



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년05월27일

(11) 등록번호 10-1624751

(24) 등록일자 2016년05월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2010-7012364

(22) 출원일자(국제) 2008년11월07일

심사청구일자 2013년11월06일

(85) 번역문제출일자 2010년06월04일

(65) 공개번호 10-2010-0100857

(43) 공개일자 2010년09월15일

(86) 국제출원번호 PCT/US2008/082745

(87) 국제공개번호 WO 2009/061996

국제공개일자 2009년05월14일

(30) 우선권주장

61/002,253 2007년11월07일 미국(US)

61/191,551 2008년09월10일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO1996023882 A1

WO2004035619 A1*

Vaccine Vol.25:4757-4766 (2007. 05. 30.)

US20050186612 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

셀렉스 쎄라퓨티스, 인크.

미국 메사추세츠주 02494-2725 니덤 포쓰 애비뉴
119

(72) 발명자

켈러 티보

미국 18942 펜실베니아주 오츠빌 파크 로드 30

히 리챈

미국 18104 펜실베니아주 알렌타운 리지뷰 드라이

브 1675

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김태홍, 김진희

전체 청구항 수 : 총 21 항

심사관 : 안규정

(54) 발명의 명칭 인간 수지상 및 상피 세포 205(D E C-205)에 결합하는 항체

(57) 요약

인간 DEC-205에 결합하는 단리된 단일클론 항체, 및 관련된 항체계 조성물 및 분자가 개시된다. 또한 항체를 포함하는 약학 조성물, 뿐만 아니라 항체를 사용한 치료학적 및 진단학적 방법이 개시된다.

(72) 발명자

라마크리슈나 벤키

미국 18077-9565 펜실베니아주 리겔스빌 쇼러스 힐
로드 915

비탈레 로라 에이

미국 18901 펜실베니아주 도일스타운 밀로즈 레인
4194

명세서

청구범위

청구항 1

인간 수지상 및 상피 세포 205 수용체(DEC-205)에 결합하고, 하기를 포함하는 단리된 단일클론 항체:

서열 번호 29를 포함하는 중쇄 가변부 CDR1;

서열 번호 30을 포함하는 중쇄 가변부 CDR2;

서열 번호 31을 포함하는 중쇄 가변부 CDR3;

서열 번호 35를 포함하는 경쇄 가변부 CDR1;

서열 번호 36을 포함하는 경쇄 가변부 CDR2; 및

서열 번호 37을 포함하는 경쇄 가변부 CDR3.

청구항 2

제1항에 있어서, 하기 특성들 중 하나 이상을 나타내는 단리된 단일클론 항체:

- (a) 표면 플라스몬 공명에 의해 측정할 경우 $10^8 M^{-1}$ 이상의 친화도 상수로 인간 DEC-205에 결합하는 특성;
- (b) DEC-205를 발현하는 인간 수지상 세포에 결합한 후 내재화(internalization)되는 특성;
- (c) 항원에 대한 인간 $CD4^+$ T-세포 반응을 생성 또는 증진시키는 특성;
- (d) 항원에 대한 인간 CTL 또는 NKT 반응을 생성 또는 증진시키는 특성;
- (e) 수지상 세포에서 항원 처리 구획으로 국지화되는 특성; 또는
- (f) 말초 $CD8^+$ T 세포 내성을 유도하는 특성.

청구항 3

제1항에 있어서, 서열 번호 28을 포함하는 중쇄 가변부 및 서열 번호 34를 포함하는 경쇄 가변부를 포함하거나, 또는 각각 서열 번호 26 및 32에 의해 코딩되는 중쇄 가변부 및 경쇄 가변부를 포함하는 단리된 단일클론 항체.

청구항 4

삭제

청구항 5

삭제

청구항 6

삭제

청구항 7

삭제

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

제1항에 있어서, 항체가 인간 항체 또는 키메라 항체인 단리된 단일클론 항체.

청구항 13

제1항에 있어서, 항체가 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgD 및 IgE 항체로 구성된 군에서 선택되는 것인 단리된 단일클론 항체.

청구항 14

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터.

청구항 15

제14항에 따른 발현 벡터로 형질전환된 세포.

청구항 16

항원에 연결된 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 분자 컨쥬게이트(conjugate).

청구항 17

제16항에 있어서, 항원이 병원체의 구성 성분, 종양 항원, 알레르기원 및 자가항원으로 구성된 군에서 선택되는 것인 분자 컨쥬게이트.

청구항 18

제17항에 있어서, 종양 항원이 β hCG, gp100 또는 Pme117, HER2/neu, WT1, 메소텔린(mesothelin), CEA, gp100, MART1, TRP-2, NY-BR-1, NY-CO-58, MN(gp250), 이디오타입(idiotype), 티로시나아제(Tyrosinase), 텔로머라아제(Telomerase), SSX2, MUC-1, 멜란(melan)-A, NY-ESO-1, MAGE-1, MAGE-3, MAGE-A3, 및 고분자량 흑색종 관련 항원(HMW-MAA)으로 구성된 군에서 선택되는 것인 분자 컨쥬게이트.

청구항 19

제16항에 있어서, 항원이 HIV, HPV, HBV 또는 HCV 유래인 분자 컨쥬게이트.

청구항 20

제16항에 있어서, 세포독성제, 면역억제제, 및 화학치료제로 구성된 군에서 선택된 치료제를 추가로 포함하는 분자 컨쥬게이트.

청구항 21

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 이중특이성(bispecific) 분자로서, 상기 항체는 상기 항체와 상이한 결합 특이성을 갖는 분자와 연결된 것인 이중특이성 분자.

청구항 22

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체 및 약학적으로 유효한 담체를 포함하는, 피험체에서 항원에 대한 면역 반응을 유도하거나 증진시키기 위한 약학 조성물.

청구항 23

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체 및 약학적으로 유효한 담체를 포함하는, 항원에 대하여 피험체에서 T 세포 매개된 면역 반응을 유도하거나 증진시키기 위한 약학 조성물.

청구항 24

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체 및 약학적으로 유효한 담체를 포함하는, 피험체를 면역화시키기 위한 약학 조성물.

청구항 25

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체 및 약학적으로 유효한 담체를 포함하는, 피험체에서 자가면역 질환, 면역계 질환, 또는 염증성 질환을 치료하기 위한 약학 조성물.

청구항 26

(a) 생물학적 샘플을 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체 및 약학적으로 유효한 담체와 접촉시키는 단계로서, 항체가 검출가능한 물질로 표지되는 것인 단계; 및

(b) DEC-205에 결합한 항체를 검출하여 생물학적 샘플에서 DEC-205의 존재 또는 부재를 검출하는 단계를 포함하는, 생물학적 샘플에서 DEC-205의 존재 또는 부재를 검출하는 방법.

청구항 27

항원에 연결된 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 문자 컨쥬게이트를 포함하는, 피험체에서 항원에 대한 면역 반응을 유도하거나 증진시키기 위한 약학 조성물.

청구항 28

항원에 연결된 제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 문자 컨쥬게이트를 포함하는, 항원에 대하여 피험체를 면역화시키기 위한 약학 조성물.

청구항 29

제22항에 있어서, 치료제를 추가로 포함하는 약학 조성물.

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은 2007년 11월 7일자로 출원된 미국 가특허 출원 제61/002253호, 및 2008년 9월 10일자로 출원된 미국 가특허 출원 제61/191551호(이의 내용은 본원에 참고로 인용됨)에 대한 우선권을 청구한다.

배경 기술

[0002] 수지상 세포(DC: dendritic cell)는 면역계의 특수화된 세포이다. DC는 세포 표면 주요 조직화합성 복합체(MHC: major histocompatibility complex) 분자에 결합된 웨티드 형태로 항원을 제공함으로써 1차 및 2차 T 및 B 림프구 반응을 개시하는 특유의 능력을 갖는다. 수지상 세포의 항원 제공 기능은 인간 수지상 및 상피 세포 205 수용체(DEC-205)의 높은 발현 수준과 관련된다(Jiang et al. (1995) *Nature* 375(11)151).

[0003] DEC-205는 수지상 세포 상에서 주로 발견되는 엔도시토시스성(endocytic) 수용체이지만, 또한 B 세포, 뇌 모세혈관, 골수 간질, 또는 소장 용모의 상피 및 폐 기도, 뿐만 아니라 흉선의 피질 상피 및 주변 림프 기관의 T 세포 영역중의 수지상 세포에서도 발견된다. DEC-205는 림프 기관의 T 세포 영역중의 DC 상에서 높은 수준으로 발현된다(Kraal et al. (1986) *J. Exp. Med.* 163:981; Witmer-Pack et al. (1995) *Cell. Immunol.* 163:157). DEC-205는 10개의 막 외부의 연속된 C형 렉틴(lectin) 도메인을 갖고(Id.; Mahnke et al. (2000) *J. Cell Biol.* 151:673), 이는 생체내에서 MHC 클래스 II 생성물 상에서 항원을 처리하거나 제공하는 효능을 매개한다 (Hawiger et al. (2001) *J. Exp. Med.* 194:769). DEC-205 흡착 경로에 의해 DC로 타깃화되는 소량의 주사된 항원은 고형의 주변 CD8⁺ T 세포 내성을 유도할 수 있는 것으로 제시되었다(Bonifaz et al. (2002) *J. Exp. Med.* 196(12):1627).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0004] 수지상 세포의 특징에 있어서 최근의 진전에도 불구하고, 수지상 세포 특이적 수용체, 예컨대 DEC-205에 관하여 거의 알려져 있지 않고, 수지상 세포에 특이적인 극소수의 시약만이 이용가능하다. 수지상 세포와, 예컨대 DEC-205를 통해 특이적으로 또는 우선적으로 반응하는 시약, 특히 항체는 타깃화제로서 큰 잠재력을 가져서, 종양 또는 감염성 질병 항원에 대해 강력한 면역 반응을 유도한다. 이러한 세포-특이적 타깃화제는 또한 골수 및 기관 이식 또는 다른 자가면역 질환에서 강력한 항원 제시 세포(예를 들어, 수지상 세포)를 제거하도록 독소를 전달할 수 있게 조작될 수 있다. 따라서, 이러한 수지상 세포 특이적 결합제는 막대한 치료학적 및 진단학적 가치를 갖는다.

과제의 해결 수단

[0005] [발명의 요약]

[0006] 본 발명은 단리된 항체, 예를 들어 인간 DEC-205에 결합하고 특별한 특성을 나타내는 인간 항체를 제공하는 것이다. 본 발명은 또한 이러한 항체를 함유하는 백신 컨쥬케이트, 이중특이성 분자, 및 치료학적 조성물을 제공한다. 따라서, 본 발명의 항체 및 조성물은 다양한 수지상 세포 타깃화된 요법에서, 예를 들면 항원 제공을 증진시키고/시키거나, 다양한 타깃 세포 또는 병원체에 대하여 T 세포 반응, 예컨대 세포독성 T 세포(CTL: cytotoxic T cell) 반응을 유도하기 위해, 또는 항원 제시 세포(APC: antigen presenting cell) 매개된 질환을 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0007] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 하나 이상의 하기 특성을 나타낸다: (1) 표면 플라스몬 공명(surface plasmon resonance)에 의해 측정할 경우 $10^8 M^{-1}$ 이상의 친화도 상수로 인간 DEC-205에 결합하고; (2) DEC-205를 발현하는 인간 수지상 세포에 결합한 후 내재화(internalization)되고; (3) MHC 클래스 I 및/또는 클래스 II 경로에 의해 적절하게 매개되는, 항원(이는 항체에 연결될 수 있음)에 대한 인간-T-세포 반응, 예를 들면 CD4⁺ 및 CD8⁺ (CTL) T-세포 반응을 발생 또는 증진시키고; (4) 주변 CD8⁺ T 세포 내성을 유도한다. 게다가, 항체는 비인간 영장류 수지상 세포 또는 다른 종의 세포 상에서 DEC-205와 교차반응할 수 있다. 또한 추가로, 항체는 예를 들면 다음을 포함하는 하나 이상의 추가의 특성을 적절히 나타낼 수 있다: (1) 인간 DEC-205의 세포외 도메인,

예를 들면, 시스테인 풍부 도메인, FnII 도메인중 하나 또는 이의 조합, 또는 10개의 C형 렉틴 유사 도메인중 하나 이상의 도메인 상에 위치된 에피토프에 선택적으로 결합하고; (2) 세포중의 항원 처리 구획으로 국재화된다.

[0008] 본 발명의 항체의 특정 예는 특정 인간 생식계열을 이용하는 중쇄 및 경쇄 가변부를 포함하지만, 즉 생식계열 유전자에 의해 코딩되지만, 항체 돌연변이 동안에 초래되는 유전자 재배열 및 돌연변이, 예를 들어 체세포 돌연변이를 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체의 중쇄 가변부는 인간 생식계열 VH 3-33 유전자를 이용하고, 서열 번호 95와 비교하여 서열 번호 4, 16, 28, 40, 52, 76 및 88중 임의의 하나에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 다르게는, 중쇄 가변부는 인간 생식계열 Orph-C16 유전자를 이용하고, 서열 번호 96과 비교하여 서열 번호 64 및 70중 하나에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0009] 또 다른 실시양태에서, 항체의 경쇄 가변부는 (a) 인간 생식계열 VK1-L15 유전자를 이용하고 서열 번호 94와 비교하여 서열 번호 10에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; (b) 인간 생식계열 VK1-L4 유전자를 이용하고 서열 번호 93과 비교하여 서열 번호 22 또는 82중 임의의 하나에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하거나; (c) 인간 생식계열 VK3-L6 유전자를 이용하고 서열 번호 92와 비교하여 서열 번호 34, 46 및 58중 임의의 하나에서 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 영역으로 구성된 군에서 선택된다.

[0010] 또 다른 실시양태에서, 중쇄 가변부 CDR3 서열은 서열 번호 7, 19, 31, 43, 55, 67, 73, 79, 91 및 이의 보존적 서열 변형체체(예를 들면, 보존적 아미노산 치환)으로 구성된 군에서 선택된다. 항체는 추가로 서열 번호 13, 25, 37, 49, 61, 85 및 이의 보존적 서열 변형체체으로 구성된 군에서 선택되는 경쇄 가변부 CDR3 서열을 포함할 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄 CDR2 및 CDR1 서열은 서열 번호 6, 18, 30, 42, 54, 66, 72, 78, 90 및 서열 번호 5, 17, 29, 41, 53, 65, 71, 77, 89, 각각, 및 이의 보존적 서열 변형체체으로부터 선택된다. 경쇄 CDR2 및 CDR1 서열은 서열 번호 12, 24, 36, 48, 60, 84, 및 서열 번호 11, 23, 35, 47, 59, 83, 각각, 및 이의 보존적 서열 변형체체으로부터 선택된다.

[0011] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 DEC-205에 결합하고 하기 (i)~(vi)으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 가변부 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 단리된 항체를 제공한다:

[0012] (i) 서열 번호 5를 포함하는 중쇄 가변부 CDR1;

[0013] 서열 번호 6을 포함하는 중쇄 가변부 CDR2;

[0014] 서열 번호 7을 포함하는 중쇄 가변부 CDR3;

[0015] 서열 번호 11을 포함하는 경쇄 가변부 CDR1;

[0016] 서열 번호 12를 포함하는 경쇄 가변부 CDR2;

[0017] 서열 번호 13을 포함하는 경쇄 가변부 CDR3; 또는

[0018] 이의 보존적 서열 변형체체;

[0019] (ii) 서열 번호 17을 포함하는 중쇄 가변부 CDR1;

[0020] 서열 번호 18을 포함하는 중쇄 가변부 CDR2;

[0021] 서열 번호 19를 포함하는 중쇄 가변부 CDR3;

[0022] 서열 번호 23을 포함하는 경쇄 가변부 CDR1;

[0023] 서열 번호 24를 포함하는 경쇄 가변부 CDR2;

[0024] 서열 번호 25를 포함하는 경쇄 가변부 CDR3; 또는

[0025] 이의 보존적 서열 변형체체;

[0026] (iii) 서열 번호 29를 포함하는 중쇄 가변부 CDR1;

[0027] 서열 번호 30을 포함하는 중쇄 가변부 CDR2;

[0028] 서열 번호 31을 포함하는 중쇄 가변부 CDR3;

[0029] 서열 번호 35를 포함하는 경쇄 가변부 CDR1;

- [0030] 서열 번호 36을 포함하는 경쇄 가변부 CDR2;
- [0031] 서열 번호 37을 포함하는 경쇄 가변부 CDR3; 또는
- [0032] 이의 보존적 서열 변형체체;
- [0033] (iv) 서열 번호 41을 포함하는 중쇄 가변부 CDR1;
- [0034] 서열 번호 42를 포함하는 중쇄 가변부 CDR2;
- [0035] 서열 번호 43을 포함하는 중쇄 가변부 CDR3;
- [0036] 서열 번호 47을 포함하는 경쇄 가변부 CDR1;
- [0037] 서열 번호 48을 포함하는 경쇄 가변부 CDR2;
- [0038] 서열 번호 49를 포함하는 경쇄 가변부 CDR3; 또는
- [0039] 이의 보존적 서열 변형체체;
- [0040] (v) 서열 번호 53을 포함하는 중쇄 가변부 CDR1;
- [0041] 서열 번호 54를 포함하는 중쇄 가변부 CDR2;
- [0042] 서열 번호 55를 포함하는 중쇄 가변부 CDR3;
- [0043] 서열 번호 59를 포함하는 경쇄 가변부 CDR1;
- [0044] 서열 번호 60을 포함하는 경쇄 가변부 CDR2;
- [0045] 서열 번호 61을 포함하는 경쇄 가변부 CDR3; 또는
- [0046] 이의 보존적 서열 변형체체;
- [0047] (vi) 서열 번호 77을 포함하는 중쇄 가변부 CDR1;
- [0048] 서열 번호 78을 포함하는 중쇄 가변부 CDR2;
- [0049] 서열 번호 79를 포함하는 중쇄 가변부 CDR3;
- [0050] 서열 번호 83을 포함하는 경쇄 가변부 CDR1;
- [0051] 서열 번호 84를 포함하는 경쇄 가변부 CDR2;
- [0052] 서열 번호 85를 포함하는 경쇄 가변부 CDR3; 또는
- [0053] 이의 보존적 서열 변형체체.
- [0054] 예를 들면, 단리된 항체는 인간 DEC-205에 결합하고,
- [0055] 서열 번호 29를 포함하는 중쇄 가변부 CDR1;
- [0056] 서열 번호 30을 포함하는 중쇄 가변부 CDR2;
- [0057] 서열 번호 31을 포함하는 중쇄 가변부 CDR3;
- [0058] 서열 번호 35를 포함하는 경쇄 가변부 CDR1;
- [0059] 서열 번호 36을 포함하는 경쇄 가변부 CDR2; 및
- [0060] 서열 번호 37을 포함하는 경쇄 가변부 CDR3을 포함한다.
- [0061] 또 다른 실시양태에서, 중쇄 가변부 CDR3 서열은 다음의 컨센서스(consensus) 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다: (A,G,Y,S,P,-)(P,W,S,R)(Y,A,H)FD(Y,L,V)(서열 번호 99), 여기서 "-"는 아미노산 잔기가 그 컨센서스 위치에 존재하지 않는 선택사항(option)을 표시한다. 항체는 추가로 경쇄 가변부 CDR3 서열을 포함하는데, 이는 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다: QQ(R,Y,F)(R,N)(T,S,N)(Y,W,-)(P,-)(Y,L,H,-)(T,-)(서열 번호 102), 여기서 "-"는 아미노산 잔기가 그 컨센서스 위치에 존재하지 않는 선택사항을 표시한다. 또 다른 실시양태에서, 중쇄 가변부 CDR2 서열은 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고: (V,I,F,T,A)I(W,G)(Y,T)(D,G)G(S,G,Y)(N,T)(K,P)Y(Y,A,V)(A,G,-)DSVKG(서열 번호 98)(여기서 "

—"는 아미노산 잔기가 그 컨센서스 위치에 존재하지 않는 선택사항을 표시함); 경쇄 가변부 CDR2 서열은 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다: (D,A)AS(N,S)(R,L)(A,Q,E)(T,S)(서열 번호 101). 또 다른 실시양태에서, 중쇄 가변부 CDR1 서열은 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하고: (I,N,T,S)Y(G,N,A)M(H,Y)(서열 번호 97); 경쇄 가변부 CDR1 서열은 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다: RASQ(S,G)(I,V)SS(Y,W,A)LA(서열 번호 100).

[0062] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 DEC-205에 결합하고, 하기 (i)~(vi)를 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변부 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열을 포함하는 단리된 항체를 제공한다:

[0063] (i) 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 CDR1: (I,N,T,S)Y(G,N,A)M(H,Y)(서열 번호 97);

[0064] (ii) 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 CDR2: (V,I,F,T,A)I(W,G)(Y,T)(D,G)G(S,G,Y)(N,T)(K,P)Y(Y,A,V)(A,G,-)DSVKG(서열 번호 98);

[0065] (iii) 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 CDR3: (A,G,Y,S,P,-)(P,W,S,R)(Y,A,H)FD(Y,L,V)(서열 번호 99);

[0066] (iv) 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 CDR1: RASQ(S,G)(I,V)SS(Y,W,A)LA(서열 번호 100);

[0067] (v) 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 CDR2: (D,A)AS(N,S)(R,L)(A,Q,E)(T,S)(서열 번호 101); 및

[0068] (vi) 다음의 컨센서스 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부 CDR3: QQ(R,Y,F)(R,N)(T,S,N)(Y,W,-)(P,-)(Y,L,H,-)(T,-)(서열 번호 102), 여기서 "—"는 아미노산 잔기가 그 컨센서스 위치에 존재하지 않는 선택사항을 표시한다.

[0069] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항체는 인간 DEC-205에 결합하고, 서열 번호 4, 16, 28, 40, 52, 64, 70, 76, 88 및 이의 보존적 서열 변형체체으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부를 포함한다. 항체는 서열 번호 10, 22, 34, 46, 58, 82 및 이의 보존적 서열 변형체체으로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변부를 추가로 포함할 수 있다.

[0070] 다른 추가의 실시양태에서, 본 발명의 단리된 항체는 인간 DEC-205에 결합하고, 하기 (a)~(f)로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변부 및 경쇄 가변부를 포함한다:

[0071] (a) 서열 번호 4 및 10, 각각, 및 이의 보존적 서열 변형체체;

[0072] (b) 서열 번호 16 및 22, 각각, 및 이의 보존적 서열 변형체체;

[0073] (c) 서열 번호 28 및 34, 각각, 및 이의 보존적 서열 변형체체;

[0074] (d) 서열 번호 40 및 46, 각각, 및 이의 보존적 서열 변형체체;

[0075] (e) 서열 번호 52 및 58, 각각, 및 이의 보존적 서열 변형체체; 및

[0076] (f) 서열 번호 76 및 82, 각각, 및 이의 보존적 서열 변형체체.

[0077] 임의의 상기 서열에 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 또는 99% 이상, 또는 그 보다 더 높은 서열 동일성을 갖는 중쇄 및 경쇄 가변부를 포함하는 단리된 항체는 또한 본 발명에 포함된다. 중간 내지 상기 인용된 값의 범위, 예를 들어 임의의 상기 서열에 적어도 80~85%, 85~90%, 90~95% 또는 95~100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 및 경쇄 가변부는 또한 본 발명에 의해 포함되도록 의도된다.

[0078] 또 다른 실시양태에서, 단리된 항체는 인간 DEC-205에 결합하고, 서열 번호 4, 16, 28, 40, 52, 64, 70, 76, 88로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열 또는 중쇄 가변부의 골격구조 영역에서 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 생식계열 잔기로 치환된 서열을 포함하는 중쇄 가변부를 포함한다. 항체는 추가로 서열 번호 10, 22, 34, 46, 58, 82로 구성된 군에서 선택된 아미노산 서열, 또는 경쇄 가변부의 골격구조 영역에서 하나 이상의 아미노산 잔기가 상응하는 생식계열 잔기로 치환된 서열을 포함하는 경쇄 가변부를 포함할 수 있다. 치환된 아미노산 잔기는 다음을 포함할 수 있다: 항원에 직접 비공유적으로 결합하는 잔기; CDR에 인접한 잔기; CDR 상호작용 잔기; VL-VH 계면에 참여하는 잔기, 기준적(canonical) 잔기, 버니어(vernier) 구역 잔기, 또는 쇄간 패킹

(interchain packing) 잔기.

[0079] DEC-205로의 결합에 대해 본 발명의 항체와 경쟁하는 단리된 항체 또한 본 발명에 포함된다.

[0080] 본 발명의 항체는 전체 길이일 수 있고, 예를 들면, 다음의 이소형(isotype)이다: IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgAsec, IgD, 및 IgE. 다르게는, 항체는 단편일 수 있고, 예컨대 항원 결합 부위 또는 단일 쇄 항체(예를 들어, Fab, F(ab')₂, Fv, 단일 쇄 Fv 단편, 단리된 상보성 결정 영역(CDR: complementarity determining region) 또는 둘 이상의 단리된 CDR의 조합)이다.

[0081] 본 발명은 또한 항원(단편, 에피토프, 및 항원 결정자를 포함함), 예컨대 병원체, 종양 항원 또는 자가항원의 성분에 연결된 본 발명의 항체를 포함하는 분자 컨쥬게이트(conjugate)를 제공한다. 예를 들면, 항원으로는 종양 항원, 예컨대 β hCG, gp100 또는 Pmel17, CEA, gp100, TRP-2, NY-BR-1, NY-CO-58, MN(gp250), 유전자형, 티로시나아제(Tyrosinase), 텔로머라아제(Telomerase), SSX2, MUC-1, MAGE-A3, 및 고분자량 흑색종 관련 항원(HMW-MAA: high molecular weight-melanoma associated antigen) MART1, 멜란(melan)-A, NY-ESO-1, MAGE-1, MAGE-3, WT1, Her2, 메소텔린(mesothelin) 또는 고분자량 흑색종 관련 항원(HMW-MAA)이 포함될 수 있다.

[0082] 용어 "종양 항원"은, 본원에 사용될 경우 바람직하게는 종양 세포 상에 존재하지만(또는 이와 회합되지만) 정상 세포 상에 존재하지 않는 임의의 항원 또는 항원 결정자, 또는 정상(비종양) 세포 상에서 보다 더 많은 양으로 종양 세포 상에 존재하거나 이의 관련 항원 또는 항원 결정자, 또는 정상(비종양) 세포 상에서 발견되는 것과 상이한 형태로 종양 세포 상에 존재하는 항원 또는 항원 결정자를 의미한다. 따라서 이 용어는 종양 특이적 막 항원을 비롯한 종양 특이적 항원, 종양 관련 막 항원을 비롯한 종양 관련 항원, 종양 상의 배아(embryonic) 항원, 성장 인자 수용체, 성장 인자 리간드, 및 암과 관련한 임의의 다른 유형의 항원을 포함한다. 종양 항원은, 예를 들면, 상피 암 항원(예를 들어, 유방, 위장, 폐), 전립선 특이적 암 항원(PSA: prostate specific cancer antigen) 또는 전립선 특이적 막 항원(PSMA: prostate specific membrane antigen), 방광암 항원, 폐(예를 들어, 소세포 폐) 암 항원, 대장암 항원, 난소암 항원, 뇌암 항원, 위암 항원, 신장 세포 암종 항원, 췌장암 항원, 간암 항원, 식도암 항원, 두경부암 항원, 또 결장암 항원일 수 있다.

[0083] 용어 "단편"은 전장 단백질 또는 폴리펩티드의 일부, 예를 들면 약 8~약 1500개 아미노산 길이, 적절하게는 약 8~약 745개 아미노산 길이, 적절하게는 약 8~약 300개, 예를 들면 약 8~약 200개 아미노산, 또는 약 10~약 50 또는 100개 아미노산 길이의 아미노산 서열을 지칭한다.

[0084] 또 다른 실시양태에서, 분자 복합체는 추가로 치료제, 예컨대 세포독성제, 면역억제제 또는 화학치료제를 포함한다.

[0085] 본 발명은 또한 본 발명의 항체와 상이한 결합 특이성을 갖는 제2 작용 잔기에 연결된 본 발명의 항체를 포함하는 이중특이성 분자를 제공한다.

[0086] 본원에 기재된 항체, 분자 컨쥬게이트 또는 이중특이성 분자, 및 약학적으로 효과적인 담체를 포함하는 조성물이 또한 제공된다. 조성물은 추가로 치료제(예를 들어, 면역억제제 또는 본 발명의 항체와 상이한 항체)를 포함할 수 있다.

[0087] 본 발명의 항체를 코딩하는 핵산, 뿐만 아니라 이러한 핵산을 포함하는 발현 벡터 및 이러한 발현 벡터를 포함하는 숙주 세포 또한 본 발명에 포함된다. 더욱이, 본 발명은 인간 면역글로불린 중쇄 및 경쇄 이식유전자를 포함하는 이식유전자 마우스를 제공하고, 여기서 마우스는 본 발명의 항체 뿐만 아니라 이러한 마우스로부터 제조된 하이브리도마(hybridoma)를 발현하고, 이때 하이브리도마는 본 발명의 항체를 생산한다.

[0088] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 항원에 연결된 세포 상의 수용체(예를 들어, 이전에 언급된 DEC-205 항체)에 결합하는 분자를 투여함으로써 피험체에서 세포, 예를 들어, 항원을 제공할 수 있는 세포(예컨대 말초 혈액 단핵 세포(PBMC: peripheral blood mononuclear cell), 단핵구(예컨대 THP-1), B 림포글라스토이드(lymphoblastoid) 세포(예컨대 C1R.A2, 1518 B-LCL) 및 단핵구-유도된 DC로 항원을 타깃화시키는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 타깃화된 세포(이는 B-세포일 수 있음)는 MHC 클래스 I 제한된 T-세포를 자극한다.

[0089] 본 발명의 항체 및 다른 조성물은 또한 피험체에서 항원에 대한 면역 반응(예를 들어, T 세포 매개된 면역 반응)을 유도하거나 증진시키기 위해 사용될 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명은 항원 제시 세포 상의 수용체, 예를 들어, 인간 DEC-205에 결합하는 항체 및 항원의 컨쥬게이트를 형성함으로써 항원에 대한 CTL 반응을 유도하거나 증진시키기 위한 방법을 제공한다. 이어서 컨쥬게이트는, 항원이 항원에 대한 CTL 반응(예를 들어, CD8⁺ 세포독성 T 세포에 의해 매개되는 반응)을 유도하거나 증진시키는 방식으로 내재화되고, 처리되고,

T 세포에 제공되도록 인간 DEC-205 세포를 발현하는 세포와 생체내 또는 생체외에서 접촉된다. 또 다른 실시양태에서, 이는 또한 항원에 대한 헬퍼 T 세포 반응(예를 들어, CD4⁺ 헬퍼 T 세포에 의해 매개된 반응)을 유도하는 작용을 한다. 따라서, 면역 반응은 MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II 경로 둘다를 통해 유도될 수 있다. DEC-205를 발현하는 세포는 또한 보조체, 수지상 세포의 증식을 자극하는 사이토킨 및/또는 면역 반응을 추가로 증진시키는 면역자극제와 접촉될 수 있다.

[0090] 또 다른 실시양태에서, 샘플중 DEC-205, 또는 DEC-205를 발현하는 세포의 존재를 검출하는 방법은: (a) 본 발명의 항체와 DEC-205 사이에 복합체를 형성하도록 허용하는 조건하에 샘플을 항체와 접촉시키는 단계 및 (b) 샘플 중 항체와 DEC-205 사이의 복합체의 형성을 검출하는 단계에 의해 제공된다.

[0091] 본 발명의 조성물(예를 들어, 항체, 분자 컨쥬게이트, 다중특이성 및 이중특이성 분자), 및 선택적으로 사용 지침서를 포함하는 키트가 본 발명의 범주내에 포함된다. 키트는 추가로 하나 이상의 추가의 시약, 예컨대 사이토킨 또는 보체, 본 발명의 하나 이상의 추가의 인간 항체(예를 들어, 제1 인간 항체와 별개인, 수지상 세포 상에서 에피토프에 결합하는 상보성 활성을 갖는 인간 항체)를 포함할 수 있다.

