를 들어 이중특이적 항체) 및 항체 단편(목적하는 항원-결합 활성을 나타내는 경우)을 포함하는 다양한 항체 구조물을 포괄한다.
- [0087] 특정 실시양태에서, 약물은 단일특이적 항체이다. 한 실시양태에서, 약물은 단일특이적 이가 항체이다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 약물은 단클론 단일특이적 이가 항체이다.
- [0088] 특정 실시양태에서, 약물은 다중특이적 항체, 예를 들어 이중특이적 항체이다. 다중특이적 항체는 2개 이상의 상이한 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 단클론 항체이다. 특정 실시양태에서, 결합 특이성 중 하나는 제1 항원에 대한 것이고, 나머지 하나는 상이한 제2 항원에 대한 것이다. 특정 실시양태에서, 이중특이적 항체는 동일한 항원의 2개의 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이적 항체는 전장 항체 또는 항체 단편으로서 생산될 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 제1 및 제2 항원에 결합하는 이중특이적 항체이다. 한 실시양태에서, 이중특이적 항체는 i) 제1 항원, 또는 항원 상의 제1 에피토프에 특이적으로 결합하는 제1 결합 특이성, 및 ii) 제2 항원, 또는 (동일한) 항원 상의 제2 에피토프에 특이적으로 결합하는 제2 결합 특이성을 갖는다. 한 실시양태에서, 동일한 항원 상의 제2 에피토프는 중첩하지 않는 에피토프이다. 한 실시양태에서, 항체는 이중특이적 이가 항체이다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 항체는 단클론 이중특이적 이가 항체이다.
- [0089] 다중특이적 항체는 WO 2009/080251, WO 2009/080252, WO 2009/080253, WO 2009/080254, WO 2010/112193, WO 2010/115589, WO 2010/136172, WO 2010/145792 또는 WO 2010/145793에 기재되어 있다.
- [0090] 용어 "항-C5 항체" 및 "C5에 (특이적으로) 결합하는 항체"는 충분한 친화도에 의해 C5에 결합하는 항체를 지칭하며, 상기 항체는 C5를 표적화하는 진단제 및/또는 치료제로서 유용하다. 한 실시양태에서, 관련되지 않은 비-C5 단백질에 대한 항-C5 항체의 결합의 정도는 C5에 대한 상기 항체의 결합의 약 10% 이하이다. 특정 실시양태에서, 항-C5 항체는 상이한 종의 C5 중에서 보존된 C5의 에피토프에 결합한다. 하나의 바람직한 실시양태에서, C5는 인간 C5이다.
- [0091] 본원에 사용된 용어 "C5"는 포유동물, 예컨대 영장류(예를 들어 인간 및 원숭이) 및 설치류(예를 들어 마우스 및 래트)를 포함하는 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연 C5를 포괄한다. 달리 지시되지 않는 한, 용어 "C5"는 서열번호 30에 나타난 아미노산 서열을 갖고 서열번호 31에 나타난 베타쇄 서열을 함유하는 인간 C5 단백질을 지칭한다. 상기 용어는 "전장"의 처리되지 않은 C5, 및 세포에서의 처리로부터 야기된 임의의 형태의 C5를 포괄한다. 또한, 상기 용어는 C5의 자연 발생 변이체, 예를 들어 스플라이스 변이체 또는 대립형질 변이체를 포괄한다. 예시적 인간 C5의 아미노산 서열은 서열번호 30("야생형" 또는 "wt" C5)에 나타나 있다. 인간 C5의 예시적 베타쇄의 아미노산 서열은 서열번호 31에 나타나 있다. 인간 C5의 베타쇄의 예시적 MG1, MG2 및 MG1-MG2 도메인의 아미노산 서열은 각각 서열번호 32, 33 및 34에 나타나 있다. 예시적 시노물구스 원숭이 및 뮈린 C5의 아미노산 서열은 각각 서열번호 35 및 96에 나타나 있다. 서열번호 30, 31, 34, 35 및 96의 아미노산 잔기 1 내지 19는 세포에서의 처리 동안 제거되어 해당하는 예시적 아미노산 서열로부터 누락되는 신호 서열에 해당한다.
- [0092] 본원에 사용된 용어 "단클론 항체"는 실질적으로 균질한 항체의 집단(즉, 자연 발생 돌연변이를 함유하거나 단클론 항체 제제의 생산 동안 발생하는 가능한 변이체 항체를 제외하고(이러한 변이체는 일반적으로부수적인 양으로 존재한다) 상기 집단을 구성하는 개별적 항체는 동일하고/하거나 동일한 에피토프에 결합한다)으로부터 수득한 항체를 지칭한다. 전형적으로 상이한 결정인자(에피토프)를 지향하는 상이한 항체를 포함하는 다클론 항체 제제와 대조적으로, 단클론 항체 제제의 각각의 단클론 항체는 항원 상의 단일 결정 인자를 지향한다. 따라서, 수식어 "단클론"은 실질적으로 균질한 항체의 집단으로부터 수득된 항체의 특성을 나타내고, 임의의 특정 방법에 의해 항체의 생산이 필요한 것으로 해석되지는 않는다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 단클론 항체는 비제한적으로 하이브리도마 방법, 재조합 DNA 방법, 파지-디스플레이 방법, 및 인간 면역 글로불린 유전자좌의 전부 또는 일부를 함유하는 형질전환된 동물을 사용하는 방법을 포함하는 다양한 기술에 의해 제조될 수 있고, 상기 방법 및 기타 예시적인 단클론 항체의 제조 방법이 본원에 기재된다.
- [0093] 상이한 면역 분석의 원리가 예를 들어 문헌[Hage, D.S., Anal. Chem. 71 (1999) 294R-304R]에 기재되어 있다. 문헌[Lu, B., et al., Analyst 121 (1996) 29R-32R]은 면역 분석에서 사용하기 위한 항체의 배향된 고정을 보고한다. 아비딘-비오틴-매개된 면역 분석은 예를 들어 문헌[Wilchek, M., and Bayer, E.A., Methods Enzymol. 184 (1990) 467-469]에 보고되어 있다.
- [0094] 단클론 항체 및 이의 불변 도메인은 결합쌍의 구성원, 예컨대 폴리펩티드/단백질, 중합체(예를 들어 PEG, 셀룰

로스 또는 폴리스티올) 또는 효소를 접합시키기 위한 많은 반응성 아미노산 측쇄를 함유한다. 아미노산의 화학적 반응성 기는 예를 들어 아미노 기(리신, 알파-아미노 기), 티올 기(시스틴, 시스테인 및 메티오닌), 카복시산 기(아스파르트산, 글루탐산) 및 당-알코올성 기이다. 이러한 방법은 예를 들어 문헌[Aslam M., and Dent, A., "Bioconjugation", MacMillan Ref. Ltd. 1999, pages 50-100]에 기재되어 있다.

[0095] 항체의 가장 통상적인 반응성 기 중 하나는 지방족 ϵ -아민인 아미노산 리신이다. 일반적으로, 거의 모든 항체는 풍부한 리신을 함유한다. 리신 아민은 pH 8.0 초과($pK_a = 9.18$)에서 타당하게 양호한 친핵체이고, 따라서 다양한 시약과 용이하고 깔끔하게 반응하여 안정한 결합을 형성한다. 아민-반응성 시약은 주로 리신 및 단백질의 α -아미노 기와 반응한다. 반응성 에스터, 특히 N-하이드록시-석신이미드(NHS) 에스터는 아민 기의 변형을 위해 가장 통상적으로 사용되는 시약이다. 수성 환경에서의 반응에 최적인 pH는 pH 8.0 내지 9.0이다. 이소티오시아네이트는 아민-변형 시약이고 단백질과의 티오우레아 결합을 형성한다. 이는 수용액(pH 9.0 내지 9.5에서 최적)에서 단백질 아민과 반응한다. 알데하이드는 온화한 수성 조건 하에 지방족 및 방향족 아민, 하이드라진 및 하이드라지드와 반응하여 이민 중간체(시프(Schiff) 염기)를 형성한다. 시프 염기는 약한 또는 강한 환원제(예컨대 나트륨 보로하이드라이드 또는 나트륨 시아노보로하이드라이드)에 의해 선택적으로 환원되어 안정한 알킬 아민 결합을 유도할 수 있다. 아민을 변형하는 데 사용되는 다른 시약은 산 무수물이다. 예를 들어, 다이에틸렌트라이아민펜타아미노산 무수물(DTPA)은 2개의 아민-반응성 무수물 기를 함유하는 이작용성 킬레이트화제이다. 이는 아미노산의 N-말단의 ϵ -아민 기와 반응하여 아마이드 결합을 형성할 수 있다. 무수물 고리는 개환되어 배위 착체에서 금속과 단단히 결합할 수 있는 다가의 금속-킬레이팅 아암(arm)을 형성한다.

[0096] 항체의 또 다른 통상적 반응성 기는 황 함유 아미노산 시스틴 및 이의 환원 생성물 시스테인(또는 하프 시스틴)의 티올 잔기이다. 시스테인은, 아민보다 친핵성이고 일반적으로 단백질에서 가장 반응성 작용기인 유리 티올 기를 함유한다. 티올은 일반적으로 중성 pH에서 반응성이고, 따라서 아민의 존재 하에 선택적으로 다른 분자에 커플링할 수 있다. 유리 설피하이드릴 기는 비교적 반응성이기 때문에, 이들 기를 갖는 단백질은 흔히 이들 기를 다이설피아이드 기 또는 다이설피아이드 결합으로서 이들 기의 산화된 형태로 갖는다. 이러한 단백질에서, 시약, 예컨대 다이티오프레이톨(DTT)에 의한 다이설피아이드 결합의 환원이 반응성 유리 티올을 생성하는 데 필요하다. 티올-반응성 시약은 폴리펩티드 상의 티올 기에 커플링하여 티오에터-커플링된 생성물을 형성하는 것이다. 이들 시약은 약간 산성 내지 중성 pH에서 신속히 반응하고, 따라서 아민 기의 존재 하에 선택적으로 반응할 수 있다. 문헌은, 다수의 설피하이드릴 기를 반응성 아미노 기를 통해 도입하는 효율적인 방법을 제공하는, 여러 티올화 가교결합 시약, 예컨대 트라우트(Traut) 시약(2-이미노티올란), 석신이미드(아세틸티오) 아세테이트(SATA) 및 설포석신이미드 6-[3-(2-피리딜다이티오) 프로피온아미도] 헥사노에이트(Sulfo-LC-SPDP)의 사용을 보고한다. 할로아세틸 유도체, 예를 들어 요오도아세틸아미드는 티오에터 결합을 형성하고, 또한 티올 변형을 위한 시약이다. 추가로 유용한 시약은 말레이미드이다. 말레이미드와 티올-반응성 시약의 반응은 요오도아세틸아미드와의 반응과 본질적으로 동일하다. 말레이미드는 약간 산성 내지 중성 pH에서 신속히 반응한다.

[0097] 항체의 또 다른 통상적인 반응성 기는 카복시산이다. 항체는 C-말단 위치에 및 아스파르트산 및 글루탐산의 측쇄 내에 카복시산 기를 함유한다. 수중 카복시산의 비교적 낮은 반응성은, 선택적으로 폴리펩티드 및 항체를 변형시키는 데 이들 기를 사용하는 것을 어렵게 만든다. 이것이 완료될 때, 카복시산 기는 일반적으로 수용성 카보다이이미드의 사용에 의해 반응성 에스터로 전환되고 친핵성 시약, 예컨대 아민, 하이드라지드 또는 하이드라진과 반응한다. 아민 함유 시약은 보다 고도로 염기성인 ϵ -아민인 리신의 존재 하에 활성화된 카복시산과 선택적으로 반응하여 안정한 아마이드 결합을 형성하기 위해 약하게 염기성이어야 한다. 단백질 가교결합은 pH가 8.0 초과로 상승할 때 발생할 수 있다.

[0098] 과옥소산 나트륨은 항체에 부착된 탄수화물 잔기 내의 당의 알코올 부분을 알데하이드로 산화시키는 데 사용될 수 있다. 각각의 알데하이드 기는 카복시산에 대해 기재된 바와 같이 아민, 하이드라지드 또는 하이드라진과 반응할 수 있다. 탄수화물 잔기가 항체의 결정화가능한 단편 영역(Fc-영역) 상에 대개 발견되기 때문에, 접합은 항원-결합 부위를 떠나 탄수화물의 위치-지향성 변형을 통해 달성될 수 있다. 시프 염기 중간체가 형성되고, 이는 나트륨 시아노보로하이드라이드(약한 또는 선택적) 또는 나트륨 보로하이드라이드(강한) 수용성 환원제에 의한 중간체의 환원을 통해 알킬 아민으로 환원될 수 있다.

[0099] 접합 파트너에 대한 추적 및/또는 포획 및/또는 검출 항체의 접합은 상이한 방법, 예컨대 화학 결합 또는 결합 쌍을 통한 결합에 의해 수행될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "접합 파트너"는 예를 들어 고체 지지체, 폴리펩티드, 검출가능한 표지, 결합쌍의 구성원을 나타낸다. 한 실시양태에서, 접합 파트너에 대한 포획 및/또는 추적 및/또는 검출 항체의 접합은 N-말단 및/또는 ϵ -아미노 기(리신), 상이한 리신의 ϵ -아미노 기, 항체의 아미노산 주쇄의 카복시-, 설피하이드릴-, 하이드록시 및/또는 페놀성 작용기, 및/또는 항체의 탄수화물 구조의 당

알코올 기를 통한 화학 결합에 의해 수행된다. 한 실시양태에서, 포획 항체는 이의 접합 파트너에 결합쌍을 통해 접합된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 포획 항체는 비오틴에 접합되고, 고체 지지체에 대한 고정은 고체 지지체 고정된 아비딘 또는 스트렙타비딘을 통해 수행된다. 한 실시양태에서, 포획 항체는 이의 접합 파트너에 결합쌍을 통해 접합된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 추적 항체는 디콕시제닌에 공유결합에 의해 검출가능한 표지로서 접합된다.

[0100] 용어 "샘플"은 비제한적으로 살아있는 것 또는 과거에 살아있던 것으로부터의 임의의 수량의 물질을 포함한다. 이러한 샘플은 비제한적으로 인간, 마우스, 원숭이, 래트, 토끼 및 기타 동물을 포함한다. 한 실시양태에서, 샘플은 원숭이, 특히 시노몰구스 원숭이, 토끼, 마우스, 래트 또는 인간로부터 수득된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 샘플은 인간 샘플이다. 이러한 물질은 비제한적으로 한 실시양태에서 개체로부터의 전혈, 혈장 또는 혈청을 포함하고, 이는 임상 루틴에서 가장 널리 사용되는 샘플의 공급원이다.

[0101] 용어 "고상"은 비-유체 물질을 나타내고, 물질, 예컨대 중합체, 금속(상자성, 강자성 입자), 유리 및 세라믹으로부터 제조된 입자(마이크로 입자 및 비드 포함); 겔 물질, 예컨대 실리카, 알루미늄 및 중합체 겔; 중합체, 금속, 유리 및/또는 세라믹으로 제조될 수 있는 모세관; 제올라이트 및 기타 다공성 물질; 전극; 마이크로타이터 플레이트; 고체 스트립; 및 큐벳, 튜브 또는 기타 분광계 샘플 용기를 포함한다. 고상 성분은, "고상"이 이의 표면 상에 샘플에서 물질과 상호작용하도록 의도된 하나 이상의 모이어티를 함유한다는 점에서 불활성 고체 표면과 구별된다. 고상은 정지 성분, 예컨대 튜브, 스트립, 큐벳 또는 마이크로타이터 플레이트일 수 있거나, 비-정지 성분, 예컨대 비드 및 마이크로 입자일 수 있다. 단백질 및 기타 물질의 비-공유결합 또는 공유결합 부착을 허용하는 다양한 마이크로 입자가 사용될 수 있다. 이러한 입자는 중합체 입자, 예컨대 폴리스티렌 및 폴리(메틸메타크릴레이트); 금 입자, 예컨대 금 나노 입자 및 금 콜로이드; 및 세라믹 입자, 예컨대 실리카, 유리 및 금속 산화물 입자를 포함한다. 예를 들어, 문헌[Martin, C.R., et al., Analytical Chemistry-News & Features, 70 (1998) 322A-327A] 또는 [Butler, J.E., Methods 22 (2000) 4-23]을 참조한다.

[0102] 크로모젠(형광 또는 발광 기 및 염료), 효소, NMR-활성기 또는 금속 입자, 합텐, 예를 들어 디콕시제닌이 "검출가능한 표지"의 예이다. 또한, 검출가능한 표지는 광 활성화 가교결합 기, 예를 들어 아지도 또는 아지린 기일 수 있다. 또한, 전자화학 발광에 의해 검출될 수 있는 금속 킬레이트가 바람직한 신호-방출 기이며, 루테튬 킬레이트, 예를 들어 루테튬 (비스피리디드)₃²⁺ 킬레이트가 특히 바람직하다. 적합한 루테튬 표지 기는 예를 들어 EP 0 580 979, WO 90/05301, WO 90/11511 및 WO 92/14138에 기재되어 있다. 직접 검출을 위해, 표지 기는 임의의 공지된 검출가능한 마커 기, 예컨대 염료, 발광 표지 기, 예컨대 화학 발광 기, 예를 들어 아크리디늄 에스터 또는 다이옥세탄, 또는 형광 염료, 예를 들어 플루오레세인, 쿠마린, 로다민, 옥사진, 레조루핀, 시아닌 및 이들의 유도체로부터 선택될 수 있다. 표지 기의 다른 예는 발광 금속 착체, 예컨대 루테튬 또는 유로퓸 착체, 효소, 예를 들어 ELISA 또는 CEDIA(클로닝된 효소 공여자 면역 분석, 예를 들어 EP-A-0 061 888)에 사용되는 효소, 및 방사성 동위원소이다.

[0103] 간접 검출 시스템은 예를 들어 검출 시약, 예를 들어 검출 항체가 결합쌍의 제1 파트너에 의해 표지되는 것을 포함한다. 적합한 결합쌍의 예는 항원/항체, 비오틴 또는 비오틴 유사체, 예컨대 아미노비오틴, 이미노비오틴 또는 데스티오비오틴/아비딘 또는 스트렙타비딘, 당/렉틴, 핵산 또는 핵산 유사체/상보적 핵산, 및 수용체/리간드, 예를 들어 스테로이드 호르몬 수용체/스테로이드 호르몬이다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 제1 결합쌍 구성원은 합텐, 항원 및 호르몬을 포함한다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 합텐은 디콕신, 디콕시제닌, 비오틴 및 이들의 유사체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 이러한 결합쌍의 제2 파트너, 예를 들어 항체, 스트렙타비딘 등은 일반적으로 직접 검출을 위해 예를 들어 상기에 언급된 표지에 의해 표지된다.

[0104] 용어 "면역 분석"은 특이적으로 결합하는 분자, 예컨대 항체를 사용하여 정성 또는 정량 분석을 위한 특이적 표적을 포획하고/하거나 검출하는 임의의 기술을 나타낸다. 일반적으로, 면역 분석은 하기 단계를 특징으로 한다: 1) 분석물의 고정 또는 포획, 및 2) 분석물의 검출 및 측량. 분석물을, 임의의 고체 표면, 예컨대 막, 플라스틱 플레이트 또는 몇몇 다른 고체 표면 상에 포획, 즉, 결합시킬 수 있다.

[0105] 면역 분석은 일반적으로 3개의 상이한 포맷으로 수행될 수 있다. 하나는 직접 검출에 의한 것이고, 하나는 간접 검출에 의한 것이고, 하나는 샌드위치 분석에 의한 것이다. 직접 검출 면역 분석은 직접 측량될 수 있는 검출 (또는 추적) 항체를 사용한다. 효소 또는 기타 분자가, 신호를 시각화하거나 측량할 수 있도록 하는 색, 형광 또는 발광을 생성하는 신호의 생성을 가능하게 한다(방사성 동위원소가 오늘날 통상적으로 사용되지는 않으나 사용될 수 있다). 간접 분석에서는, 분석물에 결합하는 일차 항체가 일차 항체에 의해 제공되는 표적에 특이적으로 결합하는 이차 항체(추적 항체)(탐지 또는 추적 항체로도 지칭됨)에 대해 정의된 표적을 제공하는 데

사용된다. 이차 항체는 측량가능한 신호를 생성한다. 샌드위치 분석은 2개의 항체, 포획 및 추적 (탐지) 항체를 사용한다. 포획 항체는 용액으로부터 분석물을 결합(고정)시키거나 용액 중의 분석물에 결합하는 데 사용된다. 이는 분석물이 샘플로부터 특이적으로 제거되는 것을 가능하게 한다. 추적 (탐지) 항체는 (상기에 기재된 바와 같이 직접적으로 또는 간접적으로) 신호를 생성하는 제2 단계에 사용된다. 샌드위치 포맷은 각각 표적 분자 상의 별개의 에피토프를 갖는 2개의 항체를 필요로 한다. 또한, 이는 둘 모두의 항체가 동시에 표적에 결합되어야 하기 때문에 서로 간섭하지 않아야 한다.

