



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년11월16일
(11) 등록번호 10-2603010
(24) 등록일자 2023년11월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) C12N 15/85 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61P 37/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2022-7029604(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년03월09일
심사청구일자 2022년09월26일
(85) 번역문제출일자 2022년08월26일
(65) 공개번호 10-2022-0123344
(43) 공개일자 2022년09월06일
(62) 원출원 특허 10-2018-7028675
원출원일자(국제) 2017년03월09일
심사청구일자 2020년03월06일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/021616
(87) 국제공개번호 WO 2017/156298
국제공개일자 2017년09월14일
(30) 우선권주장
62/306,125 2016년03월10일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020140053232 A*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
비엘라 바이오, 인크.
미국 메릴랜드 20878, 게이터스버그, 원 메디문웨이
(72) 발명자
부스던 캐서린 앤
영국 씨비21 6지에이치 캠프리지 그랜타 파크 밀스타인 빌딩 메디문 리미티드 내
다우스웨이트 줄리 앤
영국 씨비21 6지에이치 캠프리지 그랜타 파크 밀스타인 빌딩 메디문 리미티드 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 19 항

심사관 : 김중호

(54) 발명의 명칭 ILT7 결합 분자 및 이의 사용 방법

(57) 요약

본 발명은 ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항-ILT7 항체, 및 ILT7 발현 세포와 관련된 상태 및 질환, 예컨대, 자가면역 질환을 치료하거나 예방하는 방법에 관한 것이다.

대표도

정렬 VH:

#28-VH	QVQLQQSGAELVKPGASVKMSCKAFGYTFTTYP	IEWMKQNHGKSLEWIGNFHPYNDDTKY	60		
10D10-VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	TYPIEWVRQAPQG	GLEWIGNFHLYNDDTKY 60		
7C7-VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS	YPIEWVRQAPQG	GLEWIGNFHPYNDDTKY 60		
#28-VH	NEKFKGKAKLTVEKSSSTVYLELSRLTSDDSAVYYCARGDDY	GMDYWGQGT	SVTVSS 117		
10D10-VH	NEKFKGRVTMTDTSTSTVYME	SSLRSED	TAVYYCTR	GDDYWGQGT	TLTVSS 117
7C7-VH	NEKFKGRVTMTDTSTSTVYME	SSLRSED	TAVYYCTR	GDDYGLDYWGQGT	TLTVSS 117

(52) CPC특허분류

C12N 15/85 (2013.01)

G01N 33/68 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

C07K 2317/21 (2013.01)

C07K 2317/24 (2013.01)

C07K 2317/30 (2013.01)

C07K 2317/41 (2013.01)

C07K 2317/52 (2013.01)

C07K 2317/732 (2013.01)

(72) 발명자

담슈로더 멜리사 마리

미국 20878 메릴랜드주 게이더스버그 원 메디문 웨
이 메디문 엘엘씨 내

산주안 미구엘 엔젤

미국 20878 메릴랜드주 게이더스버그 원 메디문 웨
이 메디문 엘엘씨 내

명세서

청구범위

청구항 1

만성 류마티즘의 치료 또는 예방을 위한 약제의 제조에 사용하기 위한 항-면역글로불린 유사 전사체-7(ILT7) 항체를 포함하는 약학 조성물로서, 상기 만성 류마티즘의 치료 또는 예방은 유효량의 항-ILT7 항체를 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 투여하는 것을 포함하고, 상기 투여는 인터페론 알파 및 형질세포양 수지상 세포(pDC) 중 하나 이상의 감소에 효과적이며, 상기 항-ILT7 항체는 상보성 결정 영역(CDR) HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하며, HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3은 각각 서열번호 203, 204, 205, 208, 209 및 210의 아미노산 서열로 이루어지는 것인 약학 조성물.

청구항 2

삭제

청구항 3

제1항에 있어서, 항-ILT7 항체는 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, VH 및 VL 영역은 각각 서열번호 202 및 서열번호 207과 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 4

제3항에 있어서, VH 및 VL 영역은 각각 서열번호 202 및 서열번호 207의 아미노산 서열로 이루어지는 것인 약학 조성물.

청구항 5

제3항에 있어서, 항-ILT7 항체는 IgA 불변 도메인, IgE 불변 도메인, IgG1 불변 도메인, IgG2 불변 도메인, IgG3 불변 도메인, IgG4 불변 도메인, 및 IgM 불변 도메인으로 이루어진 군에서 선택된 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 항-ILT7 항체는 IgG1 불변 도메인을 포함하는 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 7

제3항에 있어서, 항-ILT7 항체는 Ig 카파 불변 도메인 및 Ig 람다 불변 도메인으로 이루어진 군에서 선택된 경쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 항-ILT7 항체는 Ig 람다 불변 도메인을 포함하는 경쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 9

제1항에 있어서, 항-ILT7 항체는 단일클론 항체인 것인 약학 조성물.

청구항 10

제1항에 있어서, 항-ILT7 항체는 인간 항체인 것인 약학 조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 만성 류마티즘의 치료 또는 예방은, 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체 또는 이로부터 얻은

샘플을, 자기 공명 영상화(MRI) 스캔, x-방사선촬영 영상화, 컴퓨터 단층촬영(CT) 스캔, 유세포분석 또는 형광-활성화된 세포 분류기(FACS) 분석, 조직학, 육안 병리학 및 혈액 화학으로 이루어진 군에서 선택된 테스트를 통해 평가하는 것을 추가로 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 투여는 pDC의 수준을 감소시키고, pDC의 감소된 수준은 투여 후 적어도 5일 동안 유지되는 것인 약학 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서, 투여는 인터페론 알파의 수준을 감소시키고, 인터페론 알파의 감소된 수준은 투여 후 적어도 5일 동안 유지되는 것인 약학 조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체는 인간인 것인 약학 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체는 비인간인 것인 약학 조성물.

청구항 16

제1항에 있어서, 항-ILT7 항체는 비푸코실화된(afucosylated) 것인 약학 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 투여는 주입에 의한 것인 약학 조성물.

청구항 18

제1항에 있어서, 투여는 반복되는 것인 약학 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 반복되는 투여는 동일 용량을 반복 투여하는 것을 포함하는 것인 약학 조성물.

청구항 20

제1항에 있어서, 대상체는 투여 후 적어도 1개월 동안 완전한 반응을 달성하는 것인 약학 조성물.

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

발명의 설명

기술 분야

- [0001] 전자적으로 제출된 서열목록의 참조
- [0002] 본원과 함께 ASCII 텍스트 파일(명칭 2943_083STRO_SeqListing_ST25.txt; 크기: 143,686; 및 생성일: 2016년 3월 3일)로 전자적으로 제출된 서열목록의 내용은 전체로서 본원에 참고로 도입된다.
- [0003] 발명의 분야
- [0004] 본 발명은 ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항-ILT7 항체 및 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체, 상기 항체 및 단편을 사용하는 방법, 및 ILT7 발현 세포와 관련된 자가면역 질환 및 상태를 치료하거나 예방하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

- [0005] 형질세포양 수지상 세포(pDC)는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 약 0.1% 내지 0.5%만을 구성하는, 말초 혈액 및 이차 림프 기관 내의 상이한 집단의 수지상 세포(DC)이다. 그러나, 이 세포는 I형 인터페론(IFN)의 주요 공급원이기 때문에 면역 시스템의 특히 중요한 조절제이다. I형 IFN은 NK 세포, B 세포, T 세포 및 골수양 수지상 세포의 기능을 촉진한다. 이 IFN은 초기 면역 반응에서 중요하고 항바이러스 및 항종양 활성을 가진다. 그러나,

pDC 및 I형 IFN은 자가면역 질환, 예컨대, 전신 홍반 루푸스, 만성 류마티즘 및 건선의 발생에 있어서도 역할을 하는 것으로 생각된다. 따라서, IFN 방출에 관여하는 분자 경로를 조절하는 방법의 이해는 면역 반응을 제어하고 질환을 치료하고 예방하는 데 유용하다.

[0006] pDC는 pDC의 표면에서 발현된 Toll 유사 수용체(TLR) TLR7 및 TLR9에 의해 감지되는 핵산에 반응하여 IFN을 방출한다. TLR에 의해 유도된 반응은 면역수용체 티로신 기반 활성화 모티프(ITAM)를 함유하는 수용체에 의해 조절된다. LIRA4, LILRA4 또는 CD85g로서도 지칭되는 면역글로불린 유사 전사체-7(ILT7)는 하나의 이러한 수용체이다.

[0007] ILT7은 면역글로불린 유사 전사체(ILT) 또는 백혈구 면역글로불린 유사 수용체(LIR) 유전자 패밀리의 구성원이다. ILT7은 인간 형질세포양 수지상 세포(pDC)의 표면에서 선택적으로 발현되고 골수양 수지상 세포 또는 다른 말초 혈액 백혈구에서는 발현되지 않는다(Cao et al., J. Exp. Medicine 6:1399-1405 (2006)). ILT7은 4개의 면역글로불린 유사 세포의 도메인 및 막통과 도메인을 함유한다. 세포의 부분은 ILT7 리간드인 골수 간질 세포 항원 2(BST2)와 상호작용하는 데 중요하고, ILT7의 막통과 도메인은 이것이 FcεRIγ와 복합체를 형성하게 하는 양으로 하전된 잔기를 함유한다. BST2-ILT7 상호작용은 잠재적으로 음성 피드 백의 기작으로서 pDC의 선천성 면역 기능을 음성적으로 조절한다고 추정된다. 또한, ILT7의 시험관내 항체 가교결합은 pDC에 의한 IFN-알파 및 TNF-알파의 생성을 음성적으로 조절하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, ILT7을 중화시키고 pDC 활성 및 IFN 방출을 조절하기에 유용한 항체 및 다른 ILT7 결합 분자는 예를 들면, 질환, 예컨대, 자가면역 질환의 치료 및 예방을 위해 요구된다.

발명의 내용

[0008] 본원은 ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항-ILT7 항체 및 이의 항원 결합 단편을 제공한다.

[0009] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 서열번호 202의 중쇄 가변 영역(VH) 및 서열번호 207의 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항체와 동일한 ILT7 에피토프에 결합할 수 있는 ILT7 결합 단백질이다.

[0010] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 서열번호 202의 VH 및 서열번호 207의 VL을 포함하는 항체와 ILT7의 결합을 경쟁적으로 억제하는 ILT7 결합 단백질이다.

[0011] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 각각 서열번호 203, 204, 205, 208, 209 및 210의 서열을 포함하는 상보성 결정 영역(CDR) HCDR1, HDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 ILT7 결합 단백질이다.

[0012] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 서열번호 202와 적어도 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 및/또는 서열번호 207과 적어도 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VL을 포함한다.

[0013] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 서열번호 202를 포함하는 VH 및 서열번호 207을 포함하는 VL을 포함한다.

[0014] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 서열번호 202를 포함하는 VH를 포함하는 ILT7 결합 단백질이다.

[0015] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 서열번호 207을 포함하는 VH를 포함하는 ILT7 결합 단백질이다.

[0016] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 각각 서열번호 12 및 서열번호 17; 각각 서열번호 22 및 서열번호 27; 각각 서열번호 32 및 서열번호 37; 각각 서열번호 42 및 서열번호 47; 각각 서열번호 52 및 서열번호 57; 각각 서열번호 62 및 서열번호 67; 각각 서열번호 72 및 서열번호 77; 각각 서열번호 82 및 서열번호 87; 각각 서열번호 92 및 서열번호 97; 각각 서열번호 102 및 서열번호 107; 각각 서열번호 112 및 서열번호 117; 각각 서열번호 122 및 서열번호 127; 각각 서열번호 132 및 서열번호 137; 각각 서열번호 142 및 서열번호 147; 각각 서열번호 152 및 서열번호 157; 각각 서열번호 162 및 서열번호 167; 각각 서열번호 172 및 서열번호 177; 각각 서열번호 182 및 서열번호 187; 각각 서열번호 192 및 서열번호 197; 각각 서열번호 212 및 서열번호 217; 각각 서열번호 222 및 서열번호 227; 각각 서열번호 232 및 서열번호 237; 및 각각 서열번호 242 및 서열번호 247로 구성된 군으로부터 선택된 VH 및 VL을 포함하는 항체와 동일한 ILT7 에피토프에 결합할 수 있는 ILT7 결합 단백질이다.

[0017] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 각각 서열번호 12 및 서열번호 17; 각각 서열번호 22 및 서열번호 27; 각각 서열번호 32 및 서열번호 37; 각각 서열번호 42 및 서열번호 47; 각각 서열번호 52 및 서열번호 57; 각각 서열번호 62 및 서열번호 67; 각각 서열번호 72 및 서열번호 77; 각각 서열번호 82 및 서열번호 87; 각각 서열번호 92 및 서열번호 97; 각각 서열번호 102 및 서열번호 107; 각각 서열번호 112 및 서열번호 117; 각각 서열번호 122 및 서열번호 127; 각각 서열번호 132 및 서열번호 137; 각각 서열번호 142 및 서열번호 147; 각각 서

열번호 152 및 서열번호 157; 각각 서열번호 162 및 서열번호 167; 각각 서열번호 172 및 서열번호 177; 각각 서열번호 182 및 서열번호 187; 각각 서열번호 192 및 서열번호 197; 각각 서열번호 212 및 서열번호 217; 각각 서열번호 222 및 서열번호 227; 각각 서열번호 232 및 서열번호 237; 및 각각 서열번호 242 및 서열번호 247로 구성된 군으로부터 선택된 VH 및 VL을 포함하는 항체와 ILT7의 결합을 경쟁적으로 억제하는 ILT7 결합 단백질이다.

[0018] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 각각 서열번호 13, 14, 15, 18, 19 및 20; 각각 서열번호 23, 24, 25, 28, 29 및 30; 각각 서열번호 33, 34, 35, 38, 39 및 40; 각각 서열번호 103, 104, 105, 108, 109 및 110; 각각 서열번호 213, 214, 215, 218, 219 및 220; 각각 서열번호 223, 224, 225, 228, 229 및 230; 각각 서열번호 233, 234, 235, 238, 239 및 240; 및 각각 서열번호 243, 244, 245, 248, 249 및 250으로 구성된 군으로부터 선택된 CDR인 HCDR1, HDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 ILT7 결합 단백질이다.

[0019] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 각각 서열번호 12 및 서열번호 17; 각각 서열번호 22 및 서열번호 27; 각각 서열번호 32 및 서열번호 37; 각각 서열번호 42 및 서열번호 47; 각각 서열번호 52 및 서열번호 57; 각각 서열번호 62 및 서열번호 67; 각각 서열번호 72 및 서열번호 77; 각각 서열번호 82 및 서열번호 87; 각각 서열번호 92 및 서열번호 97; 각각 서열번호 102 및 서열번호 107; 각각 서열번호 112 및 서열번호 117; 각각 서열번호 122 및 서열번호 127; 각각 서열번호 132 및 서열번호 137; 각각 서열번호 142 및 서열번호 147; 각각 서열번호 152 및 서열번호 157; 각각 서열번호 162 및 서열번호 167; 각각 서열번호 172 및 서열번호 177; 각각 서열번호 182 및 서열번호 187; 각각 서열번호 192 및 서열번호 197; 각각 서열번호 212 및 서열번호 217; 각각 서열번호 222 및 서열번호 227; 각각 서열번호 232 및 서열번호 237; 또는 각각 서열번호 242 및 서열번호 247과 적어도 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 VH 및 VL을 포함한다.

[0020] 한 경우에서, VH 및 VL은 각각 서열번호 12 및 서열번호 17; 각각 서열번호 22 및 서열번호 27; 각각 서열번호 32 및 서열번호 37; 각각 서열번호 42 및 서열번호 47; 각각 서열번호 52 및 서열번호 57; 각각 서열번호 62 및 서열번호 67; 각각 서열번호 72 및 서열번호 77; 각각 서열번호 82 및 서열번호 87; 각각 서열번호 92 및 서열번호 97; 각각 서열번호 102 및 서열번호 107; 각각 서열번호 112 및 서열번호 117; 각각 서열번호 122 및 서열번호 127; 각각 서열번호 132 및 서열번호 137; 각각 서열번호 142 및 서열번호 147; 각각 서열번호 152 및 서열번호 157; 각각 서열번호 162 및 서열번호 167; 각각 서열번호 172 및 서열번호 177; 각각 서열번호 182 및 서열번호 187; 각각 서열번호 192 및 서열번호 197; 각각 서열번호 212 및 서열번호 217; 각각 서열번호 222 및 서열번호 227; 각각 서열번호 232 및 서열번호 237; 또는 각각 서열번호 242 및 서열번호 247을 포함한다.

[0021] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 서열번호 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 212, 222, 232 또는 242를 포함하는 VH를 포함한다.

[0022] 한 경우에서, 단리된 ILT7 결합 단백질은 서열번호 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 217, 227, 237 또는 247을 포함하는 VL을 포함한다.

[0023] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다. 한 경우에서, 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 비포코실화된다(afucosylated).

[0024] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 ILT7의 Ig1 영역에 결합한다. 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 ILT7의 Ig2 영역에 결합한다.

[0025] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 인간 및 사이노몰구스 ILT7에 결합한다.

[0026] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)로부터의 인터페론(IFN) 알파 방출을 억제한다. 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 PMBC에서 형질세포양 수지상 세포(pDC)에 대한 ADCC 활성을 가진다.

[0027] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 무린, 인간, 키메라, 인간화된 또는 재표면화된(resurfaced) 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

[0028] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 항체, Fab, Fab', F(ab')₂, Fd, 단일쇄 Fv 또는 scFv, 디설파이드 결합된 Fv, V-NAR 도메인, IgNar, 인트라바디(intrabody), IgGΔCH2, 미니바디(minibody), F(ab')₃, 테트라바디(tetrabody), 트리아바디(triabody), 디아바디(diabody), 단일 도메인 항체, DVD-Ig, Fcab, mAb2, (scFv)₂ 또는 scFv-Fc를 포함한다.

[0029] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 단일클론 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함한다.

- [0030] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 (a) IgA 불변 도메인; (b) IgD 불변 도메인; (c) IgE 불변 도메인; (d) IgG1 불변 도메인; (e) IgG2 불변 도메인; (f) IgG3 불변 도메인; (g) IgG4 불변 도메인; 및 (h) IgM 불변 도메인으로 구성된 군으로부터 선택된 중쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함한다.
- [0031] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 (a) Ig 카파 불변 도메인; 및 (b) Ig 람다 불변 도메인으로 구성된 군으로부터 선택된 경쇄 면역글로불린 불변 도메인을 포함한다.
- [0032] 한 경우에서, ILT7 결합 단백질은 인간 IgG1 불변 도메인 및 인간 람다 불변 도메인을 포함한다.
- [0033] 한 경우에서, 본원은 ILT7 결합 분자를 생성하는 숙주 세포를 제공한다.
- [0034] 한 경우에서, 본원은 서열번호 202, 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 212, 222, 232 또는 242의 VH와 적어도 85%, 90% 또는 95% 동일한, 또는 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH를 코딩하는 핵산을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 한 경우에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 서열번호 201, 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121, 131, 141, 151, 161, 171, 181, 191, 211, 221, 231 또는 241과 적어도 85%, 90% 또는 95% 동일한, 또는 동일한 서열을 포함한다.
- [0035] 한 경우에서, 본원은 서열번호 207, 17, 27, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 217, 227, 237 또는 247의 VL과 적어도 85%, 90% 또는 95% 동일한, 또는 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 코딩하는 핵산을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 한 경우에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 서열번호 206, 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 216, 226, 236 또는 246과 적어도 85%, 90% 또는 95% 동일한, 또는 동일한 서열을 포함한다.
- [0036] 한 경우에서, 핵산은 제어 서열에 작동가능하게 연결된다. 한 경우에서, 상기 핵산에 의해 코딩된 VH 또는 VL을 포함하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 ILT7에 특이적으로 결합할 수 있다.
- [0037] 한 경우에서, 폴리뉴클레오타이드는 본원에서 제공된 ILT7 결합 분자를 코딩한다.
- [0038] 한 경우에서, 본원은 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0039] 한 경우에서, 본원은 상기 폴리뉴클레오타이드에 의해 코딩된 폴리펩타이드를 제공한다.
- [0040] 한 경우에서, 본원은 본원에서 제공된 폴리뉴클레오타이드(예를 들면, VH를 코딩하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 및 VL을 코딩하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오타이드)로 형질전환된 숙주 세포를 제공한다.
- [0041] 한 경우에서, 본원은 본원에서 제공된 폴리뉴클레오타이드(예를 들면, VH를 코딩하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오타이드 및 VL을 코딩하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오타이드), 본원에서 제공된 벡터, 또는 본원에서 제공된 폴리펩타이드를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 한 경우에서, 숙주 세포는 포유동물 숙주 세포이다. 한 경우에서, 숙주 세포는 NS0 뮤린 골수종 세포, PER.C6[®] 인간 세포 또는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포이다. 한 경우에서, 숙주 세포는 효소 α -1,6-푸코실트랜스퍼라제(fucosyltransferase)를 결여한다.
- [0042] 한 경우에서, 본원은 항-ILT7 결합 분자를 제조하는 방법으로서, 본원에서 제공된 숙주 세포를 배양하는 단계 및 상기 결합 분자를 회수하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 한 경우에서, 본원은 상기 방법에 의해 제조된 항-ILT7 결합 분자를 제공한다.
- [0043] 한 경우에서, 본원은 샘플에서 ILT7 발현을 검출하는 방법으로서, (a) 샘플을 본원에서 제공된 ILT7 결합 분자와 접촉시키는 단계 및 (b) 샘플에서 상기 결합 분자의 결합을 검출하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0044] 한 경우에서, 본원은 형질세포양 수지상 세포를 검출하는 방법으로서, (a) 샘플을 본원에서 제공된 ILT7 결합 분자와 접촉시키는 단계 및 (b) 샘플에서 상기 결합 분자의 결합을 검출하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0045] 한 경우에서, 본원은 (a) 본원에서 제공된 ILT7 결합 분자, 본원에서 제공된 폴리뉴클레오타이드, 본원에서 제공된 벡터, 본원에서 제공된 폴리펩타이드, 또는 본원에서 제공된 숙주 세포, 및 (b) 담체를 포함하는 약학 조성물을 제공한다.
- [0046] 한 경우에서, 본원은 형질세포양 수지상 세포로부터의 IFN-알파 방출을 감소시키는 방법으로서, 형질세포양 수지상 세포를 본원에서 제공된 ILT7 결합 분자, 본원에서 제공된 폴리뉴클레오타이드, 본원에서 제공된 벡터, 본원에서 제공된 폴리펩타이드, 본원에서 제공된 숙주 세포, 또는 본원에서 제공된 약학 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0047] 한 경우에서, 본원은 자가면역 질환을 가진 인간 대상체를 치료하는 방법으로서, 본원에서 제공된 ILT7 결합 분자, 본원에서 제공된 폴리뉴클레오타이드, 본원에서 제공된 벡터, 본원에서 제공된 폴리펩타이드, 본원에서 제공된 숙주 세포, 또는 본원에서 제공된 약학 조성물 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0048] 한 경우에서, 본원은 인간 대상체에서 자가면역 질환을 예방하는 방법으로서, 본원에서 제공된 ILT7 결합 분자, 본원에서 제공된 폴리뉴클레오타이드, 본원에서 제공된 벡터, 본원에서 제공된 폴리펩타이드, 본원에서 제공된 숙주 세포, 또는 본원에서 제공된 약학 조성물 유효량을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 한 경우에서, 자가면역 질환은 전신 홍반 루푸스이다. 한 경우에서, 자가면역 질환은 만성 류마티즘이다.

도면의 간단한 설명

[0049] 도 1a 및 1b는 SBI28(#28), 10D10 및 7C7 항체의 가변 중쇄(1A) 및 가변 경쇄(1B) 서열 정렬을 보여준다. 음영은 CDR 서열을 표시한다. 개방된 상자는 7C7을 생성하기 위해 10D10 내로 도입된 돌연변이를 나타낸다.

도 2는 유세포분석에 의해 확인되었을 때 ILT7 항체 및 음성 대조군 항체(R437)와, 인간 ILT7을 발현하는 CT-550 세포의 결합을 보여준다. SBI33은 미국 특허출원 공보 제2009/0280128호에서 제공된 항-ILT7 항체 ILT7#33을 지칭한다.

도 3은 유세포분석에 의해 확인되었을 때 ILT7 항체 및 음성 대조군 항체(R437)와, 사이노물구스 ILT7을 발현하는 CT-125 세포의 결합을 보여준다.

도 4는 인간 ILT7 발현 세포에 대한 ILT7 항체 및 음성 대조군 항체(R437)의 ADCC 효능을 보여준다.

도 5는 사이노물구스 ILT7 발현 세포에 대한 ILT7 항체 및 음성 대조군 항체(R437)의 ADCC 효능을 보여준다.

도 6a 및 6b는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에서 ILT7 항체 및 음성 대조군 항체(R437)와 형질세포양 수지상 세포(pDC)의 결합을 보여준다.

도 7은 유세포분석에 의해 확인되었을 때 비푸코실화된 ILT7 항체 및 이의 모 항체와, 인간(좌측 패널) 및 사이노물구스(우측 패널) ILT7을 발현하는 CT-550 세포의 결합을 보여준다.

도 8은 인간(좌측 패널) 및 사이노물구스(우측 패널) ILT7 발현 세포에 대한 비푸코실화된 ILT7 항체 및 이의 모 항체의 ADCC 효능을 보여준다.

도 9a 및 9b는 7개의 ILT70080 변이체들의 가변 중쇄(9a) 및 가변 경쇄(9b) 서열 정렬을 보여준다. 가장 가까운 생식세포주 서열(IGHV1-69*01 및 IGLV3-21*01)도 정렬에 표시되어 있다.

도 10a 및 10b는 9개의 ILT70083 변이체들의 가변 중쇄(10a) 및 가변 경쇄(10b) 서열 정렬을 보여준다. 가장 가까운 생식세포주 서열(IGHV3-23*01 및 IGLV1-51*01)도 정렬에 표시되어 있다.

도 11은 ILT70080 변이체와, 인간 ILT7을 발현하는 세포(CT-550; 상부 패널) 및 사이노물구스 ILT7을 발현하는 세포(CT-125; 하부 패널)의 결합을 보여준다.

도 12는 ILT70083 변이체와, 인간 ILT7(상부 패널) 또는 사이노물구스 ILT7(하부 패널)을 발현하는 세포의 결합을 보여준다.

도 13은 인간 ILT7 발현 세포에 대한 ILT70080 변이체 항체의 ADCC 효능을 보여준다.

도 14는 인간 ILT7 발현 세포에 대한 ILT70083 변이체 항체의 ADCC 효능을 보여준다.

도 15는 비푸코실화된 ILT70080.6 및 ILT70083 항체와, 인간 ILT7 발현 세포(좌측 패널) 및 사이노물구스 ILT7 발현 세포(우측 패널)의 결합을 보여준다.

도 16은 인간 ILT7 발현 세포(좌측 패널) 및 사이노물구스 ILT7 발현 세포(우측 패널)에 대한 비푸코실화된 ILT70080.6 및 ILT70083 항체의 ADCC 활성을 보여준다.

도 17은 비푸코실화된 ILT70080.6 및 ILT70083 항체에 노출된 인간 PBMC의 세포독성(좌측) 및 IFN- α 분비(우측)를 보여준다.

도 18은 비푸코실화된 ILT70137과, 인간 ILT7(좌측 패널) 또는 사이노몰구스 ILT7(우측 패널)을 발현하는 세포의 결합을 보여준다. 원은 비푸코실화된 ILT70137을 표시하고, 삼각형은 대조군을 표시한다.

도 19는 인간 ILT7(좌측 패널) 또는 사이노몰구스 ILT7(우측 패널)을 발현하는 세포에 대한 비푸코실화된 ILT70137의 ADCC 활성을 보여준다. 삼각형은 비푸코실화된 ILT70137을 표시하고, 원은 대조군을 표시한다.

도 20은 시험관내에서 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 ADCC를 유도하는 항체의 능력의 간접적인 평가로서 IFN- α 와 생성의 억제를 측정함으로써 비푸코실화된 ILT70137의 ADCC 활성을 보여준다.

도 21은 비푸코실화된 ILT70137과 인간 일차 형질세포양 수지상 세포(pDC)의 결합을 보여준다.

도 22는 비푸코실화된 7C7 또는 비푸코실화된 ILT70137로 치료된 사이노몰구스 원숭이에서 pDC 고갈을 보여준다. 그래프 하부의 화살표는 항체 투여의 시점을 표시한다.

도 23은 비푸코실화된 7C7 또는 비푸코실화된 ILT70137를 사용한 치료 후 IFN α 생성을 보여준다. 그래프 하부의 화살표는 항체 투여의 시점을 표시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0050]

I. 정의

[0051]

용어 "한" 또는 "하나의" 물질은 하나 이상의 그 물질을 지칭한다는 것을 인지할 것이다; 예를 들면, "하나의 항-ILT7 항체"는 하나 이상의 항-ILT7 항체를 나타내는 것으로 이해된다. 따라서, 용어 "한"(또는 "하나의"), "하나 이상" 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다.

[0052]

본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "폴리펩타이드"는 단수형 "폴리펩타이드"뿐만 아니라 복수형 "폴리펩타이드들"도 포괄하기 위한 것이고, 아마이드 결합(펩타이드 결합으로서도 공지되어 있음)에 의해 선형으로 연결된 단량체(아미노산)로 구성된 분자를 지칭한다. 용어 "폴리펩타이드"는 2개 이상의 아미노산의 임의의 쇠 또는 쇠들을 지칭하고, 특정 길이의 생성물을 지칭하지 않는다. 따라서, 펩타이드, 디펩타이드, 트리펩타이드, 올리고펩타이드, "단백질", "아미노산", 또는 2개 이상의 아미노산들의 쇠 또는 쇠들을 지칭하기 위해 사용된 임의의 다른 용어는 "폴리펩타이드"의 정의 내에 포함되고, 용어 "폴리펩타이드"는 이 용어들 중 임의의 용어 대신에 또는 이 용어와 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 용어 "폴리펩타이드"는 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아마이드화, 공지된 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질용해 절단, 또는 비천연 생성 아미노산에 의한 변형을 포함하나 이들로 한정되지 않는, 폴리펩타이드의 발현 후 변형의 생성물도 지칭하기 위한 것이다. 폴리펩타이드는 천연 생물학적 공급원으로부터 유래될 수 있거나 재조합 기술에 의해 생성될 수 있으나, 반드시 지정된 핵산 서열로부터 번역될 필요는 없다. 폴리펩타이드는 화학적 합성을 포함하는 임의의 방식으로 생성될 수 있다.

[0053]

본 발명의 폴리펩타이드는 크기가 약 3개 이상, 5개 이상, 10개 이상, 20개 이상, 25개 이상, 50개 이상, 75개 이상, 100개 이상, 200개 이상, 500개 이상, 1,000개 이상 또는 2,000개 이상의 아미노산일 수 있다. 폴리펩타이드는 규정된 3차원 구조를 가질 수 있으나, 반드시 이러한 구조를 가질 필요는 없다. 규정된 3차원 구조를 가진 폴리펩타이드는 폴딩된 폴리펩타이드로서 지칭되고, 규정된 3차원 구조를 갖지 않고 오히려 다수의 상이한 입체구조를 채택할 수 있는 폴리펩타이드는 폴딩되지 않은 폴리펩타이드로서 지칭된다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 당단백질은 아미노산 잔기, 예를 들면, 세린 잔기 또는 아스파라긴 잔기의 산소 함유 또는 질소 함유 측쇄를 통해 단백질에 부착된 적어도 하나의 탄수화물 모이어티에 커플링된 단백질을 지칭한다.

[0054]

"단리된" 폴리펩타이드, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체는 그의 천연 환경에 존재하지 않는 폴리펩타이드를 의미한다. 특정 수준의 정제는 요구되지 않는다. 예를 들면, 단리된 폴리펩타이드는 그의 천연 또는 자연 환경으로부터 제거될 수 있다. 숙주 세포에서 발현된, 재조합적으로 생성된 폴리펩타이드 및 단백질은 임의의 적합한 기법에 의해 분리되었거나, 분획화되었거나, 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 천연 또는 재조합 폴리펩타이드이기 때문에 본 발명의 목적을 위해 단리된 것으로서 간주된다.

[0055]

상기 폴리펩타이드의 단편, 유도체, 유사체 또는 변이체, 및 이들의 임의의 조합도 본 발명의 폴리펩타이드로서 포함된다. 본 발명의 항-ILT7 항체 또는 항체 폴리펩타이드를 지칭할 때 용어 "단편", "변이체", "유도체" 및 "유사체"는 본 발명의 상응하는 항체 또는 항체 폴리펩타이드의 항원 결합 성질의 적어도 일부를 보유하는 임의의 폴리펩타이드를 포함한다. 본 발명의 폴리펩타이드의 단편은 본원의 다른 곳에서 논의된 특정 항체 단편 이외에 단백질용해 단편뿐만 아니라 결실 단편도 포함한다. 본 발명의 항-ILT7 항체 및 항체 폴리펩타이드의 변

이체는 상기 단편뿐만 아니라, 아미노산 치환, 결실 또는 삽입으로 인해 변경된 아미노산 서열을 가진 폴리펩타이드도 포함한다. 변이체는 천연적으로 생성될 수 있거나 비천연적으로 생성될 수 있다. 비천연 생성 변이체는 당분야에서 공지되어 있는 돌연변이유발 기법을 이용함으로써 생성될 수 있다. 변이체 폴리펩타이드는 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환, 결실 또는 추가를 포함할 수 있다. 변이체 폴리펩타이드는 본원에서 "폴리펩타이드 유사체"로서도 지칭될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 항-ILT7 항체 또는 항체 폴리펩타이드의 "유도체"는 측면 작용기의 반응에 의해 화학적으로 유도체화된 하나 이상의 잔기를 가진 본 폴리펩타이드를 지칭한다. 20종의 표준 아미노산들의 하나 이상의 천연 생성 아미노산 유도체를 함유하는 펩타이드도 "유도체"로서 포함된다. 예를 들면, 4-하이드록시프로린은 프로린 대신에 사용될 수 있고; 5-하이드록시라이신은 라이신 대신에 사용될 수 있고; 3-메틸히스티딘은 히스티딘 대신에 사용될 수 있고; 호모세린은 세린 대신에 사용될 수 있고; 오르니틴은 라이신 대신에 사용될 수 있다. 본 발명의 항-ILT7 항체 및 항체 폴리펩타이드의 유도체는 본 발명의 기준 항체 또는 항체 폴리펩타이드에서 발견되지 않은 추가 특징을 나타내도록 변경된 폴리펩타이드를 포함할 수 있다.

[0056] 용어 "폴리뉴클레오타이드"는 단일 핵산뿐만 아니라 복수의 핵산들도 포괄하기 위한 것이고, 단리된 핵산 분자 또는 구축물, 예를 들면, 메신저 RNA(mRNA) 또는 플라스미드 DNA(pDNA)를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드는 통상적인 포스포디에스테르 결합 또는 비통상적인 결합(예를 들면, 펩타이드 핵산(PNA)에서 발견되는 아마이드 결합)을 포함할 수 있다. 용어 "핵산"은 폴리뉴클레오타이드에 존재하는 임의의 하나 이상의 핵산 분절, 예를 들면, DNA 또는 RNA 분절을 지칭한다. "단리된" 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드는 그의 천연 환경으로부터 제거된 핵산 분자, DNA 또는 RNA를 의미한다. 예를 들면, 벡터에 함유된, 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 코딩하는 재조합 폴리뉴클레오타이드는 본 발명의 목적을 위해 단리된 것으로서 간주된다. 단리된 폴리뉴클레오타이드의 추가 예로는 이종 숙주 세포에서 유지된 재조합 폴리뉴클레오타이드 또는 용액 중의 (부분적으로 또는 실질적으로) 정제된 폴리뉴클레오타이드가 있다. 단리된 RNA 분자는 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 생체내 또는 시험관내 RNA 전사체를 포함한다. 본 발명에 따른 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 합성에 의해 생성된 이러한 분자도 포함한다. 추가로, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 조절 요소, 예컨대, 프로모터, 리보솜 결합 부위 또는 전사 터미네이터(terminator)일 수 있거나 이를 포함할 수 있다.

[0057] 본원에서 사용된 바와 같이, "코딩 영역"은 아미노산으로 번역되는 코돈으로 구성된 핵산의 일부이다. "정지 코돈"(TAG, TGA 또는 TAA)은 아미노산으로 번역되지 않지만, 코딩 영역의 일부로서 간주될 수 있으나, 임의의 플랭킹 서열, 예를 들면, 프로모터, 리보솜 결합 부위, 전사 터미네이터, 인트론 등은 코딩 영역의 일부가 아니다. 본 발명의 2개 이상의 코딩 영역들은 예를 들면, 단일 벡터의 단일 폴리뉴클레오타이드 구축물, 또는 예를 들면, 별개의 (상이한) 벡터의 별개의 폴리뉴클레오타이드 구축물에 존재할 수 있다. 나아가, 임의의 벡터는 단일 코딩 영역을 함유할 수 있거나, 2개 이상의 코딩 영역을 포함할 수 있고, 예를 들면, 단일 벡터는 번역글로불린 중쇄 가변 영역 및 번역글로불린 경쇄 가변 영역을 따로 코딩할 수 있다. 추가로, 본 발명의 벡터, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 항-ILT7 항체, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩하는 핵산에 융합되거나 융합되지 않은 이종 코딩 영역을 코딩할 수 있다. 이종 코딩 영역은 전문화된 요소 또는 모티프, 예컨대, 분비 신호 펩타이드 또는 이종 기능성 도메인을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[0058] 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 DNA이다. DNA의 경우, 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 통상적으로 하나 이상의 코딩 영역과 작동가능하게 연결된 프로모터 및/또는 다른 전사 또는 번역 제어 요소를 포함할 수 있다. 작동가능한 연결은 유전자 생성물, 예를 들면, 폴리펩타이드에 대한 코딩 영역이 유전자 생성물의 발현을 조절 서열(들)의 영향 또는 제어 하에 두도록 하는 방식으로 하나 이상의 조절 서열과 연결되어 있을 때이다. 2개의 DNA 단편들(예컨대, 폴리펩타이드 코딩 영역 및 이와 연결된 프로모터)은 프로모터 기능의 유도가 원하는 유전자 생성물을 코딩하는 mRNA의 전사를 야기하는 경우 및 2개의 DNA 단편들 사이의 연결의 성질이 유전자 생성물의 발현을 유도하는 발현 조절 서열의 능력을 방해하지 않거나 전사되는 DNA 주형의 능력을 방해하지 않는 경우 "작동가능하게 연결"되어 있다. 따라서, 프로모터 영역은 프로모터가 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산의 전사를 달성할 수 있는 경우 그 핵산과 작동가능하게 연결되어 있을 것이다. 프로모터는 소정의 세포에서만 DNA의 실질적인 전사를 유도하는 세포 특이적 프로모터일 수 있다. 프로모터 이외에 다른 전사 제어 요소, 예를 들면, 인핸서, 오퍼레이터(operator), 리프레서(repressor) 및 전사 종결 신호가 세포 특이적 전사를 유도하기 위해 폴리뉴클레오타이드와 작동가능하게 연결될 수 있다. 적합한 프로모터 및 다른 전사 제어 영역은 본원에 개시되어 있다.

[0059] 다양한 전사 제어 영역들이 당분야에서 숙련된 자에게 공지되어 있다. 이들은 척추동물 세포에서 작용하는 전사 제어 영역, 예컨대, 사이토메갈로바이러스(인트론-A와 함께 즉시 초기 프로모터), 원숭이 바이러스 40(초기 프

로모터) 및 레트로바이러스(예컨대, 라우스 육종 바이러스)로부터의 프로모터 및 인핸서 분절(그러나, 이들로 한정되지 않음)을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 다른 전사 제어 영역은 척추동물 유전자, 예컨대, 액틴, 열 충격 단백질, 소 성장 호르몬 및 토끼 β -글로빈으로부터 유래된 전사 제어 영역뿐만 아니라, 진행 세포에서 유전자 발현을 제어할 수 있는 다른 서열도 포함한다. 추가 적합한 전사 제어 영역은 조직 특이적 프로모터 및 인핸서뿐만 아니라 림포카인 유도성 프로모터(예를 들면, 인터페론 또는 인터류킨에 의해 유도될 수 있는 프로모터)도 포함한다.

[0060] 유사하게, 다양한 전사 제어 요소들이 당분야에서 통상의 기술을 가진 자에게 공지되어 있다. 이들은 리보솜 결합 부위, 번역 시작 및 종결 코돈, 및 피코르나바이러스로부터 유래된 요소(특히, CITE 서열로서도 지칭되는 내부 리보솜 도입 부위 또는 IRES)를 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[0061] 다른 실시양태에서, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 RNA, 예를 들면, 메신저 RNA(mRNA)의 형태로 존재한다.

[0062] 본 발명의 폴리뉴클레오타이드 및 핵산 코딩 영역은 본 발명의 폴리뉴클레오타이드에 의해 코딩된 폴리펩타이드의 분비를 유도하는 분비 또는 신호 펩타이드를 코딩하는 추가 코딩 영역과 연결될 수 있다. 신호 가설에 따르면, 포유동물 세포에 의해 분비된 단백질은 일단 조면 소포체를 횡단하는 성장 단백질 쇄의 이출이 시작되면 성숙 단백질로부터 절단되는 신호 펩타이드 또는 분비 리더 서열을 가진다. 당분야에서 통상의 기술을 가진 자는 척추동물 세포에 의해 분비된 폴리펩타이드가 일반적으로 완전한 또는 "전체 길이" 폴리펩타이드로부터 절단되어 폴리펩타이드의 분비된 또는 "성숙" 형태를 생성하는, 폴리펩타이드의 N-말단에 융합된 신호 펩타이드를 가진다는 것을 알고있다. 일부 실시양태에서, 천연 신호 펩타이드, 예를 들면, 면역글로불린 중쇄 또는 경쇄 신호 펩타이드, 또는 그 자신과 작동가능하게 연결된 폴리펩타이드의 분비를 유도하는 능력을 보유하는, 그 서열의 기능적 유도체가 사용된다. 대안적으로, 이중 포유동물 신호 펩타이드 또는 이의 기능적 유도체가 사용될 수 있다. 예를 들면, 야생형 리더 서열은 인간 조직 플라스미노겐 활성화제(TPA) 또는 마우스 β -글루쿠로니다제(glucuronidase)의 리더 서열로 치환될 수 있다.

[0063] 본 발명의 "결합 분자" 또는 "항원 결합 분자"는 그의 가장 넓은 의미로 항원성 결정인자에 특이적으로 결합하는 분자를 지칭한다. 한 실시양태에서, 결합 분자는 ILT7, 예를 들면, 전체 길이 ILT7 또는 성숙 ILT7에 특이적으로 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자는 기준 항체 분자의 적어도 하나의 중쇄 또는 경쇄 CDR을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 기준 항체 분자로부터의 적어도 2개의 CDR들을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 기준 항체 분자로부터의 적어도 3개의 CDR들을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 기준 항체 분자로부터의 적어도 4개의 CDR들을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 기준 항체 분자로부터의 적어도 5개의 CDR들을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자는 하나 이상의 기준 항체 분자로부터의 적어도 6개의 CDR들을 포함한다. 일부 실시양태에서, 기준 항체 분자는 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052이다.

[0064] 본 발명은 일부 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체에 관한 것이다. 용어 "항체"는 면역글로불린 분자의 가변 영역 내의 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해 표적, 예컨대, 단백질, 폴리펩타이드, 펩타이드, 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질 또는 이들의 조합을 인식하고 이에 특이적으로 결합하는 면역글로불린 분자를 의미한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "항체"는, 항체가 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 온전한 다중클론 항체, 온전한 단일클론 항체, 키메라 항체, 인간화된 항체, 인간 항체, 항체를 포함하는 융합 단백질, 및 임의의 다른 변형된 면역글로불린 분자를 포괄한다. 항체는 5종의 주요 부류들 중 임의의 부류의 면역글로불린일 수 있다: 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로서 지칭된 그들의 중쇄 불변 도메인들의 정체성(identity)에 기반을 둔 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM, 또는 이들의 하위부류(이소타입)(예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2). 상이한 부류의 면역글로불린은 상이한 잘 공지된 서브유닛 구조 및 3차원 형상을 가진다. 항체는 네이키드(naked) 항체일 수 있거나 다른 분자, 예컨대, 독소, 방사성 동위원소 등에 접합될 수 있다.