[0092] 본 발명의 다른 특징 및 이점은 하기 상세한 설명 및 특허청구범위로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

도 1A~1I는 LSRTM 기기(비디 바이오사이언스(BD Biosciences), 미국 뉴저지주)를 사용하여 형광 분석함으로써 인간 항-DEC-205 항체(3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10)가 인간 DEC-205를 발현하는 CHO-S 세포에 결합함을 보여주는 그래프를 포함한다.

도 2A~2I는 유세포분석에 의해 인간 항-DEC-205 항체(3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10)가 인간 수지상 세포 상의 DEC-205에 결합함을 보여주는 그래프를 포함한다.

도 3은 ELISA를 사용하여 인간 항-DEC-205 항체(3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10)가 DEC-205에 결합함을 보여주는 그래프이다.

도 4A~4C는 공초점 현미경을 사용하여 대조표준(FITC-인간 IgG1)에 비교된 FITC 표지된 HuMab(FITC-3G9-2D2)의 수지상 세포내로의 내재화를 보여준다.

도 5는 항-DEC-205 항체(3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5C3-2-3F6, 1E6-3D10)의 VH 및 VK 서열과 인간 VH 및 VK 생식계열 서열의 정렬이다. 도면은 서열 번호 92, 34, 46, 58, 93, 82, 22, 94, 10, 95, 4, 16, 103~105, 76, 88, 96, 106 및 70 각각을 나타난 순서로 개시한다.

도 6은 인간 항-DEC-205 항체(3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 3C7-3A3, 2D3-1F5-2A9, 1E6-3D10, 5C3-2-3F6, 5D12-5G1)의 VH CDR1, CDR2 및 CDR3 서열의 정렬을 보여준다.

도 7은 인간 항-DEC-205 항체(3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 3C7-3A3, 5C3-2-3F6)의 인간 항-DEC-205 HuMab VK CDR1, CDR2 및 CDR3 서열의 정렬을 보여준다.

도 8은 항-DEC-205/항원 융합 APC 타겟화된 백신 구조물의 예에 대한 개략적 대표도를 나타낸다.

도 9A 및 B는 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 단핵구(THP-1), B 립포블라스토이드 세포(C1R.A2, 1518 B-LCL) 및 단핵구-유도된 DC에서 3G9-β hCG APC-표적화된(또는 타겟화된) 백신 컨쥬게이트를 사용하는 항원 특이적 활성을 보여주는 그래프를 포함한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0094] 본 발명은 인간 DEC-205에 결합하는 항체(예를 들어, 인간 항체)를 제공한다. 특정 실시양태에서, 항체는 다양한 작용 특성을 나타내는데, 예를 들어, 표면 플라스민 공명에 의해 측정될 경우 $10^{8} M^{-1}$ 이상의 친화도 상수로 인간 DEC-205에 결합하거나, DEC-205를 발현하는 인간 수지상 세포에 결합한 후 내재화되거나, 항체에 연결될 수 있는 항원으로의 인간 T 세포 반응, 예를 들면 CD4+ 또는 CD48(CTL) 또는 NKT 세포 반응, 예를 들어, MHC 클래스 I 및 클래스 II 경로 둘다에 의해 매개되는 CTL 반응을 생성 또는 증진시키거나; 수지상 세포에서 항원 처리 구획으로 국재화되거나; 주변 CD8⁺ T 세포 내성을 유도하거나; 비인간 영장류 수지상 세포 또는 다른 종의

세포 상에서 DEC-205와 교차반응한다. 다른 실시양태에서, 항체는 특별한 인간 생식계열 유전자를 이용하고 특별한 구조적 특징부, 예컨대, 특별한 CDR 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄 가변부를 포함한다. 본 발명은 추가로 이러한 항체, 문자 컨쥬케이트 및 이중특이성 문자(이러한 항체를 포함함), 뿐만 아니라 항체를 함유하는 조성물을 제조하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 시험관내 또는 생체내에서 항원을 항원 제시 세포(예를 들어, 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 단핵구(예컨대 THP-1), B 림포블라스토이드 세포(예컨대 C1R.A2, 1518 B-LCL) 및 단핵구-유도된 DC)로, 예를 들면, 본 발명의 항-DEC-205 항체를 사용함으로써 표적화시키는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법은 또한 피험체에서 항원에 대해 면역 반응(예를 들어, T 세포 매개된 면역 반응)을 유도하고 증진시키는 방법을 포함한다. 이러한 방법으로는 MHC-I 및/또는 MHC-II 컨쥬케이트의 성분으로서 항원 제시 세포(예를 들어, DEC-205) 상에서 수용체를 통해 항원을 제공함을 포함한다(예를 들어, T 세포 반응은 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘다에 의해, 또는 세포독성 T 세포 또는 헬퍼(helper) T 세포에 의해 매개된다). 한 실시양태에서, 표적화된 세포(이는 B 세포일 수 있음)는 MHC 클래스 I 제한된 T-세포를 자극한다.

[0095] 본 발명을 보다 쉽게 이해할 수 있도록, 특정 용어가 우선 정의된다. 추가의 정의는 상세한 설명을 통해 제시된다.

[0096] 용어 "인간 수지상 및 상피 세포 205 수용체"(DEC-205)는 세포(예를 들어, GENBANK®에 의해 기탁되고 수탁 번호가 AAC17636인 인간 DEC-205, 및 GENBANK®에 의해 기탁되고 수탁 번호가 AAL81722인 마우스 DEC-205)에 의해 자연적으로 발현되는 DEC-205의 임의의 변형체 또는 이소폼(isoform)을 포함한다. 따라서, 본 발명의 인간 항체는 인간 이외의 종으로부터의 DEC-205와 교차반응할 수 있다. 다르게는, 항체는 인간 DEC-205에 특이적이고 다른 종과 임의의 교차반응성을 나타내지 않을 수 있다. DEC-205 또는 이의 임의의 변형체 및 이소폼은 이들을 자연 발현하는 세포 또는 조직(예를 들어 인간, 마우스 및 키노몰구스 원숭이 세포) 또는 당 분야에 공지된 기법 및/또는 본원에 기재된 기법에 의해 재조합적으로 생산되는 세포 또는 조직으로부터 단리될 수 있다.

[0097] Genbank®(수탁 번호 AAC17636A)는 다음과 같은 인간 DEC-205의 아미노산 서열을 보고한다(서열 번호 1):

```

1 mrtgwatprr pagllmllfw ffdlaepsgr aandpftivh gntgkcikpv ygwivaddcd
61 etedklwkvv sqhrlfhlhs qkclgllditk svnelrmfsc dssamlwwkc ehhslygaar
121 yrlalkdghg taisnasdvw kkggseeslc dqpyheiytr dgnsygrpce fpflidgtwh
181 hdcldedhs gpwcattlny eydrkwgicl kpengcednw ekneqfgscy qfntqtalsw
241 keayvscqnq gadllsinsa aetylkeke giakifwigl nqlysargwe wsdhkplnfl

```

[0098]

301 nwdpdrpsap tiggssarm daesglwqsf sceaqlyvc rkplnntvel tdvwtysdtr
 361 cdagwlpnnng fcylvnnesn swdkahakck afssdlisjh sladvevvvt klhnedikee
 421 vwiglknini ptlfqwsdgt evltywden epnvpynktp ncvsylgelg qwkvqscceek
 481 lkyvckrkge kldassdkm cppdegwkrh getcykiyed evpfgtncnl titsrfeqey
 541 lndlmkkydk slrkfwtgl rdvdscgeyn watvggrra vtfsnwnfle paspggcavam
 601 stgksvgkwe vkdersfkal sickkmsgpl gpeeeaspkpd dpcpegwqsf paslscykvf
 661 haerivkrn weeaerfcqa lgahlssfsh vdeikeflhf ltdqfsgqhw lwiglnkrsp
 721 dlqgswqwsd rtpvstiimp nefqqdydir dcaavkvfhr pwrrgwhfyd drefiyrlp
 781 acdtklewvc qipkgrptk pdwypndrag ihgppliieg seywfvadlh lnyeeavlyc
 841 asnhsflati tsfvglkaik nkianisgdg qkwwirise w piddhftysr ypwhrfpvtf
 901 geeclymsak twlidlgkpt dcstklpfc ekynvsslek yspdsaakvq cseqwipfqn
 961 kcflkikpvs lfsqasdtc hsyggtpsv lsqieqdfit sllpdmeatl wiglrwtaye
 1021 kinkwtdnre ltyfnfhpl vsgrlripen ffeeessryhc alilnlqksp ftgtwnftsc
 1081 serhfvsclq kysevksrq lqnasetvky lnnlykiipk tltwhsakre clksnmqlvs
 1141 itdpyqqafv svqallhnss lwiglfsqdd elnfgwsdgk rlhfsrwaet ngqledevv
 1201 dtdgfwktdv cndnqpgaic yysgneteke vkpvdsvkcp spvlntpwip fqnccyfii
 1261 tkrhmmattq devhtkcqkl npkshilsir dekennfvl qlyfnymas wvmlgityrn
 1321 nslmwfdktp lsythwragr ptiknekfla glstdgfwdi qtfkvieav yfhqhsilac
 1381 kiemvdykee hntlpqfmp yedgiyviq kkvtwyealn mcsqsgghla svhnqngqlf
 1441 ledivkrdgf plwvglsshd gsessfewsd gstdyipwk gqtspgnvcl ldpkgtwkhe
 1501 kcnsvkdgai cykptkskkl srlyssrep aakengsrwi qykgchcyksd qalhsfseak
 1561 klcshdhsa tivsikdede nkfvslmre nnnitmrwl glsqhsvdqs wswldgsevt
 1621 fvwenksks gvgrcsmilia snetwkkvec ehgfgvvck vplgpdytai aiivatlsil
 1681 vlmggliwfl fqrhrlhlag fssvryaqgv nedeimlpsf hd

[0099]

[0100] 인간 DEC-205의 주요 도메인은 다음과 같이 표시될 수 있다:

[0101] **N-CR-FNII-CTLD1-CTLD2-CTLD3-CTLD4-CTLD5-CTLD6-CTLD7-CTLD8-CTLD9-CTLD10-TMC**

[0102] 여기서 N은 N-말단이고, CR은 "Cys 풍부" 도메인을 나타내고, FNII는 "피브로넥틴 타입 II" 도메인, CTLD1~CTLD10은 10개의 "C형 헥틴 유사" 도메인을 나타내고 TMC는 막간 및 세포질 도메인을 나타낸다.

[0103] 본원에 사용될 경우 용어 "수지상 세포"는, 미성숙 및 성숙 수지상 세포, 및 수지상 세포로 분화가능한 관련된 골수 전구 세포, 또는 수지상 세포와 마찬가지로 항원을 발현한다는 점에서 관련된 항원 제시 세포(예를 들어, 단핵구 및 대식세포)를 포함한다. 본원에 사용될 경우, 용어 "관련된"은 통상의 전구(progenitor) 세포 또는 세포 계통(lineage)으로부터 유도된 세포를 포함한다. 한 실시양태에서, 수지상 세포에의 본 발명의 항체의 결합은 수지상 세포로 한정된 기능을 갖는 문자 또는 세포(예를 들어, 종양 세포, 이펙터(effector) 세포, 미생물 병원체)를 표적화시킴으로써 수지상 세포 성장 및/또는 기능에 미치는 효과를 매개한다. 추가의 실시양태에서, 수지상 세포에의 본 발명의 항체의 결합은 수지상 세포에 의한 항체의 내재화를 일으킨다.

[0104] "MHC 문자"는 2가지 유형의 문자, MHC 클래스 I 및 MHC 클래스 II를 포함한다. MHC 클래스 I 문자는 항원을 특이적 CD8⁺ T 세포에 제공하고, MHC 클래스 II 문자는 항원을 특이적 CD4⁺ T 세포에 제공한다. APC에 외생성으로 전달된 항원은 일차적으로 MHC 클래스 II와의 결합을 위해 처리된다. 대조적으로, APC에 내생성으로 전달된 항원은 일차적으로 MHC 클래스 I와의 결합을 위해 처리된다. 그러나, 특정 조건하에, DC는 MHC 클래스 II 문자에 더하여 MHC 클래스 I 문자로 결합하기 위한 내부 구획으로의 외생성 항원 접근을 허용하는 특유의 능력을 갖는다. 이 과정은 "교차 프라이밍(cross-priming)" 또는 "교차 제시"로 지칭된다.

[0105] 본원에 사용될 경우, 용어 "면역자극제"는 APC, 예컨대 DC 및 대식세포를 자극할 수 있는 화합물을 지칭한다. 예를 들면, 본 발명에 사용하기에 적합한 면역자극제는 APC를 자극할 수 있어, APC의 성숙 과정이 가속화되고, APC의 증식이 증가되고/되거나 공동 자극 문자(예를 들어, CD80, CD86, ICAM-1, MHC 문자 및 CCR7) 및 염증촉진(pro-inflammatory) 사이토킨(예를 들어, IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-15, 및 IFN- γ)의 보급 또는 방출이 상향

조절된다(upregulated). 적합한 면역자극제는 또한 T 세포 증식을 증가시킬 수 있다. 이러한 면역자극제로는, 제한되지 않지만, CD40 리간드; 사이토킨, 예컨대 IFN- α , IFN- β , IFN- γ 및 IL-2; 콜로니 자극 인자, 예컨대 G-CSF(과립구 콜로니 자극 인자; granulocyte colony-stimulating factor) 및 GM-CSF(과립구-대식세포 콜로니 자극 인자; granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); 항-CTLA-4 항체; LPS(내독소); ssRNA; dsRNA; 바실러스 칼메테-구에린(BCG: Bacille Calmette-Guerin); 레바미솔(Levamisole) 하이드로클로라이드; 및 정맥내 면역 글로불린이 포함된다. 한 실시양태에서 면역자극제는 Toll 유사 수용체(TLR: Toll-like Receptor) 작용물질일 수 있다. 예를 들면 면역자극제는 TLR3 작용물질, 예컨대 이중 가닥 이노신:사이토신 (inosine:cytosine) 폴리뉴클레오티드(Poly I:C, 예를 들면 미국 펜실바니아주 소재의 헤미스페록스 비파마(Hemispherx Biopharma)로부터 앰플리겐(Ampligen: 등록상표)으로서 입수가능함) 또는 폴리 A:U; TLR4 작용물질, 예컨대 모노포스포릴 지질 A(MPL: monophosphoryl lipid) 또는 RC-529(예를 들면, 영국 소재의 GSK로부터 입수가능함); TLR5 작용물질, 예컨대 플라겔린(flagellin); TLR7 또는 TLR8 작용물질, 예컨대 이미다조퀴놀린 TLR7 또는 TLR8 작용물질, 예를 들면 이미퀴모드(imiquimod)(예를 들어, 알다라(Aldara: 등록상표) 또는 레시퀴모드(resiquimod)) 및 관련된 이미다조퀴놀린 제제(예를 들면, 3M 코포레이션(3M Corporation)으로부터 입수가능함); 또는 TLR9 작용물질, 예컨대 메틸화되지 않은 CpG 모티프(motif)(소위 "CpG", 예를 들면 코레이파마슈티칼(Coley Pharmaceutical)로부터 입수가능함)를 갖는 데옥시뉴클레오티드일 수 있다. 이러한 면역자극제는 본 발명의 항체 및 구조물과 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여될 수 있고, 또한 항체 및 구조물에 물리적으로 연결될 수 있다.

[0106] 본원에 사용될 경우, 용어 "연결된"은 둘 이상의 분자의 회합을 지칭한다. 연결은 공유적이거나 비공유적일 수 있다. 연결은 또한 유전적일 수 있다(즉, 재조합적으로 융합됨). 이러한 연결은 당 분야에 인식된 다양한 기법, 예컨대 화학적 컨쥬케이션 및 재조합 단백질 생산에 의해 달성될 수 있다.

[0107] 본원에 사용될 경우, 용어 항원 "교차 제시"는 APC 상에서 MHC 클래스 I 및 클래스 II 분자를 경유해 T 세포에 외생성 단백질 항원을 제공함을 지칭한다.

[0108] 본원에 사용될 경우, 용어 "T 세포 매개된 반응"은 T 세포, 예컨대 이펙터 T 세포(예를 들어, CD8⁺ 세포) 및 헬퍼 T 세포(예를 들어, CD4⁺ 세포)에 의해 매개된 임의의 반응을 지칭한다. T 세포 매개된 반응으로는, 예를 들면, T 세포 세포독성 및 증식이 포함된다.

[0109] 본원에 사용될 경우, 용어 "세포독성 T 림프구(CTL: cytotoxic T lymphocyte) 반응"은 세포독성 T 세포에 의해 유도되는 면역 반응을 지칭한다. CTL 반응은 주로 CD8⁺ T 세포에 의해 매개된다.

[0110] 본원에 지칭될 경우 용어 "항체"는 전체 항체 및 임의의 항원 결합 단편(즉, "항원 결합 부분") 또는 이의 단일 쇄를 포함한다. "항체"는 한 바람직한 실시양태에서 디설파이드 결합에 의해 상호 연결된 2개 이상의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄를 포함하는 당단백질, 또는 이의 항원 결합 부분을 지칭한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변부(본원에 V_H로 약자화됨) 및 중쇄 불변부로 구성된다. 중쇄 불변부는 3가지의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변부(본원에 V_L로 약자화됨) 및 경쇄 불변부로 구성된다. 경쇄 불변부는 1가지 도메인, CL로 구성된다. V_H 및 V_L 영역은 추가로 과변이성의 영역들로 세분화되고, 상보성 결정 영역(CDR)으로 지칭되며, 보다 보존적이고, 골격구조 영역(FR: 골격구조 영역)으로 지칭되는 영역들 사이에 배치된다. 각각의 V_H 및 V_L은 3개의 CDR과 4개의 FR로 구성되고, 하기 순서로 아미노 말단으로부터 카복시 말단으로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변부는 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 포함한다. 항체의 불변부는 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 이펙터 세포) 및 고전적 보체계(complement system)의 제1 성분(Clq)을 비롯하여 숙주 조직 또는 인자로의 면역 글로불린의 결합을 매개할 수 있다.

[0111] 항체의 "항원 결합 부분"(또는 간단히 "항체 부분")이라는 용어는, 본원에 사용될 경우, 항원에 특이적으로 결합되는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다(예를 들어, 인간 DEC-205). 항체의 항원 결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 제시되어 왔다. 항체의 "항원 결합 부분"이라는 용어내에 포함되는 결합 단편의 예로는 (i) V_L, V_H, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 한지 영역에서 디설파이드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab')₂ 단편; (iii) V_H 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 암(arm)의 V_L 및 V_H 도메인의 Fv 단편, (v) V_H 도메인으로 구성된 dAb 단편(Ward et al., (1989) *Nature* 341:544-546); 및 (vi) 단리된 상보성 결정 영역(CDR) 또는 (vii) 합성

연결기에 의해 선택가능하게 연결된 둘 이상의 단리된 CDR의 조합이 포함된다. 추가로, Fv 단편, V_L 및 V_H의 2개의 도메인이 별도의 유전자에 의해 코딩될 자라도, 이들은 V_L 및 V_H 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성하는 단일 단백질 쇄(단일 쇄(scFv: single chain Fv)로 공지됨; 예를 들어, 문헌[Bird et al. (1988) *Science* 242:423-426]; 및 [Huston et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5879-5883] 참조)로서 만들어질 수 있도록 하는 합성 연결기에 의해, 재조합 방법을 사용하여 연결될 수 있다. 이러한 단일 쇄 항체는 또한 항체의 "항원 결합 부분"이라는 용어내에 포함되도록 의도된다. 이들 항체 단편은 당 분야의 숙련가에게 공지된 통상의 기법을 사용하여 수득되고, 단편은 온전한(intact) 항체와 동일한 방식으로 효용성에 대해 스크리닝된다. 항원 결합 부분은 재조합 DNA 기법, 또는 온전한 면역글로불린의 효소적 또는 화학적 분할에 의해 생산될 수 있다.

[0112] "이중특이성" 또는 "이작용성 항체"는 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공 하이브리드 항체이다. 이중특이성 항체는 Fab' 단편의 연결 또는 하이브리도마의 융합을 비롯한 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Songsivilai & Lachmann, *Clin. Exp. Immunol.* 79:315-321 (1990); Kostelny et al., *J. Immunol.* 148, 1547-1553 (1992)]을 참조한다.

[0113] 용어 "단일클론 항체"는, 본원에 사용될 경우 특별한 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타내는 항체를 지칭한다. 따라서, 용어 "인간 단일클론 항체"는 단일 결합 특이성을 나타내고 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유도된 가변성이고 선택적인 불변부를 갖는 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 인간 단일클론 항체는 유전자이식 비인간 동물, 예를 들어, 유전자이식 마우스로부터 수득되고, 불사화세포(immortalized cell)로 융합되는 인간 중쇄 이식유전자 및 경쇄 이식유전자를 포함하는 게놈을 갖는 B 세포를 포함하는 하이브리도마에 의해 생산된다.

[0114] 용어 "재조합 인간 항체"는, 본원에 사용될 경우, 재조합 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나 단리된 모든 인간 항체, 예컨대 (a) 인간 면역글로불린 유전자에 대한 유전자이식 또는 염색체이식(transchromosomal) 동물(예를 들어, 마우스)로부터 단리된 항체 또는 이로부터 제조된 하이브리도마, (b) 항체를, 예를 들어 형질감염체(transfectoroma)로부터 발현시키도록 형질전환된 숙주세포로부터 단리된 항체, (c) 재조합, 조합적 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 및 (d) 다른 DNA 서열로의 인간 면역글로불린 유전자 서열의 스플라이싱을 비롯한 임의의 다른 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나 또는 단리된 항체를 포함한다. 이러한 재조합 인간 항체는 생식계열 유전자에 의해 코딩되는 특별한 인간 생식계열 면역글로불린 서열을 이용하는 가변성 및 불변부를 포함하지만, 후속적 재배열, 및 예를 들면 항체 성숙 동안 발생되는 성숙을 포함한다. 당 분야에 공지된 바와 같이(예를 들어, 문헌[Lonberg (2005) *Nature Biotech.* 23(9): 1117- 1125] 참조), 가변부는 항원 결합 도메인을 함유하고, 이는 외래 항원에 특이적인 항체를 형성하도록 재배열된 다양한 유전자에 의해 코딩된다. 재배열에 더하여, 가변부는 추가로 다수의 단일 아미노산 변화에 의해 추가로 변형되어(체세포 돌연변이 또는 과돌연변이로 지칭됨) 외래 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시킬 수 있다. 불변부는 항원으로의 추가의 반응을 변화시킬 것이다(즉, 이소형 스위치(switch)). 따라서, 항원에 대한 반응으로 경쇄 및 중쇄 면역글로불린 폴리펩티드를 코딩하는 재배열되고 체세포 돌연변이된 핵산 분자는 고유의 핵산 분자와의 서열 동일성을 갖지 않지만, 그 대신 실질적으로 동일하거나 유사할 것이다(즉, 80% 이상의 동일성을 가짐)

[0115] 용어 "인간 항체"는 인간 생식계열 면역글로불린 서열의 가변성 및 불변부(존재할 경우)을 갖는 항체를 포함한다. 본 발명의 인간 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 코딩되지 않은 아미노산 잔기를 포함할 수 있다(예를 들어, 시험관내에서 랜덤 또는 부위 특이적 돌연변이 생성에 의해, 또는 생체내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)(문헌[Lonberg, N. et al. (1994) *Nature* 368(6474): 856-859]; [Lonberg, N. (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113:49-101]; [Lonberg, N. and Huszar, D. (1995) *Intern. Rev. Immunol.* Vol. 13: 65-93], 및 [Harding, F. and Lonberg, N. (1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci* 764:536-546] 참조). 그러나, 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 생식계열로부터 유도된 CDR 서열이 인간 골격구조 서열 상으로 그래프팅된 항체(즉, 인간화된 항체)를 포함하지 않는다.

[0116] 본원에 사용될 경우, "이종성 항체"는 이러한 항체를 생산하는 유전자이식 비인간 유기체와 관련하여 정의된다. 이 용어는 유전자이식 비인간 동물로 구성되지 않은 유기체에서, 및 일반적으로 유전자이식 비인간 동물 이외의 다른 종으로부터 발견되는 서열에 상응하는 아미노산 서열 또는 코딩 핵산 서열을 갖는 항체를 지칭한다.

[0117] "단리된 항체"는, 본원에 사용될 경우, 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 존재하지 않는 항체를 지칭하도록 의도된다(예를 들어, 인간 DEC-205에 특이적으로 결합된 단리된 항체에 인간 DEC-205 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 존재하지 않는다). 그러나, 에피토프에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 상이한 종으로부터의 다른 DEC-205 단백질에 교차반응성을 가질 수 있다. 그러나, 항체는 바람직하게

는 항상 인간 DEC-205에 결합한다. 또한, 단리된 항체에는 전형적으로 다른 세포 물질 및/또는 케미칼이 실질적으로 존재하지 않는다. 본 발명의 한 실시양태에서, 상이한 DEC-205 특이성을 갖는 "단리된" 항체의 조합물은 잘 한정된 조성물에서 조합진다.

[0118] 용어 "에피토프" 또는 "항원 결정자"는 면역글로불린 또는 항체가 항원 상에서 특이적으로 결합하는 부위를 지칭한다. 에피토프는 단백질의 3차 폴딩(folding)에 의해 병치된 비연속된 아미노산 또는 연속된 아미노산 둘다로부터 형성될 수 있다. 연속된 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 노출될 경우 전형적으로 보유되는 반면, 3차 폴딩에 의해 형성되는 에피토프는 변성 용매로의 처리시 전형적으로 손실된다. 에피토프는 전형적으로 특유의 공간 배좌로 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 아미노산을 포함한다. 에피토프의 공간 배좌를 결정하는 방법으로는 당 분야의 기법 및 본원에 기재된 기법, 예를 들면, x-선 결정학(crystallography) 및 2차원 핵자기 공명이 포함된다(예를 들어, 문헌[*Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology*, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)]을 참고한다). 이 경우, 에피토프는 바람직하게는 인간 DEC-205의 세포의 도메인에, 예를 들면 인간 DEC-205의 C형 톤인 유사 도메인 10개중 하나 이상, 시스테인 풍부 도메인, FnII 도메인중 하나 또는 이의 조합에 위치된다.

[0119] 본원에 사용될 경우, 용어 "특이적 결합", "선택적 결합", "선택적으로 결합하는", 및 "특이적으로 결합하는"은 예정된 항원 상에서 에피토프에 결합하는 항체를 지칭한다. 전형적으로, 항체는 표면 플라스몬 공명(SPR) 기법에 의해 비아코어(BIACORE) 2000 기기에서 재조합 인간 DEC-205를 분석물질로서 항체를 리간드로서 사용하여 결정할 경우 대략 10^{-7} M 미만, 예컨대 대략 10^{-8} M, 10^{-9} M 또는 10^{-10} M 미만 또는 이보다 더 적은 평형 해리 상수 (equilibrium dissociation constant (K_D)))로 결합하고, 예정된 항원 또는 매우 관련된 항원 이외의 비특이적 항원(예를 들어, BSA, 카제인)에 결합하기 위한 친화도에 비해 2배 이상 더 큰 친화도로 예정된 항원에 결합한다. "항원 인식 항체" 및 "항원에 특이적인 항체"라는 문구는 본원에서 "항원에 특이적으로 결합하는 항체"라는 용어와 상호교환적으로 사용된다

[0120] 또한 동일한 에피토프에 결합하는 항체 및/또는 인간 DEC-205로의 결합에 대해 본원에 기재된 항체와 경쟁하는 항체가 본원에 포함된다. 동일한 에피토프를 인식하거나 결합에 경쟁하는 항체는 일상적 기법을 사용하여 동정될 수 있다. 이러한 기법으로는, 예를 들면, 표적 항원에 또다른 항체가 결합하는 것을 차단하는 항체의 능력을 보여주는 면역검정, 즉 경쟁적 결합 검정이 포함된다. 경쟁적 결합은 시험하의 면역글로불린이 기준 항체가 공통의 항원, 예컨대 DEC-205에 특이적으로 결합하는 것을 저해하는 검정에서 결정된다. 다수의 유형의 경쟁적 결합 검정은 공지되어 있고, 예를 들면: 고체 상의 직접 또는 간접 방사선면역검정(RIA: radioimmunoassay), 고체 상의 직접 또는 간접 효소 면역검정(EIA: enzyme immunoassay), 샌드위치 경쟁 검정(문헌[Stahli et al., *Methods in Enzymology* 9:242 (1983)] 참조); 고체 상의 직접 비오틴-아비딘 EIA(문헌[Kirkland et al., *J. Immunol.* 137:3614 (1986)] 참조); 고체 상의 접적 표지된 검정, 고체 상의 직접 표지된 샌드위치 검정(문헌[Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press (1988)] 참조); I-125 표지를 사용하는 고체 상의 접적 표지 RIA(Morel et al., *Mol. Immunol.* 25(1):7 (1988)); 고체 상의 직접 비오틴-아비딘 EIA(Cheung et al., *Virology* 176:546 (1990)); 및 직접 표지된 RIA(Moldenhauer et al., *Scand. J. Immunol.* 32:77 (1990))이다. 전형적으로, 이러한 검정은 고체 표면에 결합된 정제된 항원 또는 이들을 갖는 세포, 미표지 시험 면역글로불린 및 표지 기준 면역글로불린의 사용을 포함한다. 경쟁적 저해는 시험 면역글로불린의 존재하에 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지의 양을 결정함으로써 측정된다. 일반적으로, 시험 면역글로불린은 과량으로 존재한다. 일반적으로, 경쟁 항체가 과량으로 존재할 경우, 이는 공통의 항원에 대한 기준 항체의 특이적 결합을 적어도 50~55%, 55~60%, 60~65%, 65~70%, 70~75% 또는 그 이상으로 저해할 것이다.

[0121] 다른 기법으로는, 예를 들면, 에피토프 매핑(mapping) 방법, 예컨대, 에피토프의 원자 분해를 제공하는 항원:항체 복합체 결정의 x-선 분석이 포함된다. 다른 방법들은 항체가 항원 단편 또는 항원의 돌연변이된 변이체로 결합하는 것을 모니터링하고, 여기서 항원 서열내의 아미노산 잔기의 변형에 기인한 결합 손실은 종종 에피토프 성분의 정후로 고려된다. 또한, 에피토프 매핑을 위한 컴퓨터산출(computational) 조합 방법이 사용될 수 있다. 이를 방법은 조합 과아지 디스플레이 웹티드 라이브러리로부터 특이적 단편 웹티드를 친화도 단리하는데 관심있는 항체의 능력에 의존한다. 이어서 웹티드는 웹티드 라이브러리를 스크리닝하기 위해 사용되는 항체에 상응하는 에피토프의 정의를 위한 표준으로서 간주된다. 에피토프 매핑을 위해, 배좌적 비연속된 에피토프를 매핑하는 것으로 제시된 컴퓨터산출 알고리즘이 또한 개발되어 왔다.

[0122] 용어 " K_D "는, 본원에 사용될 경우, 특별한 항체-항원 상호작용의 해리 평형 상수를 지칭하는 것으로 의도된다. 전형적으로, 본 발명의 인간 항체는 표면 플라스몬 공명(SPR) 기법에 의해 비아코어 2000 기기에서 재조합 인간

DEC-205를 분석물질로서 사용하고 항체를 리간드로서 사용하여 결정할 경우 대략 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M 미만 또는 10^{-10} M 또는 이보다 더 적은 해리 평형 상수(K_D)로 DEC-205에 결합한다.