[0106] **본 발명에 따른 방법의 실시양태**

[0107] ADA 분석의 약물 간섭은 일반적으로 공지된 현상이나, ADA 분석의 약물의 표적의 간섭은 아니다.

[0108] 일반적으로, 산 해리 후에, 중화 단계는 산 또는 염기 해리에 뒤따라 결합 파트너가 가교하는 것을 허용하여 문제를 유지하면서 용액에서 재결합될 경우에도 새로 간섭 인자를 야기한다.

[0109] 많은 접근법, 예컨대 산 또는 염기 해리, 특이적 항체를 사용하는 간섭의 경쟁적 억제, 간섭 인자의 제거, 산 해리에 의한 고상 추출(SPEAD), 친화성 포획 용리(ACE) 및 그외 다수가 이러한 문제를 경감시키는 데 사용되었다. 가교 분석에서 산 해리의 사용은 ADA의 검출에서 약물 내성의 몇몇 개선을 나타냈다(예를 들어 문헌 [Moxness, M., et al., Clin. Chem. 51 (10), 1983]; [Patton, A., et al., J. Immunol. Methods 304 (2005) 189] 참조).

[0110] 표적 분자 또는 면역 복합체의 PEG 침전은 크기(또는 분자량, MW)을 기초로 하고 PEG 농도에 의존적이다. PEG 농도가 높을수록, 침전할 MW 목표가 낮아진다. 비-특이적 혈청 단백질, 예컨대 알부민 및 면역 글로불린의 침전을 감소시키기 위해, 저농도의 PEG가 사용되어 큰 MW 약물:ADA 면역 복합체를 침전시키는 데 사용된다. 산성 조건 하에(결합 파트너가 재결합하는 것을 방지함) 산 해리 및 고용량 표면 상의 포획과 결합된 침전 원리를 사용하는 것은 특이적 검출 시약을 사용하여 ADA 또는 약물 또는 약물 표적의 특이적 검출을 가능하게 한다.

[0111] 산 해리가, 약물-ADA-복합체를 분열시켜 ADA를 상기 면역 복합체로부터 방출시키는 데 통상적으로 사용된다. 방출된 (유리) ADA는 후속 단계에서 검출 항체와의 복합체를 형성할 수 있다. 산 해리 단계는 종래의 ADA 분석 (산 해리 단계 없음)과 비교하여 전체 분석 시간을 단축시킬 수 있다. 일반적으로, 주안점은 비슷한 감도이다.

[0112] 일반적으로, 표준 ADA 분석은, 잔여 약물의 존재 하에 ADA와 시약 사이의 새로운 평형을 형성하기 위한 긴 항온 처리 시간의 단점을 갖는다. 짧은 항온처리 시간이 적용되는 경우, 단지 낮은 약물 내성이 수득될 수 있다(=잔여 약물의 존재 하에 낮은 감도).

[0113] 측량가능한 복합체의 형성은 시간이 걸리며 시약에 대한 ADA의 결합 속도 상수에 좌우된다. 표준 ADA 분석을 위해, 면역 복합체의 해리 속도 상수는 시간 제한 단계이다. 이러한 이유로, 보다 긴 항온처리 시간(통상적으로 밤새)이 샘플 및 시약의 항온처리에 적용된다.

[0114] 따라서, 산 해리는 대개 복합체 해리 절차이다.

[0115] 본 발명에 따른 한 양태는 하기 단계를 포함하는, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 면역 분석이다(여기서, 상기 항-약물 항체는 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체는 치료 표적에 특이적으로 결합할 수 있다):

[0116] a) 고정된 포획 항체를 약물, 표적 및 항-약물 항체를 포함하는 혈청 또는 혈장 샘플과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체 복합체를 형성하는 단계,

[0117] b) 상기 단계 a)에서 형성된 복합체를, 대략 상기 표적의 pI 값인 pH 값을 갖는 당 및 세제를 포함하는 완충제로 세척하는 단계,

[0118] c) 상기 단계 b)의 세척된 복합체를 표지된 추적 항체와 함께 12 내지 24시간 동안 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체 복합체를 형성하는 단계, (및)

[0119] d) 상기 단계 c)에서 형성된 복합체의 검출가능한 표지를 측정함으로써 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계.

[0120] 한 실시양태에서, 당은 사카로스이고, 세제는 폴리에틸렌 글리콜 도데실 에터이고, 약물은 항-C5 항체이고, 표적은 인간 C5이고, 완충제는 약 5.5의 pH 값을 갖는다.

[0121] 본 발명에 따른 한 양태는 하기 단계를 포함하는, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나

측정하고/하거나 정량화하는 면역 분석이다(여기서, 상기 항-약물 항체는 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 약물 항체는 치료 표적에 특이적으로 결합할 수 있다):

- [0122] a) 혈청 또는 혈장 샘플을 대략 표적의 pI 값인 pH 값에서 항온처리하고, 임의적으로 항온처리 후에 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- [0123] b) 상기 단계 a)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 약 2의 pH 값에서 항온처리하고, 임의적으로 상기 항온처리한 샘플을 원심분리하여 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- [0124] c) pH 값을 약 7.4로 조정하고, 결합쌍의 제1 구성원에 접합된 포획 항체 및 검출가능한 표지에 접합된 추적 항체를 상기 단계 b)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플에 첨가하고, 상기 혼합물을 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 형성하는 단계, (및)
- [0125] d) 상기 단계 c)에서 형성된 복합체를 측정하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하여 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계.
- [0126] 한 실시양태에서, 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 측정하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계(단계 d)는 하기 단계를 포함한다:
- [0127] d1) 단계 c)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 고체 표면에 접합된 결합쌍의 제2 구성원과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 포획하고, 임의적으로 상기 표면을 세척하는 단계, (및)
- [0128] d2) 상기 단계 d1)에서 형성된 복합체의 검출가능한 표지를 측정하여 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계.
- [0129] 한 실시양태에서, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 면역 분석(여기서, 상기 항-약물 항체는 약물 항체에 특이적으로 결합할 수 있고, 약물 항체는 인간 C5에 특이적으로 결합할 수 있는 항-C5 항체이다)은 하기 단계를 포함한다:
- [0130] a) 혈청 또는 혈장 샘플을 4.7 내지 5.5 범위의 pH 값에서 1.5 내지 2.5시간 동안 항온처리하고, 임의적으로 상기 항온처리 후에 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- [0131] b) 상기 단계 a)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 약 2의 pH 값에서 약 5분 동안 항온처리한 후에, 임의적으로 상기 항온처리한 샘플을 원심분리하여 형성된 침전물을 제거하는 단계,
- [0132] c) pH 값을 약 7.4로 조정하고, 비오틴에 접합된 포획 약물 항체 및 디곡시제닌에 접합된 추적 약물 항체를 상기 단계 b)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플에 첨가하고, 상기 혼합물을 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 형성하는 단계,
- [0133] d) 상기 단계 c)에서 수득한 혈청 또는 혈장 샘플을 고체 표면에 접합된 (스트렙트)아비딘과 함께 항온처리하여 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체-복합체를 포획하고, 임의적으로 상기 표면을 세척하는 단계, (및)
- [0134] e) 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합된 항-디곡시제닌 항체와 함께 항온처리한 후에, HPPA 또는 TMB와 함께 항온처리하여 상기 단계 d)에서 형성된 복합체의 디곡시제닌을 측정하여 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화함으로써 항-약물 항체의 양을 검출하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하는 단계.
- [0135] 본원에 보고된 분석은 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체의 측량 및/또는 측정 및/또는 정량화에 있어서 치료 약물의 표적의 간섭을 해결한다.
- [0136] 일반적으로, 혈청 또는 혈장 샘플의 항-약물 항체(ADA)의 측정 및/또는 측량 및/또는 정량화에 있어서 약물로부터의 간섭이 해결되어야 한다. 따라서, 방안은 항-약물 항체에 대한 높은 특이적 감도일 수 있고, 이는 유리 항-약물 항체를 향하는 샘플의 평형에 영향을 미치거나 샘플 전처리에 의해 ADA-약물 복합체를 해리시키거나 ADA-약물 복합체를 검출하거나 ADA를 풍부하게 한다.
- [0137] 그러나, 샘플에서 약물의 표적의 간섭은 해결되지 않는다.
- [0138] 본원에 보고된 면역 분석은 치료 항-C5 항체를 사용하여 하기에 예시된다. 이는 단지 본원에 보고된 면역 분석의 예시로서 제시되며 본 발명의 제한으로서 해석되어서는 안된다.
- [0139] 인간 C5는 약 70 $\mu\text{g/ml}$ (약 368 nM)의 혈청 농도를 갖는다.

[0140] 상이한 샘플 희석(1:100, 1:1000), 상이한 포획 항체 및 추적 항체 농도(각각 500 ng/ml, 각각 1000 ng/ml, 각각 1500 ng/ml, 각각 2000 ng/ml), 상이한 퍼옥시다제 농도(1000 ng/ml 포획 및 추적 항체 농도에서 5 mU, 10 mU, 25 mU, 50 mU)를 평가하였다(도 1 및 2 참조). 모든 실험에서, 시약에 의한 샘플 항온처리를 밤새 수행하였다.

[0141] 본 발명은 적어도 부분적으로, 포획 항체 및 추적 항체 농도가 500 ng/ml 이상이어야 하고, 1500 ng/ml 이상인 경우 추가적 신호 이득이 달성될 수 없다는 발견을 기반으로 한다.

[0142] 그러나, 꽤 높은 백그라운드가 존재한다.

[0143] 1%(v/v) 인간 혈청의 존재 하에 비-특이적 결합을 관찰할 수 있었다. BSA에 의한 플레이트의 차단은 비-특이적 결합의 문제를 해결하지 않았다.

BSA 부재:

	Bi/Dig 컷-오프 (cut-off)	Bi/Dig 개체	-/- 완충제		Bi/- 컷-오프와 비교한		-/Dig neg./pos.		Bi/Dig HPS 컷-오프	
HPS	1631	2199	66	58	78	78	417	757	4061	4070
		2198	83	83	68	72	108	126	1286	1302
		2201	54	60	58	53	74	63	644	669
		2195	59	58	53	51	98	88	3612	3763
완충제	84	2205	55	75	62	56	89	90	3591	3650
		2202	53	54	72	51	283	289	5054	5200
		2194	575	568	302	281	966	1053	7336	7444
		2196	129	178	97	119	144	159	1336	1379

BSA 존재:

	Bi/Dig 컷-오프	Bi/Dig 개체	-/- 완충제		Bi/- 컷-오프와 비교한		-/Dig neg./pos.		Bi/Dig HPS 컷-오프	
HPS	1690	2199	63	64	75	59	542	709	4024	3997
		2198	89	96	73	85	112	129	1294	1286
		2201	55	51	51	51	61	66	653	663
		2195	60	54	47	56	79	91	3589	3660
완충제	71	2205	51	52	52	52	77	83	3621	3621
		2202	64	54	59	60	271	265	5175	5192
		2194	640	620	318	317	1060	1060	7549	7522
		2196	152	157	100	110	152	178	1370	1380

[0144]

[0145] Bi/Dig 시약의 부재 하에도 높은 신호가 획득되었음을 알 수 있다(열 "-/-"). 다른 것들에 비해, 더 많이 검출 시약의 비-특이적 결합이 관찰되었다(열 "-/Dig").

[0146] 세제(Brij 35)의 첨가에 의해, 비-특이적 결합의 감소가 관찰되었다("-/-", "Bi/-" 및 "-/Dig" 열 참조). 세제의 부재 하에, 컷-포인트(cut-point, CP)는 10240(약 2562 ng/ml)("Bi/Dig" 열 참조)인 반면에, 세제의 존재 하에 CP는 4708(약 817 ng/ml)("Bi/Dig" 열 참조)이었다. 그러나, 개체의 변동 계수(CV)는 높다.

세제 부재:

	Bi/Dig	Bi/Dig	-/-		Bi/-		-/Dig		Bi/Dig	
	컷-오프	개체	완충제		컷-오프와 비교한		neg./pos.		HPS	
HPS	1471	2199	195	198	98	86	992	1113	7045	6993
		2198	167	179	66	62	185	209	1359	1388
		2201	192	157	83	86	189	181	714	749
		2195	256	184	63	63	355	393	4841	4805
완충제	216	2205	201	192	66	65	370	317	4431	4489
		2202	153	172	78	86	620	584	6959	7110
		2194	152	180	78	82	687	807	10557	10249
		2196	230	243	81	89	241	197	1410	1219

세제 존재:

	Bi/Dig	Bi/Dig	-/-		Bi/-		-/Dig		Bi/Dig	
	컷-오프	개체	완충제		컷-오프와 비교한		neg./pos.		HPS	
HPS	1044	2199	66	65	65	71	160	167	3026	2975
		2198	53	53	51	56	63	75	828	862
		2201	63	55	58	54	63	66	470	489
		2195	55	54	53	55	103	100	2456	2515
완충제	144	2205	54	53	52	54	94	99	2452	2431
		2202	53	56	57	54	123	169	3498	3598
		2194	55	58	58	55	173	145	4690	4648
		2196	64	69	54	67	72	81	856	882

[0147]

[0148]

검출 효소에 대한 기질의 교환은 신호 대 잡음(S/N) 비를 감소시킬 수 있다.

세제 및 HPPA(3-(4-하이드록시페닐)프로피온산)의 존재:

	Bi/Dig	Bi/Dig	-/-		Bi/-		-/Dig		Bi/Dig	
	컷-오프	개체	완충제		컷-오프와 비교한		neg./pos.		HPS	
HPS	1044	2199	66	65	65	71	160	167	3026	2975
		2198	53	53	51	56	63	75	828	862
		2201	63	55	58	54	63	66	470	489
		2195	55	54	53	55	103	100	2456	2515
완충제	144	2205	54	53	52	54	94	99	2452	2431
		2202	53	56	57	54	123	169	3498	3598
		2194	55	58	58	55	173	145	4690	4648
		2196	64	69	54	67	72	81	856	882

세제 및 TMB(3,3',5,5'-테트라메틸-벤지딘)의 존재:

	Bi/Dig		Bi/Dig		-/-		Bi/-		-/Dig		Bi/Dig	
50000	2.136	2.138	0.046	0.049	0.030	0.031	0.033	0.033	0.036	0.037	0.124	0.122
17857	1.126	1.119	0.043	0.047	0.029	0.029	0.029	0.029	0.032	0.031	0.048	0.050
6378	0.546	0.538	0.046	0.049	0.032	0.031	0.030	0.030	0.033	0.033	0.042	0.041
2278	0.313	0.310	0.045	0.048	0.028	0.030	0.030	0.029	0.033	0.033	0.100	0.099
813	0.162	0.162	0.029	0.033	0.028	0.028	0.029	0.027	0.033	0.032	0.092	0.092
291	0.084	0.092	0.029	0.033	0.029	0.030	0.030	0.026	0.035	0.035	0.127	0.127
104	0.068	0.060	0.028	0.032	0.028	0.029	0.030	0.028	0.034	0.035	0.154	0.158
블랭크	0.050	0.050	0.030	0.033	0.030	0.031	0.031	0.029	0.033	0.032	0.050	0.049

[0149]

[0150]

HPPA의 사용시 컷-포인트(CP)는 4708(약 817 ng/ml)인 반면에, TMB의 사용시 CP는 0.162(약 845 ng/ml)였다.

	HPPA	S/N	TMB	S/N
	폴 블랭크		폴 블랭크	
HPS	1389	7.8	0.044	1.9
완충제	178		0.023	

[0151]

[0152]

장기간 항온처리(밤새 항온처리)를 피하기 위해, 산 해리 단계를 도입하였다. 방법은 pH 2에서 30-분 항온처리 후에, pH 7.4로의 pH 조절, 비오틴일화된 포획 항체 및 디곡시제닐화된 추적 항체의 첨가 및 1-시간 항온처리를

포함한다.

- [0153] 8개의 개별 샘플을 기반으로, 9%의 변동 계수와 함께 4410 형광 단위의 평균 값을 측정하였다. 컷-포인트는 5059 형광 단위(1915 ng/ml)였다. 따라서, 산 해리 단계의 도입은 감도의 개선을 야기하지 않았다.
- [0154] 혈장 또는 혈청의 존재는 분석 특성을 유의미하게 변화시키지 않았다. 인간 및 NHP 혈청은 유사한 분석 결과를 제공한다(도 3 참조).
- [0155] 말 및 토끼 혈청은 완충제와 유사한 결과를 제공한다. 말 및 토끼 C5는 교차 반응성이 아니다. C5 결핍된 인간 혈청의 블랭크 신호는 완충제와 비슷하고, 희석물 4에 의한 신호는 인간 풀 혈청보다 낮다(도 4 참조).
- [0156] 분석 성능은 샘플에서 말 혈청 및 말 C5 함량의 증가에 의해 손상되었다(도 5 참조).
- [0157] 마찬가지로, 인간 C5의 첨가는 신호의 증가를 유발하고, 이는 분석 간섭이 샘플의 치료 항체의 표적에서 기인한다는 것을 확인시켜준다(도 6 참조).
- [0158] 가교 분석의 보정이 C5 및 대조군 pAb 모두의 경우 가능하다, 즉, C5가 분석에서 신호를 야기함이 밝혀졌다(도 7 참조). 이러한 이론에 구속되지 않고, 점착성의 C5 응집체가 문제점을 야기한다는 것이 추정된다(도 8(세척 완충제 pH 7.4) 및 도 9(세척 완충제 pH 5.5) 참조).
- [0159] C5 및 pAb 모두가 치료 약물에 결합하는 것이 밝혀졌다. 보다 높은 약물 대 C5 비는 보다 낮은 반응을 야기하고, 이는 비-특이적 결합 없음을 시사한다(도 10의 BIAcore 데이터 참조).
- [0160] C5 및 pAb 모두가 치료 약물 사전 코팅된 표면을 사용하여 치료 약물에 결합한다는 것이 밝혀졌다. C5의 포획 후에, 표면은 치료 약물에 결합할 수 있고, 이는 유리 에피토프가 여전히 존재하며, 이는 응집된 C5의 경우임을 시사한다(도 11 참조).
- [0161] 이러한 발견을 기반으로, 방법은 5.5의 pH 값의 완충제에 의한 6회의 세척 단계를 사용함으로써 추가로 개조되었다. 이러한 이론에 구속되지 않고, 이는 포획된 응집체의 양/수량을 감소시킨다.

1% 혈청에서의 결과; S/N=7; 컷-포인트 = 2429 FU(0.82 ng/ml)

개체	평균 OD	농도
2199	2005	>블랭크 < 104 ng/ml
2198	1364	>블랭크 < 104 ng/ml
2201	374	< 블랭크
2195	1050	>블랭크 < 104 ng/ml
2205	970	>블랭크 < 104 ng/ml
2202	1881	>블랭크 < 104 ng/ml
2194	1593	>블랭크 < 104 ng/ml
2196	2188	>블랭크 < 104 ng/ml

0.1% 혈청에서의 결과; S/N=2; 컷-포인트 = 2660 FU(0.84 ng/ml)

개체	평균 OD	농도
2199	2670	>블랭크 < 104 ng/ml
2198	1822	>블랭크 < 104 ng/ml
2201	1187	< 블랭크
2195	1507	>블랭크 < 104 ng/ml
2205	1403	>블랭크 < 104 ng/ml
2202	2148	>블랭크 < 104 ng/ml
2194	1840	>블랭크 < 104 ng/ml
2196	2262	>블랭크 < 104 ng/ml

- [0162]
- [0163] S/N 비는 희석에 의해 낮아진다. 컷-포인트 값 및 최저 교정기는 1% 및 0.1% 혈청 함유 샘플에서 유사하다. 컷-포인트는 혈청의 양성 대조군에서 약 100 ng/ml이다.
- [0164] 분석을 본원에 보고된 발견에 조정하여 4°C에서 약 16시간 동안(밤새) 항온처리의 수행, 분석 완충제 중의 6.5 중량% 사카로스의 첨가 및 비-이온성 세제 Brij 35의 첨가에 의해 응집체의 형성을 감소시켰다.
- [0165] 분석을 5.5의 pH 값을 갖는 세척 완충제를 사용하여 추가로 조정하여 치료 약물과 표적, 즉, C5의 상호작용을

감소시켰다.