[0065] 용어 "항체 단편" 또는 "이의 항체 단편"은 온전한 항체의 일부를 지칭한다. "항원 결합 단편" 또는 "이의 항원 결합 단편"은 항원에 결합하는 온전한 항체의 일부를 지칭한다. 항원 결합 단편은 온전한 항체의 항원성 결정 가변 영역을 함유할 수 있다. 항체 단편의 예로는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편, 선형 항체, scFv 및 단일 쇄 항체가 있으나 이들로 한정되지 않는다.

[0066] 본원에서 사용된 바와 같이, 이하 및 예를 들면, 미국 특허 제5,939,598호(Kucherlapati et al.)에 기재된 바와

같이, "인간" 또는 "완전 인간" 항체는 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 가진 항체를 포함하고 인간 면역글로불린 라이브러리로부터, 또는 하나 이상의 인간 면역글로불린에 대한 형질전환체이고 내생성 면역글로불린을 발현하지 않는 동물로부터 단리된 항체를 포함한다. 완전한 인간 항체는 특히 인간 환자의 치유적 치료에 바람직하다.

[0067] 인간 항체는 문헌(Vaughan et al., Nat. Biotech. 14:309-314 (1996)), 문헌(Sheets et al., Proc. Nat'l. Acad. Sci. 95:6157-6162 (1998)), 문헌(Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol. 227:381 (1992)) 및 문헌(Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581 (1991))에 기재된 바와 같이 인간 면역글로불린 서열로부터 유래된 항체 라이브러리를 사용하는 파지 디스플레이 방법을 비롯한, 당분야에서 공지되어 있는 다양한 방법들에 의해 제조될 수 있다. 항체를 제조하고 사용하는 데 이용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 추가 예로는 전체로서 본원에 각각 참고로 도입되는 문헌(Rothe et al., J. Mol. Biol., 376:1182 (2008)); 문헌(Brinkman et al., J. Immunol. Methods 182:41-50 (1995)); 문헌(Ames et al., J. Immunol. Methods 184:177-186 (1995)); 문헌(Kettleborough et al., Eur. J. Immunol. 24:952-958 (1994)); 문헌(Persic et al., Gene 187:9-18 (1997)); 문헌(Burton et al., Advances in Immunology 57:191-280 (1994)); PCT 출원 제PCT/GB91/01134호; PCT 공보 제WO 90/02809호; PCT 공보 제WO 91/10737호; PCT 공보 제WO 92/01047호; PCT 공보 제WO 92/18619호; PCT 공보 제WO 93/11236호; PCT 공보 제WO 95/15982호; PCT 공보 제WO 95/20401호; 미국 특허 제6,172,197호; 미국 특허 제5,885,793호; 미국 특허 제6,521,404호; 미국 특허 제6,544,731호; 미국 특허 제6,555,313호; 미국 특허 제6,582,915호; 미국 특허 제6,593,081호; 미국 특허 제6,300,064호; 미국 특허 제6,653,068호; 미국 특허 제6,706,484호; 미국 특허 제7,264,963호; 미국 특허 제5,698,426호; 미국 특허 제5,223,409호; 미국 특허 제5,403,484호; 미국 특허 제5,580,717호; 미국 특허 제5,427,908호; 미국 특허 제5,750,753호; 미국 특허 제5,821,047호; 미국 특허 제5,571,698호; 미국 특허 제5,427,908호; 미국 특허 제5,516,637호; 미국 특허 제5,780,225호; 미국 특허 제5,658,727호; 미국 특허 제5,733,743호; 및 미국 특허 제5,969,108호에 개시된 방법들이 있다.

[0068] 추가로, 당분야에서 공지되어 있는 바와 같이, 인간 항체는 기능적 내생성 면역글로불린을 발현할 수 없으나 인간 면역글로불린 유전자를 발현할 수 있는 형질전환 마우스를 사용함으로써 생성될 수 있다. 이 기술의 개요에 대해서는 문헌(Lonberg and Huszar, Int. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995))을 참조한다.

[0069] 항체 조작의 분야에서 이용가능한 추가 기법은 인간 항체 또는 이의 단편을 단리하는 것을 가능하게 만든다. 예를 들면, 인간 하이브리도마는 문헌(Kontermann and Sefan, Antibody Engineering, Springer Laboratory Manuals (2001))에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 완전 인간 항체도 다양한 디스플레이 기술, 예를 들면, 파지 디스플레이 또는 다른 바이러스 디스플레이 시스템에 의해 생성될 수 있다. 파지 디스플레이 방법에서, 기능적 항체 도메인은 이를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 운반하는 파지 입자의 표면에 디스플레이된다. 예를 들면, VH 및 VL 영역을 코딩하는 DNA 서열은 동물 cDNA 라이브러리(예를 들면, 림프 조직의 인간 또는 무린 cDNA 라이브러리) 또는 합성 cDNA 라이브러리로부터 증폭된다. 일부 실시양태에서, VH 및 VL 영역을 코딩하는 DNA는 PCR에 의해 scFv 링커를 통해 함께 연결되고 파지미드 벡터(예를 들면, pCANTAB 6 또는 pComb 3 HSS) 내로 클로닝된다. 상기 벡터는 이. 콜라이 내로 전기천공되고, 이. 콜라이는 헬퍼 파지로 감염된다. 이 방법들에서 사용된 파지는 전형적으로 fd 및 M13을 포함하는 사상 파지이고, VH 또는 VL 영역은 통상적으로 파지 유전자 III 또는 유전자 VIII에 제조합적으로 융합된다. 관심 있는 항원(즉, ILT7)에 결합하는 항원 결합 도메인을 발현하는 파지는 항원, 예를 들면, 표지된 항원, 또는 고체 표면 또는 비드에 결합되거나 포획된 항원에 의해 선택될 수 있거나 확인될 수 있다.

[0070] "인간" 또는 "완전 인간" 항체는 적어도 중쇄의 가변 도메인, 또는 적어도 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인을 포함하는 항체도 포함하고, 이때 상기 가변 도메인(들)은 인간 면역글로불린 가변 도메인(들)의 아미노산 서열을 가진다.

[0071] 전술된 바와 같이, "인간" 또는 "완전 인간" 항체는 본원에 기재된 항체 분자(예를 들면, VH 영역 및/또는 VL 영역)의 변이체(유도체를 포함함)를 포함하거나, 본질적으로 이러한 변이체로 구성되거나, 이러한 변이체로 구성된 "인간" 또는 "완전 인간" 항체도 포함하고, 이때 상기 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 ILT7 폴리펩타이드, 또는 이의 단편 또는 변이체에 면역특이적으로 결합한다. 아미노산 치환을 야기하는 부위 지정된 돌연변이유발 및 PCR 매개 돌연변이유발을 포함하나 이들로 한정되지 않는, 당분야에서 숙련된 자에게 공지되어 있는 표준 기법은 인간 항-ILT7 항체를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열 내로 돌연변이를 도입하는 데 이용될 수 있다. 변이체(유도체를 포함함)는 기준 VH 영역, VHCDR1, VHCDR2, VHCDR3, VL 영역, VLCDR1, VLCDR2 또는 VLCDR3에 비해 50개 미만의 아미노산 치환, 40개 미만의 아미노산 치환, 30개 미만의 아미노산 치

환, 25개 미만의 아미노산 치환, 20개 미만의 아미노산 치환, 15개 미만의 아미노산 치환, 10개 미만의 아미노산 치환, 5개 미만의 아미노산 치환, 4개 미만의 아미노산 치환, 3개 미만의 아미노산 치환 또는 2개 미만의 아미노산 치환을 코딩할 수 있다.

[0072] 일부 실시양태에서, 아미노산 치환은 이하에서 더 논의된 보존적 아미노산 치환이다. 대안적으로, 돌연변이는 예컨대, 포화 돌연변이유발에 의해 코딩 서열의 전부 또는 일부를 따라 무작위로 도입될 수 있고, 생성된 돌연변이체는 활성(예를 들면, ILT7 폴리펩타이드, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 뮤린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 뮤린 ILT7의 임의의 조합에 결합하는 능력)을 보유하는 돌연변이체를 확인하기 위해 생물학적 활성에 대해 스크리닝될 수 있다. "인간" 또는 "완전 인간" 항체의 이러한 변이체(또는 이의 유도체)는 "최적화된" 또는 "항원 결합에 대해 최적화된" 인간 또는 완전 인간 항체로서 지칭될 수도 있고, 항원에 대한 개선된 친화성을 가진 항체를 포함한다.

[0073] 척추동물 시스템에서 기본 면역글로불린 구조는 상대적으로 잘 이해되어 있다. 예를 들면, 문헌(Harlow et al. (1988) Antibodies: A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press))을 참조한다.

[0074] 이하에 더 상세히 논의될 바와 같이, 용어 "면역글로불린"은 생화학적으로 구별될 수 있는 다양한 넓은 부류의 폴리펩타이드들을 포함한다. 당분야에서 숙련된 자는 중쇄가 감마, 뮤, 알파, 델타 또는 엡실론(γ , μ , α , δ , ϵ)으로서 분류되고, 이들 중에서 일부 하위부류가 있다(예를 들면, $\gamma 1$ - $\gamma 4$)는 것을 인식할 것이다. 항체의 "부류"를 각각 IgG, IgM, IgA, IgE 또는 IgD로서 결정하는 것은 이 섹의 성질이다. 면역글로불린 하위부류(이소타입), 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 등은 잘 특징구명되어 있고 기능적 전문화를 부여하는 것으로 공지되어 있다. 이 부류들 및 이소타입들 각각의 변형된 버전은 본 개시에 비추어 볼 때 숙련된 당업자에게 용이하게 인식될 수 있으므로, 본 발명의 범위 내에 있다. 하기 논의는 일반적으로 면역글로불린 분자의 IgG 부류에 관한 것일 것이지만, 모든 면역글로불린 부류들은 분명히 본 발명의 범위 내에 있다. IgG와 관련하여, 표준 면역글로불린 분자는 분자량 대략 23,000 달톤의 2개의 동일한 경쇄 폴리펩타이드들, 및 분자량 53,000 내지 70,000의 2개의 동일한 중쇄 폴리펩타이드들을 포함한다. 상기 4개의 쇠들은 전형적으로 "Y" 형상으로 디설파이드 결합에 의해 연결되고, 이때 경쇄는 "Y"의 입구에서 시작하여 가변 영역을 통해 연속되는 중쇄를 둘러싼다.

[0075] 경쇄는 카파 또는 람다(κ , λ)로서 분류된다. 각각의 중쇄 부류는 카파 또는 람다 경쇄와 결합될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄는 서로 공유 결합되고, 면역글로불린이 하이브리도마, B 세포 또는 유전적으로 조작된 숙주 세포에 의해 생성될 때 2개의 중쇄의 "꼬리" 부분은 공유 디설파이드 결합 또는 비공유 결합에 의해 서로 결합된다. 중쇄에서, 아미노산 서열은 Y 형상의 갈라진 말단에 있는 N-말단부터 각각의 쇠의 하부에 있는 C-말단까지 걸쳐 있다.

[0076] 항체 "Y"의 기부는 Fc(단편, 결정화가 가능한) 영역으로서 지칭되고, 항체의 부류에 따라 2개 또는 3개의 불변 도메인들을 제공하는 2개의 중쇄들로 구성된다. 따라서, Fc 영역은 Fc 수용체의 특정 클래스, 및 다른 면역 분자, 예컨대, 보체 단백질에 결합한다. 경쇄 및 중쇄 둘 다 구조적 및 기능적 상동성의 영역으로 나누어진다. 용어 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 사용된다. 이와 관련하여, 경쇄 부분의 가변 도메인(VL 또는 VK) 및 중쇄 부분의 가변 도메인(VH)이 항원 인식 및 특이성을 결정한다는 것은 인식되어 있을 것이다. 반대로, 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 불변 도메인(CH1, CH2 또는 CH3)은 중요한 생물학적 성질, 예컨대, 분비, 태반통과 이동성, Fc 수용체 결합, 보체 결합 등을 부여한다. 약정에 의해, 불변 영역 도메인들의 넘버링은 이들이 항체의 항원 결합 부위 또는 아미노-말단으로부터 더 멀어지게 됨에 따라 증가한다. N-말단 부분은 가변 영역이고, C-말단 부분은 불변 영역이고; CH3 및 CL 도메인은 사실상 각각 중쇄 및 경쇄의 카복시-말단을 포함한다.

[0077] 상기 표시된 바와 같이, 가변 영역은 항체가 항원의 에피토프를 선택적으로 인식하고 이 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있게 한다. 즉, 항체의 VL 도메인 및 VH 도메인, 또는 이 가변 도메인들 내의 상보성 결정 영역들(CDR들)의 서브세트는 조합하여, 3차원 항원 결합 부위를 규정하는 가변 영역을 형성한다. 이 4차 항체 구조는 Y의 각각의 아암(arm)의 말단에 존재하는 항원 결합 부위를 형성한다. 보다 구체적으로, 항원 결합 부위는 각각의 VH 및 VL 쇠의 3개의 CDR들에 의해 규정된다. 일부 경우, 예를 들면, 낙타과 종으로부터 유래되었거나 낙타과 면역글로불린을 기반으로 조작된 일부 면역글로불린 분자들에서, 완전한 면역글로불린 분자는 경쇄 없이 중쇄만으로 구성될 수 있다. 예를 들면, 문헌(Hamers-Casterman et al., Nature 363:446-448 (1993))을 참조한다.

[0078] 천연 생성 항체에서, 각각의 항원 결합 도메인에 존재하는 6개의 "상보성 결정 영역들" 또는 "CDR들"은 항체가 수성 환경에서 그의 3차원 형상을 취할 때 항원 결합 도메인을 형성하도록 특이적으로 위치된 아미노산들의 짧

은 불연속 서열이다. "프레임워크(backend)" 영역으로서 지칭되는, 항원 결합 도메인 내의 나머지 아미노산들은 보다 더 적은 분자간 가변성을 보인다. 프레임워크 영역은 주로 β -시트 입체구조를 채택하고, CDR들은 β -시트 구조를 연결하고 일부 경우 β -시트 구조의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 따라서, 프레임워크 영역은 쇄간 비공유 상호작용에 의해 정확한 배향으로 CDR들을 위치시키는 것을 제공하는 스카폴드를 형성하도록 작용한다. 위치한 CDR들에 의해 형성된 항원 결합 도메인은 면역반응성 항원의 에피토프에 상보적인 표면을 규정한다. 이 상보적인 표면은 항체와 그의 동족 에피토프의 비공유 결합을 촉진한다. 임의의 소정의 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인에 대해 각각 CDR들 및 프레임워크 영역을 구성하는 아미노산들이 정확하게 규정되어 있기 때문에, 이들은 당분야에서 통상의 기술을 가진 자에 의해 용이하게 확인될 수 있다(하기 참조).

[0079] 당분야에서 사용되고/되거나 허용되는 용어의 2개 이상의 정의가 있는 경우, 명백히 달리 언급되어 있지 않은 한, 본원에서 사용된 용어의 정의는 모든 이러한 의미들을 포함하기 위한 것이다. 구체적인 예는 중쇄 폴리펩타이드 및 경쇄 폴리펩타이드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견되는 불연속 항원 조합 부위들을 기술하기 위한 용어 "상보성 결정 영역"("CDR")의 사용이다. 이 특정 영역은 본원에 참고로 도입되는 문헌(Kabat et al. (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest") 및 문헌(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987))에 기재되어 있고, 여기서 정의는 서로 비교될 때 아미노산 잔기들의 중첩 또는 서브세트를 포함한다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 이의 변이체의 CDR을 지칭하기 위한 어느 한 정의의 적용은 본원에서 정의되고 사용된 용어의 범위 내에 있기 위한 것이다. IMGT(ImMunoGeneTics)는 CDR을 포함하는 면역글로불린 가변 영역에 대한 넘버링 시스템도 제공한다. 예를 들면, 본원에 참고로 도입되는 문헌(Lefranc, M.P. et al., Dev. Comp. Immunol. 27: 55-77(2003))을 참조한다. IMGT 넘버링 시스템은 5,000개 초과 서열들의 정렬, 구조 데이터, 및 초가변 루프의 특징규명에 기반을 두었고, 모든 중쇄에 대한 가변 영역 및 CDR 영역의 용이한 비교를 가능하게 한다. 상기 인용된 참고문헌들 각각에 의해 정의된 CDR을 포함하는 적절한 아미노산 잔기들은 비교로서 하기 표 1에 기재되어 있다. 특정 CDR을 포함하는 정확한 잔기 번호는 CDR의 서열 및 크기에 따라 변경될 수 있다. 당분야에서 숙련된 자는 항체의 가변 영역 아미노산 서열이 주어졌을 때 어느 잔기가 특정 CDR을 포함하는 지를 관례적으로 확인할 수 있다

표 1

CDR 정의¹

	카바트	초티아	IMGT
VH CDR1	31-35	26-32	26-35
VH CDR2	50-65	52-58	51-57
VH CDR3	95-102	95-102	93-102
VL CDR1	24-34	26-32	27-32
VL CDR2	50-56	50-52	50-52
VL CDR3	89-97	91-96	89-97

¹ 표 1에서 모든 CDR 정의의 넘버링은 문헌(Kabat et al.) (하기 참조)에 기재된 넘버링 약정에 따른다.

[0080]

[0081] 상기 문헌(Kabat et al.)은 임의의 항체에 적용될 수 있는 가변 도메인 서열에 대한 넘버링 시스템도 정의하였다. 당분야에서 통상의 기술을 가진 자는 서열 그 자체 이외의 어떠한 실험 데이터에도 의존하지 않으면서 이 "카바트(Kabat) 넘버링" 시스템을 임의의 가변 도메인 서열에 명확히 배정할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "카바트 넘버링"은 문헌(Kabat et al. (1983) U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest")에 기재된 넘버링 시스템을 지칭한다.

[0082] 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 다중클론, 단일클론, 마우스, 인간, 인간화된, 영장류화된 또는 키메라 항체, 단일 쇄 항체, 에피토프 결합 단편, 예를 들면, Fab, Fab' 및 F(ab')₂, Fd, Fv, 단일 쇄 Fv(scFv), 디설파이드 결합된 Fv(sdFv), VL 또는 VH 도메인을 포함하는 단편, Fab 발현 라이브러리 에 의해 생성된 단편, 및 항-이디오타입(항-Id) 항체(예를 들면, 본원에 개시된 항-ILT7 항체에 대한 항-Id 항체를 포함함)를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. scFv 분자는 당분야에서 공지되어 있고, 예를 들면, 미국 특허 제5,892,019호에 기재되어 있다. 본 발명의 면역글로불린 또는 항체 분자는 임의의 유형(예를 들면, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류(예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2 등) 또는 하위부류의 면역글로불린 분자일 수 있다.

[0083] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "중쇄 부분"은 면역글로불린 중쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 중쇄 부분을 포함하는 폴리펩타이드는 CH1 도메인, 힌지(예를 들면, 상부, 중간 및/또는 하부 힌지 영역) 도메

인, CH2 도메인, CH3 도메인, 또는 이의 변이체 또는 단편 중 적어도 하나를 포함한다. 예를 들면, 본 발명에서 사용할 결합 폴리펩타이드는 CH1 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇄; CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부, 및 CH2 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇄; CH1 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇄; CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇄; 또는 CH1 도메인, 힌지 도메인의 적어도 일부, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇄를 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩타이드는 CH3 도메인을 포함하는 폴리펩타이드 쇄를 포함한다. 추가로, 본 발명에서 사용할 결합 폴리펩타이드는 CH2 도메인의 적어도 일부(예를 들면, CH2 도메인의 전부 또는 일부)를 결여할 수 있다. 전술된 바와 같이, 당분야에서 통상의 기술을 가진 자는 이 도메인들(예를 들면, 중쇄 부분)이 아미노산 서열에 있어서 천연 생성 면역글로불린 분자와 상이하도록 변형될 수 있다는 것을 이해할 것이다.

[0084] 본원에 개시된 일부 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체에서, 다량체의 한 폴리펩타이드 쇄의 중쇄 부분은 상기 다량체의 제2 폴리펩타이드 쇄의 중쇄 부분과 동일하다. 대안적으로, 본 발명의 중쇄 부분 함유 단량체는 동일하지 않다.

[0085] 본원에 개시된 진단 및 치료 방법에서 사용할 결합 분자의 중쇄 부분은 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래될 수 있다. 예를 들면, 폴리펩타이드의 중쇄 부분은 IgG1 분자로부터 유래된 CH1 도메인 및 IgG3 분자로부터 유래된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄 부분은 부분적으로 IgG1 분자로부터 유래되고 부분적으로 IgG3 분자로부터 유래된 힌지 영역을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄 부분은 부분적으로 IgG1 분자로부터 유래되고 부분적으로 IgG4 분자로부터 유래된 키메라 힌지를 포함할 수 있다.

[0086] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "경쇄 부분"은 면역글로불린 경쇄, 예를 들면, 카파 또는 람다 경쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 경쇄 부분은 VL 또는 CL 도메인 중 적어도 하나를 포함할 수 있다.

[0087] 본원에 개시된 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 이들이 인식하거나 특이적으로 결합하는 항원, 예를 들면, 본원에 개시된 표적 폴리펩타이드(예를 들면, 전체 길이 또는 성숙 ILT7)의 에피토프(들) 또는 부분(들)의 관점에서 기재될 수 있거나 특정될 수 있다. 항체의 항원 결합 도메인과 특이적으로 상호작용하는 표적 폴리펩타이드의 부분은 "에피토프" 또는 "항원성 결정인자"이다. 표적 폴리펩타이드는 단일 에피토프를 포함할 수 있으나, 전형적으로 적어도 2개의 에피토프들을 포함하고, 항원의 크기, 입체구조 및 유형에 따라 임의의 수의 에피토프를 포함할 수 있다. 더욱이, 표적 폴리펩타이드의 "에피토프"는 비-폴리펩타이드 요소일 수 있거나 이러한 요소를 포함할 수 있고, 예를 들면, 에피토프는 탄수화물 측쇄를 포함할 수 있다.

[0088] 항체에 대한 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프의 최소 크기는 약 4개 또는 5개의 아미노산인 것으로 생각된다. 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 적어도 7개, 적어도 9개 또는 적어도 약 15개 내지 약 30개의 아미노산을 함유할 수 있다. CDR이 항원성 펩타이드 또는 폴리펩타이드를 그의 3차 형태로 인식할 수 있기 때문에, 에피토프를 포함하는 아미노산들은 연속적일 필요가 없고, 일부 경우 심지어 동일한 펩타이드 쇄에 존재하지 않을 수 있다. 본 발명의 항-ILT7 항체에 의해 인식되는 펩타이드 또는 폴리펩타이드 에피토프는 ILT7의 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 15개, 적어도 20개, 적어도 25개, 또는 약 15개 내지 약 30개의 연속 또는 불연속 아미노산들의 서열을 함유할 수 있다.

[0089] "특이적으로 결합한다"는 일반적으로 항체가 그의 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합하고 결합이 항원 결합 도메인과 에피토프 사이의 일부 상보성을 필요로 한다는 것을 의미한다. 이 정의에 따르면, 항체는 관련 없는 무작위적 에피토프에 결합할 때보다 더 용이하게 그의 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합할 때 그 에피토프에 "특이적으로 결합하는" 것으로 주장된다. 용어 "특이성"은 특정 항체가 특정 에피토프에 결합하는 상대적 친화성을 정량하기 위해 본원에서 사용된다. 예를 들면, 항체 "A"는 소정의 에피토프에 대해 항체 "B"보다 더 높은 특이성을 갖는 것으로 간주될 수 있거나, 항체 "A"는 관련된 에피토프 "D"에 대해 가진 특이성보다 더 높은 특이성으로 에피토프 "C"에 결합하는 것으로 주장될 수 있다.

[0090] "우선적으로 결합한다"는 항체가 관련된, 유사한, 상동성 또는 동족성 에피토프에 결합할 때보다 더 용이하게 에피토프에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다. 따라서, 소정의 에피토프에 "우선적으로 결합하는" 항체는, 이러한 항체가 관련된 에피토프와 교차반응할 수 있을지라도 관련된 에피토프보다 상기 소정의 에피토프에 결합할 가능성이 더 높을 것이다.

[0091] 비한정적 예로써, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의 해리 상수(K_D)보다 더 낮은 K_D 로 제1 에피토프에 결합하는 경우 상기 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비한정적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 한 자릿수 더 낮은 친화성으로 제1 에피토프에 결합하는 경우 제1 항원에

우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비한정적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의 K_D 보다 적어도 두 자릿수 더 낮은 친화성으로 제1 에피토프에 결합하는 경우 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다.

[0092] 또 다른 비한정적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의 해리 속도($k(\text{off})$)보다 더 낮은 $k(\text{off})$ 로 제1 에피토프에 결합하는 경우 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비한정적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의 $k(\text{off})$ 보다 적어도 한 자릿수 더 낮은 친화성으로 제1 에피토프에 결합하는 경우 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 또 다른 비한정적 예에서, 항체는 제2 에피토프에 대한 항체의 $k(\text{off})$ 보다 적어도 두 자릿수 더 낮은 친화성으로 제1 에피토프에 결합하는 경우 제1 에피토프에 우선적으로 결합하는 것으로 간주될 수 있다. 본원에 개시된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 $5 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-2} sec^{-1} , $5 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ 또는 10^{-3} sec^{-1} 이하의 해리 속도($k(\text{off})$)로 본원에 개시된 표적 폴리펩타이드(예를 들면, ILT7, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합), 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합하는 것으로 주장될 수 있다. 본 발명의 항체는 $5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-4} sec^{-1} , $5 \times 10^{-5} \text{ sec}^{-1}$ 또는 10^{-5} sec^{-1} , $5 \times 10^{-6} \text{ sec}^{-1}$, 10^{-6} sec^{-1} , $5 \times 10^{-7} \text{ sec}^{-1}$ 또는 10^{-7} sec^{-1} 이하의 해리 속도($k(\text{off})$)로 본원에 개시된 표적 폴리펩타이드(예를 들면, ILT7, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합), 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합하는 것으로 주장될 수 있다.

[0093] 본원에 개시된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 또는 $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 이상의 결합 속도($k(\text{on})$)로 본원에 개시된 표적 폴리펩타이드(예를 들면, ILT7, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합), 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합하는 것으로 주장될 수 있다. 본 발명의 항체는 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 또는 $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$, 또는 $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ 이상의 결합 속도($k(\text{on})$)로 본원에 개시된 표적 폴리펩타이드(예를 들면, ILT7, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합), 또는 이의 단편 또는 변이체에 결합할 수 있다.

[0094] 항체는 기준 항체와 소정의 에피토프의 결합을 어느 정도 차단하는 정도까지 그 에피토프 또는 중첩 에피토프에 우선적으로 결합하는 경우 기준 항체와 상기 에피토프의 결합을 경쟁적으로 억제하는 것으로 주장된다. 경쟁적 억제는 당분야에서 공지되어 있는 임의의 방법, 예를 들면, 경쟁 ELISA 어세이에 의해 측정될 수 있다. 항체는 기준 항체와 소정의 에피토프의 결합을 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60% 또는 적어도 50%까지 경쟁적으로 억제하는 것으로 주장될 수 있다.

[0095] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "친화성"은 개별 에피토프와 면역글로불린 분자의 CDR의 결합의 강도의 측정치를 지칭한다. 예를 들면, 문헌(Harlow et al. (1988) Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed.) pages 27-28)을 참조한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "결합력(avidity)"은 면역글로불린의 집단과 항원 사이의 복합체의 전체 안정성, 즉 면역글로불린 혼합물과 항원의 기능적 조합 강도를 지칭한다. 예를 들면, 문헌(Harlow at pages 29-34)을 참조한다. 결합력은 특정 에피토프에 대한 집단 내의 개별 면역글로불린 분자의 친화성, 및 면역글로불린 및 항원의 결합가 둘 다와 관련된다. 예를 들면, 2가 단일 클론 항체와, 고도로 반복되는 에피토프 구조를 가진 항원, 예컨대, 중합체 사이의 상호작용은 높은 결합력의 상호작용일 것이다.

[0096] 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 그의 가교반응성의 관점에서 기재될 수도 있거나 특정될 수도 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "교차반응성"은 한 항원에 특이적인 항체가 제2 항원과 반응하는 능력(2개의 상이한 항원성 물질들 사이의 관련성의 측정치)을 지칭한다. 따라서, 항체는 그의 형성을 유도한 항원 이외의 에피토프에 결합하는 경우 교차반응성을 가진다. 교차반응성 에피토프는 일반적으로 유도 에피토프로서 대부분의 동일한 상보적인 구조적 특징들을 함유하고, 일부 경우 실제로 원래의 에피토프보다 더 잘 피팅될 수 있다.

[0097] 예를 들면, 일부 항체들은 (당분야에서 공지되어 있고 본원에 기재되어 있는 방법을 이용함으로써 측정될 때) 관련되어 있되 동일하지 않은 에피토프, 예를 들면, 기준 에피토프와 적어도 95%, 적어도 90%, 적어도 85%, 적어도 80%, 적어도 75%, 적어도 70%, 적어도 65%, 적어도 60%, 적어도 55% 및 적어도 50%의 동일성을 가진 에피

토프에 결합한다는 점에서 어느 정도의 교차반응성을 가진다. 항체는 (당분야에서 공지되어 있고 본원에 기재되어 있는 방법을 이용함으로써 측정될 때) 기준 에피토프와 95% 미만, 90% 미만, 85% 미만, 80% 미만, 75% 미만, 70% 미만, 65% 미만, 60% 미만, 55% 미만 및 50% 미만의 동일성을 가진 에피토프에 결합하지 않는 경우 교차반응성을 거의 또는 전혀 갖지 않는 것으로 주장될 수 있다. 항체는 특정 에피토프의 임의의 다른 유사체, 오르톨로그 또는 상동체에 결합하지 않는 경우 그 에피토프에 "고도로 특이적인" 것으로 간주될 수 있다.

[0098] 본 발명의 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 본 발명의 폴리펩타이드, 예를 들면, ILT7, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합에 대한 그의 결합 친화성의 관점에서 기재될 수도 있거나 특정될 수도 있다. 유용한 결합 친화성은 5×10^{-2} M, 10^{-2} M, 5×10^{-3} M, 10^{-3} M, 5×10^{-4} M, 10^{-4} M, 5×10^{-5} M, 10^{-5} M, 5×10^{-6} M, 10^{-6} M, 5×10^{-7} M, 10^{-7} M, 5×10^{-8} M, 10^{-8} M, 5×10^{-9} M, 10^{-9} M, 5×10^{-10} M, 10^{-10} M, 5×10^{-11} M, 10^{-11} M, 5×10^{-12} M, 10^{-12} M, 5×10^{-13} M, 10^{-13} M, 5×10^{-14} M, 10^{-14} M, 5×10^{-15} M, 또는 10^{-15} M 미만의 해리 상수 또는 Kd를 가진 결합 친화성을 포함한다.

[0099] 일부 실시양태에서, 항체는 1 nM 미만의 해리 상수 또는 Kd로 인간 ILT7에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 5 nM 미만의 해리 상수 또는 Kd로 사이노몰구스 ILT7에 결합한다. 일부 실시양태에서, 항체는 1 nM 미만의 해리 상수 또는 Kd로 인간 ILT7에 결합하고 5 nM 미만의 해리 상수 또는 Kd로 사이노몰구스 ILT7에 결합한다.

[0100] 앞서 표시된 바와 같이, 다양한 면역글로불린 부류들의 불변 영역의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 잘 공지되어 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "VH 도메인"은 면역글로불린 중쇄의 아미노 말단 가변 도메인을 포함하고, 용어 "CH1 도메인"은 면역글로불린 중쇄의 제1(가장 아미노 말단) 불변 영역 도메인을 포함한다. CH1 도메인은 VH 도메인에 인접하고 면역글로불린 중쇄 분자의 힌지 영역의 아미노 말단에 존재한다.

[0101] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "CH2 도메인"은 예를 들면, 통상적인 넘버링 체계를 이용할 때 항체의 약 잔기 244부터 잔기 360까지(잔기 244부터 360까지, 카바트 넘버링 시스템; 및 잔기 231부터 340까지, EU 넘버링 시스템; 문헌(Kabat EA et al.) 참조) 걸쳐 있는 중쇄 분자의 일부를 포함한다. CH2 도메인은 또 다른 도메인과 가깝게 페어링되어 있지 않다는 점에서 독특하다. 오히려, 2개의 N-결합된 분지된 탄수화물쇄들이 온전한 천연 IgG 분자의 2개의 CH2 도메인들 사이에 놓여 있다. CH3 도메인이 IgG 분자의 CH2 도메인부터 C-말단까지 걸쳐 있고 대략 108개의 잔기들을 포함한다는 것도 잘 기록되어 있다.

[0102] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "힌지 영역"은 CH1 도메인을 CH2 도메인에 연결하는 중쇄 분자의 일부를 포함한다. 이 힌지 영역은 대략 25개의 잔기들을 포함하고 유연하므로, 2개의 N-말단 항원 결합 영역들이 독립적으로 이동하게 한다. 힌지 영역은 3개의 상이한 도메인들, 즉 상부 힌지 도메인, 중간 힌지 도메인 및 하부 힌지 도메인으로 세분될 수 있다(Roux et al., J. Immunol. 161:4083 (1998)).

[0103] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "디설파이드 결합"은 2개의 항원자들 사이에 형성된 공유 결합을 포함한다. 아미노산 시스테인은 제2 티올기와 디설파이드 결합 또는 가교를 형성할 수 있는 티올기를 포함한다. 대다수의 천연 생성 IgG 분자들에서, CH1 영역과 CL 영역은 디설파이드 결합에 의해 연결되고 2개의 중쇄들은 카바트 넘버링 시스템을 사용할 때 239 및 242에 상응하는 위치(위치 226 또는 229, EU 넘버링 시스템)에서 2개의 디설파이드 결합에 의해 연결된다.

[0104] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "키메라 항체"는 면역반응성 영역 또는 부위가 제1 종으로부터 수득되거나 유래되고 불변 영역(온전할 수 있거나, 부분적일 수 있거나, 본 발명에 따라 변형될 수 있음)이 제2 종으로부터 수득된 임의의 항체를 의미하는 것으로 이해될 것이다. 일부 실시양태에서, 표적 결합 영역 또는 부위는 비인간 공급원(예를 들면, 마우스 또는 영장류)으로부터 유래될 것이고, 불변 영역은 인간으로부터 유래된다.

[0105] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "조작된 항체"는 중쇄 또는 경쇄, 또는 이들 둘 다의 가변 도메인이 공지된 특이성을 가진 항체로부터의 하나 이상의 CDR의 적어도 부분적 교체, 및 필요한 경우 부분적 프레임워크 영역 교체 및 서열 변화에 의해 변경되어 있는 항체를 지칭한다. CDR은 프레임워크 영역이 유래된 항체와 동일한 부류 또는 심지어 하위부류의 항체로부터 유래될 수 있다 하더라도, CDR은 상이한 부류의 항체 또는 상이한 종으로부터의 항체로부터 유래될 것임이 예상된다. 공지된 특이성을 가진 비인간 항체로부터의 하나 이상의 "기증자" CDR이 인간 중쇄 또는 경쇄 프레임워크 영역 내로 이식되어 있는 조작된 항체는 본원에서 "인간화된 항체"로서 지칭된다. 한 가변 도메인의 항원 결합 능력을 또 다른 가변 도메인에게 전달하기 위해 모든 CDR들을 기증자 가변 도메인으로부터의 완전한 CDR들로 교체하는 것은 필요하지 않을 수 있다. 오히려, 표적 결합 부위

의 활성을 유지하기 위해 필요한 잔기들을 전달하는 것만이 필요할 수 있다.

- [0106] 인간화된 항체의 중쇄 또는 경쇄, 또는 이들 둘 다의 가변 도메인 내의 프레임워크 영역이 인간으로부터 유래된 잔기만을 포함할 수 있다는 것도 인식되어 있고, 이 경우 인간화된 항체의 이 프레임워크 영역은 "완전 인간 프레임워크 영역"으로서 지칭된다. 대안적으로, 필요하다면 ILT7 항원과의 적절한 결합을 유지하거나 ILT7 항원과의 결합을 향상시키기 위해 인간화된 항체의 중쇄 또는 경쇄, 또는 이들 둘 다의 가변 도메인의 인간 프레임워크 영역(들)의 상응하는 위치 내에서 기증자 가변 도메인의 프레임워크 영역(들)의 하나 이상의 잔기를 조작할 수 있다. 따라서, 이 방식으로 조작된 인간 프레임워크 영역은 인간 프레임워크 잔기와 기증자 프레임워크 잔기의 혼합물을 포함할 것이고, 본원에서 "부분적으로 인간 프레임워크 영역"으로서 지칭된다.
- [0107] 예를 들면, 설치류 또는 돌연변이체 설치류 항-ILT7 CDR 또는 CDR 서열을 인간 항체의 상응하는 서열로 치환시킴으로써 본질적으로 윈터(Winter)와 그의 동료들의 방법(Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Riechmann et al., Nature 332:323-327 (1988); Verhoeven et al., Science 239:1534-1536 (1988))에 따라 항-ILT7 항체의 인간화를 수행할 수 있다. 본원에 참고로 도입되는 미국 특허 제5,225,539호; 미국 특허 제5,585,089호; 미국 특허 제5,693,761호; 미국 특허 제5,693,762호; 및 미국 특허 제5,859,205호도 참조한다. 생성된 인간화된 항-ILT7 항체는 인간화된 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인의 완전 인간 프레임워크 영역 내에서 적어도 하나의 설치류 또는 돌연변이체 설치류 CDR을 포함할 것이다. 일부 경우, 인간화된 항-ILT7 항체의 하나 이상의 가변 도메인의 프레임워크 영역 내의 잔기는 상응하는 비인간(예를 들면, 설치류) 잔기로 교체되고(예를 들면, 미국 특허 제5,585,089호; 미국 특허 제5,693,761호; 미국 특허 제5,693,762호; 및 미국 특허 제6,180,370호 참조), 이 경우 생성된 인간화된 항-ILT7 항체는 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인 내에서 부분적으로 인간 프레임워크 영역을 포함할 것이다.
- [0108] 나아가, 인간화된 항체는 수용자 항체 또는 기증자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이 변형은 항체 성능을 더 개선하기 위해(예를 들면, 원하는 친화성을 획득하기 위해) 만들어진다. 일반적으로, 인간화된 항체는 실질적으로 모든 적어도 하나, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 포함할 것이고, 이때 모든 또는 실질적으로 모든 CDR들은 비인간 면역글로불린의 CDR들에 상응하고 모든 또는 실질적으로 모든 프레임워크 영역은 인간 면역글로불린 서열의 프레임워크 영역이다. 인간화된 항체는 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린의 불변 영역의 적어도 일부를 포함할 것이다. 추가 상세한 내용에 대해서는 본원에 참고로 도입되는 문헌(Jones et al., Nature 331:522-525 (1986)); 문헌(Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)); 및 문헌(Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992))을 참조한다. 따라서, 이러한 "인간화된" 항체는 온전한 인간 가변 도메인보다 실질적으로 더 작은 인간 가변 도메인이 비인간 종으로부터의 상응하는 서열로 치환되어 있는 항체를 포함할 수 있다. 사실상, 인간화된 항체는 전형적으로 일부 CDR 잔기들 및 가능하게는 일부 프레임워크 잔기들이 설치류 항체 내의 유사한 부위로부터의 잔기로 치환되어 있는 인간 항체이다. 예를 들면, 미국 특허 제5,225,539호; 미국 특허 제5,585,089호; 미국 특허 제5,693,761호; 미국 특허 제5,693,762호; 및 미국 특허 제5,859,205호를 참조한다. 인간화된 항체, 및 소정의 항원에 대한 개선된 친화성을 가진 인간화된 항체를 생성하는 기법이 개시되어 있는 미국 특허 제6,180,370호 및 국제 공보 제WO 01/27160호도 참조한다.
- [0109] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "연결된", "융합된" 또는 "융합"은 상호교환가능하게 사용된다. 이 용어들은 화학적 접합 또는 재조합 수단을 포함하는 임의의 수단에 의해 2개 이상의 요소들 또는 성분들이 함께 연결되는 것을 지칭한다. "인-프레임(in-frame) 융합"은 원래의 개방 판독 프레임(ORF)의 정확한 번역 판독 프레임을 유지하는 방식으로 2개 이상의 폴리뉴클레오타이드 ORF들이 연결되어 연속적인 더 긴 ORF를 형성하는 것을 지칭한다. 따라서, 재조합 융합 단백질은 원래의 ORF들에 의해 코딩된 폴리펩타이드들에 상응하는 2개 이상의 분절들을 함유하는 단일 단백질이다(분절들은 통상적으로 천연 상태에서 연결된 것처럼 연결되지는 않는다). 따라서, 판독 프레임이 융합된 분절들 전체에 걸쳐 연속적으로 만들어진다 하더라도, 분절들은 예를 들면, 인-프레임 링커 서열에 의해 물리적으로 또는 공간적으로 분리될 수 있다. 예를 들면, 면역글로불린 가변 영역의 CDR들을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드들은 인-프레임으로 융합될 수 있으나, "융합된" CDR들이 연속적인 폴리펩타이드의 일부로서 공번역되는 한, 적어도 하나의 면역글로불린 프레임워크 영역 또는 추가 CDR 영역을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 분리될 수 있다.
- [0110] 폴리펩타이드와 관련하여, "선형 서열" 또는 "서열"은 아미노 말단에서 카복실 말단 방향으로 폴리펩타이드의 아미노산들의 순서이고, 이때 서열에서 서로 인접하는 잔기들은 폴리펩타이드의 일차 구조에서 연속적이다.
- [0111] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "발현"은 유전자가 생화학적 물질, 예를 들면, 폴리펩타이드를 생성하는 과정을 지칭한다. 이 과정은 유전자 너다운(knockdown)뿐만 아니라 일시적 발현 및 안정한 발현 둘 다도 포함한다.

이들로 한정되지 않는, 세포 내에서의 유전자의 기능적 존재의 임의의 형질발현을 포함한다. 이것은 메신저 RNA(mRNA)로의 유전자의 전사, 및 폴리펩타이드(들)로의 이러한 mRNA의 번역을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 최종 원하는 생성물이 생화학적 생성물인 경우, 발현은 그 생화학적 생성물 및 임의의 전구체의 생성을 포함한다. 유전자의 발현은 "유전자 생성물"을 생성한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 유전자 생성물은 핵산, 예를 들면, 유전자의 전사에 의해 생성된 메신저 RNA, 또는 전사체로부터 번역된 폴리펩타이드일 수 있다. 본원에 기재된 유전자 생성물은 전사 후 변형, 예를 들면, 폴리아데닐화를 가진 핵산, 또는 번역 후 변형, 예를 들면, 메틸화, 글리코실화, 지질의 추가, 다른 단백질 서브유닛과의 연결, 단백질용해 절단 등을 가진 폴리펩타이드도 포함한다.

[0112] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "치료한다" 또는 "치료"는 치유적 치료 및 예방적 또는 방지적 조치 둘 다를 지칭하고, 이때 목적은 원하지 않는 생리학적 변화 또는 장애, 예컨대, 자가면역 상태의 진행을 예방하거나 늦추는 것(경감시키는 것)이다. 유리한 또는 원하는 임상 결과는 검출가능하든 아니면 검출불가능하든 관계 없이 증상의 완화, 질환 정도의 감소, 질환의 안정화된(즉, 악화되지 않는) 상태, 질환 진행의 지연 또는 늦춤, 질환 상태의 호전 또는 경감, 및 관해(부분적 또는 전체적)를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. "치료"는 치료를 받지 않는 경우 예상된 생존에 비해 생존을 연장하는 것을 의미할 수도 있다. 치료를 필요로 하는 대상체는 상태 또는 장애를 이미 가진 대상체뿐만 아니라, 상태 또는 장애를 갖기 쉬운 대상체, 또는 상태 또는 장애가 예방될 대상체도 포함한다.