- [0123] 용어 "kd"는, 본원에 사용될 경우, 항체/항원 복합체로부터의 항체의 해리를 위한 해리율(off rate) 상수를 지칭하도록 의도된다.
- [0124] 용어 "ka"는, 본원에 사용될 경우, 항체와 항원의 회합을 위한 결합률(on rate) 상수를 지칭하도록 의도된다.
- [0125] 용어 "EC50"은, 본원에 사용될 경우, 시험관내 또는 생체내 검정에서 최대 반응의 50%인 반응, 즉 최대 반응 및 기선 사이의 중간 반응을 유도하는, 항체 또는 이의 항원 결합 부분의 농도를 지칭한다.
- [0126] 본원에 사용될 경우, "이소형"은 중쇄 불변부 유전자에 의해 코딩되는 항체 클래스(예를 들어, IgM 또는 IgG1)를 지칭한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 인간 단일클론 항체는 IgG1 이소형의 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 인간 단일클론 항체는 IgG2 이소형의 항체이다.
- [0127] 용어 "고정화된 DEC-205에 결합하는"은, 예를 들면, 고체 지지체에 부착되거나 세포의 표면 상에서 발현된 DEC-205에 결합하는 본 발명의 인간 항체의 능력을 지칭한다.
- [0128] 용어 "교차반응하는"은, 본원에 사용될 경우, 상이한 종으로부터의 DEC-205에 결합하는 본 발명의 항체의 능력을 지칭한다. 예를 들면, 인간 DEC-205에 결합하는 본 발명의 항체는 또한 키노몰구스 DEC-205에 결합할 수 있다. 본원에 사용될 경우, 교차반응성은 정제된 항원과의 특이적 반응성을 결합 검정(예를 들어, SPR, ELISA)에서 검출하거나, DEC-205를 생리학적으로 발현하는 세포에 결합시키거나 또는 이와 작용적으로 상호작용시킴으로써 측정된다. 교차반응성을 결정하는 방법으로는 본원에 기재된 바와 같은 표준 결합 검정, 예를 들면, 비아코어™ 2000 SPR 기기(비아코어 AB, 스웨덴 옵살라 소재)를 사용하는 비아코어™ 표면 플라스몬 공명(SPR) 분석에 의한 결합, 또는 예를 들면 유세포 분석 기법에 의하여 관련된 종으로부터의 DEC-205 발현 세포(예를 들어, 수지상 세포)로의 결합이 포함된다.
- [0129] 본원에 사용될 경우, "이소형 스위칭"은 항체의 클래스 또는 이소형이 한 Ig 클래스에서 다른 Ig 클래스중 하나로 변화하는 현상을 지칭한다.
- [0130] 본원에 사용될 경우, "스위칭되지 않은 이소형"은 이소형 스위칭이 발생되지 않을 경우 생산되는 중쇄의 이소형 클래스를 지칭하고; 전형적으로, 스위칭되지 않은 이소형을 코딩하는 CH 유전자는 작용적으로 재배열된 VDJ 유전자로부터 바로 다운스트림의 제1 CH 유전자이다. 이소형 스위칭은 고전적 또는 비고전적 이소형 스위칭으로 분류된다. 고전적 이소형 스위칭은 이식유전자중에 하나 이상의 스위치 서열 영역을 포함하는 재조합에 의해 초래된다. 비고전적 이소형 스위칭은, 예를 들면, 인간 σ_{μ} 및 인간 Σ_{μ} (δ -연관된 결실) 사이의 동종성 재조합에 의해 초래될 수 있다. 다른 비고전적 스위칭 기작, 예컨대 이식유전자간 및/또는 염색체간 재조합은 이소형 스위칭을 초래하고 실행한다.
- [0131] 본원에 사용될 경우, 용어 "스위치 서열"은 스위치 재조합에 책임이 있는 이들 DNA 서열을 지칭한다. "스위치 도너(donor)" 서열, 전형적으로 μ 스위치 영역은 스위치 재조합 동안 결실되는 구조물 영역의 5'(즉, 업스트림)이다. "스위치 억셉터(acceptor)" 영역은 결실된 구조물 영역과 대체 불연속 영역 사이일 것이다(예를 들어, γ , ϵ 등). 재조합이 항상 초래되는 특이적 부위가 존재하지 않을 경우, 최종 유전자 서열은 전형적으로 구조물로부터 예측할 수 없을 것이다.
- [0132] 본원에 사용될 경우, "당화(glycosylation) 패턴"은 단백질, 보다 구체적으로 면역글로불린 단백질에 공유 결합되는 탄수화물 단위의 패턴으로 정의된다. 당 분야의 숙련가가 이종성 항체의 당화 패턴을, 이식유전자의 CH 유전자가 유도되는 종에 비해 비인간 유전자이식 동물의 종에서의 상기 당화 패턴과 보다 유사한 것으로 인식할 경우, 이종성 항체의 당화 패턴은 비인간 유전자이식 동물의 종에 의해 생산되는 항체 상에 자연적으로 초래되는 당화 패턴과 실질적으로 유사한 것을 특징으로 할 수 있다.
- [0133] 용어 "자연 발생"은, 어떤 대상에 적용되어 본원에 사용될 경우, 대상이 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 지칭한다. 예를 들면, 자연에서의 근원으로부터 단리될 수 있고 실험실에서 인간에 의해 의도적으로 변형되지 않은 유기체(바이러스 포함)에 존재하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 자연 발생적이다.
- [0134] 용어 "재배열된"은, 본원에 사용될 경우 중쇄 또는 경쇄 면역글로불린 자리(locus)의 배위(configuration)를 지칭하고, 여기서 V 분절은 본질적으로 완벽한 V_H 또는 V_L 도메인을 각각 코딩하는 배좌에서 D-J 또는 J 분절에 적

접 인접하여 위치된다. 재배열된 면역글로불린 유전자 자리는 생식계열 DNA와의 비교에 의해 확인될 수 있고; 재배열된 자리는 하나 이상의 재조합된 7량체/9량체 상동 요소를 가질 것이다.

[0135] 용어 "재배열되지 않은" 또는 "생식계열 배위"는, V 분절에 대해 본원에 사용될 경우 D 또는 J 분절에 직접 인접하도록 재조합되지 않는 배위를 지칭한다.

[0136] 용어 "핵산 분자"는, 본원에 사용될 경우, DNA 분자 및 RNA 분자를 포함하도록 의도된다. 핵산 분자는 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있지만, 바람직하게는 이중 가닥 DNA이다.

[0137] 용어 "단리된 핵산 분자"는, DEC-205에 결합하는 항체 또는 항체 부분(예를 들어, V_H, V_L, CDR3)을 코딩하는 핵산에 대하여 본원에 사용될 경우, 항체 또는 항체 부분을 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 DEC-205 이외의 다른 항원에 결합하는 항체 또는 항체 부분을 코딩하는 다른 뉴클레오티드 서열(이러한 다른 서열은 인간 게놈성 DNA에서 핵산을 자연적으로 플랭크할 수 있음)이 포함되지 않는 핵산 분자를 지칭하고자 한다. 예를 들면, 서열 번호 2, 3(신호 웨프티드가 있음)/4(신호 웨프티드가 없음), 및 서열 번호 8, 9(신호 웨프티드가 있음)/10(신호 웨프티드가 없음)은 각각 본 발명의 인간 항-DEC-205 항체 3D6-2F4의 중쇄(V_H) 및 경쇄(V_L) 가변부를 포함하는 뉴클레오티드 및 아미노산 서열에 상응한다. 특별히, 서열 번호 2 및 3/4는 각각 3D6-2F4 항체의 V_H의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열에 상응하고, 서열 번호 8 및 9/10는 각각 3D6-2F4 항체의 V_L의 뉴클레오티드 및 아미노산 서열에 상응한다.

[0138] 본 발명은 또한 서열 번호 2~91에 제시된 서열의 "보존적 서열 변형체체", 즉 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩되거나 아미노산 서열을 함유하는 항체의 항원으로의 결합을 무효화시키지 않는 뉴클레오티드 및 아미노산 서열 변형체를 포함한다. 이러한 보존적 서열 변형체로는 보존적 뉴클레오티드 및 아미노산 치환, 뿐만 아니라, 뉴클레오티드 및 아미노산 첨가 및 결실이 포함된다. 예를 들면, 변형은 서열 번호 2~91내로 당 분야에 공지된 표준 기법, 예컨대 부위 지향된 돌연변이생성 및 PCR-매개된 돌연변이생성에 의해 도입될 수 있다. 보존적 아미노산 치환으로는 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체되는 것이 포함된다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 계열은 당 분야에 정의되어 있다. 이들 계열로는 염기성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 라이신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 하전되지 않은 극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 알라닌, 발린, 로이신, 이소로이신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타 분지화된 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소로이신) 및 방향족 측쇄를 갖는 아미노산(예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)이 포함된다. 따라서, 인간 항-DEC-205 항체중 예측되는 비필수 아미노산 잔기는 바람직하게는 동일한 측쇄 계열로부터 또 다른 아미노산 잔기로 대체된다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오티드 및 아미노산 보존적 치환을 확인하는 방법은 당 분야에 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Brummell et al., *Biochem.* 32:1180-1187 (1993)]; [Kobayashi et al. *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999)]; 및 [Burks et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997)] 참조).

[0139] 다르게는, 또 다른 실시양태에서, 돌연변이는 항-DEC-205 항체 코딩 서열의 모두 또는 일부를 따라 랜덤하게, 예컨대 포화 돌연변이생성에 의해 도입될 수 있고, 생성된 변형된 항-DEC-205 항체는 결합 활성에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0140] 핵산의 경우, 용어 "실질적 상동성"은 2개의 핵산 또는 이의 표시된 서열이, 선택가능하게 정렬되고 비교될 경우, 적절한 뉴클레오티드 삽입 또는 결실에 의해 뉴클레오티드의 약 80% 이상, 통상적으로 뉴클레오티드의 약 90%~95% 이상, 보다 바람직하게는 약 98%~99.5% 이상 동일함을 나타낸다. 다르게는, 실질적 상동성은 분절이 선택적 하이브리드화 조건하에 가닥의 보체로 하이브리드화할 경우 존재한다.

[0141] 2개의 서열 사이의 동일성 퍼센트는, 캡의 수 및 각 캡의 길이를 고려하여, 서열에 의해 공유된 동일한 위치의 수에 대한 함수이고(즉, 상동성%=동일한 위치의 수/위치의 총 수×100), 이는 2개의 서열의 최적의 정렬을 위해 도입될 필요가 있다. 서열의 비교 및 2개의 서열 사이의 동일성 퍼센트의 결정은, 하기 비제한적 실시예에 기재된 바와 같이, 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다.

[0142] 2개의 뉴클레오티드 서열 사이의 동일성 퍼센트는, NWSgapDNA.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70, 또는 80의 캡 중량과 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 중량을 이용하여, GCG 소프트웨어 패키지(<http://www.gcg.com>에서 이용 가능함)에서 GAP 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다. 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 동일성 퍼센트는 문헌[E. Meyers and W. Miller, *CABIOS*, 4:11-17 (1989)]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있는데,

이는 PAM120 중량 잔기 표, 12의 갭 길이 페널티(penalty) 및 4의 갭 페널티를 사용하는 ALIGN 프로그램(버전 2.0)으로 훈련된다. 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성 퍼센트는 문헌[Needleman and Wunsch, *J. Mol. Biol.*, (48):444-453 (1970)]의 알고리즘을 사용하여 측정될 수 있는데, 이는 블로섬(Blossum) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4의 갭 중량과 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6의 길이 중량을 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지(<http://www.gcg.com>에서 이용가능함)에서 GAP 프로그램에 의해 훈련된다.

[0143]

본 발명의 핵산 및 단백질 서열은 추가로 공공 데이터베이스에 대한 조사를 수행하기 위해, 예를 들어, 관련된 서열을 확인하기 위해 "질문(query) 서열"로서 사용될 수 있다. 이러한 조사는 문헌[Altschul, et al. (1990), *J. Mol. Biol.*, 215:403-10]에 기재된 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)을 사용하여 수행될 수 있다. BLAST 뉴클레오티드 조사는 본 발명의 핵산 분자에 대한 뉴클레오티드 서열 상동성을 수득하기 위해 NBLAST 프로그램(스코어=100, 단어길이=12)을 사용하여 수행될 수 있다. BLAST 단백질 조사는 본 발명의 단백질 분자에 대한 아미노산 서열 상동성을 수득하기 위해 XBLAST 프로그램(스코어=50, 단어길이=3)을 사용하여 수행될 수 있다. 비교 목적을 위한 갭을 갖는(gapped) 정렬을 수득하기 위해, 갭을 갖는 BLAST가 문헌[Altschul et al., (1997) *Nucleic Acids Res.*, 25(17):3389-3402]에 기재된 바와 같이 활용될 수 있다. BLAST 및 갭을 갖는 BLAST 프로그램을 활용할 경우, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트(default) 매개변수가 이용될 수 있다. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>를 참조한다.

[0144]

핵산은 전체 세포, 세포 용해물에, 또는 부분적으로 정제되거나 실질적으로 순수한 형태로 존재할 수 있다. 핵산은, 다른 세포 성분 또는 다른 오염물질, 예를 들어 다른 세포 핵산 또는 단백질로부터, 알칼리성/SDS 처리, CsCl 밴딩(banding), 칼럼 크로마토그래피, 아가로스 겔 전기이동 및 당 분야에 공지된 기타 기법을 비롯한 표준 기법에 의해 정제될 경우, "단리되거나" "실질적으로 순수한 형태로 만들어진다". 문헌[F. Ausubel, et al., ed. *Current Protocols in Molecular Biology*, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York (1987)]을 참조한다.

[0145]

본 발명의 핵산 조성물은, 종종 고유 서열(변형된 제한 부위 등을 제외함)로 존재하는 동안, cDNA, 게놈 또는 이의 혼합물로부터 표준 기법에 따라 돌연변이되어 유전자 서열을 제공할 수 있다. 서열을 코딩하기 위해, 이들 돌연변이는 원할 경우 아미노산 서열에 영향을 줄 수 있다. 특별히, 고유 V, D, J, 불변성 스위치와 실질적으로 상동성이거나 이로부터 유도되는 DNA 서열 및 본원에 기재된 다른 이러한 서열이 고려된다(여기서 "유도되는"은 서열이 동일하거나 다른 서열로부터 변형됨을 나타낸다).

[0146]

핵산은 또 다른 핵산 서열과 작용적 관계로 위치될 경우 "작동적으로(operably) 연결"된다. 예를 들어, 프로모터(promoter) 또는 인핸서(enhancer)는, 이것이 서열의 전사에 영향을 준다면, 코딩 서열에 작동적으로 연결된다. 전사 조절 서열에 관하여, 작동적으로 연결된다 함은 연결된 DNA 서열이 연속되고, 2개의 단백질 코딩 영역을 연결시킬 필요가 있을 경우, 연속되고 광독 프레임에 존재함을 의미한다. 스위치 서열의 경우, 작동적으로 연결된다 함은 서열이 스위치 재조합에 영향을 줄 수 있음을 나타낸다.

[0147]

용어 "벡터"는, 본원에 사용될 경우, 이것이 연결되는 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자를 지칭하도록 의도된다. 벡터의 한 유형은 "플라스미드"이고, 이는 추가의 DNA 분절이 결찰될 수 있는 환형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭한다. 벡터의 다른 유형은 바이러스성 벡터이고, 여기서 추가의 DNA 분절은 바이러스 게놈내로 결찰될 수 있다. 특정 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포(예를 들어, 복제의 박테리아 기원을 갖는 박테리아 벡터 및 에피솜성 포유동물 벡터)에서 자가 복제할 수 있다. 다른 벡터(예를 들어, 비에피솜성 포유동물 벡터)는 숙주 세포에의 도입시 숙주 세포의 게놈내로 조립될 수 있고, 이에 따라 숙주 게놈과 함께 복제된다. 더욱이, 특정 벡터는 이들이 작동적으로 연결되는 유전자의 발현을 유도할 수 있다. 이러한 벡터는 본원에 "재조합 발현 벡터"(또는 단순히, "발현 벡터")로 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기법에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드의 형태이다. 본 명세서에서, "플라스미드" 및 "벡터"는 상호교환적으로 사용될 수 있는데, 이는 플라스미드가 가장 흔히 사용되는 벡터의 형태이기 때문이다. 그러나, 본 발명은 이러한 다른 형태의 발현 벡터, 예컨대 동등한 작용을 하는 바이러스성 벡터(예를 들어, 복제 결합 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노 연관된 바이러스)를 포함하고자 한다.

[0148]

용어 "재조합 숙주 세포"(또는 단순히 "숙주 세포")는, 본원에 사용될 경우, 재조합 발현 벡터가 도입되는 세포를 지칭하고자 한다. 이러한 용어는 특별한 과학적 세포 뿐만 아니라 이러한 세포의 자손을 지칭하고자 함을 알아야 한다. 특정한 변형은 돌연변이 또는 환경의 영향으로 인해 다음 세대에서 초래될 수 있기 때문에, 이러한 자손은 사실 모 세포와 동일하지 않을 수 있지만, 여전히 본원에 사용될 경우 "숙주 세포"라는 용어의 범주내에 포함된다.

- [0149] 용어 "항원 제시 세포" 또는 "APC"는 그의 표면 상에서 MHC와 결합되는 외래 항원을 표시하는 세포이다. T-세포는 T-세포 수용체(TCR: T-cell receptor)를 사용하여 상기 복합체를 인식한다. APC의 예로는, 제한되지 않지만, 수지상 세포(DC), 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 단핵구(예컨대 THP-1), B 림포블라스토이드 세포(예컨대 C1R.A2, 1518 B-LCL) 및 단핵구-유도된 수지상 세포(DC)가 포함된다. 몇몇 APC는 식세포작용(phagocytosis) 또는 수용체 매개된 세포이물흡수(endocytosis)에 의해 항원을 내재화한다. APC 수용체의 예로는, 제한되지 않지만, C형 렉틴, 예컨대, 인간 수지상 및 상피 세포 205 수용체(DEC-205), 및 인간 대식세포 만노스 수용체가 포함된다.
- [0150] 용어 "항원 제공"은 APC가 항원을 포획하고, 예를 들어 MHC-I 및/또는 MHC-II 컨쥬케이트의 성분으로서 T-세포에 의해 이들을 인식할 수 있는 과정을 지칭한다.
- [0151] 용어 "면역 반응을 유도하는" 및 "면역 반응을 증진시키는"은 상호교환적으로 사용되고, 특별한 항원에 대한 면역 반응의 자극(즉, 수동적 또는 순응적)을 지칭한다.
- [0152] 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는, 본원에 사용될 경우, 본원에 기재된 치료학적 또는 예방학적 척도를 지칭한다. "치료"의 방법은, 질환의 하나 이상의 증후 또는 재발되는 질환을 방지하거나, 치유하거나, 자연시키거나, 그 위중성을 감소시키거나, 경감시키기 위해, 또는 이러한 치료의 부재시에 예상되는 것 보다 더 피험체의 생존을 연장시키기 위해, 치료가 필요한 피험체, 예를 들면 특별한 항원에 대한 증진된 면역 반응이 필요한 피험체, 또는 궁극적으로 이러한 질환을 앓을 수 있는 피험체에 본 발명의 인간 항체를 투여함을 사용한다.
- [0153] 용어 "유효 용량" 또는 "유효량"은 원하는 효과를 달성하거나 적어도 부분적으로 달성하기에 충분한 양으로 정의된다. 용어 "치료 유효량"은 치유에 충분한 양 또는 질병을 이미 앓고 있는 환자에서 그 질병 및 그의 합병증을 치유하거나 적어도 부분적으로 저지시키기에 충분한 양으로 정의된다. 상기 용도에 효과적인 양은 치료될 질환의 위중성 및 환자 자신의 면역계의 일반적 상태에 좌우될 것이다.
- [0154] 용어 "환자"는 예방학적 또는 치료학적 처리를 받는 인간 및 다른 포유동물 피험체를 포함한다.
- [0155] 본원에 사용될 경우, 용어 "피험체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 예를 들면, 본 발명의 방법 및 조성물은 면역 질환을 갖는 피험체를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 용어 "비인간 동물"은 모든 척추동물, 예를 들어, 포유동물 및 비포유동물, 예컨대 비인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류, 과충류 등을 포함한다.
- [0156] 본 발명의 다양한 양태는 하기 하위섹션에서 추가로 상세히 설명된다.
- [0157] I. DEC-205에 대한 항체의 생산
- [0158] 본 발명은 DEC-205, 예를 들어, 인간 DEC-205에 결합하는 항체, 예를 들어, 완전 인간 항체를 포함한다. DEC-205에 결합하는 예시적인 단일클론 항체로는 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6, 5C3-2-3F6, 1E6-3D10 및 3A4-1C10이 포함된다.
- [0159] 본 발명의 단일클론 항체는 다양한 공지된 기법, 예컨대 문헌[Kohler and Milstein, *Nature* 256: 495 (1975)]에 기재된 표준 체세포 하이브리드화 기법을 사용하여 생산될 수 있다. 체세포 하이브리드화 절차가 특히 바람직할 지라도, 단일클론 항체를 생산하는 다른 기법, 예를 들어, B 림프구의 바이러스 또는 종양유전자 형질전환, 인간 항체 유전자의 라이브러리를 이용한 파아지 디스플레이 기법이 사용될 수도 있다.
- [0160] 따라서, 한 실시양태에서, 하이브리도마 방법이 인간 DEC-205에 결합하는 항체를 생산하기 위해 사용된다. 이 방법에서, 마우스 또는 다른 적절한 숙주 동물은 림프구를 유도하기 위해 적합한 항원으로 면역화될 수 있거나, 면역화를 위해 사용되는 항원에 특이적으로 결합할 항체를 생산할 수 있다. 다르게는, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다. 이어서 림프구는 적합한 용합제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 사용하여 골수종 세포와 용합하여 하이브리도마 세포를 형성할 수 있다(Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). 하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지는 항원에 대향하여 유도되는 단일클론 항체의 생산에 대해 검정된다. 원하는 특이성, 친화도 및/또는 활성의 항체를 생산하는 하이브리도마 세포가 동정된 후, 클론은 희석 절차를 제한하여 서브클로닝(subcloning)되고 표준 방법에 의해 성장한다(Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)). 이러한 목적을 위해 적합한 배양 배지로는, 예를 들면, D-MEM 또는 RPMI-1640 배지가 포함된다. 또한, 하이브리도마 세포는 동물에서 복수(ascites) 종양으로서 생체내에서 성장할 수 있다. 서브클론에 의해 분비되는 단일클론 항체는 배양 배지, 복수 체액 또는 혈청으로부터 통상의 면역글로불린 정제 절차, 예컨대, 예를 들면, 단백질 A-세파로즈(Sepharose), 하이드록실아파타이트(hydroxylapatite) 크로마토그래피, 젤 전기이동, 투석 또는 친화도 크로마토그래피에 의해 분리될 수 있다.

- [0161] 또 다른 실시양태에서, 인간 DEC-205에 결합하는 항체 및 항체 부분은, 예를 들면, 문헌[McCafferty et al., *Nature*, 348:552-554 (1990). Clackson et al., *Nature*, 352:624-628 (1991), Marks et al, *J. Mol. Biol.*, 222:581-597 (1991) and Hoet et al (2005) *Nature Biotechnology* 23, 344-348]; 미국 특허 제5,223,409호; 제5,403,484호; 및 제5,571,698호(Ladner et al); 미국 특허 제5,427,908호 및 제5,580,717호(Dower et al); 미국 특허 제5,969,108호 및 제6,172,197호(McCafferty et al); 및 미국 특허 제5,885,793호; 제6,521,404호; 제6,544,731호; 제6,555,313호; 6,582,915호 및 제6,593,081호(Griffiths)에 기재된 기법을 사용하여 생산되는 항체 파아지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 추가로, 쇄 셔플링(shuffling)에 의한 고친화도(nM 범위) 인간 항체의 생산(Marks et al., *Bio/Technology*, 10:779-783 (1992)), 뿐만 아니라 매우 큰 파아지 라이브러리를 작성하기 위한 전략으로서의 조합 감염 및 생체내 재조합 또한 사용될 수 있다(Waterhouse et al., *Nuc. Acids. Res.*, 21:2265-2266 (1993)).
- [0162] 한 구체적인 실시양태에서, 인간 DEC-205에 결합하는 항체는 상기 문헌 [Hoet et al.]에 기재된 파아지 디스플레이를 사용하여 생산된다. 이 기법은 인간 도너로부터 단리된 면역글로불린 서열의 특유의 조합을 갖고 중쇄 CDR에서 합성 다양성을 갖는 인간 Fab 라이브러리의 생성을 포함한다. 이어서 라이브러리는 인간 DEC-205에 결합하는 Fab에 대해 스크리닝된다.
- [0163] 본 발명의 항체를 생산하는 하이브리도마를 생성하기 위해 바람직한 동물계는 뮤린(murine)계이다. 마우스에서 하이브리도마 생산은, 면역화 프로토콜 및 면역화된 비장세포(splenocyte)를 단리하고 융합하는 기법을 포함하여 당 분야에 잘 공지되어 있다.
- [0164] 한 실시양태에서, DEC-205에 대향하여 유도되는 항체는 마우스계 보다는 인간 면역계의 부분을 운반하는 유전자 이식 또는 염색체이식 마우스를 사용하여 생성된다. 한 실시양태에서, 본 발명은 내생성 μ 및 κ 쇄 자리를 실활시키는 표적화된 돌연변이와 함께, 재배열되지 않은 인간 중쇄(μ 및 γ) 및 κ 경쇄 면역글로불린 서열을 코딩하는 인간 면역글로불린 유전자 미니로시(miniloci)를 함유하는 유전자이식 마우스(본원에 "HuMAb 마우스"로 지칭됨)를 사용한다(Lonberg, N. et al. (1994) *Nature* 368(6474): 856-859). 따라서, 마우스는 마우스 IgM 또는 κ 의 감소된 발현을 나타내고, 면역화에 반응하여, 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 이식유전자는 클래스 스위칭 및 체세포 돌연변이를 겪어 고친화도 인간 IgG κ 단일클론 항체를 생성한다(Lonberg, N. et al. (1994), supra; reviewed in Lonberg, N. (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113:49-101; Lonberg, N. and Huszar, D. (1995) *Intern. Rev. Immunol.* Vol. 13: 65-93, and Harding, F. and Lonberg, N. (1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci* 764:536-546). HuMAb 마우스의 제조는 하기 섹션 II 및 문헌[Taylor, L. et al. (1992) *Nucleic Acids Research* 20:6287-6295; Chen, J. et al. (1993) *International Immunology* 5: 647-656; Tuaiillon et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 90:3720-3724; Choi et al. (1993) *Nature Genetics* 4:117-123; Chen, J. et al. (1993) *EMBO J.* 12: 821-830; Tuaiillon et al. (1994) *J. Immunol.* 152:2912-2920; Lonberg et al., (1994) *Nature* 368(6474): 856-859; Lonberg, N. (1994) *Handbook of Experimental Pharmacology* 113:49-101; Taylor, L. et al. (1994) *International Immunology* 6: 579-591; Lonberg, N. and Huszar, D. (1995) *Intern. Rev. Immunol.* Vol. 13: 65-93; Harding, F. and Lonberg, N. (1995) *Ann. N.Y. Acad. Sci* 764:536-546; Fishwild, D. et al. (1996) *Nature Biotechnology* 14: 845-851]에 상세히 기재되어 있다. 추가로 미국 특허 제5,545,806호; 제5,569,825호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 제5,789,650호; 제5,877,397호; 제5,661,016호; 제5,814,318호; 제5,874,299호; 및 제5,770,429호(이들 모두 "Lonberg and Kay, and GenPharm International"); 미국 특허 제5,545,807호(Surani et al.); 국제 특허 출원 공개공보 제WO 98/24884호(1998년 6월 11일자로 공개됨); 제WO 94/25585호(1994년 11월 10일자로 공개됨); 제WO 93/1227호(1993년 6월 24일자로 공개됨); 제WO 92/22645호(1992년 12월 23일자로 공개됨); 제WO 92/03918호(1992년 3월 19일자로 공개됨)를 참조한다.
- [0165] 면역화
- [0166] DEC-205로의 완전 인간 항체를 생성하기 위해, 인간 면역글로불린 유전자를 함유한 유전자이식 또는 염색체이식 마우스(예를 들어, HCo12, HCo7 또는 KM 마우스)는, DEC-205 항원 및/또는 DEC-205 발현 세포의 정제되거나 강화된 제조물로, 예를 들면, 문헌[Lonberg et al. (1994) *Nature* 368(6474): 856-859; Fishwild et al. (1996) *Nature Biotechnology* 14: 845-851] 및 국제 특허 출원 공개공보 제WO 98/24884호에 기재된 바와 같이 면역화될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, HuMAb 마우스는 면역원으로서 DEC-205를 발현하는 세포주 또는 재조합 DEC-205 단백질로 면역화된다. 다르게는, 마우스는 인간 DEC-205를 코딩하는 DNA로 면역화될 수 있다. 바람직하게는, 마우스는 제1 주입시 6~16 주령일 것이다. 예를 들면, 재조합체 DEC-205 항원의 정제되거나 강화된 제조물(5~50 μ g)이 HuMAb 마우스를 복강내로 면역화하기 위해 사용될 수 있다. DEC-205 항원의 정제되거나 강화된

제조물을 사용하는 면역화가 항체를 생성하지 않는 경우, 마우스는 또한 DEC-205 발현 세포, 예를 들어, 세포주에 의해 면역화되어 면역 반응을 촉진시킬 수 있다. 예시적인 세포주로는 DEC-205 과 발현 안정성 CHO 및 Raji 세포주가 포함된다.

[0167] 다양한 항원에 의한 축적된 경험으로, HuMAb 유전자이식 마우스는 완전 프렌드 보조제(complete Freund's adjuvant)중의 항원에 의해 복강내로(IP: intraperitoneally) 또는 피하로(SC:subcutaneously) 초기에 면역화되고, 이어서 격주마다 불완전 프렌드 보조제(incomplete Freund's adjuvant)중의 항원에 의해 IP/SC 면역화(총 10회 까지)될 경우 최상으로 반응함이 제시되었다. 면역 반응은 안와후(retroorbital) 채혈에 의해 수득된 혈장 샘플에 의해 면역화 프로토콜의 과정에 대해 모니터링될 수 있다. 혈장은 ELISA에 의해 스크리닝될 수 있고(아래에 기재된 바와 같음), 항-DEC-205 인간 면역글로불린의 충분한 역가를 갖는 마우스가 융합을 위해 사용될 수 있다. 마우스는 희생 및 비장 제거 3일전에 정맥내로 항원을 접종받을 수 있다.

[0168] DEC-205에 대한 단일클론 항체를 생산하는 하이브리도마의 생성

[0169] DEC-205에 대한 단일클론 항체를 생산하는 하이브리도마의 생성하기 위해, 면역화된 마우스로부터의 비장세포 및 림프절 세포는 단리되고 적절한 불사화 세포주, 예컨대 마우스 골수종 세포주에 융합될 수 있다. 이어서, 생성된 하이브리도마는 항원 특이적 항체의 생산에 대해 스크리닝될 수 있다. 예를 들면, 면역화된 마우스로부터의 비장 림프구의 단일 세포 혼탁액은 SP2/0-Ag8.653 비분비 마우스 골수종 세포(ATCC, CRL 1580)로 50% PEG(w/v)에 의해 융합될 수 있다. 세포는 편평한 바닥의 미세역가 플레이트에 대략 1×10^5 로 플레이팅될 수 있고, 이후 통상의 시약 이외에 10% 태아 클론 혈청(fetal Clone Serum), 5~10% 오리겐(origen) 하이브리도마 클로닝 인자(아이겐(IGEN)) 및 IX HAT(시그마(Sigma))를 함유하는 선택 배지에서 2주 동안 항온처리된다. 대략 2주 후, 세포는 HAT가 HT로 대체된 배지에 배양될 수 있다. 이어서, 개개의 웨는 ELISA에 의해 인간 항-DEC-205 단일클론 IgM 및 IgG 항체에 대해, 또는 DEC-205 발현 세포, 예를 들어, DEC-205 발현 CHO 세포주로의 결합에 대해 형광물질 연결된 면역흡착 검정(FLISA: fluorescence-linked immunosorbent assay)에 의해 스크리닝될 수 있다. 일단 광범위한 하이브리도마 성장이 초래되면, 배지는 통상적으로 10~14일 이후에 관찰될 수 있다. 항체를 분비하는 하이브리도마는 재플레이팅되고, 다시 스크리닝되고, 여전히 IgG에 대해 양성이라면, 항-DEC-205 단일클론 항체는 희석을 제한하여 2회 이상 서브클로닝될 수 있다. 이어서 안정한 서브클론은 시험관내에서 배양되어 특징화를 위한 조직 배양 배지에서 항체를 생성한다.