- [0166] 상기에 개괄된 발견을 기반으로, ta 샘플의 항-약물 항체의 측정 및/또는 측량 및/또는 정량화 전에 샘플에 존재하는 C5 응집체를 제거하는 새로운 분석 포맷을 확립하였다.
- [0167] 본원에 보고된 새로운 분석 포맷은, 치료 항체의 표적이 대략 이의 pI 값인 pH 값에서 침전하는 특이적 침전 단계를 포함한다. 치료 약물로서 항-C5 항체의 경우, 표적은 인간 C5이고, 침전은 4.7 내지 5.5 범위의 pH 값에서 항온처리에 의해 달성된다. 한 실시양태에서, 항온처리는 약 5의 pH 값에서 수행된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 항온처리는 약 5의 pH 값에서 약 2시간 동안 임의적으로 교반과 함께 수행된다.
- [0168] 본원에 보고된 새로운 분석 포맷은 특이적 침전 단계 후에 산 해리 단계를 포함한다. 이 단계에서, 이러한 이론에 구속되지 않고, ADA(항-항-C5 항체-항체; 항-약물 항체)는 침전물로부터 해리된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 산 해리는 약 2의 pH 값에서 약 5분 동안 항온처리에 의해 수행된다.
- [0169] 본원에 보고된 새로운 분석 포맷은 산 해리 단계 후에 원심분리 단계를 임의적으로 포함한다.
- [0170] 본원에 보고된 새로운 분석 포맷은 산 해리 단계 후에, 샘플의 pH 값을 약 7.4로 조정하는 단계 후에, 포획 항체 및 추적 항체의 첨가 및 후속 항온처리의 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 포획 항체 및 추적 항체는 약물 항체이다. 한 실시양태에서, 포획 항체는 결합쌍의 제1 구성원에 접합된다. 한 실시양태에서, 결합쌍은 비오틴/(스트렙트)아비딘, 합텐/항-합텐 항체, 핵산/상보적 핵산 및 리간드/리간드 수용체로부터 선택된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 결합쌍은 비오틴/(스트렙트)아비딘이다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 포획 항체는 비오틴에 접합된다. 한 실시양태에서, 추적 항체는 검출가능한 표지에 접합된다.
- [0171] 본원에 보고된 새로운 분석 포맷은 포획 및 추적 항체와의 항온처리 단계 후에, 결합쌍의 제2 구성원으로부터 유도된 고상 상에 포획 항체-항-약물 항체-추적 항체 복합체의 고정을 포함한다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 결합쌍의 제2 구성원은 (스트렙트)아비딘이다.
- [0172] 본원에 보고된 새로운 분석 포맷은, 고정 단계 후에, 고정된 복합체를, 무색 기질을 유색 생성물로 전환시키는 것에 촉매 작용하는 효소에 접합된 검출가능한 표지에 특이적으로 결합하는 항체와 함께 항온처리한 후에, 효소의 무색 기질과 함께 항온처리하고, 형성된 유색 생성물 양을 측정하고 형성된 유색 생성물의 양을 검량선과 상호연관시켜 고정된 복합체의 양을 측량하고/하거나 측정하고/하거나 정량화하여, 샘플의 항-약물 항체의 양을 측정하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 검출가능한 표지는 합텐이다. 한 실시양태에서, 합텐은 비오틴, 디곡시제닌, 테오피린 및 브로모 데옥시 우리딘으로부터 선택된다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 검출가능한 표지는 디곡시제닌이다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 효소는 서양고추냉이 퍼옥시다제이다. 한 실시양태에서, 무색 기질은 ABTS, HPPA 또는 TMB이다. 하나의 바람직한 실시양태에서, 무색 기질은 TMB이다.

[0173] 30개의 개별값을 기반으로 한 본원에 보고된 방법(C5 침전 접근법)에 의해 수득한 결과를 하기 표에 나타냈다.

검량선 데이터:

농도 [ng/ml]	평균 [FU]	STDEV [FU]	CV [%]	계산치 [ng/ml]	회수율 [%]
50000	41337	146	0.4	50054	100
17857	18883	151	0.8	19421	109
6378	7290	33	0.4	6107	96
2278	3010	91	3.0	2050	90
813	1475	16	1.1	827	102
291	774	9	1.2	347	119
104	340	4	1.2	96	93
블랭크	118	6	5.4		

30개의 개별 샘플의 FU 신호:

102	103	116	132
133	98	96	97
105	100	99	113
112	112	101	102
114	122	115	109
116	123	130	112
136	131	133	116
	123		133

평균	114
STDEV	12.7
CV	11%
CP	135

[0174]

[0175] 본원에 보고된 새로운 분석 포맷은 높은 동적 범위에 적합하며, 민감하고 분석할 샘플에 존재하는 개별 표적 수준으로부터의 간섭을 해결한다.

[0176] 샘플 처리에서, 분석 전에 대략 표적의 pI 값에서의 항온처리 단계에서 형성된 침전물을 제거하는 것이 필요하지 않다. 산 항온처리 단계 없이, 간섭이 존재한다(도 12 참조):

A: 산 처리 단계 후에 원심분리 (도 12, 2)	
평균	114
STDEV	7.9
CV	7%
CP [FU]	127
CP [ng/ml]	12
B: 산 처리 단계 후에 원심분리 없음 (도 12, 1)	
평균	98
STDEV	9.3
CV	9%
CP [FU]	113
CP [ng/ml]	17
C: 산 부재 하에 항온처리 단계 (도 12, 3)	
평균	3290
STDEV	4353
CV	132%
CP [FU]	10428
CP [ng/ml]	2084

[0177]

[0178] 양성 대조군, 긴 항온처리 시간 및 pH 5.5 세척에 의한 보정을 도 13에 나타냈다. 15개의 개별값의 평균은 119이고, 블랭크 풀 값은 123이고, 컷-포인트는 135이다.

[0179] 다클론 항체, 긴 항온처리 시간 및 pH 7.4 세척에 의한 보정을 도 14에 나타냈다. 15개의 개별값의 평균은 145이고, 블랭크 풀 값은 157이고, 컷-포인트는 193이다.

[0180] 다클론 항체, 짧은 항온처리 시간 및 pH 5.5 세척에 의한 보정을 도 15에 나타냈다. 15개의 개별값의 평균은

124이고, 블랭크 폴 값은 115이고, 컷-포인트는 247이다.

- [0181] C5의 존재 하에 다클론 항체, pH 5에서 2-시간 항온처리 및 pH 5.5 세척에 의한 보정을 도 16에 나타냈다.
- [0182] C5의 존재 하에 다클론 항체, pH 5에서 2-시간 항온처리 및 pH 7.5 세척에 의한 보정을 도 17에 나타냈다.
- [0183] C5의 존재 하에 다클론 항체, pH 2에서 30-분 항온처리 및 pH 5.5 세척에 의한 보정을 도 18에 나타냈다(본 기술에 따른 산 해리를 사용한 ADA 분석).
- [0184] **본 발명의 특정 실시양태의 예시적 약물 항체**
- [0185] US 2016/0167054는 항-C5 항체 및 이의 사용 방법을 개시한다. 일부 실시양태에서, 개시된 단리된 항-C5 항체는 산성 pH보다는 중성 pH에서 높은 친화도에 의해 C5의 베타쇄 내에서 에피토프에 결합한다.
- [0186] C5는 정상 혈청에서 약 71 $\mu\text{g/ml}$ (0.4 μM)로 발견되는 181 kDa 단백질이다. C5는 탄수화물에 기인한 이의 질량의 약 1.5 내지 3%에 의해 글리코실화된다. 성숙 C5는 66 kDa 베타쇄에 다이설파이드 결합된 106 kDa 알파쇄의 이중 이량체이다. C5는 1577개의 아미노산의 단일쇄 전구체 단백질(프로-C5 전구체)로서 합성된다(예를 들어, US 6,355,245 및 US 7,432,356 참조). 프로-C5 전구체는 절단되어 아미노 말단 단편으로서 베타쇄 및 알파카복시 말단 단편으로서 쇄가 수득된다. 알파쇄 및 베�타쇄 폴리펩티드 단편은 서로 다이설파이드 결합을 통해 연결되고 성숙 C5 단백질을 구성한다.
- [0187] 성숙 C5는 보체 경로의 활성화 동안 C5a 및 C5b 단편으로 절단된다. C5a는 알파쇄의 처음 65개의 아미노산을 포함하는 아미노 말단 단편으로서 C5 전환효소에 의해 C5의 알파쇄로부터 절단된다. 성숙 C5의 나머지 부분은 단편 C5b이고, 이는 베타쇄에 다이설파이드 결합된 알파쇄의 나머지를 함유한다. 11 kDa 질량의 C5a의 약 20%는 탄수화물에 기인한다.
- [0188] C5a는 아나필라톡신이다. C5b는 C6, C7, C8 및 C9와 조합되어 표적 세포의 표면에서 막 공격 복합체(MAC, C5b-9, 말단 보체 복합체(TCC))를 형성한다. 충분한 수의 MAC가 표적 세포막 내로 삽입되는 경우, MAC 공극이 형성되어 표적 세포의 신속한 삼투성 용해를 매개한다.
- [0189] 아나필라톡신은 비만 세포 탈과립을 촉발할 수 있고, 이는 히스타민 및 염증의 기타 매개자를 방출하여 평활근 수축, 증가된 혈관 투과성, 백혈구 활성화 및 기타 염증 현상(세포 과다를 야기하는 세포 증식을 포함)을 야기한다. 또한, C5a는, 과립구, 예컨대 중성구, 호산구, 호염기구 및 단핵구를 보체 활성화 부위에 끌어들이는 데 기여하는 화학주성(chemotactic) 펩티드로서 작용한다.
- [0190] C5a의 활성화는, 카복시-말단 아르기닌을 C5a로부터 제거하여 C5a-des-Arg 유도체를 형성하는 혈장 효소 카복시펩티다제 N에 의해 조절된다. C5a-des-Arg는 변형되지 않은 C5a의 아나필라시스 활성화 및 다형핵 화학주성 활성화의 1%만을 나타낸다.
- [0191] 적절하게 작용하는 보체 시스템은 미생물 감염에 대한 강한 방어를 제공하나, 보체의 부적절한 조절 또는 활성화는, 예를 들어 류머티스 관절염(RA); 루푸스 신염; 허혈 재관류 손상; 발작성 야간 헤모글로빈뇨(PNH); 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS); 고밀도 침착병(DDD); 황반 변성(예를 들어 연령-관련된 황반 변성(AMD)); 용혈, 증가된 간 효소 및 저혈소판(HELLP) 증후군; 혈전성 혈소판 감소 자반병(TTP); 자연 유산; Pauci-면역 맥관염; 수포성 표피박리증; 재발성 유산; 다발성 경화증(MS); 외상성 뇌 손상; 심근 경색, 심폐 우회 및 혈액 투석을 야기하는 부상을 포함하는 다양한 장애의 발병의 원인이 된다(예를 들어, 문헌[Holers et al., Immunol. Rev. 223 (2008) 300-316] 참조). 따라서, 보체 캐스케이드의 과도하거나 제어되지 않는 활성화의 억제는 상기 장애를 앓는 환자, 특히 발작성 야간 헤모글로빈뇨(PNH) 환자에게 임상적 이점을 제공할 수 있다.
- [0192] 에쿨리주맵(Eculizumab)은 보체 단백질 C5를 지향하는 인간화된 단클론 항체이고, 제1 요법은 발작성 야간 헤모글로빈뇨(PNH) 및 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)의 치료에 대해 승인되었다(예를 들어, 문헌[Dmytrijuk et al., The Oncologist 13 (2008) 894-910] 참조). 에쿨리주맵은 C5 전환효소에 의해 C5가 C5a 및 C5b로 절단되는 것을 억제하며, 이는 말단 보체 복합체 C5b-9의 생성을 방지한다. C5a 및 C5b-9 모두는 PNH 및 aHUS의 특징인 말단 보체-매개된 사건을 초래한다(또한, WO 2005/065607, WO 2007/96586, WO 2008/060790 및 WO 2010/054403 참조). 여러 보고서는 다른 항-C5 항체를 기재하였다. 예를 들어, WO 86/28707은 C5의 알파쇄에 결합하나 C5a에는 결합하지 않고 C5의 활성화를 차단하는 항-C5 항체를 기재하는 반면에, WO 2002/30886은 C5a 형성을 억제하는 항-C5 단클론 항체를 기재한다. 다른 한편으로는, WO 2004/006653은, C5의 알파쇄 상에 C5 전환효소에 대한 단백질 분해 부위를 인식하고 C5를 C5a 및 C5b로 전환시키는 것을 억제하는 항-C5 항체를 기재한다. WO 2010/015608은 1x10E7 M-1 이상의 친화도 상수를 갖는 항-C5 항체를 기재한다. 한 실시양태에서, 약물

은 에쿨리주맵이다.

[0193] 일부 실시양태에서, 방법은, C5의 베타쇄 내에서 에피토프에 결합한 항-C5 항체에 붙은 ADA의 검출을 위한 것이다. 일부 실시양태에서, 항-C5 항체는 C5의 베타쇄의 MG1-MG2 도메인 내에서 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-C5 항체는, C5의 베타쇄(서열번호 31)의 아미노산 27-115로 이루어진 단편 내에서 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-C5 항체는 아미노산 38-48, 61-67 및 98-101로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단편을 포함하는 C5의 베타쇄(서열번호 31) 내에서 에피토프에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항-C5 항체는 서열번호 31의 Glu48, Asp51, His61, His63, Lys100 및 His101로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 잔기를 포함하는 C5의 베타쇄(서열번호 31)의 단편 내에서 에피토프에 결합한다. 추가적 실시양태에서, 항체는 산성 pH보다는 중성 pH에서 보다 높은 친화도에 의해 C5에 결합한다. 추가적 실시양태에서, 항체는 pH 5.8보다는 pH 7.4에서 보다 높은 친화도에 의해 C5에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 항-C5 항체는 표 1에 기재된 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 추가적 실시양태에서, 항체는 pH 5.8보다는 pH 7.4에서 보다 높은 친화도에 의해 표 1에 기재된 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 추가적 실시양태에서, 항-C5 항체는 표 2 또는 3에 기재된 항체와 동일한 에피토프에 결합한다. 추가적 실시양태에서, 항체는 pH 5.8보다는 pH 7.4에서 높은 친화도에 의해 표 2 또는 3에 기재된 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0194] [표 1]

서열번호								
항체	VH	VL	HVR-H 1	HVR-H 2	HVR-H 3	HVR-L 1	HVR-L 2	HVR-L 3
CFA0305	1	11	36	46	56	66	76	86
CFA0307	2	12	37	47	57	67	77	87
CFA0357	3	13	38	48	58	68	78	88
CFA0501	4	14	39	49	59	69	79	89
CFA0538	5	15	40	50	60	70	80	90
CFA0590	6	16	41	51	61	71	81	91
CFA0567	7	17	42	52	62	72	82	92
CFA0573	8	18	43	53	63	73	83	93
CFA0576	9	19	44	54	64	74	84	94

[0195]

[0196] [표 2]

서열번호				
항체	VH	HVR-H1	HVR-H2	HVR-H3
305L05	10	45	55	65
305L015	97	108	109	112
305L016	98	108	110	112
305L018	99	108	109	112
305L019	100	108	109	112
305L020	100	108	109	112
305L022	100	108	109	112
305L023	101	108	111	112

[0197]

[0198] [표 3]

서열번호				
항체	VL	HVR-L1	HVR-L2	HVR-L3
305L05	20	75	85	95
305L015	102	113	114	116
305L016	102	113	114	116
305L018	102	113	114	116
305L019	102	113	114	116
305L020	103	113	114	116
305L022	104	113	115	116
305L023	104	113	115	116

[0199]

[0200]

특정 실시양태에서, 항-C5 항체는 C5에 대한 결합에 대해, (a) 서열번호 1의 VH 및 서열번호 11의 VL; (b) 서열번호 5의 VH 및 서열번호 15의 VL; (c) 서열번호 4의 VH 및 서열번호 14의 VL; (d) 서열번호 6의 VH 및 서열번호 16의 VL; (e) 서열번호 2의 VH 및 서열번호 12의 VL; (f) 서열번호 3의 VH 및 서열번호 13의 VL; (g) 서열번호 9의 VH 및 서열번호 19의 VL; (h) 서열번호 7의 VH 및 서열번호 17의 VL; (i) 서열번호 8의 VH 및 서열번호 18의 VL; 및 (j) 서열번호 10의 VH 및 서열번호 20의 VL로부터 선택된 VH 및 VL 쌍을 포함하는 항체와 경쟁한다.

[0201]

특정 실시양태에서, 항-C5 항체는 약제로서 사용하기 위한 것이다. 한 실시양태에서, 항-C5 항체는 과도하거나 제어되지 않은 C5의 활성화를 수반하는 보체-매개된 질병 또는 질환을 치료하는 데 사용된다. 추가적 실시양태에서, 항-C5 항체는 비제한적으로 발작성 야간 헤모글로빈뇨(PNH), 연령-관련된 황반 변성, 심근 경색, 류머티스 관절염, 골다공증, 골관절염 및 염증을 포함하는 질병 또는 장애를 치료하는 데 사용된다. 항-C5 항체는 혈장으로부터 C5의 클리어런스를 증진시키는 데 사용된다.

[0202]

특정 실시양태에서, 방법은 상기에 제공된 임의의 실시양태의 VH, 및 서열번호 27, 28, 29, 105, 106 및 107 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함하는 항-C5 항체에 붙은 ADA의 검출을 위한 것이다. 특정 실시양태에서, 방법은 상기에 제공된 임의의 실시양태의 VH, 및 서열번호 36, 37, 및 38 중 어느 하나의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함하는 항-C5 항체의 검출을 위한 것이다.

[0203]

특정 실시양태에서, 방법은, C5에 대한 결합에 대해 (a) 서열번호 1의 VH 및 서열번호 11의 VL; (b) 서열번호 22의 VH 및 서열번호 25의 VL; (c) 서열번호 21의 VH 및 서열번호 24의 VL; (d) 서열번호 5의 VH 및 서열번호 15의 VL; (e) 서열번호 4의 VH 및 서열번호 14의 VL; (f) 서열번호 6의 VH 및 서열번호 16의 VL; (g) 서열번호 2의 VH 및 서열번호 12의 VL; (h) 서열번호 3의 VH 및 서열번호 13의 VL; (i) 서열번호 9의 VH 및 서열번호 19의 VL; (j) 서열번호 7의 VH 및 서열번호 17의 VL; (k) 서열번호 8의 VH 및 서열번호 18의 VL; (l) 서열번호 23의 VH 및 서열번호 26의 VL; 및 (m) 서열번호 10의 VH 및 서열번호 20의 VL로부터 선택된 VH 및 VL 쌍을 포함하는 항체와 경쟁하는 항-C5 항체에 붙은 ADA의 검출을 위한 것이다.

[0204]

특정 실시양태에서, 방법은, C5 결합에 대해 (a) 서열번호 22의 VH 및 서열번호 25의 VL; (b) 서열번호 21의 VH 및 서열번호 24의 VL; (c) 서열번호 5의 VH 및 서열번호 15의 VL; (d) 서열번호 4의 VH 및 서열번호 14의 VL; (e) 서열번호 6의 VH 및 서열번호 16의 VL; (f) 서열번호 2의 VH 및 서열번호 12의 VL; (g) 서열번호 3의 VH 및 서열번호 13의 VL; (h) 서열번호 9의 VH 및 서열번호 19의 VL; (i) 서열번호 7의 VH 및 서열번호 17의 VL; (j) 서열번호 8의 VH 및 서열번호 18의 VL; (k) 서열번호 23의 VH 및 서열번호 26의 VL로부터 선택된 VH 및 VL 쌍을 포함하는 항체와 경쟁하는 항-C5 항체에 붙은 ADA의 검출을 위한 것이다.