[0113] "대상체" 또는 "개체" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유동물"은 진단, 예후 또는 치료가 요구되는 임의의 대상체, 특히 포유동물 대상체를 의미한다. 포유동물 대상체는 인간, 사육 동물, 농장 동물, 및 동물원, 스포츠 또는 애완 동물, 예컨대, 개, 고양이, 기니 피그, 토끼, 래트, 마우스, 말, 소, 젖소 등을 포함한다.

[0114] 본원에서 사용된 바와 같이, "항-ILT7 항체의 투여로부터 이익을 얻을 대상체" 및 "치료를 필요로 하는 동물"과 같은 어구는 예를 들면, 항-ILT7 폴리펩타이드의 검출을 위해(예를 들면, 진단 절차를 위해) 사용된 항-ILT7 항체의 투여, 및/또는 항-ILT7 항체를 사용한 치료, 즉 질환의 경감 또는 예방으로부터 이익을 얻을 대상체, 예컨대, 포유동물 대상체를 포함한다.

[0115] II. ILT7

[0116] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "ILT7" 및 "ILT7 폴리펩타이드"는 상호교환가능하게 사용된다. 일부 실시양태에서, ILT7은 전체 길이 ILT7이다. 또 다른 실시양태에서, ILT7은 성숙 ILT7(아미노산 24-499)이다. 다른 실시양태에서, ILT7은 전체 길이 ILT7, 이의 단편 또는 ILT7 변이체 폴리펩타이드를 포함할 수 있고, 이때 ILT7 또는 ILT7 변이체 폴리펩타이드의 단편은 활성 ILT7의 일부 또는 모든 기능적 성질을 보유한다.

[0117] 전체 길이 인간 ILT7은 신호 펩타이드(아미노산 1-23), 세포외 도메인(아미노산 24-446), 막통과 도메인(아미노산 447-467) 및 세포질 도메인(아미노산 468-499)을 함유하는 499 아미노산 단백질(수탁번호 P59901)이다. 세포외 도메인은 4개의 면역글로불린 유사 C2 도메인들(아미노산 24-118, 123-213, 224-313, 및 324-413)을 포함한다. ILT7은 면역글로불린 유사 전사체(ILT) 또는 백혈구 면역글로불린 유사 수용체(LIR) 유전자 패밀리의 구성원이다. 사이토카인 ILT7의 서열은 서열번호 292로서 제공된다:

```
PRTHMQAENLLKPILWAEPGPVHKKPVTIWCQGTLEAQEYRLDKEGNSI
SRHMLKTLESENKAKFSIPSMWEHAGRYHCYYQSPAGWSEPSDPLELVVTAYS
RPSLSALPSPVVTSGVNVTLRCASRLGLGRFTLIEEGDHRLSWTLDHQHNGKF
QALFPVGPLTFSNRGTFRCYGYENNTPYVWSEPSDPLQLLVSGVSRKPSLLTLQG
PVVAPGDNLTLCQGSVDGYIRYALYKEGGDGLPQRPQQSQAGLSQASFTLNPV
RGSHGGQYRCYGAHNVSCKWSAPSDPLDILAGQIPDRPSLSVQLGPTVASGEKV
TLLCQSWGPMFTFLAKEGAHPPLRLRSTYRAQQYQAEFPMSPVTSAHAGTYR
CYGSRSSDPYLLSHSSEPLELVSEATETLNPAQNKSDSKTAPHLQDYTVENLIRM
GIAGLVLVFLGILLFEAQSQRSPTRCSEQVNSREDNAPFRVVEPWEQI(서열번호
292)
```

[0118]

[0119] ILT7은 형질세포양 수지상 세포(pDC)로서 지칭되는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)의 서브세트에서 선택적으로 발현된다. pDC는 면역조절 분자 인터페론(IFN)-알파의 주 공급원이고, ILT7은 이 세포로부터의 IFN-알파의 방출을 조절하는 데 있어서 역할을 한다.

[0120] III. 항-ILT7 결합 분자

[0121] 일부 실시양태에서, 본원에서 제공된 ILT-7 결합 분자는 본원에서 제공된 ILT7 결합 항체의 서열 및/또는 성질을 함유하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이다. ILT7 항체의 서열의 서열번호는 표 2에서 제공되어 있다.

표 2

ILT7 항체 서열 서열번호

항체	VH PN	VH PP	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL PN	VL PP	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR2
SBI28	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
7C7	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
ILT70080	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ILT70080.1	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
ILT70080.2	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
ILT70080.3	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
ILT70080.4	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
ILT70080.5	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
ILT70080.6	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
ILT70080.7	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
ILT70083	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110
ILT70083.1	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
ILT70083.2	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130
ILT70083.3	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140
ILT70083.4	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
ILT70083.5	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160
ILT70083.6	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170
ILT70083.7	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180
ILT70083.8	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190
ILT70083.9	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
ILT70137	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210
ILT70052	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220
ILT70100	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230
ILT70142	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240
ILT70144	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250
ILT70019	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260
ILT70028	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270
ILT70076	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280
ILT70089	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290

[0122]

[0123] 일부 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체, 예를 들면, 항체 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 및 ILT70052는 ILT7에 결합하고 형질세포양 수지상 세포로부터의 IFN-알파 방출을 억제한다.

[0124] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 ILT7에 결합하는 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체, 예를 들면, 항체 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 및 ILT70052를 포함한다. 일부 실시양태에서, 항-ILT7 항체는 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합에 결합한다.

[0125] 한 실시양태에서, 본 발명은 항체 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052와 동일한 ILT7 에피토프에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052의 VH 및 VL을 포함하는 항체와 동일한 ILT7 에피토프에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052의 VH 또는 VL을 포함하는 항체와 동일한 ILT7 에피토프에 특이적으로 결합하는 단리된 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의

항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제공한다.

[0126] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 ILT7에 특이적으로 결합하고, 항체 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052가 ILT7, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 억제하는 단리된 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 ILT7에 특이적으로 결합하고, 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052의 VH 및 VL을 포함하는 항체가 ILT7, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 억제하는 단리된 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 ILT7에 특이적으로 결합하고, 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052의 VH 또는 VL을 포함하는 항체가 ILT7, 예를 들면, 인간, 영장류 또는 무린 ILT7, 또는 인간, 영장류 및 무린 ILT7의 임의의 조합에 특이적으로 결합하는 것을 경쟁적으로 억제하는 단리된 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제공한다.

[0127] 일부 실시양태에서, 본 발명의 결합 분자는 기준 항-ILT7 항체 분자에 대한 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94% 또는 95% 서열 동일성을 가진 아미노산 서열을 가진다. 추가 실시양태에서, 결합 분자는 기준 항체와 적어도 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 서열 동일성을 공유한다. 일부 실시양태에서, 기준 항체는 7C7, ILT70080, ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052이다.

[0128] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열번호 22, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 202, 212, 222, 232, 242, 252 및 262의 VH 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가진 VH 도메인을 포함하거나, 본질적으로 이러한 VH 도메인으로 구성되거나, 이러한 도메인으로 구성된 단리된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제공하고, 이때 상기 VH 도메인을 포함하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 ILT7에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 상기 항체, 또는 이의 항원 결합 단편 변이체 또는 유도체는 형질세포양 수지상 세포로부터의 IFN-알파 방출을 억제한다.

[0129] 추가 실시양태에서, 본 발명은 서열번호 27, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207, 217, 227, 237, 247, 257 또는 267의 VL 아미노산 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가진 VL 도메인을 포함하거나, 본질적으로 이러한 VL 도메인으로 구성되거나, 이러한 VL 도메인으로 구성된 단리된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 포함하고, 이때 상기 VL 도메인을 포함하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 ILT7에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 상기 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 형질세포양 수지상 세포로부터의 IFN-알파 방출을 억제한다.

[0130] 추가 실시양태에서, 본 발명은 각각 서열번호 22 및 27; 42 및 47; 52 및 57; 62 및 67; 72 및 77; 82 및 87; 92 및 97; 102 및 107; 112 및 117; 122 및 127; 132 및 137; 142 및 147; 152 및 157; 162 및 167; 172 및 177; 182 및 187; 192 및 197; 202 및 207; 212 및 217; 222 및 227; 232 및 237; 242 및 247; 252 및 257; 또는 262 및 267의 VH 및 VL 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가진 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하거나, 본질적으로 이러한 VH 도메인 및 VL 도메인으로 구성되거나, 이러한 VH 도메인 및 VL 도메인으로 구성된 단리된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 포함하고, 이때 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 ILT7에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 상기 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 형질세포양 수지상 세포로부터의 IFN-알파 방출을 억제한다.

[0131] 추가 실시양태에서, 본 발명은 각각 서열번호 23, 24, 25, 28, 29 및 30; 43, 44, 45, 48, 49 및 50; 53, 54, 55, 58, 59 및 60; 63, 64, 65, 68, 69 및 70; 73, 74, 74, 78, 79 및 80; 83, 84, 85, 88, 89 및 90; 93, 94, 95, 98, 99 및 100; 103, 104, 105, 108, 109 및 110; 113, 114, 115, 118, 119 및 120; 123, 124, 125, 128, 129 및 130; 133, 134, 135, 138, 139 및 140; 143, 144, 145, 148, 149 및 150; 153, 154, 155, 158, 159 및 160; 163, 164, 165, 168, 169 및 170; 173, 174, 175, 178, 179 및 180; 183, 184, 185, 188, 189 및

190; 193, 194, 195, 198, 199 및 200; 203, 204, 205, 208, 209 및 210; 213, 214, 215, 218, 219 및 220; 223, 224, 225, 228, 229 및 230; 233, 234, 235, 238, 239 및 240; 243, 244, 245, 248, 249 및 250; 253, 254, 255, 258, 259 및 260; 또는 263, 264, 265, 268, 269 및 270의 VH-CDR1, VH-CDR2, VH-CDR3, VL-CDR1, VL-CDR2 및 VL-CDR3 서열을 가진 VH 도메인 및 VL 도메인을 포함하거나, 본질적으로 이러한 VH 도메인 및 VL 도메인으로 구성되거나, 이러한 VH 도메인 및 VL 도메인으로 구성된 단리된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 포함하고, 이때 상기 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 ILT7에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다. 추가 실시양태에서, 상기 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 형질세포양 수지상 세포로부터의 IFN-알파 방출을 억제한다.

[0132] 본 발명의 항-ILT7 항체의 적합한 생물학적 활성 변이체가 본 발명의 방법에서 사용될 수 있다. 이러한 변이체는 모 항-ILT7 항체의 원하는 결합 성질을 보유할 것이다. 항체 변이체를 제조하는 방법은 당분야에서 일반적으로 이용가능하다.

[0133] 돌연변이유발 및 뉴클레오타이드 서열 변경 방법은 당분야에서 잘 공지되어 있다. 예를 들면, 본원에 참고로 도입되는 문헌(Walker and Gaastra, eds. (1983) *Techniques in Molecular Biology* (MacMillan Publishing Company, New York)); 문헌(Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488-492 (1985)); 문헌(Kunkel et al., *Methods Enzymol.* 154:367-382 (1987)); 문헌(Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor, N.Y.)); 미국 특허 제4,873,192호; 및 이 문헌들에서 인용된 참고문헌을 참조한다. 관심 있는 폴리펩타이드의 생물학적 활성에 영향을 미치지 않는 적절한 아미노산 치환에 대한 지침은 전체로서 본원에 참고로 도입되는 문헌(Dayhoff et al. (1978) in *Atlas of Protein Sequence and Structure* (Natl. Biomed. Res. Found., Washington, D.C.), pp. 345-352)의 모델에서 발견될 수 있다. 상기 문헌(Dayhoff et al.)의 모델은 포인트 허용된 돌연변이(Point Accepted Mutation)(PAM) 아미노산 유사성 매트릭스(PAM 250 매트릭스)를 이용하여 적합한 보존적 아미노산 치환을 확인한다. 보존적 치환, 예컨대, 한 아미노산을 유사한 성질을 가진 또 다른 아미노산으로 교환하는 것이 유리할 수 있다. 상기 문헌(Dayhoff et al.) 모델의 PAM 250 매트릭스에 의해 교시된 보존적 아미노산 치환의 예로는 Gly↔Ala, Val↔Ile↔Leu, Asp↔Glu, Lys↔Arg, Asn↔Gln, 및 Phe↔Trp↔Tyr이 있으나 이들로 한정되지 않는다.

[0134] 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 변이체를 구축하는 데 있어서, 변이체가 원하는 성질을 계속 갖도록, 예를 들면, ILT7에 계속 특이적으로 결합할 수 있고 일부 실시양태에서 IFN-알파 방출을 계속 억제할 수 있도록 변형을 만든다. 분명하게는, 변이체 폴리펩타이드를 코딩하는 DNA에서 만들어진 임의의 돌연변이는 서열을 관독 프레임의 외부에 놓지 않아야 한다. 일부 실시양태에서, DNA에서 만들어진 임의의 돌연변이는 이차 mRNA 구조를 생성할 수 있는 상보적인 영역을 생성하지 않을 것이다.

[0135] 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 결합 특이성을 측정하는 방법은 표준 경쟁 결합 어세이, 세포독성 어세이, IFN 방출 어세이, ELISA 어세이 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[0136] 본원에 개시된 불변 영역, CDR, VH 도메인 또는 VL 도메인을 포함하는 임의의 특정 폴리펩타이드가 또 다른 폴리펩타이드와 적어도 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 심지어 100% 동일한 지가 본원에서 논의될 때, 당분야에서 공지되어 있는 방법 및 컴퓨터 프로그램/소프트웨어, 예컨대, BESTFIT 프로그램(위스콘신 서열 분석 팩키지, 유닉스(Unix)용 버전 8, 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group), 미국 위스콘신주 53711 매디슨 사이언스 드라이브 575 유니버시티 리서치 파크 소재)(그러나, 이것으로 한정되지 않음)을 이용하여 % 동일성을 측정할 수 있다. BESTFIT는 문헌(Smith and Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482-489)의 국소 상동성 알고리즘을 이용하여 2개의 서열들 사이에 상동성이 가장 우수한 분절을 찾는다. BESTFIT 또는 임의의 다른 서열 정렬 프로그램을 이용하여 특정 서열이 본 발명에 따른 기준 서열과 예를 들면, 95% 동일한 지를 확인할 때, 당연히 파라미터는 동일성의 퍼센트가 기준 폴리펩타이드 서열의 전체 길이에 걸쳐 계산되고 기준 서열에서 총 아미노산 수의 최대 5%의 상동성 차이가 허용되도록 설정된다.

[0137] 본 발명의 목적을 위해, 12의 갭(gap) 개방 벌점 및 2의 갭 연장 벌점을 이용하는 아핀(affine) 갭 검색, 및 62의 BLOSUM 매트릭스를 이용하는 스미쓰-워터만(Smith-Waterman) 상동성 검색 알고리즘을 이용하여 퍼센트 서열 동일성을 측정할 수 있다. 스미쓰-워터만 상동성 검색 알고리즘은 문헌(Smith and Waterman (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482-489)에 교시되어 있다. 변이체는 예를 들면, 1개 내지 15개만큼 적은 수의 아미노산 잔기, 1개 내지 10개만큼 적은 수의 아미노산 잔기, 예컨대, 6개 내지 10개만큼 적은 수, 5개만큼 적은 수, 4개, 3개, 2개 또는 심지어 1개만큼 적은 수의 아미노산 잔기에 의해 기준 항-ILT7 항체(예를 들면, 7C7, ILT70080,

ILT70080.1-ILT70080.7, ILT70083, ILT70083.1-ILT70083.9, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142, ILT70144 또는 ILT70052)와 상이할 수 있다.

[0138] ILT7에 특이적으로 결합할 수 있고 원하는 활성을 보유할 수 있는 폴리펩타이드의 정확한 화학 구조는 다수의 요인들에 의존한다. 이온화가능한 아미노 및 카복실기가 분자에 존재하기 때문에, 특정 폴리펩타이드는 산성 또는 염기성 염, 또는 중성 형태로서 수득될 수 있다. 적합한 환경 조건에 놓일 때 그들의 생물학적 활성을 보유하는 모든 이러한 제제들이 본원에서 사용된 항-ILT7 항체의 정의에 포함된다. 추가로, 폴리펩타이드의 일차 아미노산 서열은 당 모이어티를 사용한 유도체화(글리코실화) 또는 다른 보충 분자, 예컨대, 지질, 포스페이트, 아세틸기 등에 의해 증가될 수 있다. 상기 일차 아미노산 서열은 사카라이드와의 접합에 의해 증가될 수도 있다. 이러한 증가의 일부 양태는 생산 숙주의 번역 후 프로세싱 시스템을 통해 달성되고; 다른 이러한 변형은 시험관내에서 도입될 수 있다. 어떠한 경우에도, 항-ILT7 항체의 원하는 성질이 파괴되지 않는 한, 이러한 변형은 본원에서 사용된 항-ILT7 항체의 정의에 포함된다. 이러한 변형은 다양한 어세이드에서 폴리펩타이드의 활성을 향상시키거나 감소시킴으로써 활성에 정량적으로 또는 정성적으로 영향을 미칠 수 있을 것으로 예상된다. 추가로,쇄 내의 개별 아미노산 잔기를 산화, 환원 또는 다른 유도체화로 변형시킬 수 있고, 폴리펩타이드를 절단하여 활성을 보유하는 단편을 수득할 수 있다. 원하는 성질(예를 들면, ILT7에 대한 결합 특이성, 결합 친화성 및 관련된 활성, 예를 들면, 비만 세포 또는 내피 세포로부터의 ILT7-유도된 사이토카인 방출 및 TF-1 세포의 증식을 억제하는 능력)을 파괴하지 않는 이러한 변형은 본원에서 사용된 관심 있는 항-ILT7 항체의 정의로부터 폴리펩타이드 서열을 제거하지 않는다.

[0139] 당분야는 폴리펩타이드 변이체의 제조 및 사용에 관한 실질적인 지침을 제공한다. 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 변이체를 제조하는 데 있어서, 당분야에서 숙련된 자는 천연 단백질의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열에 대한 어느 변형이 본 발명의 방법에서 사용된 약화 조성물의 치료 활성 성분으로서 사용하기에 적합한 변이체를 생성할 것인지를 용이하게 확인할 수 있다.

[0140] 항-ILT7 항체의 불변 영역을 다수의 방식으로 돌연변이시켜 이펙터 기능을 변경시킬 수 있다. 예를 들면, Fc 수용체에 결합하는 항체를 최적화하는 Fc 돌연변이를 개시하는 미국 특허 제6,737,056B1호 및 미국 특허출원 공보 제2004/0132101A1호를 참조한다.

[0141] 일부 항-ILT7 항체들에서, 당분야에서 공지되어 있는 기법을 이용하여 Fc 부분을 돌연변이시켜 이펙터 기능을 감소시킬 수 있다. 예를 들면, 불변 영역 도메인의 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통한) 결실 또는 불활성화는 순환 변형된 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시킬 수 있다. 다른 경우, 본 발명과 일치하는 불변 영역 변형은 보체 결합을 완화시킴으로써 접합된 세포독소의 혈청 반감기 및 비특이적 연결을 감소시킬 수 있다. 불변 영역의 다른 변형을 사용하여, 증가된 항원 특이성 또는 항체 유연성으로 인해 향상된 국소화를 가능하게 하는 디설파이드 결합 또는 올리고사카라이드 모이어티를 변형시킬 수 있다. 변형의 생성된 생리학적 프로파일, 생체이용률 및 다른 생화학적 효과, 예컨대, 생체분포 및 혈청 반감기는 과도한 실험 없이 잘 공지되어 있는 면역학적 기법을 이용함으로써 용이하게 측정되고 정량될 수 있다.

[0142] 본원에서 제공된 일부 ILT7 항체들은 비푸코실화된다. Fc N-글리칸으로부터의 코어 푸코스 잔기를 결여하는 항체는 푸코실화된 대응물에 비해 훨씬 더 높은 효능으로 보다 더 낮은 농도에서 강한 ADCC를 나타내고, 그와 감마 수용체 IIIa(Fc FcγRIIIa)의 높은 결합을 통해 ADCC에 대한 혈청 면역글로불린 G(IgG)의 억제 효과를 회피할 수 있다.

[0143] 본 발명의 항-ILT7 항체는 예를 들면, 공유 부착이 항체와 그의 동족 에피토프의 특이적 결합을 방해하지 않도록 임의의 유형의 분자와 항체의 공유 부착에 의해 변형된 유도체도 포함한다. 한정이 아닌 예로써, 항체 유도체는 예를 들면, 글리코실화, 아세틸화, 폐질화, 인산화, 아마이드화, 공지된 보호/차단기에 의한 유도체화, 단백질용해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에의 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 임의의 다수의 화학적 변형들은 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는 공지된 기법에 의해 수행될 수 있다. 추가로, 상기 유도체는 하나 이상의 비고전적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0144] "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 잔기가 유사한 전하를 가진 측쇄를 가진 아미노산 잔기로 교체되어 있는 아미노산 치환이다. 유사한 전하를 가진 측쇄를 가진 아미노산 잔기들의 패밀리는 당분야에서 정의되어 있다. 이 패밀리는 염기성 측쇄를 가진 아미노산(예를 들면, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄를 가진 아미노산(예를 들면, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄를 가진 아미노산(예를 들면, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄를 가진 아미노산(예를 들면, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타-분지된 측쇄를 가진 아미노산(예를 들면, 트레오닌,

발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄를 가진 아미노산(예를 들면, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)을 포함한다. 대안적으로, 돌연변이는 예컨대, 포화 돌연변이유발에 의해 코딩 서열의 전부 또는 일부를 따라 무작위로 도입될 수 있고, 생성된 돌연변이체는 활성(예를 들면, 항-ILT7 폴리펩타이드에 결합하는 능력)을 보유하는 돌연변이체를 확인하기 위해 생물학적 활성에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0145] 예를 들면, 돌연변이를 항체 분자의 프레임워크 영역에만 또는 CDR 영역에만 도입하는 것도 가능하다. 도입된 돌연변이는 침묵 또는 중성 미스센스 돌연변이일 수 있고, 즉 항원에 결합하는 항체의 능력에 전혀 또는 거의 영향을 미치지 않는다. 이 유형의 돌연변이는 코돈 용범을 최적화하거나 하이브리도마의 항체 생성을 개선하는데 유용할 수 있다. 대안적으로, 비-중성 미스센스 돌연변이는 항원에 결합하는 항체의 능력을 변경시킬 수 있다. 대부분의 침묵 및 중성 미스센스 돌연변이들의 위치는 프레임워크 영역에 있을 가능성이 있는 반면, 대부분의 비-중성 미스센스 돌연변이들의 위치는 CDR에 있을 가능성 있으나, 이것은 절대적인 요건이 아니다. 당분야에서 숙련된 자는 원하는 성질을 가진, 예컨대, 항원 결합 활성의 변경 또는 결합 활성의 변경(예를 들면, 항원 결합 활성의 개선 또는 항체 특이성의 변화)을 갖지 않는 돌연변이체 분자를 디자인하고 시험할 수 있을 것이다. 돌연변이유발 후, 코딩된 단백질은 관례적으로 발현될 수 있고, 코딩된 단백질의 기능적 및/또는 생물학적 활성(예를 들면, ILT7 폴리펩타이드의 적어도 하나의 에피토프에 면역특이적으로 결합하는 능력)은 본원에 기재된 기법을 이용하거나 당분야에서 공지되어 있는 기법을 관례적으로 변형시킴으로써 측정될 수 있다.

[0146] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항-ILT7 항체는 적어도 하나의 최적화된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. "최적화된 CDR"은 CDR이 변형되었고 최적화된 서열이 최적화된 CDR을 포함하는 항-ILT7 항체에 부여된, 지속되거나 개선된 결합 활성 및/또는 항-ILT7 활성을 기반으로 선택되었다는 것을 의미한다. "항-ILT7 활성"은 예를 들면, ILT7과 관련된 하기 활성들 중 하나 이상의 활성, 예를 들면, 형질세포양 수지상 세포로부터의 ILT7-유도된 인터페론 방출, ILT7 발현 세포에 대한 세포독성, 또는 ILT7과 관련된 임의의 다른 활성을 조절하는 활성을 포함할 수 있다. 항-ILT7 활성은 일부 유형의 자가면역 상태들, 예를 들면, 전신 홍반 루푸스, 만성 류마티즘 및 건선을 포함하나 이들로 한정되지 않는, ILT7 발현과 관련된 질환의 발병률 또는 중증도의 감소에 기인할 수도 있다. 변형은 항-ILT7 항체가 ILT7 항원에 대한 특이성을 보유하고 개선된 결합 친화성 및/또는 개선된 항-ILT7 활성을 갖도록 CDR 내의 아미노산 잔기의 교체를 포함할 수 있다.

[0147] IV. 항-ILT7 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드

[0148] 본 발명은 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩하는 핵산 분자도 제공한다.

[0149] 추가 실시양태에서, 본 발명은 서열번호 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 202, 212, 222, 232 또는 242를 포함하는 기준 VH 도메인 폴리펩타이드 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가진 VH 도메인을 코딩하는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이러한 핵산으로 구성되거나, 이러한 핵산으로 구성된 단리된 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 이때 코딩된 VH 도메인을 포함하는 항-ILT7 항체는 ILT7에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 형질세포양 수지상 세포로부터의 IFN-알파 방출을 억제하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩한다.

[0150] 추가 실시양태에서, 본 발명은 서열번호 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207, 217, 227, 237 또는 247을 포함하는 기준 VL 도메인 폴리펩타이드 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 가진 VL 도메인을 코딩하는 핵산을 포함하거나, 본질적으로 이러한 핵산으로 구성되거나, 이러한 핵산으로 구성된 단리된 폴리뉴클레오타이드를 포함하고, 이때 코딩된 VL 도메인을 포함하는 항-ILT7 항체는 ILT7에 특이적으로 또는 우선적으로 결합한다. 일부 실시양태에서, 상기 폴리뉴클레오타이드는 형질세포양 수지상 세포로부터의 IFN-알파 방출을 억제하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩한다.

[0151] 상기 폴리뉴클레오타이드들 중 임의의 폴리뉴클레오타이드는 예를 들면, 코딩된 폴리펩타이드, 본원에 기재된 항체 불변 영역 또는 본원에 기재된 다른 이중 폴리펩타이드의 분비를 유도하는 신호 펩타이드를 코딩하는 추가 핵산을 추가로 포함할 수 있다. 또한, 본원의 다른 곳에 더 상세히 더 기재된 바와 같이, 본 발명은 상기 폴리뉴클레오타이드들 중 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 조성물을 포함한다.

[0152] 한 실시양태에서, 본 발명은 제1 폴리뉴클레오타이드 및 제2 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 조성물을 포함하고, 이때 상기 제1 폴리뉴클레오타이드는 본원에 기재된 VH 도메인을 코딩하고 상기 제2 폴리뉴클레오타이드는

본원에 기재된 VL 도메인을 코딩한다. 구체적으로, 조성물은 서열번호 11, 21, 31, 41, 51, 61, 71, 81, 91, 101, 111, 121, 131, 141, 151, 161, 171, 181, 191, 201, 211, 221, 231 또는 241에 기재된 VH 도메인 코딩 폴리뉴클레오타이드, 및 서열번호 16, 26, 36, 46, 56, 66, 76, 86, 96, 106, 116, 126, 136, 146, 156, 166, 176, 186, 196, 206, 216, 226, 236 또는 246에 기재된 VL 도메인 코딩 폴리뉴클레오타이드를 포함할 수 있거나, 본질적으로 이러한 폴리뉴클레오타이드들로 구성될 수 있거나, 이러한 폴리뉴클레오타이드들로 구성될 수 있다. 또한, 조성물은 서열번호 12, 22, 32, 42, 52, 62, 72, 82, 92, 102, 112, 122, 132, 142, 152, 162, 172, 182, 192, 202, 212, 222, 232 또는 242에 기재된 서열을 코딩하는 VH 도메인 코딩 폴리뉴클레오타이드, 및 서열번호 17, 27, 37, 47, 57, 67, 77, 87, 97, 107, 117, 127, 137, 147, 157, 167, 177, 187, 197, 207, 217, 227, 237, 247, 257 또는 267에 기재된 서열을 코딩하는 VL 도메인 코딩 폴리뉴클레오타이드를 포함할 수 있거나, 본질적으로 이러한 폴리뉴클레오타이드들로 구성될 수 있거나, 이러한 폴리뉴클레오타이드들로 구성될 수 있다. 일부 실시양태에서, VH 도메인 코딩 폴리펩타이드 및 VL 도메인 코딩 폴리펩타이드는 동일한 벡터에 존재한다. 일부 실시양태에서, VH 도메인 코딩 폴리펩타이드 및 VL 도메인 코딩 폴리펩타이드는 상이한 벡터에 존재한다.

[0153] 본 발명은 다른 곳에 기재된 바와 같이 본 발명의 폴리뉴클레오타이드의 단편도 포함한다. 추가로, 본원에 기재된 융합 폴리펩타이드, Fab 단편 및 다른 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드도 본 발명에 의해 고려된다.

[0154] 폴리뉴클레오타이드는 당분야에서 공지되어 있는 임의의 방법에 의해 생성될 수 있거나 제조될 수 있다. 예를 들면, 항체의 뉴클레오타이드 서열이 공지되어 있는 경우, 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 (예를 들면, 문헌(Kutmeier et al., Bio Techniques 17:242 (1994))에 기재된 바와 같이) 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오타이드들로부터 조립될 수 있고, 요약하면 이 과정은 항체를 코딩하는 서열의 일부를 함유하는 중첩 올리고뉴클레오타이드의 합성, 이 올리고뉴클레오타이드의 어닐링 및 결합, 및 이어서 PCR에 의한 결합된 올리고뉴클레오타이드의 증폭을 포함한다.

[0155] 대안적으로, 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 적합한 공급원으로부터의 핵산으로부터 생성될 수 있다. 특정 항체를 코딩하는 핵산을 함유하는 클론이 입수될 수 없으나, 항체 분자의 서열이 공지되어 있는 경우, 항체를 코딩하는 핵산은 서열의 3' 말단 및 5' 말단에 하이브리드화될 수 있는 합성 프라이머를 사용하여 PCR 증폭하거나, 특정 유전자 서열에 특이적인 올리고뉴클레오타이드 프로브를 사용하여 클로닝하여, 상기 항체 또는 다른 항-ILT7 항체를 코딩하는 cDNA 클론을 cDNA 라이브러리로부터 확인함으로써 화학적으로 합성될 수 있거나 적합한 공급원(예를 들면, 항체 cDNA 라이브러리, 또는 상기 항체 또는 다른 항-ILT7 항체를 발현하는 임의의 조직 또는 세포, 예컨대, 항체를 발현하도록 선택된 하이브리도마 세포로부터 생성된 cDNA 라이브러리, 또는 상기 조직 또는 세포로부터 단리된 핵산, 예를 들면, 폴리 A+RNA)으로부터 수득될 수 있다. 그 다음, PCR에 의해 생성된 증폭된 핵산은 당분야에서 잘 공지되어 있는 임의의 방법을 이용함으로써 복제가능한 클로닝 벡터 내로 클로닝될 수 있다.

[0156] 일단 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 뉴클레오타이드 서열 및 상응하는 아미노산 서열이 확인되면, 그의 뉴클레오타이드 서열은 당분야에서 잘 공지되어 있는 뉴클레오타이드 서열의 조작 방법, 예를 들면, 재조합 DNA 기법, 부위 지정된 돌연변이유발, PCR 등(예를 들면, 전체로서 본원에 참고로 도입되는 문헌(Sambrook et al. (1990) Molecular Cloning, A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.)) 및 문헌(Ausubel et al., eds. (1998) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, NY))에 기재된 기법 참조)을 이용하여 상이한 아미노산 서열을 가진 항체를 생성함으로써, 예를 들면, 아미노산 치환, 결실 및/또는 삽입을 생성함으로써 조작될 수 있다.

[0157] 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 변형되지 않은 RNA 또는 DNA, 또는 변형된 RNA 또는 DNA일 수 있는 임의의 폴리리보뉴클레오타이드 또는 폴리데옥시리보뉴클레오타이드로 구성될 수 있다. 예를 들면, 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 단일 가닥 DNA 및 이중 가닥 DNA, 단일 가닥 영역과 이중 가닥 영역의 혼합물인 DNA, 단일 가닥 RNA 및 이중 가닥 RNA, 및 단일 가닥 영역과 이중 가닥 영역의 혼합물인 RNA, 단일 가닥 또는 보다 전형적으로 이중 가닥일 수 있거나 단일 가닥 영역과 이중 가닥 영역의 혼합물일 수 있는 DNA 및 RNA를 포함하는 하이브리드 분자로 구성될 수 있다. 추가로, 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 RNA 또는 DNA, 또는 RNA 및 DNA 둘 다를 포함하는 삼중 가닥 영역으로 구성될 수 있다. 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 안정성 또는 다른 이유로 변형된 하나 이상의 변형된 염기, 또는 DNA 또는 RNA 골격도 함유할 수 있다. "변형된" 염기는 예를 들면, 트리틸화된 염기 및

회귀 염기, 예컨대, 이노신을 포함한다. DNA 및 RNA를 다양하게 변형시킬 수 있으므로; "폴리뉴클레오타이드"는 화학적으로, 효소적으로 또는 대사적으로 변형된 형태를 포괄한다.

[0158] 면역글로불린(예를 들면, 면역글로불린 중쇄 부분 또는 경쇄 부분)으로부터 유래된 폴리펩타이드의 비천연 변이체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오타이드는 하나 이상의 아미노산 치환, 추가 또는 결실이 코딩된 단백질 내로 도입되도록 하나 이상의 뉴클레오타이드 치환, 추가 또는 결실을 면역글로불린의 뉴클레오타이드 서열 내로 도입함으로써 생성될 수 있다. 돌연변이는 표준 기법, 예컨대, 부위 지정된 돌연변이유발 및 PCR 매개 돌연변이유발에 의해 도입될 수 있다. 보존적 아미노산 치환은 하나 이상의 비필수 아미노산 잔기에서 만들어질 수 있다.

[0159] V. 융합 단백질 및 항체 접합체

[0160] 본원의 다른 곳에서 더 상세히 논의된 바와 같이, 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 N-말단 또는 C-말단에서 이중 폴리펩타이드에 재조합적으로 융합될 수도 있거나, 폴리펩타이드 또는 다른 조성물에 화학적으로 접합될 수도 있다(공유 접합 및 비공유 접합을 포함함). 예를 들면, 항-ILT7 항체는 검출 어세이에서 표지로서 유용한 분자 및 이펙터 분자, 예컨대, 이중 폴리펩타이드, 약물, 방사성핵종 또는 독소에 재조합적으로 융합될 수 있거나 접합될 수 있다. 예를 들면, PCT 공보 제WO 92/08495호; PCT 공보 제WO 91/14438호; PCT 공보 제WO 89/12624호; 미국 특허 제5,314,995호; 및 유럽 특허 제396,387호를 참조한다.

[0161] 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 즉, 공유 부착이 항체와 ILT7의 결합을 방해하지 않도록 임의의 유형의 분자와 항체의 공유 부착에 의해 변형된 유도체를 포함할 수 있다. 한정이 아닌 예로써, 항체 유도체는 예를 들면, 글리코실화, 아세틸화, 페길화, 인산화, 아마이드화, 공지된 보호/차단기에 의해 유도체화, 단백질용해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에의 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 다수의 화학적 변형들 중 임의의 화학적 변형이 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는 공지된 기법에 의해 수행될 수 있다. 추가로, 유도체는 하나 이상의 비고전적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0162] 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 펩타이드 결합 또는 변형된 펩타이드 결합, 즉 펩타이드 등배전자체에 의해 서로 연결된 아미노산들로 구성될 수 있고, 20종의 유전자-코딩된 아미노산들 이외의 아미노산을 함유할 수 있다. 예를 들면, 항-ILT7 항체는 천연 과정, 예컨대, 번역 후 프로세싱, 또는 당분야에서 잘 공지되어 있는 화학적 변형 기법에 의해 변형될 수 있다. 이러한 변형은 기본 교재 및 보다 더 상세한 논문뿐만 아니라 방대한 연구 문헌에도 잘 기재되어 있다. 변형은 펩타이드 골격, 아미노산 측쇄 및 아미노 또는 카복실 말단을 포함하는, 항-ILT7 결합 분자 내의 임의의 위치, 또는 모이어티, 예컨대, 탄수화물에서 일어날 수 있다. 동일한 유형의 변형이 소정의 항-ILT7 결합 분자 내의 여러 부위에서 동일한 또는 다양한 정도로 존재할 수 있다는 것을 인식할 것이다. 또한, 소정의 항-ILT7 결합 분자는 많은 유형의 변형들을 함유할 수 있다. 항-ILT7 결합 분자는 예를 들면, 유비퀴틴화의 결과로서 분지될 수 있고, 분지를 갖거나 갖지 않는 환형 항-ILT7 결합 분자일 수 있다. 환형 항-ILT7 결합 분자, 분지된 항-ILT7 결합 분자 및 분지된 환형 항-ILT7 결합 분자는 번역 후 천연 과정으로부터 비롯될 수 있거나 합성 방법에 의해 제조될 수 있다. 변형은 아세틸화, 아실화, ADP-리보실화, 아마이드화, 플라빈의 공유 부착, 헴(heme) 모이어티의 공유 부착, 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 유도체의 공유 부착, 지질 또는 지질 유도체의 공유 부착, 포스포티딜이노시톨의 공유 부착, 가교결합, 환형화, 디설파이드 결합 형성, 탈메틸화, 공유 가교결합의 형성, 시스테인의 형성, 피로글루타메이트의 형성, 포르밀화, 감마-카복실화, 글리코실화, GPI 앵커 형성, 하이드록실화, 요오드화, 메틸화, 미리스토일화, 산화, 페길화, 단백질용해 프로세싱, 인산화, 프레닐화, 라세미체화, 셀레노일화, 황산화, 단백질에의 아미노산의 전달 RNA 매개 추가, 예컨대, 아르기닐화, 및 유비퀴틴화를 포함한다(예를 들면, 문헌(Proteins--Structure and Molecular Properties, T. E. Creighton, W. H. Freeman and Company, NY; 2nd ed. (1993)); 문헌(Johnson, ed. (1983) Posttranslational Covalent Modification of Proteins (Academic Press, NY), pgs. 1-12); 문헌(Seifter et al., Meth. Enzymol. 182:626-646 (1990)); 문헌(Rattan et al., Ann. NY Acad. Sci. 663:48-62 (1992)) 참조).

[0163] 본 발명은 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체, 및 이중 폴리펩타이드를 포함하는 융합 단백질도 제공한다. 항체에 융합된 이중 폴리펩타이드는 기능에 유용할 수 있거나 항-ILT7 폴리펩타이드 발현 세포를 표적화하는 데 유용하다.

[0164] 한 실시양태에서, 본 발명의 융합 단백질은 본 발명의 항체의 임의의 하나 이상의 VH 도메인의 아미노산 서열, 또는 본 발명의 항체, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체의 임의의 하나 이상의 VL 도메인의 아미노산 서열,

및 이중 폴리펩타이드 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함하거나, 본질적으로 이러한 폴리펩타이드로 구성되거나, 이러한 폴리펩타이드로 구성된다.

- [0165] 또 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 진단 및 치료 방법에서 사용할 융합 단백질은 항-ILT7 항체, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체의 VH 도메인의 임의의 1개, 2개 또는 3개의 CDR의 아미노산 서열, 또는 항-ILT7 항체, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체의 VL 도메인의 임의의 1개, 2개 또는 3개의 CDR의 아미노산 서열, 및 이중 폴리펩타이드 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함하거나, 본질적으로 이러한 폴리펩타이드로 구성되거나, 이러한 폴리펩타이드로 구성된다. 한 실시양태에서, 융합 단백질은 본 발명의 항-ILT7 항체의 적어도 하나의 VH 도메인의 아미노산 서열 및 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 단편, 유도체 또는 변이체의 적어도 하나의 VL 도메인의 아미노산 서열, 및 이중 폴리펩타이드 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 단백질의 VH 및 VL 도메인은 ILT7의 적어도 하나의 에피토프에 특이적으로 결합하는 단일 공급원 항체(또는 scFv 또는 Fab 단편)에 상응한다. 또 다른 실시양태에서, 본원에 개시된 진단 및 치료 방법에서 사용할 융합 단백질은 항-ILT7 항체의 VH 도메인의 임의의 1개, 2개 또는 3개 이상의 CDR의 아미노산 서열 및 항-ILT7 항체, 또는 이의 단편 또는 변이체의 VL 도메인의 임의의 1개, 2개 또는 3개 이상의 CDR의 아미노산 서열, 및 이중 폴리펩타이드 서열을 가진 폴리펩타이드를 포함한다. 일부 실시양태에서, VH 도메인 또는 VL 도메인의 2개, 3개, 4개, 5개 또는 6개 이상의 CDR(들)은 본 발명의 단일 공급원 항체(또는 scFv 또는 Fab 단편)에 상응한다. 이 융합 단백질을 코딩하는 핵산 분자들도 본 발명에 포함된다.
- [0166] 문헌에서 보고된 예시적 융합 단백질은 T 세포 수용체(Gascoigne et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:2936-2940 (1987)); CD4(Capon et al., Nature 337:525-531 (1989); Traunecker et al., Nature 339:68-70 (1989); Zettmeissl et al., DNA Cell Biol. USA 9:347-353 (1990); and Byrn et al., Nature 344:667-670(1990)); L-셀렉틴(귀소 수용체)(Watson et al., J. Cell. Biol. 110:2221-2229 (1990); and Watson et al., Nature 349:164-167 (1991)); CD44(Aruffo et al., Cell 61:1303-1313 (1990)); CD28 및 B7(Linsley et al., J. Exp. Med. 173:721-730 (1991)); CTLA-4(Lisley et al., J. Exp. Med. 174:561-569 (1991)); CD22(Stamenkovic et al., Cell 66:1133-1144 (1991)); TNF 수용체(Ashkenazi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539 (1991); Lesslauer et al., Eur. J. Immunol. 27:2883-2886 (1991); and Peppel et al., J. Exp. Med. 174:1483-1489 (1991)); 및 IgE 수용체(Ridgway and Gorman, J. Cell. Biol. Vol. 115, Abstract No. 1448 (1991))의 융합체를 포함한다.
- [0167] 본원의 다른 곳에서 논의된 바와 같이, 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 폴리펩타이드의 생체내 반감기를 증가시키기 위해 또는 당분야에서 공지되어 있는 방법을 이용한 면역어세이에서 사용하기 위해 이중 폴리펩타이드에 융합될 수 있다. 예를 들면, 한 실시양태에서, PEG는 본 발명의 항-ILT7 항체에 접합되어 생체내에서 이 항체의 반감기를 증가시킬 수 있다. 문헌(Leong et al., Cytokine 16:106 (2001)); 문헌(Adv. in Drug Deliv. Rev. 54:531 (2002)); 또는 문헌(Weir et al., Biochem. Soc. Transactions 30:512 (2002))을 참조한다.
- [0168] 나아가, 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 그 의 정제 또는 검출을 용이하게 하기 위해 마커 서열, 예컨대, 펩타이드에 융합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 마커 아미노산 서열은 헥사-히스티딘 펩타이드, 예컨대, 특히 pQE 벡터에서 제공된 태그(QIAGEN, Inc., 캘리포니아주 91311 체즈워쓰 이튼 애비뉴 9259 소재)이고, 이들 중 대다수는 상업적으로 입수가능하다. 문헌(Gentz et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824 (1989))에 기재된 바와 같이, 예를 들면, 헥사-히스티딘은 융합 단백질의 편리한 정제를 제공한다. 정제에 유용한 다른 펩타이드 태그는 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질(Wilson et al., Cell 37:767 (1984))로부터 유래된 에피토프에 상응하는 "HA" 태그 및 "flag" 태그를 포함하나 이들로 한정되지 않는다.
- [0169] 융합 단백질은 당분야에서 잘 공지되어 있는 방법을 이용함으로써 제조될 수 있다(예를 들면, 미국 특허 제 5,116,964호 및 미국 특허 제 5,225,538호 참조). 융합이 만들어지는 정확한 부위는 융합 단백질의 분비 또는 결합 특성을 최적화하기 위해 실험적으로 선택될 수 있다. 그 다음, 융합 단백질을 코딩하는 DNA는 발현을 위해 숙주 세포 내로 형질감염된다.
- [0170] 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 비접합된 형태로 사용될 수 있거나, 예를 들면, 분자의 치료 성질을 개선하기 위해, 표적 검출을 용이하게 하기 위해, 환자의 영상화 또는 치료를 위해 다양한 분자들 중 적어도 한 분자에 접합될 수 있다. 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 정제 전 또는 후, 또는 정제가 수행될

때 표지될 수 있거나 접합될 수 있다.