[0170] DEC-205에 대한 단일클론 항체를 생산하는 형질감염체의 생성

[0171] 본 발명의 항체는 또한, 예를 들면 당 분야에 공지된 바와 같은 재조합 DNA 기법 및 유전자 형질감염 방법을 함께 사용하는 숙주 세포 형질감염체에서 생산될 수 있다(Morrison, S. (1985) *Science* 229:1202).

[0172] 예를 들면, 한 실시양태에서, 관심있는 유전자(들), 예를 들어, 인간 항체 유전자, 예컨대 국제 특허 출원 공개공보 제WO 87/04462호, 제WO 89/01036호 및 유럽 특허 제EP 338 841호에 개시된 GS 유전자 발현 시스템, 또는 당 분야에 공지된 다른 발현 시스템에 의해 사용되는 발현 벡터, 예컨대 진핵생물 발현 플라스미드내로 결찰될 수 있다. 클로닝된 항체 유전자를 갖는 정제된 플라스미드는 진핵생물 숙주 세포, 예컨대 CHO-세포 또는 NSO-세포, 또는 다르게는 다른 진핵생물 세포, 예컨대 식물 유도된 세포, 진균 또는 효모 세포내로 도입될 수 있다. 이들 유전자를 도입하는 방법은 당 분야에 기재된 방법, 예컨대 전기천공, 리포펙틴(lipofectine), 리포펙타민(lipofectamine) 또는 기타 방법일 수 있다. 숙주 세포에 이들 항체 유전자를 도입한 후, 항체를 발현하는 세포는 동정되고 선택될 수 있다. 이들 세포는 형질감염체를 나타내는데, 이는 이후 이들의 발현 수준이 증폭되고 항체를 생산하도록 업스케일(upscale)될 수 있다. 재조합 항체는 이들 배양 상청액 및/또는 세포로부터 단리 및 정제될 수 있다.

[0173] 다르게는 이러한 클로닝된 항체 유전자를 다른 발현 시스템, 예컨대 이. 콜라이(*E. coli*) 또는 완전 유기체에서 발현될 수 있거나, 합성적으로 발현될 수 있다.

[0174] 온전한 항체를 발현하기 위한 부분적 항체 서열의 사용

[0175] 항체는 우세하게는 6개의 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)에 위치된 아미노산 잔기를 통해 표적 항원과 상호작용한다. 이러한 이유로, CDR내의 아미노산 서열은 CDR의 바깥쪽 서열에 비해 개개의 항체 사이에서 보다 다양하다. CDR 서열이 대부분의 항체-항원 상호작용에 책임이 있기 때문에, 상이한 특성을 갖는 상이한 항체로부터의 골격구조 서열 상으로 그래프팅된 특이적인 자연 발생 항체로부터의 CDR 서열을 포함하는 발현 벡터를 작성함으로써, 특이적인 자연 발생 항체의 특성을 모방하는 재조합 항체를 발현하는 것이 가능하다(예를 들어, 문현[Riechmann, L. et al, 1998, *Nature* 332:323-327; Jones, P. et al, 1986, *Nature* 321:522-525; and

Queen, C. et al, 1989, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 86:10029-10033] 참조). 이러한 골격구조 서열은 생식계열 항체 유전자 서열을 포함하는 공공 DNA 데이터베이스로부터 수득가능하다. 이들 생식계열 서열은 성숙 항체 유전자 서열과 상이할 것인데, 이는 이들이 B 세포 성숙 동안 V(D)J 연결에 의해 형성되는 완전히 조립된 가변성 유전자를 포함하지 않을 것이기 때문이다. 생식계열 유전자 서열은 또한 가변부를 균등히 가로지르는 개개에서 고친화도 2차 레퍼토리(repertoire) 항체의 서열과 상이할 것이다. 예를 들면, 체세포 돌연변이는 골격구조 영역의 아미노 말단 부분에서 비교적 드물다. 예를 들면, 체세포 돌연변이는 골격구조 영역 1의 아미노 말단 부분 및 골격구조 영역 4의 카복시 말단 부분에서 비교적 드물다. 더욱이, 많은 체세포 돌연변이는 항체의 결합 특성을 크게 바꾸지 않는다. 이러한 이유로, 원래의 항체의 결합 특성과 유사한 결합 특성을 갖는 온전한 재조합 항체를 재생하기 위해 특별한 항체의 전체 DNA 서열을 수득할 필요는 없다(1999년 3월 12일자로 출원된 PCT/US99/05535호 참조). CDR 영역을 걸쳐있(span)는 부분적 중쇄 및 경쇄 서열은 전형적으로 이러한 목적을 위해 충분하다. 부분적 서열은 어떤 생식계열 가변성 및 연결 유전자 분절이 재조합된 항체 가변성 유전자에 기여하는지를 결정하기 위해 사용된다. 이어서 생식계열 서열은 가변부의 빠진 부분을 채우기 위해 사용된다. 중쇄 및 경쇄 리더(leader) 서열은 단백질 성숙 동안 분할되고, 최종 항체의 특성에 기여하지 않는다. 빠진 서열을 첨가하기 위해, 클로닝된 cDNA 서열이 결찰 또는 PCR 증폭에 의해 합성 올리고뉴클레오티드와 조합된다. 다르게는, 전체 가변부는 한 세트의 짧은 중첩 올리고뉴클레오티드로서 합성되고, PCR 증폭에 의해 조합되어 전체 합성 가변부 클론을 생성할 수 있다. 이러한 과정은 특정한 이점, 예컨대 특별한 코돈의 최적화, 또는 제거 또는 포함 또는 특별한 제한 부위를 갖는다.

[0176] 하이브리도마로부터의 중쇄 및 경쇄 전사물의 뉴클레오티드 서열은 합성 올리고뉴클레오티드의 한 중첩 세트를 고안하는데 사용되어 천연 서열과 동일한 아미노산 코딩 능력을 갖는 합성 V 서열을 생산할 수 있다. 합성 중쇄 및 카파 쇄 서열은 3가지 방식으로 천연 서열과 상이할 수 있다: 반복되는 뉴클레오티드 염기의 스트링이 차단되어 올리고뉴클레오티드 합성 및 PCR 증폭을 촉진시키고; 최적 번역 개시 부위가 코작의 규칙(Kozak's rule)에 따라 혼입되고(Kozak, 1991, *J. Biol. Chem.* 266:19867-19870); HindIII 부위가 번역 개시 부위의 조작된 업스 트림이다.

[0177] 중쇄 및 경쇄 가변부 둘다의 경우, 최적화된 코딩, 및 상응하는 비코딩 가닥 서열은 상응하는 비코딩 올리고뉴클레오티드의 대략 중간점에서 30~50개 뉴클레오티드로 나눠진다. 따라서, 각각의 쇄의 경우, 올리고뉴클레오티드는 150~400개 뉴클레오티드의 분절에 걸쳐있는 중첩 이중 가닥 세트로 조립될 수 있다. 이어서, 푸풀(pool)이 주형으로 사용되어 150~400개 뉴클레오티드의 PCR 증폭 생성물을 생산한다. 전형적으로, 단일 가변부 올리고뉴클레오티드 세트는 2개의 푸풀로 나눠지고, 이는 별도로 증폭되어 2개의 중첩 PCR 생성물을 생성한다. 이어서 이들 중첩 생성물은 PCR 증폭에 의해 조합되어 완전한 가변부를 형성한다. 또한 PCR 증폭에서 중쇄 또는 경쇄 불변부(카파 경쇄의 BbsI 부위, 또는 감마 중쇄의 경우AgeI 부위를 포함함)의 중첩 단편을 포함하여 발현 벡터 구조물내로 쉽게 클로닝될 수 있는 단편을 생성하는 것이 요망된다.

[0178] 이어서, 재작성된 중쇄 및 경쇄 가변부는 클로닝된 프로모터, 리더 서열, 번역 개시, 리더 서열, 불변부, 3' 미 번역된 폴리아데닐화, 및 전사 종결 서열과 조합되어 발현 벡터 구조물을 형성한다. 중쇄 및 경쇄 발현 구조물은 단일 벡터내로 합쳐지거나, 동시 형질감염되거나, 순차적으로 형질감염되거나, 숙주 세포내로 별도로 형질감염되고, 이는 이후 융합되어 쇄 둘다를 발현하는 숙주 세포를 형성한다.

[0179] 발현 벡터의 작성에 사용하기 위한 플라스미드는, PCR 증폭된 V 중쇄 및 V 카파 경쇄 cDNA 서열이 완전한 중쇄 및 경쇄 미니유전자를 재작성하기 위해 사용될 수 있도록 작성되었다. 이들 플라스미드는 완전한 인간 IgG₁κ 또는 IgG₄κ 항체를 발현하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 완전한 인간 및 키메라성 항체는 또한 IgG2, IgG3, IgE, IgA, IgM, 및 IgD 항체를 포함한다. 유사한 플라스미드는 다른 중쇄 이소형의 발현, 또는 람다 경쇄를 포함하는 항체의 발현을 위해 작성될 수 있다.

[0180] 따라서, 본 발명의 또 다른 양태에서, 본 발명의 항-DEC-205 항체의 구조적 특징은, 본 발명의 항체의 하나 이상의 작용 특성을 보유하는, 예컨대, 예를 들면, 표면 플라스몬 공명에 의해 측정할 경우 $10^8 M^{-1}$ 이상의 친화도 상수로 인간 DEC-205에 결합하고; DEC-205를 발현하는 인간 수지상 세포에 결합한 후 내재화되고; 인간 수지상 세포에서 항원 처리 구획으로 국재화되고; DEC-205를 발현하는 인간 수지상 세포 DEC-205를 활성화시키고; 비인간 영장류 또는 다른 종의 수지상 세포 상에서 DEC-205와 교차반응하고; 항원에 대한 인간 T 세포, 예컨대 CTL 반응, 바람직하게는 MHC 클래스 I 및 클래스 II 경로 둘다에 의해 매개된 CTL 반응을 생성 또는 증진시키는 구조적으로 관련된 항-DEC-205 항체를 생성하는데 사용된다.

- [0181] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체의 하나 이상의 CDR 영역은 공지된 골격구조 영역 및 CDR과 재조합적으로 조합되어 추가의 재조합적으로 조작된 본 발명의 항-DEC-205 항체를 생성한다. 중쇄 및 경쇄 가변성 골격구조 영역은 동일하거나 상이한 항체 서열로부터 유도될 수 있다. 항체 서열은 자연 발생 항체의 서열이거나, 수 개의 항체들의 컨센서스 서열일 수 있다. 문헌[Kettleborough et al., *Protein Engineering* 4:773(1991); Kolbinger et al., *Protein Engineering* 6:971 (1993)] 및 국제 특허 출원 공개공보 제WO 92/22653호(Carter et al.)를 참조한다.
- [0182] 따라서, 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 (1) 중쇄 골격구조 영역 및 중쇄 CDR(여기서, 하나 이상의 중쇄 CDR은 서열 번호 5, 6, 7, 17, 18, 19, 29, 30, 31, 41, 42, 43, 53, 54, 55, 65, 66, 67, 71, 72, 73, 77, 78, 79, 89, 90 또는 91에 제시된 CDR의 아미노산 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함함); 및 (2) 경쇄 골격구조 영역 및 경쇄 CDR(여기서, 하나 이상의 경쇄 CDR은 서열 번호 11, 12, 13, 23, 24, 25, 35, 36, 37, 47, 48, 49, 59, 60, 61, 83, 84, 또는 85에 제시된 CDR의 아미노산 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 포함함)을 포함하고, DEC-205에 결합하는 능력을 보유하는 항체를 제조하는 단계를 포함하는, 항-DEC-205 항체를 제조하는 방법을 제공한다. DEC-205에 결합하는 항체의 능력은 표준 결합 검정, 예컨대 실시예에 제시된 검정(예를 들어, ELISA 또는 FLISA)을 사용하여 결정될 수 있다.
- [0183] 당 분야에는 항체 중쇄 및 경쇄 CDR3 도메인이 항원에 대한 항체의 결합 특이성/친화도에서 특별히 중요한 역할을 하는 것으로 공지되어 있다(문헌[Hall et al., *J. Immunol.*, 149:1605-1612 (1992); Polymenis et al., *J. Immunol.*, 152:5318-5329 (1994); Jahn et al., *Immunobiol.*, 193:400-419 (1995); Klimka et al., *Brit. J. Cancer*, 83:252-260 (2000); Beiboe et al., *J. Mol. Biol.*, 296:833-849 (2000); Rader et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95:8910-8915 (1998); Barbas et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 116:2161-2162 (1994); Ditzel et al., *J. Immunol.*, 157:739-749 (1996)]을 참조한다). 따라서, 상기 제시된 바와 같이 제조된 본 발명의 재조합 항체는 바람직하게는 항체 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 중쇄 및/또는 경쇄 CDR3을 포함한다. 항체는 추가로 항체 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 CDR2를 포함한다. 항체는 추가로 항체 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 CDR1을 포함한다. 항체는 추가로 CDR의 임의의 조합을 포함할 수 있다.
- [0184] 따라서, 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 추가로: (1) 중쇄 골격구조 영역, 중쇄 CDR1 영역, 중쇄 CDR2 영역, 및 중쇄 CDR3 영역(여기서, 중쇄 CDR3 영역은 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 CDR3으로부터 선택되고, 예를 들면, 서열 번호 7에 제시된 바와 같은 3D6-2F4의 중쇄 CDR3 영역임); 및 (2) 경쇄 골격구조 영역, 경쇄 CDR1 영역, 경쇄 CDR2 영역, 및 경쇄 CDR3 영역(여기서, 경쇄 CDR3 영역은 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 CDR3으로부터 선택되고, 예를 들면, 서열 번호 13에 제시된 바와 같은 3D6-2F4의 경쇄 CDR3 영역임)을 포함하고, DEC-205에 결합하는 항-DEC-205 항체를 제공한다. 항체는 추가로 항체 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 중쇄 CDR2 및/또는 경쇄 CDR2를 포함할 수 있다. 항체는 추가로 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 중쇄 CDR1 및/또는 경쇄 CDR1을 포함할 수 있다.
- [0185] 변형된 서열을 갖는 항체의 생성
- [0186] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항-DEC-205 항체의 가변부 서열, 또는 이의 부분은 결합(즉, 변형되지 않은 항체와 동일한 에피토프로의 결합)을 보유하고 따라서 기능적으로 동등한 구조적으로 관련된 항-DEC-205 항체를 생성하도록 변형된다. 항원 결합을 제거하지 않고 변경될 수 있는 잔기를 확인하는 방법은 당 분야에 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Marks et al., *Biotechnology* (1992) 10(7):779-83(monoclonal antibodies diversification by shuffling light chain variable regions, then heavy chain variable regions with fixed CDR3 sequence changes), Jespers et al.(1994) *Biotechnology* 12(9):899-903(selection of human antibodies from phage display repertoires to a single epitope of an antigen), Sharon et al. (1986) *PNAS USA* 83(8):2628-31(site-directed mutagenesis of an invariant amino acid residue at the variable-diversity segments junction of an antibody); Casson et al. (1995) *J. Immunol.* 155(12):5647-54(evolution of loss and change of specificity resulting from random mutagenesis of an antibody heavy chain variable region)]을 참조한다).
- [0187] 따라서, 본 발명의 한 양태에서, 상기 기재된 조작된 항체의 CDR1, 2, 및/또는 3 영역은 본원에 개시된 항체

3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 영역과 동일한 아미노산 서열(들)을 포함할 수 있다. 그러나, 본 발명의 다른 양태에서, 항체는 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 정확한 CDR 서열로부터의 유도체를 포함하여, 여전히 DEC-205에 효과적으로 결합하는 능력을 보유한다. 이러한 서열 변형으로는 하나 이상의 아미노산 첨가, 결실, 또는 치환, 예를 들어, 상기 기재된 바와 같은 보존적 서열 변형체가 포함된다. 서열 변형체는 항체 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10의 특별한 CDR1, CDR2, 및 CDR3 서열에 대해 상기 기재된 컨센서스 서열에 기초할 수 있다.

[0188] 따라서, 또 다른 실시양태에서, 조작된 항체는 항체 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10중 하나 이상의 CDR과 90%, 95%, 98% 또는 99.5% 동일한 하나 이상의 CDR로 구성될 수 있다. 중간값 내지 상기 인용된 값의 범위, 예를 들어, 상기 하나 이상의 서열에 90~95%, 95~98%, 또는 98~100% 동일한 CDR은 본 발명에 포함되고자 한다.

[0189] 또 다른 실시양태에서, CDR의 하나 이상의 잔기는, 이상화된 결합 상수가 달성되도록, 결합의 보다 우호적인 결합률, 결합의 보다 우호적인 해리율, 또는 이들 둘다를 달성하기 위해 결합을 바꾸도록 변경될 수 있다. 이러한 전략을 사용하여, 초 고 결합 친화도, 예를 들면, 10^{10} M^{-1} 이상의 친화도를 갖는 항체가 달성될 수 있다. 당분야에 잘 공지된 친화도 성숙 기법 및 본원에 기재된 기법은 CDR 영역(들)을 변경시키기 위해 사용될 수 있고, 이후 결합시 원하는 변화에 대해 생성된 결합 분자를 스크리닝한다. 따라서, CDR(들)이 변경되면, 결합 친화도뿐만 아니라 면역원성에서의 변화는 모니터링되고 득점이 기록되어, 최상의 조합된 결합 및 낮은 면역원성에 대해 최적화된 항체가 달성될 수 있다.

[0190] CDR내의 변형에 더하여 또는 그 대신에, 변형이 항체의 결합 친화도를 제거하지 않는 한, 또한 항체의 중쇄 및/ 또는 경쇄 가변부의 하나 이상의 골격구조 영역, FR1, FR2, FR3 및 FR4에서 변형이 이루어질 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 항체의 중쇄 및/ 또는 경쇄 가변부의 골격구조 영역중의 하나 이상의 비생식계열 아미노산 잔기는 항체가 상당한 서열 동일성을 갖는 생식계열 아미노산 잔기, 즉 인간 생식계열 서열중의 상응하는 아미노산 잔기로 중쇄 또는 경쇄 가변부에 대해 치환된다. 예를 들면, 항체 쇄는 이것이 상당한 서열 동일성을 갖는 생식계열 항체 쇄로 정렬될 수 있고, 항체 골격구조 서열과 생식계열 쇄 골격구조 사이에 매치되지 않는 아미노산 잔기는 생식계열 서열로부터의 상응하는 잔기로 치환될 수 있다. 아미노산이 항체 가변성 골격구조 영역과 동등한 인간 생식계열 서열 가변성 골격구조 영역 사이에서 상이할 경우, 아미노산이 하기 범주중 하나에 속하는 것으로 이성적으로 기대된다면, 항체 골격구조 아미노산은 통상적으로 동등한 인간 생식계열 서열 아미노산에 의해 치환되어야 한다:

[0191] (1) 항원에 직접 비공유적으로 결합하는 아미노산 잔기,

[0192] (2) CDR 영역에 인접한 아미노산 잔기,

[0193] (3) 다르게 CDR 영역과 상호작용하는 아미노산 잔기(예를 들어, 컴퓨터 모델링에 의해 결정될 경우 CDR 영역의 약 3~6Å 이내임), 또는

[0194] (4) VL-VH 계면에 참여하는 아미노산 잔기.

[0195] "항원에 직접 비공유적으로 결합하는" 잔기로는 확립된 화학적 힘, 예를 들면, 수소 결합, 반 데르 발스(Van der Waals) 힘, 소수성 상호작용 등에 따라 항원 상의 아미노산과 직접 상호작용할 가능성이 높은 골격구조 영역에 위치하는 아미노산이 포함된다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 항체의 골격구조 영역중의 아미노산 잔기는 항원에 직접 비공유적으로 결합하는 상응하는 생식계열 아미노산 잔기와 치환된다.

[0196] "CDR 영역에 인접한" 잔기로는 항체의 1차 서열중의 하나 이상의 CDR에 직접 인접하여 위치한, 예를 들면, 카밧(Kabat)에 의해 정의된 CDR, 또는 코티아(Chothia)에 의해 정의된 CDR에 직접 인접하여 위치한 아미노산 잔기가 포함된다(예를 들어, 문헌[Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901 (1987)] 참조). 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 항체의 골격구조 영역내의 아미노산 잔기는 CDR 영역에 인접한 상응하는 생식계열 아미노산 잔기에 의해 치환된다.

[0197] "다르게 CDR 영역과 상호작용하는" 잔기로는 CDR 영역에 영향을 주기에 충분한 공간 배향인 것으로 2차 구조적 분석에 의해 결정되는 잔기가 포함된다. 이러한 아미노산은 일반적으로 CDR중의 몇몇 원자의 약 3 옹스트롬 단위(Å)내의 측쇄 원자를 가질 것이고, 확립된 화학적 힘, 예컨대 상기 열거된 힘에 따라 CDR 원자와 상호작용할 수 있는 원자를 반드시 함유한다. 따라서, 한 실시양태에서, 본 발명의 항체의 골격구조 영역내의 아미노산 잔

기는 다르게 CDR 영역과 상호작용하는 상응하는 생식계열 아미노산에 의해 치환된다.

[0198] 골격구조중 몇몇 위치에서의 아미노산은 많은 항체에서 CDR 배좌를 결정하기 위해 중요한 것으로 공지되어 있다 (예를 들어, CDR과 상호작용할 수 있음)(Chothia and Lesk, *supra*, Chothia et al., *supra* and Tramontano et al., *J. Mol. Biol.* 215:175 (1990); 이들 모두는 본원에 참고로 인용됨). 이들 저자는 몇몇 공지된 항체의 구조를 분석함으로써 CDR 배좌에 중요한 보존된 골격구조 잔기를 확인하였다. 분석된 항체는 CDR의 배좌에 기초하여 제한된 수의 구조적 또는 "기준적" 클래스에 속하였다. 기준적 클래스의 구성원내의 보전된 골격구조 잔기는 "기준적" 잔기로 지칭된다. 기준적 잔기로는 경쇄의 잔기 2, 25, 29, 30, 33, 48, 64, 71, 90, 94 및 95, 및 중쇄의 잔기 24, 26, 29, 34, 54, 55, 71 및 94가 포함된다. 추가의 잔기(예를 들어, CDR 구조 결정 잔기)는 문헌[Martin and Thornton (1996) *J. Mol. Biol.* 263:800]의 방법에 따라 확인될 수 있다. 특히, 경쇄의 위치 2, 48, 64 및 71, 및 중쇄의 위치 26~30, 71 및 94에서의 아미노산(카밧에 따른 번호매김)은 많은 항체에서 CDR과 상호작용할 수 있는 것으로 공지되어 있다. 경쇄중의 35 위치 및 중쇄 중의 93 및 103 위치에 있는 아미노산은 또한 CDR과 상호작용하기 쉽다. CDR의 배좌에 영향을 줄 수 있는 추가의 잔기는 문헌[Foote and Winter (1992) *J. Mol. Biol.* 224:487]의 방법에 따라 확인될 수 있다. 이러한 잔기는 "버너" 잔기로 칭해지고, CDR 아래에 가깝게 놓인(즉 아래에 "플랫폼(platform)"을 형성하는) 골격구조 영역중의 잔기이다.

[0199] "VL-VH 계면에 참여하는" 잔기 또는 "패킹 잔기"로는, 예를 들면, 문헌[Novotny and Haber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 82:4592-66 (1985)] 또는 [Chothia et al, *supra*]에 정의된 바와 같은 VL 및 VH 사이의 계면에서의 잔기가 포함된다.

[0200] 때때로, 특정 아미노산이 하나 이상의 상기 언급된 범주내에 속하는지의 여부에 대해 약간 모호하다. 이러한 경우, 대안의 변이 항체가 생산되고, 이중 하나는 특별한 치환을 갖고, 이중 나머지는 갖지 않는다. 이렇게 생산된 대안의 변이 항체는 원하는 활성에 대해 본원에 기재된 임의의 검정에서 시험될 수 있고, 바람직한 항체가 선택된다.

[0201] 골격구조 영역내의 치환을 위한 추가의 후보는 그 위치에서 항체에 대해 비통상적인 또는 "드문" 아미노산이다. 이들 아미노산은 인간 생식계열 서열의 동등한 위치로부터 또는 보다 전형적인 항체의 대등한 위치로부터의 아미노산으로 치환될 수 있다. 예를 들면, 치환은, 항체의 골격구조 영역중의 아미노산이 그 위치에 대해 드물고 생식계열 서열중의 상응하는 아미노산이 면역글로불린 서열에서의 그 위치에 대해 흔한 경우, 또는 항체중의 아미노산이 그 위치에 대해 드물고 생식계열 서열중의 상응하는 아미노산이 또한 다른 서열에 비해 드문 경우 바람직 할 것이다. 비통상적인 아미노산을 항체에 전형적으로 발생되는 생식계열 서열로부터의 아미노산으로 대체함으로써 항체가 덜 면역원성이 될 수 있는 것으로 고려된다.

[0202] 용어 "드문"은, 본원에 사용될 경우, 서열의 대표적인 샘플에서 서열의 약 20% 미만, 바람직하게는 약 10% 미만, 보다 바람직하게는 약 5% 미만, 보다 더 바람직하게는 약 3% 미만, 보다 더 바람직하게는 약 2% 미만, 보다 더 바람직하게는 약 1% 미만으로 그 위치에서 초래되는 아미노산을 지시하고, 용어 "흔한"은, 본원에 사용될 경우, 대표적 샘플에서 서열의 약 25% 초과, 그러나 통상적으로 약 50% 초과로 발생되는 아미노산을 지시한다. 예를 들면, 모든 경쇄 및 중쇄 가변부 서열은 서로에 대해 특별히 상동성이고 특정의 중요한 위치에서 동일한 아미노산을 갖는 서열의 "하위그룹"으로 개별적으로 분류된다(Kabat et al, *supra*). 서열 사이에서 항체 서열중의 아미노산이 "드문지" 또는 "흔한지"를 결정할 경우, 종종 항체 서열과 동일한 하위그룹중의 서열만을 고려하는 것이 바람직할 것이다.

[0203] 일반적으로, 항체의 골격구조 영역은 통상적으로 이들이 유도되는 인간 생식계열 서열의 골격구조 영역과 실질적으로 동일하고, 보다 통상적으로는 이와 동일하다. 물론, 골격구조 영역중의 많은 아미노산이 항체의 특이성 또는 친화도에 거의 또는 전혀 직접적으로 기여하지 않는다. 따라서, 골격구조 잔기의 많은 개개의 보존적 치환은 생성된 면역글로불린의 특이성 또는 친화도의 뚜렷한 변화없이 용인될 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서 항체의 가변성 골격구조 영역은 인간 생식계열 가변성 골격구조 영역 서열 또는 이러한 서열의 컨센서스에 85% 이상의 서열 동일성을 공유한다. 또 다른 실시양태에서, 항체의 가변성 골격구조 영역은 인간 생식계열 가변성 골격구조 영역 서열 또는 이러한 서열의 컨센서스에 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 이상의 서열 동일성을 공유한다.

[0204] 단순히 DEC-205에 결합함에 더하여, 항체는 본 발명의 항체의 다른 작용 특성의 보유에 대해 선택될 수 있고, 예컨대, 예를 들면: (a) (1) 표면 플라스몬 공명에 의해 측정할 경우 $10^{8} M^{-1}$ 이상의 친화도 상수로 인간 DEC-205에 결합하고; (b) DEC-205를 발현하는 인간 수지상 세포에 결합한 후 내재화되고; (c) 수지상 세포에서 항원 처리 구획으로 국재화되고; (d) DEC-205를 발현하는 인간 수지상 세포를 활성화시키고; (e) 비인간 영장류 수지상

세포 또는 다른 종의 세포 상에서 DEC-205와 교차반응하고; (f) 인간-T-세포 반응, 바람직하게는 MHC 클래스 I 및/또는 클래스 II 경로에 의해 매개되는 인간-T-세포 반응을 생성 또는 증진시키고; (g) 인간 CD4⁺, CD8⁺ 또는 NKT 세포 반응을 생성 또는 증진시키고; (h) 주변 CD8⁺ T 세포 내성을 유도한다.

[0205] *DEC-205에 대한 단일클론 항체의 특징화*

본 발명의 단일클론 항체는 다양한 공지된 기법을 사용하여 DEC-205로의 결합에 대해 특징화될 수 있다. 일반적으로, 항체는 초기에 ELISA에 의해 특징화된다. 간단히, 미세역가 플레이트는 PBS중 정제된 DEC-205로 코팅되고, 이어서 무관한 단백질, 예컨대 PBS에 희석된 소 혈청 알부민(BSA: bovine serum albumin)으로 블로킹된다. DEC-205-면역화된 마우스로부터의 혈장의 희석액은 각각의 웰에 첨가되고 1~2시간 동안 37°C에서 항온처리된다. 플레이트는 PBS/트윈(Tween) 20으로 세척된 다음, 알칼리성 포스파타아제에 컨쥬게이트된 염소-항-인간 IgG Fc-특이적 다중클론 시약과 1시간 동안 37°C에서 항온처리된다. 세척 후, 플레이트는 ABTS 기질로 전개되고, 405의 OD에서 분석된다. 바람직하게는, 가장 높은 역가를 나타내는 마우스가 융합을 위해 사용될 것이다.

[0207] 상기 기재된 바와 같은 ELISA 검정은 항체, 및 이에 따라 DEC-205 면역원과 양성 반응성을 나타내는 항체를 생산하는 하이브리도마에 대해 스크리닝하기 위해 사용될 수 있다. 바람직하게는 높은 친화도로 DEC-205에 결합하는 하이브리도마는 서브클로닝될 수 있고 추가로 특징화될 수 있다. 이어서 모 세포의 반응성을 보유하는(ELISA에 의해) 각각의 하이브리도마로부터의 클론은, 세포 은행을 제조하기 위해, 및 항체 정제를 위해 선택될 수 있다.

[0208] 항-DEC-205 항체를 정제하기 위해, 선택된 하이브리도마는 로울러 병(roller bottle), 2리터 들이 스피너 플라스크(spinner-flask) 또는 다른 배양 시스템에서 성장될 수 있다. 상청액은 여과되고 농축된 후, 단백질 A 세파로즈(sepharose)(파마시아(Pharmacia), 뉴저지주 피스카타웨이 소재)로 친화도 크로마토그래피하여 단백질을 정제한다. PBS로 완충액을 교환한 후, 농도는 OD₂₈₀에 의해 1.43 소광 계수(extinction coefficient)를 사용하여, 또는 바람직하게는 혼탁측정(nephelometric) 분석에 의해 결정될 수 있다. IgG는 갤 전기영동 및 항원 특이적 방법에 의해 검토될 수 있다.

[0209] 선택된 항-DEC-205 단일클론 항체가 특유의 에피토프에 결합하는지를 결정하기 위해, 각각의 항체는 상업적으로 입수 가능한 시약(피어스(Pierce), 일리노이주 락포드 소재)을 사용하여 비오틴화될 수 있다. 비오틴화된 MAb 결합은 스트렙타비딘(streptavidin) 표지된 프로브(probe)에 의해 검출될 수 있다. 정제된 항체의 이소형을 결정하기 위해, 이소형 ELISA가 당 분야에 인식된 기법에 의해 수행될 수 있다. 예를 들면, 미세역가 플레이트의 웰은 10 µg/ml의 항-IgG로 하룻밤 4°C에서 코팅될 수 있다. 5% BSA로 블로킹된 후, 플레이트는 10 µg/ml의 단일클론 항체 또는 정제된 이소형 대조표준과 주위 온도에서 2시간 동안 반응된다. 이어서 웰은 IgG1 또는 다른 이소형 특이적 컨쥬게이트된 프로브와 반응될 수 있다. 플레이트는 상기 기재된 바와 같이 전개되고 분석된다.