[0205]

하기 실시예, 서열 및 도면은 본 발명의 이해를 돕기 위해 제공되며, 이의 해당하는 범위는 첨부된 특허청구범위에 제시되어 있다. 본 발명의 사상을 벗어나지 않으면서 제시된 절차에서 변형이 이루어질 수 있는 것으로 이해된다.

도면의 간단한 설명

[0206]

도 1: 상이한 포획 항체 및 추적 항체 농도의 효과((1): 각각 500 ng/ml, (2): 각각 1000 ng/ml, (3): 각각 1500 ng/ml, (4): 각각 2000 ng/ml).

도 2: 상이한 피옥시다제 농도의 효과(1000 ng/ml 포획 및 추적 항체 농도에서, (1): 5 mU, (2): 10 mU, (3):

25 mU, (4): 50 mU).

도 3: 인간 및 NHP 혈청의 효과((1): 인간 혈청, (2): 인간 혈장, (3): 시노물구스 혈청).

도 4: 말(1), 토끼(2), C5 결핍된 인간 혈장(3) 및 완충제(4)의 효과.

도 5: 분석 성능이 샘플에서 말 혈청 및 말 C5 함량의 증가에 의해 손상되었다(도 5 참조)(0%(1), 1%(2), 5%(3) 또는 10%(4) 말 혈청 중 1% 인간 혈청).

도 6: 분석에 대한 인간 C5의 효과(pAb + (1): 인간 혈청, (2): 완충제+brij, (3): 인간 혈청에서 500 ng/ml C5, (4): 완충제+brij에서 500 ng/ml C5).

도 7: C5((1): pH 7.4, (2): pH 5.5, (3): pH 8.0) 및 대조군 pAb(항-이디오타입 항체)((4): pH 7.4, (5): pH 5.5, (6): pH 8.0)를 사용한 가교 분석의 보정.

도 8: 가교 분석에서 세척 완충제 pH 7.4의 사용((1) pAb 항-이디오타입 항체, 및 포획 및 추적 항체, (2) 포획 항체 및 추적 항체가 부재하는 C5, (3) 포획 항체는 존재하나 추적 항체는 부재하는 C5, (4) C5 포획 항체는 부재하나 추적 항체는 존재하는 C5, (5) 포획 및 추적 항체가 존재하는 C5를 사용한 보정).

도 9: 가교 분석에서 세척 완충제 pH 5.5의 사용((1) pAb 항-이디오타입 항체, 및 포획 및 추적 항체, (2) 포획 항체 및 추적 항체가 부재하는 C5, (3) 포획 항체는 존재하나 추적 항체는 부재하는 C5, (4) C5 포획 항체는 부재하나 추적 항체는 존재하는 C5, (5) 포획 및 추적 항체가 존재하는 C5를 사용한 보정).

도 10: 약물 대 C5 비의 효과; 조정된 SPR 센서그램; (1): C5, (2): C5+pAb 100/100 nM, (3): C5+pAb 100/10 nM, (4): C5+pAb 100/250 nM, (5): C5+pAb 100/500 nM, (6): C5+pAb 100/50 nM, (7): mAb-C5, (8): pAb-항-이디오타입-mAb C5, (9) 완충제.

도 11: 비오틴일화된 약물 코팅된 표면에 대한 pAb(녹색) 및 C5(적색)의 결합 후에, 화살표로 표시된 시간에서 완충제 또는 추적(1, 2)/디곡시제닐화된 약물(3, 4)의 첨가.

도 12: 산 항온처리 단계 적용이 부재하는 보정(3)과 비교한 (1) 원심분리가 부재하거나 (2) 원심분리가 존재하는 가교 분석에서 pAb의 보정.

도 13: 양성 대조군, 긴 항온처리 시간 및 pH 5.5 세척을 사용한 보정.

도 14: 다클론 항체, 긴 항온처리 시간 및 pH 7.4 세척을 사용한 보정.

도 15: 다클론 항체, 짧은 항온처리 시간 및 pH 5.5 기밀 세척을 사용한 보정.

도 16: 혈청(1) 또는 완충제(2)의 존재 하에 다클론 항체, pH 5에서 2-시간 항온처리 및 pH 5.5 세척을 사용한 보정, 및 혈청(3) 또는 완충제(4)의 존재 하에 C5, pH 5에서 2-시간 항온처리 및 pH 5.5 세척을 사용한 보정.

도 17: 혈청(1) 또는 완충제(2)의 존재 하에 다클론 항체, pH 5에서 2-시간 항온처리 및 pH 7.4 세척을 사용한 보정, 및 혈청(3) 또는 완충제(4)의 존재 하에 C5, pH 5에서 2-시간 항온처리 및 pH 7.4 세척을 사용한 보정.

도 18: 혈청(1) 또는 완충제(2)의 존재 하에 다클론 항체, pH 2에서 0.5-시간 항온처리 및 pH 5.5 세척을 사용한 보정, 및 혈청(3) 또는 완충제(4)의 존재 하에 C5, pH 2에서 0.5-시간 항온처리 및 pH 5.5 세척을 사용한 보정.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

실시예

실시예 1: 사카로스 및 Brij를 사용한 분석

비오틴일화된 약물 및 디곡시제닐화된 약물을 30개의 개별적 혈청 샘플과 함께 항온처리하였다. 사용된 시약을 기능적으로 시험하기 위해 (대조군) 혈청 샘플(폴링된 혈청)을 상이한 농도의 인공 양성 대조군 기준물을 사용하여 준비하고 항온처리하고 개별적 혈청 샘플로서 처리하였다. 표지된 약물 농도를 각각 1000 ng/mL에서 일정하게 유지하였다. 분석에서 최종 혈청 농도는 1%였다. 생산된 면역 복합체를 백색의 스트렙타비딘(SA)-코팅된 마이크로타이터 플레이트에 옮기고 1시간 동안 항온처리하여 비오틴-표지된 포획 시약을 통해 복합체를 고정시켰다. 상청액의 흡인 후에, 미결합 기질을 반복된 세척에 의해 제거하였다. 고정된 복합체를 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합된 항-디곡시제닌 항체(항-디곡시제닌-POD (폴리))와 함께 항온처리하였다. 각각의 단계를

6.5% 사카로스를 함유하는 PBS 완충제 또는 ELISA를 위해 0.5% 농도에서 Brij 35를 함유하는 로슈 유니버설 (Roche universal) 완충제를 사용하여 동일한 완충제에 의해 수행하였다. 마지막으로, 생산된 고정된 면역 복합체를 산화된 HPPA 용액, 형광 POD 기질의 첨가에 의해 시각화하였다. 방출을 광도계로 측정하고(320 nm 파장에서 여기, 405 nm 파장에서 방출) 샘플의 양성 대조군 농도와 관련하여 설정하였다. 개별적 혈청 샘플의 CV는 29%(사카로스 완충제 분석) 및 181%(로슈 유니버설 완충제 및 Brij)였다.

[0210] 실시예 2: 산 항온처리 단계를 사용한 분석

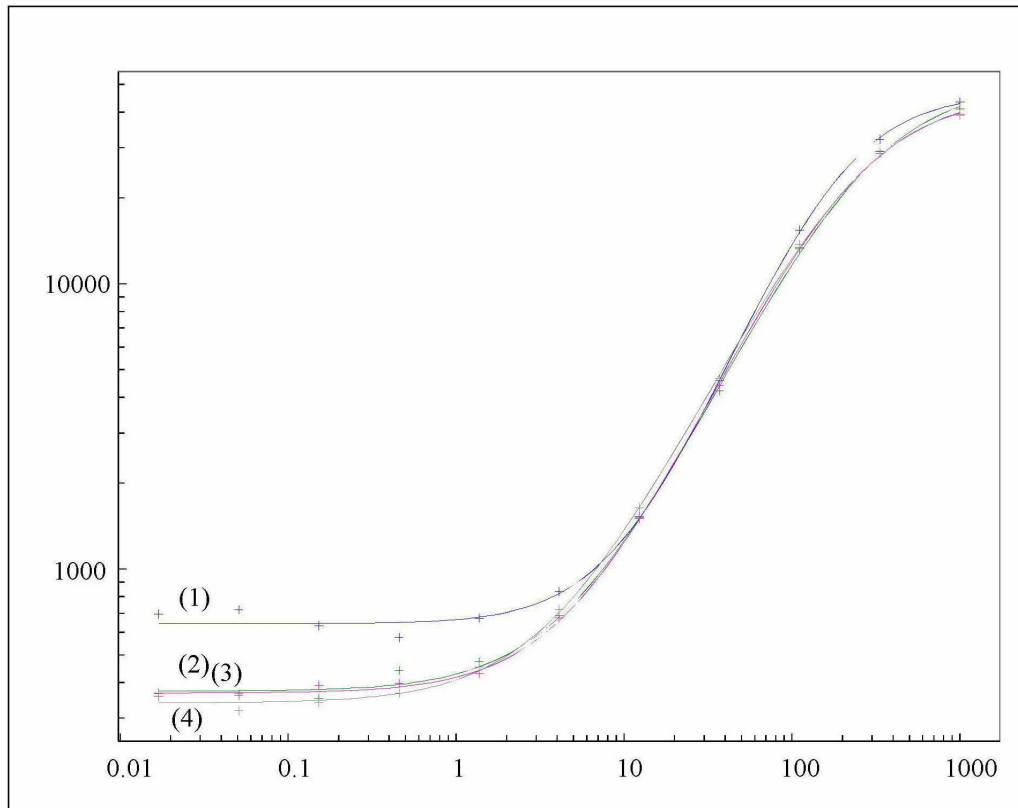
[0211] 개별적 혈청 샘플(N=30) 및 인공 양성 대조군 샘플을 2시간 동안 10 mM 아세트이트 완충제(pH 5.0)와 함께 항온처리하였다. 이후, 샘플을 5분 동안 0.1 M 글리신 하이드로클로라이드(pH 2.0)와 함께 항온처리하였다. 산성화된 샘플을 비오틴일화된 포획 항체 및 디곡시제닐화된 검출 항체와 혼합하고 0.5 M TRIS 완충제(pH 8.5)에 의해 중화시키고 30분 동안 RT에서 및 450 rpm에서 마이크로타이터 플레이트 진탕기 상에서 항온처리하였다. 최종 혈청 분석 농도는 1%였다. 생산된 면역 복합체를 스트렙타비딘(SA)-코팅된 마이크로타이터 플레이트에 옮기고 1시간 동안 항온처리하여 비오틴-표지된 포획 항체를 통해 면역 복합체를 고정시켰다. 상청액의 흡인 후에, 미결합 기질을 반복된 세척에 의해 제거하였다. 고정된 면역 복합체를 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합된 항-디곡시제닌 Fab 단편(항-Dig-POD)과 함께 항온처리하였다. 생산된 고정된 면역 복합체를 산화된 HPPA 용액, 형광 POD 기질의 첨가에 의해 시각화하였다. 방출을 광도계로 측정하고(320 nm 파장에서 여기, 405 nm 파장에서 방출) 혈청 샘플의 인공 양성 대조군 농도와 관련하여 설정하였다. 인공 양성 대조군은 100% 혈청에서 100 ng/mL에서 3 초과의 블랭크 대 노이즈 비를 제공하였다. 개별적 혈청 샘플(N=30)의 CV는 7%였다.

[0212] 실시예 3: 낮은 혈청 함량을 사용하고 산 해리를 사용하지 않은 분석

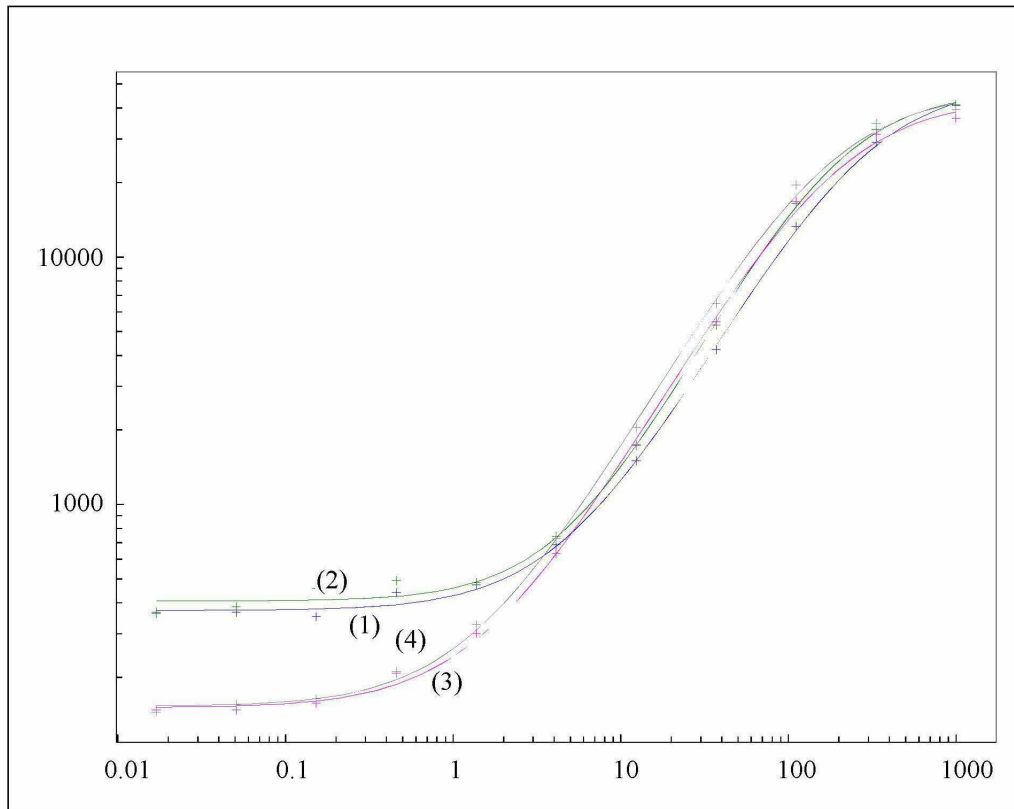
[0213] 비오틴일화된 약물 및 디곡시제닐화된 약물을 1% 및 0.1%의 최종 혈청 농도에서 32개의 개별적 혈청과 함께 항온처리하였다. 사용된 시약을 기능적으로 시험하기 위해 (대조군) 혈청 샘플(폴딩된 혈청)을 상이한 농도의 인공 양성 대조군 기준물을 사용하여 준비하고 항온처리하고 개별적 혈청 샘플로서 처리하였다. 표지된 약물 농도를 각각 1000 ng/mL에서 일정하게 유지하였다. 생산된 면역 복합체를 백색의 스트렙타비딘(SA)-코팅된 마이크로타이터 플레이트에 옮기고 1시간 동안 항온처리하여 비오틴-표지된 포획 시약을 통해 복합체를 고정시켰다. 상청액의 흡인 후에, 미결합 기질을 반복된 세척에 의해 제거하였다. 고정된 복합체를 서양고추냉이 퍼옥시다제에 접합된 항-디곡시제닌 항체(항-디곡시제닌-POD (폴리))와 함께 항온처리하였다. 마지막으로, 생산된 고정된 면역 복합체를 산화된 HPPA 용액, 형광 POD 기질의 첨가에 의해 시각화하였다. 방출을 광도계로 측정하였고(320 nm 파장에서 여기, 405 nm 파장에서 방출), 이는 샘플의 양성 대조군 농도에 비례하였다. 인공 양성 대조군은 1 및 0.1% 분석에 대해 100% 혈청에서 약 100 ng/mL의 분석 감도를 나타낸다. 개별적 혈청 샘플의 CV는 74%(0.1% 혈청 분석) 및 65%(1% 혈청 분석)였다.