- [0171] 특히, 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 치료제, 프로드러그, 펩타이드, 단백질, 효소, 바이러스, 지질, 생물학적 반응 변형제, 약제 또는 PEG에 접합될 수 있다.
- [0172] 당분야에서 숙련된 자는 접합될 선택된 물질에 따라 다양한 기법들을 이용함으로써 접합체를 조립할 수도 있다는 것을 인식할 것이다. 예를 들면, 바이오틴을 가진 접합체는 예를 들면, 결합 폴리펩타이드를 바이오틴의 활성화된 에스테르, 예컨대, 바이오틴 N-하이드록시석신이미드 에스테르와 반응시킴으로써 제조된다. 유사하게, 형광 마커를 가진 접합체는 커플링제, 예를 들면, 본원에 나열된 커플링제의 존재 하에서 제조될 수 있거나, 이소티오시아네이트, 예컨대, 플루오레세인-이소티오시아네이트와 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 접합체는 유사한 방식으로 제조된다.
- [0173] 본 발명은 진단제 또는 치료제에 접합된 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체도 포괄한다. 그의 항원 결합 단편, 변이체 및 유도체를 포함하는 항-ILT7 항체는 예를 들면, 소정의 치료법 및/또는 예방법의 효능을 확인하기 위한 임상 시험 절차의 일부로서 질환의 발생 또는 진행을 모니터링하는 데 진단적으로 사용될 수 있다. 예를 들면, 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 검출가능한 물질에 커플링시킴으로써 검출을 용이하게 할 수 있다. 검출가능한 물질의 예로는 다양한 효소, 보결분자단, 형광 물질, 발광 물질, 생체발광 물질, 방사성 물질, 다양한 양전자 방출 단층촬영을 이용하는 양전자 방출 금속, 및 비방사성 상자성 금속 이온이 있다. 예를 들면, 본 발명에 따라 진단제로서 사용하기 위해 항체에 접합될 수 있는 금속 이온에 대해서는 예를 들면, 미국 특허 제4,741,900호를 참조한다. 적합한 효소의 예로는 호스라디쉬 퍼록시다제(horseradish peroxidase), 알칼리성 포스파타제(alkaline phosphatase), β -갈락토시다제(galactosidase) 또는 아세틸콜린에스테라제(acetylcholinesterase)가 있고; 적합한 보결분자단 복합체의 예로는 스트렙타비딘/바이오틴 및 아비딘/바이오틴이 있고; 적합한 형광 물질의 예로는 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 염화단실 또는 파이크오리쓰린이 있고; 발광 물질의 예로는 루미놀이 있고; 생체발광 물질의 예로는 루시페라제, 루시페린 및 에쿠오린이 있고; 적합한 방사성 물질의 예로는 ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In , ^{90}Y 또는 ^{99}Tc 가 있다.
- [0174] 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 이것을 화학발광 화합물에 커플링시킴으로써 검출가능하게 표지될 수도 있다. 그 다음, 화학발광-태깅된 항-ILT7 결합 분자의 존재는 화학 반응의 과정 동안 발생하는 발광의 존재를 검출함으로써 확인된다. 특히 유용한 화학발광 표지부착 화합물의 예는 루미놀, 이소루미놀, 써로마틱(theromatic) 아크리디늄 에스테르, 이미다졸, 아크리디늄 염 및 옥살레이트 에스테르이다.
- [0175] 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체가 검출가능하게 표지될 수 있는 방식들 중 한 방식은 이 물질을 효소에 연결하고 연결된 생성물을 효소 면역어세이(EIA)에서 사용하는 것이다(Voller, A., "The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)" Microbiological Associates Quarterly Publication, Walkersville, Md.; Diagnostic Horizons 2:1-7 (1978); Voller et al., J. Clin. Pathol. 31:507-520 (1978); Butler, Meth. Enzymol. 73:482-523 (1981); Maggio, ed. (1980) Enzyme Immunoassay, CRC Press, Boca Raton, Fla.; Ishikawa et al., eds. (1981) Enzyme Immunoassay (Kaku Shoin, Tokyo)). 항-ILT7 항체에 결합된 효소는 예를 들면, 분광광도측정, 형광측정 또는 시각적 수단에 의해 검출될 수 있는 화학적 모이티를 생성하는 방식으로 적절한 기질, 예컨대, 발색성 기질과 반응할 것이다. 항체를 검출가능하게 표지하는 데 사용될 수 있는 효소는 말레이트 데하이드로게나제(dehydrogenase), 스태필로코커스 뉴클레아제(staphylococcal nuclease), 델타-5-스테로이드 이소머라제(isomerase), 효모 알코올 데하이드로게나제, 알파-글리세로포스페이트, 데하이드로게나제, 트리오스 포스페이트 이소머라제, 호스라디쉬 퍼록시다제, 알칼리성 포스파타제, 아스파라기나제(asparaginase), 글루코스 옥시다제(oxidase), 베타-갈락토시다제, 리보뉴클레아제(ribonuclease), 우레아제(urease), 카탈라제(catalase), 글루코스-6-포스페이트 데하이드로게나제, 글루코아밀라제(glucoamylase) 및 아세틸콜린에스테라제를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 추가로, 검출은 효소에 대한 발색성 기질을 사용하는 비색 방법에 의해 달성될 수 있다. 검출은 유사하게 제조된 표준물에 비해 기질의 효소 반응의 정도를 시각적으로 비교함으로써 달성될 수도 있다.
- [0176] 검출은 다양한 다른 면역어세이드들 중 임의의 면역어세이드를 이용함으로써 달성될 수도 있다. 예를 들면, 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 방사성 표지함으로써, 방사면역어세이(RIA)의 이용을 통해 결합 분자를 검출할 수 있다(예를 들면, 본원에 참고로 도입되는 문헌(Weintraub (March, 1986) Principles of Radioimmunoassays, Seventh Training Course on Radioligand Assay Techniques

(The Endocrine Society)) 참조). 방사성 동위원소는 감마 카운터, 신틸레이션(scintillation) 카운터 또는 오토라디오그래피(autoradiography)를 포함하나 이들로 한정되지 않는 수단에 의해 검출될 수 있다.

[0177] 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 형광 방출 금속, 예컨대, ^{152}Eu , 또는 란타나이드 계열의 다른 금속을 사용함으로써 검출가능하게 표지될 수도 있다. 이 금속들은 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA) 또는 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA)과 같은 금속 킬레이팅 기를 사용함으로써 결합 분자에 부착될 수 있다.

[0178] 다양한 모이어티들을 항체(예를 들면, 항-ILT7 항체), 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체에 접합시키는 기법은 잘 공지되어 있다(예를 들면, 문헌(Amon et al. (1985) "Monoclonal Antibodies for Immunotargeting of Drugs in Cancer Therapy," in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, ed. Reisfeld et al. (Alan R. Liss, Inc.), pp. 243-56); 문헌(Hellstrom et al. (1987) "Antibodies for Drug Delivery," in Controlled Drug Delivery, ed. Robinson et al. (2nd ed.; Marcel Dekker, Inc.), pp. 623-53); 문헌(Thorpe (1985) "Antibody Carriers of Cytotoxic Agents in Cancer Therapy: A Review," in Monoclonal Antibodies '84: Biological and Clinical Applications, ed. Pinchera et al., pp. 475-506); 문헌("Analysis, Results, and Future Prospective of the Therapeutic Use of Radiolabeled Antibody in Cancer Therapy," in Monoclonal Antibodies for Cancer Detection and Therapy, ed. Baldwin et al., Academic Press, pp. 303-16 (1985)); 및 문헌(Thorpe et al. (1982) "The Preparation and Cytotoxic Properties of Antibody-Toxin Conjugates," Immunol. Rev. 62:119-58) 참조).

[0179] VI. 항체 폴리펩타이드의 발현

[0180] 잘 공지되어 있는 방법에 따라 역전사효소 및 DNA 중합효소를 사용하여 항체의 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 DNA 서열들을 동시에 또는 별도로 제조할 수 있다. 공개된 중쇄 및 경쇄 DNA 및 아미노산 서열에 기반을 둔 컨센서스 불변 영역 프라이머 또는 보다 더 특이적인 프라이머로 PCR을 시작할 수 있다. 상기 논의된 바와 같이, PCR을 이용하여 항체 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 DNA 클론을 분리할 수도 있다. 이 경우, 라이브러리를 컨센서스 프라이머 또는 보다 더 큰 상동성 프로브, 예컨대, 마우스 불변 영역 프로브로 스크리닝할 수 있다.

[0181] 당분야에서 잘 공지되어 있는 기법을 이용하여 DNA, 전형적으로 플라스미드 DNA를 세포로부터 분리할 수 있고, 제한 맵핑할 수 있고, 예를 들면, 재조합 DNA 기법에 관한 상기 참고문헌들에 상세히 기재된 잘 공지되어 있는 표준 기법에 따라 시퀀싱할 수 있다. 물론, DNA는 분리 과정 또는 후속 분석 동안 임의의 시점에서 본 발명에 따른 합성 DNA일 수 있다.

[0182] 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제공하기 위한 분리된 유전 물질의 조작 후, 전형적으로 원하는 양의 항-ILT7 항체를 생성하는 데 사용될 수 있는 숙주 세포 내로의 도입을 위해 항-ILT7 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 발현 벡터 내에 삽입한다.

[0183] 항체, 또는 이의 단편, 변이체 또는 유도체, 예를 들면, 본원에 기재된 표적 분자, 예를 들면, ILT7에 결합하는 항체의 중쇄 또는 경쇄의 재조합 발현은 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 발현 벡터의 구축을 요구한다. 일단 본 발명의 항체 분자, 또는 항체의 중쇄 또는 경쇄, 또는 이의 부분(예를 들면, 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 함유함)을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드가 수득되면, 당분야에서 잘 공지되어 있는 기법을 이용하는 재조합 DNA 기술로 항체 분자의 생성을 위한 벡터를 생성할 수 있다. 따라서, 항체 코딩 뉴클레오타이드 서열을 함유하는 폴리뉴클레오타이드를 발현시킴으로써 단백질을 제조하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 당분야에서 숙련된 자에게 잘 공지되어 있는 방법을 이용하여 항체 코딩 서열 및 적절한 전사 및 번역 제어 신호를 함유하는 발현 벡터를 구축할 수 있다. 이 방법은 예를 들면, 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법 및 생체내 유전적 재조합을 포함한다. 따라서, 본 발명은 프로모터에 작동가능하게 연결된, 본 발명의 항체 분자, 또는 이의 중쇄 또는 경쇄, 또는 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 복제가능한 벡터를 제공한다. 이러한 벡터는 항체 분자의 불변 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있고(예를 들면, PCT 공보 제WO 86/05807호; PCT 공보 제WO 89/01036호; 및 미국 특허 제5,122,464호 참조), 항체의 가변 도메인은 전체 중쇄 또는 경쇄의 발현을 위해 이러한 벡터 내에 클로닝될 수 있다.

[0184] 용어 "벡터" 또는 "발현 벡터"는 원하는 유전자를 숙주 세포 내에 도입하고 발현시키기 위한 비히클로서 본 발명에 따라 사용된 벡터를 의미하기 위해 본원에서 사용된다. 당분야에서 숙련된 자에게 공지되어 있는 바와 같이, 이러한 벡터는 플라스미드, 파지, 바이러스 및 레트로바이러스로 구성된 군으로부터 용이하게 선택될 수 있다. 일반적으로, 본 발명에 적합한 벡터는 원하는 유전자의 클로닝, 및 진행 또는 원핵 세포 내로 들어가고/가

거나 이 세포에서 복제하는 능력을 용이하게 하기 위해 선택 마커 및 적절한 제한 부위를 포함할 것이다.

- [0185] 본 발명의 목적을 위해, 다수의 발현 벡터 시스템들이 사용될 수 있다. 예를 들면, 한 부류의 벡터는 동물 바이러스, 예컨대, 소 파필로마 바이러스, 폴리오마 바이러스, 아데노바이러스, 백시니아 바이러스, 바콜로바이러스, 레트로바이러스(RSV, MMTV 또는 MOMLV) 또는 SV40 바이러스로부터 유래된 DNA 요소를 사용한다. 다른 방법은 내부 리보솜 결합 부위를 가진 폴리시스트론성(polycistronic) 시스템의 사용을 포함한다. 추가로, 형질감염된 숙주 세포의 선택을 가능하게 하는 하나 이상의 마커를 도입함으로써, DNA를 그의 염색체 내로 통합시킨 세포를 선택할 수 있다. 상기 마커는 영양요구성 숙주에 대한 독립영양, 살생물제 내성(예를 들면, 항생제) 또는 중금속, 예컨대, 구리에 대한 내성을 제공할 수 있다. 선택 마커 유전자를 발현될 DNA 서열에 직접 연결할 수 있거나, 공형질전환으로 동일한 세포 내로 도입할 수 있다. 추가 요소도 mRNA의 최적 합성을 위해 요구될 수 있다. 이 요소는 신호 서열, 스플라이스 신호뿐만 아니라, 전사 프로모터, 인핸서 및 종결 신호도 포함할 수 있다.
- [0186] 일부 실시양태에서, 클로닝된 가변 영역 유전자를 상기 논의된 바와 같이 합성된 중쇄 및 경쇄 불변 영역 유전자(예를 들면, 인간)와 함께 발현 벡터 내로 삽입한다. 물론, 진핵 세포에서 발현을 이끌어낼 수 있는 임의의 발현 벡터가 본 발명에서 사용될 수 있다. 적합한 벡터의 예로는 플라스미드 pcDNA3, pHCMV/Zeo, pCR3.1, pEF1/His, pIND/GS, pRc/HCMV2, pSV40/Zeo2, pTRACER-HCMV, pUB6/V5-His, pVAX1 및 pZeoSV2(인비트로젠(Invitrogen)으로부터 입수될 수 있음, 캘리포니아주 샌 디에고 소재), 및 플라스미드 pCI(프로메가(Promega)로부터 입수될 수 있음, 위스콘신주 매디슨 소재)가 있으나 이들로 한정되지 않는다. 일반적으로, 적절하게 높은 수준의 면역글로불린 중쇄 및 경쇄를 발현하는 형질전환된 세포를 위해 다수의 형질전환된 세포를 스크리닝하는 것은 예를 들면, 로봇 시스템에 의해 수행될 수 있는 관례적인 실험이다.
- [0187] 보다 더 일반적으로, 일단 항-ILT7 항체의 단량체성 서브유닛을 코딩하는 벡터 또는 DNA 서열이 제조되면, 발현 벡터를 적절한 숙주 세포 내로 도입할 수 있다. 숙주 세포 내로의 플라스미드의 도입은 당분야에서 숙련된 자에게 잘 공지되어 있는 다양한 기법들에 의해 달성될 수 있다. 이들은 형질감염(전기영동 및 전기천공을 포함함), 원형질체 융합, 인산칼슘 침전, 외피를 가진 DNA와의 세포 융합, 미세주입 및 온전한 바이러스를 사용한 감염을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 문헌(Ridgway (1988) "Mammalian Expression Vectors" in Vectors, ed. Rodriguez and Denhardt (Butterworths, Boston, Mass.), Chapter 24.2, pp. 470-472)을 참조한다. 전형적으로, 전기천공을 통해 플라스미드를 숙주 내로 도입한다. 발현 구축물을 가진 숙주 세포를 경쇄 및 중쇄의 생성에 적합한 조건 하에서 성장시키고, 중쇄 및/또는 경쇄 단백질 합성에 대해 어세이한다. 예시적 어세이 기법은 효소-연결된 면역흡착 어세이(ELISA), 방사면역어세이(RIA) 또는 형광-활성화된 세포 분류기 분석(FACS), 면역조직화학 등을 포함한다.
- [0188] 발현 벡터를 통상적인 기법으로 숙주 세포에게 전달한 후, 형질감염된 세포를 통상적인 기법으로 배양하여 본원에 기재된 방법에서 사용할 항체를 생성한다. 따라서, 본 발명은 이중 프로모터에 작동가능하게 연결된, 본 발명의 항체, 또는 이의 중쇄 또는 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 숙주 세포를 포함한다. 이중쇄 항체의 발현을 위한 일부 실시양태에서, 이하에 상세히 기재된 바와 같이, 전체 면역글로불린 분자를 발현시키기 위해 중쇄 및 경쇄 둘 다를 코딩하는 벡터를 숙주 세포에서 공발현시킬 수 있다.
- [0189] 본원에서 사용된 바와 같이, "숙주 세포"는 재조합 DNA 기법을 이용함으로써 구축되고 적어도 하나의 이중 유전자를 코딩하는 벡터를 가진 세포를 지칭한다. 재조합 숙주로부터 항체를 단리하는 과정의 설명에서, 달리 명시적으로 특정되어 있지 않은 한, 용어 "세포" 및 "세포 배양물"은 항체의 공급원을 표시하기 위해 상호교환가능하게 사용된다. 다시 말해, "세포"로부터의 폴리펩타이드의 회수는 회전 침전된 전체 세포로부터의 회수, 또는 배지 및 현탁된 세포 둘 다를 함유하는 세포 배양물로부터의 회수를 의미할 수 있다.
- [0190] 다양한 숙주 발현 벡터 시스템들을 사용하여 본원에 기재된 방법에서 사용할 항체 분자를 발현시킬 수 있다. 이러한 숙주 발현 시스템들은 관심 있는 코딩 서열이 생성된 후 정제될 수 있는 비히클을 나타낼 뿐만 아니라, 적절한 뉴클레오타이드 코딩 서열로 형질전환되거나 형질감염될 때 제자리에서 본 발명의 항체 분자를 발현할 수 있는 세포도 나타낸다. 이들은 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 미생물, 예컨대, 세균(예를 들면, 이. 콜라이(*E. coli*)), 비. 서브틸리스(*B. subtilis*)), 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모(예를 들면, 사카로마이세스(*Saccharomyces*), 피키아(*Pichia*)); 항체 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들면, 바콜로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들면, 꽃양배추 모자이크(cauliflower mosaic) 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스(tobacco mosaic virus), TMV)로 감염되었거나 항체 코딩 서

열을 함유하는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들면, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 포유동물 세포의 계놈으로부터 유래된 프로모터(예를 들면, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유동물 바이러스로부터 유래된 프로모터(예를 들면, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)를 함유하는 재조합 발현 구축물을 가진 포유동물 세포 시스템(예를 들면, COS, CHO, BLK, 293, 3T3 세포)을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 특히 전체 재조합 항체 분자의 발현을 위한 세균 세포, 예컨대, 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*) 또는 진핵 세포는 재조합 항체 분자의 발현을 위해 사용된다. 예를 들면, 포유동물 세포, 예컨대, 중국 햄스터 난소 세포(CHO)는 인간 사이토메갈로바이러스로부터의 주요 중간 초기 유전자 프로모터를 포함하는 벡터와 함께 항체를 위한 효과적인 발현 시스템이다(Foecking et al., Gene 45:101 (1986); Cockett et al., Bio/Technology 8:2 (1990)).

[0191] 단백질 발현을 위해 사용되는 숙주 세포주는 종종 포유동물로부터 유래되고; 당분야에서 숙련된 자는 내부에서 발현될 원하는 유전자 생성물에 가장 적합한 특정 숙주 세포주를 확인하는 능력을 가진다고 여겨진다. 예시적 숙주 세포주는 CHO(중국 햄스터 난소), DG44 및 DUXB11(중국 햄스터 난소 세포주, DHFR 마이너스), HELA(인간 자궁경부 암종), CVI(원숭이 신장 세포주), COS(SV40 T 항원을 가진 CVI의 유도체), VERY, BHK(새끼 햄스터 신장), MDCK, 293, WI38, R1610(중국 햄스터 섬유모세포) BALBC/3T3(마우스 섬유모세포), HAK(햄스터 신장 세포주), SP2/O(마우스 골수종), P3.times.63-Ag3.653(마우스 골수종), BFA-1c1BPT(소 내피 세포), RAJI(인간 림프구) 및 293(인간 신장)을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 숙주 세포주는 전형적으로 상업적 서비스인 어메리칸 티슈 컬처 콜렉션(American Tissue Culture Collection) 또는 공개된 문헌으로부터 입수될 수 있다.

[0192] 추가로, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나 유전자 생성물을 원하는 특정 방식으로 변형시키고 프로세싱하는 숙주 세포 균주를 선택할 수 있다. 단백질 생성물의 이러한 변형(예를 들면, 글리코실화) 및 프로세싱(예를 들면, 절단)은 단백질의 기능에 중요할 수 있다. 상이한 숙주 세포는 단백질 및 유전자 생성물의 번역 후 프로세싱 및 변형을 위한 특징적 및 특이적 기작을 가진다. 발현된 외래 단백질의 정확한 변형 및 프로세싱을 보장하기 위해 적절한 세포주 또는 숙주 시스템을 선택할 수 있다. 이를 위해, 일차 전사체의 적절한 프로세싱, 글리코실화, 및 유전자 생성물의 인산화를 위한 세포 기구를 가진 진핵 숙주 세포를 사용할 수 있다.

[0193] 재조합 단백질의 장기간 고수율 생성을 위해, 안정한 발현이 유용하다. 예를 들면, 항체 분자를 안정하게 발현하는 세포주를 조작할 수 있다. 바이러스 복제기점을 함유하는 발현 벡터를 사용하는 것보다 오히려, 적절한 발현 제어 요소(예를 들면, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 터미네이터, 폴리아데닐화 부위 등) 및 선택 마커에 의해 제어되는 DNA로 숙주 세포를 형질전환시킬 수 있다. 외래 DNA의 도입 후, 조작된 세포를 농후화된(enriched) 배지에서 1일 또는 2일 동안 생장시킨 후, 선택 배지로 바꾼다. 재조합 플라스미드의 선택 마커는 선택에 대한 내성을 부여하고, 세포가 플라스미드를 그의 염색체 내로 안정하게 통합시키고 성장하여, 클로닝될 수 있고 세포주로 증폭될 수 있는 증식소(foci)를 형성할 수 있게 한다. 이 방법은 항체 분자를 안정하게 발현하는 세포주를 조작하는 데 유리하게 이용될 수 있다.

[0194] 각각 tk-세포, hgprt-세포 또는 aprt-세포에서 사용될 수 있는 헤르페스 심플렉스(herpes simplex) 바이러스 타 이미딘 키나제(kinase)(Wigler et al., Cell 11:223 (1977)), 하이포잔틴-구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제(phosphoribosyltransferase)(Szybalska and Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:202 (1992)), 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Lowy et al., Cell 22:817 (1980)) 유전자를 포함하나 이들로 한정되지 않는 다수의 선택 시스템들을 사용할 수 있다. 또한, 항대사물질 내성을 하기 유전자들에 대한 선택의 기준으로서 사용할 수 있다: 메토틱세이트에 대한 내성을 부여하는 dhfr(Wigler et al., Natl. Acad. Sci. USA 77:357 (1980); O'Hare et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527 (1981)); 마이코페놀산에 대한 내성을 부여하는 gpt(Mulligan and Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072 (1981)); 아미노글리코사이드 G-418에 대한 내성을 부여하는 neo(Clinical Pharmacy 12:488-505; Wu and Wu, Biotherapy 3:87-95 (1991); Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596 (1993); Mulligan, Science 260:926-932 (1993); and Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217 (1993); TIB TECH 11(5):155-215 (May, 1993)); 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 hygro(Santerre et al., Gene 30:147 (1984)). 이용될 수 있는 재조합 DNA 기술의 분야에서 통상적으로 공지되어 있는 방법은 전체로서 본원에 참고로 도입되는 문헌(Ausubel et al. (1993) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, NY)); 문헌(Kriegler (1990) "Gene Transfer and Expression" in A Laboratory Manual (Stockton Press, NY)); 문헌(Dracopoli et al. (eds) (1994) Current Protocols in Human Genetics (John Wiley & Sons, NY) Chapters 12 and 13); 및 문헌(Colberre-Garapin et al. (1981) J. Mol. Biol. 150:1)에 기재되어 있다.

[0195] 항체 분자의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다(검토를 위해서는 문헌(Bebbington and Hentschel

(1987) "The Use of Vectors Based on Gene Amplification for the Expression of Cloned Genes in Mammalian Cells in DNA Cloning" (Academic Press, NY) Vol. 3) 참조). 항체를 발현하는 벡터 시스템의 마커가 증폭될 수 있을 때, 숙주 세포의 배양물에 존재하는 억제제의 수준의 증가는 마커 유전자의 카피 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역이 항체 유전자와 관련되어 있기 때문에, 항체의 생성도 증가할 것이다(Crouse et al., Mol. Cell. Biol. 3:257 (1983)).

[0196] 시험관내 제조는 다량의 원하는 폴리펩타이드를 제공하기 위한 규모 확대를 가능하게 한다. 조직 배양 조건 하에서 포유동물 세포를 배양하는 기법은 당분야에서 공지되어 있고, 예를 들면, 에어리프트(airlift) 반응기 또는 연속 교반 반응기에서의 균질 현탁 배양, 또는 예를 들면, 중공형 섬유, 마이크로캡슐, 아가로스 마이크로비드 또는 세라믹 카트리지에서 고정된 또는 포획된 세포 배양을 포함한다. 필요하고/하거나 원하는 경우, 예를 들면, 합성 힌지 영역 폴리펩타이드의 우선적 생합성 후 또는 본원에 기재된 HIC 크로마토그래피 단계 전 또는 후 통상의 크로마토그래피 방법, 예를 들면, 겔 여과, 이온 교환 크로마토그래피, DEAE-셀룰로스에서의 크로마토그래피 또는 (면역)친화성 크로마토그래피로 폴리펩타이드의 용액을 정제할 수 있다.

[0197] 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 코딩하는 유전자도 비포유동물 세포, 예컨대, 곤충, 세균, 또는 효모 또는 식물 세포에서 발현시킬 수 있다. 핵산을 용이하게 받아들이는 세균은 장내세균과(*enterobacteriaceae*), 예컨대, 에스케리키아 콜라이 또는 살모넬라(*Salmonella*)의 균주; 간균과(*Bacillaceae*), 예컨대, 바실러스 서브틸리스(*Bacillus subtilis*); 뉴모코커스(*Pneumococcus*), 스트렙토코커스(*Streptococcus*); 및 해모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*)의 구성원들을 포함한다. 이중 폴리펩타이드는 세균에서 발현될 때 전형적으로 봉입체의 일부가 된다는 것도 인식될 것이다. 이중 폴리펩타이드는 단리되고 정제된 후 기능적 분자로 조립되어야 한다. 4가 형태의 항체를 원하는 경우, 서브유닛들은 4가 항체로 자가조립될 것이다(WO 02/096948A2).

[0198] 세균 시스템에서, 발현되는 항체 분자에 대해 의도된 용도에 따라 다수의 발현 벡터들을 유리하게 선택할 수 있다. 예를 들면, 항체 분자의 약학 조성물의 생성을 위해 다량의 이러한 단백질이 생성되어야 할 때, 용이하게 정제되는 고수준의 융합 단백질 생성물의 발현을 유도하는 벡터가 바람직할 수 있다. 이러한 벡터는 융합 단백질이 생성되도록 항체 코딩 서열이 lacZ 코딩 영역과 인-프레임으로 벡터에 개별적으로 결합될 수 있는 이. 콜라이 발현 벡터 pUR278(Ruther et al., EMBO J. 2:1791 (1983)); pIN 벡터(Inouye and Inouye, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109 (1985); Van Heeke and Schuster, J. Biol. Chem. 24:5503-5509 (1989)) 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. pGEX 벡터를 사용하여 글루타티온 S-트랜스퍼라제(GST)를 가진 융합 단백질로서 외래 폴리펩타이드를 발현시킬 수도 있다. 일반적으로, 이러한 융합 단백질은 가용성 단백질이고 매트릭스 글루타티온-아가로스 비드에의 흡착 및 결합에 이은 유리 글루타티온의 존재 하에서의 용출에 의해 용해된 세포로부터 용이하게 정제될 수 있다. pGEX 벡터는 클로닝된 표적 유전자 생성물이 GST 모이어티로부터 방출될 수 있도록 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 디자인된다.

[0199] 원핵생물 이외에 진핵 미생물도 사용할 수 있다. 다수의 다른 균주들, 예를 들면, 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*)가 통상적으로 입수될 수 있지만, 진핵 미생물들 중에서 사카로마이세스 세레비지애(*Saccharomyces cerevisiae*) 또는 통상의 빵 효모가 가장 흔히 사용된다.

[0200] 사카로마이세스에서의 발현을 위해, 예를 들면, 플라스미드 YRp7(Stinchcomb et al., Nature 282:39 (1979); Kingsman et al., Gene 7:141 (1979); Tschemper et al., Gene 10:157 (1980))이 통상적으로 사용된다. 이 플라스미드는 트립토판에서 성장하는 능력을 결여하는 효모의 돌연변이체 균주, 예를 들면, ATCC 번호 44076 또는 PEP4-1에 대한 선택 마커를 제공하는 TRP1 유전자를 이미 함유한다(Jones, Genetics 85:12 (1977)). 그 다음, 효모 숙주 세포 계능의 특징으로서의 trp1 병소의 존재는 트립토판의 부재 하에서의 성장으로 형질전환을 검출하기에 효과적인 환경을 제공한다.

[0201] 곤충 시스템에서, 오토그라파 캘리포르니카(*Autographa californica*) 핵 다면체형성 바이러스(AcNPV)가 전형적으로 외래 유전자를 발현시키기 위한 벡터로서 사용된다. 상기 바이러스는 스포도프테라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포에서 성장한다. 항체 코딩 서열을 상기 바이러스의 비필수 영역(예를 들면, 폴리헤드린 유전자) 내로 개별적으로 클로닝할 수 있고 AcNPV 프로모터(예를 들면, 폴리헤드린 프로모터)의 제어 하에 둘 수 있다.

[0202] 일단 본 발명의 결합 분자가 재조합적으로 발현되면, 이 결합 분자는 당분야에서 공지되어 있는 임의의 면역글로불린 분자 정제 방법, 예를 들면, 크로마토그래피(예를 들면, 이온 교환, 친화성, 특히 단백질 A 후 특이적 항원에 대한 친화성, 및 사이징 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 차등 가용성, 또는 임의의 다른 표준 단백질

정제 기법에 의해 정제될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 항체의 친화성을 증가시키는 유리한 방법은 미국 특허출원 공보 제2002 0123057 A1호에 개시되어 있다.

- [0203] VII. 치료 항-ILT7 결합 분자를 사용한 치료 방법
- [0204] 본 발명의 방법은 ILT7 발현 또는 ILT7 발현 세포와 관련된 질환을 가진 환자를 치료하기 위한 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 그의 항원 결합 단편, 변이체 및 유도체를 포함하는 항체의 용도에 관한 것이다. "ILT7 발현 세포"는 ILT7 항원을 발현하는 세포를 의미한다. 세포에서 ILT7 발현을 검출하는 방법은 당분야에서 잘 공지되어 있고, PCR 기법, 면역조직화학, 유세포분석, 웨스턴 블롯, ELISA 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.
- [0205] 하기 논의가 본 발명의 항-ILT7 항체를 사용한 다양한 질환들 및 장애들의 진단 방법 및 치료를 언급하고 있지만, 본원에 기재된 방법은 본 발명의 항-ILT7 항체의 원하는 성질을 보유하는, 예를 들면, ILT7에 특이적으로 결합할 수 있고 ILT7 병원성 활성을 중화시킬 수 있는 항-ILT7 항체의 항원 결합 단편, 변이체 및 유도체에도 적용될 수 있다.
- [0206] 한 실시양태에서, 치료는 본 발명의 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 대상체 또는 환자에게 적용하거나 투여하는 것, 또는 항-ILT7 결합 분자를 대상체 또는 환자로부터 단리된 조직 또는 세포주에게 적용하거나 투여하는 것을 포함하고, 이때 상기 대상체 또는 환자는 질환, 질환의 증상, 또는 질환에 대한 소인을 가진다. 또 다른 실시양태에서, 치료는 본 발명의 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 포함하는 약학 조성물을 대상체 또는 환자에게 적용하거나 투여하는 것, 또는 항-ILT7 결합 분자를 포함하는 약학 조성물을, 질환, 질환의 증상 또는 질환에 대한 소인을 가진 대상체 또는 환자로부터 단리된 조직 또는 세포주에게 적용하거나 투여하는 것도 포함하기 위한 것이다.
- [0207] 본 발명의 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 다양한 자가면역 상태의 치료에 유용하다. 예를 들면, 적어도 하나의 항-ILT7 항체를 사용하는 요법은 인간에서 ILT7 발현 세포와 관련된 질환 상태의 치료에 유리한 생리학적 반응, 예를 들면, 인터페론의 감소를 야기한다.
- [0208] 한 실시양태에서, 본 발명은 약물로서 사용하기 위한, 특히 자가면역 상태 또는 질환의 치료 또는 예방에 사용하기 위한 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체에 관한 것이다. 자가면역 질환의 예로는 근염, 당뇨병, 하시모토병, 자가면역 부신 기능저하증, 순수 적혈구 세포 빈혈, 다발성 경화증, 류마티스성 심장염, 전신 홍반 루푸스, 건선, 류마티스성 관절염, 만성 염증, 쇼그렌 증후군, 다발근염, 피부근염, 봉입체 근염, 소아 근염 및 경피증이 있으나 이들로 한정되지 않는다.
- [0209] 본 발명의 방법에 따라, 본원의 다른 곳에서 정의된 적어도 하나의 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 자가면역 반응에 대한 양성 치료 반응을 촉진하는 데 사용된다. 자가면역 치료에 대한 "양성 치료 반응"은 이 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 활성과 관련된 질환의 개선, 및/또는 상기 질환과 관련된 증상의 개선을 의미한다. 즉, 인터페론-알파 수준의 감소, 형질세포양 수지상 세포의 수 또는 활성의 감소, 또는 질환과 관련된 하나 이상의 증상의 감소가 관찰될 수 있다. 따라서, 예를 들면, 질환의 개선은 완전한 반응으로서 특징지어질 수 있다. "완전한 반응"은 임의의 이전 시험 결과의 정상화와 함께 임상적으로 검출가능한 질환의 부재를 의미한다. 이러한 반응은 본 발명의 방법에 따른 치료 후 적어도 1개월 동안 지속되어야 한다. 대안적으로, 질환의 개선은 부분적 반응으로서 범주화될 수 있다.
- [0210] 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 본원에 기재된 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 자가면역 질환, 및 ILT7 발현 세포와 관련된 면역 시스템의 결핍 또는 장애의 치료에 사용될 수도 있다. 자가면역 질환은 그 자신의 세포, 조직 및/또는 장기에 대한 대상체의 면역학적 반응에 의해 야기된 세포, 조직 및/또는 장기 손상을 특징으로 한다. 한 실시양태에서, 자가면역 질환은 전신 홍반 루푸스이다.
- [0211] ELISA, RIA, 크로마토그래피 등에 의해 검출될 수 있는 변화들을 포함하나 이들로 한정되지 않는 임상 반응은 스크리닝 기법, 예컨대, 자기 공명 영상화(MRI) 스캔, x-방사선촬영 영상화, 컴퓨터 단층촬영(CT) 스캔, 유세포 분석 또는 형광-활성화된 세포 분류기(FACS) 분석, 조직학, 육안 병리학 및 혈액 화학을 이용함으로써 평가될 수 있다. 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 사용한 요법을 받은 대상체는 이 양성 치료 반응 이외에 질환과 관련된 증상의 개선이라는 유리한 효과를 경험할 수 있다.
- [0212] 본 발명의 추가 실시양태는 예를 들면, 소정의 치료법의 효능을 확인하기 위한 임상 시험 절차의 일부로서 조직에서의 단백질 수준의 진단 모니터링을 위한 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편,

변이체 또는 유도체의 용도이다. 예를 들면, 항체를 검출가능한 물질에 커플링시킴으로써 검출을 용이하게 할 수 있다. 검출가능한 물질의 예로는 다양한 효소, 보결분자단, 형광 물질, 발광 물질, 생체발광 물질 및 방사성 물질이 있다. 적합한 효소의 예로는 호스라디쉬 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, β -갈락토시다제 또는 아세틸콜린에스터라제가 있고; 적합한 보결분자단 복합체의 예로는 스트렙타비딘/바이오틴 및 아비딘/바이오틴이 있고; 적합한 형광 물질의 예로는 옴벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 염화단실 또는 파이크오리쓰린이 있고; 발광 물질의 예로는 루미놀이 있고; 생체발광 물질의 예로는 루시페라제, 루시페린 및 에쿠오린이 있고; 적합한 방사성 물질의 예로는 ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S 또는 ^3H 가 있다.

[0213] VIII. 약학 조성물 및 투여 방법

[0214] 본원에서 제공된 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 제조하고 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 방법은 당분야에서 숙련된 자에게 잘 공지되어 있거나 당분야에서 숙련된 자에 의해 용이하게 결정된다.

[0215] 본원에서 논의된 바와 같이, 본원에서 제공된 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 ILT7 발현 세포 매개 질환, 예컨대, 특정 유형의 자가면역 질환의 생체내 치료를 위해 약학적 유효량으로 투여될 수 있다. 이와 관련하여, 본 발명의 개시된 결합 분자는 투여를 용이하게 하고 활성 물질의 안정성을 촉진하도록 제형화될 것이라는 것이 인식될 것이다. 본 발명에 따른 약학 조성물은 약학적으로 허용가능한 무독성 멸균 담체를 포함할 수 있다. 본원의 목적을 위해, 접합되었거나 접합되지 않은 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 약학적 유효량은 표적에의 효과적인 결합을 달성하고 이익을 달성하기에, 예를 들면, 질환 또는 상태의 증상을 완화시키거나 물질 또는 세포를 검출하기에 충분한 양을 의미하기 위한 것이다.

[0216] 주사하기에 적합한 약학 조성물은 멸균되어야 하고 용이한 주사가능성이 존재하는 정도로 유체이어야 한다. 상기 조성물은 제조 및 저장 조건 하에서 안정해야 하고 미생물, 예컨대, 세균 및 진균의 오염 작용으로부터 유리하게 보존될 것이다. 미생물의 작용의 예방은 다양한 항균제들 및 항진균제들에 의해 달성될 수 있다. 본원에 개시된 치료 방법에서 사용하기에 적합한 제형은 문헌(Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980))에 기재되어 있다.

[0217] 본 개시의 범위와 일치하여, 치료 효과를 생성하기에 충분한 양으로 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 상기 언급된 치료 방법에 따라 인간 또는 다른 동물에게 투여할 수 있다. 공지되어 있는 기법에 따라 본 발명의 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 통상적인 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제와 조합함으로써 제조된 통상적인 제형으로 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 이러한 인간 또는 다른 동물에게 투여할 수 있다. 당분야에서 숙련된 자는 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제의 형태 및 특성이 이 담체 또는 희석제와 조합되는 활성 성분의 양, 투여 경로 및 다른 잘 공지되어 있는 변수에 의해 좌우된다는 것을 인식할 것이다. 당분야에서 숙련된 자는 본 발명의 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체 중 하나 이상의 중을 포함하는 각테일이 특히 효과적인 것으로 판명될 수 있다는 것도 인식할 것이다.

[0218] "치료 유효 용량 또는 양" 또는 "유효량"은 투여될 때 치료되는 질환 또는 상태를 가진 환자의 치료에 대한 양성 치료 반응을 야기하는, 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 양을 의미한다.

[0219] 예를 들면, 전신 홍반 루푸스를 포함하는 특정 유형의 자가면역 질환과 같은 ILT7 발현 세포 매개 질환의 치료를 위한 본 발명의 조성물의 치료 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리학적 상태, 환자가 인간인 지 아니면 동물인 지, 투여되는 다른 약물, 및 치료가 예방적 치료인 지 아니면 치유적 치료인 지를 포함하는 많은 상이한 요인들에 따라 변경된다. 통상적으로, 환자는 인간이지만, 형질전환 포유동물을 포함하는 비인간 포유동물도 치료될 수 있다. 치료 용량은 안전성 및 효능을 최적화하도록 적정될 수 있다.

[0220] 본 발명은 예를 들면, 전신 홍반 루푸스를 포함하는 자가면역 질환을 치료하기 위한 약물의 제조에 있어서 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 용도도 제공한다.

[0221] IX. 진단

[0222] 본 발명은 개체로부터의 조직 또는 다른 세포 또는 체액에서 ILT7 단백질 또는 전사체의 발현 수준을 측정하는

단계, 및 측정된 발현 수준을 정상 조직 또는 체액에서의 표준 ILT7 발현 수준과 비교하는 단계로서, 표준물에 비해 발현 수준의 증가가 장애를 표시하는 것인 단계를 포함하는, 예를 들면, 전신 홍반 루푸스를 포함하는 특정 유형의 자가면역 질환과 같은 ILT7 발현 세포 매개 질환의 진단 동안 유용한 진단 방법도 제공한다.

[0223] 본 발명의 항-ILT7 항체, 및 이의 항원 결합 단편, 변이체 및 유도체는 당분야에서 숙련된 자에게 공지되어 있는 고전적인 면역조직학적 방법을 이용하여 생물학적 샘플에서 ILT7 단백질 수준을 어세이하는 데 사용될 수 있다(예를 들면, 문헌(Jalkanen, et al., J. Cell. Biol. 101:976-985 (1985)); 및 문헌(Jalkanen et al., J. Cell Biol. 105:3087-3096 (1987)) 참조). ILT7 단백질 발현을 검출하는 데 유용한 다른 항체 기반 방법은 면역어세이, 예컨대, 효소 연결된 면역흡착 어세이(ELISA), 면역침전 또는 웨스턴 블롯팅을 포함한다. 적합한 어세이는 본원의 다른 곳에 더 상세히 기재되어 있다.

[0224] "ILT7 폴리펩타이드의 발현 수준을 어세이하는"은 직접적으로(예를 들면, 절대 단백질 수준을 측정하거나 평가함으로써) 또는 상대적으로(예를 들면, 제2 생물학적 샘플에서의 질환 관련 폴리펩타이드 수준과 비교함으로써) 제1 생물학적 샘플에서 ILT7 폴리펩타이드의 수준을 정성적으로 또는 정량적으로 측정하거나 평가하는 것을 의미한다. 제1 생물학적 샘플에서의 ILT7 폴리펩타이드 발현 수준을 측정할 수 있거나 평가할 수 있고, 상기 장애를 갖지 않는 개체로부터 수득된 제2 생물학적 샘플로부터 측정되었거나 상기 장애를 갖지 않는 개체들의 집단으로부터 수준의 평균을 산출함으로써 측정된 표준 ILT7 폴리펩타이드 수준과 비교할 수 있다. 당분야에서 인식될 바와 같이, 일단 "표준" ILT7 폴리펩타이드 수준이 공지되어 있으면, 이 수준을 비교용 표준으로서 반복적으로 사용할 수 있다.

[0225] "생물학적 샘플"은 ILT7을 잠재적으로 발현하는 개체, 세포주, 조직 배양물 또는 다른 세포 공급원으로부터 수득된 임의의 생물학적 샘플을 의미한다. 포유동물로부터 조직 생검 및 체액을 수득하는 방법은 당분야에서 잘 공지되어 있다.