[0210] DEC-205를 발현하는 생 세포에의 단일클론 항체의 결합을 시험하기 위해, 유세포 분석기를 사용할 수 있다. 간단히, 막결합된 DEC-205를 발현하는 세포주 및/또는 인간 PBMC(표준 성장 조건하에 성장함)는 0.1% BSA 및 0.01% NaN3이 함유된 PBS중의 다양한 농도의 단일클론 항체와 4°C에서 1시간 동안 혼합된다. 세척 후, 세포는 1차 항체 염색과 동일한 조건하에 형광물질 표지된 항-IgG 항체와 반응된다. 샘플은 FACScan 기기에 의해 신호세포 상에서 게이트(gate)되는 광 및 측부 산란 특성을 이용하여 분석되고 표지된 항체의 결합이 결정된다. 형광 현미기술을 사용하는 다른 검정이 유세포 분석 검정에 더하여 또는 대신에 사용될 수 있다. 세포는 상기 기재된 바와 같이 정확히 염색될 수 있고 형광 현미경에 의해 검사될 수 있다. 이 방법은 개별 세포의 가시화를 허용하지만, 항원의 밀도에 의존하여 감소된 민감도를 가질 수 있다.

[0211] 항-DEC-205 IgG는 추가로 DEC-205 항원과의 반응성에 대해 웨스턴 블로팅(Western blotting)에 의해 시험될 수 있다. 간단히, DEC-205를 발현하는 세포로부터의 세포 추출물이 준비되고 소듐 도테실 셀레이트 폴리아크릴아미드 갤 전기이동된다. 전기이동 후, 분리된 항원은 니트로셀룰로스 막으로 전달되고 20% 마우스 혈청으로 블로킹되고, 시험되는 단일클론 항체에 의해 탐침될 것이다. IgG 결합은 항-IgG 알칼리성 포스파타아제에 의해 검출되고 BCIP/NBT 기질 평판(시그마 캠. 코포레이션(Sigma Chem. Co.), 몬테나주 세인트 루이스 소재)에 의해 전개될 수 있다.

[0212] 다양한 항-DEC-205 항체의 결합 친화도, 교차반응성 및 결합 동역학을 분석하는 방법으로는 당 분야에 공지된 표준 검정, 예를 들면, 본원의 실시예 2에 기재된 바와 같이, 비아코어™ 2000 SPR 기기(비아코어 AB, 스웨덴 옵

살라 소재)를 사용하는 비아코어™ 표면 플라스몬 공명(SPR) 분석이 포함된다.

II. 문자 컨쥬케이트/면역독소

본 발명은 APC 상의 수용체에 결합하는 항체, 예를 들면, DEC-205에 결합하는 항체에 연결된, 항원, 예컨대 종양 또는 바이러스성 항원을 포함하는 다양한 치료학적 문자 컨쥬케이트(예를 들어, 백신 컨쥬케이트)를 제공한다. 이는 항원이 APC, 예컨대 DEC-205 발현 세포(예를 들어, 수지상 세포 및 B 세포)로 표적화하는 것을 허용하여 항원(들)에 대한 처리, 제작, 및 궁극적으로 면역 반응, 예를 들어, CTL 반응을 증진시킨다. 이러한 컨쥬케이트는 개략적으로 도 8에 나타나 있다. 제시된 예에서, 항원은 실질적으로 완전한 항-DEC-205 항체의 중쇄 각각의 CH3 도메인에 유전적으로 융합된다. 그러나, 다르게는 항원이 이러한 항체 또는 이의 단편의 다른 부분과 연결될 수 있고, 컨쥬케이션, 예컨대 화학 컨쥬케이션의 다른 형태가 또한 하기 추가로 논의된 바와 같이 사용될 수 있다.

본 발명에 사용하기에 적합한 항원으로는, 예를 들면, 보호용 또는 치료용 면역 반응이 요구되는 감염성 질병 항원 및 종양 항원, 예를 들어, 종양 세포 또는 병원성 유기체에 의해 발현되는 항원 또는 감염성 질병 항원이 포함된다. 예를 들면, 적합한 항원으로는 암의 예방 또는 치료를 위한 종양 연관된 항원이 포함된다. 종양 연관된 항원의 예로는, 제한되지 않지만, β hCG, gp100 또는 Pme117, HER2/neu, WT1, 메소텔린(mesothelin), CEA, gp100, MART1, TRP-2, 멜란(melan)-A, NY-ESO-1, NY-BR-1, NY-CO-58, MN(gp250), 유전자형(idiotype), MAGE-1, MAGE-3, MAGE-A3, 티로시나아제(Tyrosinase), 텔로머라아제(Telomerase), SSX2 및 MUC-1 항원, 및 생식 세포 유도된 종양 항원의 서열의 모두 또는 일부를 포함하는 서열이 포함된다. 종양 연관된 항원으로는 또한 혈액 그룹 항원, 예를 들면, Le^a, Le^b, LeX, LeY, H-2, B-1, B-2 항원이 포함된다. 다르게는, 하나 보다 많은 항원이 본 발명의 항원-항체 구조물내에 포함될 수 있다. 예를 들면, MAGE 항원은 다른 항원, 예컨대 멜라닌(melanin) A, 티로시나아제, 및 gp100과, 보조제, 예컨대 GM-CSF 또는 IL-12와 함께 조합되고, 항-APC 항체에 연결될 수 있다.

다른 적합한 항원으로는 바이러스 질병의 예방 또는 치료를 위한 바이러스 항원을 포함한다. 바이러스 항원의 예로는, 제한되지 않지만, HIV-1 gag, HIV-1 env, HIV-1 nef, HBV(표면 또는 핵심 항원), HPV, FAS, HSV-1, HSV-2, p17, ORF2 및 ORF3 항원이 포함된다. 박테리아 항원의 예로는, 제한되지 않지만, 특소플라스마 곤디(*Toxoplasma gondii*) 또는 트레포네마 팔리듐(*Treponema pallidum*)이 포함된다. 본 발명의 항체-박테리아 항원 컨쥬케이트는 다양한 박테리아 질병, 예컨대 탄저병, 보툴리눔 식중독(Botulism), 과상풍, 클라미디아(Chlamydia), 콜레라(Cholera), 디프테리아(Diphtheria), 라임병(Lyme Disease), 매독 및 결핵을 치료 또는 예방할 수 있다.

상기 항원의 서열은 당 분야에 잘 공지되어 있다. 예를 들면, MAGE-3 cDNA 서열의 일예는 미국 특허 제6,235,525호(Ludwig Institute for Cancer Research)에 제공되고; NY-ESO-1 핵산 및 단백질 서열의 예는 미국 특허 제5,804,381호 및 제6,069,233호(Ludwig Institute for Cancer Research)에 제공되고; 멜란-A 핵산 및 단백질 서열의 예는 미국 특허 제5,620,886호 및 제5,854,203호(Ludwig Institute for Cancer Research)에 제공되고; NY-BR-1 핵산 및 단백질 서열의 예는 미국 특허 제6,774,226호 및 제6,911,529호(Ludwig Institute for Cancer Research)에 제공되고, NY-CO-58 핵산 및 단백질 서열의 예는 국제 특허 출원 공개공보 제WO 02090986호(Ludwig Institute for Cancer Research)에 제공되고; HER-2/neu 단백질에 대한 아미노산 서열의 일예는 GENBANK® 수탁 번호 AAA58637로 입수 가능하고; 인간 암배 항원 유사 1(CEA-1: carcinoembryonic antigen-like 1)에 대한 뉴클레오티드 서열(mRNA)은 GENBANK® 수탁 번호 NM_020219로 입수 가능하다.

본 발명의 약학 조성물 및 방법에서 사용될 수 있는 HPV 항원으로는, 예를 들면 HPV-16 항원, HPV-18 항원, HPV-31 항원, HPV-33 항원 및/또는 HPV-35 항원이 포함될 수 있고; 이는 적합하게는 HPV-16 항원 및/또는 HPV-18 항원이다. HPV-16의 개놈은 문헌[Virology, 145:181- 185 (1985)]에 기재되어 있고, HPV-18을 코딩하는 DNA 서열은 미국 특허 제5,840,306호에 기재되어 있으며, 이의 개시내용은 본원에 참고로 전체가 인용되어 있다. HPV-16 항원(예를 들어, HPV-16의 E1 및/또는 E2 단백질의 혈청반응성 영역)은 미국 특허 제6,531,127호에 기재되어 있고, HPV-18 항원(예를 들어, HPV-18의 L1 및/또는 L2 단백질의 혈청반응성 영역)은 미국 특허 제5,840,306호에 기재되어 있으며, 이의 개시내용은 본원에 참고로 인용되어 있다. 유사하게, HBV에 대한 완전한 개놈은 GENBANK® 수탁 번호 NC_003977로 입수 가능하고, 이의 개시내용은 본원에 인용되어 있다. HCV의 개놈은 유럽 특허 출원 제318216호에 기재되어 있고, 이의 개시내용은 본원에 인용되어 있다. 본원에 인용된 PCT/US90/01348호에는, HCV 개놈의 클론의 서열 정보, HCV 바이러스 단백질의 아미노산 서열, 및 HCV 단백질 및

이로부터 유도된 웨პ티드를 포함하는 HCV 백신을 위한 이러한 조성물을 제조 및 사용하는 방법이 개시되어 있다.

[0219] 단백질의 항원성 웨პ티드(즉, T 세포 에피토프를 함유한 웨პ티드)는 당 분야에 잘 공지된 다양한 방식으로 동정될 수 있다. 예를 들면, T 세포 에피토프는 웨에 기초한 예측 알고리즘(BIMAS & SYFPEITHI)을 사용하여 단백질의 서열을 분석함으로써 예측되어, CTL에 의해 미리 정의된 특징화된 10,000개의 MHC 결합 웨პ티드의 내부 데이터베이스에 부합하는 잠재적인 MHC 클래스 I 및 II 결합 웨პ티드를 생성할 수 있다. 높은 득점의 웨პ티드가 소정의 MHC 분자에 높은 친화도를 기준으로 "관심있는" 것으로 기록되고 선택될 수 있다.

[0220] T 세포 에피토프를 함유하는 항원 웨პ티드를 동정하기 위한 또 다른 방법은 단백질을 원하는 길이의 비중첩 웨პ티드 또는 원하는 길이의 중첩 웨პ티드로 나누는 것으로, 이는 재조합적으로, 합성적으로, 또는 특정한 제한된 상황에서, 단백질의 화학적 분할에 의해 생산될 수 있고, 면역원 특성에 대해, 예를 들어, T 세포 반응의 유도(즉, 증식 또는 림포카인(lymphokine) 분비)에 대해 시험된다.

[0221] 예를 들면 미세 매핑(fine mapping) 기법에 의해 단백질의 정확한 T 세포 에피토프를 결정하기 위해, T 세포 자극 활성을 갖고 이에 따라 하나 이상의 T 세포 에피토프를 포함하는(T 세포 생물학 기법에 의해 결정될 경우) 웨პ티드는 웨პ티드의 아미노 또는 카복시 말단에서 아미노산 잔기의 부가 또는 결실에 의해 변형되고, 변형된 웨პ티드에 대한 T 세포 반응성에서의 변화를 결정하기 위해 시험될 수 있다. 고유 단백질 서열에서 중첩 영역을 공유하는 둘 이상의 웨პ티드가 인간 T 세포 자극 활성을 갖는 것으로 밝혀진다면(T 세포 생물학 기법에 의해 결정될 경우), 이러한 웨პ티드의 모두 또는 일부를 포함하는 추가의 웨პ티드가 생산될 수 있고, 이를 추가의 웨პ티드는 유사한 절차에 의해 시험될 수 있다. 이러한 기법에 따라서, 웨პ티드는 선택되고 재조합적으로 또는 합성적으로 생산된다. 웨პ티드는 다양한 인자, 예컨대 웨პ티드로의 T 세포 반응의 강도(예를 들어, 자극 지수)에 기초하여 선택된다. 이러한 선택된 웨პ티드의 물리적 및 화학적 특성(예를 들어, 용해도, 안정성)은, 웨პ티드가 치료 조성물에 사용하기에 적합한지의 여부 또는 웨პ티드가 변형될 필요가 있는지의 여부를 결정하기 위해 검사될 수 있다.

[0222] 또한, 백신 컨쥬게이트는 또한 항원에 대한 면역 반응을 증진시키는 하나 이상의 면역자극제를 포함할 수 있다. 본 발명의 항체-항원 백신 컨쥬게이트는 유전적으로 또는 화학적으로 제조될 수 있다. 이러한 경우, 컨쥬게이트의 항체 부분은 전체 항체 또는 항체의 일부, 예컨대 Fab 단편 또는 단일 쇄 Fv로 구성될 수 있다. 또한, 하나 보다 많은 항원 및/또는 면역자극제가 컨쥬게이트에 포함될 수 있다.

[0223] 화학적으로 작성된 항체-항원 컨쥬게이트는 잘 공지되고 쉽게 입수 가능한 다양한 가교결합 시약을 사용하여 제조될 수 있다. 이러한 가교결합 시약은 동형작용성(homofunctional) 또는 이형작용성(heterofunctional) 화합물일 수 있고, 예컨대 항-수지상 항체 및 선택된 항원 상의 상이한 반응성의 아미노산 또는 탄수화물 측쇄와 공유 결합을 형성하는 N-석신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로파오네이트(SPDP: Nsuccinimidyl-3-(2-pyridyldithio)propionate), N-석신이미딜-S-아세틸-티오아세테이트(SATA: Nsuccinimidyl-S-acetyl-thioacetate), 설포석신이미딜 4-(N-말레이미도메틸)사이클로헥산-1-카복실레이트(설포-SMCC: sulfosuccinimidyl 4-(N-maleimidomethyl)cyclohexane-1-carboxylate), 5,5'-디티오비스(2-니트로벤조산)(DTNB: dithiobis(2-nitrobenzoic acid))이다. 다른 커플링 및 가교결합제는 또한 공유결합을 생성하기 위해 사용될 수 있고, 예컨대 단백질 A, 카보디이미드 및 o-페닐랜디말레이이미드(oPDM: o-phenylenedimaleimide)(예를 들어, 문헌[Karpovsky et al. (1984) *J. Exp. Med.* 160:1686; Liu, MA et al. (1985) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:8648] 참조)이다. 다른 방법으로는 문헌[Paulus, *Behring Ins. Mitt.* (1985) No. 78, 118-132]; [Brennan et al., *Science* (1985) 229:81-83], 및 [Glennie et al., *J. Immunol.* (1987) 139: 2367-2375]에 기재된 방법이 포함된다. 바람직한 컨쥬게이트화 제제는 SATA 및 설포-SMCC이고, 이를 모두 퍼어스 케미칼 코포레이션(Pierce Chemical Co.)(일리노이주 락포드 소재)으로부터 입수 가능하다. 면역자극제는 또한 상기 기재된 동일한 연결 방법에 의해 본 발명의 분자 컨쥬게이트에 화학적으로 연결될 수 있다.

[0224] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 치료학적 잔기, 예컨대 세포독소, 약물 또는 방사성동위원소에 연결된다. 세포독소로 컨쥬게이트된 경우, 이를 항체 컨쥬게이트는 "면역독소"로 지칭된다. 세포독소 또는 세포독성제로는 세포에 해를 주는(예를 들어, 사멸시키는) 임의의 제제가 포함된다. 예로는 탁솔(taxol), 사이토칼라신(cytochalasin) B, 그레미시딘(gramicidin) D, 에티디움 브로마이드(ethidium bromide), 에메틴(emetine), 미토마이신(mitomycin), 에토포시드(etoposide), 테노포시드(tenoposide), 빙크리스틴(vincristine), 빈블라스틴(vinblastine), 콜치신(colchicine), 독소루비신(doxorubicin), 다우노루비신(daunorubicin), 디하이드록시 안트라신 디온(dihydroxy anthracin dione), 미토산트론(mitoxantrone), 미트라마이신(mithramycin), 악티노마이신(actinomycin) D, 1-데하이드로테스토스테론(dehydrotestosterone), 글루코코르티코이드(glucocorticoids), 프로카인(procaine), 테트라카인(tetracaine), 리도카인(lidocaine), 프로프라놀올(propranolol), 및 푸로마이

신(puromycin) 및 이의 유사체 또는 상동체가 포함된다. 치료제로는, 제한되지 않지만, 대사길항물질(예를 들어, 메토트렉세이트(methotrexate), 6-머캅토퓨린(mercaptopurine), 6-티오구아닌(thioguanine), 시타라빈(cytarabine), 5-플루오로우라실 데카바진(fluorouracil decarbazine)), 알킬화제(예를 들어, 메클로에타민(mechlorethamine), 티오에파 클로람부실(thioepa chlorambucil), 멜팔란(melphalan), 카르무스틴(carmustine)(BSNU) 및 로무스틴(lomustine)(CCNU), 사이클로토스파미드(cyclothosphamide), 부설판(busulfan), 디브로모만니톨, 스트렙토조토신(streptozotocin), 미토마이신(mitomycin) C, 및 시스-디클로로디아민 백금(II)(DDP: dichlorodiamine platinum) 시스플라틴(cisplatin)), 안트라사이클린(anthracycline)(예를 들어, 다우노루비신(daunorubicin)(이전에 다누오마이신(daunomycin)) 및 독소루비신), 항생제(예를 들어, 닉티노마이신(dactinomycin)(이전에 악티노마이신(actinomycin)), 블레오마이신(bleomycin), 미트라마이신(mithramycin), 및 안트라마이신(anthramycin)(AMC)), 및 세포분열 저지제(예를 들어, 빙크리스틴(vincristine) 및 빈블라스틴(vinblastine))가 포함된다. 본 발명의 항체는 방사성동위원소, 예컨대 방사성 요도드에 컨쥬게이트되어, 수지 관련 질환, 예컨대 자가면역 또는 염증 질환, 또는 이식편 대 속주 질병을 치료하기 위한 세포독성 방사성약제를 생성할 수 있다.

[0225]

본 발명의 항체 컨쥬게이트는 소정의 생물학적 반응을 변형시키기 위해 사용될 수 있고, 약물 잔기는 고전적인 화학 치료제로 제한되는 것으로 간주되지 않는다. 예를 들면, 약물 잔기는 원하는 생물학적 활성을 소유하는 단백질 또는 폴리펩티드일 수 있다. 이러한 단백질로는, 예를 들면, 효소 활성 독소, 또는 이의 단편, 예컨대 아브린(abrin), 리신(ricin) A, 슈도모나스(pseudomonas) 외독소, 또는 디프테리아 독소; 단백질, 예컨대 종양 피사 인자 또는 인터페론- γ ; 또는 생물학적 반응 변형자, 예컨대, 예를 들면, 림포카인, 인터류킨(interleukin)-1("IL-1"), 인터류킨-2("IL-2"), 인터류킨-6("IL-6"), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자("GM-CSF": granulocyte macrophage colony stimulating factor), 과립구 콜로니 자극 인자("G-CSF": granulocyte colony stimulating factor), 또는 다른 성장 인자가 포함될 수 있다.

[0226]

이러한 치료학적 잔기를 항체에 컨쥬게이션시키기 위한 기법은 잘 공지되어 있고, 예를 들어, 문헌[Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985)]; [Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987)]; [Thorpe, "Antibodies Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985)]; ["Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibodies In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985)], 및 [Thorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibodies-Toxin Conjugate", Immunol. Rev., 62:119-58 (1982)]을 참조한다.

[0227]

또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 표적 전체 세포, 예를 들어, 종양 세포, 이펙터 세포 또는 미생물 병원체를 수지상 세포에 직접적으로 표적화시키는데 사용될 수 있다. 예를 들면, 항-DEC-205 항체는 세포의 표면상에서, 예를 들면, 본 발명의 항체를 코딩하는 핵산 서열을 함유한 벡터로 세포를 형질감염 또는 형질전환시킴으로써 직접적으로 발현될 수 있다. 이는, 예를 들면, 막간 도메인 및 항-수지상 세포 항체, 또는 이의 항원 결합 단편을 함유하는 융합 단백질을 코딩하는 핵산으로 표적 세포를 형질감염시킴으로써 이루어진다. 이러한 핵산, 융합 단백질, 및 이러한 융합 단백질을 발현하는 세포를 생성하기 위한 방법은, 예를 들면, 본원에 참고로 전체가 인용된 미국 특허 출원 일련 번호 제09/203,958호에 기재되어 있다. 다르게는, 항-수지상 세포 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 화학 결합기, 지질 태그(tag), 또는 다른 관련된 방법을 사용하여 세포 또는 병원체에 결합될 수 있다(deKruif, J. et al. (2000) *Nat. Med.* 6:223-227; Nizard, P. et al. (1998) *FEBS Lett.* 433:83-88). 표면 고착된 항-DEC-205 항체를 갖는 세포가 사용되어, 세포, 예를 들어 종양 세포 또는 미생물 병원체에 대한 특이적 면역 반응을 유도할 수 있다.

[0228]

III. 약학 조성물

[0229]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 단일클론 항체 또는 항체들의 조합물을 함유하고, 약학적으로 허용되는 담체와 함께 제형화된 조성물, 예를 들어, 약학 조성물을 제공한다. 본 발명의 항체를 포함하는 이종특이성 분자 또는 분자 컨쥬게이트를 함유하는 조성물이 또한 제공된다. 한 실시양태에서, 조성물은 본 발명의 다수의(예를 들어, 둘 이상의) 단리된 항체의 조합물을 포함한다. 바람직하게는, 조성물의 각각의 항체는 DEC-205의 별개의 미리선택된 에피토프에 결합한다.

- [0230] 본 발명의 약학 조성물은 또한 병용 요법으로 투여될 수 있고, 즉, 다른 제제와 조합될 수 있다. 예를 들면, 병용 요법은 본 발명의 조성물을 하나 이상의 추가의 치료제, 예컨대 소염제, 질병 개선 항류머티즘 약물(DMARD: disease-modifying anti-rheumatic drugs), 면역억제제, 및 화학치료제와 함께 포함할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 또한 방사선 요법과 함께 투여될 수 있다. 다른 항체, 예컨대 CD4 특이적 항체, 또는 IL-2 특이적 항체와의 공동투여 또한 본 발명에 의해 포함된다. CD4 특이적 항체 또는 IL-2 특이적 항체와의 이러한 조합은 자가면역 질병 및 이식 거부를 치료하기에 특별히 유용한 것으로 고려된다. CTLA4, CD40 등에 항체를 병용하는 것은 암 및 감염성 질병 치료에 특별히 유용하다.
- [0231] 또 다른 실시양태에서, APC에 의해 신속히 내재화되는 백신 컨쥬케이트는 수지상 세포의 항원 제시 세포 활성, 예를 들어, 면역자극 사이토kin의 방출을 증진시키는 단일클론 항체와 병용될 수 있다.
- [0232] 본원에 사용될 경우, "약학적으로 허용되는 담체"로는 생리학적으로 화합성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅물, 항박테리아 및 항진균제, 등장성 및 흡수 지연 제제 등을 포함한다. 바람직하게는, 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비경구, 척추 또는 상피 투여(예를 들어, 주사 또는 주입에 의해)에 적합하다. 투여 경로에 따라, 활성 화합물, 즉 항체, 이중특이성 및 다중특이성 분자는 화합물을 실활시킬 수 있는 산의 작용 및 기타 자연 조건으로부터 화합물을 보호하기 위한 임의의 물질에서 코팅될 수 있다.
- [0233] 본 발명의 항체 및 구조물과 함께 사용될 수 있는 보조제의 예로는, 프런드의 불완전 보조제 및 완전 보조제(디프코 래보레이토리즈(Difco Laboratories), 미시간주 디트로이트 소재); 메르크 아쥬반트(Merck Adjuvant) 65(메르크 앤 캄파니 인코포레이티드(Merck and Company, Inc.), 뉴저지주 라웨이 소재); AS-2(스미쓰클라인 비참(SmithKline Beecham), 펜실바니아주 필라델피아 소재); 알루미늄 염, 예컨대 알루미늄 하이드록사이드(명반) 또는 알루미늄 포스페이트; 칼슘, 철 또는 아연의 염; 아세틸화 티로신의 불용성 혼탁액; 아실화된 당; 양이온성으로 또는 음이온성으로 유도체화된 다당류; 폴리포스파젠(polyphosphazene); 생분해성 미소구체; 사이토kin, 예컨대 GM-CSF, 인터류킨-2, -7, -12, 및 기타 유사 인자; 3D-MPL; CpG 올리고뉴클레오티드; 및 모노포스포릴 지질 A, 예를 들면 3-데-0-아실화된 모노포스포릴 지질 A가 포함된다.
- [0234] MPL 보조제는 코릭사 코포레이션(Corixa Corporation)(워싱턴주 시애틀 소재; 예를 들면, 미국 특허 제4,436,727호; 제4,877,611호; 제4,866,034호 및 제4,912,094호 참조)으로부터 입수 가능하다. CpG-함유 올리고뉴클레오티드(여기서 CpG 디뉴클레오티드는 메틸화되지 않음)는 공지되어 있고, 예를 들면, 국제 특허 출원 공개공보 제WO 96/02555호, 제WO 99/33488호 및 미국 특허 제6,008,200호 및 제5,856,462호에 기재되어 있다. 면역자극 DNA 서열은 또한 예를 들면 문헌[Sato et al., *Science* 273:352, 1996]에 기재되어 있다.
- [0235] 추가의 대안의 보조제로는, 예를 들면, 사포닌(saponin), 예컨대 퀄(Quill) A, 또는 이의 유도체, 예컨대 QS21 및 QS7(아퀼라 바이오파마슈티칼스 인코포레이티드(Aquila Biopharmaceuticals Inc.), 매사추세츠주 프래밍햄 소재); 에신(Escin); 디지토닌(Digitonin); 또는 길소필라(Gypsophila) 또는 케노포디움 퀴노아(Chenopodium quinoa) 사포닌; 몬타니드(Montanide) ISA 720(세핀(Seppic), 프랑스 소재); SAF(키론(Chiron), 미국 캘리포니아주 소재); ISCOMS(CSL), MF-59(키론(Chiron)); 보조제의 SBAS 시리즈(예를 들어, SBAS-2 또는 SBAS-4, 스미쓰클라인 비참에서 입수 가능함, 벨기에 리센사트 소재); 데톡스(Detox)(엔한진(Enhazyn: 등록상표))(코릭사(Corixa), 몬테나주 헤밀턴 소재); RC-529(코릭사, 몬테나주 헤밀턴 소재) 및 기타 아미노알킬 글루코사미니드 4-포스페이트(AGP: aminoalkyl glucosaminide 4-phosphate); 폴레이텔린 에터 보조제, 예컨대 국제 특허 출원 공개공보 제WO 99/52549A1호에 기재된 보조제; 합성 이미다조퀴놀린, 예컨대 이미퀴모드(imiquimod)[S-26308, R-837](Harrison, et al., *Vaccine* 19: 1820-1826, 2001); 및 레시퀴모드(resiquimod)[S-28463, R-848](Vasilakos, et al., *Cellular immunology* 204: 64-74, 2000); 항원 제시 세포 및 T-세포 표면 상에서 구조적으로 발현되는 카보닐 및 아민의 시프 염기(Schiff base), 예컨대 투카레솔(tucaresol)(Rhodes, J. et al., *Nature* 377: 71-75, 1995); 사이토kin, 케모카인(chemokine) 및 단백질이나 웹티드로서의 공동 자극 분자, 예를 들면 전구염증성 사이토kin, 예컨대 인터페론, GM-CSF, IL-1 알파, IL-1 베타, TGF-알파 및 TGF-베타, Th1 유도인자, 예컨대 인터페론 감마, IL-2, IL-12, IL-15, IL-18 및 IL-21, Th2 유도인자, 예컨대 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 및 IL-13 및 다른 케모카인 및 공동 자극 유전자, 예컨대 MCP-1, MIP-1 알파, MIP-1 베타, RANTES, TCA-3, CD80, CD86 및 CD40L; 리간드를 표적화하는 면역자극제, 예컨대 CTLA-4 및 L-셀렉틴(selectin), 아포토시스(apoptosis) 자극 단백질 및 웹티드, 예컨대 Fas; 합성 지질 기재의 보조제, 예컨대 백스펙틴(vaxfectin)(Reyes et al., *Vaccine* 19: 3778-3786, 2001) 스쿠알렌(squalene), 알파-토코페롤(alpha-tocopherol), 폴리솔베이트(polysorbate) 80, DOPC 및 콜레스테롤; 내독소, [LPS](Beutler, B., *Current Opinion in Microbiology* 3: 23-30, 2000); Toll 수용체를 개시시켜 Th1-유도 사이토kin을 생산하는 리간드, 예컨대 합성 마이코박테리아(Mycobacterial) 지단백질, 마이코박테리아 단백질 p19, 웹티도글리칸, 테이코산

(teichoic acid) 및 지질 A; 및 CT(콜레라 독소, 서브유닛 A 및 B) 및 LT(이. 콜라이로부터의 열 불안정성 장독소, 서브유닛 A 및 B), 열 충격 단백질 계열(HSP: heat shock protein family), 및 LLO(리스테리올리신(listeriolysin) O; 국제 특허 출원 공개공보 제WO 01/72329호)가 포함된다. 이들 및 다양한 추가의 Toll-유사 수용체(TLR: Toll-like Receptor) 작용물들은 예를 들면 문헌[Kanzler et al, *Nature Medicine*, May 2007, Vol 13, No 5]에 기재되어 있다.

[0236] "약학적으로 허용되는 염"은 모 화합물의 원하는 생물학적 활성을 보유하지만 임의의 원치않는 독성 효과는 부여하지 않는 염을 지칭한다(예를 들어, 문헌[Berge, S.M., et al. (1977) *J. Pharm. Sci.* 66:1-19]. 이러한 염의 예로는 산 부가 염 및 염기 부가 염이 포함된다. 산 부가 염으로는 무독성 무기산, 예컨대 염산, 질산, 인산, 황산, 브롬화수소산, 요오드화수소산, 아인산 등으로부터 유도된 염, 뿐만 아니라 무독성 유기산, 예컨대 지방족 일카복실산 및 이카복실산, 페닐 치환된 알칸산, 하이드록시알칸산, 방향족산, 지방족 및 방향족 셀忿산 등으로부터 유도된 염이 포함된다. 염기 부가 염으로는 알칼리 토금속, 예컨대 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등으로부터 유도된 염, 뿐만 아니라 무독성 유기 아민, 예컨대 N,N'-디벤질에틸렌디아민, N-메틸글루카민, 클로로프로카인(chloroprocaine), 콜린(choline), 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 프로카인(procaine) 등으로부터 유도된 염이 포함된다.

[0237] 본 발명의 조성물은 당 분야에 공지된 다양한 방법에 의해 투여될 수 있다. 당 분야의 숙련가에 의해 인식되는 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 원하는 결과에 따라 달라질 것이다. 활성 화합물은 신속한 방출에 대해 화합물을 보호하는 담체, 예컨대 제어 방출 제형, 예를 들면 임플란트(implant), 경피 패치(patch), 및 미소캡슐화된(microencapsulated) 전달 시스템에 의해 제조될 수 있다. 생분해가능하고 생물화합성인 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 다중무수물(polyanhydride), 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스터, 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제형을 제조하기 위한 많은 방법은 특허화되거나 당 분야의 숙련가에게 일반적으로 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조한다.