도면

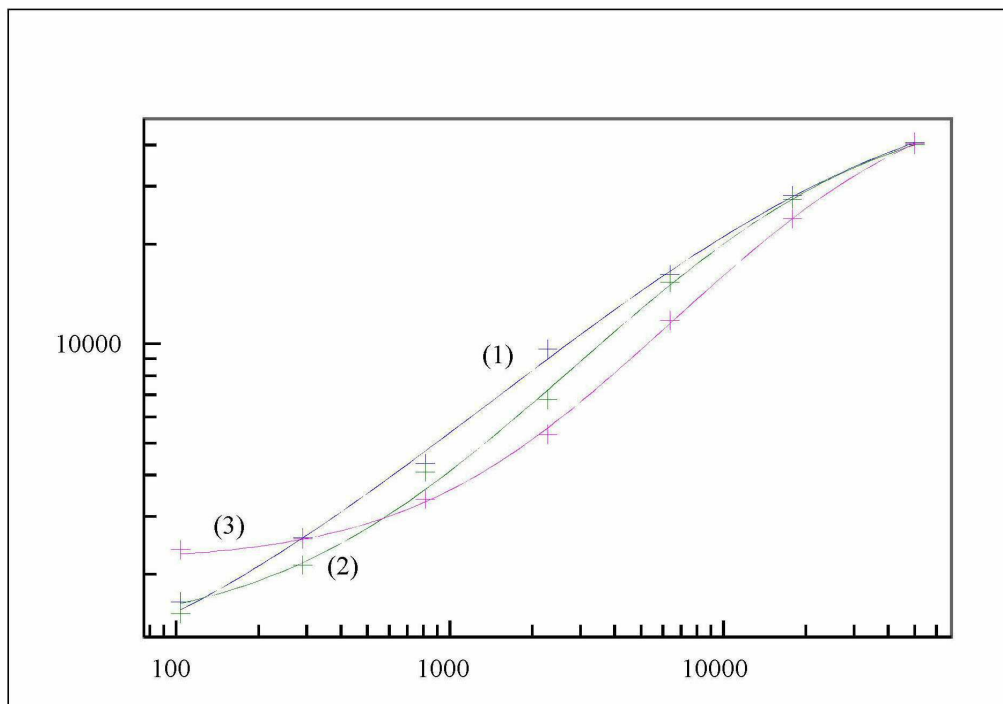
도면1



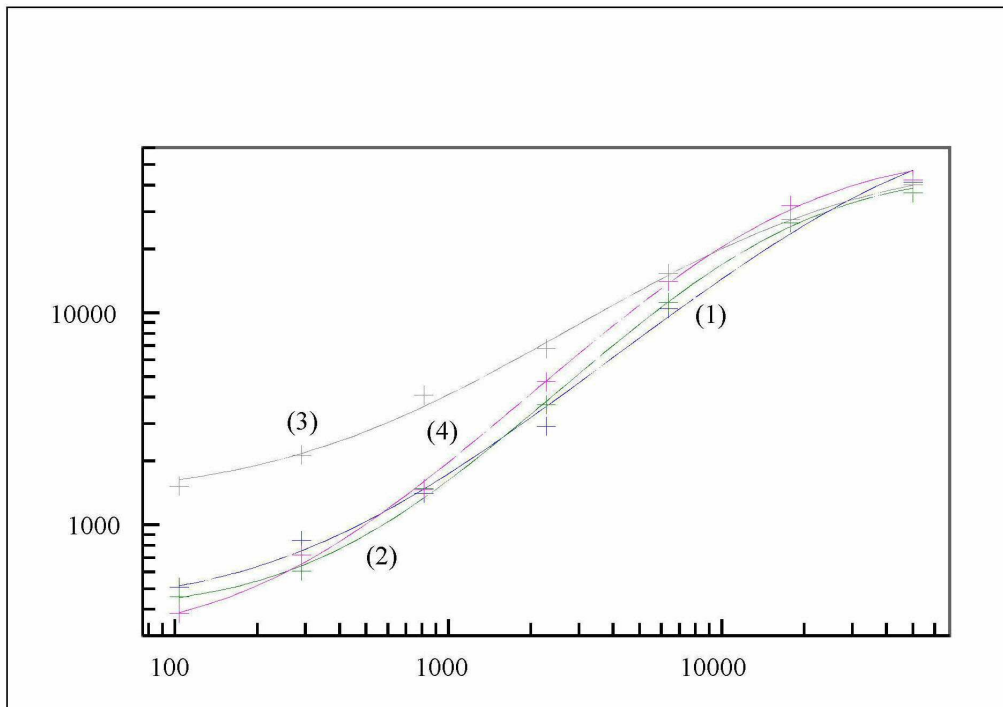
도면2



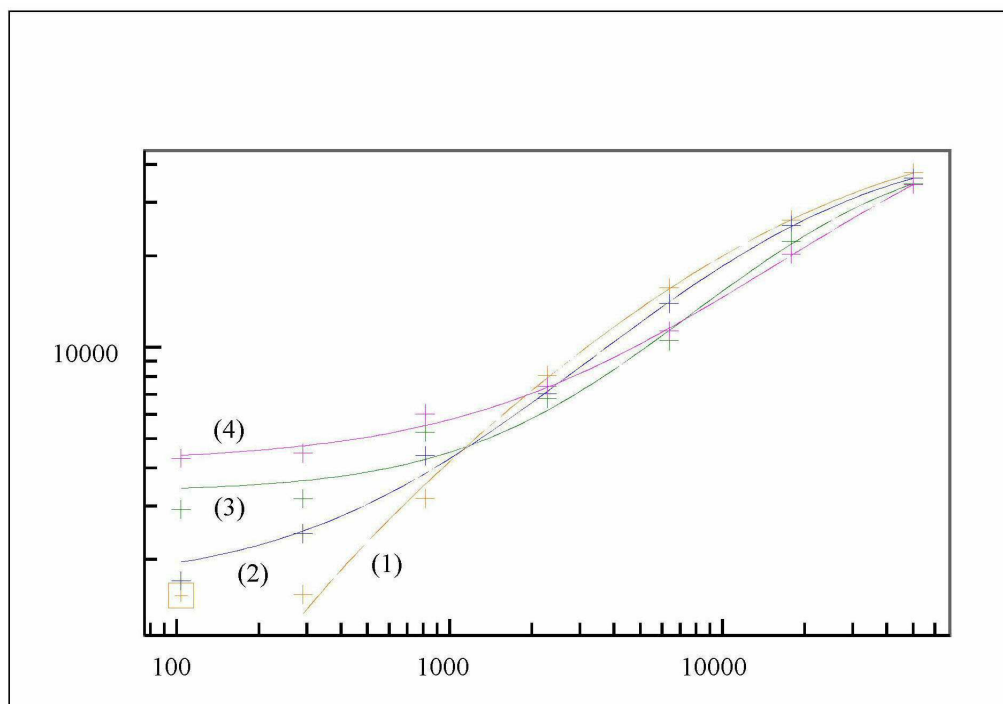
도면3



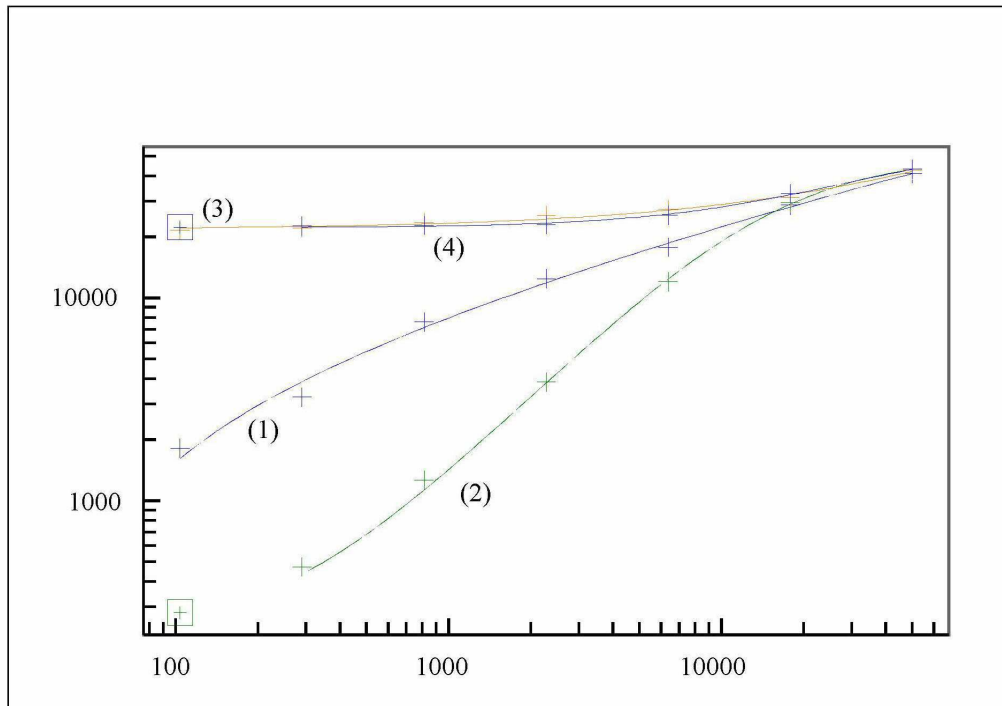
도면4



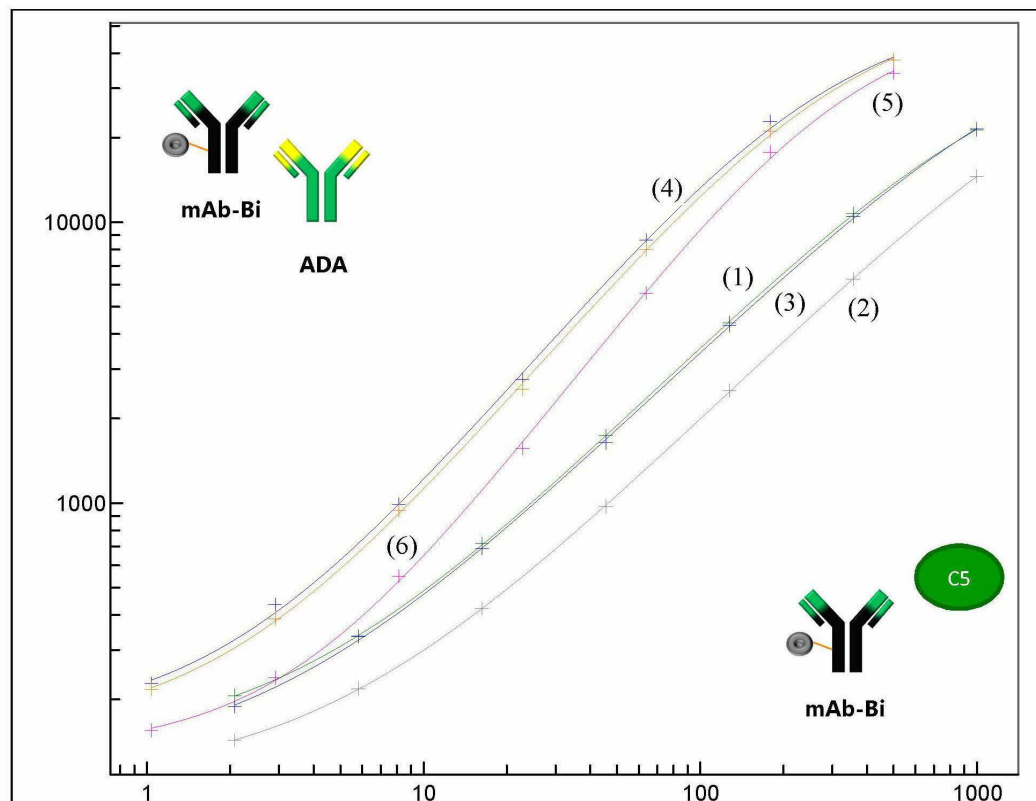
도면5



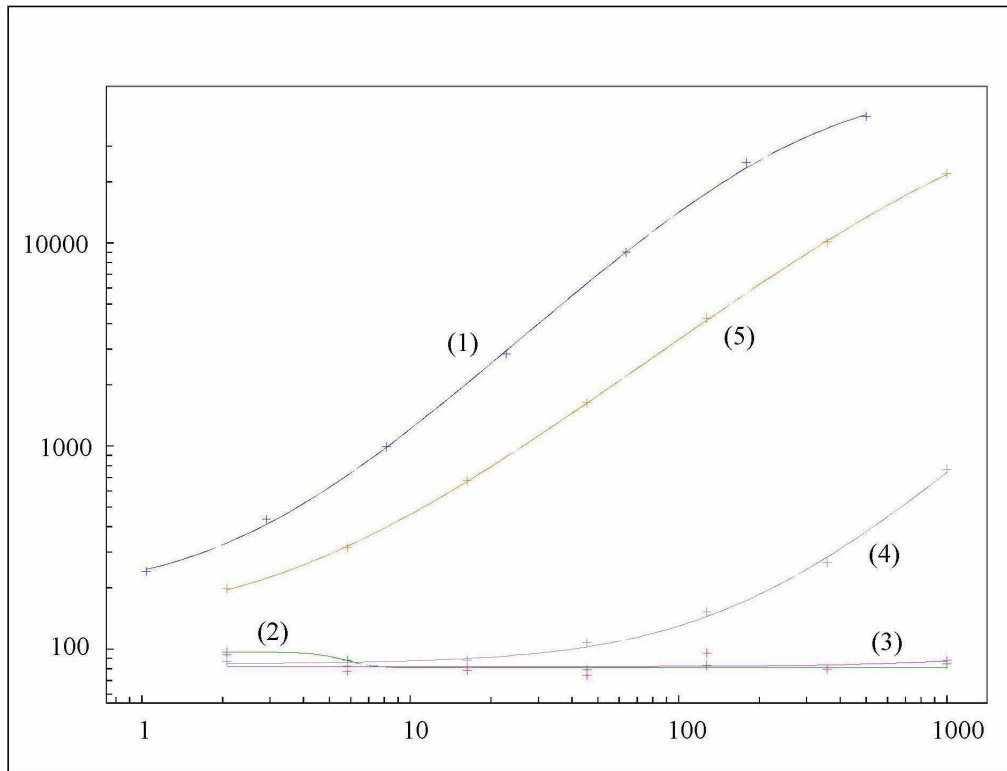
도면6



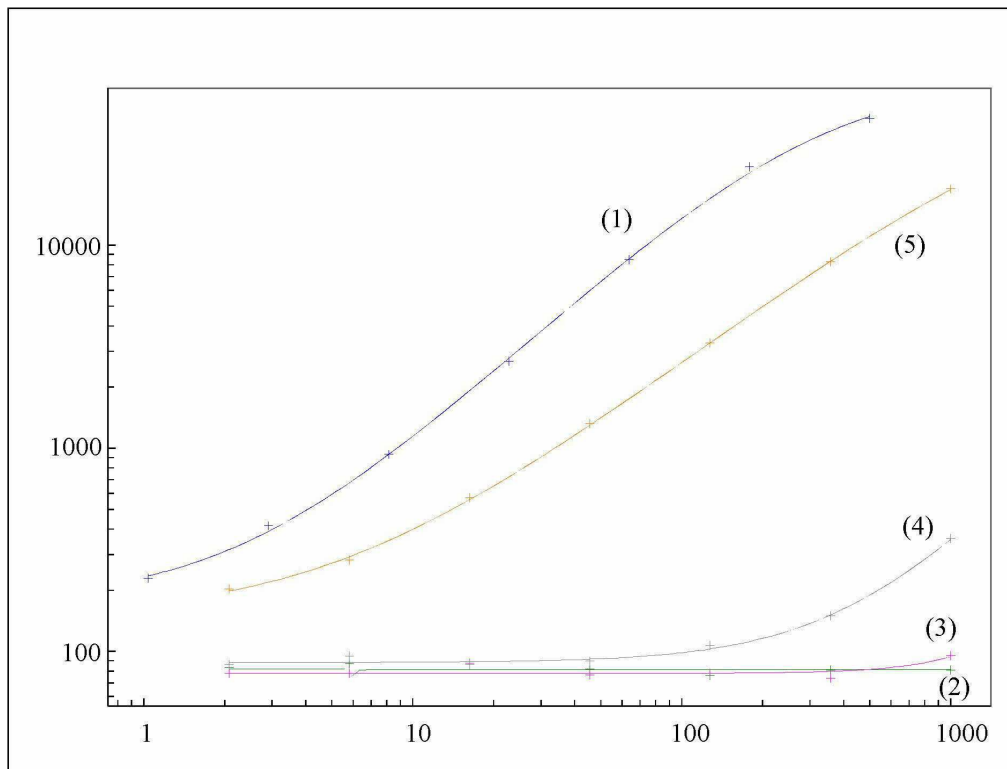
도면7



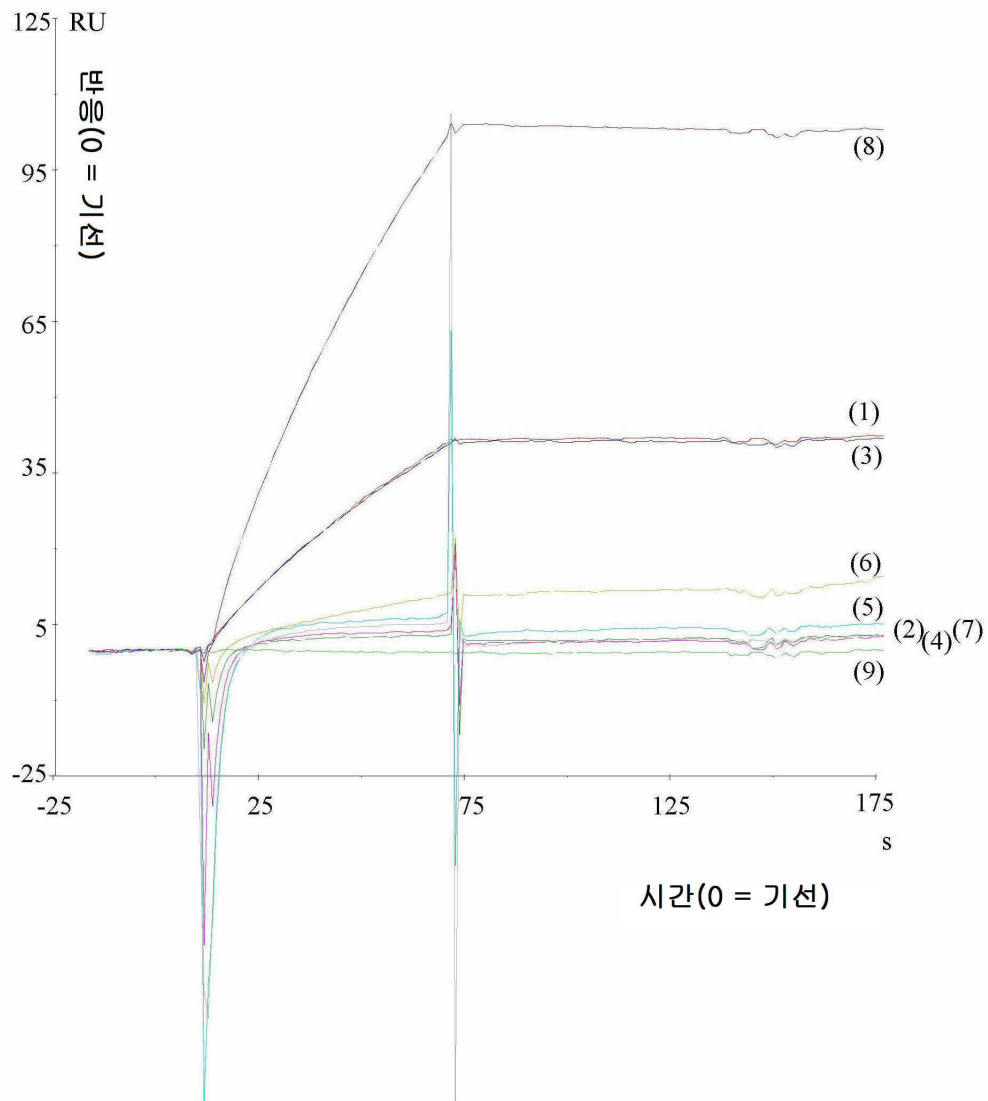
도면8



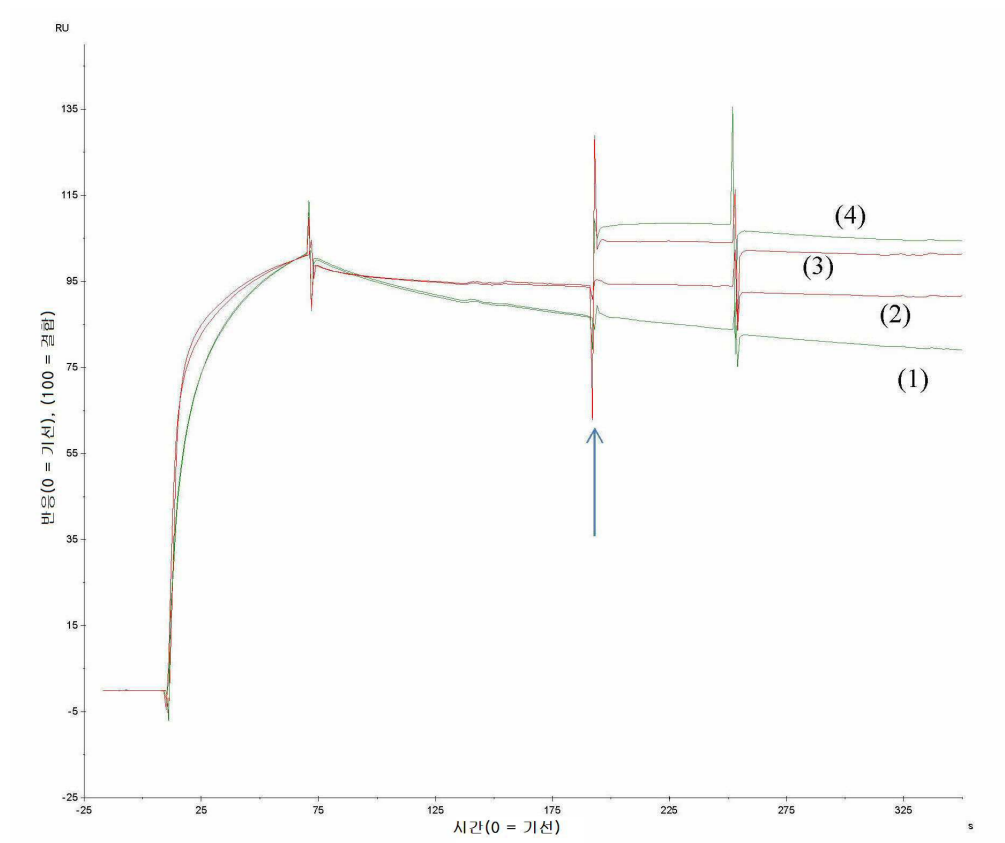
도면9



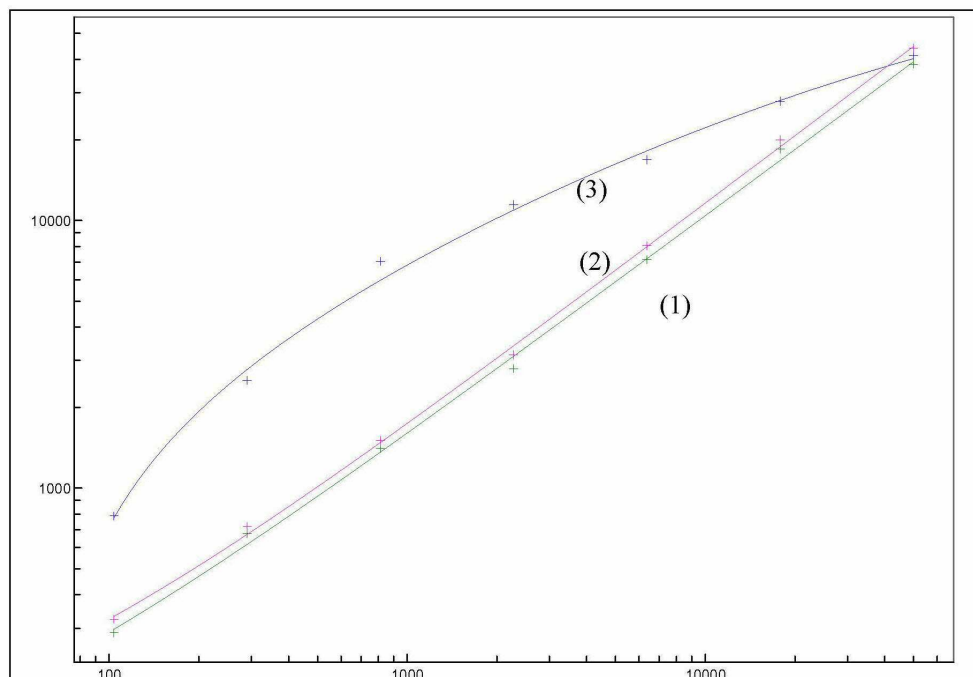
도면10



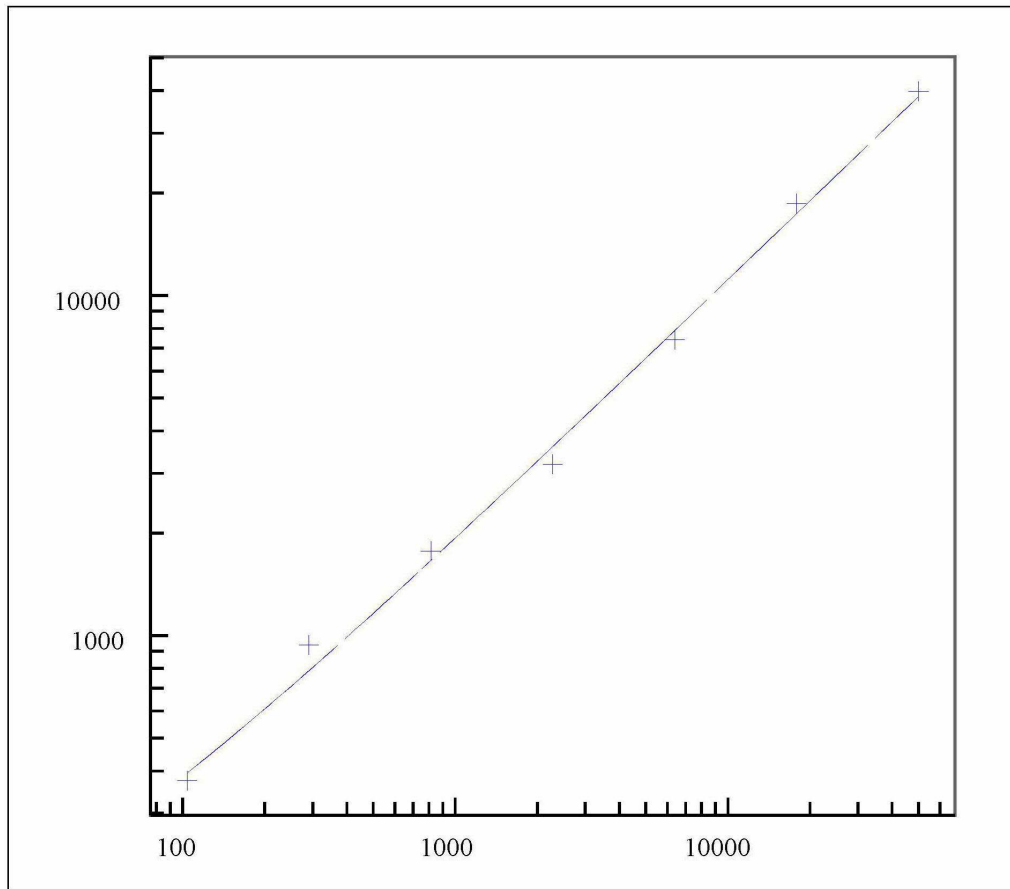
도면11



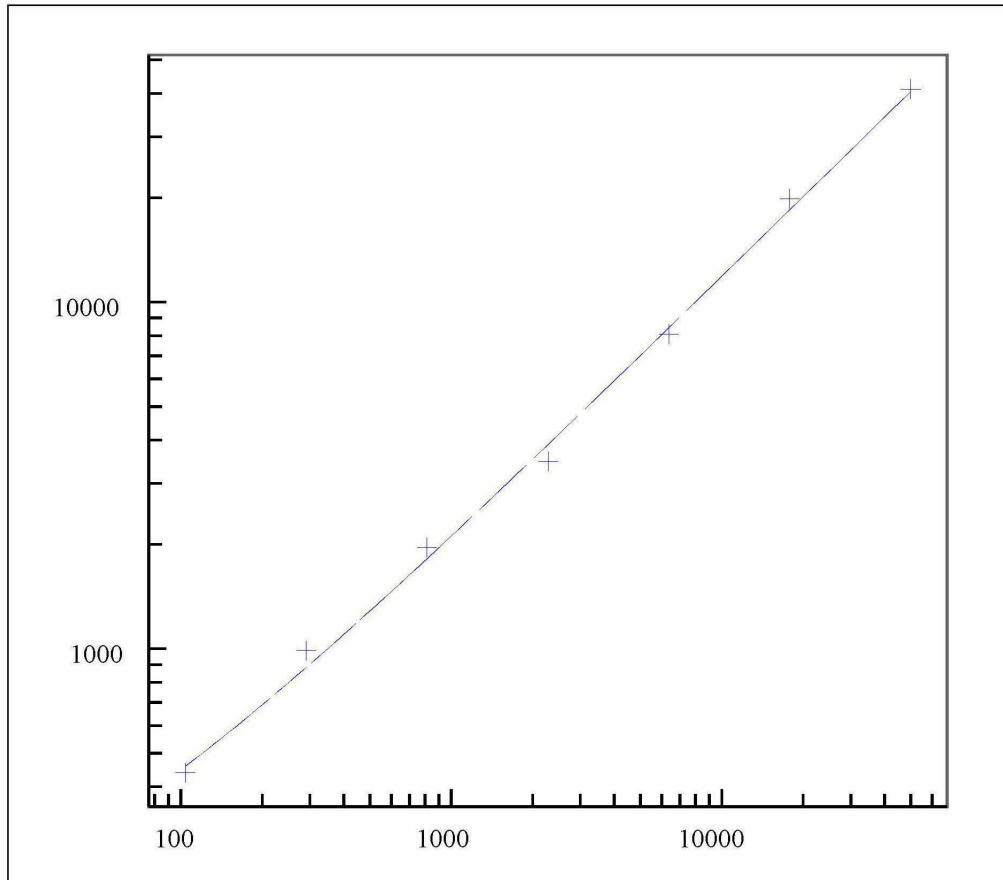
도면12



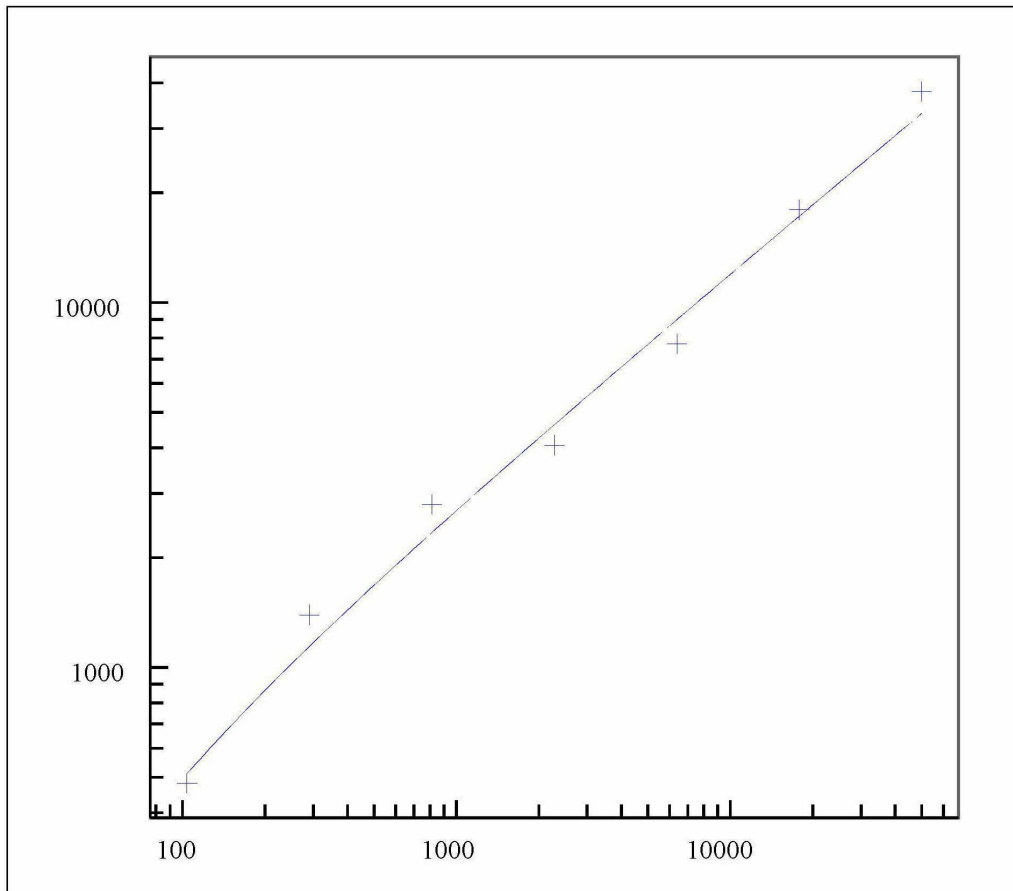
도면13



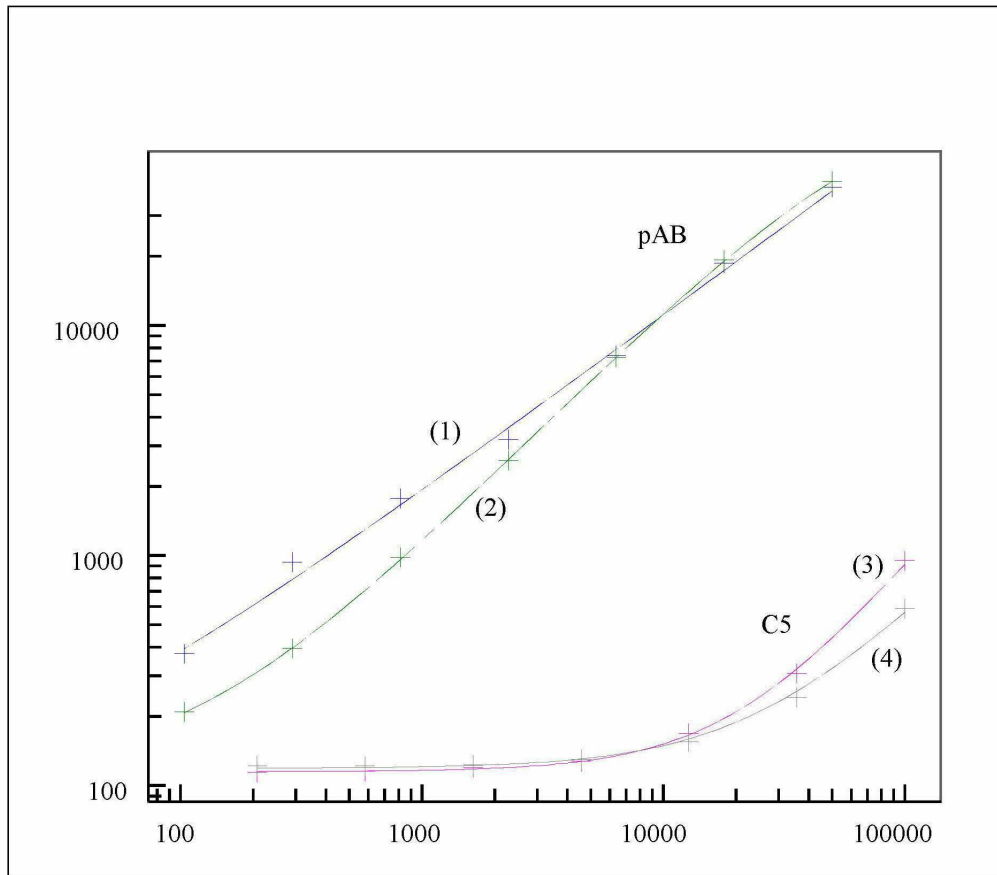
도면14



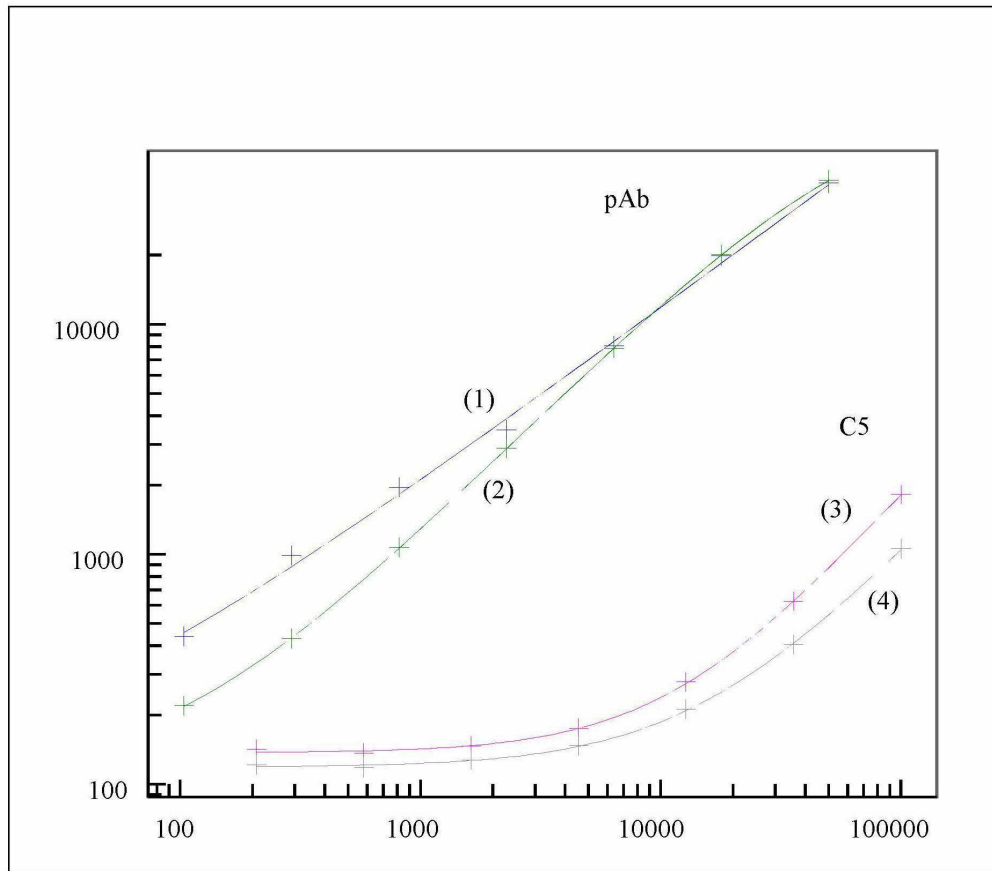
도면15



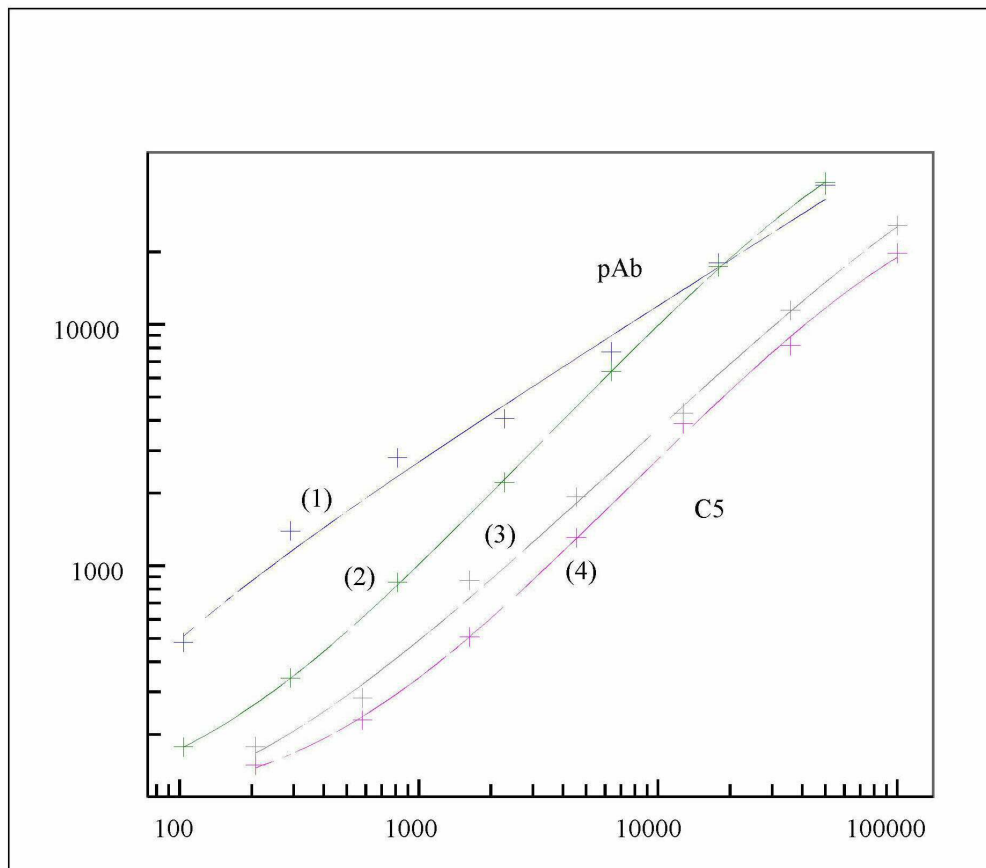
도면16



도면17



도면18



서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> F. Hoffmann-La Roche AG
- <120> Target interference suppressed anti-drug antibody assay
- <130> P34384-W0
- <140> PCT/EP2018/082664
- <141> 2018-11-27
- <150> EP17204316.8
- <151> 2017-11-29
- <160> 116
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- <211> 121
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220><223> CFA0305 VH

<400> 1

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

Leu Ala Val Thr Cys Thr Ala Ser Gly Phe Ser Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Gly Cys Ile Tyr Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
50 55 60

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

Gln Met Thr Ser Leu Thr Val Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala
85 90 95

Ser Asp Gly Gly Tyr Val Thr Pro Thr His Ala Met Tyr Leu Trp Gly
100 105 110

Pro Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0307 VH

<400> 2

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

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

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

Ala Cys Ile Tyr Thr Val Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
50 55 60

Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Thr Leu

65						70						75						80
Gln	Met	Thr	Ser	Leu	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Ala			
					85						90						95	
Arg	Asp	Leu	His	Ala	Gly	Ile	Thr	Asn	Leu	Trp	Gly	Pro	Gly	Thr	Leu			
					100						105						110	
Val	Thr	Val	Ser	Ser														
					115													
<210>	3																	