[0226] X. 면역어세이

[0227] 본 발명의 항-ILT7 결합 분자, 예를 들면, 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 당분야에서 공지되어 있는 임의의 방법으로 면역특이적 결합에 대해 어세이할 수 있다. 이용될 수 있는 면역어세이는 기법, 예컨대, 몇 가지 나열하자면 웨스턴 블롯, 방사면역어세이, ELISA(효소 연결된 면역흡착 어세이), "샌드위치" 면역어세이, 면역침전 어세이, 침강소 반응, 겔 확산 침강소 반응, 면역확산 어세이, 응집반응 어세이, 보체 고정 어세이, 면역방사선측정 어세이, 형광 면역어세이, 단백질 A 면역어세이를 이용한 경쟁 어세이 시스템 및 비경쟁 어세이 시스템을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 이러한 어세이는 당분야에서 관례적이고 잘 공지되어 있다(예를 들면, 전체로서 본원에 참고로 도입되는 문헌(Ausubel et al., eds, (1994) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, Inc., NY) Vol. 1) 참조). 예시적 면역어세이는 이하에 간단히 기재되어 있다(그러나, 한정하기 위한 것이 아니다).

[0228] 추가로, 본 발명의 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체는 ILT7 단백질, 또는 이의 보존된 변이체 또는 펩타이드 단편의 제자리 검출을 위해 면역형광, 면역전자 현미경관찰 또는 비면역학적 어세이에서와 같이 조직학적으로 사용될 수 있다. 제자리 검출은 환자로부터 조직학적 표본을 제거하고, 예를 들면, 표지된 항체(또는 단편)를 생물학적 샘플에 덮어씌움으로써 적용되는 표지된 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체를 상기 표본에 적용함으로써 달성될 수 있다. 이러한 절차의 이용을 통해 ILT7 단백질, 또는 보존된 변이체 또는 펩타이드 단편의 존재뿐만 아니라, 조사된 조직에서의 그의 분포도 확인할 수 있다. 통상의 기술을 가진 자는 이러한 제자리 검출을 달성하기 위해 본 발명을 이용하여 다양한 조직학적 방법들 중 임의의 조직학적 방법(예컨대, 염색 절차)을 변형시킬 수 있다는 것을 용이하게 인지할 것이다.

[0229] ILT7 유전자 생성물, 또는 이의 보존된 변이체 또는 펩타이드 단편에 대한 면역어세이 및 비면역어세이는 전형적으로 ILT7, 또는 이의 보존된 변이체 또는 펩타이드 단편에 결합할 수 있는 검출가능하게 표지된 항체의 존재 하에서 샘플, 예컨대, 생물학적 유체, 조직 추출물, 새로 채취된 세포, 또는 세포 배양물에서 항온처리된 세포의 용해물을 항온처리하는 단계, 및 당분야에서 잘 공지되어 있는 다수의 기법들 중 임의의 기법으로 결합된 항체를 검출하는 단계를 포함할 것이다.

[0230] 생물학적 샘플은 고체 상 지지체 또는 담체, 예컨대, 니트로셀룰로스, 또는 세포, 세포 입자 또는 가용성 단백질을 고정시킬 수 있는 다른 고체 지지체와 접촉할 수 있고 이러한 지지체에 고정될 수 있다. 그 다음, 상기 지지체를 적합한 완충제로 세척한 후, 검출가능하게 표지된 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체로 처리할 수 있다. 그 다음, 고체 상 지지체를 완충제로 다시 한 번 세척하여 결합되지 않은 항체를

제거할 수 있다. 임의적으로, 항체를 나중에 표지한다. 그 다음, 고체 지지체에 결합된 표지의 양을 통상적인 수단으로 검출할 수 있다.

[0231] "고체 상 지지체 또는 담체"는 항원 또는 항체에 결합할 수 있는 임의의 지지체를 의미한다. 잘 공지되어 있는 지지체 또는 담체는 유리, 폴리스티렌, 폴리프로필렌, 폴리에틸렌, 텍스트란, 나일론, 아밀라제, 천연 및 변형된 셀룰로스, 폴리아크릴아마이드, 반려암 및 자철석을 포함한다. 담체의 성질은 본 발명의 목적을 위해 어느 정도까지 가용성을 가질 수 있거나 불용성을 가질 수 있다. 커플링된 분자가 항원 또는 항체에 결합할 수 있는 한, 지지체 물질은 사실상 임의의 가능한 구조적 형상을 가질 수 있다. 따라서, 지지체 형상은 비드와 같이 구형일 수 있거나, 시험 튜브의 내부 표면 또는 막대의 외부 표면과 같이 원통형일 수 있다. 대안적으로, 표면은 평면, 예컨대, 시트, 시험 스트립 등일 수 있다. 예시적 지지체는 폴리스티렌 비드를 포함한다. 당분야에서 숙련된 자는 항체 또는 항원에 결합할 많은 다른 적합한 담체들을 알고 있을 것이거나, 관례적인 실험을 이용하여 이들을 확인할 수 있을 것이다.

[0232] 소정의 많은 항-ILT7 항체, 또는 이의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체의 결합 활성을 잘 공지되어 있는 방법에 따라 측정할 수 있다. 당분야에서 숙련된 자는 관례적인 실험을 이용함으로써 각각의 측정을 위한 작동 최적 어세이 조건을 결정할 수 있을 것이다.

[0233] 항원에 대한 항체의 결합 친화성 및 항체-항원 상호작용의 해리 속도를 경쟁 결합 어세이로 측정할 수 있다. 경쟁 결합 어세이의 일례는 증가하는 양의 표지되지 않은 항원의 존재 하에서 표지된 항원(예를 들면, ^3H 또는 ^{125}I)을 관심 있는 항체와 함께 항온처리하는 것, 및 표지된 항원에 결합된 항체를 검출하는 것을 포함하는 방사면역어세이이다. 특정 항원에 대한 관심 있는 항체의 친화성 및 결합 해리 속도를 스캐차드 플롯(scatchard plot) 분석으로 데이터로부터 측정할 수 있다. 방사면역어세이를 이용하여 제2 항체와의 경쟁도 측정할 수 있다. 이 경우, 증가하는 양의 표지되지 않은 제2 항체의 존재 하에서 항원을 표지된 화합물(예를 들면, ^3H 또는 ^{125}I)에 접합된 관심 있는 항체와 함께 항온처리한다.

[0234] 항체-항원 상호작용의 친화성을 측정하는 데 이용될 수 있는 다양한 방법들이 있으나, 속도 상수를 측정하는 방법은 상대적으로 적다. 대다수의 방법들은 관례적인 측정을 불가피하게 복잡하게 만들고 불확실성을 측정된 양에 도입하는, 항체 또는 항원의 표지부착에 의존한다.

[0235] BIACORE[®]에서 수행되는 표면 플라스몬 공명(SPR)은 항체-항원 상호작용의 친화성을 측정하는 통상적인 방법에 비해 다수의 장점들을 제공한다: (i) 항체 또는 항원을 표지할 필요가 없다는 점; (ii) 항체가 미리 정제될 필요가 없고 세포 배양물 상청액을 직접 사용할 수 있다는 점; (iii) 상이한 단일클론 항체 상호작용의 신속한 반정량적 비교를 가능하게 하는 실시간 측정이 가능하고 많은 평가 목적에 충분하다는 점; (iv) 일련의 상이한 단일클론 항체들이 동일한 조건 하에서 용이하게 비교될 수 있도록 이종특이적 표면을 재생시킬 수 있다는 점; (v) 분석 절차를 전체적으로 자동화하고 사용자 중재 없이 광범위한 일련의 측정을 수행할 수 있다는 점 (BIAApplications Handbook, version AB (reprinted 1998), BIACORE[®] code No. BR-1001-86; BIATechnology Handbook, version AB (reprinted 1998), BIACORE[®] code No. BR-1001-84). SPR 기반 결합 연구는 결합 쌍의 한 구성원이 센서 표면에 고정될 것을 요구한다. 고정되는 결합 파트너는 리간드로서 지칭된다. 용액 중의 결합 파트너는 분석물로서 지칭된다. 일부 경우, 리간드를 포획 분자로서 지칭되는 또 다른 고정된 분자에 결합시킴으로써 표면에 간접적으로 부착시킨다. SPR 반응은 분석물이 결합하거나 해리할 때 검출기 표면에서의 질량 농도의 변화를 반영한다.

[0236] SPR에 기반을 둔 실시간 BIACORE[®] 측정은 상호작용이 일어날 때 상호작용을 직접 모니터링한다. 이 기법은 동력학 파라미터의 측정에 매우 적합하다. 비교 친화성 등급 매김은 수행하기에 단순하고, 동력학 및 친화성 상수는 센서그램 데이터로부터 유도될 수 있다.

[0237] 분석물이 리간드 표면을 가로질러 별개의 펄스로 주사될 때, 생성된 센서그램을 3개의 필수 단계로 나눌 수 있다: (i) 샘플 주사 동안 분석물과 리간드의 결합; (ii) 분석물 결합의 속도가 복합체로부터의 해리에 의해 균형이 이루어지는, 샘플 주사 동안 평형 또는 정상 상태; (iii) 완충제 유동 동안 표면으로부터의 분석물의 해리.

[0238] 결합 단계 및 해리 단계는 분석물-리간드 상호작용의 동력학(k_a 및 k_d , 복합체 형성 및 해리의 속도, $k_d/k_a=K_D$)에 대한 정보를 제공한다. 평형 단계는 분석물-리간드 상호작용의 친화성(K_D)에 대한 정보를 제공한다.

- [0239] 비아에발루션(BIAevaluation) 소프트웨어는 수치 적분 및 전반적 피팅 알고리즘 둘 다를 사용한 곡선 피팅을 위한 포괄적인 편의를 제공한다. 데이터의 적합한 분석을 이용하여, 상호작용에 대한 별개의 속도 및 친화성 상수를 단순한 BIACORE[®] 조사로부터 획득할 수 있다. 이 기법에 의해 측정될 수 있는 친화성의 범위는 mM부터 pM까지 매우 넓다.
- [0240] 에피토프 특이성은 단일클론 항체의 중요한 특성이다. 방사면역어세이, ELISA 또는 다른 표면 흡착 방법을 이용하는 통상적인 기법과 대조적으로, BIACORE[®]를 이용하는 에피토프 맵핑은 표지부착 또는 정제된 항체를 요구하지 않고, 일련의 여러 단일클론 항체들을 사용하는 다중 부위 특이성 시험을 가능하게 한다. 추가로, 다수의 분석들을 자동적으로 프로세싱할 수 있다.
- [0241] 쌍별 결합 실험은 동일한 항원에 동시에 결합하는 2개의 MAb들의 능력을 시험한다. 별개의 에피토프들에 대해 유도된 MAb들은 독립적으로 결합할 것인 반면, 동일한 또는 밀접하게 관련된 에피토프들에 대해 유도된 MAb들은 서로의 결합을 방해할 것이다. BIACORE[®]를 이용하는 이 결합 실험은 수행하기에 간단하다.
- [0242] 예를 들면, 제1 MAb에 결합하는 포획 분자를 사용한 후, 항원 및 제2 MAb를 순차적으로 첨가할 수 있다. 센서그램은 (1) 얼마나 많은 항원이 제1 MAb에 결합하는 지, 제2 MAb가 어느 정도까지 표면-부착된 항원에 결합하는 지, (3) 제2 MAb가 결합하지 않는 경우, 쌍별 시험의 순서를 역전시키는 것이 결과를 변경시키는 지를 보여줄 것이다.
- [0243] 펩타이드 억제제는 에피토프 맵핑을 위해 이용되는 또 다른 기법이다. 이 방법은 쌍별 항체 결합 연구를 보완할 수 있고, 항원의 일차 서열이 공지되어 있을 때 기능적 에피토프를 구조적 특징과 관련시킬 수 있다. 상이한 MAb들과 고정된 항원의 결합의 억제에 대해 펩타이드 또는 항원 단편을 시험한다. 소정의 MAb의 결합을 방해하는 펩타이드는 그 MAb에 의해 규정된 에피토프와 구조적으로 관련된 것으로 가정된다.
- [0244] 달리 표시되어 있지 않은 한, 본 발명의 실시는 당분야의 기술 내에 있는, 세포생물학, 세포 배양, 분자생물학, 형질전환 생물학, 미생물학, 재조합 DNA 및 면역학의 통상적인 기법들을 이용할 것이다. 이러한 기법들은 문헌에 전체적으로 설명되어 있다. 예를 들면, 문헌(Sambrook et al., ed. (1989) Molecular Cloning A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press)); 문헌(Sambrook et al., ed. (1992) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY)); 문헌(D. N. Glover ed., (1985) DNA Cloning, Volumes I and II); 문헌(Gait, ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis); 미국 특허 제4,683,195호 (Mullis et al.); 문헌(Hames and Higgins, eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization); 문헌(Hames and Higgins, eds. (1984) Transcription And Translation); 문헌(Freshney (1987) Culture Of Animal Cells (Alan R. Liss, Inc.)); 문헌(Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986)); 문헌(Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.)); 문헌(Miller and Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory)); 문헌(Wu et al., eds., Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155); 문헌(Mayer and Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London)); 문헌(Weir and Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV); 문헌(Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986)); 및 문헌(Ausubel et al. (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.))을 참조한다.
- [0245] 항체 조작의 일반적인 원리는 문헌(Borrebaeck, ed. (1995) 항체 Engineering (2nd ed.; Oxford Univ. Press))에 기재되어 있다. 단백질 조작의 일반적인 원리는 문헌(Rickwood et al., eds. (1995) Protein Engineering, A Practical Approach (IRL Press at Oxford Univ. Press, Oxford, Eng.))에 기재되어 있다. 항체 및 항체-헵텐 결합의 일반적인 원리는 문헌(Nisonoff (1984) Molecular Immunology (2nd ed.; Sinauer Associates, Sunderland, Mass.)); 및 문헌(Steward (1984) Antibodies, Their Structure and Function (Chapman and Hall, New York, N.Y.))에 기재되어 있다. 추가로, 당분야에서 공지되어 있고 구체적으로 기재되어 있지 않은 면역학의 표준 방법들은 일반적으로 문헌(Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, New York); 문헌(Stites et al., eds. (1994) Basic and Clinical Immunology (8th ed; Appleton & Lange, Norwalk, Conn.)); 및 문헌(Mishell and Shiigi (eds) (1980) Selected Methods in Cellular Immunology (W.H. Freeman and Co., NY))에 기재된 바와 같이 수행된다.
- [0246] 면역학의 일반적인 원리가 기재되어 있는 표준 참고문헌은 문헌(Current Protocols in Immunology, John Wiley

& Sons, New York); 문헌(Klein (1982) J., Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination (John Wiley & Sons, NY)); 문헌(Kennett et al., eds. (1980) Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses (Plenum Press, NY)); 문헌(Campbell (1984) "Monoclonal Antibody Technology" in Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, ed. Burden et al., (Elsevier, Amsterdam)); 문헌(Goldsby et al., eds. (2000) Kuby Immunology (4th ed.; H. Freeman & Co.)); 문헌(Roitt et al. (2001) Immunology (6th ed.; London: Mosby)); 문헌(Abbas et al. (2005) Cellular and Molecular Immunology (5th ed.; Elsevier Health Sciences Division)); 문헌(Kontermann and Dubel (2001) Antibody Engineering (Springer Verlag)); 문헌(Sambrook and Russell (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press)); 문헌(Lewin (2003) Genes VIII (Prentice Hall 2003)); 문헌(Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press)); 및 문헌(Dieffenbach and Dveksler (2003) PCR Primer (Cold Spring Harbor Press))을 포함한다.

- [0247] 상기 인용된 모든 참고문헌들뿐만 아니라 본원에서 인용된 모든 참고문헌들도 전체로서 본원에 참고로 도입된다.
- [0248] 하기 실시예는 예시로써 제공되고 한정으로써 제공되지 않는다.
- [0249] 실시예
- [0250] 재료 및 방법
- [0251] 생물학적 샘플
- [0252] 작성된 사전동의서 및 IRB로부터의 승인과 함께, 메디이문(MedImmune) 혈액 기증자 프로그램을 통해 정상 건강한 지원자로부터 인간 말초 혈액을 입수하였다. 구연산나트륨을 가진 배큐테이너(Vacutainer) CPT 세포 준비 튜브(Becton Dickinson Biosciences, 미국 뉴저지주 소재)를 이용하여 새로 채취된 전혈로부터 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 분리하였다. 최소한으로 제동하면서 22℃에서 25분 동안 17000g에서 튜브를 회전시켰다. 회전 후, 혈청을 제거하였고, 세포 버퍼 코트를 원뿔형 50 ml 튜브(BD Biosciences)로 옮겼다. 정제된 세포를 22℃에서 10분 동안 350g에서 멸균 포스페이트 완충 식염수(PBS)(Invitrogen Life Technologies, 미국 캘리포니아주 소재)로 2회 세척하였다. 세포를 10% 태아 소 혈청(Invitrogen)으로 보충된 PBS 또는 RPMI 1640 배지에 재현탁하였고, 세포 여과기 마개를 가진 BD 팔콘 5 ml 튜브(BD Biosciences)를 이용하여 여과하였다. Vi-Cell XR[®] 세포 카운터(Beckman Coulter, 미국 캘리포니아주 소재)를 이용하여 세포 밀도를 측정하였다.
- [0253] 영장류의 관리 및 사용에 대한 국립보건원의 지침에 따라 건강한 동물로부터의 사이노몰구스 말초 혈액을 바이오쿠알(Bioqual, Inc., 미국 메릴랜드주 소재)로부터 입수하였다. (전술된 바와 같이) 구연산나트륨을 갖거나 히스토파크(Histopaque) 10771(Sigma-Aldrich, 미국 미조리주 소재)을 가진 배큐테이너 CPT 세포 준비 튜브를 이용하여 사이노몰구스 PBMC를 분리하였다. 요약하건대, 멸균 PBS를 사용하여 새로 채취된 전혈을 초기 혈액 부피의 50배까지 조절하였다. 그 다음, 25 ml의 희석된 혈액을 10 ml의 90% 히스토파크 10771(Sigma Aldrich)에 덮어씌웠고, 최소한으로 제동하면서 샘플을 실온에서 20분 동안 400g에서 회전시켰다. 세포 디스크를 제거하고 새로운 50 ml 원뿔형 튜브로 옮겼다. 정제된 세포를 22℃에서 10분 동안 350g에서 멸균 PBS로 2회 세척하였다. 세포를 전술된 바와 같이 10% 태아 소 혈청으로 보충된 PBS 또는 RPMI 1640 배지에 재현탁하고 여과하고 카운팅하였다.
- [0254] 세포
- [0255] CT-125 및 CT-550 세포를 류용준 박사(University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, 미국 텍사스주 휴스턴 소재)로부터 입수하였다. CT-125 세포는 2B4 무린 T 세포 하이브리도마를 태깅되지 않은 마우스 FcεR1γ 및 NFAT-GFP 레포터 유전자로 형질도입함으로써 생성되었고, CT-550 세포는 CT-125 세포를 HA-태깅된 인간 ILT7로 형질도입함으로써 생성되었다(Ohtsuka M. et al., PNAS 101: 8126-8131 (2004); Cao W. et al., JEM 203: pp 1399-1405 (2006)). CT-125 사이노몰구스 ILT7 안정한 세포주는 CT-125 세포를 pME18X 플라스미드 벡터 내에 클로닝된 사이노몰구스 원숭이 ILT7 유전자로 형질감염시킴으로써 생성되었다. 10% 태아 소 혈청(FBS) 및 1X 페니실린/스트렙토마이신(모두 인비트로젠 라이프 테크놀로지스(Invitrogen Life Technologies)로부터 입수됨)으로 보충된 RPMI 1640에서 CT 세포를 배양하였다.
- [0256] KC1333 세포를 바이오와(Biowa, 미국 뉴저지주 소재)로부터 입수하였다. 10% FBS, 4 mM L-글루타민, 0.2 μg/ml 제네티신(모두 인비트로젠(Invitrogen)으로부터 입수됨) 및 18.3 pg/ml의 재조합 인간 IL-2(PeproTech, 미국

뉴저지주 소재)로 보충된 어드밴스(Advance) RPMI 1640에서 KC1333 세포를 배양하였다.

[0257]

항체 및 시약

[0258]

항-ILT7 인간화된 항체 변이체, 항-ILT7 클론 7C7(7C7), 및 인간화된 이소타입 대조군 R347을 메데이슨에서 생성하였다. 알로파이코시아닌(APC) 단일클론 항체 표지부착 키트(Thermo Fisher Scientific, 미국 일리노이주 소재)를 사용하여 APC에 접합된 항-ILT7 인간화된 항체 변이체, 7C7 및 이소타입 대조군 R347을 생성하였다. R-파 이코에리쓰린(PE) 및 FITC-표지된 항-인간 BDCA-2 항체(클론 AC144), R-PE 항-인간 BDCA-4(클론 AD5-17F6) 및 인간 FcR 차단 시약을 밀테니이 바이오텍(Miltenyi Biotech, 미국 캘리포니아주 소재)으로부터 입수하였다. R-PE, FITC 또는 APC에 접합된 항-인간 CD123(클론 7G3), 알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 488 항-인간 CD8(클론 RPA-T8), 알렉사 플루오르 488 항-인간 CD3(클론 SP34-2), FITC 항-인간 CD14(클론 M5E2), FITC 항-인간 CD20(클론 2H7) 및 PerCP-Cy 5.5 항-인간 HLA-DR(클론 G46-6)을 비디 바이오사이언시스(BD Biosciences)로부터 입수하였다. 파시픽 블루(Pacific Blue) 항-인간 CD56 항체(클론 MEM-188)를 바이오레전드(BioLegend, 미국 캘리포니아주 소재)로부터 입수하였다. DyLight 649-표지된 항-인간 IgG 및 인간 전체 IgG를 잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch, 미국 펜실베이니아주 소재)로부터 입수하였다.

[0259]

BD FACS 용해 용액(BD Biosciences)을 사용하여 전혈 염색을 수행하였다. 7-AAD를 인비트로젠으로부터 입수하였다. 인간 남성 AB 혈장을 시그마-알드리치(Sigma-Aldrich)로부터 입수하였다. 제조함 인간 IL-2를 알&디 시스템스(R&D Systems, 미국 미네소타주 소재)로부터 입수하였고, 제조함 인간 인터페론 β (IFN- β)를 피비엘 바이오 메디칼(PBL Biomedical, 미국 뉴저지주 소재)로부터 입수하였다. CpG A ODN 2216을 인비보젠(InvivoGen, 미국 캘리포니아주 소재)으로부터 입수하였다.

[0260]

인간 및 사이노물구스 제조함 ILT7의 표지부착

[0261]

EZ 링크 셀포-NHS-LC-바이오틴(Thermo/Pierce, 제품: 21335)을 사용하여 유리 아민을 통해 단백질을 바이오티닐화하였다. 시약을 무수 디메틸포름아마이드에 용해시켰고, PBS 기제 단백질을 용액을 D-PBS 중의 1 M NaHCO₃으로 pH 약 8까지 조절하였다.

[0262]

표지 도입을 모든 경우에서 MALDI-TOF 질량 분광측정으로 평가하였고, D-PBS 평형화된 일회용 세파덱스(Sephadex) G25 컬럼을 사용하는 완충제 교환으로 반응하지 않은 시약을 제거하였다. 바이오티닐화를 위해, 아미노산 서열로부터 계산된 흡광 계수를 이용하여 280 nm 흡광도로 최종 단백질 농도를 측정하였다.

[0263]

ELISA 결합 어세이

[0264]

단일 쇠 Fv 단편을 파지 입자에 디스플레이하고 결합 어세이에서 시험하여, 일군의 제조함 항원들에 대한 교차 반응성 및 특이성을 측정하였다. 96웰 딥웰 플레이트에서 파지-디스플레이된 scFv 상청액 샘플을 다음과 같이 생성하였다. 5 μ l의 배양물을, 96웰 마스터 플레이트의 각각의 웰로부터 500 μ l의 2TYAG(2TY + 100 μ g/ml 앰피실린 + 2% 글루코스) 배지를 함유하는 그레이너(Greiner) 딥웰 배양 플레이트로 옮기고 37°C 및 280 rpm에서 5 시간 동안 항온처리하였다. 그 다음, K07 M13 헬퍼 파지(2TYAG에서 1.5×10^{11} pfu/ml로 희석됨)를 100 μ l/웰씩 첨가하였고, 플레이트를 37°C 및 150 rpm에서 항온처리하여 감염을 허용하였다. 플레이트를 10분 동안 3200 rpm에서 회전시켰고, 상청액을 제거하였다. 세균 펠렛을 500 μ l/웰 2TYAK(2TY + 100 μ g/ml 앰피실린 + 50 μ g/ml 카나마이신)에 재현탁하였고 플레이트를 25°C 및 280 rpm에서 하룻밤 동안 항온처리하였다. 아침에, 500 μ l의 2x PBS 중의 6%(w/v) 탈지유 분말을 각각의 웰에 첨가하였고, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 항온처리하였다. 그 다음, 플레이트를 10분 동안 3200 rpm에서 원심분리하였고, 차단된 파지-디스플레이된 scFv 상청액을 ELISA 실험에서 직접 사용하였다.

[0265]

EC₅₀ 측정을 위해, 전형적으로 정제된 IgG를 PBS 중의 3%(w/v) 분유 분말(PBS-M)로 3배 희석하여, 11개의 농도 점을 제공하였다. 희석물 제조를 위해 96웰 그레이너 폴리프로필렌 플레이트(Greiner, 650201)를 이용하였다. 일반적으로, 각각의 희석물을 이중으로 제조하였다. IgG 희석물을 ELISA 실험에서 직접 사용하기 전에 실온에서 1시간 동안 PBS-M으로 차단하였다.

[0266]

IL-T7 결합 어세이는 본질적으로 다음과 같이 수행된 플레이트 기반 ELISA이었다. 모든 항원들이 모든 실험에서 사용되지는 않았으나, 전형적으로 인간, 마우스 및 사이노물구스 IL-T7 항원을 시험하였다. 관련 대조군 항원(소 인슐린 플러스 IL-4R α FLAG[®]His, 적절한 경우)도 비특이적 결합을 시험하는 데 사용되었다. 소 인슐린을 제외한 모든 항원들을 바이오티닐화하였고 세균 발현을 이용하여 이들 모두를 생성하였다. EZ 링크 바이오틴-

BMCC(Perbio/Pierce 21900)를 사용하여 유리 셴프하이드릴 기를 통해 IL-T7 항원을 바이오티닐화하였다. 대조군 항원으로서 사용된 IL-4R α FLAG[®]His의 생성 방법은 PCT 공보 제W0/2010/070346호에 기재되어 있다. EZ 링크 셴포-NHS-LC-바이오틴(Perbio/Pierce, 21335)을 사용하여 유리 아민을 통해 IL-4R α FLAG[®]His를 바이오티닐화하였다.

[0267] PBS 중의 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 바이오티닐화된 항원을 사용하여 스트렙타비딘 플레이트(Thermo Scientific, AB-1226)를 코팅하고 4°C에서 하룻밤 동안 항온처리하였다. 플레이트를 PBS로 3회 세척하고 1시간 동안 300 μl /웰의 차단 완충제(PBS-M)로 차단하였다. 플레이트를 PBS로 1회 세척하였고, 차단된 샘플을 실온에서 1시간 동안 50 μl /웰씩 첨가하였다. 플레이트를 PBS-T(PBS + 1%(v/v) Tween-20)로 3회 세척하였고 1:5000으로 희석된 검출 시약 [IgG 또는 파지-디스플레이된 scFv의 검출을 위해 각각 항-인간 IgG HRP(Sigma, A0170) 또는 항-M13-HRP 항체 (Amersham, 27-9421-01)]을 실온에서 1시간 동안 PBS-M 중의 50 μl /웰씩 첨가하였다. 플레이트를 PBS-T로 3회 세척하고 TMB(50 μl /웰)(Sigma, T0440)로 현상하였다. 반응을 450 nm에서 EnVision[™] 플레이트 판독기 또는 유사한 장치에서 판독하기 전에 50 μl /웰의 0.1 M H₂SO₄으로 켄칭하였다.

[0268] 프리즘(Graphpad) 곡선 피팅 소프트웨어를 이용하여 IgG 적정에 대해 용량 반응 곡선을 작도하였다. 대조군(인슐린 및 IL-4R α Flag[®]His)에 대한 동일한 샘플의 흡광도 450 nm가 0.5를 초과하거나 0.1 내지 0.2 미만인 경우 파지-디스플레이된 scFv는 IL-T7 항원에 결합하는 것으로 간주되었다. 단일쇄 Fv 단편을 파지 입자에 디스플레이하고 단일 점 ELISA 스크린에서 정제되지 않은 제제로서 시험하였다.

[0269] *형광 미세부피 어세이 기술(FMAT) 세포 결합 어세이*

[0270] 이 균질 어세이는 384웰(Costar 3655) 포맷에서 미정제 scFv 상청액 샘플 또는 정제된 IgG와 인간 또는 사이노물구스 ILT7 발현 중국 햄스터 난소(CHO) 세포의 결합을 평가하였다. 각각 마우스 항-His/염소 항-마우스 알렉사플루오르[®]-647 표지된 항체(Molecular Probes A21236) 혼합물 또는 염소 항-인간 알렉사플루오르[®]-647 표지된 항체(Molecular Probes A21445)를 사용하여 세포에 결합하는 scFv 또는 Ab를 검출하였다. 플레이트를 어플라이드 바이오시스템스(Applied Biosystem) 세포 검출 시스템 8200 판독기에서 판독하였다. 웰륨 네온 여기 레이저는 면적 1 mm²를 스캐닝하면서 웰의 바닥의 100 μm 깊이 내에서 초점이 맞추어졌다. 세포는 웰의 바닥에 가라앉았고, 633 nm에서 레이저 여기 시, 결합된 형광단을 가진 비드(형광단의 국소 농도가 결합되지 않은 형광단에 비해 상대적으로 높은 경우)는 광전자증배관-1(PMT1)을 이용함으로써 측정된 신호를 650 내지 685 nm에서 방출하였다. 용액 중의 결합되지 않은 형광단은 여기 깊이 외부에 또는 상대적으로 낮은 국소 농도로 존재하였으므로, 유의미한 신호를 방출하지 않았다. 웰의 바닥에서 세포에 결합하는 scFv 또는 IgG 샘플의 존재는 여기 깊이 내부에서 알렉사플루오르-표지된 검출 항체의 증가를 야기하였다. 이것은 형광의 증가로서 측정되었다.

[0271] 이 실험에서, 어세이 완충제는 0.1% BSA(Sigma A9576 - 50 ml), 0.1% Tween-20(Sigma P2287) 및 0.01% 아지드화나트륨을 함유하는 PBS(Gibco 14190-094)이었다. scFv 검출 혼합물을 생성하기 위해, 마우스 항-His 항체 및 항-마우스 AF647 항체를 어세이 완충제에서 각각 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 및 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 혼합하였다. IgG 검출 혼합물을 생성하기 위해, 항-인간 AF647 항체를 어세이 완충제에서 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 제조하였다.

[0272] 사용된 세포는 표준 조직 배양 기법을 이용함으로써 배양된 인간 또는 사이노물구스 ILT7을 발현하는 CHO-K1 세포이었다. 세포를 F-10(Gibco, 22390-025) + 10% FCS(SAFC Biosciences, 13068C) + 0.5 mg/ml 제오신(Zeocin)(Invitrogen, R250-01)에서 대략 80% 전면생장률(confluence)까지 생장시키고, PBS로 세척하고 아큐타제(accumutase)(PAA, L11-007)로 탈착시키고, 1.5 x 10⁵개 세포/ml로 PBS에 재현탁하였다.

[0273] 미정제 scFv 상청액 샘플을 96 딥웰 플레이트에서 생성하였다. 5 μl 배양물을, 96웰 마스터 플레이트의 각각의 웰로부터 900 μl 의 2TY(1.6% 트립톤, 1% 효모 추출물, 0.5% NaCl, pH 7.0)+ 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 엠포실린 + 0.1% 글루코스 배지를 함유하는 그레이너 딥웰 배양 플레이트로 옮기고 37°C 및 280 rpm에서 5시간 동안 항온처리하였다. 그 다음, TY 중의 10 mM IPTG를 100 μl /웰씩 첨가하였고, 블록을 30°C 및 280 rpm에서 하룻밤 동안 항온처리하였다. 아침에, 블록을 15분 동안 3200 rpm에서 회전시켰다. 고효율 스크리닝의 경우, 20%의 요구된 희석을 위해 scFv 상청액을 딥웰 블록으로부터 어세이 플레이트로 직접 옮겼다.

[0274] 10 μl 샘플(IgG 또는 scFv), 10 μl 검출 항체 또는 항체 혼합물, 및 30 μl 세포를 384웰 투명 바닥 비결합 표면 흑색 코스타(Costar) 플레이트의 시험 웰에 첨가하였다. 이 실험에서 사용된 음성 대조군은 전형적으로 실험 샘플 대신에 이소타입(IgG) 또는 관련 없는(scFv) 대조군, 또는 어세이 완충제의 첨가를 포함하였다. 상기 플레이트

트를 밀봉하고 실온의 암실에서 4시간 동안 항온처리한 후, 어플라이드 바이오시스템스 세포 검출 시스템 8200 판독기에서 판독하였다. 데이터들, 전형적으로 0.4 미만의 색채 비, 크기 15-30 및 분 카운트 20으로서 설정된 게이팅(gating)을 이용하여 속도 알고리즘으로 분석하였다. 미정제 scFv 상청액 샘플로부터의 히트(Hit)는 총 결합 대조군 웰에 비해 50% 이상의 신호 억제력을 보이는 것으로서 정의되었다. 프리즘(Graphpad) 곡선 피팅 소프트웨어를 이용하여 정제된 IgG 적정에 대한 용량 반응 곡선을 작도하였다.

[0275] IC₅₀ 측정을 위해, 전형적으로 정제된 IgG를 어세이 완충제로 500 nM부터 2배 희석하여 11개의 농도 점을 제공하였다. 희석물 제조를 위해 96웰 그레이너 폴리프로필렌(Greiner, 650201) 플레이트를 이용하였다. 일반적으로, 각각의 희석물을 이중으로 제조하였다. 대안적으로, IgG 시험을 500 nM 내지 0.2 nM의 단일 농도에서 수행하였다.

[0276] 유세포분석에 의한 세포주에 결합하는 항체의 평가

[0277] 각각 CT-550 및 사이노물구스 ILT7 CT-125 세포를 사용하여 항-ILT7 변이체 및 이소타입 대조군과 인간 및 사이노물구스 ILT7의 결합을 유세포분석으로 평가하였다. CT-125 세포를 대조군으로서 사용하였다. 세포를 ml당 5백만 개 세포의 농도로 차단 완충제(10% FBS로 보충된 PBS)에 재현탁하고 웰당 100 μ l씩 환자 96웰 플레이트(BD Falcon™ 투명 마이크로테스트 플레이트, BD Biosciences)로 옮겼다. 항-ILT7 변이체 및 대조군 항체를 4℃의 플레이트 진탕기에서 30분 동안 세포에 첨가하였다. 세포를 PBS로 3회 세척하고 차단 완충제(100 μ l/웰)에 재현탁하였다. DyLight 649에 접합된 이차 항-인간 IgG 항체(100 중의 1 희석)를 사용하여 세포 표면에 결합하는 인간 IgG를 검출하였다. 세포를 4℃의 플레이트 진탕기에서 30분 동안 암실에서 항온처리하였다. 세포를 PBS로 3회 세척하였고, LSRII 유세포분석 시스템 및 FACSDiva 소프트웨어(둘 다 비디 바이오사이언시스(BD Biosciences)로부터 입수됨)를 이용하여 표면 형광을 획득하였다.

[0278] 유세포분석에 의한 전혈 및 PBMC에 결합하는 항체의 평가

[0279] 유세포분석으로 APC-표지된 항-ILT7 항체 및 이소타입 대조군과 인간 및 사이노물구스 전혈의 결합을 평가하였다. 전혈을 튜브당 1 ml씩 50 ml 원뿔형 튜브로 옮겼다. APC-표지된 항체를 전혈에 직접 첨가하였다. 항-BDCA-2-PE 및 항-CD123-PE 항체를 각각 인간 전혈 염색 및 사이노물구스 전혈 염색에서 형질세포양 수지상 세포(pDC) 특이적 마커로서 사용하였다. 전혈을 4℃의 플레이트 진탕기에서 암실 내에서 30분 동안 항체와 함께 항온처리하였다. 혈액을 제조자의 지시에 따라 BD FACS 용해 용액으로 처리하였다. 세포를 세척하였고, LSRII 유세포분석 시스템 및 FACSDiva 소프트웨어를 이용하여 항체 결합을 유세포분석으로 평가하였다.

[0280] PBMC 염색을 위해, PBMC를 먼저 PBS로 세척하였고, 4℃의 플레이트 진탕기에서 15분 동안 50% 인간 남성 AB 혈장, 20 μ g/ml 인간 IgG 및 200 μ l/ml의 인간 FcR 차단 시약을 함유하는 냉각된 PBS 기제 차단 완충제에 재현탁하였다. 15분 후, APC-표지된 항-ILT7 변이체 또는 APC-표지된 이소타입 대조군 항체를 차단 용액에 직접 첨가하였다. 항-BDCA-2-PE 및 항-BDCA-4-PE 항체를 인간 PBMC 염색용 pDC 특이적 마커로서 대안적으로 사용하였다. 사이노물구스 PBMC에서, pDC는 HLA-DR⁺, 계통⁻, CD11c⁻ 및 CD123^{high}(Malleret et al., Immunology 124: 223-233 (2008))로서 정의된다. 따라서, 항-HLA-DR PerCP-Cy5.5, 계통-FITC(CD3, CD8, CD20 및 CD14 항체) 및 항-CD123-PE 항체를 사이노물구스 PBMC 염색용 pDC 특이적 마커로서 사용하였다. PBMC를 4℃의 플레이트 진탕기에서 암실 내에서 30분 동안 항온처리하였다. 세포를 세척하였고, LSRII 유세포분석 시스템 및 FACSDiva 소프트웨어를 이용하여 항체 결합을 유세포분석으로 평가하였다.

[0281] 세포주를 사용한 항체 의존적 세포 매개 세포독성(ADCC)에 의한 항체 효능의 평가

[0282] ADCC 시험관내 세포 기반 어세이를 이용하여 항-ILT7 항체의 효능을 측정하였다. KC1333 세포(이펙터) 및 CT 세포(표적)를 환자 96웰 플레이트에서 5:1 비(0.5 x 10⁵ 개 CT 세포에 대해 2.5 x 10⁵ 개 KC1333)로 공배양하였다. 세포를 37℃ 및 5% CO₂에서 10% FBS로 보충된 RPMI 1640 배양 배지에서 16시간 동안 항-ILT7 항체 또는 이소타입 대조군의 존재 하에서 공배양하였다. 그 다음, 세포를 세척하고 차단 완충제(PBS-10% FBS)로 옮겼다. 파시픽-블루-항-CD56 항체를 사용하여 KC1333 세포를 검출하였다. 7-AAD를 사용하여 사멸된 세포를 검출하였다. LSRII 유세포분석 시스템 및 FACSDiva 소프트웨어를 이용하여 표적 세포 생존율을 유세포분석으로 평가하였다. 하기 식을 적용하여 세포독성의 퍼센트를 획득하였다: 퍼센트 세포독성 = 100 - (생존 표적의 수/기준에서 생존 표적의 수) x 100.

[0283] 인간 PBMC를 사용한 ADCC 어세이에 의한 항체 효능의 평가

- [0284] 인간 PBMC를 PBS로 세척하고 $\text{ml당 } 5.0 \times 10^6$ 개 세포의 농도로 10% FBS 및 200 ng/ml 재조합 인간 IL-2로 보충된 RPMI 배지에 재현탁하였다. PBMC를 환저 96웰 플레이트에 웰당 100 μl 씩 이중으로 시딩하였다. 항-ILT7 항체 및 대조군 항체의 10배 연속 희석물들을 제조하였고, 100 μl 의 항체 용액을 33.85 nM 내지 3.385 fM의 최종 농도로 적절한 웰에 첨가하였다. 세포를 37°C 및 5% CO_2 에서 6시간 동안 항온처리하였다. 항온처리 후, 세포를 250 μl 의 냉각된 PBS로 2회 세척하였다. 세포를, 4°C에서 15분 동안 50% 인간 남성 AB 혈장, 20 $\mu\text{g/ml}$ 인간 IgG 및 200 $\mu\text{l/ml}$ 의 인간 FcR 차단 시약을 함유하는 100 μl 의 냉각된 PBS 기체 차단 완충제에 재현탁하였다. 차단 단계 후, FITC-항-인간 BDCA2 및 APC-항-인간 CD123 항체를 함유하는 100 μl 의 냉각된 차단 완충제를 적절한 웰에 첨가하였다. 플레이트를 4°C에서 30분 동안 약하게 진탕하면서 항온처리하였다. 항온처리 후, 세포를 250 μl 의 냉각된 PBS로 2회 세척하고 200 μl 의 냉각된 PBS에 최종 재현탁하였다. 50 μl 의 냉각된 7-AAD(Invitrogen) 용액을 모든 웰들에 첨가하였고, LSRII 유세포분석 시스템 및 FACSDiva 소프트웨어를 이용하여 7-AAD 양성 형질세포양 수지상 세포를 평가하였다.
- [0285] *인간 PBMC를 사용한 IFN α 분비 어세이*
- [0286] 인간 PBMC를 PBS로 세척하였고 10% FBS 및 200 ng/ml 재조합 인간 IL-2로 보충된 RPMI 배지 중의 인간 PBMC를 웰당 150,000개 내지 156,000개 세포의 최종 밀도로 환저 96웰 플레이트에 이중으로 시딩하였다. 항-ILT7 항체 및 대조군 항체의 10배 연속 희석물들을 제조하였고, 100 μl 의 항체 용액을 6.77 nM 내지 0.677 fM의 최종 농도로 적절한 웰에 첨가하였다. 세포 및 항체를 37°C 및 5% CO_2 에서 9.5시간 내지 10시간 동안 항온처리하였다. 항온처리 후, 50 μl 의 ODN2216(InvitrogenTM)을 0.5 μM 의 최종 농도로 적절한 웰에 첨가하였고, 플레이트를 37°C 및 5% CO_2 에서 추가 16시간 동안 더 항온처리하였다. 항온처리 후, 플레이트를 10분 동안 350g에서 회전시켰고, 상청액을 조심스럽게 제거하였고, 멀티서브타입 IFN α ELISA 키트(PBL Biomedical)를 사용하여 IFN α 를 정량하였다.
- [0287] *사이노몰구스 원숭이 PBMC를 사용한 IFN α 분비 어세이*
- [0288] 사이노몰구스 PBMC를 PBS로 세척하고 10% FBS, 220 ng/ml 재조합 인간 IL-2 및 500 IU/ml 재조합 인간 IFN- β 로 보충된 RPMI 1640에 재현탁하였다. 최대 수의 세포를 웰당 314,000개 내지 818,000개 세포의 밀도로 적절한 웰에 첨가하였다. 항-ILT7 항체 및 대조군 항체의 10배 연속 희석물들을 제조하였고, 100 μl 의 항체 용액을 33.85 nM 내지 3.385 fM의 최종 농도로 적절한 웰에 첨가하였다. 세포 및 항체를 37°C 및 5% CO_2 에서 9.5시간 내지 10시간 동안 항온처리하였다. 항온처리 후, 50 μl 의 ODN2216(InvitrogenTM)을 0.5 μM 의 최종 농도로 적절한 웰에 첨가하였고, 플레이트를 37°C 및 5% CO_2 에서 추가 16시간 동안 더 항온처리하였다. 항온처리 후, 플레이트를 10분 동안 350g에서 회전시켰고, 상청액을 조심스럽게 제거하였고, 레서스(rhesus)/사이노몰구스 원숭이 IFN α ELISA 키트(PBL Biomedical)를 사용하여 상청액 IFN α 를 정량하였다.
- [0289] *통계학적 분석*
- [0290] 그래프패드 프리즘 5 소프트웨어(GraphPad Software, 미국 캘리포니아주 소재)를 이용하여 결합, ADCC 및 사이토카인 분비 어세이에 대한 EC_{50} 및 IC_{50} 곡선을 생성하였다.
- [0291] 실시예 1
- [0292] 무린 항체 SBI28로부터의 인간화된 ILT7 항체의 생성
- [0293] 무린 mAb SBI28(SBI28은 미국 특허출원 공보 제2009/0280128호에서 제공된 항-ILT7 항체 ILT7#28을 지칭함)을 프레임워크 셔플링(shuffling)(Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005))으로 인간화하였다. 이 방법을 이용하여, 개별 인간 생식세포주 프레임워크의 풀에 인-프레임으로 융합된 그의 6개 CDR들로 구성된 조합 라이브러리를 합성함으로써 무린 mAb SBI28을 인간화하였다. 인간 프레임워크 유전자를 항체 생식세포주 유전자의 공개적으로 입수가능한 풀로부터 선택하였다. 이 보편적인 프레임워크 프라이머 풀은 46개의 인간 생식세포주 카파 채 유전자, 5개의 인간 생식세포주 Jk 서열, 44개의 인간 생식세포주 중쇄 유전자 및 6개의 인간 생식세포주 JH 서열을 포함한다. 각각의 생식세포주 유전자의 각각의 프레임워크를 코딩하도록 프라이머 बैं크를 디자인하였다. 프레임워크 풀과 중첩되는 축퇴 말단을 가진 항체 특이적 CDR 프라이머도 합성하였다. 가변 중쇄 프레임워크-셔플링된 서브라이브러리를 가변 경쇄 프레임워크-셔플링된 서브라이브러리와 페어링함으로써 SBI28 프레임워크-셔플링된 라이브러리를 구축하였다. 중첩 연장으로 PCR을 이용하여 프레임워크-셔플링된 서브라이브러리를 순차적으로 조립하였다. 제1 융합-PCR을 수행하여, 상응하는 CDR의 일부와 인-프레임으로 융합된 각각의 개별

인간 생식세포주 프레임워크를 합성하였다. 그 다음, 융합-PCR 생성물을 주형으로서 사용하여 제2 "조립-PCR"을 수행함으로써, 전체 길이 VH 및 VL 서브라이브리리를 증폭하였다. 쿤켈(Kunkel) 방법 하이브리드화 돌연변이유발을 이용하여 SBI28 프레임워크-서플링된 라이브러리를 M13 기반 Fab 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 메소스케일 디스커버리(MesoScale Discovery)(MSD) 어세이를 이용하여 재조합 ILT7CHO-세포를 발현하는 CHO 세포에 대해 SBI28 프레임워크-서플링된 라이브러리로부터 대략 1300개의 클론들을 스크리닝하였다. 1개의 인간화된 변이체인 10D10은 ProteOn에서 표면 플라스몬 공명(SPR)에 의해 측정되었을 때 그의 키메라 모 항체("SBI28ch")에 비해 3배 더 낮은 친화성으로 인간 ILT7에 결합하였다. SBI28ch는 전체로서 본원에 참고로 도입되는 미국 특허출원 공보 제2009/0280128호에서 제공된 항-ILT7 항체 ILT7#28을 지칭한다.