[0238] 본 발명의 화합물을 특정한 투여 경로에 의해 투여하기 위해, 이의 실활을 방지하는 물질로 화합물을 코팅하거나 이러한 물질과 함께 공동투여할 필요가 있을 수 있다. 예를 들면, 화합물은 적절한 담체, 예를 들면, 리포솜(liposome), 또는 희석제중에서 피험체에게 투여될 수 있다. 약학적으로 허용되는 희석제로는 염수 및 수성 완충 용액이 포함된다. 리포솜으로는 수중유중수적형(water-in-oil-in-water) CGF 에멀젼, 뿐만 아니라 통상의 리포솜이 포함된다(Strejan et al. (1984) *J. Neuroimmunol.* 7:27).

[0239] 약학적으로 허용되는 담체로는 멸균 수용액 또는 분산액, 및 주사가능한 멸균 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말이 포함된다. 약학적으로 활성인 물질을 위한 이러한 매질 및 제제의 용도는 당 분야에 공지되어 있다. 임의의 통상의 매질 또는 제제가 활성 화합물과 비화합성인 경우를 제외하고, 본 발명의 약학 조성물에서 이의 사용이 고려된다. 보충 활성 화합물 또한 조성물내로 혼입될 수 있다.

[0240] 치료학적 조성물은, 전형적으로 제작 및 저장 조건하에 멸균 상태이고 안정해야 한다. 조성물은 용액, 마이크로 에멀젼(microemulsion), 리포솜, 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 정렬된 구조로서 제형화될 수 있다. 담체는, 예를 들면, 물, 에탄올, 폴리올(예를 들면, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등)을 함유하는 용매 또는 분산 매질, 및 이의 적합한 혼합물일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들면, 코팅물, 예컨대 레시틴(lecithin)을 사용하고, 분산액의 경우 원하는 입자 크기를 유지시키고, 계면활성제를 사용함으로써 유지될 수 있다. 많은 경우에, 등장성 제제, 예를 들면, 당, 폴리알코올, 예컨대 만니톨, 솔비톨 또는 염화나트륨을 조성물에 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사가능한 조성물의 연장된 흡수는 조성물에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들면, 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 이루어질 수 있다.

[0241] 멸균 주사가능한 용액은 적절한 용매중에서 필요한 양의 활성 화합물을, 필요에 따라 상기 열거된 구성성분중 하나 또는 이들의 조합물과 함께 혼입한 후, 멸균 미세여과함으로써 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 기본 분산 매질 및 상기 열거된 바와 같은 필요한 다른 구성성분이 함유된 멸균 비히클내로 활성 화합물을 혼입함으로써 제조된다. 멸균 주사가능한 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조의 바람직한 방법은 진공 건조 및 동결 건조(냉동건조)이고, 이는 활성 구성성분+이의 이전에 멸균 여과된 용액으로부터의 추가의 원하는 구성성분을 산출한다.

[0242] 투여량 섭생은 원하는 반응(예를 들어, 치료학적 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들면, 단일 거환이 투여되거나, 수 회로 나눠진 투약량이 시간에 걸쳐 투여되거나, 위급한 치료학적 상황으로 나타날 경우 투약량이 비례적으로 감소 또는 증가될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 항체는 매주 1회 또는 2회 피하 주사로 투여되거나,

매월 1회 또는 2회 피하 주사로 투여될 수 있다.

[0243] 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 투여 단위형으로 비경구 조성물을 제형화하는 것이 특히 유리하다. 투여 단위형은, 본원에 사용될 경우, 치료되는 피험체에 대한 통합된 투여량으로서 적합한 물리적으로 별개인 단위를 지칭하고; 각각의 단위는 필요한 약학적 담체와 함께 원하는 치료 효과를 생산하도록 계산된 활성 화합물의 예정된 함량을 함유한다. 본 발명의 투여 단위형에 대한 세부사항은 (a) 활성 화합물의 특유의 특징 및 달성을 특별한 치료 효과, 및 (b) 개체에서의 감수성을 치료하기 위한 이러한 활성 화합물을 배합하는 당 분야에 내재하는 제한점에 의해 지시되고, 이에 직접적으로 의존된다.

[0244] 약학적으로 허용되는 항산화제의 예로는: (1) 수용성 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 시스테인 하이드로클로라이드, 소듐 비설페이트, 소듐 메타비설페이트, 아황산나트륨 등; (2) 유용성 항산화제, 예컨대 아스코빌 팔미테이트, 부틸화 하이드록시아니솔(BHA: butylated hydroxyanisole), 부틸화 하이드록시톨루엔(BHT: butylated hydroxytoluene), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 메탈 키헤이트화제, 예컨대 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산(EDTA: ethylenediamine tetraacetic acid), 솔비톨, 타타르산, 인산 등이 포함된다.

[0245] 치료학적 조성물을 위해, 본 발명의 제형으로는 경구, 비강, 국소(구강 및 설하 포함), 직장, 질 및/또는 비경구 투여에 적합한 제형이 포함된다. 제형은 편리하게는 단위 투여형으로 제공되고, 약학 분야에 공지된 임의의 방법으로 제조될 수 있다. 단일 투여형을 생산하기 위해 담체 물질과 배합될 수 있는 활성 구성성분의 양은 치료될 피험체, 및 특별한 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 단일 투여형을 생산하기 위해 담체 물질과 배합될 수 있는 활성 구성성분의 양은 일반적으로 치료 효과를 생산하는 조성물의 양일 것이다. 일반적으로, 100 퍼센트중 이러한 양은 약 0.001 퍼센트~약 90 퍼센트, 바람직하게는 약 0.005 퍼센트~약 70 퍼센트, 가장 바람직하게는 약 0.01 퍼센트~약 30 퍼센트 범위의 활성 구성성분일 것이다.

[0246] 질 투여에 적합한 본 발명의 제형으로는 당 분야에 적절한 것으로 공지된 바와 같은 담체를 함유하는 페서리(pessary), 탐폰(tampon), 크림, 젤, 페이스트(paste), 포움(foam) 또는 스프레이 제형이 또한 포함된다. 본 발명의 조성물의 국소 또는 경피 투여를 위한 투여형으로는 분말, 스프레이, 연고, 페이스트, 크림, 로션, 젤, 용액, 패치 및 흡입제가 포함된다. 활성 화합물은 약학적으로 허용되는 담체, 및 필요할 수 있는 임의의 보존제, 완충제, 또는 추진제와 함께 멸균 조건하에 혼합될 수 있다.

[0247] "비경구 투여" 및 "비경구적으로 투여된"이라는 문구는, 본원에 사용될 경우 장 투여 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하고, 통상적으로 주사에 의해서이고, 제한없이, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내(intrathecal), 낭내(intracapsular), 안와내(intraorbital), 심장내, 피내(intradermal), 복강내, 경기관(transtracheal), 피하, 표피하(subcuticular), 관절내, 낭하(subarachnoid), 척수내, 경막외(epidural) 및 흉골내(intrasternal) 주사 및 주입이 포함된다.

[0248] 본 발명의 약학 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예로는 물, 에탄올, 폴리올(예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 이의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브유, 및 주사가능한 유기 에스터, 예컨대 에틸 올레이트가 포함된다. 적절한 유동성은, 예를 들면, 코팅물, 예컨대 레시틴을 사용하고, 분산액의 경우 원하는 입자 크기를 유지시키고, 계면활성제를 사용함으로써 유지될 수 있다.

[0249] 이들 조성물은 또한 보조제, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제를 함유할 수 있다. 미생물의 존재의 예방은 상기 멸균 절차, 및 다양한 항생제 및 항진균제, 예를 들면, 파라벤(paraben), 클로로부탄올, 페놀 소르브산 등의 포함 둘다에 의해 확보될 수 있다. 또한 등장성 제제, 예컨대 당, 염화나트륨 등을 조성물내에 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 또한, 주사가능한 약제형의 연장된 흡수는 흡수를 지연시키는 제제, 예컨대 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시킴으로써 이루어질 수 있다.

[0250] 본 발명의 화합물이 인간 및 동물에게 약제로서 투여될 경우, 이들은 단독으로, 또는 예를 들면, 0.001~90%(보다 바람직하게는, 0.005~70%, 예컨대 0.01~30%)의 활성 구성성분을 약학적으로 허용되는 담체와 함께 포함하는 약학 조성물로서 제공될 수 있다.

[0251] 선택되는 투여 경로와 상관없이, 적합한 수화된 형태로 사용될 수 있는 본 발명의 화합물, 및/또는 본 발명의 약학 조성물은 당 분야의 숙련가에게 공지된 통상의 방법에 의해 약학적으로 허용되는 투여형으로 제형화된다.

[0252] 본 발명의 약학 조성물중의 활성 구성성분의 실제 투여량 수준은, 환자에게 독성이지 않으면서, 특정 환자, 조성물 및 투여 방식에 대한 원하는 치료학적 반응을 달성하기에 효과적인 활성 구성성분의 양을 수득하도록 다양할 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용된 본 발명의 특정 조성물, 또는 이의 에스테르, 염 또는 아미드의

활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정 화합물의 소거율, 치료 기간, 사용되는 특정 조성물과 함께 이용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료되는 환자의 연령, 성별, 체중, 증상, 일반적 건강 및 이전의 의학적 이력, 및 의학 분야에 잘 공지된 유사 인자를 비롯한 약동역학적 인자에 따라 좌우될 것이다. 당 분야의 통상의 기술을 갖는 의사 또는 수의사라면 필요한 약학 조성물의 효과량을 쉽게 결정하고 처방할 수 있다. 예를 들면, 의사 또는 수의사는 약학 조성물에 사용되는 본 발명의 화합물의 투약량을 원하는 치료 효과가 달성되기 위해 필요한 수준 보다 낮게 시작하여, 원하는 효과에 도달될 때까지 점진적으로 투여량을 증가시킬 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 조성물의 적합한 1일 용량은 치료 효과를 생산하기에 효과적인 최저 투약량인 화합물의 양일 수 있다. 이러한 투여 용량은 일반적으로 상기 기재된 인자에 따라 좌우될 수 있다. 투여는 정맥내, 근육내, 복강내, 또는 피하 투여인 것이 바람직하고, 바람직하게는 표적 부위 가까이에 투여된다. 원할 경우, 치료학적 조성물의 1일 유효량은, 선택가능하게는 단위 투여형으로, 하루 전체를 통해 적절한 간격으로 2회, 3회, 4회, 5회, 6회 이상의 하위 투약량으로 별도로 투여될 수 있다. 본 발명의 화합물은 단독으로 투여가능하지만, 약학 제형(조성물)으로서 화합물을 투여하는 것이 바람직하다.

[0253] 치료학적 조성물은 당 분야에 공지된 의학적 장치에 의해 투여될 수 있다. 예를 들면, 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 치료학적 조성물은 무침 피하 주사 장치(needleless hypodermic injection device), 예컨대 미국 특허 제5,399,163호, 제5,383,851호, 제5,312,335호, 제5,064,413호, 제4,941,880호, 제4,790,824호, 또는 제4,596,556호에 개시된 장치에 의해 투여될 수 있다. 본 발명에 유용한 공지된 임플란트 및 모듈(module)의 예는: 제어된 속도로 약제를 분산시키기 위한 이식가능한 미세주입 펌프를 개시하는 미국 특허 제4,487,603호; 피부를 통해 약제를 투여하기 위한 치료학적 장치를 개시하는 미국 특허 제4,486,194호; 정확한 주입 속도로 약제를 전달하기 위한 약제 주입 펌프를 개시하는 미국 특허 제4,447,233호; 연속적인 약물 전달을 위한 가변성 유동 이식가능한 주입 장치를 개시하는 미국 특허 제4,447,224호; 다중 챔버 구획을 갖는 삼투 약물 전달 시스템을 개시하는 미국 특허 제4,439,196호; 및 삼투 약물 전달 시스템을 개시하는 미국 특허 제4,475,196호에 기재된 예를 포함한다. 많은 다른 이러한 임플란트, 약물 시스템 및 분자는 당 분야의 숙련가에게 공지되어 있다.

[0254] 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 생체내 적절한 분포를 보장하도록 제형화될 수 있다. 예를 들면, 혈뇌 장벽(BBB: blood-brain barrier)은 많은 고도로 친수성인 화합물을 배제한다. 본 발명의 치료학적 화합물이 BBB를 가로지르는 것을 보장하기 위해(바람직할 경우), 이들은, 예를 들면 리포솜에서 제형화될 수 있다. 리포솜을 제작하는 방법을 위해, 예를 들어, 미국 특허 제4,522,811호; 제5,374,548호; 및 제5,399,331호를 참조한다. 리포솜은 특정 세포 또는 기관내로 선택적으로 수송되어 표적화된 약물 전달을 증진시키는 하나 이상의 잔기를 포함할 수 있다(예를 들어, 문헌[V.V. Ranade (1989) *J. Clin. Pharmacol.* 29:685] 참조). 예시적인 표적화 잔기로는 폴레이트(folate) 또는 비오틴(biotin)(예를 들어, 미국 특허 제5,416,016호(Low et al)); 만노사이드(Umezawa et al, (1988) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153:1038); 항체(P.G. Bloeman et al. (1995) *FEBS Lett.* 357:140; M. Owais et al. (1995) *Antimicrob. Agents Chemother.* 39:180); 계면활성제 단백질 A 수용체(Briscoe et al. (1995) *Am. J. Physiol.* 1233:134), 본 발명의 제형을 포함할 수 있는 상이한 종류, 뿐만 아니라 발명된 분자의 성분들; p120(Schreier et al. (1994) *J. Biol. Chem.* 269:9090)이 포함되고; 또한 문헌[K. Keinanen; M.L. Laukkanen (1994) *FEBS Lett.* 346:123; J.J. Killion; I.J. Fidler (1994) *Immunomethods* 4:273]을 참조한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 본 발명의 치료학적 화합물은 리포솜에서 제형화되고; 보다 바람직한 실시양태에서, 리포솜은 표적화 잔기를 포함한다. 가장 바람직한 실시양태에서, 리포솜중의 치료학적 화합물은 종양 또는 감염에 가까운 부위로 일시 주사(bolus injection)에 의해 전달된다. 조성물은, 용이하게 주사될 정도로 유체이어야 한다. 이는 제작 및 저장 조건하에 안정해야 하고, 미생물, 예컨대 박테리아 및 진균의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다.

[0255] 암을 저해하는 화합물의 능력은 인간 종양에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서 평가될 수 있다. 다른 계는, 조성물의 특성은, 저해하는 화합물의 능력을 검사함으로써 평가될 수 있고, 이러한 시험판내 저해는 숙련가에게 공지된 검정에 의해 평가된다. 치료학적 화합물의 치료 효과량은 종양 크기를 감소시키거나, 다른 계는 피험체에서 증후를 경감시킬 수 있다. 당 분야의 숙련가라면 피험체의 크기, 피험체 증후의 위중성, 및 선택된 특정 조성물 또는 투여 경로와 같은 인자에 기초하여 이러한 양을 결정할 수 있을 것이다.

[0256] 다양한 표적 세포 또는 병원체에 대해 세포독성 T 세포(CTL) 반응을 유도하거나 항원 제공을 증진시키는 항체의 능력은 또한 당 분야에 잘 공지된 방법에 따라 평가될 수 있다.

[0257] 조성물은 멸균상태이어야 하고 조성물이 주사기로 전달될 수 있는 정도로 유체이어야 한다. 물에 추가로, 담체는 등장성 완충 염수 용액, 에탄올, 폴리올(예를 들면, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등) 및 이의 적합한 혼합물일 수 있다. 적절한 유동성을 예를 들면, 코팅물, 예컨대 레시틴을 사용하고, 분산액

의 경우 원하는 입자 크기를 유지시키고, 계면활성제를 사용함으로써 유지될 수 있다. 많은 경우에, 등장성 제제, 예를 들면, 당, 다가알코올, 예컨대 만니톨 또는 솔비톨, 및 염화나트륨을 조성물에 포함시키는 것이 바람직하다. 주사가능한 조성물의 장기간의 흡수는 조성물에 흡수를 지연시키는 제제, 예를 들면, 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 포함시킴으로써 이루어질 수 있다.

[0258] 상기 기재된 바와 같이 활성 화합물이 적합하게 보호될 경우, 화합물은 경구적으로, 예를 들면, 불활성 희석제 또는 동화가능한 식용 담체와 함께 투여될 수 있다.

IV. 본 발명의 용도 및 방법

[0260] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체, 이중특이성 분자, 및 분자 컨쥬케이트는 다양한 질병 및 증상을 치료 및/또는 예방(예를 들어, 이에 대해 면역화)하기 위해 사용될 수 있다.

[0261] 본 발명의 항체를 사용하여 치료될 수 있는 1차적인 질병 정후중 하나는 암이다. 이로는, 제한되지 않지만, 대장암, 흑색종, 림프종, 전립선 암종, 췌장 암종, 방광 암종, 섬유육종, 횡문근육종, 비만세포종(mastocytoma), 유방 선암, 백혈병, 또는 류머티스성 섬유모세포종이 포함된다. 또다른 1차적인 질병 정후는 감염성 질병이고, 예컨대 제한되지 않지만, HIV, 간염(예를 들어, A, B, 및 C), 인플루엔자, 포진, 지아르디아(Giardia), 말라리아(Malaria), 라이슈마니아(Leishmania), 스타필로코커스 아우레스(*Staphylococcus Aureus*), 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)가 포함된다. 또다른 1차적인 질병 정후로는 자가면역 질병이 포함된다.

[0262] 치료법에 사용하기 위해, 본 발명의 백신 컨쥬케이트는 단독으로 또는 면역자극제와 함께 피험체에 직접적으로 (즉, 생체내로) 투여될 수 있다. 한 양태에서, 면역자극제는 컨쥬케이트에 연결된다. 다르게는, 컨쥬케이트는 우선 컨쥬케이트를 APC, 예컨대 수지상 세포와 접촉시키고(예를 들어, 배양 또는 항온처리에 의해), 이어서 세포를 피험체에 투여함으로써(즉, 생체외로) 피험체에 간접적으로 투여될 수 있다. 컨쥬케이트가 투여 이전에 APC에 의해 처리되고 제공되도록 하는 컨쥬케이트의 APC로의 접촉 및 전달은 또한 항원 또는 세포 "로딩"(loading)으로 지칭된다. 항원을 APC에 로딩하기 위한 기법은 당 분야에 잘 공지되어 있고, 예를 들면, 문헌 [Gunzer and Grabbe, *Crit Rev Immunol* 21 (1-3): 133-45 (2001)] 및 [Steinman, *Exp Hematol* 24(8): 859-62 (1996)]에 기재된 기법을 포함한다.

[0263] 모든 경우에, 백신 컨쥬케이트 및 면역자극제는 원하는 치료 효과를 부가하는 효과량으로 투여된다. 용어 "효과량"은 원하는 생물학적 효과를 실현하기 위해 필요하거나 충분한 양을 지칭한다. 예를 들면, 효과량은 중양, 암 또는 박테리아, 바이러스 또는 진균 감염을 제거하기 위해 필수적인 양일 수 있다. 임의의 특정 용도를 위한 효과량은 치료될 질병 또는 증상, 투여되는 특정 컨쥬케이트, 피험체의 크기, 또는 질병 또는 증상의 위중성과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 당 분야의 숙련가라면 과도한 실험을 필요로 하지 않고 특별한 다투이적 분자의 효과량을 경험적으로 결정할 수 있다.

[0264] 백신 컨쥬케이트를 투여하는 바람직한 경로로는, 예를 들면, 주사(예를 들어, 피하, 정맥내, 비경구, 복강내, 척추강내)가 포함된다. 주사는 일시 주입 또는 연속 주입일 수 있다. 다른 투여 경로로는 경구 투여가 포함된다.

[0265] 본 발명의 백신 컨쥬케이트는 또한 보조제 및 다른 치료제와 공동투여될 수 있다. 용어 "공동투여되는"은, 본원에 사용될 경우 본 발명의 항체 및 컨쥬케이트를 보조제 및 기타 제제와, 투약 섭생의 일부로서 투여함을 비롯하여, 동시에, 별도로 또는 순차적으로 투여함을 임의로 또는 이의 모두를 포함한다. 전형적으로 컨쥬케이트는 약학적으로 허용되는 담체에서 단독으로 또는 이러한 제제와 함께 제형화된다. 이러한 담체의 예로는 용액, 용매, 분산 매질, 지연제, 에멀젼 등이 포함된다. 약학적 활성 물질을 위한 이러한 매질의 사용은 당 분야에 잘 공지되어 있다. 분자와 함께 사용하기에 적합한 통상적인 임의의 다른 담체는 본 발명의 범주내에 속한다.

[0266] 백신 컨쥬케이트와의 공동투여에 적합한 제제로는 다른 항체, 세포독소 및/또는 약물이 포함된다. 한 실시양태에서, 제제는 면역 반응에 도움을 주거나 유도하는 것으로 공지된 항-CTLA-4 항체이다. 또 다른 실시양태에서, 제제는 화학치료제이다. 백신 컨쥬케이트는 또한 방사선과 함께 투여될 수 있다.

[0267] 종양의 치료에서 본 발명의 항체 및 컨쥬케이트와 공동투여하기에 적합한 화학치료제로는, 예를 들면 탁솔, 사이토칼라신 B, 그래미시딘 D, 에티디움 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜치신, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안트라신 디온, 미토산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀올, 및 푸로마이신 및 이의 유사체 또는 상동체가 포함된다. 추가의 제제로는, 예를 들면, 대사길항물질(예를 들어, 메토트렉세이트, 6-미캡토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오로우라실 테카바진), 알킬화제(예를 들어, 메

클로에타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, 카무스틴(BSNU) 및 로무스틴(CCCNU), 사이클로토스파미드, 부설판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 및 시스-디클로로디아민 백금(II)(DDP) 시스플라틴), 안트라사이클린(예를 들어, 다우노루비신(이전에 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제(예를 들어, 닥티노마이신(이전에 악티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신, 및 안트라마이신(AMC)), 및 세포분열 저지제(예를 들어, 빙크리스틴 및 빙블라스틴), 및 테모졸로미드(temozolomide)가 포함된다.

[0268] 예를 들면, 면역 세포(예를 들면 조절 T-세포, NKT 세포, 대식세포, 미엘로이드(myeloid)-유도화된 억제 세포, 미성숙 또는 억제성 수지상 세포) 또는 종양의 국부적 미세환경에서 종양 또는 숙주 세포에 의해 생산되는 억제성 인자(예를 들면, TGF-베타, 인돌레아민 2,3 디옥시제나아제(IDO: indoleamine 2,3 dioxygenase)에 의한 면역 억제 활성을 없애거나 저해하는 제제는, 또한 본 발명의 항체 및 콘쥬게이트와 함께 투여될 수 있다. 이러한 제제로는 항체 및 소분자 약물, 예컨대 IDO 저해제, 예컨대 1 메틸 트립토판 또는 유도체가 포함된다.

[0269] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 자가면역, 면역계, 또는 염증성 질환, 예를 들어, 수지상 세포에 의한 면역조절과 연관된 잘못된 또는 원치않는 면역 활성을 특징으로 하는 질환을 앓는 피험체를 치료하기 위해 사용될 수 있다. 본 발명의 항수지상 세포에 의한 치료에 유리한 자가면역, 면역계, 및 염증성 질환으로는 류머티스성 관절염, 다발성 경화증, 면역매개된 또는 제1형 진성당뇨병, 중증근무력증, 악성빈혈, 애디슨병(Addison's disease), 쇼그伦 증후군(Sjogren's syndrome), 건선, 홍반성 루푸스, 염증성 장 질환, 예컨대 크론병(Crohn's disease) 및 궤양성 대장염, 경피증/레이노드 증후군(Raynaud's syndrome), 라이터 증후군(Reiter's syndrome), 및 자가면역 갑상선 질환, 예컨대 하시모토(Hashimoto) 갑상선염 및 그레이브병(Graves's disease)이 포함된다. 예를 들면, 자가면역 질환을 앓는 피험체는 자가항원의 수지상 세포 매개된 제공을 저해함으로써 유리하다.

[0270] 본 발명의 항체는 또한 제한없이, 알레르기성 안과 질환, 예컨대 알레르기성 결막염, 봄철 결막염, 봄철 각결막염, 및 거대 유두상(papillary) 결막염; 알레르기성 비강 질환, 예컨대 비염 및 부비강염; 알레르기성 귀 질환, 예컨대 유스타키오관 가려움증; 알레르기성 상하 기도 질환, 예컨대 내적 외적 천식; 알레르기성 피부 질환, 예컨대 피부염, 습진 및 두드러기; 및 알레르기성 위장관 질환을 포함하는 모든 형태의 알레르기 및 알레르기성 질환을 예방 및 치료하기 위해 사용될 수 있다.

[0271] 이러한 면역 질환을 치료하기 위한 본 발명의 항체와 공동투여하기에 적합한 제제로는, 예를 들면, 면역억제제, 예컨대 라파마이신(rapamycin), 사이클로스포린(cyclosporin) 및 FK506; 항-TNF α 제제, 예컨대 에타너셉트(etanercept), 아달리뮤맙(adalimumab) 및 인플릭시맙(infliximab); 및 스테로이드가 포함된다. 특정 친연 및 합성 스테로이드의 예로는, 예를 들면: 알도스테론(aldosterone), 베클로메타손(becломethasone), 베타메타손(betamethasone), 부데소니드(budesonide), 클로프레드놀(cloprednol), 코르티손(cortisone), 코티바졸(cortivazol), 데옥시코르토론(deoxycortone), 데소니드(desonide), 데속시메타손(desoximetasone), 덱사메타손(dexamethasone), 디플루오로코르톨론(difluorocortolone), 플루클로론(fluclorolone), 플루메타손(flumethasone), 플루니솔리드(flunisolide), 플루시놀론(fluocinolone), 플루오시노니드(fluocinonide), 플루오코르틴 부틸(fluocortin butyl), 플루오로코르티손(fluorocortisone), 플루오로코르톨론(fluorocortolone), 플루오로메톨론(fluorometholone), 플루란드레놀론(flurandrenolone), 플루티카손(fluticasone), 할시노니드(halcinonide), 하이드로코르티손(hydrocortisone), 이코메타손(icometasone), 메프레드니손(meprednisone), 메틸프레드니솔론(methylprednisolone), 파라메타손(paramethasone), 프레드니솔론(prednisolone), 프레드니손(prednisone), 틱소코르톨(tixocortol) 및 트리암시놀론(triamcinolone)이 포함된다.

[0272] 본 발명의 항-DEC-205 항체를 사용하여 치료할 수 있는 질병의 다른 예로는 이식 거부반응 및 이식편 대 숙주 질병이 포함된다.

이식 거부반응

[0273] 최근 몇년에 걸쳐 조직 및 기관, 예컨대 피부, 신장, 간, 심장, 폐, 퀘장 및 골수를 이식하기 위한 수술 기법의 효능이 상당히 개선되어 왔다. 아마도 아직 처리되지 못한 중요한 주요 문제는 이식된 동종이식편 또는 기관에 대한 수여자에서의 면역관용(immune-tolerance)을 유도하기 위한 만족스러운 제제가 없다는 것이다. 동종이계(allogeneic) 세포 또는 기관이 숙주에 이식되는 경우(즉, 기증자 및 피이식자가 동일한 종으로부터의 상이한 개체인 경우), 숙주 면역계는 이식시 외래 항원에 대해 쉽게 면역 반응(숙주 대 이식편 질환)을 일으켜 이식된 조직의 파괴를 유도한다. CD8+ 세포, CD4+ 세포 및 단핵구는 모두 이식 조직의 거부에 관여된다. 본 발명의 항체는 피이식자에서 세포 매개된 동종항원 유도된 면역 반응을 저해하기에 유용하여, 이러한 세포가 이식된 조직 또는 기관의 파괴에 참여하지 않도록 방지한다.

[0275] 이식편 대 숙주 질병

본 발명의 항체에 관련된 용도는 "이식편 대 숙주" 질병(GVHD: graft versus host disease)에 관여된 면역 반응을 조절하는 것이다. GVHD는 면역학적으로 컴피턴트(competent) 세포가 동종이계 수여자에게 전달될 경우 초래되는 잠재적으로 치명적인 질병이다. 이러한 상황에서, 기증자의 면역생성능력(immunocompetent) 세포는 수여자의 조직을 공격할 수 있다. 피부, 위 상피 및 간의 조직이 종종 표적이 되고, GVHD의 과정 동안 파괴될 수 있다. 이러한 질병은 면역 조직이 이식되는 경우, 예컨대 골수 이식에서 특히 심각한 문제를 제시하지만; 덜 위중한 GVHD는 또한 심장 및 간 이식을 비롯한 다른 경우에 보고되고 있다. 본 발명의 치료제는 숙주 항원 제시 세포, 예를 들어 수지상 세포의 활성을 저해하기 위해 사용된다.

[0277] 본 발명은 추가로 하기 실시예로 예시되지만, 이는 추가로 제한되는 것으로 해석되어서는 안된다. 본원 전체에 인용된 서열 목록, 도면 및 모든 문현, 특히 및 공개 특허 출원의 내용은 명백히 본원에 참고로 인용되어 있다.

[0278] [실시예]

[0279] 실시예 1

[0280] DEC-205-특이적 인간 단일클론 항체(HuMabs: Human Monoclonal Antibodies)의 생성

[0281] 인간 항-DEC-205 단일클론 항체는 HuMAb® 유전자이식 마우스("HuMab"는 메데렉스 인코포레이티드(Medarex, Inc.)의 상표명임; 뉴저지주 프린스톤 소재)의 HC2/KCo7 균주를 가용성 인간 DEC-205 항원으로 면역화시킴으로써 생성되었다. HC2/KCo7 HuMAb 마우스는 미국 특허 제5,770,429호 및 제5,545,806호에 기재된 바와 같이 생성되었고, 이의 개시내용은 본원에 참고로 인용되어 있다.

[0282] 항원 및 면역화: 항원은 항체 Fc 도메인과 융합된 DEC-205 세포의 도메인(모든 10개의 렉틴 결합 도메인을 포함함)을 포함하는 가용성 융합 단백질이었다. 인간 DEC-205의 핵산 및 아미노산 서열은 PCT 특허 출원 공개공보 제WO 96023882호(Steinman)에 제공되어 있다. 제1 면역화를 위해 항원을 완전 프런드(시그마) 보조제와 혼합하였다. 이후, 항원을 불완전 프런드(시그마)와 혼합하였다. 추가의 마우스를 RIBI MPL+TDM 보조제 시스템(시그마)중 가용성 DEC-205 단백질로 면역화시켰다. PBS중 5-25 미생물 가용성 재조합 DEC-205 항원 또는 PBS중 인간 DEC-205의 표면 발현을 위해 형질감염된 5×10^6 CHO 세포를 보조제와 1:1로 혼합하였다. 100 마이크로리터의 제조된 항원을 마우스에 복강내로 14일마다 주사하였다. 항-DEC-205 역가를 나타낸 동물에게 10 마이크로그램 가용성 재조합 DEC-205 항원을 주입 3~4일 전에 정맥내로 제공하였다. 마우스 비장을 수거하고, 단리된 비장세포를 하이브리도마 제조에 사용하였다.

[0283] 하이브리도마 제조: P3x63Ag8.653 뮤린 골수종 세포주(ATCC CRL 1580)를 융합을 위해 사용하였다. 10% FBS를 함유한 RPMI 1640(인비트로겐(Invitrogen))을 사용하여 골수종 세포를 배양하였다. 추가의 배지 보강제를 하이브리도마 성장 배지에 첨가하였고, 이는 다음을 포함하였다: 3% 오리겐(Origen)-하이브리도마 클로닝 인자(아이겐(Igen)), 10% FBS(시그마), L-글루타민(깁코(Gibco)) 0.1% 젠타마이신(gentamycin)(깁코), 2-메캅토에탄올(깁코), HAT(시그마; 1.0×10^{-4} M 하이폭산틴(hypoxanthine), 4.0×10^{-7} M 아미노프테린(aminopterin), 1.6×10^{-5} M 티미딘), 또는 HT(시그마; 1.0×10^{-4} M 하이폭산틴, 1.6×10^{-5} M 티미딘) 배지.