<211>	122																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial Sequence																	
<220><223>	CFA0366 VH																	
<400>	3																	
Gln	Ser	Leu	Glu	Glu	Ser	Gly	Gly	Asp	Leu	Val	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser			
1					5						10						15	
Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Ala	Ala	Gly	Leu	Asp	Phe	Ser	Ser	Ser	Tyr			
					20						25						30	
Tyr	Met	Cys	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Ile			
					35						40						45	
Ala	Cys	Ile	Tyr	Ala	Gly	Ser	Ser	Gly	Ile	Ile	Tyr	Tyr	Ala	Asn	Trp			
					50						55						60	
Ala	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Pro	Ser	Ser	Thr	Thr	Val	Thr			
65						70						75						80
Leu	Gln	Met	Thr	Ser	Leu	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys			
					85						90						95	
Ala	Thr	Tyr	Pro	Thr	Tyr	Gly	Asp	Gly	Gly	His	Ala	Phe	Asn	Leu	Trp			
					100						105						110	
Gly	Pro	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser									
					115						120							
<210>	4																	
<211>	117																	
<212>	PRT																	

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0501 VH

<400> 4

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

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

65	70	75	80
Thr Ser	Leu Thr	Thr Glu	Asp Thr
		Ala Thr	Tyr Phe
		Cys Ala	Arg Gln
	85	90	95
Ile Tyr	Ser Gly	Asp Asn	Asn Asp
		Asn Phe	Trp Gly
		Pro Gly	Thr Leu
	100	105	110
Val Thr	Val Ser	Ser	
	115		

<210> 5

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0538 VH

<400> 5

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

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

50 55 60
Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Met

65 70 75 80
Thr Ser Leu Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Gln

85 90 95
Ile Tyr Ser Gly Asp Asn Asn Asp Asn Phe Trp Gly Pro Gly Thr Leu

100 105 110
Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 6

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0599 VH

<400> 6

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

1 5 10 15
Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Leu Ser Leu Ser Asp Asn Thr

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

35 40 45
Ile Ile Ser Phe Gly Gly Asp Ala Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60
Arg Phe Pro Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Arg Ile Thr