[0294] 10D10의 친화성 최적화를 시작하여 인간 및 사이노몰구스 ILT7에 대한 그의 결합 친화성을 개선하였다. 인색한(parsimonious) 돌연변이유발을 위해 먼저 10D10을 M13 기반 scFv 발현 벡터 내로 클로닝하였다. 이 방법에서, 잔기 위치당 2개의 별개의 라이브러리(NSS 및 NWS)를 사용하여 모든 6개의 CDR들의 각각의 개별 아미노산을 무작위로 돌연변이시켰다. 쿤켈 방법 하이브리드화 돌연변이유발을 이용하여 6개의 CDR들에 대한 총 12개의 독립적 라이브러리를 구축하였다(Kunkel, T. A., et al. Methods Enzymol. 154:367 (1987)). 합성된 라이브러리의 스크리닝은 각각의 웰에서 scFv 농도를 표준화하기 위해 세균 배양 배지로부터 제한 농도의 분비된 scFv를 포획하도록 디자인된 단일 점 ELISA로 구성되었다. 표지된 ILT7 항원은 포획된 scFv에 결합하였고, 이 상호작용의 신호 강도는 상대적 결합 친화성과 상관관계를 가졌다. 대략 2,000개 내지 3,000개의 클론들을 스크리닝하였다. 개선된 친화성을 가진 변이체를 더 조작하기 위해, 모든 유리한 단일 아미노산 변화를 함께 코딩하여, 작은 집중된 조합 라이브러리를 생성하였다. 이 단계에서, 6개의 CDR들 내의 9개의 위치들에서 14개의 개별 양성 히트들이 동시에 코딩되어 조합 scFv 라이브러리를 구축하였다. 요약하건대, 모든 유리한 아미노산 변화들뿐만 아니라 동일한 위치에서 모 잔기도 코딩하는 축퇴 프라이머를 디자인하였다. 이 조합 라이브러리를 전술된 바와 같이 단일 점 포획 ELISA로 스크리닝하였다. 대략 1,200개의 클론들을 스크리닝하였다. 친화성-개선된 변이체 7C7의 가변 영역을 포유동물 발현 pOE 벡터 내로 개별적으로 클로닝하고 HEK293 세포에서 일시적으로 발현시켰다. 컨디셔닝된 배지로부터 분비된 가용성 인간 IgG를 직접 정제하였다. ProteOn 및 FACS를 이용하여 정제된 IgG를 rILT7과의 결합에 대해 어세이하였다. ProteOn 실험에서, 친화성이 최적화된 항체 7C7은 SBI28ch에 비해 약 60배 K_D 개선을 보였다. CHO 세포에서 발현된 재조합 인간 및 사이노몰구스 ILT7에의 결합이 측정되는 FACS에 의해 측정되었을 때, 7C7은 SBI28ch에 비해 인간 및 사이노몰구스 ILT7에 대한 각각 2.2배 및 14배 더 우수한 EC_{50} 을 나타내었다. SBI28, 10D10 및 7C7의 VH 및 VL 서열의 정렬은 각각 도 1a 및 1b에서 제공되어 있다.

[0295] 실시예 2

[0296] 인간 라이브러리로부터의 인간 ILT7 항체의 생성

[0297] (상기 실시예 1에 기재된 바와 같은) 무린 항-ILT7 항체의 인간화 이외에, 인간 서열의 라이브러리를 사용하여 인간 항체를 생성하였다. 항-ILT7 항체를 생성하는 퍼싱(pursing) 다중 전략은 상이한 특징을 가진 항-ILT7 항체를 생성할 기회를 최대화하므로, 특정 목적을 위한 이상적인 항체가 선택될 수 있다.

[0298] 2.1 선택

[0299] 사상 파지 M13에 기반을 둔 파지미드 벡터 내로 클로닝된, 성인 미감작(naive) 기증자로부터의 골수로부터 유래된 개별 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 사용함으로써 생성된 큰 단일 쇠 Fv(scFv) 인간 항체 라이브러리를 선택에 사용하였다(Hutchings, C., "Generation of Naive Human Antibody Libraries" in 항체 Engineering, Dubel. Berlin, Springer Laboratory Manuals: p. 93 (2001); Lloyd et al., Protein Eng. Des. Sel. 22(3):159-68 (2009)). 본질적으로 문헌(Vaughan et al., Nat. Biotechnol. 14(3):309-14 (1996))에 이미 기재된 바와 같이 재조합 인간 및/또는 사이노몰구스 ILT7에 대한 일련의 반복된 선택 주기로 파지 디스플레이 라이브러리로부터 ILT7 특이적 scFv 항체를 단리하였다. 요약하건대, scFv-파지 입자를 용액 중의 바이오티닐화된 재조합 ILT7(EZ 링크 세포-NHS-LC-바이오틴(Thermo/Pierce, 제품: 21335)을 사용함으로써 유리 아민을 통해 바이오티닐화됨)과 함께 항온처리하였다. 전형적으로, scFv-파지 입자를 1시간 동안 100 nM 바이오티닐화된 재조합 ILT7과 함께 항온처리하였다. 그 다음, 항원에 결합된 scFv를 제조자의 권고에 따라 스트렙타비딘-코팅된 상자성 비드(Dynabeads[®] M-280)에 포획하였다. PBS-Tween을 사용하여 일련의 세척 주기로 결합되지 않은 파지를 세척하여 제거하였다. 항원에 보유한 파지 입자를 용출하고 세균 내로 감염시키고 다음 라운드의 선택을 위해 레스큐하였다. 전형적으로, 3 라운드의 선택을 이 방식으로 수행하였다.

[0300] 2.2 파지 ELISA에 의한 ILT7 특이적 결합체의 확인

- [0301] scFv를 과지 입자에 디스플레이하고 결합 어세이에서 시험하여, 재조합 항원에 대한 교차반응성 및 특이성을 측정하였다. 상세한 어세이 방법은 재료 및 방법 단락에서 제공되어 있다. 결합 어세이로부터 대략 2100개의 별개의 데이터 점들을 생성하였고, 확인된 히트, 즉 재조합 ILT7에의 결합을 보인 scFv 클론에 대해 DNA 시퀀싱을 수행하였다(Osourn et al., Immunotechnology 2(3):181-96 (1996); Vaughan et al., Nat. Biotechnol. 14(3):309-14 (1996)).
- [0302] 2.3 FMAT에 의한 ILT7 결합제의 확인
- [0303] 독특한 scFv들을 세균 주변세포질에 발현시키고 형광 미세부피 어세이 기술(FMAT) 결합 어세이에서 그들의 결합 활성에 대해 스크리닝하였다. 염소 항-마우스 알렉사플루오르®-647 표지된 항체를 사용하여 scFv들과 세포 표면에서 발현된 ILT7의 결합을 검출하였다. 상세한 어세이 방법은 재료 및 방법 단락에서 제공되어 있다.
- [0304] 2.4 IgG1로의 scFv의 재포맷화
- [0305] 하기 변형을 이용하여 본질적으로 문헌(Persic et al., Gene 187(1):9-18 (1997))에 기재된 바와 같이 가장 강력한 scFv 결합제를 전체 면역글로불린 G1(IgG1) 항체 포맷으로 전환시켰다. CHO-일시적 세포와 함께 사용하는 것을 용이하게 하고 에피조ם 복제를 가능하게 하기 위해 OriP 단편을 발현 벡터에 포함시켰다. VH 도메인을, 인간 중쇄 불변 도메인 및 조절 요소를 함유하는 벡터(pEU1.3) 내로 클로닝하여, 포유동물에서 전체 IgG1 중쇄를 발현시켰다. 유사하게, 인간 경쇄(람다) 불변 도메인 및 조절 요소의 발현을 위해 VL 도메인을 벡터(pEU4.4) 내로 클로닝하여, 포유동물 세포에서 전체 IgG 경쇄를 발현시켰다. IgG를 수득하기 위해, 중쇄 및 경쇄 IgG 발현 벡터들을 CHO-일시적 포유동물 세포 내로 형질감염시켰다. IgG는 발현되어 배지 내로 분비되었다. 회수물을 모았고 정제 전에 여과하였다. 그 다음, 단백질 A 크로마토그래피를 이용하여 IgG를 정제하였다. 배양물 상청액을 적절한 크기의 세라믹 단백질 A의 컬럼(BioSeptra)에 적재하고 50 mM Tris-HCl(pH 8.0) 및 250 mM NaCl로 세척하였다. 0.1 M 구연산나트륨(pH 3.0)을 사용하여 컬럼으로부터 결합된 IgG를 용출하였고 Tris-HCl(pH 9.0)을 첨가하여 중화시켰다. Nap10 컬럼(Amersham, #17-0854-02)을 사용하여 용출된 물질을 PBS로 완충제 교환하였고, IgG의 아미노산 서열을 기반으로 흡광 계수를 사용하여 IgG의 농도를 분광광도계로 측정하였다(Mach et al., Anal. Biochem. 200(1):74-80 (1992)).
- [0306] 2.5 IgG에 대한 결합 어세이
- [0307] FMAT 결합 어세이를 이용하여 항-ILT7 항체의 종 교차반응성을 측정하였다. 상세한 어세이 방법은 재료 및 방법 단락에서 제공되어 있다. 하기 11개의 항체들이 FMAT 스크리닝 어세이에서 인간 및 사이노몰구스 ILT7 둘 다에 성공적으로 결합된 항체로서 확인되었다: ILT70019, ILT70028, ILT70052, ILT70076, ILT70080, ILT70083, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142 및 ILT70144.
- [0308] 실시예 3
- [0309] ILT7 항체는 ILT7 발현 세포에 결합한다.
- [0310] 인간 ILT7을 발현하는 세포에 대한 ILT70019, ILT70028, ILT70052, ILT70076, ILT70080, ILT70083, ILT70089, ILT70100, ILT70137, ILT70142 및 ILT70144의 결합 EC_{50} 을 측정하기 위해, 유세포분석으로 후보를 CT-550 세포에 대한 결합에 대해 스크리닝하였다. ILT70080(EC_{50} = 0.28 nM), ILT70083(EC_{50} = 0.37 nM), ILT70137(EC_{50} = 0.41 nM), ILT70144, ILT70142, ILT70052 및 ILT70100은 인간 ILT7 발현 세포에 결합하였다. 후보 ILT70019, ILT70028 및 ILT70076은 인간 ILT7 발현 세포에 결합하지 않았다. 항-ILT7 항체 7C7(7C7은 상기 실시예 1에 기재되어 있음) 및 SBI33(SBI33은 미국 특허출원 공보 제2009/0280128호에서 제공된 항-ILT7 항체 ILT7#33을 지칭함)은 양성 대조군으로서 사용되었다. 이소타입 대조군 R347은 음성 대조군으로서 사용되었고 ILT7 발현 세포에 대한 어떠한 결합도 보이지 않았다. 도 2에 나타난 그래프는 2개의 독립적 실험들로부터의 평균 결과를 나타내고, 도 2에 나타난 표는 평균 EC_{50} 을 보여준다.
- [0311] 사이노몰구스 ILT7을 발현하는 세포에 대한 변이체의 결합 EC_{50} 을 측정하기 위해, 유세포분석으로 항체를 사이노몰구스 ILT7 CT-125 세포에 대한 결합에 대해 스크리닝하였다. ILT70052(EC_{50} = 0.35 nM), ILT70080(EC_{50} = 0.44 nM), ILT70083(EC_{50} = 1.37 nM), ILT70137(EC_{50} = 1.40 nM), ILT70100(EC_{50} = 1.63 nM) 및 ILT70144(EC_{50} = 7.81 nM), ILT70142 및 ILT70089는 인간 ILT7에 대한 결합에 대해 양성을 나타내었다. ILT70019, ILT70028 및 ILT70076은 사이노몰구스 ILT7 발현 세포에 결합하지 않았다. 이소타입 대조군 R347은 ILT7 발현 세포에 대한

어떠한 결합도 보이지 않았다. 도 3에 나타난 그래프는 2개의 독립적 실험들로부터의 평균 결과를 나타내고, 도 3에 나타난 표는 평균 EC₅₀을 보여준다.

[0312] 따라서, ILT70052, ILT70080, ILT70083, ILT70100, ILT70137, ILT70142 및 ILT70144 모두가 사이노물구스 ILT7 또는 인간 ILT7을 발현하는 세포에 결합한다. 특히, ILT70080, ILT70083 및 ILT70137을 사용하여 사이노물구스 및 인간 ILT7 둘 다를 발현하는 세포로 낮은 EC₅₀ 값을 획득하였다.

[0313] 실시예 4

[0314] ILT7 항체의 ADCC 효능

[0315] 시험관내 세포 기반 어세이를 이용하여 인간 ILT7 발현 세포주에 대한 ADCC 효능에 대해 항-ILT7 항체를 시험하였다. 인간 ILT7을 발현하는 세포(표적 세포)를 18시간 동안 항-ILT7 변이체 또는 이소타입 대조군의 존재 하에서 천연 킬러(NK) 세포주 KC1333(이펙터 세포)와 1:5의 비율로 플레이팅하였다. 유세포분석 동안, NK 마커 CD56(Biolegend #304624)을 사용하여 KC1333 세포를 게이팅 아웃하였고, 7-AAD를 사용하여 사멸된 세포로부터 생존 세포를 구별하였다. 이 방법을 이용하여, 생존 표적 세포의 퍼센트를 계산하고 기준(항체 부재 대조군)과 비교하였다. 하기 식을 이용하여 세포독성을 계산하였다:

[0316] 퍼센트 세포독성 = $100 - (\text{생존 표적의 수} / \text{생존 표적의 수는 항체 부재 대조군임}) \times 100$.

[0317] ILT70080은 인간 ILT7 발현 세포에 대한 가장 큰 ADCC 효능을 가졌고(EC₅₀ = 0.022 nM), ILT70137(EC₅₀ = 0.044 nM) 및 ILT70083(EC₅₀ = 0.094 nM)이 그 다음으로 큰 ADCC 효능을 가졌다. ILT70142, ILT70052, ILT70100 및 ILT70144도 ADCC 활성을 나타내었다(도 4). 이소타입 대조군 R347 및 R347의 비푸코실화된 버전("Afuc R347")은 인간 ILT7 발현 세포에 대한 어떠한 ADCC 활성도 나타내지 않았다.

[0318] 시험관내 세포 기반 활성을 이용하여 사이노물구스 ILT7 발현 세포에 대한 ADCC 효능에 대해서도 항-ILT7 항체를 시험하였다. ILT70080은 사이노물구스 ILT7 발현 세포에 대한 가장 큰 ADCC 효능을 가졌고(EC₅₀ = 0.008 nM), ILT70137(EC₅₀ = 0.015 nM), ILT70142(EC₅₀ = 0.058 nM), ILT70052(EC₅₀ = 0.073 nM), ILT70144(EC₅₀ = 0.123), ILT70100(EC₅₀ = 0.188 nM) 및 ILT70083(EC₅₀ = 0.433 nM)이 그 다음으로 큰 ADCC 효능을 가졌다. ILT70089도 ADCC 활성을 나타내었다. 양성 대조군 7C7은 ADCC를 나타내었고, 이소타입(음성) 대조군 R347은 사이노물구스 ILT7 발현 세포에 대한 어떠한 ADCC도 나타내지 않았다. 도 5의 그래프 및 표는 2개의 독립적 실험을 나타낸다.

[0319] 따라서, ILT70080 및 ILT70137은 사이노물구스 ILT-7 발현 세포 및 인간 ILT-7 발현 세포 둘 다에서 가장 큰 ADCC 활성을 보였다.

[0320] 실시예 5

[0321] ILT7 항체와 PBMC의 결합

[0322] 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 항체 농도를 사용하여 유세포분석으로 항-ILT7 항체 ILT70080, ILT70083 및 ILT70137과 인간 PBMC의 결합을 평가하였다. ILT70080, ILT70083 및 ILT70137은 pDC(BDCA-4⁺ 세포)에 특이적으로 결합하였다(도 6a 및 6b). 이소타입 대조군 R347의 사용 시 결합은 음성이었다.

[0323] 유세포분석으로 항-ILT7 항체 ILT70080, ILT70083 및 ILT70137과 사이노물구스 PBMC의 결합도 평가하였다. ILT70080 및 ILT70083은 pDC(HLA-DR⁺, 계통⁻, CD123^{high} 세포)에 특이적으로 결합하였다.

[0324] 실시예 6

[0325] IFN-알파 분비에 대한 ILT7 항체의 효과

[0326] 항-ILT7 변이체를 전술된 바와 같이 인간 및 사이노물구스 PBMC에서 ADCC 효능에 대해 시험하였다. 항-ILT7 항체 및 CpG-A와 함께 배양된 PBMC의 상청액에서 IFN α 분비를 ELISA로 측정하였다. ILT70080, ILT70083 및 ILT70137 모두가 인간 PBMC 및 사이노물구스 PBMC에서 CpG-A에 대한 IFN α 반응을 억제하였다. ILT70080은 IFN α 반응에 대한 가장 큰 억제 효과를 가졌다.

[0327] 실시예 7

- [0328] ILT70080 및 ILT70083 항체의 비푸코실화
- [0329] IgG₁ 항체는 Fc 영역에서 N-결합된 올리고사카라이드에 대한 2개의 부위들을 함유하고, 이 부위들은 인간 항체에서 과도하게 푸코실화된다. 항체 의존적 세포 세포독성(ADCC)은 림프구 수용체와 항체 Fc 영역의 결합에 의해 매개되고, 이것은 푸코실화의 양에 의해 영향을 받는다. 푸코실화의 감소 시 ADCC의 증가가 관찰되었다. 따라서, ILT7의 비푸코실화된 버전을 생성하고 분석하였다.
- [0330] 7.1 항-ILT7 항체의 비푸코실화된 버전의 생성
- [0331] ILT70080 및 ILT70083 IgG1을, 효소 α -1,6-푸코실트랜스퍼라제를 결여하는 CHO 세포주에서 발현시켰다. 이 세포주에서의 발현은 중쇄의 Asn-297에서 N-글리칸의 α -1,6 푸코스 모이어티를 결여하는 항체를 생성한다.
- [0332] 7.2 비푸코실화된 ILT70080 및 ILT70083 항-ILT7 항체의 시험
- [0333] 비푸코실화가 항체의 결합 EC₅₀에 영향을 미치는 지를 평가하기 위해 ILT7 발현 세포에 대한 비푸코실화된 ILT70080 및 ILT70083 항체, 및 모 ILT70080 및 ILT70083 항체를 사용한 결합 어세이를 수행하였다. 모 항체 및 비푸코실화된 항체는 인간 ILT7 발현 세포 및 사이노물구스 ILT7 발현 세포 둘 다에 대한 유사한 결합을 보였다(도 7).
- [0334] 진술된 시험관내 세포 기반 어세이를 이용하여 인간 ILT7 발현 세포 및 사이노물구스 ILT7 발현 세포에 대한 비푸코실화된 ILT70080 및 ILT70083 항체의 ADCC 효능을 시험하였다(실시예 3). 비푸코실화는 시험된 모든 후보들에 대한 ADCC 효능을 증가시켰다(도 8). 인간 어세이 및 사이노물구스 어세이 둘 다에서 비푸코실화 시, ILT70080 항체의 경우 효능의 10배 증가가 관찰된 반면(각각 EC₅₀ = 0.013 nM부터 EC₅₀ = 0.001 nM까지, 및 EC₅₀ = 0.006 nM부터 EC₅₀ = 0.00051 nM까지), ILT70083의 경우 6배 내지 7배 증가가 관찰되었다(각각 EC₅₀ = 0.089 nM부터 EC₅₀ = 0.0105 nM까지, 및 EC₅₀ = 0.36 nM부터 EC₅₀ = 0.057 nM까지). 비푸코실화된 이소타입 대조군 R347은 ILT7 발현 세포에 대한 어떠한 ADCC도 나타내지 않았다.
- [0335] 비푸코실화된 항-ILT7 항체 ILT70080 및 ILT70083과 인간 PBMC의 결합을 유세포분석으로 평가하였다. 비푸코실화된 변이체 ILT70080 및 ILT70083은 pDC(BDCA-2⁺ 세포)에 특이적으로 결합하였다. 이소타입 대조군 R347의 사용 시 결합은 음성이었다.
- [0336] 비푸코실화된 항-ILT7 변이체 ILT70080 및 ILT70083과 사이노물구스 PBMC의 결합도 유세포분석으로 평가하였다. 비푸코실화된 변이체 ILT70080 및 ILT70083은 pDC(HLA-DR⁺ 계통⁻ CD123^{high})에 특이적으로 결합하였다. 이소타입 대조군 R347의 사용 시 결합은 음성이었다.
- [0337] 실시예 8
- [0338] ILT70080 및 ILT70083 항체의 조작
- [0339] 8.1 ILT70080의 조작
- [0340] ILT70080 VH 및 VL의 아미노산 서열을 VBASE 데이터베이스(Althaus H-H, Muller W and Tomlinson I: V BASE; <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>)에서 공지되어 있는 인간 생식세포주 서열과 정렬하였고, 가장 가까운 생식세포주 서열을 서열 유사성으로 확인하였다. VH 도메인의 경우 이것은 VH1-69(DP-10)이었고, VL 도메인의 경우 이것은 Vlambda3-h이었다. 가장 가까운 생식세포주 서열로의 복귀를 위해 각각의 VH 도메인(A13K, T16S, L69I^{*}, S70T, L80M, Y84S 및 D85E) 및 VL 도메인(E3V, K20R, S22T, M46L^{*}, M48I^{*}, F50Y^{*} 및 I66N^{*})의 프레임워크(FW)에서 7개의 잔기들을 선택하였다. 별표로 표시된 돌연변이는 버니어(Vernier) 잔기로서 분류된 위치에 존재하고 (Foote, J. et al. J. Mol. Biol. 224: 487 (1992)) 전형적으로 변화되지 않은 상태로 남아있다. 그러나, CDR의 카바트(Wu, T. T. and Kabat E. A. J. Exp. Med. 132:211-250 (1970)) 및 IMGT(Lefranc, M.-P. et al. Dev. Comp. Immunol. 27: 55-77 (2003)) 분류 둘 다의 분석으로부터, 이 위치들은 모 항체의 결합 성질을 변경시킬 낮은 위험과 함께 면역원성을 더 감소시킬 추가 기회를 제공하는 것으로 간주되었다. 또한, VH CDR2(카바트에 의해 정의된) 서열 내에서 중쇄 N64Q 돌연변이유발을 수행하여, 이 위치에서 잠재적 탈아마이드화(NG) 부위를 제거하였다. 표준 분자생물학 기법을 이용하여 pCantab6(McCafferty et al., Appl Biochem Biotech 47:157 (1994))에서 ILT70080 scFv 서열에 대한 돌연변이유발을 수행하였다. 상이한 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타이드 조합을 다중 돌연변이유발 반응에서 사용하여, FW 돌연변이의 상이한 조합을 함유하는 서열의 라이

브러리를 생성하였다. 그 다음, 전술된 FMAT 세포 결합 어세이에서 ILT70080 scFv 변이체의 패널을 미정제 주변 세포질 추출물로서 인간 ILT7에의 결합의 보유에 대해 시험하였다.

[0341] 7개의 ILT70080 변이체들을 IgG로서 생성하였다. VH 및 VL 서열 정렬에 대해 각각 도 9a 및 9b를 참조한다.

[0342] 8.2 ILT70083의 조작

[0343] ILT70083의 생식세포주화도 수행하였다. VH 및 VL 서열에 대해 확인된 가장 가까운 생식세포주 서열은 각각 VH3-23(DP-47) 및 Vlambda1-b(DPL-5)이었다. VH 도메인 내에서의 돌연변이유발을 위해 1개의 FW 잔기를 선택하였고(W66R), 선택된 버니어 위치도 포함하는 8개의 FW 잔기를 VL 도메인 내에서 선택하였다(V4L*, R42T, A64G*, I66K*, S68G*, A72T, A74G 및 E81G). 표준 분자생물학 기법을 이용하여 별개의 VH 및 VL 쇄를 함유하는 pEU 벡터에서 돌연변이의 상이한 조합을 함유하는 ILT70083 변이체를 직접 생성하였다. 그 다음, ILT70083 VH 및 VL 쇄를 상이한 조합으로 공형질감염시켜, 9개의 ILT70083 IgG1 변이체들을 생성하였다. VH 및 VL 정렬에 대해 각각 도 10a 및 10b를 참조한다.

[0344] 8.3 조작된 항체의 시험

[0345] 서열 변화가 ILT70080 및 ILT70083 내로 도입되었고 모 항체와 인간 ILT7을 발현하는 세포(CT-550 세포) 또는 사이노몰구스 ILT7을 발현하는 세포(CT-125 세포)의 결합에 불리하게 영향을 미치지 않는 지를 확인하기 위해 생성된 IgG1을 시험하였다. 변이체를 유세포분석으로 결합에 대해 스크리닝하였다. 모든 ILT70080 변이체들은 인간 ILT7 및 사이노몰구스 ILT7에 대해 모 ILT70080 항체와 유사한 결합을 가졌다(각각 $EC_{50} = 0.213$ nM 및 0.547 nM). 도 11을 참조한다. ILT70083 변이체의 결합도 인간 ILT7에 대해 모 항체와 유사하였다($EC_{50} = 0.464$ nM). 도 12를 참조한다. 그러나, 5개의 ILT70083 변이체들(ILT70083.4, ILT70083.9, ILT70083.3, ILT70083.6 및 ILT70083.8)은 사이노몰구스 ILT7에 대해 모 항체에 비해 개선된 결합 능력을 가졌다. 도 12를 참조한다.

[0346] 시험관내 세포 기반 어세이를 이용하여 조작된 ILT70080 및 ILT70083 항체를 인간 ILT7 발현 세포주에 대한 ADCC 효능에 대해 시험하였다. 모든 ILT70080 변이체들은 모 항체에 비해 증가된 ADCC 효능을 가졌다($EC_{50} < 14.1$ pM). 도 13을 참조한다. 가장 낮은 EC_{50} 을 가진 2개의 후보들은 ILT70080.6($EC_{50} = 6.9$ pM) 및 ILT70080.1($EC_{50} = 8.0$ pM)이었다. 다른 ILT70080 변이체들에 대한 EC_{50} 값은 다음과 같았다: ILT70080.1 $EC_{50} = 10.0$ pM; ILT70080.3 $EC_{50} = 11.0$ pM; ILT70080.4 $EC_{50} = 11.9$ pM; ILT70080.5 $EC_{50} = 8.6$ pM; 및 ILT70080.7 $EC_{50} = 7.8$ pM. 모든 ILT70083 변이체들은 모 항체에 비해 감소된 효능을 가진 것으로 확인되었다($EC_{50} > 89.0$ pM). 도 14를 참조한다.

[0347] 실시예 9

[0348] 조작된 ILT70080 및 ILT70083 항체의 비푸코실화

[0349] ILT70080.6의 비푸코실화된 버전을 생성하였다. ILT70080.6 항체의 비푸코실화는 이 항체와 인간 또는 사이노몰구스 ILT7 발현 세포의 결합에 영향을 미치지 않았다. 인간 ILT7 발현 세포 및 사이노몰구스 ILT7 발현 세포에 대한 비푸코실화된 ILT70080.6의 결합 EC_{50} 은 각각 152.3 pM 및 366.2 pM이었다. 도 15를 참조한다. 도 15의 표는 평균 형광 강도(MFI)를 측정하는 3개의 독립적 결합 실험의 평균 결과를 제공한다.

[0350] ILT70080.6 및 ILT70083의 비푸코실화된 버전(상기 실시예 7 참조)의 ADCC 활성도 평가하였다. ILT70080.6의 비푸코실화는 인간 ILT7 발현 세포 및 사이노몰구스 ILT7 발현 세포 둘 다에 대한 그의 ADCC 효능을 약 10배까지 개선하였다. 도 16을 참조한다. 인간 ILT7 발현 세포에 대한 비푸코실화된 ILT70080.6의 EC_{50} 은 1.12 pM이었고, 사이노몰구스 ILT7 발현 세포에 대한 비푸코실화된 ILT70080.6의 EC_{50} 은 0.44 pM이었다. 도 16의 표는 세포 독성을 측정하는 3개의 독립적 ADCC 어세이의 평균 결과를 제공한다.

[0351] 비푸코실화된 ILT70080.6 및 ILT70083을 인간 PBMC에서 ADCC 효능에 대해 시험하였다. 항체의 세포독성을 유세포분석으로 평가하였고, 상청액에서 CpG A 매개 IFN α 분비를 ELISA로 측정하였다. 결과는 도 17에 표시되어 있다. 사이노몰구스 PBMC에서, 비푸코실화된 ILT70080.6 및 ILT70083 항체를 사용한 IFN α 분비에 대한 EC_{50} 값은 각각 58 pM 및 5216 pM이었다.

[0352] 인간 전혈 및 PBMC에서, 비푸코실화된 ILT70080.6 및 ILT70083 항체는 BDCA-2 양성 세포에 특이적으로 결합하는

것으로 확인되었다. 상기 두 항체들의 결합은 시험된 모든 농도(0.1 내지 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에서 인간 pDC로 제한되었다

[0353] 사이노몰구스 전혈에서, 비푸코실화된 ILT70080.6 및 ILT70083 항체는 시험된 모든 농도(0.5 내지 2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에서 pDC(HLA-DR⁺ 계통⁻ CD123^{high} 세포)에 결합하는 것으로 발견되었다.

[0354] 실시예 10

[0355] ILT70137 항체의 비푸코실화

[0356] ILT70137 항체의 비푸코실화된 버전을 ILT70080 및 ILT70083 항체에 대해 상기 실시예 7에 기재된 바와 같이 제조하였다.

[0357] 10.1 가용성 재조합 인간 ILT7에의 결합

[0358] BIAcore(표면 플라즈몬 공명)는 IgG-포획 어세이 포맷을 이용하여 비푸코실화된 IgG₁ ILT70137과 인간 ILT7 단백질의 결합에 대한 동역학 속도(k_{on} , k_{off}) 상수를 측정하는 데 이용되었다. 먼저 IgG를 센서 칩 표면에 포획한 다음, ILT7 단백질 또는 기계 완충제를 포획한 후, 각각의 농도의 2배 연속 ILT7 단백질 희석물의 결합을 기록하였다. 각각의 쌍의 주사 사이에, IgG 포획 표면을 재생시켰다. 그 다음, 질량 수송 한정된 결합이 검출된다면 이 결합을 보정할 항을 포함하는 1:1 피팅 모델을 이용하는 판매회사의 소프트웨어를 통해 입수될 수 있는 비아에발루션 소프트웨어를 이용하여 생성된 결합 곡선으로부터 개별 결합 속도 상수 및 해리 속도 상수를 계산하였다. 데이터의 고해상 BIAcore 플롯으로부터, ILT7 단백질과 비푸코실화된 IgG₁ ILT70137의 결합에 대한 결합 속도 상수 및 해리 속도 상수가 $1.855 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 인 것을 확인하였다. 이 동일한 플롯은 $3.175 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 로 측정된, 이 상호작용에 대한 상응하는 해리 속도 상수를 측정하는 데에도 이용되었다. 그 다음, 이 속도 상수들로부터, k_{off}/k_{on} 의 몫 171 nM로부터 K_D 를 계산하였다. 이 결과는 하기 표 3에 요약되어 있다. k_{on} 및 k_{off} 의 개별 오차는 낮았고, 계산된 R_{max} (최대 반응)의 약 1%의 Chi2 값에 의해 판단되었을 때 데이터에의 전체 피트는 우수하였다. 종합하건대, 이것은 데이터를 피팅하기 위한 1-부위 결합 모델의 사용이 적절하였다는 것을 암시한다. 평균 결합이 질량 수송에 의해 한정된다는 것을 시사하지 않았으므로, 측정된 결합 속도 상수는 유효한 것으로서 간주된다.

표 3

인간 ILT7 단백질과 비푸코실화된 IgG₁ ILT70137의 결합에 대한 동역학 속도 상수 및 KD 데이터의 요약

상호작용	$k_{on} (\times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1})$	$k_{off} (\times 10^{-2} \text{ s}^{-1})$	$K_D (\text{nM})$
huILT7/Afuc IgG ₁ ILT70137	1.855	3.175	171

k_{on} = 결합 속도 상수; k_{off} = 해리 속도 상수; K_D = 평형 결합 상수.

[0359]

[0360] 10.2 ILT7 발현 세포주에의 결합

[0361] 인간 또는 사이노몰구스 원숭이 ILT7을 안정하게 발현하는 세포주를 사용하여 비푸코실화된 ILT70137과 ILT7의 결합을 측정하였다. 세포에 결합된 항체의 평균 형광 강도를 유세포분석으로 평가하였다. 세포를 4°C에서 30분 동안 0.004 nM부터 333.3 nM까지 증가하는 농도의 시험 항체와 함께 항온처리하였다. 항온처리 후, 세포를 냉각된 PBS로 세척하고 4°C에서 30분 동안 항-인간-알렉사 플루오르 647 항체와 함께 항온처리하였다. 그 다음, 형광 강도를 FACS로 측정하였고, 그래프패드 프리즘 6 소프트웨어에서 비선형 피트 방정식을 이용하여 EC_{50} 값을 계산하였다.

[0362] 결과는 도 18에 표시되어 있다. 비푸코실화된 ILT70137은 용량 의존적 방식으로 재조합 인간 및 사이노몰구스 원숭이 ILT7 발현 세포에 결합하는 것으로 확인되었다. 이소타입 대조군의 사용 시 유의미한 결합은 관찰되지 않았다. 평균 비푸코실화된 ILT70137 절반 최대 유효 농도(EC_{50})는 인간 ILT7 발현 세포에의 결합의 경우 0.303 nM이었고 사이노몰구스 원숭이 ILT7 발현 세포의 경우 2.148 nM이었다.

[0363] 10.3 ILT7 발현 세포주에 대한 ADCC 활성

- [0364] ADCC를 유도하는 비푸코실화된 ILT70137의 잠재력을, 인간 또는 사이노물구스 원숭이 ILT7을 발현하는 표적 세포에 대한 형광-활성화된 세포 분류(FACS) 어세이로 측정하였다. 표적 세포를 증가하는 농도의 비푸코실화된 ILT70137 또는 이소타입 대조군(0 내지 6.66×10^{-9} M)의 존재 하에서 1:5의 비로 이펙터 NK 세포주 KC1333과 공배양하였다. 유세포분석에 의한 표적 세포 생존율의 평가를 위해, CD56을 사용하여 KC1333을 게이팅 아웃하였고, 7-아미노-악티노마이신 D(7-AAD) 생존율 염색을 이용하여 사멸된 세포를 게이팅 아웃하였다. 생존 표적 세포를 CD56 음성 및 7-AAD 음성으로서 정의하였다. 하기 식을 이용하여 세포독성의 퍼센트를 계산하였다: % 세포 독성 = $100 - (\text{생존 표적 세포의 퍼센트} / \text{항체 부재 대조군에서의 생존 표적의 퍼센트}) \times 100$. 그래프패드 프리즘 6 소프트웨어에서 비선형 피트 방정식을 이용하여 절반 최대 유효 농도 값(EC_{50})을 계산하였다. x-축: 항체 농도.
- [0365] 결과는 도 19에 표시되어 있다. 비푸코실화된 ILT70137은 인간 ILT-7을 발현하는 세포에 대해 4.19 pM 및 사이노물구스 원숭이 ILT7을 발현하는 세포에 대해 1.89 pM의 EC_{50} 으로 용량 의존적 방식으로 ILT7을 발현하는 세포에 대한 ADCC를 유도하였다.
- [0366] 10.4 일차 형질세포양 수지상 세포에 대한 ADCC 활성
- [0367] 말초 혈액 단핵 세포(PBMC) 제제에서 Toll 유사 수용체 9(TLR9) 아고니스트에 반응하여 일어나는 IFN- α 분비는 주로 형질세포양 수지상 세포(pDC)에 기인한다. 따라서, 일차 pDC의 ADCC를 유도하는 비푸코실화된 ILT70137의 잠재력은 PBMC에서 IFN- α 의 분비를 차단하는 그의 능력을 평가함으로써 간접적으로 측정되었다. 이 어세이에서, 10% 태아 소 혈청 및 200 ng/ml 재조합 인간 IL-2로 보충된 배지 중의 정제된 PBMC를 96웰 환저 플레이트에 플레이팅하였다. 비푸코실화된 ILT70137 및 대조군 항체의 연속 희석물들을 적절한 웰에 이중으로 첨가하고 9.5시간 동안 항온처리하였다. 항온처리 후, 50 μ l의 TLR9 아고니스트 ODN2216을 0.5 μ M의 최종 농도로 각각의 웰에 첨가하였다. 멀티서브타입 IFN- α ELISA 키트를 사용하여 상청액에서 IFN- α 를 정량하였고 도 20에서 pg/상청액 ml로서 제시한다. 그래프패드 프리즘 v5.01 소프트웨어에서 비선형 피트 방정식을 이용하여 ADCC의 IC_{50} 을 계산하였다.
- [0368] 비푸코실화된 ILT70137은 0.048 nM의 절반 최대 억제 농도(IC_{50})로 용량 의존적 방식으로 PBMC에서 TLR9 매개 IFN- α 분비를 감소시켰다. 이 결과는 비푸코실화된 ILT70137이 PBMC에서 천연 생성 일차 인간 pDC를 효과적으로 고갈시킨다는 것을 시사한다.
- [0369] 10.5 일차 형질세포양 수지상 세포에의 결합
- [0370] 인간 일차 형질세포양 수지상 세포(pDC)에 대한 비푸코실화된 ILT70137의 특이성을 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)에서 FACS로 평가하였다. PBMC를 인간 기준자로부터 분리하였다. 이 수지상 세포 서브세트를 적절하게 확인하기 위해, 마커 CD123(pDC 및 호염기구에서 발현됨) 및 CD304(pDC에서만 발현됨)를 먼저 사용하였다. pDC는 CD123+CD304+ 이중 양성을 나타내었고, CD304 염색은 pDC를 확인하기에 충분하였다. 도 21(상부 패널)을 참조한다. 비푸코실화된 ILT70137은 CD304 양성 세포에만 결합하였는데, 이 결과는 이것이 pDC에만 결합한다는 것을 시사한다. 도 21(하부 우측 패널)을 참조한다. 인간 IgG1 이소타입 비푸코실화된 대조군 항체 R3-47의 사용 시 이 집단에의 유의미한 결합은 관찰되지 않았다(하부 좌측 패널).
- [0371] 실시예 11
- [0372] ILT7 항체의 생체내 활성
- [0373] 3종의 항-ILT7 항체들을 수컷 사이노물구스 원숭이에게 투여하였다: 비푸코실화된 7C7, 비푸코실화된 ILT70080.6 및 비푸코실화된 IgG₁ ILT70137. 모든 3종의 항체들은 형질세포양 수지상 세포(pDC)를 고갈시키는 데 있어서 활성을 나타내었다.
- [0374] 비푸코실화된 ILT70080.6의 투여는 일반적으로 잘 용인되었다. 그러나, 하기 병리학적 소견이 관찰되었다: 감소된 호중구 카운트, 혈관 백혈구증가, 사구체 매트릭스의 증가, 및 혈관/혈관주위 염증. 추가로, 비푸코실화된 ILT70080.6 항체에 대한 항체(항-약물 항체)의 출현은 비푸코실화된 ILT70080.6의 증가된 제거와 관련되었다.
- [0375] 또 다른 연구에서, 비푸코실화된 7C7 및 비푸코실화된 ILT70137의 독성동력학을 연구하였다. 이 연구에서, 5개의 동등한 용량의 항체들을 주입으로 사이노물구스 원숭이에게 투여하였다. 투여 후, 노출은 정상 상태에서 비푸코실화된 7C7과 비푸코실화된 ILT70137 사이에 필적할만하였다. 또한, 도 22에 나타난 바와 같이, 상기 항체

들 중 어느 한 항체를 사용하여 pDC의 특이적 및 가역적 고갈을 달성하였다. pDC 고갈은 IFN α 생성의 생체의 억제제를 유발하였다. 도 23을 참조한다.

[0376] 그러나, 비푸코실화된 7C7 및 비푸코실화된 ILT70137로 치료된 동물의 병리학은 상이하였다. 비푸코실화된 7C7로 치료된 일부 동물들에서 증가된 비장 중량이 관찰되었다. 비푸코실화된 7C7로 치료된 일부 동물들에서 미시적 소견도 관찰되었다. 특히, 적색 비수 및 대식세포 비대/과형성이 비장에서 관찰되었다. 쿠퍼(Kupffer) 세포 비대/과형성이 간에서 관찰되었다. 추가로, 면역조직화학은 간 내의 비대화된/과형성 쿠퍼 세포 및 비장 내의 적색 비수 대식세포와 관련된 인간 IgG/7C7 및 원숭이 IgG 함유 과립형 침착물을 보여주었다. 이 관찰결과는 약물(7C7) 및 항-약물 항체(ADA)를 함유하는 면역 복합체의 과도한 생리학적 제거와 일치한다. 대조적으로, 비푸코실화된 ILT70137의 사용 시 장기 중량의 변화 및 거시적 또는 미시적 소견은 관찰되지 않았다.

[0377] 추가로, 호중구 카운트는 비푸코실화된 7C7 항체로 치료된 2마리의 원숭이들의 경우 1 E3/ μ l 미만으로 떨어진 반면, 호중구 카운트의 유의미한 변화는 대조군 또는 비푸코실화된 ILT70137로 치료된 원숭이에서 관찰되지 않았다.