[0284] 비장 세포를 653 골수종 세포와 6:1 비율로 혼합하고, 원심분리로 펠릿화하였다(pelleted). 주의깊게 혼합하면서 폴리에틸렌 글리콜을 적가하여 융합을 조장하였다. 가시성 콜로니가 확립될 때까지 하이브리도마를 1~2주 동안 성장시킬 수 있었다. 상청액을 수거하고, 인간 카파 쇄 특이적 포획 및 인간 Fc 특이적 검출을 사용하여 ELISA를 통해 인간 IgG에 대한 초기 스크리닝을 위해 사용하였다. 이어서 IgG 양성 상청액을 유세포 분석기를 통해 또는 DEC-205 ELISA의 사용에 의해 DEC-205 특이성에 대해 검정하였다.

[0285] 특이적 HuMab IgG를 생산하는 하이브리도마를 서브클로닝하고 확장시켰다. 이어서 생산된 HuMab를, 특히 관심있는 다수의 항체의 단리를 유도하는 표준 조건에 따라 단백질 A 칼럼 크로마토그래피로 정제하였다.

[0286] 실시예 2

[0287] 표면 플라스몬 공명(SPR)에 의한 HuMab의 친화도 및 속도 상수의 결정

[0288] 실시예 1로부터의 다양한 인간 항-DEC-205 항체의 결합 친화도 및 결합 동역학을, 제조업체 지침에 따라 비아코어™ 2000 SPR 기기(비아코어 AB, 스웨덴 옵살라 소재)를 사용하여 비아코어™ 표면 플라스몬 공명(SPR) 분석에

의해 검사하였다.

[0289] 정제된 재조합 인간 DEC-205 융합물(또는 대조표준) 단백질을, 제조업체 지침에 따라 비아코어에 의해 제공된 아민 커플링 키트(Amine Coupling Kit)(비아코어 상품 번호 BR-1000-50, 커플링 시약 N-하이드록시시석신이미드(NHS: N-hydroxysuccinimide) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카보디이미드 하이드로클로라이드(EDC: 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide hydrochloride)를 포함함)에 의하여 표준 아민 커플링 화학을 사용하여 비아코어TM CM5 센서 칩(금 표면에 공유 결합된 카복시메틸화된 텍스트란; 비아코어 상품 번호 BR-1000-14)에 공유적으로 연결시켰다. 낮은 수준의 리간드를 고정화시켜 동역학 매개변수에 대한 분석물의 질량 수송의 임의의 영향을 제한하여, 관찰된 $R_{\text{최대값}}$ 이 대략 200 RU이도록 하였다.

[0290] 항체를 HBS-NP 완충액(HBS-N 완충액, 비아코어 상품 번호 BR-1003-69: 4-(2-하이드록시에틸)-1-피페라진에탄설풀산(HEPES: hydroxyethyl piperazineethanesulfonic acid) 0.24%, 염화나트륨 0.88%, 적정량의 물, 여과/탈기되고 계면활성제 P20의 1:2000 희석에 의해 실온으로 미리평형화됨)중에서 1.25~200 nM 범위의 농도 및 35 $\mu\text{l}/\text{분}$ 의 유속으로 센서 칩 상에서 유동시킴으로써 결합을 측정하였다. 항원-항체 회합 및 해리 동역학을 각 경우 대략 300~600초 동안 수행하였다.

[0291] 상응하는 대조표준을 각각의 경우에 "배경(background)" 차감을 위해 관련되지 않은 단백질을 사용하여 수행하였다. 35 $\mu\text{l}/\text{분}$ 에서 17초 동안의 18 mM NaOH의 단일 주사를 연구 전체를 통해 재생 조건으로서 사용하였다.

[0292] 각 경우에 비아코어 동역학 위저드(Biacore's kinetics wizard)를 사용하여 HBS-NP 이동(running) 완충액중에 회석된 일련의 농도의 분석물로부터 동역학 매개변수를 도출하였다. 회합 및 해리 곡선을 제조업체 지침에 따라 비아코어TM 동역학 위저드 소프트웨어(비아코어 AB)에 의해 1:1 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델에 정합시켰다. 결정된 친화도 및 동역학 매개변수(배경 차감됨)는 하기 표 1에 제시되어 있다. 각각의 항체의 경우, 제시된 수치는 각각의 경우에 별도로 준비된 센서 칩을 사용하여 2개의 별도의 실험 시리즈의 평균이다(여기서 ka =회합의 속도 상수, kd =해리의 속도 상수, K_D =해리 평형 상수(친화도의 척도), K_A =회합 평형 상수, $R_{\text{최대값}}$ =최대 SPR 반응 신호).

[0293] [표 1a]

mAb #	mAb ID	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _A (1/M)	K _D (M)	R _{최대값} (RU)
#1	3A4-1C10	1.5 x 10 ⁶	9.6 x 10 ⁻⁵	1.6 x 10 ¹⁰	6.6 x 10 ⁻¹¹	278
#2	5A8-1F1	3.6 x 10 ⁵	2.0 x 10 ⁻⁴	2.1 x 10 ⁹	1.5 x 10 ⁻⁹	172
#3	3C7-3A3	1.7 x 10 ⁵	7.6 x 10 ⁻⁴	5.2 x 10 ⁸	5.6 x 10 ⁻⁹	133
#4	2D3-1F5	3.3 x 10 ⁵	2.2 x 10 ⁻⁵	1.5 x 10 ¹⁰	6.8 x 10 ⁻¹¹	275
#5	3D6-2F4	1.8 x 10 ⁶	1.2 x 10 ⁻⁴	1.5 x 10 ¹⁰	8.0 x 10 ⁻¹¹	294

[0294]

[0295]

[표 1b]

#6	5D12-5G1	5.4×10^5	3.2×10^{-4}	2.0×10^9	7.0×10^{-10}	272
#7	1G6-1G6	1.4×10^6	3.0×10^{-4}	4.7×10^9	2.3×10^{-10}	249
#8	3G9-2D2	9.0×10^5	1.9×10^{-4}	4.7×10^9	2.4×10^{-10}	268

[0296]

[0297]

실시예 3

[0298]

인간 DEC-205 발현 세포에의 HuMab의 결합

[0299]

항-DEC-205 HuMab가 인간 DEC-205 발현 CHO-S 세포 상에서 DEC-205에 이들의 표면 상에서 결합하는 능력을 하기와 같이 유세포 분석에 의해 조사하였다.

[0300]

인간 DEC-205 발현 CHO-S 세포에 이들의 표면 상에서 결합하는 지에 대해 항체를 시험하였다. 단백질 A 정제된 HuMab 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10을 인간 DEC-205 발현 CHO-S 세포, 뿐만 아니라 CHO-S 대조 세포와 4°C에서 배양처리하였다. 모든 항체를 포화 농도로 사용하였다. 1시간 후, 세포를 0.1% BSA 및 0.05% NaN₃(PBA)가 함유된 PBS로 세척하고, PE 표지된 염소 항-인간 IgG Fc-특이적 프로브와 함께 세포를 4°C에서 배양처리함으로써 결합된 항체를 검출하였다. 과량의 프로브를 세포로부터 PBA로 세척하고, 세포 연관된 형광물질을 제조업체 지침에 따라 LSRTM 기기(비디 바이오사이언시즈, 미국 뉴저지주 소재)에 의해 분석함으로써 결정하였다. 결과는 도 1에 제시되어 있다.

[0301]

도 1에서 볼 수 있듯이, HuMab는 인간 DEC-205를 발현하는 CHO-S 세포에 높은 수준으로 결합하였다. 이들 데이터로부터, 이들 항체가 대조 세포에 비하여 CHO-S 생 세포 상에서 발현되는 인간 DEC-205에 효과적이고 특이적으로 결합함이 입증되었다.

[0302]

실시예 4

[0303]

인간 수지상 세포에의 HuMab의 결합

[0304]

인간 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 류코팩(Leukopak) 혈소판 어페레시스(apheresis) 제조물의 밀도 구배 원심분리에 의해 수득하였다. 단핵구를 2시간 동안 조직 배양 플라스크에 접착시켜 단리한 후, 2 ng/ml GM-CSF 및 10 ng/ml IL-4와 대식세포 혈청 유리 배지(깁코)중에서 5~7일 동안 항온처리함으로써 수지상 세포로 분화시켰다.

[0305]

항-DEC-205 HuMab가 상기와 같이 제조된 인간 수지상 세포 상에서 DEC-205에 결합하는 능력을 하기와 같이 유세포 분석에 의해 조사하였다.

[0306]

단백질 A 정제된 HuMab 3D6-2F2, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9, 3C7-3A3, 5D12-5G1, 1G6-1G6 및 3A4-1C10, 및 이소형 대조표준(인간 IgG)을 인간 수지상 세포와 4°C에서 배양처리하였다. 모든 항체를 포화 농도로 사용하였다. 1시간 후, 세포를 0.1% BSA 및 0.05% NaN₃(PBA)가 함유된 PBS로 세척하고, PE 표지된 염소 항-인간 IgG Fc-특이적 프로브와 함께 세포를 4°C에서 배양처리함으로써 결합된 항체를 검출하였다. 과량의 프로브를 세포로부터 PBA로 세척하고, 세포 연관된 형광물질을 제조업체 지침에 따라 LSRTM 기기(비디 바이오사이언시즈, 미국 뉴저지주 소재)에 의해 분석함으로써 결정하였다. 결과는 도 2에 제시되어 있고, 이는 이소형 대조 표준에 비해 인간 수지상 세포에 높은 수준으로 결합함을 보여준다.

[0307]

실시예 5

[0308]

DEC-205 상에서 HuMab 결합 특징을 결정하기 위한 ELISA 검정

[0309]

미세역가 플레이트를 PBS중 가용성 DEC-205/Fc 융합 단백질로 코팅한 후, PBS중 5% 소 혈청 알부민으로 블로킹하였다. 단백질 A 정제된 HuMab 및 이소형 대조표준을 포화 농도로 첨가하고, 37°C에서 항온처리하였다. 플레이트를 PBS/트윈(Tween)으로 세척한 후, 알칼리성 포스파타아제에 전류제이트된 염소-항-인간 IgG Fc-특이적 다중 클론성 시약과 함께 37°C에서 항온처리하였다. 세척 후, 플레이트를 pNPP 기질(1 mg/ml)로 전개시키고, OD 405-

650에서 미세역가 플레이트 판독기에 의해 분석하였다. 결과는 도 3에 제시되어 있고, 이는 HuMab이 이소형 대조표준에 비해 높은 결합 수준을 나타냄을 보여준다.

[0310] **실시예 6**

[0311] **항체 내재화 검정**

[0312] 분취량당 인간 단핵구-유도된 수지상 세포 5×10^5 을 인간 IgG(1 mg/ml)와 함께 항온처리하여 비특이적 결합을 블로킹하였다. 이어서 세포를 30분 동안 얼음 상에서 100 μ g/ml의 FITC-컨쥬게이트된 항-Dec-205 HuMab 3G9-2D2와 함께 블로킹 완충액에서 결합을 위해 배양처리하고, 후속적으로 내재화를 위해 0, 10, 30, 60 및 120분 동안 37 °C로 옮겨 놓았다. 동일한 농도의 FITC-컨쥬게이트된 인간 IgG1을 대조표준으로 사용하였다. 이어서, 세포를 세척하고, 1% 파라포름알데히드로 고정시켰다. 고정된 세포를 세척하고, 물에 혼탁시키고, 현미경 슬라이드상으로 사이토스핀(cytospin)하였다. 영상을 자이스(Zeiss) LSM 510 메타 공초점 현미경으로 찍었다. 결과는 도 4에 제시되어 있고, 이는 FITC-표지된 HuMab이 대조표준에 비해 수지상 세포내로 효율적으로 내재화됨을 보여준다.

[0313] **실시예 7**

[0314] **항체 서열결정**

[0315] 상기 실시예 1에 기재된 바와 같이, 특이적 HuMab IgG를 생산하는 하이브리도마로부터의 HuMab를 단백질 A 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하였고, 이는 특히 관심있는 8개의 항체("HuMab")를 유도하였다. HuMab 3D6-2F4, 3D6-4C8, 3G9-2D2, 5A8-1F1, 2D3-1F5-2A9(V_H 영역), 3C7-3A3, 1E6-3D10(V_H 영역) 및 5C3-2-3F6의 V_H 및 V_L 코딩 영역을 RNA에 의해 상응하는 하이브리도마로부터 동정하였다. RNA는 cDNA로 역전사되고, V 코딩 영역을 PCR로 증폭시키고, PCR 생성물을 서열결정하였다. 하기는 HuMab의 V_H 및 V_L 영역의 핵산 및 아미노산 서열이다(아미노산 서열의 경우, 상보성 결정 영역(CDR)은 밑줄쳐져 있다).

[0316] 3D6-2F4 V_H 핵산 서열(VH3, 유전자좌 3-33; JH4)(서열 번호 2):

```
atggagttggctgagctgggtttctcggtcttttaagaggtgtccagtgtaggtcaggtcagctggtagtctggggag
gcgtggccaggcctggggaggctccctgagactccctgtcagcgtctggattcatcttcagtatctatggcatgcactgggtccg
ccagggctccaggcaaggggctggagggtggcagttatatggatggatggaaagtaataactatcgacactccgtgaagg
gccgattcaccatctccagagacaattcaagaacacgctgtatctgcaaatgaacagcctgagagccgaggacacggctgtg
ttaactgtcgagagctccacttgactctggccaggaaacctggtcaccgtcctcagctagc
```

[0317] 신호 웨티드를 포함하는 3D6-2F4 V_H 아미노산 서열(서열 번호 3) :

```
MEFGLSWVFLVALLRGVQCVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFIFSIYGMH
HWVRQAPGKGLEWVAVIWDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARAPHFDYWGQGTLVTVSS
```

[0319] 신호 웨티드를 배제하는 3D6-2F4 V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 4):

```
QVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFIFSIYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIWY
DGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAPHFDYW
GQGTLVTVSS
```

[0322] 3D6-2F4 V_H CDR1(서열 번호 5): IYGMH

[0323] 3D6-2F4 V_H CDR2(서열 번호 6): VIWYDGSNKYYADSVKG

[0324] 3D6-2F4 V_H CDR3(서열 번호 7): APHFDY

[0325] 3D6-2F4 V_L 핵산 서열(VK1, 유전자좌 L15; JK2)(서열 번호 8):

```
atggatggagctgtatcatcctgttccctgtggccacagcaacccgggtgtccactccgacatccagatgaccgcagtcctccatcc
cactgtctgcacatctgtggagacagactcaccatcaactgtcgccggcagtcagggtattagcagctgttagcctggatcagca
gaaaccagagaaageccctaagtccctgatetatgctgcacccatccagttgcaaaagtgggtcccatcaagggtcagcggcagtg
gatctggacagatctcaccatcagcagccctgaagatgtcaacattactgccaacagtataatagttacc
cgtacactttggccaggggaccaagctggagatcaaactacgtac
```

[0326]

[0327] 신호 웨티드를 포함하는 3D6-2F4 V_L 아미노산 서열(서열 번호 9):

```
MDMRVLAQLLGLLLCFPGARCDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSW
LAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGTDFLTISLQPEDFATYY
CQOYNSYPYTFGQGTKLEIK
```

[0328]

[0329] 신호 웨티드를 배제한 3D6-2F4 V_L "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 10):

```
DIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQS
SGVPSRFSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQOYNSYPYTFGQGTKLEIK
```

[0330]

[0331] 3D6-2F4 V_LCDR1(서열 번호 11): RASQGISSWLA

[0332]

3D6-2F4 V_LCDR2(서열 번호 12): AASSLQS

[0333]

3D6-2F4 V_LCDR3(서열 번호 13): QQYNSYPY

[0334]

3D6-4C8 V_H핵산 서열(VH3, 유전자좌 3-33; JH4)(서열 번호 14):

```
atggatgtggctgagctgggtttccctcggtcttttaagagggtgtccagtgtaggtgcagctggggagttggggag
gggtgtccaggccgtggggagggtccctgagactctccgtgcagcgtctggattcatcttcgtatctatggcatgcactgggtccg
ccaggctccaggcaagggggctggagttgggtggcagttatatggatgtatgaaagtaataactatgcagactccgtgaagg
gcccattcaccatctccagacaattccaagaacacgcgttatctgcataatgaacagccctgagagccgaggacacggctgt
tattactgtgcgagactctcactttgactactggggccagggaaccctggtagccatctccatccaccaaggccccca
tcggcttccccctggcac
```

[0335]

[0336] 신호 웨티드를 포함하는 3D6-4C8 V_H 아미노산 서열(서열 번호 15):

```
MEFGLSWVFLVALLRGVQCQLVQLVESGGGVVQPGRLSRLSCAASGFISIYGM
HWVRQAPGKGLEWVAVIYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARAPHFDYWGQGTLVTVSS
```

[0337]

[0338] 신호 웨티드를 배제한 3D6-4C8 V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 16):

```
QVOLVESGGGVVOPGRSLRLSCAASGFISIYGMHWVRQAPGKGLEWVAVIYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAPHFDYWGQGTLVTVSS
```

[0339]

[0340] 3D6-4C8 V_HCDR1(서열 번호 17): IYGMH

[0341]

3D6-4C8 V_HCDR2(서열 번호 18): VIWYDGSNKYYADSVVK

[0342]

3D6-4C8 V_HCDR3(서열 번호 19): APIHFDY

[0343]

3D6-4C8 V_L 핵산 서열(VK1, 유전자좌 L4; JK4)(서열 번호 20):

```
atggacatgagggtccccgtcagctctgggttctgtgtctggccagggtccagatgtccatccagttgaccag
tctccatccctgtctgcacatctgttagggacagactcaccatcaactggccggcagtcaggcattagcagtcgtttagcct
ggatcagcagaaccaggaaagctctaagctctgtatctatgcctccagttggaaagtgggtcccatcaagggtca
gcccaggatggatctgggacagatctcaccatcagcagccctgcaagatgtcaacttactgtcaacagtt
aatagttacccttcacttccggggaccaagggtggagatcaa
```

[0344]

[0345] 신호 펩티드를 포함하는 3D6-4C8 V_L 아미노산 서열(서열 번호 21):

MDMRVPAQLLGLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVТИCRA
SQGISSAL
AWYQQKPGKAPKLIYDASSLES
GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC
QQFNSYPLTFGGGT
KVEIK

[0346]

[0347] 신호 펩티드를 배제한 3D6-4C8 V_L "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 22):

AIQLTQSPSSLSASVGDRVТИCRA
SQGISSAL
AWYQQKPGKAPKLIYDASSLES
GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYC
QQFNSYPLTFGGGT
KVEIK

[0348]

[0349] 3D6-4C8 V_LCDR1(서열 번호 23): RASQGISSAL

[0350]

3D6-4C8 V_LCDR2(서열 번호 24): DASSLES

[0351]

3D6-4C8 V_LCDR3(서열 번호 25): QQFNSYPLT

[0352]

3G9-2D2, V_H 핵산 서열(VH3, 유전자좌 3-33; 결정되지 않은 D; JH4)(서열 번호 26):

atggagttggcgtgagctgggtttcctcggtcttttaagagggtgtccagtgccaggctggagttctggggag
 gctgggtccaggcctggagggtccctgagactccctgtgcagcgtctggattcacccatcgttattatggcatgtactgggtccg
 ccaggcgtccaggcaaggggctggaggtgggtccgttatatgtatggaaagtaataactatgcagactccgtgaagg
 gccgattcaccatctccaggacaattcaagaacacgcgttatctgcataatgaacagccctgagagccgaggacacggctgt
 tattactgtcgagagatctctggatgtactttacttattggggccagggaaccctggcaccgtctccctcagcttagc

[0353]

[0354] 신호 펩티드를 포함하는 3G9-2D2, V_H 아미노산 서열(서열 번호 27):

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGVVQPGRSRLSCAASGFTFS
NYGM
YWVRQAPGKGLEWVA
VIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARDLWGWYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

[0355]

[0356] 신호 펩티드를 배제한 3G9-2D2, V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 28):

QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFS
NYGM
YWVRQAPGKGLEWVA
VIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARDLWGWYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

[0357]

[0358] 3G9-2D2, V_HCDR1(서열 번호 29): NYGMY

[0359]

3G9-2D2, V_HCDR2(서열 번호 30): VIWYDGSNKYYADSVKG

[0360]

3G9-2D2, V_HCDR3(서열 번호 31): DLWGWYFDY

[0361]

3G9-2D2, V_L 핵산 서열(VK3, 유전자좌 L6; JK4)(서열 번호 32):

atggatggagctgtatccctgtggccacagcaaccgggtgtccactccgaaattgtgttgacacagtctccagcca
 ccctgtctttgtctccaggggaaagaggccacccctctctgcaggcccagtcagatgttgcacttgcgttgcgttgcgttgcgt
 agaaacgtggccaggctccaggctctatgtatgcacccatcaacaggcccactggcatcccaggccagggttgcgttgcgt
 gggctgtggcagacttacttcaccatcagcagccctagagccatggaaatgttgcgttgcgttgcgttgcgttgcgttgcgt
 gggccgtcaacttccggcgaggggaccaagggtggagatcaaacgtacg

[0362]

[0363] 신호 펩티드를 포함하는 3G9-2D2, V_L 아미노산 서열(서열 번호 33):

MEAPAQQLLFLLLWL
PDTTGEIVLTQSPATLSPGERATLSCRA
SQSVSSYLA
WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFLTISLLEPEDFAVYYCQQ
RRNWPLTFGGGT
KVEIK

[0364]

[0365] 신호 펩티드를 배제한 3G9-2D2, V_L "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 34):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
TGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYC QORRNWPL TFGGGT KVEIK

[0366]

[0367] 3G9-2D2, V_LCDR1(서열 번호 35): RASQSVSSYLA

[0368] 3G9-2D2, V_LCDR2(서열 번호 36): DASNRAT

[0369] 3G9-2D2, V_LCDR3 (서열 번호 37): QQRRNWPLT

[0370] 5A8-1F1, V_H 핵산 서열(VH3, 유전자좌 3-33; JH2)(서열 번호 38):

atggagttggctgacctgggtttccctgtgtcttttaaggggtccagtgccagtgccagctggggggagg
cgtggtccagcctggggagggtccctgagacttcctgtgcagcgtctggattcacccatgcactggcatgcactgggtccg
ccagggctcaggcaagggggctggagtggggcaattatggatgatggaggtataataactatgcagactccgtgaagg
ggcgcattcaccatccagagacaattccaagaacacgcgttatctgcataatgaacacgcctggagagccgaggacacggctgtg
tattactgtgcgagagacttctactggacttcgtatctggggccgtggcacccctggtaactgtctctcagcetccaccaaggg
ccatcggtttccctggcaagg

[0371]

[0372] 신호 펩티드를 포함하는 5A8-1F1, V_H 아미노산 서열(서열 번호 39):

MEFGLTWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTF STYGM
H WVRQAPGK GLEWVAIIWYDGGN KYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCARDFY WYF DLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

[0373]

[0374] 신호 펩티드를 배제한 5A8-1F1, V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 40):

QVQLVESGGGVVQPGRSRLRLSCAASGFTF STYGMH WVRQAPGK GLEWVAIIW
YDGGN KYYADSVK GRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARDFY WYF
DLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

[0375]

[0376] 5A8-1F1, V_HCDR1(서열 번호 41): TYGMH

[0377] 5A8-1F1, V_HCDR2(서열 번호 42): IIWYDGGN KYYADSVK G

[0378] 5A8-1F1, V_HCDR3(서열 번호 43): DFY WYF DL

[0379] 5A8-1F1, V_L 핵산 서열(VK3, 유전자좌 L6; JK1)(서열 번호 44):

atggaaagecccaagtcagttcttcctctgtactctggccatccacccggagaaattgtgttgcacacgttcaggc
caccctgtttgtcccaaggggaaagagccaccccttcctgcaggccagtcagagtgttagcagacttgcgttacca
acagaaaacctggccaggctccaggcttcatctatgtgcataccaacaggccactggcatcccaagggttcagtgca
gtgggtctgggacagacttcacttcaccatcagcagccatggctgaaatggcagtttgcagttactgtcagcagcgttggac
gttcggcaaggggaccaagggtggaaatcaaacga

[0380]

[0381] 신호 펩티드를 포함하는 5A8-1F1, V_L 아미노산 서열(서열 번호 45):

MEAPAQ LLFL LLWLP DTTGEIVLTQSP ATLSCRASQSVSSYLA W
YQQKPGQAPRLLIYDASNRAT TGIPARFSGSGSGTDF TLTISLEPEDFAVYYC QO
RRTFGQGT KVEIK

[0382]

[0383] 신호 펩티드를 배제한 5A8-1F1, V_L "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 46):

EIVLTQSP ATLSCRASQSVSSYLA WYQQKPGQAPRLLIYDASNRAT
TGIPARFSGSGSGTDF TLTISLEPEDFAVYYC QORRTFGQGT KVEIK

[0384]

[0385] 5A8-1F1, V_L CDR1(서열 번호 47): RASQSVSSYLA

[0386] 5A8-1F1, V_L CDR2(서열 번호 48): DASNRAT

[0387] 5A8-1F1, V_L CDR3(서열 번호 49): QQRRT

[0388] 3C7-3A3, V_H 핵산 서열(VH3, 유전자좌 3-33; JH2)(서열 번호 50):

atggagtttggctgagctgggtttccctcgcttttaagagggtgtccagtgtcaggtgcagctgggagactggggag
gggtggccagcctggaggccctgagactctcctgtcagcgtctggattccctcagtagctataacatgcactgggccc
ggcaggcgtccaggcaaggggctggagttatgtatggatgaaagtaataactatggagactccgtgaag
ggccgattcaccatctccagagacaattccaaaacacgctgtatctgcaaatacgtgacagcctgagggccgaggacacggcgt
gttattactgtcgagagaagagactgggatcgggtacttcgatctctggggccgtggeaccctgtcaactgtctcagc
ctccaccaaggccatcggtctccccctggcac

[0389]

[0390] 신호 펩티드를 포함하는 3C7-3A3, V_H 아미노산 서열(서열 번호 51):

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYNM
HWVRQAPGKGLEWVAFIWYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAREELGIGWYFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

[0391]

[0392] 신호 펩티드를 배제한 3C7-3A3, V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 52):

QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYNMHWVRQAPGKGLEWVAFIWYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREELGIGW
YDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREELGIGW
YFDLWGRGTLVTVSSASTKGPSVFPLA

[0393]

[0394] 3C7-3A3, V_HCDR1(서열 번호 53): SYNMH

[0395] 3C7-3A3, V_HCDR2(서열 번호 54): FIWYDGSNKYYGDSVKG

[0396] 3C7-3A3, V_HCDR3(서열 번호 55): EELGIGWYFDL

[0397] 3C7-3A3, V_L 핵산 서열(VK3, 유전자좌 L6; JK1)(서열 번호 56):

atggaagccccagctcagttcttcctctgtactctggctccagataccaccggagaaattgtgttgcacacagtctccagc
caccctgtttgtctccaggaaagagagccaccctctctgcagggccagtcagatgttagcacttagcctggtacca
acagaaacctggccaggctccaggctctatctatgtatccatcaacaggccactggcattccagccaggctgtac
gtgggtctgggacagacttcacttcaccatcagcggcttagccctgaagatttgtagttactgtcagcagcgttaggac
gttcggccaagggaccaagggtgaaatcaaactgtggctgcaccatgtcttcatctccgcccattgtatgagcagtt
gaaatctggaaactgcctctgtgtgtgcctgc

[0398]

[0399] 신호 펩티드를 포함하는 3C7-3A3, V_L 아미노산 서열(서열 번호 57):

MEAPAQQLFLLLWLPDTTGEIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA
WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFLTISLEPEDFAVYYCQQ
RRTFGQGTKVEIK

[0400]

[0401] 신호 펩티드를 배제한 3C7-3A3, V_L "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 58):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA
WYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFLTISLEPEDFAVYYCQQ
RTFGQGTKVEIK

[0402]

[0403] 3C7-3A3, V_LCDR1(서열 번호 59): RASQSVSSYLA

[0404] 3C7-3A3, V_LCDR2(서열 번호 60): DASNRAT

[0405] 3C7-3A3, V_LCDR3(서열 번호 61): QQRRT

[0406] 2D3-1F5-2A9, V_H 핵산 서열(VH3, 유전자좌 Orph-C16; JH3)(서열 번호 62):

atggagttgtgctgagctgggttcctgtctgtatattaaaagggtccagggtgagggttcagctggcagtcgtggggagg
cttggtagatcctgggggtccctgagacttcctgtcaggcctggattcacccctcagtagctatgctatgcactgggtcgcc
aggctccaggaaaagggtctggagtggttatcaactatggtaactgggtactggggcaccctatgcagactccgtgaaggggccgc
ttcaccatctccagagacaatgcaagaactccctgtatctcaatgaacagcctgagagccgaggacatggctgttatct
gtgcattaaagtgccttgatgtctggggcaaggagacaatggtcaccgtctcagccctccaccaaggcccacgtctcc
cctggcac

[0407]

[0408] 신호 웨티드를 포함하는 2D3-1F5-2A9, V_H 아미노산 서열(서열 번호 63):

MEFVLSVLLVAILKGVQCEVQLVQSGGLVHPGGLRLSCAGSGFTFSNYAMH
HWVRQAPGKGLEWVSTIGTGGGTPYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRA
EDMAVYYCALSAFDVWGQGTMVTVSSASTKGPSVFPLA

[0409]

[0410] 신호 웨티드를 배제한 2D3-1F5-2A9, V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 64):

EVQLVQSGGLVHPGGLRLSCAGSGFTFSNYAMHWVRQAPGKGLEWVSTIGT
GGGTPYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDMAVYYCALSAFDVWGQ
GTMTVSSASTKGPSVFPLA

[0411]

[0412] 2D3-1F5-2A9, V_H CDR1(서열 번호 65): NYAMH

[0413] 2D3-1F5-2A9, V_H CDR2(서열 번호 66): TIGTGGGTPYADSVKG

[0414] 2D3-1F5-2A9, V_H CDR3(서열 번호 67): SAFDV

[0415] 1E6-3D10 V_H 핵산 서열(VH3, 유전자좌 Orph-HC16; JH4)(서열 번호 68):

Atggagttgtcgtgggttcctgtctgtatattaaaagggtccagggtgagggttcagctggcagtcgtggggagg
cttggtagatcctgggggtccctgagacttcctgtcaggcctggattcacccctcagtagctatgctatgcactgggtcgcc
aggctccaggaaaagggtctggagtggttatcaactatggtaactgggtactgggttacacatactatgttagactccgtgaaggggccgatt
caccatctccagagacaatgcaagaactccctgtatctcaatgaacagcctgagagccgaggacatggctgttatct
gcaagagagccgtttacatatttgactggttattccctactttgactactggggccaggaaacctggtcaccgtctcc
gcctccaccaaggcccacgtctccccctggcac

[0416]

[0417] 신호 웨티드를 포함하는 1E6-3D10 V_H 아미노산 서열(서열 번호 69):

MEFVLSVFLVAILKGVQCEVQLVQSGGLVHPGGLRLSCAGSGFTFSSYAMH
HWVRQAPGKGLEWVSAIGTGGYTYVVDSVKGRFTISRDNAKKSLY
LQMNSLRAEDMAVYYCAREPFYDILTGYSPYFDYWGQGTLVTVSS

[0418]

[0419] 신호 웨티드를 배제한 1E6-3D10 V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 70):

EVQLVQSGGLVHPGGLRLSCAGSGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAIGT
GGYTYVVDSVKGRFTISRDNAKKSLY
LQMNSLRAEDMAVYYCAREPFYDILTG
YSPYFDYWGQGTLVTVSS

[0420]