65 70 75 80
Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Val Gly

85 90 95
Ala Gly Asn Ile Phe Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu

100 105 110
Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 7

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0666 VH

<400> 7

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

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

65	70	75	80
Ser Pro Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asn Asp			
	85	90	95
Gly Ser Val Tyr Asn Leu Phe Asn Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val			
	100	105	110
Thr Val Ser Ser			
	115		

<210> 8

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0672 VH

<400> 8

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

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

35 40 45
Cys Ile Tyr Thr Gly Ser Asp Thr Thr Tyr Tyr Ala Thr Trp Ala Lys
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Lys Ile

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

<210> 9

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0675 VH

<400> 9

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Tyr Ala
20 25 30

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

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

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

Ser Pro Thr Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asn Asp
85 90 95

Gly Ser Val Tyr Asn Leu Phe Asn Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 10

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L05 VH

<400> 10

Gln 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 Ser His Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Ser Asp Gly Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 11

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0305 VL

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Lys Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80
Ala Asp Ala Val Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Phe Val Gly Ser Ser
85 90 95
Tyr Gly Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 12

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0307 VL

<400> 12

Ala Ile Glu Met Thr Gln Thr Pro Phe Ser Val Ser Ala Ala Val Gly
1 5 10 15

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

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly Tyr Ser Tyr Ser Asn
85 90 95
Val Asp Asp Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 13

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0366 VL

<400> 13

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Ser Ser

20 25 30

Asp Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Pro Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val

65 70 75 80

Gln Cys Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gly Thr Tyr Tyr Ser

85 90 95

Ser Gly Trp Tyr Phe Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys

100 105 110

<210> 14

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0501 VL

<400> 14

Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ala Val Gly

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Cys

65 70 75 80
 Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Ser Asn
 85 90 95

Val Asp Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Val Val Glu
 100 105 110

<210> 15

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0538 VL

<400> 15

Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ala Val Gly
 1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp
 20 25 30

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

 35 40 45
 Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly

50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Gly Val Glu Cys

65 70 75 80
 Asp Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Ser Asn

 85 90 95
 Val Asp Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Thr Val Val Val Glu

 100 105 110

<210> 16

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0599 VL

<400> 16

Ala Tyr Asp Met Thr Gln Thr Pro Ala Ser Val Glu Val Ser Val Gly

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

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

<210> 17

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0666 VL

<400> 17

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

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

100 105 110

<210> 18

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0672 VL

<400> 18

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Leu

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Cys Thr Ala Tyr Gly Ser Ser

85 90 95

Asp Val Gly Gly Thr Phe Gly Gly Gly Thr Thr Val Val Val Glu

100 105 110

<210> 19

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0675 VL

<400> 19

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ala

20 25 30

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

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

50 55 60
Ser Arg Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys

65 70 75 80
Ala Asp Ala Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Asp Ile Asn Ser

85 90 95
Val Asp Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Val Val Glu

100 105 110

<210> 20

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L05 VL

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Thr Lys Val Gly Ser Ser

85 90 95

Tyr Gly Asn His Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 21

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0330 VH

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Thr Gly Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 22

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0341 VH

<400> 22

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Ser Tyr Thr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ile His Ser Phe Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala Lys Gly

50 55 60
 Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Thr Val Asp Leu Glu Ile Thr
 65 70 75 80
 Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Asp Val

85 90 95
 Gly Gly Ser Ser Gly Trp Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110
 Val Ser Ser

115

<210> 23

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0329 VH

<400> 23

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

20 25 30
 Tyr Met Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

Gly Cys Ile Gly Thr Ile Ser Asp Ser Thr Tyr Tyr Ala Ser Trp Ala
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Pro Ile Ser Lys Ala Ser Ser Thr Thr Val Thr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95
 Arg Asp Pro Tyr Ser Tyr Gly Asp Leu Trp Gly Pro Gly Thr Leu Val
 100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 24

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0330 VL

<400> 24

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Gln Ser Ile Gly Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Glu Pro Thr Leu Thr Asn Thr Leu Thr Ile Ser

65 70 75 80

Gly Val Gln Cys Ala Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Gly Trp

85 90 95

Tyr Gly Asn Ser Tyr Val Ala Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val

100 105 110

Val Lys

<210> 25

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0341 VL

<400> 25

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

1 5 10 15

Gly Thr Val Thr Ile Lys Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Asn

20 25 30

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

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

85 90 95
Ser Ser Phe Gly Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 26

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0329 VL

<400> 26

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

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

Tyr Gly Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys
100 105 110

<210> 27

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F760G4

<400> 27

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu

325

<210> 28

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F939G4

<400> 28

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

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

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

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

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

 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Tyr His Val Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu
 325
 <210> 29

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SG402

<400> 29

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

1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110
Glu Phe Arg Gly Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Pro
 325

<210

> 30

<211> 1676

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> human C5

<400> 30

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

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

325 330 335
 Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr
 340 345 350
 Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro
 355 360 365
 Tyr Pro Ile Lys Val Gln Val Lys Asp Ser Leu Asp Gln Leu Val Gly

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

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

 500 505 510
 Gly Thr Arg Glu Lys Phe Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
 515 520 525
 Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
 530 535 540
 Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
 545 550 555 560
 Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser

 565 570 575

Pro Asp Ala Asp Ala Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
580 585 590

Ala Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Ala Ala Val Asp Ser Ala
595 600 605

Val Tyr Gly Val Gln Arg Gly Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
610 615 620

Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu

625 630 635 640

Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
645 650 655

Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
660 665 670

Leu Arg Pro Arg Arg Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala
675 680 685

Lys Tyr Lys His Ser Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys

690 695 700

Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu
705 710 715 720

Gly Pro Arg Cys Ile Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser
725 730 735

Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg Leu
740 745 750

His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr

755 760 765

Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys
770 775 780

Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Leu Thr Thr Trp Glu Ile Gln
785 790 795 800

Gly Val Gly Ile Ser Asn Thr Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Val Lys
805 810 815

Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser

820 825 830
 Val Val Arg Gly Glu Gln Ile Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr
 835 840 845
 Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly
 850 855 860
 Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser
 865 870 875 880
 Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Ser His Leu Val

 885 890 895
 Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu His Asn Ile Asn Phe
 900 905 910
 Ser Leu Glu Thr Trp Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Thr Leu Arg
 915 920 925
 Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Val Thr Leu
 930 935 940
 Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Ile Ser Arg Arg Lys Glu Phe Pro

 945 950 955 960
 Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Glu Ile Lys Arg Ile
 965 970 975
 Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Ile Leu Ser Ala Val Leu
 980 985 990
 Ser Gln Glu Gly Ile Asn Ile Leu Thr His Leu Pro Lys Gly Ser Ala
 995 1000 1005
 Glu Ala Glu Leu Met Ser Val Val Pro Val Phe Tyr Val Phe His

 1010 1015 1020
 Tyr Leu Glu Thr Gly Asn His Trp Asn Ile Phe His Ser Asp Pro
 1025 1030 1035
 Leu Ile Glu Lys Gln Lys Leu Lys Lys Lys Leu Lys Glu Gly Met
 1040 1045 1050
 Leu Ser Ile Met Ser Tyr Arg Asn Ala Asp Tyr Ser Tyr Ser Val
 1055 1060 1065

Trp Lys Gly Gly Ser Ala Ser Thr Trp Leu Thr Ala Phe Ala Leu

1070 1075 1080

Arg Val Leu Gly Gln Val Asn Lys Tyr Val Glu Gln Asn Gln Asn

1085 1090 1095

Ser Ile Cys Asn Ser Leu Leu Trp Leu Val Glu Asn Tyr Gln Leu

1100 1105 1110

Asp Asn Gly Ser Phe Lys Glu Asn Ser Gln Tyr Gln Pro Ile Lys

1115 1120 1125

Leu Gln Gly Thr Leu Pro Val Glu Ala Arg Glu Asn Ser Leu Tyr

1130 1135 1140

Leu Thr Ala Phe Thr Val Ile Gly Ile Arg Lys Ala Phe Asp Ile

1145 1150 1155

Cys Pro Leu Val Lys Ile Asp Thr Ala Leu Ile Lys Ala Asp Asn

1160 1165 1170

Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ala Gln Ser Thr Phe Thr Leu

1175 1180 1185

Ala Ile Ser Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp Lys Thr His Pro

1190 1195 1200

Gln Phe Arg Ser Ile Val Ser Ala Leu Lys Arg Glu Ala Leu Val

1205 1210 1215

Lys Gly Asn Pro Pro Ile Tyr Arg Phe Trp Lys Asp Asn Leu Gln

1220 1225 1230

His Lys Asp Ser Ser Val Pro Asn Thr Gly Thr Ala Arg Met Val

1235 1240 1245

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

1250 1255 1260

Ile Asn Tyr Val Asn Pro Val Ile Lys Trp Leu Ser Glu Glu Gln

1265 1270 1275

Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp Thr Ile Asn Ala

1280 1285 1290

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

1295 1300 1305
Leu Ser Met Asp Ile Asp Val Ser Tyr Lys His Lys Gly Ala Leu

1310 1315 1320
His Asn Tyr Lys Met Thr Asp Lys Asn Phe Leu Gly Arg Pro Val

1325 1330 1335
Glu Val Leu Leu Asn Asp Asp Leu Ile Val Ser Thr Gly Phe Gly

1340 1345 1350
Ser Gly Leu Ala Thr Val His Val Thr Thr Val Val His Lys Thr

1355 1360 1365
Ser Thr Ser Glu Glu Val Cys Ser Phe Tyr Leu Lys Ile Asp Thr

1370 1375 1380
Gln Asp Ile Glu Ala Ser His Tyr Arg Gly Tyr Gly Asn Ser Asp

1385 1390 1395
Tyr Lys Arg Ile Val Ala Cys Ala Ser Tyr Lys Pro Ser Arg Glu

1400 1405 1410
Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met Asp Ile Ser Leu

1415 1420 1425
Pro Thr Gly Ile Ser Ala Asn Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu Val

1430 1435 1440
Glu Gly Val Asp Gln Leu Phe Thr Asp Tyr Gln Ile Lys Asp Gly

1445 1450 1455
His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser Ser Asp Phe Leu

1460 1465 1470
Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Glu Val Gly Phe Leu

1475 1480 1485
Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His Arg Pro Asp Lys

1490 1495 1500
Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser Thr Ser Asn Ile Lys Ile Gln Lys

1505 1510 1515
Val Cys Glu Gly Ala Ala Cys Lys Cys Val Glu Ala Asp Cys Gly

1520 1525 1530

Gln Met Gln Glu Glu Leu Asp Leu Thr Ile Ser Ala Glu Thr Arg
1535 1540 1545

Lys Gln Thr Ala Cys Lys Pro Glu Ile Ala Tyr Ala Tyr Lys Val
1550 1555 1560

Ser Ile Thr Ser Ile Thr Val Glu Asn Val Phe Val Lys Tyr Lys
1565 1570 1575

Ala Thr Leu Leu Asp Ile Tyr Lys Thr Gly Glu Ala Val Ala Glu
1580 1585 1590

Lys Asp Ser Glu Ile Thr Phe Ile Lys Lys Val Thr Cys Thr Asn
1595 1600 1605

Ala Glu Leu Val Lys Gly Arg Gln Tyr Leu Ile Met Gly Lys Glu
1610 1615 1620

Ala Leu Gln Ile Lys Tyr Asn Phe Ser Phe Arg Tyr Ile Tyr Pro
1625 1630 1635

Leu Asp Ser Leu Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Arg Asp Thr Thr
1640 1645 1650

Cys Ser Ser Cys Gln Ala Phe Leu Ala Asn Leu Asp Glu Phe Ala
1655 1660 1665

Glu Asp Ile Phe Leu Asn Gly Cys
1670 1675

<210> 31
<211> 673
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> human C5, beta chain
<400> 31

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr
1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg
20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu

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

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

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

 Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr
 245 250 255
 Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg
 260 265 270
 Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln
 275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Gln Val Thr Phe Asp Ser Glu
 290 295 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn
 305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe
 325 330 335

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

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro
 355 360 365

Tyr Pro Ile Lys Val Gln Val Lys Asp Ser Leu Asp Gln Leu Val Gly
 370 375 380

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu
 385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Asp Pro Ser Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly
 405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Leu Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu
 420 425 430

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Glu Glu Asn Gln Ala
 435 440 445

Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr
 450 455 460

Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu
 465 470 475 480

His Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
 485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe
 500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Phe Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
 515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr

530 535 540
 Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
 545 550 555 560

 Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
 565 570 575
 Pro Asp Ala Asp Ala Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
 580 585 590
 Ala Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Ala Ala Val Asp Ser Ala
 595 600 605
 Val Tyr Gly Val Gln Arg Gly Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
 610 615 620

Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
 625 630 635 640
 Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
 645 650 655
 Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
 660 665 670
 Leu

<210> 32

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> human C5, MG1

<400> 32

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

Ile	Leu	Thr	Ile	Gln	Pro	Lys	Gln	Leu	Pro	Gly	Gly	Gln	Asn	Pro	Val
65					70					75					80
Ser	Tyr	Val	Tyr	Leu	Glu	Val	Val	Ser	Lys	His	Phe	Ser	Lys	Ser	Lys
				85					90					95	
Arg	Met	Pro	Ile	Thr	Tyr	Asp	Asn	Gly							
			100					105							
<210>	33														
<211>	101														
<212>	PRT														
<213>	Artificial Sequence														
<220><223>	human C5, MG2														
<400>	33														
Phe	Leu	Phe	Ile	His	Thr	Asp	Lys	Pro	Val	Tyr	Thr	Pro	Asp	Gln	Ser

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

65 70 75 80
Tyr Lys Glu Asp Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys
85 90 95
Glu Tyr Val Leu Pro
100

<210>	34
<211>	225
<212>	PRT
<213>	Artificial Sequence
<220><223>	human C5, MG1-MG2

<400> 34

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu

35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe

50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Pro Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser

100 105 110

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

115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg

130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val

145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp Met Val Glu Glu

165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser

180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Lys Ala Lys Tyr Lys Glu Asp

195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu

210 215 220

Pro

225

<210> 35

<211> 1676

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> cynomolgus C5

<400> 35

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu

35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe

50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Gln Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser

100 105 110

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

115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg

130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val

145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Ile Asp Met Val Glu Glu

165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser

180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Gln Ala Lys Tyr Lys Glu Asp

195 200 205

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

450 455 460
 Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu
 465 470 475 480
 Tyr Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile

 485 490 495
 Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe
 500 505 510
 Gly Thr Arg Glu Lys Leu Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
 515 520 525
 Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
 530 535 540
 Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp

 545 550 555 560
 Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
 565 570 575
 Pro Asp Ala Asp Thr Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
 580 585 590
 Val Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Thr Ala Val Asp Ser Ala
 595 600 605
 Val Tyr Gly Val Gln Arg Arg Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe

 610 615 620
 Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
 625 630 635 640
 Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
 645 650 655
 Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
 660 665 670
 Ile Arg Pro Arg Arg Met Leu Gln Glu Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala

 675 680 685
 Lys Tyr Lys His Leu Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Val Arg
 690 695 700

Ile Asn His Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Val
705 710 715 720
Gly Pro Arg Cys Val Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser
725 730 735
Gln Leu Arg Ala Asn Asn Ser His Lys Asp Leu Gln Leu Gly Arg Leu
740 745 750
His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr
755 760 765
Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys
770 775 780
Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Val Thr Thr Trp Glu Ile Gln
785 790 795 800
Gly Val Gly Ile Ser Asn Ser Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Ile Lys
805 810 815
Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser
820 825 830
Val Val Arg Gly Glu Gln Val Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr
835 840 845
Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly
850 855 860
Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser
865 870 875 880
Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Asn His Leu Val
885 890 895
Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu Gln Asn Ile Asn Phe
900 905 910
Ser Leu Glu Thr Ser Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Ser Leu Arg
915 920 925
Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Leu
930 935 940
Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Ile Ser Arg Arg Lys Glu Phe Pro

945 950 955 960
Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Glu Ile Lys Arg Ile
 965 970 975
Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Ile Leu Ser Ala Val Leu
 980 985 990
Ser Arg Glu Gly Ile Asn Ile Leu Thr His Leu Pro Lys Gly Ser Ala

 995 1000 1005
Glu Ala Glu Leu Met Ser Val Val Pro Val Phe Tyr Val Phe His
 1010 1015 1020
Tyr Leu Glu Thr Gly Asn His Trp Asn Ile Phe His Ser Asp Pro
 1025 1030 1035
Leu Ile Glu Lys Arg Asn Leu Glu Lys Lys Leu Lys Glu Gly Met
 1040 1045 1050
Val Ser Ile Met Ser Tyr Arg Asn Ala Asp Tyr Ser Tyr Ser Val

 1055 1060 1065
Trp Lys Gly Gly Ser Ala Ser Thr Trp Leu Thr Ala Phe Ala Leu
 1070 1075 1080
Arg Val Leu Gly Gln Val His Lys Tyr Val Glu Gln Asn Gln Asn
 1085 1090 1095
Ser Ile Cys Asn Ser Leu Leu Trp Leu Val Glu Asn Tyr Gln Leu
 1100 1105 1110
Asp Asn Gly Ser Phe Lys Glu Asn Ser Gln Tyr Gln Pro Ile Lys

 1115 1120 1125
Leu Gln Gly Thr Leu Pro Val Glu Ala Arg Glu Asn Ser Leu Tyr
 1130 1135 1140
Leu Thr Ala Phe Thr Val Ile Gly Ile Arg Lys Ala Phe Asp Ile
 1145 1150 1155
Cys Pro Leu Val Lys Ile Asn Thr Ala Leu Ile Lys Ala Asp Thr
 1160 1165 1170
Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ala Gln Ser Thr Phe Thr Leu

1175 1180 1185

Ala Ile Ser Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp Lys Thr His Pro		
1190	1195	1200
Gln Phe Arg Ser Ile Val Ser Ala Leu Lys Arg Glu Ala Leu Val		
1205	1210	1215
Lys Gly Asn Pro Pro Ile Tyr Arg Phe Trp Lys Asp Ser Leu Gln		
1220	1225	1230
His Lys Asp Ser Ser Val Pro Asn Thr Gly Thr Ala Arg Met Val		
1235	1240	1245
Glu Thr Thr Ala Tyr Ala Leu Leu Thr Ser Leu Asn Leu Lys Asp		
1250	1255	1260
Ile Asn Tyr Val Asn Pro Ile Ile Lys Trp Leu Ser Glu Glu Gln		
1265	1270	1275
Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp Thr Ile Asn Ala		
1280	1285	1290
Ile Glu Gly Leu Thr Glu Tyr Ser Leu Leu Val Lys Gln Leu Arg		
1295	1300	1305
Leu Asn Met Asp Ile Asp Val Ala Tyr Lys His Lys Gly Pro Leu		
1310	1315	1320
His Asn Tyr Lys Met Thr Asp Lys Asn Phe Leu Gly Arg Pro Val		
1325	1330	1335
Glu Val Leu Leu Asn Asp Asp Leu Val Val Ser Thr Gly Phe Gly		
1340	1345	1350
Ser Gly Leu Ala Thr Val His Val Thr Thr Val Val His Lys Thr		
1355	1360	1365
Ser Thr Ser Glu Glu Val Cys Ser Phe Tyr Leu Lys Ile Asp Thr		
1370	1375	1380
Gln Asp Ile Glu Ala Ser His Tyr Arg Gly Tyr Gly Asn Ser Asp		
1385	1390	1395
Tyr Lys Arg Ile Val Ala Cys Ala Ser Tyr Lys Pro Ser Lys Glu		
1400	1405	1410
Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met Asp Ile Ser Leu		

1415	1420	1425
Pro Thr Gly Ile Asn Ala Asn	Glu Glu Asp Leu Lys	Ala Leu Val
1430	1435	1440
Glu Gly Val Asp Gln Leu Phe	Thr Asp Tyr Gln Ile	Lys Asp Gly
1445	1450	1455
His Val Ile Leu Gln Leu Asn	Ser Ile Pro Ser Ser	Asp Phe Leu
1460	1465	1470
Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe	Glu Leu Phe Glu Val	Gly Phe Leu

1475	1480	1485
Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val	Tyr Glu Tyr His Arg	Pro Asp Lys
1490	1495	1500
Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser	Thr Ser Asn Ile Lys	Ile Gln Lys
1505	1510	1515
Val Cys Glu Gly Ala Thr Cys	Lys Cys Ile Glu Ala	Asp Cys Gly
1520	1525	1530
Gln Met Gln Lys Glu Leu Asp	Leu Thr Ile Ser Ala	Glu Thr Arg