[0378] 따라서, 모든 3개의 항체들은 생체내에서 pDC를 고갈시키지만, 비푸코실화된 ILT70137의 투여 후 우수한 안전성 및 항-약물 항체의 결여는 놀라운 정도로 유리하다.

[0379] 실시예 12

[0380] 에피토프 맵핑

[0381] ILT7 항체에 의해 결합된 에피토프를 확인하기 위해, ILT7 및 ILT1 폴리펩타이드를 함유하는 키메라 폴리펩타이드들을 구축하였고, ILT7 항체와 이 구축물들의 결합을 시험하였다. ILT1(수탁번호 Q8N149)이 ILT7과 동일한 모듈식 구조를 갖고 ILT7과 65% 동일성을 공유하나, ILT7 단일클론 항체에 의해 인식되지 않기 때문에, ILT1을 선택하여 키메라 변이체를 구축하였다. ILT7의 세포외 Ig 도메인을 ILT1 대응물로 대체함으로써 키메라 폴리펩타이드를 생성하였다. 이 구축물들 모두가 N-말단 Flag 태그를 함유하였다. 결과는 ILT70080 및 ILT70083이 ILT7의 Ig1 도메인에 결합한다는 것을 입증하였다. 대조적으로, 7C7 항체는 ILT7의 Ig2 도메인에 결합한다.

[0382] 특정 실시양태의 상기 설명은 다른 사람들이 본 발명의 일반적인 개념을 벗어나지 않으면서 과도한 실험 없이 당분야의 기술 내의 지식을 적용함으로써 다양한 적용을 위해 이러한 특정 실시양태를 용이하게 변형시키고/시키거나 개조할 수 있도록 본 발명의 일반적인 성질을 전체적으로 보여줄 것이다. 따라서, 이러한 개조 및 변형은 본원에서 제공된 교시 및 지침에 기반을 둔, 개시된 실시양태의 균등물의 의미 및 범위 내에 있다. 본원에서 어구 또는 용어는 설명을 위한 것이고 한정을 위한 것이 아니므로, 본 명세서의 용어 또는 어구는 상기 교시 및 지침에 비추어 볼 때 숙련된 당업자에 의해 해석될 것임을 이해할 것이다.

[0383] 본 발명의 폭 및 범위는 전술된 예시적 실시양태들 중 임의의 실시양태에 의해 한정되어서는 안 되나, 하기 청구범위 및 이의 균등물에 따라서만 정의되어야 한다.

도면

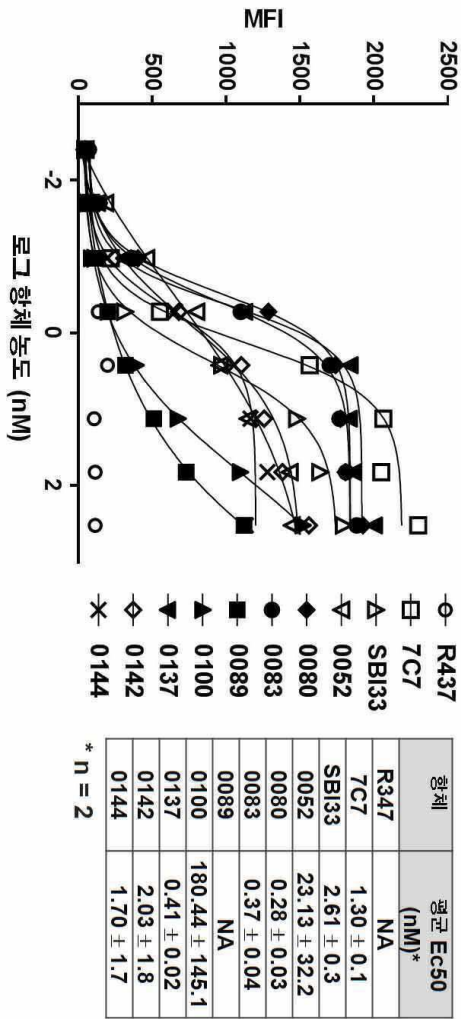
도면1a

정렬 VH:		
#28-VH	QVQLQQSGAELIVKPGASVYKMSCKAFGYFTTYPLEMMKQNHGKSIEMI GNFHPYND DTKY	60
10D10-VH	EVQLVDSGGGVVQ PPGRSLRLSCA SGFTFS TYPIE WVRQAPGQGLEWIG NEFHLXND DTKY	60
7C7-VH	EVQLVDSGGGVVQ PPGRSLRLSCA SGFTFS IYPIE WVRQAPGQGLEWIG NEFHLXND DTKY	60
#28-VH	NEKFKGKAKLTVEKSS TVYLELSRLTSDD SAVYYCARGDY GMDYMGQ GTSVTVSS	117
10D10-VH	NEKFKGRVTMTTDTSTSTVY MELSLRS EDTAVYYCTRGDDY GMDYMGQ GLTVTVSS	117
7C7-VH	NEKFKGRVTMTTDTSTSTVY MELSLRS EDTAVYYCTRGDDY GLDYM GQGLTVTVSS	117

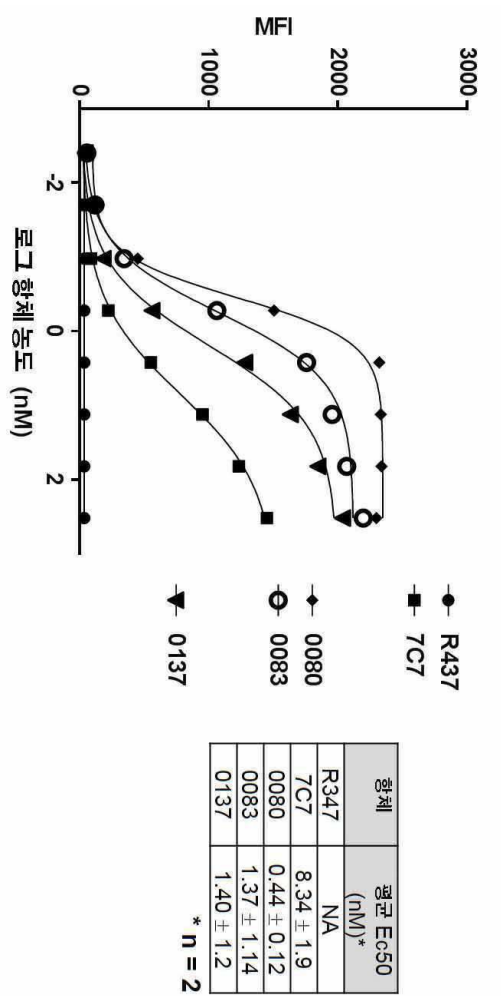
도면1b

정렬 VL:		
#28-VL	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSIITC ASQNV RTAVAVMYQQKPGQSPKALIT YLA SNRHTGVED	60
10D10-VL	NIQMTQSPSISASVGDRTVITTC ASQNV RTAVAVMYQQKPGKAPKRLIT YLA SNRHTGVPS	60
7C7-VL	NIQMTQSPSISASVGDRTVITTC ASQNV RTAVAVMYQQKPGKAPKRLIT YLA SNRHTGVPS	60
#28-VL	RFTSGSGGTDFTLITISNVQSEDIADYFC LQHMN YPFTTSGSGTKLEIK	107
10D10-VL	RFTSGSGGTDFTLITISLSQSEDFATY YCLQHMN YPFTTSGPGTKLEIK	107
7C7-VL	RFTSGSGGTDFTLITISLSQSEDFATY YCLQHMN YPFTTSGPGTKLEIK	107

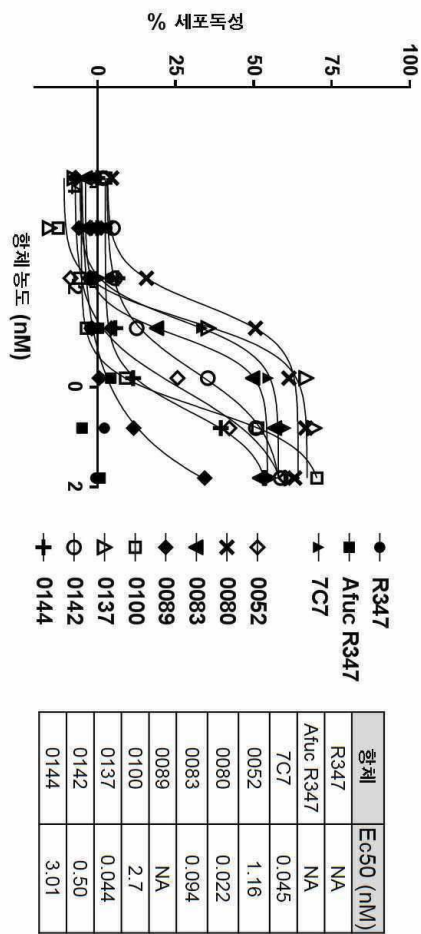
도면2



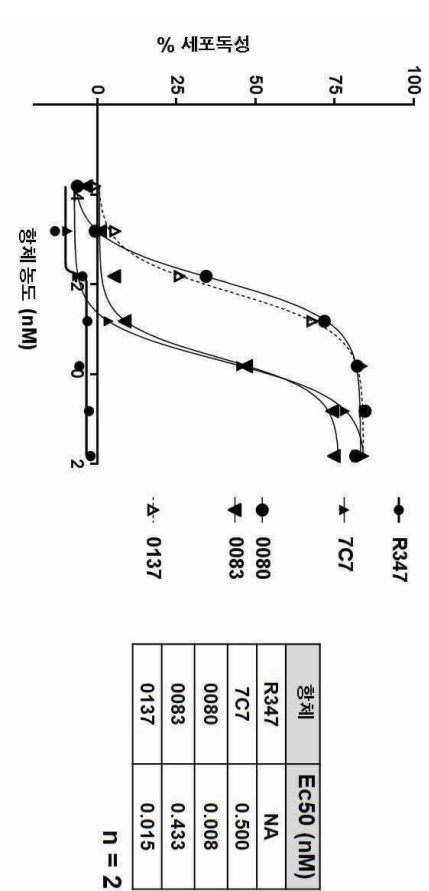
도면3



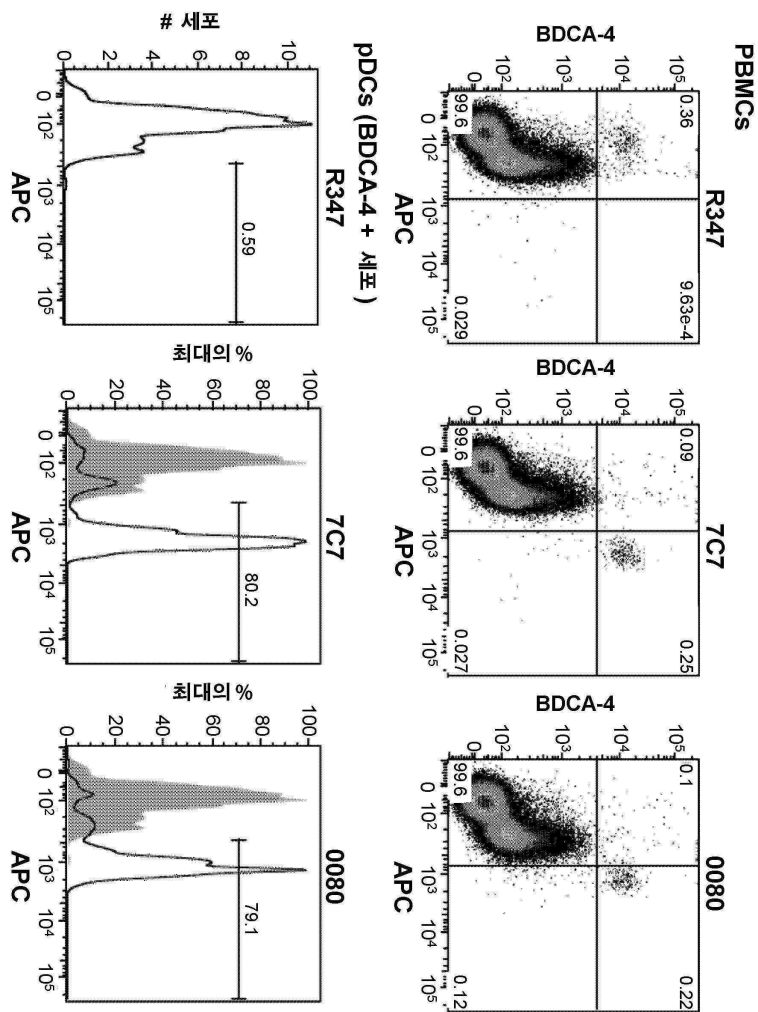
도면4



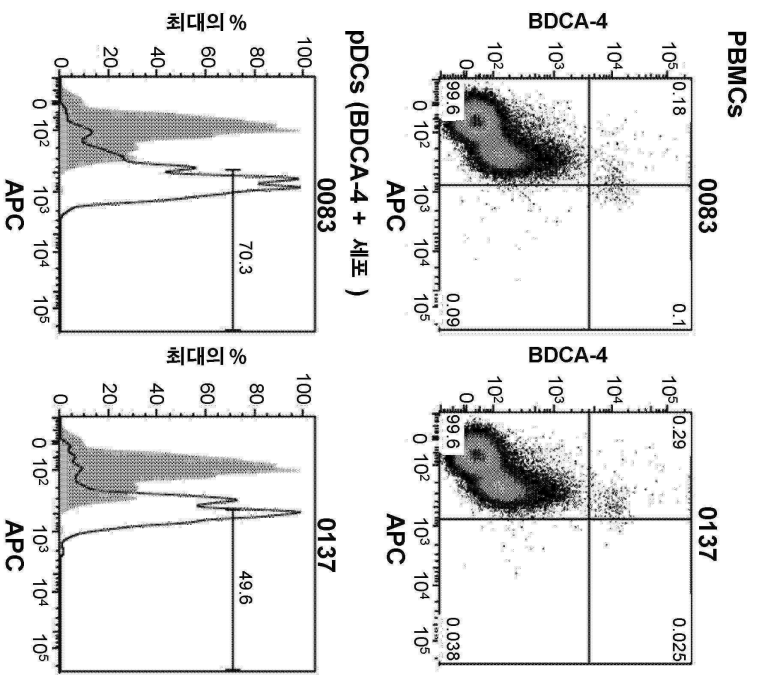
도면5



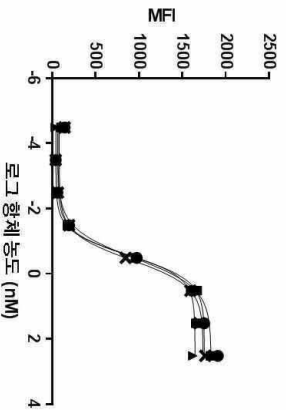
도면6a



도면6b

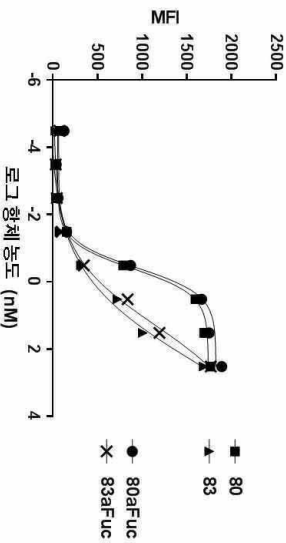


인간 ILT7



형체	EC50 (nM)
0080	0.30
Afuc 0080	0.34
0083	0.25
Afuc 0083	0.38

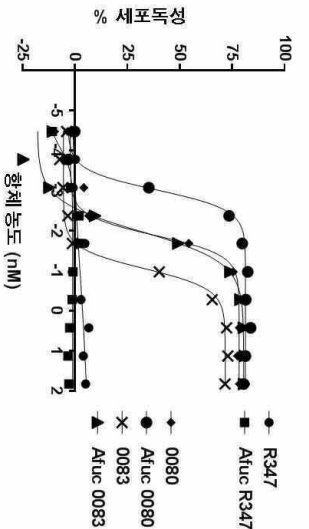
사이노물구스 ILT7



형체	EC50 (nM)
0080	0.41
Afuc 0080	0.40
0083	-
Afuc 0083	-

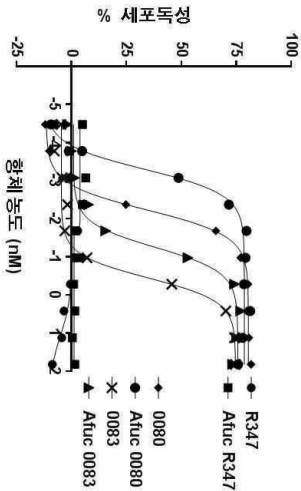
도면7

인간 ILT7



항체	Ec50 (pM)
R347	NA
Afuc R347	NA
0080	13
Afuc 0080	1
0083	89
Afuc 0083	10

사이노물구스 ILT7



항체	Ec50 (pM)
R347	NA
Afuc R347	NA
0080	6.0
Afuc 0080	0.51
0083	360
Afuc 0083	57

중생 시열 정렬

[illegible]

강제시열 정보

```
*
IL770080      SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS
IL770080.1    SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS
IL770080.2    SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS
IL770080.3    SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS
IL770080.4    SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS
IL770080.5    SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS
IL770080.6    SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS
IL770080.7    SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS
IGLV3-21*01   SYLTOPPS-VSVA PGKTAKITCGGDS-----VGSISVHWYQQRPGQAPVMVMFYN-----SDRPS

*
IL770080      GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
IL770080.1    GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
IL770080.2    GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
IL770080.3    GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
IL770080.4    GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
IL770080.5    GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
IL770080.6    GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
IL770080.7    GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
IGLV3-21*01   GIPERFSGSISG--NTATLITSRVEAGDEADYVCQVMDTSSDH-----PEFGGTKLTV---L
```

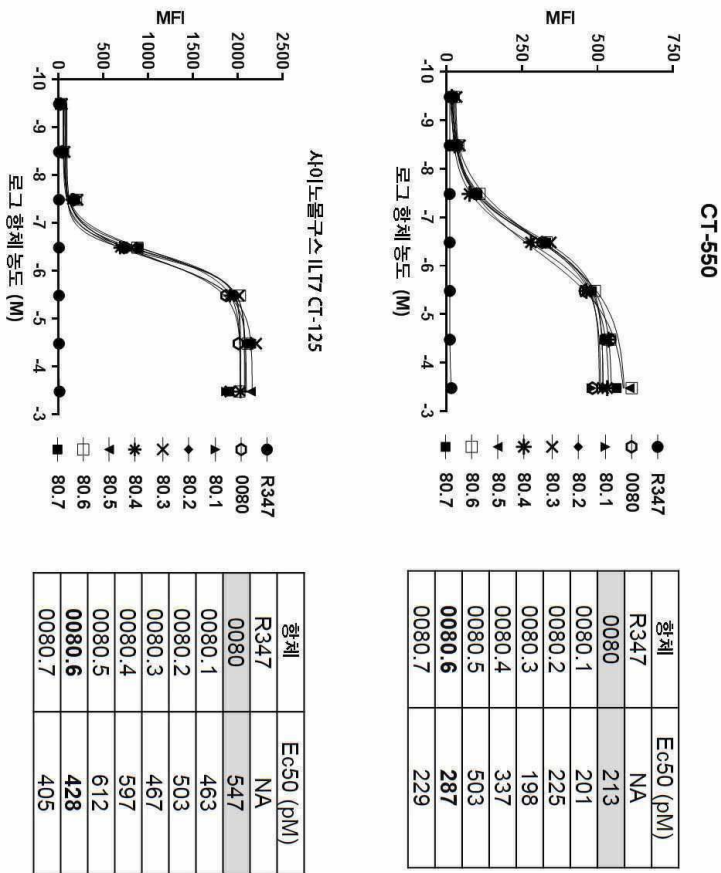
도면10a

중쇄서열 정렬				
	FW 1	CDR 1	FW 2	CDR 2
IL770083.1	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IL770083.2	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IL770083.3	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IL770083.4	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IL770083.5	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IL770083.6	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IL770083.7	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IL770083.8	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IL770083.9	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
IGHV3-23*01	EVQLLESGGGLVQPGGSLIRSCAASGFTFSYAMS---	WYRQAPGKGLEWVSALISG-----	SGGSTYYADSVKG	
*				
IL770083	FW 3	CDR 3	FW 4	
IL770083.1	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IL770083.2	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IL770083.3	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IL770083.4	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IL770083.5	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IL770083.6	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IL770083.7	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IL770083.8	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IL770083.9	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	
IGHV3-23*01	WFTISRDN SKNTLYIQMNSL-RAEDTAVYYCAR	RTYYDSGHSDF-----	DIWGRGTLVTVSS	

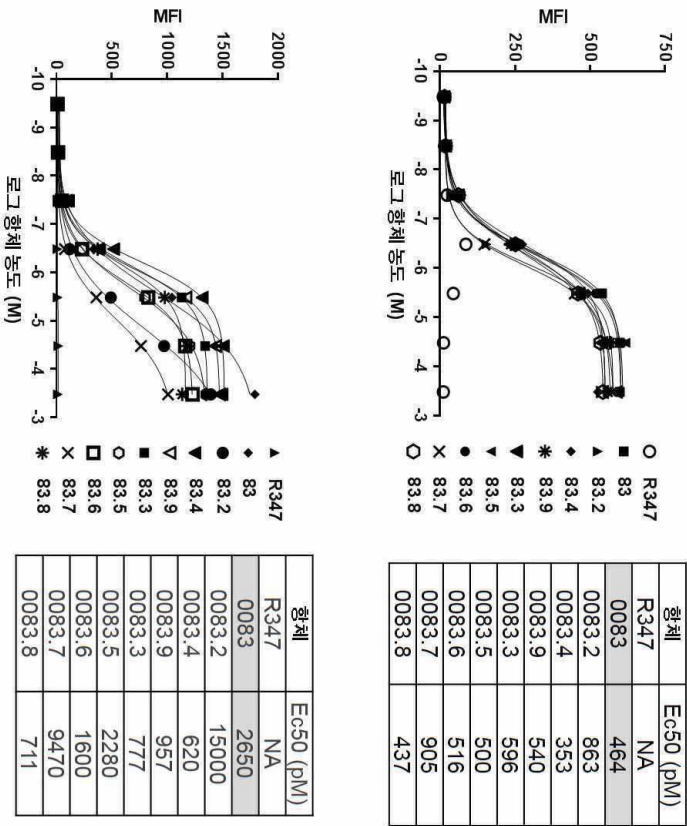
도면10b

전체 시열 정보				
		* FW 1		
		CDR 1	FW 2	CDR 2
LT70083	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.1	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.2	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.3	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.4	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.5	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.6	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.7	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.8	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.9	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
IGLV1-51*01	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
* FW 3				
CDR 3				
LT70083	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.1	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.2	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.3	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.4	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.5	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.6	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.7	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.8	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
LT70083.9	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			
IGLV1-51*01	QSVTQPPS-VSABGQKVTISCSGSASN-----IGSNFVSWYQQLPGAPKLLIYDN-----DKRDL			

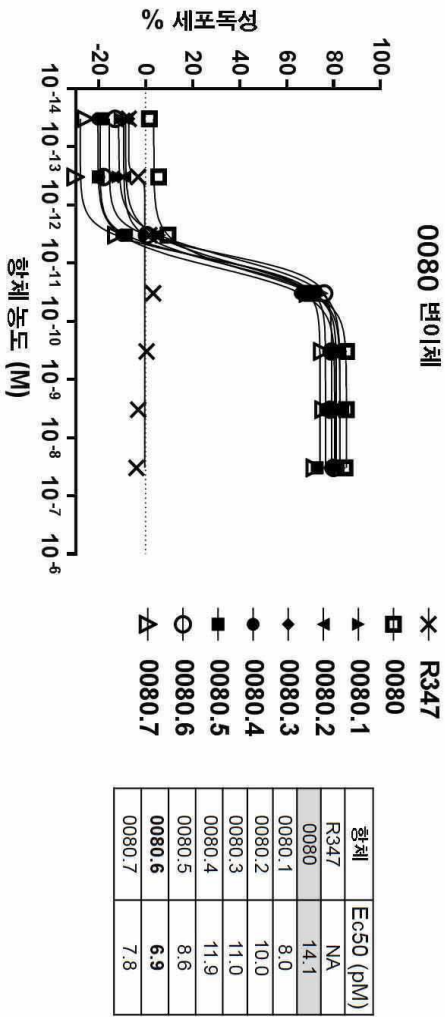
도면11



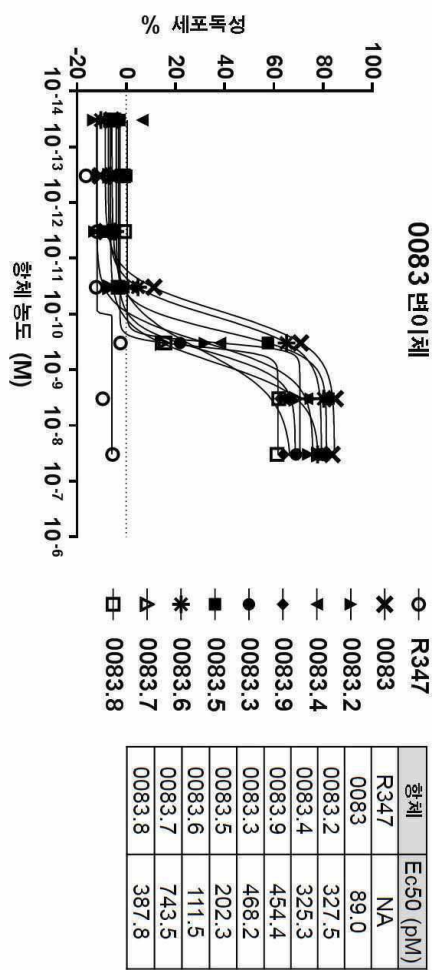
도면12



도면13

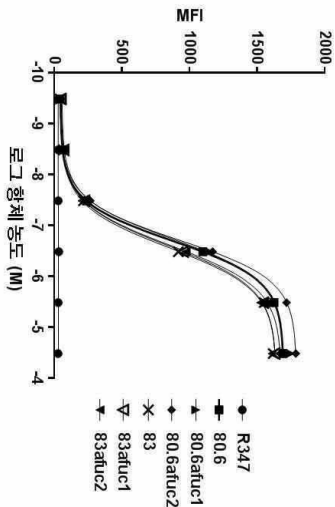


도면14



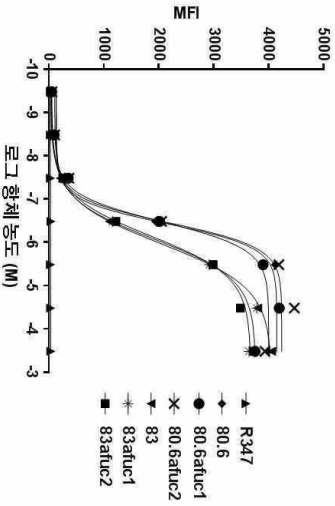
도면15

항체	Ec50 (pM) 평균 ± SD n=3
R347	NA
0080.6	155.4 ± 43
Afuc 0080.6	152.3 ± 34.8
0083	308.3 ± 78.1
Afuc 0083	210.8 ± 37.7



인간 ILT7

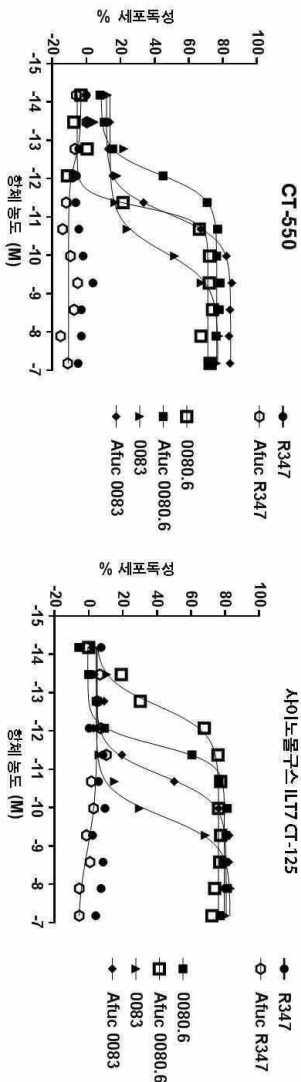
항체	Ec50 (pM) 평균 ± SD n=3
R347	NA
0080.6	369.9 ± 2.7
Afuc 0080.6	366.2 ± 18.6
0083	1277 ± 188
Afuc 0083	863.4 ± 70.1



마우스 ILT7

인간 ILT7

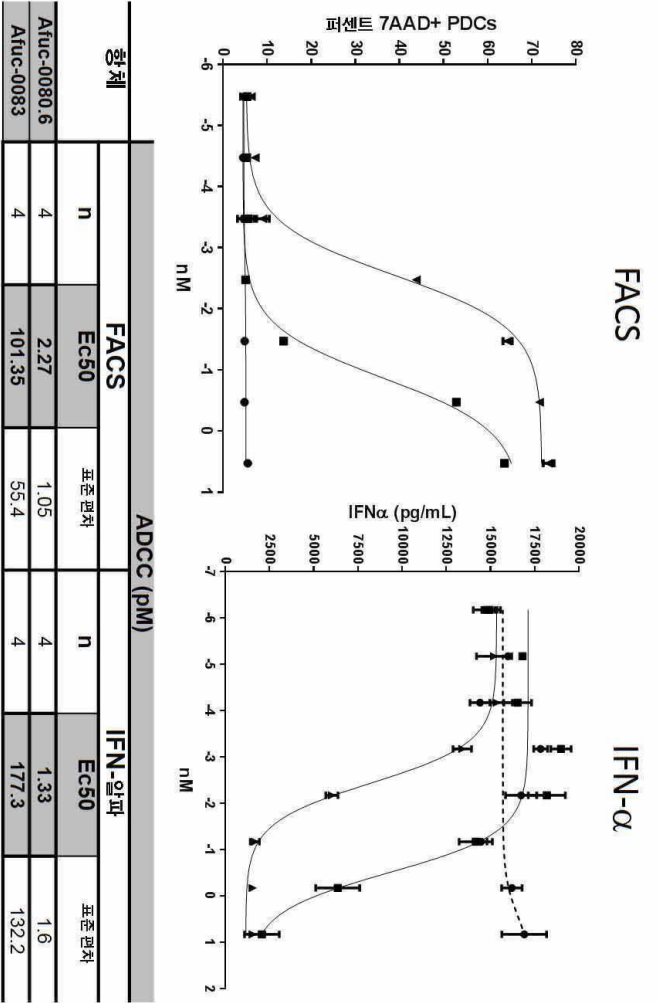
사이토툴구스 ILT7



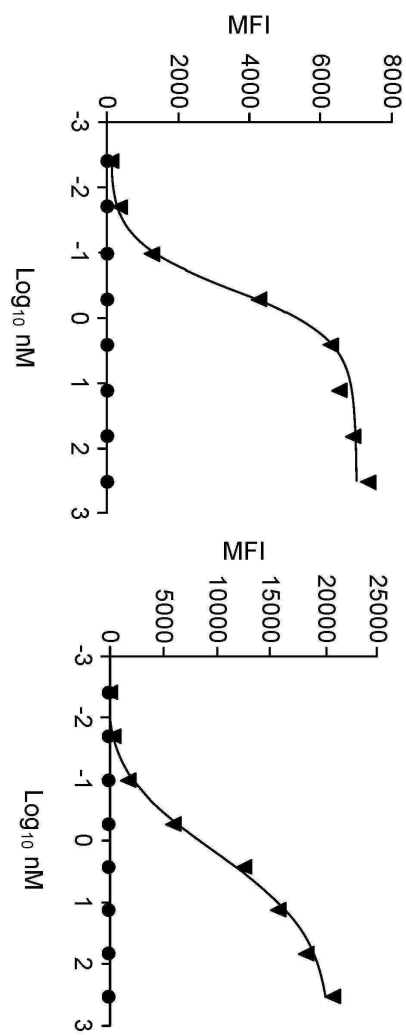
항체	Ec50 (pM) 평균 ± SD n=3
R347	NA
Atfuc R347	NA
0080.6	10.42 ± 7.44
Atfuc 0080.6	1.12 ± 0.32
0083	133.97 ± 67.72
Atfuc 0083	11.92 ± 3.58

항체	Ec50 (pM) 평균 ± SD n=3
R347	NA
Atfuc R347	NA
0080.6	3.69 ± 1.51
Atfuc 0080.6	0.44 ± 0.22
0083	225.17 ± 48.07
Atfuc 0083	24.27 ± 14.73

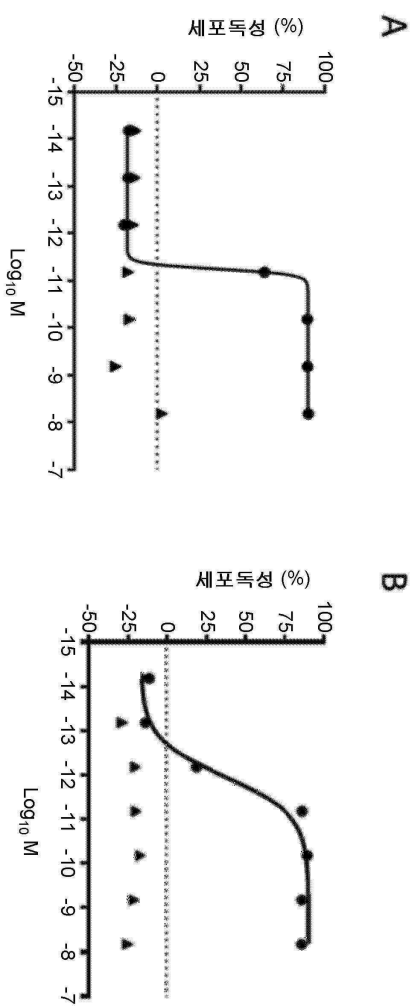
도면17



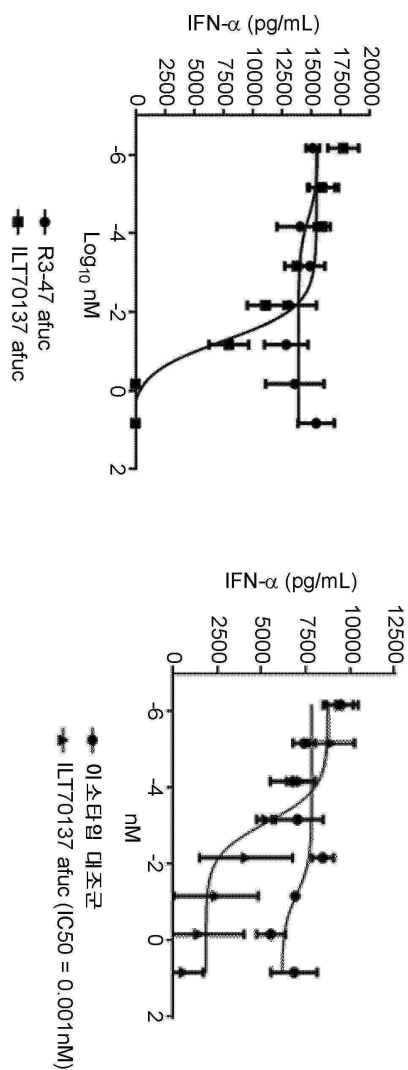
도면18



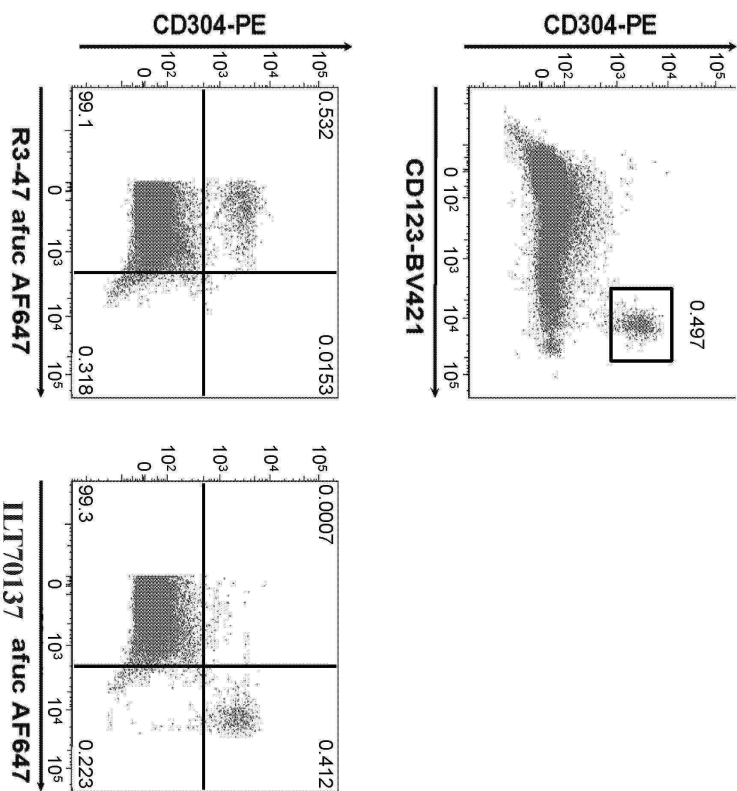
도면19



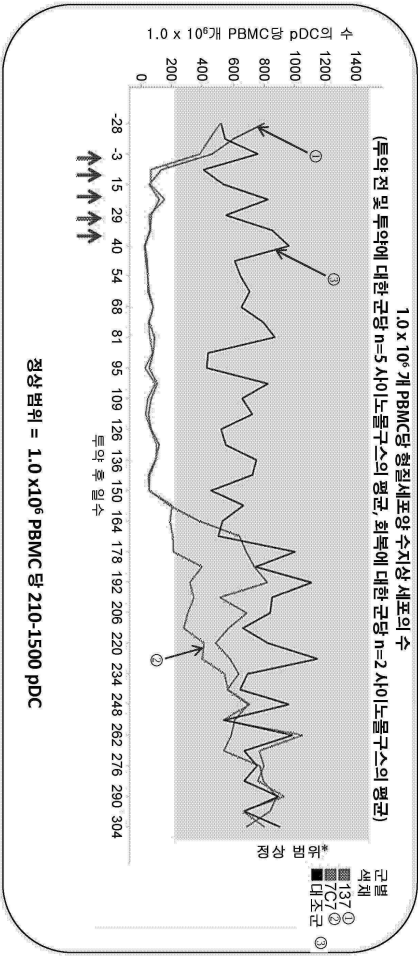
도면20



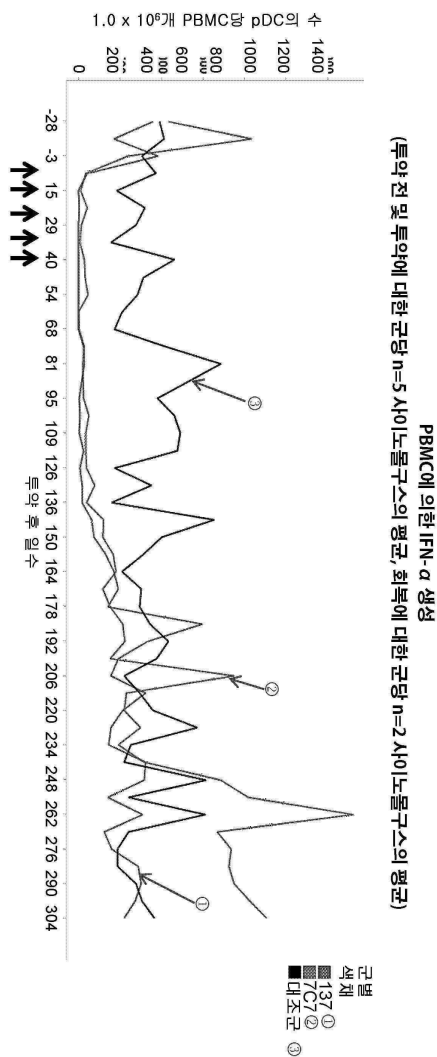
도면21



도면22



도면23



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MedImmune

<120> ILT7 BINDING MOLECULES AND USES THEREOF

<130>

<160> 292

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VH

<400> 1

caggttcagc tgcagcagtc tggggctgag ctggtgaagc ctggggcctc agtgaagatg 60
 tcctgcaagg cttttggcta caccttcact acctatccaa tagagtggat gaagcagaat 120
 catgggaaga gcctagagtg gattggaaat ttctatcctt acaatgatga tactaagtac 180
 aatgaaaaat tcaagggcaa ggccaaattg actgtagaaa aatcctctag cacagcttac 240

ttggagctca gccgattaac atctgatgac tctgctgttt attactgtgc aaggggggat 300
 gattacggga tggactactg gggtaagga acctcagtca ccgtctctc a 351

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VH

<400> 2

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Phe Gly Tyr Thr Phe Thr Thr Tyr

20 25 30

Pro Ile Glu Trp Met Lys Gln Asn His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Arg Leu Thr Ser Asp Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Asp Tyr Gly Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VHCDR1

<400> 3

Thr Tyr Pro Ile Glu

1 5

<210> 4

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VHCDR2

<400> 4

Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VHCDR3

<400> 5

Gly Asp Asp Tyr Gly Met Asp Tyr

1 5

<210> 6

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VL

<400> 6

gacattgtga tgaccagtc tcaaaaattc atgtccacat cagtaggaga cagggtcagc 60

atcacctgca aggcagtc gaattgtcgt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120

gggcagtctc ctaaagcact gatttacttg gcatccaacc ggcacactgg agtcctgat 180

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccattagcaa tgtgcaatct 240

gaagacctgg cagattattt ctgtctgcaa cattggaatt atccattcac gtccgctcg 300

gggacaaagt tggaaataaa a

321

<210> 7

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VL

<400> 7

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Gln Lys Phe Met Ser Thr Ser Val Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VLCDR1

<400> 8

Lys Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VLCDR2

<400> 9

Leu Ala Ser Asn Arg His Thr

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> SBI28 VLCDR3

<400> 10

Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 11

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VH

<400> 11

gaggtgcagc tgggtggagtc tggggggaggc gtagtacagc ctgggagatc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc atctacccca tcgagtgggt gcgacaggct 120

cctggacagg gcctggaatg gatcggcaac ttccaccct acaacgacga caccaagtac 180

aacgagaagt tcaagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagtgtac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtac gagaggcgac 300

gactacggcc tggactattg gggccagggc accctcgtga ccggtgcttc t 351

<210> 12

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VH

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Ile Glu Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Gly Asp Asp Tyr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VHCDR1

<400> 13

Ile Tyr Pro Ile Glu

1 5

<210> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VHCDR2

<400> 14

Asn Phe His Pro Tyr Asn Asp Asp Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VHCDR3

<400> 15

Gly Asp Asp Tyr Gly Leu Asp Tyr

1 5

<210> 16

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VL

<400> 16

aatattcaga tgaccagag ccgagcagc ctgagcgcaa gcgttggtga tcgtgttacc 60

attacctgtg acgccagcca gaatgttcgt accgcagttg catggtatca gcagaaaccg 120

ggtaaagcac cgaacgtct gatttatctg gcaagtaatc gtcataccgg tgttccgagc 180

cgttttagcg gtagcgggtc tggcacccgat ttaccctga ccattagcag cctgcagagc 240

gaagattttg ccacctatta ttgtctgcag cattggaatt atccgtttac ctttggtccg 300

ggtacaaaac tggaaattaa a 321

<210> 17

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VL

<400> 17

Asn 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 Asp Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Phe

 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VLCDR1

<400> 18

Asp Ala Ser Gln Asn Val Arg Thr Ala Val Ala

1 5 10

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VLCDR2

<400> 19

Leu Ala Ser Asn Arg His Thr

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 7C7 VLCDR3

<400> 20

Leu Gln His Trp Asn Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 21

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VH

<400> 21

caggtgcagc tgggtcaatc tggggctgag gtgaaggcgc ctgggacttc ggtgaaagtc 60

tcctgcaagg catctggaga cagcttcagg aactatgctg tcagttgggt ggcacaggcc 120

ccaggacaag gtcttgagtg gatgggagcg atgatgccta gttttggaac aaggggagcac 180

tcacagcagt tcaacggcag agtcaccctt tccgcggacg aatccacgag cacagcctac 240

ttggaactga gcagtctaag atatgacgac acggccgtct attactgtgc gggtagtcgg 300

gactacaatg cttaccattt ttggactggg cccctgact tctggggccg aggaaccctg 360

gtcacgtct cgagt 375

<210> 22

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VH

<400> 22

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ser Phe Arg Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe

50 55 60

Asn Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Glu Leu Ser Ser Leu Arg Tyr Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Gly Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro

100 105 110

Asp Phe Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VHCDR1

<400> 23

Asn Tyr Ala Val Ser

1 5

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VHCDR2

<400> 24

Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe Asn

1 5 10 15

Gly

<210> 25

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VHCDR3

<400> 25

Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro Asp Phe

1 5 10 15

<210> 26

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VL

<400> 26

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaagatt

60

tcctgtgggg gagacagcgt tggcagtaca agtgtccact ggtaccagca gaagccgggc 120
cagggccctg tgatggcat gttttataac agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180
ttctctggct ccatctctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggcgg actattactg tcaggtgtgg gatactagta gtgatcatcc ggagttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 27

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VL

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Met Val Met Phe

35 40 45

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Ile Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His

85 90 95

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

100 105

<210> 28

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VLCDR1

<400> 28

Gly Gly Asp Ser Val Gly Ser Thr Ser Val His

1 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VLCDR2

<400> 29

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 30

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080 VLCDR3

<400> 30

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Pro Glu

1 5 10

<210> 31

<211> 375

<212> DNA

<

213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VH

<400> 31

caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcttc ggtgaaagtc 60

tcctgcaagg catctggaga cagcttcagg aactatgctg tcagttgggt gcgacaggcc 120

ccaggacaag gtcttgagtg gatgggagcg atgatgccta gttttggaac aaggagcac 180

tcacagcagt tcagggcag agtcaccctt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240

atggaactga gcagtctaag atctgaggac acggccgtct attactgtgc gggtagtcgg 300

gactacaatg cttaccatit ttggactggg cccctgact tctggggccg aggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 32

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VH

<400> 32

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ser Phe Arg Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro

100 105 110

Asp Phe Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VHCDR1

<400> 33

Asn Tyr Ala Val Ser

1 5

<210> 34

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VHCDR2

<400> 34

Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 35

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VHCDR3

<400> 35

Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro Asp Phe

1 5 10 15

<210> 36

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VL

<400> 36

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60

acctgtgggg gagacagcgt tggcagtaca agtgtccact ggtaccagca gaagccgggc 120

caggcccctg tgatggtcac gttttataac agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180

ttctctggct ccatctctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240

gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatactagta gtgatcatcc ggagttcggc 300

ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 37

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VL

<400> 37

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

1 5 10 15

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

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His
 85 90 95
 Pro Glu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105

<210> 38

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VLCDR1

<400> 38

Gly Gly Asp Ser Val Gly Ser Thr Ser Val His

1 5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VLCDR2

<400> 39

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.1 VLCDR3

<400> 40

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Pro Glu

1 5 10

<210> 41

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VH

<400> 41

caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcttc ggtgaaagtc 60

tcctgcaagg catctggaga cagcttcagg aactatgctg tcagttgggt gcgacaggcc 120

ccaggacaag gtcttgagtg gatgggagcg atgatgccta gttttggaac aaggagcac 180

tcacagcagt tccagggcag agtcacccctt tccgcggacg aatccacgag cacagcctac 240

atggaactga gcagtctaag atctgaggac acggccgtct attactgtgc gggtagtcgg 300

gactacaatg cttaccatit ttggactggg cccctgact tctggggccg aggaaccctg 360

gtcacctgtc cctca 375

<210> 42

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VH

<400> 42

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ser Phe Arg Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro

100 105 110

Asp Phe Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> ILT70080.2 VHCDR1

<400> 43

Asn Tyr Ala Val Ser

1 5

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VHCDR2

<400> 44

Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 45

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VHCDR3

<400> 45

Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro Asp Phe

1 5 10 15

<210> 46

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VL

<400> 46

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt	60
acctgtgggg gagacagcgt tggcagtaca agtgtccact ggtaccagca gaagccgggc	120
caggccctgt tgatggcat gttttataac agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga	180
ttctctggct ccattctctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg	240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatactagta gtgatcatcc ggagttcggc	300
ggagggacca agctgaccgt ccta	324

<210> 47

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VL

<400> 47

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

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VLCDR1

<400> 48

Gly Gly Asp Ser Val Gly Ser Thr Ser Val His

1 5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VLCDR2

<400> 49

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 50

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.2 VLCDR3

<400> 50

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Pro Glu

1 5 10

<210> 51

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VH

<400> 51

caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaaggcgc ctgggacttc ggtgaaagtc	60
tcctgcaagg catctggaga cagcttcagg aactatgctg tcagttgggt gcgacaggcc	120
ccaggacaag gtcttgagtg gatgggagcg atgatgccta gttttggaac aaggagcac	180
tcacagcagt tccagggcag agtcacccctt tccgcggacg aatccacgag cacagcctac	240
atggaactga gcagtctaag atctgaggac acggccgtct attactgtgc gggtagtcgg	300

gactacaatg cttaccatit ttggactggt cccctgact tctggggccg aggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 52

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VH

<400> 52

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ser Phe Arg Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro

100 105 110

Asp Phe Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 53

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VHCDR1

<400> 53

Asn Tyr Ala Val Ser

1 5

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VHCDR2

<400> 54

Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 55

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VHCDR3

<400> 55

Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro Asp Phe

1 5 10 15

<210> 56

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VL

<400> 56

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtgc tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60

acctgtgggg gagacagcgt tggcagtaca agtgtccact ggtaccagca gaagccgggc 120

caggcccctg tgatgggtcat gttttataac agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180

ttctctggct ccattctctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240

gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatactagta gtgatcatcc ggagttcggc 300

ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 57

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VL

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Met Val Met Phe

35 40 45

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Ile Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His

85 90 95

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

100 105

<210> 58

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VLCDR1

<400> 58

Gly Gly Asp Ser Val Gly Ser Thr Ser Val His

1 5 10

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VLCDR2

<400> 59

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 60

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.3 VLCDR3

<400> 60

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Pro Glu

1 5 10

<210> 61

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VH

<400> 61

caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaaggcgc ctgggacttc ggtgaaagtc 60

tcctgcaagg catctggaga cagcttcagg aactatgctg tcagttgggt gcgacaggcc 120

ccaggacaag gtcttgagtg gatgggagcg atgatgccta gttttggaac aaggagcac 180

tcacagcagt tccagggcag agtcacccctt tccgcggacg aatccacgag cacagcctac 240

atggaactga gcagtctaag atctgaggac acggccgtct attactgtgc gggtagtcgg 300

gactacaatg cttaccatct ttggactggt cccctgact tctggggccg aggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 62

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VH

<400> 62

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ser Phe Arg Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45
Gly Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Leu Ser Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

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

<210> 63

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> ILT70080.4 VHCDR1

<400> 63

Asn Tyr Ala Val Ser

1 5

<210> 64

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VHCDR2

<400> 64

Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 65

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VHCDR3

<400> 65

Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro Asp Phe

1 5 10 15

<210> 66

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VL

<400> 66

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaagatt	60
tcctgtgggg gagacagcgt tggcagtaca agtgtccact ggtaccagca gaagccgggc	120
caggcccctg tgatgggtcat gttttataac agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga	180
ttctctggct ccatctctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg	240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatactagta gtgatcatcc ggagttcggc	300
ggagggacca agctgaccgt ccta	324

<210> 67

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VL

<400> 67

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Met Val Met Phe

35 40 45

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Ile Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His

85

90

95

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

100

105

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VLCDR1

<400> 68

Gly Gly Asp Ser Val Gly Ser Thr Ser Val His

1

5

10

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VLCDR2

<400> 69

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1

5

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.4 VLCDR3

<400> 70

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Pro Glu

1

5

10

<210> 71

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VH

<400> 71

caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcttc ggtgaaagtc 60
 tcctgcaagg catctggaga cagcttcagg aactatgctg tcagttgggt gcgacaggcc 120
 ccaggacaag gtcttgagtg gatgggagcg atgatgccta gttttggaac aaggagcac 180
 tcacagcagt tccagggcag agtcaccctt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240
 atggaactga gcagtctaag atctgaggac acggccgtct attactgtgc gggtagtcgg 300
 gactacaatg ctiaccatit ttggactggg cccctgact tctggggccg aggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 72

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VH

<400> 72

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ser Phe Arg Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro

100 105 110

Asp Phe Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VHCDR1

<400> 73

Asn Tyr Ala Val Ser

1 5

<210> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VHCDR2

<400> 74

Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 75

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VHCDR3

<400> 75

Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro Asp Phe

1 5 10 15

<210> 76

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VL

<400> 76

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtgc tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60

acctgtgggg gagacagcgt tggcagtaca agtgtccact ggtaccagca gaagccgggc 120

caggcccctg tgatggtcat gttttataac agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180

ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatactagta gtgatcatcc ggagttcggc 300
ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 77

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VL

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Met Val Met Phe

35 40 45

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His

85 90 95

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

100 105

<210> 78

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VLCDR1

<400> 78

Gly Gly Asp Ser Val Gly Ser Thr Ser Val His

1 5 10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VLCDR2

<400> 79

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 80

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.5 VLCDR3

<400> 80

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Pro Glu

1 5 10

<210> 81

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VH

<400> 81

caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcttc ggtgaaagtc 60

tcctgcaagg catctggaga cagcttcagg aactatgctg tcagttgggt gcgacaggcc 120

ccaggacaag gtcttgagtg gatgggagcg atgatgccta gttttggaac aaggagcac 180

tcacagcagt tccagggcag agtcaccctt accgcggacg aatccacgag cacagcctac 240

atggaactga gcagtctaag atctgaggac acggccgtct attactgtgc gggtagtcgg 300

gactacaatg cttaccatct ttggactggg cccctgact tctggggccg aggaaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 82

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VH

<400> 82

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Asp Ser Phe Arg Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Gly Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro

100 105 110

Asp Phe Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> ILT70080.6 VHCDR1

<400> 83

Asn Tyr Ala Val Ser

1 5

<210> 84

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VHCDR2

<400> 84

Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 85

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VHCDR3

<400> 85

Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro Asp Phe

1 5 10 15

<210> 86

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VL

<400> 86

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt	60
acctgtgggg gagacagcgt tggcagtaca agtgtccact ggtaccagca gaagccgggc	120
caggcccctg tgctgggtcat ttattataac agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga	180
ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg	240
gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatactagta gtgatcatcc ggagttcggc	300
ggagggacca agctgaccgt ccta	324

<210> 87

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VL

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

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

100 105

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VLCDR1

<400> 88

Gly Gly Asp Ser Val Gly Ser Thr Ser Val His

1 5 10

<210> 89

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VLCDR2

<400> 89

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 90

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.6 VLCDR3

<400> 90

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Pro Glu

1 5 10

<210> 91

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VH

<400> 91

caggtgcagc tgggtgcaatc tggggctgag gtgaagaagc ctgggtcttc ggtgaaagtc	60
tcctgcaagg catctggaga cagcttcagg aactatgctg tcagttgggt gcgacaggcc	120
ccaggacaag gtcttgagtg gatgggagcg atgatgccta gttttggaac aaggagcac	180
tcacagcagt tccagggcag agtcacccct accgcggacg aatccacgag cacagcctac	240
atggaactga gcagtctaag atctgaggac acggccgtct attactgtgc gggtagtcgg	300
gactacaatg cttaccatit ttggactggt cccctgact tctggggccg aggaaccctg	360

gtcacctgt cctca	375
-----------------	-----

<210> 92

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VH

<400> 92

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

Ala Gly Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro

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

115 120 125

<210> 93

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VHCDR1

<400> 93

Asn Tyr Ala Val Ser

1 5

<210> 94

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VHCDR2

<400> 94

Ala Met Met Pro Ser Phe Gly Thr Arg Glu His Ser Gln Gln Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 95

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VHCDR3

<400> 95

Ser Arg Asp Tyr Asn Ala Tyr His Phe Trp Thr Gly Pro Pro Asp Phe

1 5 10 15

<210> 96

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VL

<400> 96

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc caggaaagac ggccaggatt 60

acctgtgggg gagacagcgt tggcagtaca agtgtccact ggtaccagca gaagccgggc 120

caggcccttg tgetggcat gttttataac agtgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180

ttctctggct ccaactctgg gaacacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240

gatgaggccg actattactg tcaggtgtgg gatactagta gtgatcatcc ggagttcggc 300

ggagggacca agctgaccgt ccta 324

<210> 97

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VL

<400> 97

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Met Phe

35 40 45

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His

85 90 95

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

100 105

<210> 98

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VLCDR1

<400> 98

Gly Gly Asp Ser Val Gly Ser Thr Ser Val His

1 5 10

<210> 99

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VLCDR2

<400> 99

Tyr Asn Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 100

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70080.7 VLCDR3

<400> 100

Gln Val Trp Asp Thr Ser Ser Asp His Pro Glu

1 5 10

<210> 101

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VH

<400> 101

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag ccctcggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggtcg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca 300

tattactatg atagtgatgg tcaactggat gtttttgata tttggggccg gggcacccctg 360

gtcacggtct cgagt

375

<210> 102

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VH

<400> 102

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

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

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

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> ILT70083 VHCDR1

<400> 103

Ser Tyr Ala Met Ser

1	5
---	---

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VHCDR2

<400> 104

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

1 5 10 15

Gly

<210> 105

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VHCDR3

<400> 105

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 106

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VL

<400> 106

cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgttctg gaagcgcctc caatatggg agtaattttg tgtcctggta ccaacaactc 120

cccgggagag ccccaaaact cctcatatat gacaatgata aacgagactt agggattcct 180

gaccgcttct ctgcctccat ctcttcacg tcagccgccc tggccatcac cggactccag 240

actgaggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtctgac tgttgggggtt 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 107

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VL

<400> 107

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Arg Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Ala Ser Ile Ser Ser Thr Ser Ala Ala Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 108

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VLCDR1

<400> 108

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser

1 5 10

<210> 109

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VLCDR2

<400> 109

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1 5

<210> 110

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083 VLCDR3

<400> 110

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1 5 10

<210> 111

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VH

<400> 111

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag ccctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt cgcgcaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggtg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca 300

tattactatg atagtgatgg tcaactcgat gtttttgata tttggggccg gggcacctg 360

gtcacctgtc cgagt 375

<210> 112

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VH

<400> 112

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

85 90 95
Ala Arg Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe
100 105 110

Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 113

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VHCDR1

<400> 113

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 114

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VHCDR2

<400> 114

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

1 5 10 15

Gly

<210> 115

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VHCDR3

<400> 115

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 116

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> ILT70083.1 VL

<400> 116

cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgttctg gaagcgcctc caatatggg agtaatttg tgtcctggta ccaacaactc	120
cccgggacag ccccaaaact cctcatttat gacaatgata aacgagactt agggattcct	180
gaccgcttct ctgcctccat ctcttcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagctcgac tgttgggggtt	300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta	330

<210> 117

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VL

<400> 117

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Ala Ser Ile Ser Ser Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

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

	85	90	95
Thr Val Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu			
	100	105	110

<210> 118

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VLCDR1

<400> 118

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser

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

<210> 119

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VLCDR2

<400> 119

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1	5
---	---

<210> 120

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.1 VLCDR3

<400> 120

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

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

<210> 121

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.2 VH

<400> 121

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120
 ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac 180
 gcagactccg tgaagggctg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca 300
 tattactatg atagtgatgg tcaactggat gtttttgata tttggggcgg gggcacccctg 360

gtcacctctc cgagt 375

<210> 122

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.2 VH

<400> 122

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 123

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.2 VHCDR1

<400> 123

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 124

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.2 VHCDR2

<400> 124

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

1 5 10 15

Gly

<210> 125

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.2 VHCDR3

<400> 125

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 126

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.2 VL

<400> 126

cagtctgtcc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgttctg gaagcgcctc caatatggg agtaattttg tgccttggt ccaacaactc 120

cccgaggacag ccccaaaact cctcatttat gacaatgata aacgagactt agggattcct 180

gaccgttct ctgcctccat ctcttcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtctgac tgttggggtt 300
 ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 127
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ILT70083.2 VL
 <400> 127

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

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

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

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

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

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu
 85 90 95

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

<210> 128
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ILT70083.2 VLCDR1
 <400> 128

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser
 1 5 10

<210> 129
 <211> 7
 <212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.2 VLCDR2

<400> 129

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1 5

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.2 VLCDR3

<400> 130

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1 5 10

<210> 131

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VH

<400> 131

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt cgcgcaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggtcg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca 300

tattactatg atagtgatgg tcaactggat gtttttgata tttggggccg gggcacccctg 360

gtcacctgtc cgagt 375

<210> 132

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VH

<400> 132

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

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

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

<210> 133

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> ILT70083.3 VHCDR1

<400> 133

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VHCDR2

<400> 134

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

1 5 10 15

Gly

<210> 135

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VHCDR3

<400> 135

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 136

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VL

<400> 136

cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60
tcctgttctg gaagcgctc caatatggg agtaatttg tgtcctggta ccaacaactc 120
cccgggacag ccccaaaact cctcatttat gacaatgata aacgagactt agggattcct 180
gaccgttct ctggctcaa atctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtcgtac tgttgggggtt 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 137

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VL

<400> 137

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

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

100 105 110

<210> 138

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VLCDR1

<400> 138

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser

1 5 10

<210> 139

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VLCDR2

<400> 139

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1 5

<210> 140

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.3 VLCDR3

<400> 140

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1 5 10

<210> 141

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VH

<400> 141

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggtcg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaata acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca 300

tattactatg atagtatgg tcaactggat gtttttgata tttggggccg gggcaccctg 360

gtcacctgtc cgagt 375

<210> 142

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VH

<400> 142

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
Ala Arg Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe
100 105 110

Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 143

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VHCDR1

<400> 143

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 144

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VHCDR2

<400> 144

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

1 5 10 15

Gly

<210> 145

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VHCDR3

<400> 145

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 146

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> ILT70083.4 VL

<400> 146

```
cagtctgtcc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc      60
tcctgttctg gaagcgcctc caatattggg agtaattttg tgtcctgta ccaacaactc      120
cccgggacag ccccaaaact cctcatTTat gacaatgata aacgagactt agggattcct      180
gaccgcttct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag      240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtctgac tgttgggggtt      300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta      330
```

<210> 147

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VL

<400> 147

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

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

<210> 148

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VLCDR1

<400> 148

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser

1 5 10

<210> 149

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VLCDR2

<400> 149

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1 5

<210> 150

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.4 VLCDR3

<400> 150

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1 5 10

<210> 151

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VH

<400> 151

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt cgcagggt	120
ccagggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac	180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca	300

tattactatg atagtgatgg tcactcggat gtttttgata tttggggccg gggcacccctg 360

gtcacctct cctca 375

<210> 152

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VH

<400> 152

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 153

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VHCDR1

<400> 153

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 154

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VHCDR2

<400> 154

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

1 5 10 15

Gly

<210> 155

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VHCDR3

<400> 155

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 156

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VL

<400> 156

cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgttctg gaagcgctc caatatggg agtaattttg tgtcctggta ccaacaactc 120

cccgggagag ccccaaaact cctcatatat gacaatgata aacgagactt agggattcct 180

gaccgtttct ctgcctccat ctcttcacg tcagccgccc tggccatcac cggactccag 240

actgaggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtcgtac tgttgggggtt 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 157

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VL

<400> 157

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

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

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

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

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

Thr Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu
85 90 95

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

<210> 158

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VLCDR1

<400> 158

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser
1 5 10

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VLCDR2

<400> 159

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1 5

<210> 160

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.5 VLCDR3

<400> 160

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1 5 10

<210> 161

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.6 VH

<400> 161

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca 300

tattactatg atagtgatgg tcactcggat gtttttgata tttggggccg gggcaccctg 360

gtcaccgtct cctca 375

<210> 162

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.6 VH

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

<210> 163
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><
 223> ILT70083.6 VHCDR1

<400> 163
 Ser Tyr Ala Met Ser

1 5
 <210> 164
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ILT70083.6 VHCDR2

<400> 164
 Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly

<210> 165
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.6 VHCDR3

<400> 165

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 166

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.6 VL

<400> 166

cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgttctg gaagcgctc caatatggg agtaatttg tgcctggta ccaacaactc 120

cccgggacag ccccaaaact ctcatttat gacaatgata aacgagactt agggattcct 180

gaccgttct ctgcctcat ctctccacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtctgac tgttggggtt 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 167

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.6 VL

<400> 167

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Ala Ser Ile Ser Ser Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

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

85

90

95

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

100

105

110

<210> 168

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.6 VLCDR1

<400> 168

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser

1

5

10

<210> 169

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.6 VLCDR2

<400> 169

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1

5

<210> 170

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.6 VLCDR3

<400> 170

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1

5

10

<210> 171

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VH

<400> 171

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctgggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct	120
ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac	180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca	300
tattactatg atagtgatgg tcactcggat gtttttgata tttggggccg gggcacctg	360
gtcaccgtct cctca	375

<210> 172

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VH

<400> 172

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

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

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115	120	125
-----	-----	-----

<210> 173

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VHCDR1

<400> 173

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 174

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VHCDR2

<400> 174

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

1 5 10 15

Gly

<210> 175

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VHCDR3

<400> 175

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 176

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> ILT70083.7 VL

<400> 176

cagtctgtcc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgttctg gaagcgccctc caatatggg agtaattttg tgtcctggta ccaacaactc 120

cccgggacag cccccaact cctcatttat gacaatgata aacgagactt agggattcct 180

gaccgcttct ctgcctccat ctcttccacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtctgac tgttgggggtt 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 177

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VL

<400> 177

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

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

50 55 60

Ala Ser Ile Ser Ser Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 178

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VLCDR1

<400> 178

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser

1 5 10

<210> 179

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VLCDR2

<400> 179

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1 5

<210> 180

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.7 VLCDR3

<400> 180

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1 5 10

<210> 181

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VH

<400> 181

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca 300

tattactatg atagtgatgg tcactcggat gtttttgata tttggggccg gggcaccctg 360

gtcacctgtc cctca 375

<210> 182

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VH

<400> 182

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 183

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VHCDR1

<400> 183

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 184

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VHCDR2

<400> 184

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

1 5 10 15

Gly

<210> 185

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VHCDR3

<400> 185

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 186

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VL

<400> 186

cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgttctg gaagcgcctc caatatggg agtaattttg tgtcctgta ccaacaactc 120

cccgggacag cccccaact cctcatttat gacaatgata aacgagactt agggattcct 180

gaccgttct ctggctcaa atctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtctgac tgttgggggtt 300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 187

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VL

<400> 187

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

1 5 10 15

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

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

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

<210> 188

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VLCDR1

<400> 188

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser

1 5 10

<210> 189

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VLCDR2

<400> 189

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1 5

<210> 190

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.8 VLCDR3

<400> 190

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1 5 10

<210> 191

<211> 375

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VH

<400> 191

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtggttag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcggaca 300

tattactatg atagtatgg tcaactggat gtttttgata tttggggccg gggcaccctg 360

gtcacctct cctca 375

<210> 192

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VH

<400> 192

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95
Ala Arg Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe
100 105 110

Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 193

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

223> ILT70083.9 VHCDR1

<400> 193

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 194

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VHCDR2

<400> 194

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

1 5 10 15

Gly

<210> 195

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VHCDR3

<400> 195

Arg Thr Tyr Tyr Tyr Asp Ser Asp Gly His Ser Asp Val Phe Asp Ile

1 5 10 15

<210> 196

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VL

<400> 196

```
cagtctgtcc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc      60
tcctgttctg gaagcgctc caatatggg agtaatttg tgcctggta ccaacaactc      120
cccgggacag cccccaact cctcattat gacaatgata aacgagactt agggattcct      180
gaccgttct ctggctcaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag      240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggaca ccagtctgac tgttggggtt      300

ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta      330
```

<210> 197

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VL

<400> 197

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

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

```
100          105          110
```

<210> 198

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VLCDR1

<400> 198

Ser Gly Ser Ala Ser Asn Ile Gly Ser Asn Phe Val Ser

1 5 10

<210> 199

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VLCDR2

<400> 199

Asp Asn Asp Lys Arg Asp Leu

1 5

<210> 200

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70083.9 VLCDR3

<400> 200

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu Thr Val Gly Val

1 5 10

<210> 201

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70137 VH

<400> 201

caggtagcgc tgcagcagtc aggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagctgggt ggcacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180

gcacagaagc tccagggcag agtcacatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240

atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaaatggc 300

ctctgggggt gggactctga tgcttttgat atctggggcc gaggaaccct ggtcaccgtc 360
tcctca 366

<210> 202
<211> 122
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ILT70137 VH
<400> 202

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

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

85 90 95
Ala Arg Asn Gly Leu Trp Gly Trp Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp
100 105 110
Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 203
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> ILT70137 VHCDR1
<400> 203

Ser Tyr Gly Ile Ser
1 5
<210> 204

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223

> ILT70137 VHCDR2

<400> 204

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

1 5 10 15

Gly

<210> 205

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70137 VHCDR3

<400> 205

Asn Gly Leu Trp Gly Trp Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 206

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70137 VL

<400> 206

cagtctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagcag tgacgttggt ggttataact atgtctcctg gtaccaacag 120

caccagcgca aagcccccaa actcatgatt tatgatgtca gtaatcggcc ctcaggggtt 180

tctaatecgt tctctggctc caagtctggc aacacggcct ccctgacat ctcctgggctc 240

caggctgagg acgaggetga ttattactgc agctcatata caagcagcag cactgttgta 300

ttcggcggag ggaccaaggt caccgtccta 330

<210> 207

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70137 VL

<400> 207

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

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

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

<210> 208

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70137 VLCDR1

<400> 208

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser

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

<210> 209

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70137 VLCDR2

<400> 209

Asp Val Ser Asn Arg Pro Ser

1	5
---	---

<210> 210

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70137 VLCDR3

<400> 210

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Val Val

1 5 10

<210> 211

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VH

<400> 211

gaggtgcagc tggtaggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgaag cctccggatt caccttcaact gactactaca tgaactggat ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg gatttcatac attagtcctg ggggtactac cgtatactac 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctcattatat 240

ctccaaatga acagcctgag agtcgaggac acggccgtct attactgtgc gagagacatt 300

agtggttatg gcgactgggt cgacccttgg ggcaaggcca ccttgggtcac cgtctcgagt 360

<210> 212

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VH

<400> 212

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

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

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

85 90 95
Ala Arg Asp Ile Ser Gly Tyr Gly Asp Trp Phe Asp Pro Trp Gly Lys

100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 213

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VHCDR1

<400> 213

Asp Tyr Tyr Met Asn

1 5

<210> 214

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VHCDR2

<400> 214

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

1 5 10 15

Gly

<210> 215

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VHCDR3

<400> 215

Asp Ile Ser Gly Tyr Gly Asp Trp Phe Asp Pro

1 5 10

<210> 216

<211> 330

<212>

DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VL

<400> 216

cagtctgtcg tgacgcagcc gccctcagcg tctgggaccc ccgggcagag ggtcaccatc 60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga agtaataccg taaactggta ccagctgctc 120
ccagctacgg cccccagaat cctcatctat aataataatc agcggccgctc aggggtccca 180
gaccgattcg ctggctccaa gtctggcacc tcagcctccc tggccatcag tgggctccag 240
tctgaggatg aggctgatta ttactgtgga gcatgggatg acagcctgaa tagtccggtg 300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 217

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VL

<400> 217

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

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn

20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Leu Leu Pro Ala Thr Ala Pro Arg Ile Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95

Asn Ser Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 218

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VLCDR1

<400> 218

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Thr Val Asn
 1 5 10

<210> 219

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VLCDR2

<400> 219

Asn Asn Asn Gln Arg Pro Ser
 1 5

<210> 220

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70052 VLCDR3

<400> 220

Gly Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Ser Pro Val
 1 5 10

<210> 221

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VH

<400> 221

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag ccctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt cgcgcaggct 120
ccaggaagg ggctggagt ggtctcagct attagtggta gtggtgtag cacatactac 180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaggcataagg 300
ggccggtggc taccgtactt cgatctctgg ggccagggga caatggtcac cgtctcgagt 360

<210> 222

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VH

<400> 222

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Arg Gly Arg Trp Leu Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 223

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VHCDR1

<400> 223

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 224

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VHCDR2

<400> 224

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

1 5 10 15

Gly

<210> 225

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VHCDR3

<400> 225

His Arg Gly Arg Trp Leu Pro Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 226

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VH

<400> 226

gacatccagt tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga gagagtcacc 60

atcacttgcc aggcgagtc ggacattcgc agctatttaa attggtatca gcaaaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgat gtatccaatt tggaaccgg ggtcccatca 180

cggttcagtg gaagtggatc tgggacagag tatactttca gcatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacatatta ttgtcaacag tatgataaag ccccgcttac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 227

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VL

<400> 227

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Val Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Lys Ala Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 228

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VLCDR1

<400> 228

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Arg Ser Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 229

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VLCDR2

<400> 229

Asp Val Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 230

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70100 VLCDR3

<400> 230

Gln Gln Tyr Asp Lys Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 231

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VH

<400> 231

caggtccagc tggtagctgc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggctc 60

tcctgcaagg ctcttggtta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtta cacaactat 180

gcacagaagc tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaaatggc 300

ctctgggggt gggactctga tgcttttgat atctgggggc aaggaccac ggtcacctgc 360

tcgagt 366

<210> 232

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VH

<400> 232

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asn Gly Leu Trp Gly Trp Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 233

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VHCDR1

<400> 233

Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

<210> 234

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VHCDR2

<400> 234

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

1 5 10 15

Gly

<210> 235

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VHCDR3

<400> 235

Asn Gly Leu Trp Gly Trp Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 236

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VL

<400> 236

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattatg tatcctggta ccagcagctc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgctggcgtc 300

ttcggaaactg ggaccagct caccgtttta 330

<210> 237

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VL

<400> 237

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

1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

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

<210> 238

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VLCDR1

<400> 238

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 239

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VLCDR2

<400> 239

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 240

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70142 VLCDR3

<400> 240

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Gly Val

1 5 10

<210> 241

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VH

<400> 241

caggtccagc tggtagctc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg cttctgggta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180

gcacagaagc tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240

atggagctga gcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaaatggc 300

ctctgggggt gggactctga tgcttttgat atctgggggc aaggaccac ggtcacgctc 360

tcgagt 366

<210> 242

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VH

<400> 242

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asn Gly Leu Trp Gly Trp Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 243

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VHCDR1

<400> 243

Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

<210> 244

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VHCDR2

<400> 244

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

1 5 10 15

Gly

<210> 245

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VHCDR3

<400> 245

Asn Gly Leu Trp Gly Trp Asp Ser Asp Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 246

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VL

<400> 246

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc

60

tcctgctctg gaagcagctc caacattggg aataattatg taccctggta ccagcagctc 120
ccaggaacag cccccaact cctcatttat gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata gcagcctgag tgctggcgtc 300
ttcggaactg ggacccagct caccgtttta 330

<210> 247

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VL

<400> 247

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

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

<210> 248

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VLCDR1

<400> 248

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 249

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VLCDR2

<400> 249

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

1 5

<210> 250

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70144 VLCDR3

<400> 250

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu Ser Ala Gly Val

1 5 10

<210> 251

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VH

<400> 251

caggtccagc tgggtgcagtc tgggggaggc ctggtcaagc ctgggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt agctatagca tgaactgggt ccgccaggct	120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcatcc attagtagta gtagttacat atactacgca	180
gactcagtga agggccgatt caccatctcc cgagacaacg ccaagaactc actgtatctg	240
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agaggcacca	300
aatgggtctaa ttgactaccg gggccggggg acaatggtca ccgtctcttc a	351

<210> 252

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VH

<400> 252

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Glu Ala Pro Asn Gly Leu Ile Asp Tyr Arg Gly Arg Gly Thr Met

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210

> 253

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VHCDR1

<400> 253

Ser Tyr Ser Met Asn

1 5

<210> 254

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VHCDR2

<400> 254

Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly

1 5 10 15

<210> 255

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VHCDR3

<400> 255

Glu Ala Pro Asn Gly Leu Ile Asp Tyr

1 5

<210> 256

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VL

<400> 256

gacatcgtga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggccagtc gggatattagt agctgggttg cctggtatca gcagaaacca 120

gggagagccc ctaaggtctt gatctataag gcatctactt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgtaggac gttcgcccaa 300

gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 257

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VL

<400> 257

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr 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 Trp

20 25 30

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

35 40 45
 Tyr Lys Ala Ser Thr Leu 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 Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 258

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VLCDR1

<400> 258

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 259

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VLCDR2

<400> 259

Lys Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 260

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70019 VLCDR3

<400> 260

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Trp Thr

1 5

<210> 261

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VH

<400> 261

```
cagctgcagc tgcaggagtc gggcgcaaga atgttgaagc cttcggagac cctgtccctc      60
acgtgcgacg tccagaatgg gtccttcagt actcactact ggacttggat ccgccagccc      120
ccagggaagg ggctggagtg gattggagac atcaatcaaa ggggaagtac caaccacaat      180
ccgtccctca ggagtcgact caccatatca gtagaccgtt ccaagaatca gttctcagtg      240
aggttgactt ctgtgaccgc cgcggacacg gctgtctatt actgtgcgag attgaacgac      300
```

```
gatgatgctt ttgatatctg gggccggggg acaatggtca ccgtctcgag t      351
```

<210> 262

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VH

<400> 262

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Asp Val Gln Asn Gly Ser Phe Ser Thr His

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asp Ile Asn Gln Arg Gly Ser Thr Asn His Asn Pro Ser Leu Arg

50 55 60

Ser Arg Leu Thr Ile Ser Val Asp Pro Ser Lys Asn Gln Phe Ser Val

65 70 75 80

Arg Leu Thr Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Leu Asn Asp Asp Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Arg Gly Thr Met

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 263

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VHCDR1

<400> 263

Thr His Tyr Trp Thr

1 5

<210> 264

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VHCDR2

<400> 264

Asp Ile Asn Gln Arg Gly Ser Thr Asn His Asn Pro Ser Leu Arg Ser

1 5 10 15

<210

> 265

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VHCDR3

<400> 265

Leu Asn Asp Asp Asp Ala Phe Asp Ile

1 5

<210> 266

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VL

<400> 266

cagtctgtgc tgacgcagcc gccctcagcg tctgggaccc ccgggcaggg ggtcaccatc 60

tctgtgtctg gaagcagctc caacatcggg agtcatactg taaattggta ccaacatctc 120

gcaggaacgg cccccaaact cctcatctat agtaataatc agcgccctc aggggtccct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctgectcc tcagcctccc tggccatcag tgggtccag 240

tctgaggatg aggctgatta ttactgtgca gcctgggatg ccggtgtcga tggttatgtc 300

ttcgggaaccg ggaccaaggt caccgtccta 330

<210> 267

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VL

<400> 267

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

1 5 10 15

Gly Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Lys Ser Ala Ser Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Ala Gly Val

85 90 95

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

100 105 110

<210> 268

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VLCDR1

<400> 268

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser His Thr Val Asn

1 5 10

<210> 269

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VLCDR2

<400> 269

Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 270

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70028 VLCDR3

<400> 270

Ala Ala Trp Asp Ala Gly Val Asp Gly Tyr Val

1 5 10

<210> 271

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VH

<400> 271

gaggtgcagc tggtaggagtc cggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg ctcttggtta cacctttacc agctacggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagcgctt acaatggtaa cacaaactat 180

gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240

atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaggtccg 300

gggtggctgg gctttgacta ctggggccgg ggcaccctgg tcaccgtctc gagt 354

<210> 272

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VH

<400> 272

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 273

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VHCDR1

<400> 273

Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

<210> 274

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VHCDR2

<400> 274

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

1 5 10 15

Gly

<210> 275

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VHCDR3

<400> 275

Gly Pro Gly Trp Leu Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 276

<211> 330

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VL

<400> 276

cagctctgccc tgactcagcc tgcctccgtg tctgggtctc ctggacagtc gatcaccatc 60

tcttgcaactg gaaccagcag tgacgttggg ggttataact atgtctcttg gtaccaacaa 120

gaccaggca aggcccccaa actcatgatt tataatgtca gtaatcgcc ctcaggggtt 180

tctaactgct tctctggctc caagtctggc aatacggcct cctgacat ctcctggctc 240

caggctgagg acgaggctga ttattactgc agttcatata caagcagcag cacttatgtc 300

ttcggaactg ggaccaagct gaccgtccta 330

<210> 277

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VL

<400> 277

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Met Ile Tyr Asn Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

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

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

Ser Thr Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 278

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VHCDR1

<400> 278

Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Gly Tyr Asn Tyr Val Ser
1 5 10

<210> 279

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VHCDR2

<400> 279

Asn Val Ser Asn Arg Pro Ser
1 5

<210> 280

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70076 VHCDR3

<400> 280

Ser Ser Tyr Thr Ser Ser Ser Thr Tyr Val

1 5 10

<210> 281

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VH

<400> 281

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgcca tgagctgggt cgcaggct 120

ccaggaagg ggtcggagtg ggtctcagct attagtggta gtggtgtag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gctcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtgt attactgtgc gaaagattta 300

ggatatactt tagatacaag tgacttctgg ggccggggca ccctggtcac cgtctcgagt 360

<210> 282

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VH

<400> 282

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 283

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VHCDR1

<400> 283

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 284

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VHCDR2

<400> 284

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

1 5 10 15

Gly

<210> 285

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VHCDR3

<400> 285

Asp Leu Gly Tyr Thr Leu Asp Thr Ser Asp Phe

1 5 10

<210> 286

<211> 330

<212>

DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VL

<400> 286

tcctatgtgc tgactcagcc accctcagcg tctgggtccc ccgggcaggg ggtcaccatc	60
tcttgttctg gaagcagctc caacatcgga actaatactg taaactggta cctgcacgtt	120
ccaggaacgg cccccaaact cctcacttat actaataatc agcgccctc aggggtccaa	180
gatcgattct ctggctccaa gtctgacacg tcagcctccc tggccatcag tgggtccag	240
gctgaggatg agggtgatta ttactgtgcg acatgggatg acagcctgaa tggcttagcg	300
ttcggcggag ggaccaagct gaccgtccta	330

<210> 287

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VL

<400> 287

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln	
1 5 10 15	
Gly Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Thr Asn	
20 25 30	
Thr Val Asn Trp Tyr Leu His Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu	
35 40 45	
Thr Tyr Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Gln Asp Arg Phe Ser	
50 55 60	
Gly Ser Lys Ser Asp Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln	
65 70 75 80	
Ala Glu Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu	
85 90 95	
Asn Gly Leu Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu	
100 105 110	

<210> 288

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VLCDR1

<400> 288

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Thr Asn Thr Val Asn

1 5 10

<210> 289

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VLCDR2

<400> 289

Thr Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 290

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> ILT70089 VLCDR3

<400> 290

Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Leu Ala

1 5 10

<210> 291

<211> 499

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 291

Met Thr Leu Ile Leu Thr Ser Leu Leu Phe Phe Gly Leu Ser Leu Gly

1 5 10 15

Pro Arg Thr Arg Val Gln Ala Glu Asn Leu Pro Lys Pro Ile Leu Trp

20 25 30

Ala Glu Pro Gly Pro Val Ile Thr Trp His Asn Pro Val Thr Ile Trp

35 40 45

Cys Gln Gly Thr Leu Glu Ala Gln Gly Tyr Arg Leu Asp Lys Glu Gly

50 55 60

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

305 310 315 320
 Ser Asp Arg Pro Ser Leu Ser Val Gln Pro Gly Pro Thr Val Thr Ser
 325 330 335
 Gly Glu Lys Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Trp Asp Pro Met Phe Thr
 340 345 350
 Phe Leu Leu Thr Lys Glu Gly Ala Ala His Pro Pro Leu Arg Leu Arg
 355 360 365
 Ser Met Tyr Gly Ala His Lys Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met Ser Pro

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

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

<210> 292

<211> 483

<212> PRT

<213> Cynomolgus monkey

<400> 292

Pro Arg Thr His Met Gln Ala Glu Asn Leu Leu Lys Pro Ile Leu Trp
 1 5 10 15

Ala Glu Pro Gly Pro Val Ile Ile Trp Lys Lys Pro Val Thr Ile Trp
20 25 30
Cys Gln Gly Thr Leu Glu Ala Gln Glu Tyr Arg Leu Asp Lys Glu Gly
35 40 45
Asn Ser Ile Ser Arg His Met Leu Lys Thr Leu Glu Ser Glu Asn Lys
50 55 60
Ala Lys Phe Ser Ile Pro Ser Met Met Trp Glu His Ala Gly Arg Tyr
65 70 75 80
His Cys Tyr Tyr Gln Ser Pro Ala Gly Trp Ser Glu Pro Ser Asp Pro
85 90 95
Leu Glu Leu Val Val Thr Ala Tyr Ser Arg Pro Ser Leu Ser Ala Leu
100 105 110
Pro Ser Pro Val Val Thr Ser Gly Val Asn Val Thr Leu Arg Cys Ala
115 120 125
Ser Arg Leu Gly Leu Gly Arg Phe Thr Leu Ile Glu Glu Gly Asp His
130 135 140
Arg Leu Ser Trp Thr Leu Asp Ser His Gln His Asn His Gly Lys Phe
145 150 155 160
Gln Ala Leu Phe Pro Val Gly Pro Leu Thr Phe Ser Asn Arg Gly Thr
165 170 175
Phe Arg Cys Tyr Gly Tyr Glu Asn Asn Thr Pro Tyr Val Trp Ser Glu
180 185 190
Pro Ser Asp Pro Leu Gln Leu Leu Val Ser Gly Val Ser Arg Lys Pro
195 200 205
Ser Leu Leu Thr Leu Gln Gly Pro Val Val Ala Pro Gly Asp Asn Leu
210 215 220
Thr Leu Gln Cys Gly Ser Asp Val Gly Tyr Ile Arg Tyr Ala Leu Tyr
225 230 235 240
Lys Glu Gly Gly Asp Gly Leu Pro Gln Arg Pro Gly Gln Gln Ser Gln
245 250 255
Ala Gly Leu Ser Gln Ala Ser Phe Thr Leu Asn Pro Val Arg Gly Ser

260	265	270	
His Gly Gly Gln Tyr Arg Cys Tyr Gly Ala His Asn Val Ser Ser Lys			
275	280	285	
Trp Ser Ala Pro Ser Asp Pro Leu Asp Ile Leu Ile Ala Gly Gln Ile			
290	295	300	
Pro Asp Arg Pro Ser Leu Ser Val Gln Leu Gly Pro Thr Val Ala Ser			
305	310	315	320
Gly Glu Lys Val Thr Leu Leu Cys Gln Ser Trp Gly Pro Met Phe Thr			
325	330	335	
Phe Leu Leu Ala Lys Glu Gly Ala Ala His Pro Pro Leu Arg Leu Arg			
340	345	350	
Ser Thr Tyr Arg Ala Gln Gln Tyr Gln Ala Glu Phe Pro Met Ser Pro			
355	360	365	
Val Thr Ser Ala His Ala Gly Thr Tyr Arg Cys Tyr Gly Ser Arg Ser			
370	375	380	
Ser Asp Pro Tyr Leu Leu Ser His Ser Ser Glu Pro Leu Glu Leu Val			
385	390	395	400
Val Ser Glu Ala Thr Glu Thr Leu Asn Pro Ala Gln Asn Lys Ser Asp			
405	410	415	
Ser Lys Thr Ala Pro His Leu Gln Asp Tyr Thr Val Glu Asn Leu Ile			
420	425	430	
Arg Met Gly Ile Ala Gly Leu Val Leu Val Phe Leu Gly Ile Leu Leu			
435	440	445	
Phe Glu Ala Gln Gln Ser Gln Arg Ser Pro Thr Arg Cys Ser Gln Glu			
450	455	460	
Val Asn Ser Arg Glu Asp Asn Ala Pro Phe Arg Val Val Glu Pro Trp			
465	470	475	480
Glu Gln Ile			