1535	1540	1545
Lys Gln Thr Ala Cys Asn Pro	Glu Ile Ala Tyr Ala	Tyr Lys Val
1550	1555	1560
Ile Ile Thr Ser Ile Thr Thr	Glu Asn Val Phe Val	Lys Tyr Lys
1565	1570	1575
Ala Thr Leu Leu Asp Ile Tyr	Lys Thr Gly Glu Ala	Val Ala Glu
1580	1585	1590
Lys Asp Ser Glu Ile Thr Phe	Ile Lys Lys Val Thr	Cys Thr Asn

1595	1600	1605
Ala Glu Leu Val Lys Gly Arg	Gln Tyr Leu Ile Met	Gly Lys Glu
1610	1615	1620
Ala Leu Gln Ile Lys Tyr Asn	Phe Thr Phe Arg Tyr	Ile Tyr Pro
1625	1630	1635
Leu Asp Ser Leu Thr Trp Ile	Glu Tyr Trp Pro Arg	Asp Thr Thr
1640	1645	1650

Cys Ser Ser Cys Gln Ala Phe Leu Ala Asn Leu Asp Glu Phe Ala

1655

1660

1665

Glu Asp Ile Phe Leu Asn Gly Cys

1670

1675

<210> 36

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0305 HVR-H1

<400> 36

Ser Ser Tyr Tyr Met Cys

1

5

<210> 37

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0307 HVR-H1

<400> 37

Asn Phe Tyr Tyr Ile Cys

1

5

<210> 38

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0366 HVR-H1

<400> 38

Ser Ser Tyr Tyr Met Cys

1

5

<210> 39

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0501 HVR-H1

<400> 39

Ser Ser Tyr Tyr Met Asn

1 5

<210> 40

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0538 HVR-H1

<400> 40

Ser Ser Tyr Tyr Met Asn

1 5

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0599 HVR-H1

<400> 41

Asp Asn Thr Met Thr

1 5

<210> 42

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0666 HVR-H1

<400> 42

Thr Tyr Ala Met Gly

1 5

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0672 HVR-H1

<400> 43

Gly Asn Ala Ile Asn

1 5
 <210> 44
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CFA0675 HVR-H1
 <400> 44

Thr Tyr Ala Met Gly

1 5
 <210> 45
 <211>
 > 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> 305L05 HVR-H1
 <400> 45

Ser Ser Tyr Tyr Val Ala

1 5
 <210> 46
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CFA0305 HVR-H2
 <400> 46

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

1 5 10 15
 Gly

<210> 47
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CFA0307 HVR-H2
 <400> 47

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

1 5 10 15

Gly

<210> 48

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0366 HVR-H2

<400> 48

Cys Ile Tyr Ala Gly Ser Ser Gly Ile Ile Tyr Tyr Ala Asn Trp Ala

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 49

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0501 HVR-H2

<400> 49

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

1 5 10 15

<210> 50

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0538 HVR-H2

<400> 50

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

1 5 10 15

<210> 51

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0599 HVR-H2

<400> 51

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

1 5 10 15

<210> 52

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0666 HVR-H2

<400> 52

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

1 5 10 15

<210> 53

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0672 HVR-H2

<400> 53

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

1 5 10 15

Gly

<210> 54

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0675 HVR-H2

<400> 54

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

1 5 10 15

<210> 55

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L05 HVR-H2

<400> 55

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

1 5 10 15

Gly

<210> 56

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0305 HVR-H3

<400> 56

Asp Gly Gly Tyr Val Thr Pro Thr His Ala Met Tyr Leu

1 5 10

<210> 57

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0307 HVR-H3

<400> 57

Asp Leu His Ala Gly Ile Thr Asn Leu

1 5

<210> 58

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0366 HVR-H3

<400> 58

Tyr Pro Thr Tyr Gly Asp Gly Gly His Ala Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0501 HVR-H3

<400> 59

Gln Ile Tyr Ser Gly Asp Asn Asn Asp Asn Phe

1 5 10

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0538 HVR-H3

<400> 60

Gln Ile Tyr Ser Gly Asp Asn Asn Asp Asn Phe

1 5 10

<210> 61

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0599 HVR-H3

<400> 61

Val Gly Ala Gly Asn Ile Phe Trp Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0666 HVR-H3

<400> 62

Asn Asp Gly Ser Val Tyr Asn Leu Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 63

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0672 HVR-H3

<400> 63

Gly Ser Gly Leu

1

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0675 HVR-H3

<400> 64

Asn Asp Gly Ser Val Tyr Asn Leu Phe Asn Leu

1 5 10

<210> 65

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L05 HVR-H3

<400> 65

Asp Gly Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr

1 5 10

<210> 66

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0305 HVR-L1

<400> 66

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Gly Ser Asp Leu Ala

1 5 10

<210> 67

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0307 HVR-L1

<400> 67

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 68

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0366 HVR-L1

<400> 68

Gln Ser Ser Gln Ser Val Tyr Ser Ser Asp Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0501 HVR-L1

<400> 69

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0538 HVR-L1

<400> 70

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Ser Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0599 HVR-L1

<400> 71

Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0666 HVR-L1

<400> 72

Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ala Leu Ser

1 5 10

<210> 73

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0672 HVR-L1

<400> 73

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Tyr Ser Leu Leu Ala

1 5 10

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0675 HVR-L1

<400> 74

Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ala Leu Ser

1 5 10

<210> 75

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L05 HVR-L1

<400> 75

Gln Ala Ser Gln Asn Ile Gly Ser Ser Leu Ala

1 5 10

<210> 76

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0305 HVR-L2

<400> 76

Gly Ala Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 77

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0307 HVR-L2

<400> 77

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 78

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0366 HVR-L2

<400> 78

Glu Ala Ser Lys Leu Ala Ser

1 5

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0501 HVR-L2

<400> 79

Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 80

<211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CFA0538 HVR-L2
 <400> 80
 Arg Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 81
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CFA0599 HVR-L2
 <400> 81
 Ser Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 82
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CFA0666 HVR-L2
 <400> 82
 Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 83
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CFA0672 HVR-L2
 <400> 83
 His Thr Ser Asp Leu Ala Ser
 1 5
 <210> 84
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0675 HVR-L2

<400> 84

Tyr Ala Ser Thr Leu Ala Ser

1 5

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L05 HVR-L2

<400> 85

Gly Ala Ser Lys Thr His Ser

1 5

<210> 86

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0305 HVR-L3

<400> 86

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

1 5 10

<210> 87

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0307 HVR-L3

<400> 87

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

1 5 10

<210> 88

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0366 HVR-L3

<400> 88

Gln Gly Thr Tyr Tyr Ser Ser Gly Trp Tyr Phe Ala

1 5 10

<210> 89

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0501 HVR-L3

<400> 89

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Ser Asn Val Asp Asn Thr

1 5 10

<210> 90

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0538 HVR-L3

<400> 90

Gln Gln Asp Tyr Ser Ser Ser Asn Val Asp Asn Thr

1 5 10

<210> 91

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0599 HVR-L3

<400> 91

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Thr Asn Val His Asn Ser

1 5 10

<210> 92

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0666 HVR-L3

<400>

> 92

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

1 5 10

<210> 93

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0672 HVR-L3

<400> 93

Gln Cys Thr Ala Tyr Gly Ser Ser Asp Val Gly Gly Thr

1 5 10

<210> 94

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFA0675 HVR-L3

<400> 94

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

1 5 10

<210> 95

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L05 HVR-L3

<400> 95

Gln Ser Thr Lys Val Gly Ser Ser Tyr Gly Asn His

1 5 10

<210> 96

<211> 1680

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mouse C5

<400> 96

Met Gly Leu Trp Gly Ile Leu Cys Leu Leu Ile Phe Leu Asp Lys Thr

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

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

 Ser Pro Val Ser His Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser
 100 105 110
 Lys Ser Lys Lys Ile Pro Ile Thr Tyr Asn Asn Gly Ile Leu Phe Ile
 115 120 125
 His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Ile Arg
 130 135 140
 Val Tyr Ser Leu Gly Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val
 145 150 155 160

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

 Pro Arg Phe Ser Val Ser Ile Glu Leu Glu Arg Thr Phe Ile Gly Tyr
 225 230 235 240
 Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Val Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr
 245 250 255

Asn Lys Val Val Pro Asp Ala Glu Val Tyr Ala Phe Phe Gly Leu Arg
 260 265 270
 Glu Asp Ile Lys Asp Glu Glu Lys Gln Met Met His Lys Ala Thr Gln
 275 280 285

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

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

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

 Tyr Leu Asn Ile Met Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
 485 490 495
 Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Val Gln Tyr

500 505 510
 Gly Thr Arg Glu Lys Leu Phe Ser Ser Thr Tyr Gln Asn Ile Asn Ile
 515 520 525
 Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ala Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
 530 535 540

 Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ala Asp Ala Val Trp
 545 550 555 560
 Ile Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
 565 570 575
 Pro Asp Glu Tyr Val Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asp Met
 580 585 590
 Val Thr Glu Ala Asp Ser Trp Val Ala Leu Ser Ala Val Asp Arg Ala
 595 600 605

 Val Tyr Lys Val Gln Gly Asn Ala Lys Arg Ala Met Gln Arg Val Phe
 610 615 620
 Gln Ala Leu Asp Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly
 625 630 635 640
 His Asp Asn Ala Asp Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr
 645 650 655
 Asn Ala Asn Ala Asp Asp Ser His Tyr Arg Asp Asp Ser Cys Lys Glu
 660 665 670

 Ile Leu Arg Ser Lys Arg Asn Leu His Leu Leu Arg Gln Lys Ile Glu
 675 680 685
 Glu Gln Ala Ala Lys Tyr Lys His Ser Val Pro Lys Lys Cys Cys Tyr
 690 695 700
 Asp Gly Ala Arg Val Asn Phe Tyr Glu Thr Cys Glu Glu Arg Val Ala
 705 710 715 720
 Arg Val Thr Ile Gly Pro Leu Cys Ile Arg Ala Phe Asn Glu Cys Cys
 725 730 735

 Thr Ile Ala Asn Lys Ile Arg Lys Glu Ser Pro His Lys Pro Val Gln
 740 745 750

Leu Gly Arg Ile His Ile Lys Thr Leu Leu Pro Val Met Lys Ala Asp
755 760 765
Ile Arg Ser Tyr Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Ile His Arg Val
770 775 780
Pro Lys Arg Lys Gln Leu Gln Val Thr Leu Pro Asp Ser Leu Thr Thr
785 790 795 800

Trp Glu Ile Gln Gly Ile Gly Ile Ser Asp Asn Gly Ile Cys Val Ala
805 810 815
Asp Thr Leu Lys Ala Lys Val Phe Lys Glu Val Phe Leu Glu Met Asn
820 825 830
Ile Pro Tyr Ser Val Val Arg Gly Glu Gln Ile Gln Leu Lys Gly Thr
835 840 845
Val Tyr Asn Tyr Met Thr Ser Gly Thr Lys Phe Cys Val Lys Met Ser
850 855 860

Ala Val Glu Gly Ile Cys Thr Ser Gly Ser Ser Ala Ala Ser Leu His
865 870 875 880
Thr Ser Arg Pro Ser Arg Cys Val Phe Gln Arg Ile Glu Gly Ser Ser
885 890 895
Ser His Leu Val Thr Phe Thr Leu Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu His
900 905 910
Ser Ile Asn Phe Ser Leu Glu Thr Ser Phe Gly Lys Asp Ile Leu Val
915 920 925

Lys Thr Leu Arg Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ala
930 935 940
Gly Val Ile Leu Asp Pro Lys Gly Ile Arg Gly Ile Val Asn Arg Arg
945 950 955 960
Lys Glu Phe Pro Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Lys
965 970 975
Val Glu Arg Ile Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Phe Leu
980 985 990

Ser Thr Val Leu Ser Lys Glu Gly Ile Asn Ile Leu Thr His Leu Pro

995	1000	1005
Lys Gly Ser Ala Glu Ala Glu	Leu Met Ser Ile Ala	Pro Val Phe
1010	1015	1020
Tyr Val Phe His Tyr Leu Glu	Ala Gly Asn His Trp	Asn Ile Phe
1025	1030	1035
Tyr Pro Asp Thr Leu Ser Lys	Arg Gln Ser Leu Glu	Lys Lys Ile
1040	1045	1050
Lys Gln Gly Val Val Ser Val	Met Ser Tyr Arg Asn	Ala Asp Tyr
1055	1060	1065
Ser Tyr Ser Met Trp Lys Gly	Ala Ser Ala Ser Thr	Trp Leu Thr
1070	1075	1080
Ala Phe Ala Leu Arg Val Leu	Gly Gln Val Ala Lys	Tyr Val Lys
1085	1090	1095
Gln Asp Glu Asn Ser Ile Cys	Asn Ser Leu Leu Trp	Leu Val Glu
1100	1105	1110
Lys Cys Gln Leu Glu Asn Gly	Ser Phe Lys Glu Asn	Ser Gln Tyr
1115	1120	1125
Leu Pro Ile Lys Leu Gln Gly	Thr Leu Pro Ala Glu	Ala Gln Glu
1130	1135	1140
Lys Thr Leu Tyr Leu Thr Ala	Phe Ser Val Ile Gly	Ile Arg Lys
1145	1150	1155
Ala Val Asp Ile Cys Pro Thr	Met Lys Ile His Thr	Ala Leu Asp
1160	1165	1170
Lys Ala Asp Ser Phe Leu Leu	Glu Asn Thr Leu Pro	Ser Lys Ser
1175	1180	1185
Thr Phe Thr Leu Ala Ile Val	Ala Tyr Ala Leu Ser	Leu Gly Asp
1190	1195	1200
Arg Thr His Pro Arg Phe Arg	Leu Ile Val Ser Ala	Leu Arg Lys
1205	1210	1215
Glu Ala Phe Val Lys Gly Asp	Pro Pro Ile Tyr Arg	Tyr Trp Arg
1220	1225	1230

Asp Thr	Leu Lys Arg Pro Asp	Ser Ser Val Pro Ser	Ser Gly Thr
1235	1240	1245	
Ala Gly	Met Val Glu Thr Thr	Ala Tyr Ala Leu Leu	Ala Ser Leu
1250	1255	1260	
Lys Leu	Lys Asp Met Asn Tyr	Ala Asn Pro Ile Ile	Lys Trp Leu
1265	1270	1275	
Ser Glu	Glu Gln Arg Tyr Gly	Gly Gly Phe Tyr Ser	Thr Gln Asp
1280	1285	1290	
Thr Ile	Asn Ala Ile Glu Gly	Leu Thr Glu Tyr Ser	Leu Leu Leu
1295	1300	1305	
Lys Gln	Ile His Leu Asp Met	Asp Ile Asn Val Ala	Tyr Lys His
1310	1315	1320	
Glu Gly	Asp Phe His Lys Tyr	Lys Val Thr Glu Lys	His Phe Leu
1325	1330	1335	
Gly Arg	Pro Val Glu Val Ser	Leu Asn Asp Asp Leu	Val Val Ser
1340	1345	1350	
Thr Gly	Tyr Ser Ser Gly Leu	Ala Thr Val Tyr Val	Lys Thr Val
1355	1360	1365	
Val His	Lys Ile Ser Val Ser	Glu Glu Phe Cys Ser	Phe Tyr Leu
1370	1375	1380	
Lys Ile	Asp Thr Gln Asp Ile	Glu Ala Ser Ser His	Phe Arg Leu
1385	1390	1395	
Ser Asp	Ser Gly Phe Lys Arg	Ile Ile Ala Cys Ala	Ser Tyr Lys
1400	1405	1410	
Pro Ser	Lys Glu Glu Ser Thr	Ser Gly Ser Ser His	Ala Val Met
1415	1420	1425	
Asp Ile	Ser Leu Pro Thr Gly	Ile Gly Ala Asn Glu	Glu Asp Leu
1430	1435	1440	
Arg Ala	Leu Val Glu Gly Val	Asp Gln Leu Leu Thr	Asp Tyr Gln
1445	1450	1455	
Ile Lys	Asp Gly His Val Ile	Leu Gln Leu Asn Ser	Ile Pro Ser

1460	1465	1470
Arg Asp Phe Leu Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Gln		
1475	1480	1485
Val Gly Phe Leu Asn Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His		
1490	1495	1500
Arg Pro Asp Lys Gln Cys Thr Met Ile Tyr Ser Ile Ser Asp Thr		
1505	1510	1515
Arg Leu Gln Lys Val Cys Glu Gly Ala Ala Cys Thr Cys Val Glu		
1520	1525	1530
Ala Asp Cys Ala Gln Leu Gln Ala Glu Val Asp Leu Ala Ile Ser		
1535	1540	1545
Ala Asp Ser Arg Lys Glu Lys Ala Cys Lys Pro Glu Thr Ala Tyr		
1550	1555	1560
Ala Tyr Lys Val Arg Ile Thr Ser Ala Thr Glu Glu Asn Val Phe		
1565	1570	1575
Val Lys Tyr Thr Ala Thr Leu Leu Val Thr Tyr Lys Thr Gly Glu		
1580	1585	1590
Ala Ala Asp Glu Asn Ser Glu Val Thr Phe Ile Lys Lys Met Ser		
1595	1600	1605
Cys Thr Asn Ala Asn Leu Val Lys Gly Lys Gln Tyr Leu Ile Met		
1610	1615	1620
Gly Lys Glu Val Leu Gln Ile Lys His Asn Phe Ser Phe Lys Tyr		
1625	1630	1635
Ile Tyr Pro Leu Asp Ser Ser Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Thr		
1640	1645	1650
Asp Thr Thr Cys Pro Ser Cys Gln Ala Phe Val Glu Asn Leu Asn		
1655	1660	1665
Asn Phe Ala Glu Asp Leu Phe Leu Asn Ser Cys Glu		
1670	1675	1680
<210> 97		
<211> 123		

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L015 VH

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Gly Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 98

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L016 VH

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Gly Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp
50 55 60

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

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

Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 99

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L018 VH

<400> 99

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

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

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

35 40 45
Val Gly Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp

50 55 60
Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80
Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95
Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr

100 105 110
Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 100

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L019, 20, 22 VH

<400> 100

Gln 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 Val His Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Val Gly Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 101

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L023 VH

<400> 101

Gln 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 Val His Ser Ser

20 25 30

Tyr Tyr Met Ala Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Val Ser Gly Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Lys Ala Glu Trp
 50 55 60
 Ala Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val
 65 70 75 80
 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Ser Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 102

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L015, 16, 18, 19 VL

<400> 102

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 Gly Ile Ser Ser Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

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

100 105 110

<210> 103

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L020 VL

<400> 103

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 Gly Ile Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Gly Asn Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 104

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L022, 23 VL

<400> 104

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 Gly Ile Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45
Tyr Gly Ala Ser Thr Thr Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

<210> 105

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SG115

<400> 105

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

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

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

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130

135

140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145

150

155

160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165

170

175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180

185

190

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

195

200

205

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

210

215

220

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

225

230

235

240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245

250

255

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

260

265

270

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

275

280

285

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

290

295

300

Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr

305

310

315

320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 106

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SG422

<400> 106

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Arg Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 107

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SG429

<400> 107

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

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

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

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

290 295 300
 Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu
 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L015, 16, 18, 19, 20, 22, 23 HVR-H1

<400> 108

Ser Ser Tyr Tyr Met Ala

1 5

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L015, 18, 19, 20, 22 HVR-H2

<400> 109

Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp Ala Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L016 HVR-H2

<400> 110

Ala Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Glu Tyr Lys Ala Glu Trp Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L023 HVR-H2

<400>

> 111

Gly Ile Phe Thr Gly Ser Gly Ala Thr Tyr Lys Ala Glu Trp Ala Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 112

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L015, 16, 18, 19, 20, 22, 23 HVR-H3

<400> 112

Asp Ala Gly Tyr Asp Tyr Pro Thr His Ala Met His Tyr

1 5 10

<210> 113

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L015, 16, 18, 19, 20, 22, 23 HVR-L1

<400> 113

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ser Leu Ala

1 5 10

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L015, 16, 18, 19, 20 HVR-L2

<400> 114

Gly Ala Ser Glu Thr Glu Ser

1 5

<210> 115

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L022, 23 HVR-L2

<400> 115

Gly Ala Ser Thr Thr Gln Ser

1 5

<210> 116

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 305L015, 16, 18, 19, 20, 22, 23 HVR-L3

<400> 116

Gln Asn Thr Lys Val Gly Ser Ser Tyr Gly Asn Thr

1 5 10