[0421] 1E6-3D10 V_H CDR1(서열 번호 71): SYAMH

[0422] 1E6-3D10 V_H CDR2(서열 번호 72): AIGTGGYTYVVDSVKG

[0423] 1E6-3D10 V_H CDR3(서열 번호 73): EPFYDILTGYSPYFDY

[0424] 5C3-2-3F6 V_H 핵산 서열(VH3, 유전자좌 3-33; JH2)(서열 번호 74):

Atggagttggcgtgagctgggttcctcgtttaagagggtgtccagtgccaggcagctggggagtcgtggggag
gcgtggcgtcgggaggccctgagactctccctgtcagcgtctggattcacccctcagtagctataacatgcactgggtcc
gccaggctcaggcaagggctggagtggtggcagttatgttatgatgaaagtaataactatggagactccgtgaag
ggccgattcaccatccagagacaattcaagaacacgctgttatctgcaatgaacacgctgagagccgaggacacggctgt
gtattactgtgcgagagaagagactggggatcgggtgtactctgatctggggccgtggcaccctgtaactgtctccctcagc
ctccaccaaggccatcggcttccccctggcac

[0425]

[0426] 신호 웨티드를 포함하는 5C3-2-3F6 V_H 아미노산 서열(서열 번호 75):

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYNM
HWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAREELGIGWYFDLWGRGTLVTVSS

[0427]

[0428] 신호 웨티드를 배제한 5C3-2-3F6 V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 76):

QVOLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYNMHWVRQAPGKGLEWVAVI
WYDGSNKYYGDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREELGIGW
YFDLWGRGTLVTVSS

[0429]

[0430] 5C3-2-3F6 V_HCDR1(서열 번호 77): SYNMH

[0431] 5C3-2-3F6 V_HCDR2(서열 번호 78): VIWYDGSNKYYGDSVKG

[0432] 5C3-2-3F6 V_HCDR3(서열 번호 79): EELGIGWYFDL

[0433] 5C3-2-3F6 VK V_L 핵산 서열(VK1, 유전자좌 L18; JK5)(서열 번호 80):

Atggacatgagggtccccgtcagctctgggttcctgtctggctccagggtccagatgtgccatccagttgaccca
gtctccatccctcgtctgttaggagacagaggatcaccatcacttgcggcaagtcaggcattagcagtcttagcc
tggatcagcagaaaccaggaaagctctaagctctgtatgtatgcctccagtttgaaagtgggtccatcaagggtc
agcggcgtgatctggacagatttcactctcaccatcagcgcctgcagcctgaagatttgcaacttattactgtcaacagtt
taatagttaccctacttcggccaaggagacacgactggagattaaacgaaactgtggctgcaccatctgtctcatctccgcccc
ctgtatgagcagtgtgaatctggaaactgcctctgtgtgcctgcaaggc

[0434]

[0435] 신호 웨티드를 포함하는 5C3-2-3F6 VK V_L 아미노산 서열(서열 번호 81):

MDMRVPAQLLGLLLLWLPGARCAIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSAL
AWYQQKPGKAPKLIYDASSLES
GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPHFGQGTRLEIK

[0436]

[0437] 신호 웨티드를 배제한 5C3-2-3F6 VK V_L "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 82):

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLIYDASSLES
GVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPHFGQGTRLEIK

[0438]

[0439] 5C3-2-3F6 V_LCDR1(서열 번호 83): RASQGISSALA

[0440] 5C3-2-3F6 V_LCDR2(서열 번호 84): DASSLES

[0441] 5C3-2-3F6 V_LCDR3(서열 번호 85): QQFNSYPH

[0442] 5D12-5G1 V_H 핵산 서열(VH3, 유전자좌 3-33; JH2)(서열 번호 86):

Atggagttggcgtgagctgggttcctcgtttaagagggtgtccagtgccaggcagctggggagtcgtggggag
gcgtggcgtcgggaggccctgagactctccctgtcagcgtctggattcacccctcagtagctatggcatgcactgggtcc
gccaggctcaggcaagggctggagtggtggcagttatgttatgatgaaagtaataactatgcagactccgtgaag
ggccgattcaccatccagagacaatccaagaacacgctgtatctgcaatgaacagctgagagccgaggacacggctgt
gtattactgtgcgagaggccccctcgacttcgatctggggccgtggcaccctgtaactgtctctcagccctccacca
ggcccccacggcttccccctggcac

[0443]

[0444] 신호 펩티드를 포함하는 5D12-5G1 V_H 아미노산 서열(서열 번호 87):

MEFGLSWVFLVALLRGVQCQVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGM
HWVRQAPGKGLEWVAVIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL
 RAEDTAVYYCARGPPRYFDLWGRGTLVTVSS

[0445]

[0446] 신호 펩티드를 배제한 5D12-5G1 V_H "성숙" 아미노산 서열(서열 번호 88):

QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVVRQAPGKGLEWVAVIW
YDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPPRYFD
 LWGRGTLVTVSS

[0447]

[0448] 5D12-5G1 V_HCDR1(서열 번호 89): SYGMH

[0449] 5D12-5G1 V_HCDR2(서열 번호 90): VIWYDGSNKYYADSVKG

[0450] 5D12-5G1 V_HCDR3(서열 번호 91): GPPRYFDL

[0451] 참조를 위해, 제안된 상응하는 생식계열 서열의 아미노산 서열(편견없이 할당됨)은 다음과 같다:

[0452] 생식계열 L6(서열 번호 92):

EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRA
 TGIPARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAVYYCQQRSNWP

[0453]

[0454] 생식계열 L4(서열 번호 93):

AIQLTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLES
 GVPVSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYP

[0455]

[0456] 생식계열 L15(서열 번호 94):

DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRARQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQ
 SGVPVSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQYNSYP

[0457]

[0458] 생식계열 V_H3-33(서열 번호 95):

QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFTFSSYGMHWVVRQAPGKGLEWVAVIW
 YDGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

[0459]

[0460] 생식계열 Orph-C16(서열 번호 96):

EVQLVQSGGGLVHPGGSLRLSCAGSGFTFSSYAMHWVVRQAPGKGLEWV
 SAI GTGGGTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDMAVYYCAR

[0461]

[0462] 제안된 상응하는 생식계열 서열에 대하여 V_L 및 V_H 서열의 서열 정렬은 단지 예시를 목적으로 도 5에 제시되어 있다.

[0463]

실시예 8

[0464]

3G9- β hCG APC-표적화된 백신 컨쥬케이트

[0465]

β hCG 항원을 상기 실시예 7로부터의 HuMab 3G9-2D2(또한 키노몰구스 DEC-205와 교차반응 성인 것으로 결정됨)와 연결시킴으로써 DEC-205 표적화된 백신 컨쥬케이트를 생성하였다. 유전적 융합체 의해 항체의 중쇄에 항원을 공유적으로 결합시킴으로써 결합을 달성하였다.

[0466]

네오마이신 및 디하이드로폴레이트 환원효소 유전자를 함유하는 플라스미드를 항체 3G9-2D2 중쇄(CH3 도메인에 서) 및 3G9-2D2 경쇄에 융합된 β hCG 코딩 서열을 함유하도록 생산하였다. 생성된 플라스미드 구조물은 표준화된 프로토콜(퀴아겐 인코포레이티드(Qiagen Inc), 캘리포니아주 발렌시아 소재)을 사용하여 CHO 세포내로 형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 항생제 G418이 함유된 배지에서 선택하였다. 선택 후, 희석을 제한하여 세포를 클로닝하였고, 안정한 클론주를 사용하여 추가의 연구를 위한 세포 은행을 생성하였다. 3G9- β hCG 구조물의 발현을 확인하기 위해, 단백질의 웨스턴 블롯(Western Blot) 분석을 SDS-PAGE 상에서 환원 및 비환원 조건하에 수행하였다. 이러한 융합 단백질은 예상된 분자량을 갖고 적절히 조립된 것으로(즉, 중쇄 융합물 및 경쇄 둘다를

함유하는 것으로) 관찰되었다. 구체적으로, 백신 콘쥬게이트 및 항체 단독을 혼성 조건을 사용하여 SDS-PAGE로 분석하고, 웨스턴 블로트 분석에 의해 검출하였다. 이어서 염소 항-인간 IgG를 별도로 사용하고 β hCG C-말단 펩티드에 특이적인 mAb(유에스 바이올로지칼스(US Biologicals))에 의해 블로트를 탐침하였다. 결과에 따라, 형질전환된 CHO 세포는 융합 단백질의 적절한 크기 및 조성에 의해 입증된 바와 같이 3G9- β hCG 백신 콘쥬게이트를 특이적으로 발현하는 것으로 확인되었다.

[0467] **실시예 9**

[0468] **3G9- β hCG APC-표적화된 백신 콘쥬게이트를 사용하는 항원 특이적 활성**

항원을 제공할 수 있는 세포는 근원적으로 인간이고 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 단핵구(THP-1), B 림포글라스토이드 세포(C1R.A2, 1518 B-LCL) 및 단핵구 유도된 DC로부터 다양하다. 모든 세포는 유세포 분석에 의해 평가될 경우 DEC-205의 세포 표면 발현에 대해 양성이었다.

[0469] 백터 pk: 3G9-hCG β 를 CHO 세포내로 형질감염시켰다. 안정한 클론을 G418에 의해 선택하고 후속적으로 서브클로닝하였다. 세포(3G9- β hCG 백신 콘쥬게이트; 실시예 8)에 의해 생산된 융합 단백질을 상청액에서 수거하고, 단백질 A 칼럼 상에서 정제하였다.

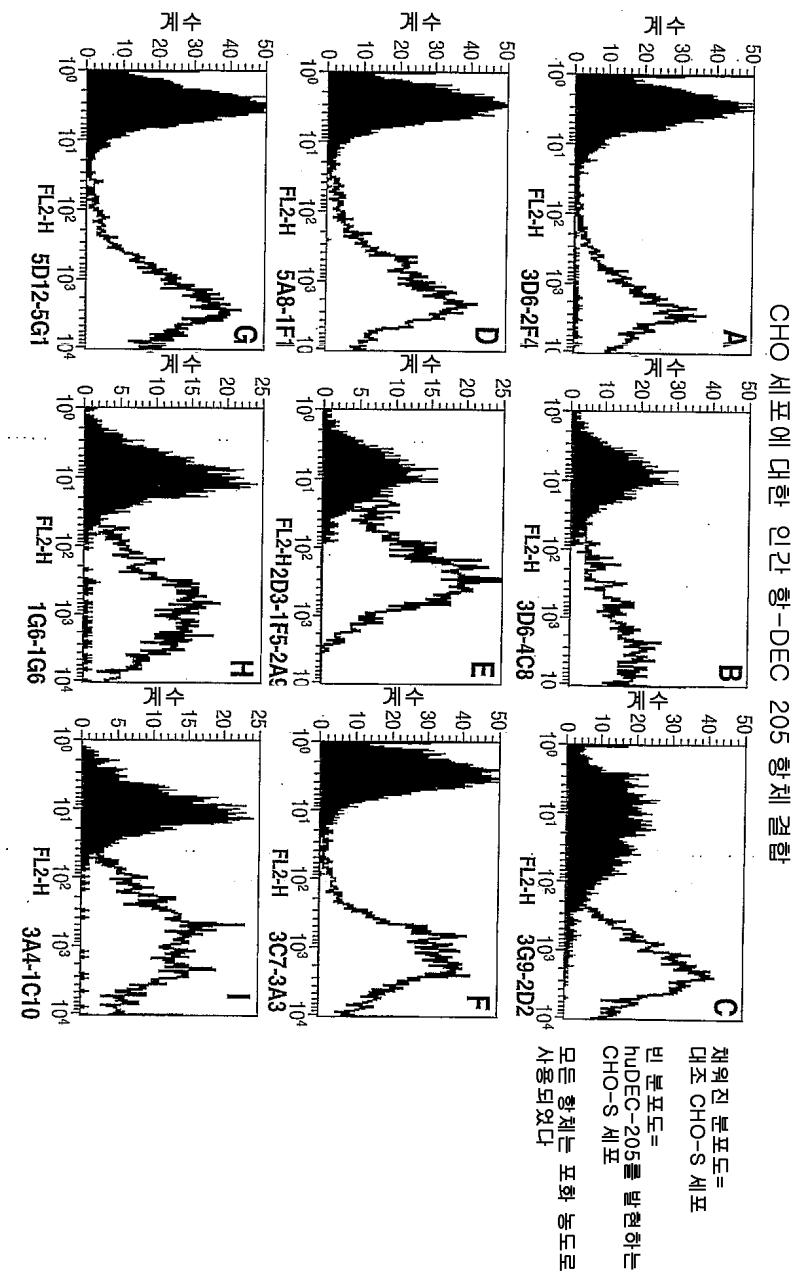
[0470] T 세포를 정상적인 기증자의 류코팩(leukopack)으로부터 수득하였다. 항원-특이적 T 세포를 3G9-hCG β 로 표적화되고 CD8+ 및 CD4+ T 세포에 대해 강화된 자가조직의 DC로 2~3주마다 자극하여 시험관내에서 생성시킨 후, GrB 또는 IFN γ ELISpot 검정(맵텍(MabTech))에 의해 다양한 APC(상기 기재된 바와 같음)로 항원 특이적 활성에 대해 시험하였다. 사이토kin IL-7 및 IL-2를 첨가하여 이팩터 증식 및 활성을 매 3~4일마다 유지시켰다. 항원-특이적 T 세포를 10~12일 동안 낮은 용량의 IL-2의 존재하에 밀테니(Miltenyi)-MACS T 세포 팽창 키트 상에서 팽창시켰다. CD40L(알렉시스 바이오케미칼스: Alexis Biochemicals)을 사용하여 DC의 성숙을 유도하였다. 도 9A에 도시된 바와 같이, CD8+ T 세포 반응을 DC 및 단핵구(THP-1), 뿐만 아니라 B 림포글라스토이드 세포(도 9B)에서 달성하였다. 따라서, DEC-205 수용체를 경유하여 B 세포로 표적화하는 항원은 MHC-클래스 I 제한된 T 세포를 자극시켰다.

[0471] **동등한 양태**

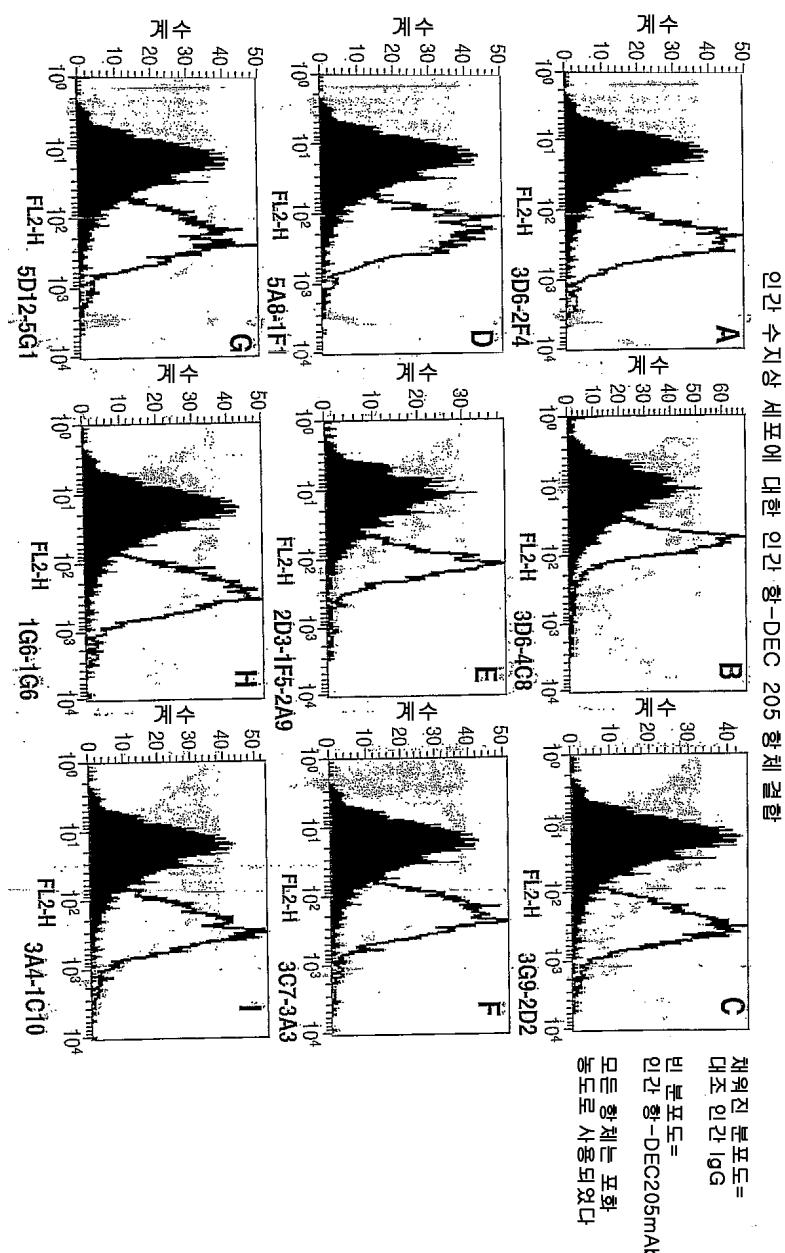
[0472] 당 분야의 숙련가라면 단지 일상적인 실험을 사용하여 본원에 기재된 본 발명의 특정 실시 양태의 많은 동등한 양태를 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 이러한 동등한 양태를 하기 특허청구범위에 의해 포함하고자 한다.

도면

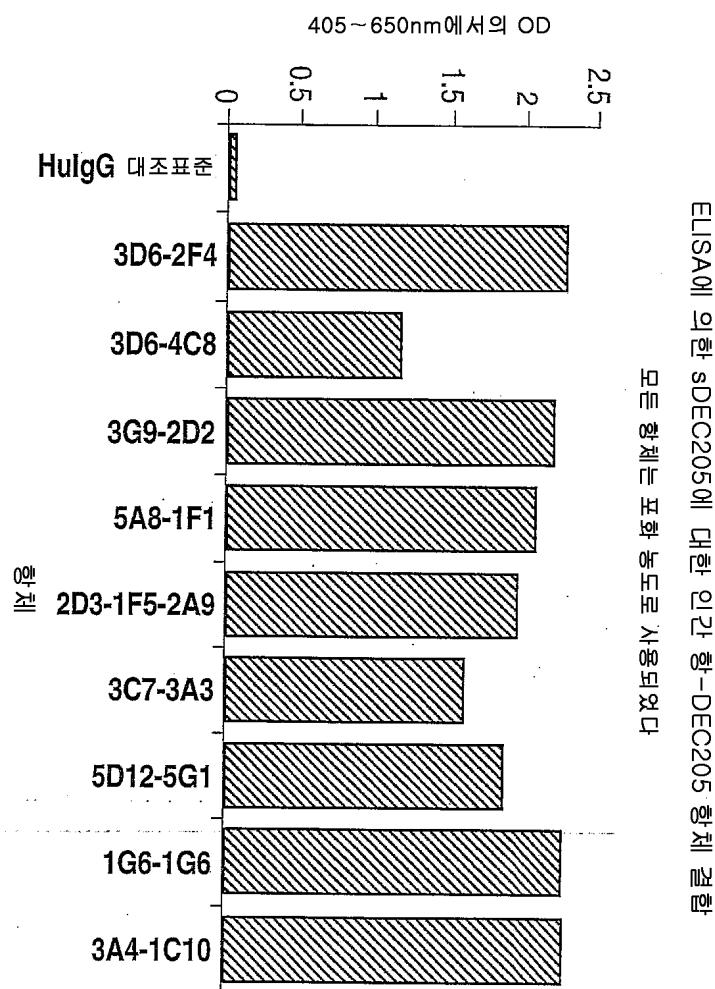
도면1



도면2



도면3

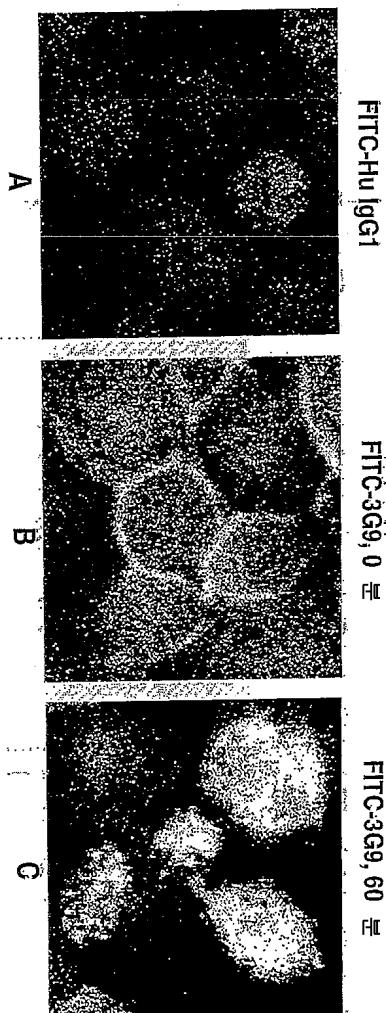


ELISA에 의한 sDEC205에 대한 인간 항-DEC205 항체 결합

모든 항체는 포화 농도로 사용되었다

도면4

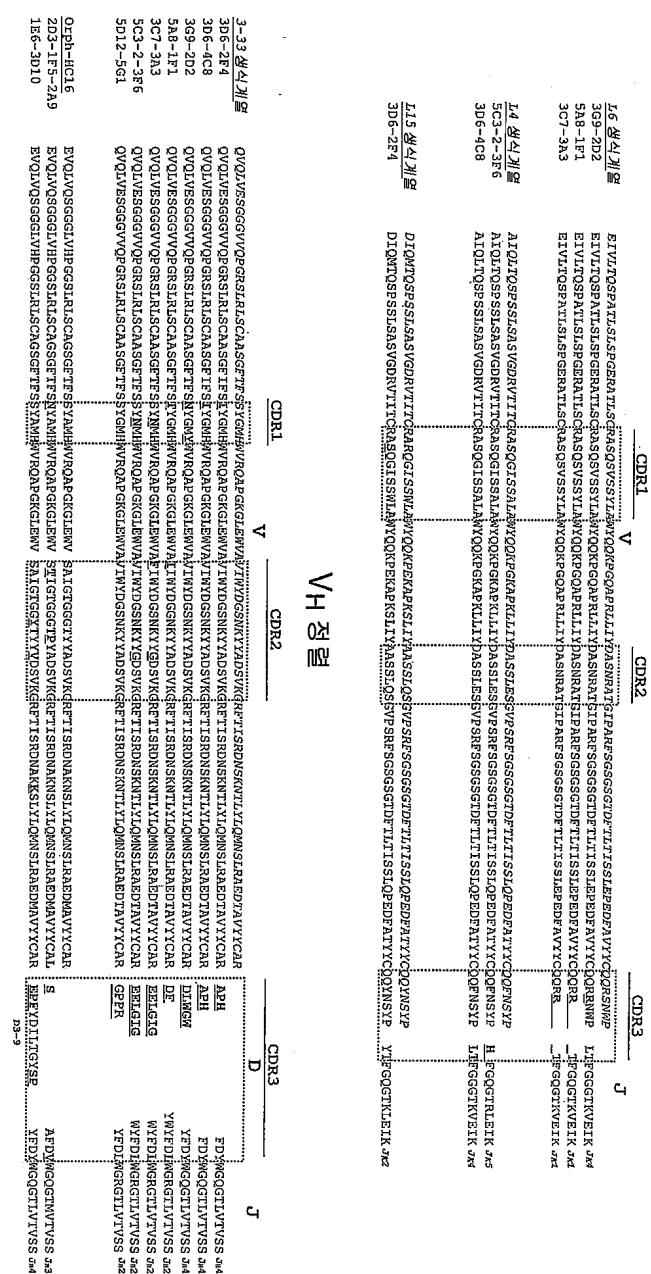
수지상 세포에서 DEC205mAb 결합 및 내재화



단핵구 유도된 인간 DC를 FITC-3G9-2D2 또는 FITC-인간 IgG1에 의해 30분 동안 월음 상에서 펄스시켰다. 이어서 세포를 37°C에서 지시된 기간 동안 향은 처리하여 내재화를 허용하였다. 영상을 공조점 현미경으로 포착하고, 녹색 염색하여 FITC-표지된 분자의 존재를 밝혀내었다.

도면5

인간 VH 및 VK 정렬 및 생식계열 서열



도면6

인간 VH CDR 친센서스 서열

VH CDR1 친센서스 (서열 번호 97): (T,N,T,S) Y (G,N,A) M (H,Y)

VH CDR1 친센서스 (서열 번호 98): (V,I,F,T,A) I (W,G) (Y,T) (D,G)

VH CDR2 친센서스 (서열 번호 98): (V,I,F,T,A) D S V K G

G (S,G,Y) (N,T) (K,P) I (T,A,V) (A,G,-) D S V K G

3D6-2F4 VH CDR3 (서열 번호 7): APHEDY

3D6-4C8 VH CDR3 (서열 번호 19): APHEDY

3G9-2D2 VH CDR3 (서열 번호 31): DLNGWYDLY

5A8-1F1 VH CDR3 (서열 번호 43): DRYWYDYL

3C7-3A3 VH CDR3 (서열 번호 55): RELGIGWYDYL

2D3-1F5-2A9 VH CDR3 (서열 번호 67): SADV

1E6-3D10 VH CDR3 (서열 번호 73): EPFYDILTYSPYDYL

5C3-2-3F6 VH CDR3 (서열 번호 79): EELIGIGWYDYL

5D12-5G1 VH CDR3 (서열 번호 91): GPPRYDYL

VH CDR3 (코아) 친센서스 (서열 번호 99): (A,G,Y,S,P,-) (P,W,S,R) (Y,A,H) P D (V,L,V)

(아기 A "-"는 0f01노선 초기가 그 위치에 존재하지 않는 선박사항을 표시한다)

도면7

인간 VL CDR 컨센서스 서열

VL CDR1 컨센서스 (서열 번호 11):
 3D6-2F4 VL CDR1 (서열 번호 11): RASQGIGSSWIA
 3D6-4C8 VL CDR1 (서열 번호 23): RASQGIGSSALA
 3G9-2D2, VL CDR1 (서열 번호 35): RASQSVESYIA
 5A8-1F1, VL CDR1 (서열 번호 47): RASQSVSSYIA
 3C7-3A3, VL CDR1 (서열 번호 59): RASQSVSSYIA
 5C3-2-3F6 VL CDR1 (서열 번호 83): RASQGIGSSALA

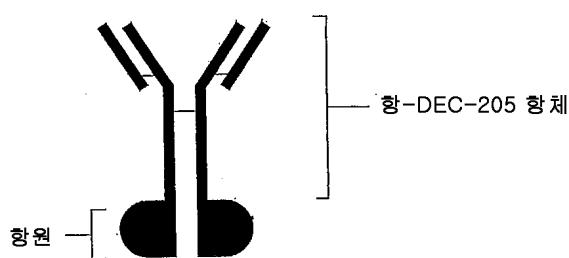
VL CDR1 컨센서스 (서열 번호 100): R A S Q (S, G) (I, V) S S (Y, W, A) I A
 3D6-2F4 VL CDR2 (서열 번호 12): RASSIOS
 3D6-4C8 VL CDR2 (서열 번호 24): DASSLES
 3G9-2D2, VL CDR2 (서열 번호 36): DASN RAT
 5A8-1F1, VL CDR2 (서열 번호 48): DASN RAT
 3C7-3A3, VL CDR2 (서열 번호 60): DASN RAT
 5C3-2-3F6 VL CDR2 (서열 번호 84): DASSLES

VL CDR2 컨센서스 (서열 번호 101): (D, A) A S (N, S) (R, I) (A, Q, E) (T, S)
 3D6-2F4 VL CDR3 (서열 번호 13): QQVNSIPT
 3D6-4C8 VL CDR3 (서열 번호 25): QGNSVPT
 3G9-2D2, VL CDR3 (서열 번호 37): QGRNWPLT
 5A8-1F1, VL CDR3 (서열 번호 49): QRRT----
 3C7-3A3, VL CDR3 (서열 번호 61): QORT----
 5C3-2-3F6 VL CDR3 (서열 번호 85): QQNSVPH-

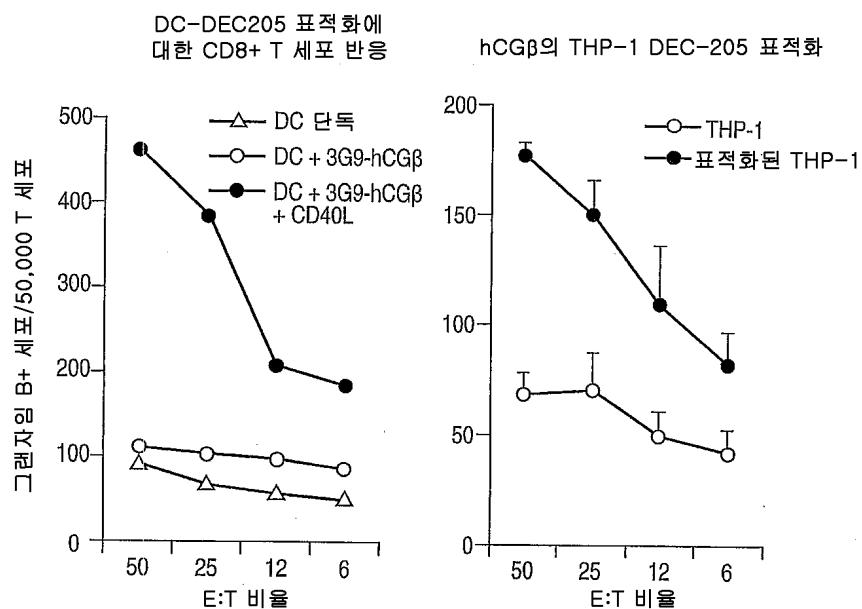
VL CDR3 컨센서스 (서열 번호 102): Q Q (R, Y, F) (R, N) (T, S, N) (Y, W, -) (P, -) (Y, L, H, -) (T, -)
 (여기서 “-”는 아미노산 전기가 그 위치에 존재하지 않는 선택사항을 표시한다)

도면8

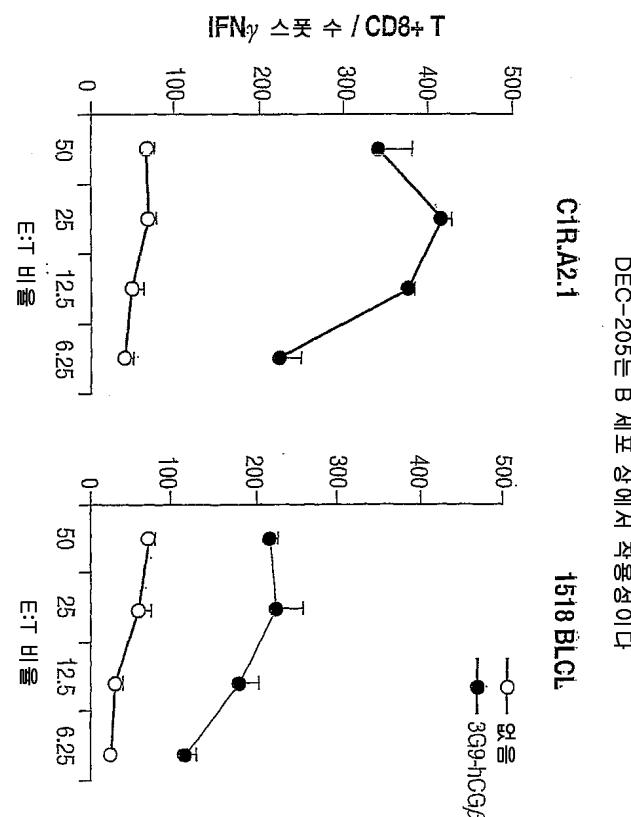
항-DEC-205/항원 융합체의 예
 APC 표적화된 백신 구조물(개략적 표시)



도면9a



도면9b



서 열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> CELLEDEX THERAPEUTICS INC. et al.

<120> ANTIBODIES THAT BIND HUMAN DENDRITIC AND EPITHELIAL CELL 205

(DEC-205)

<130> CDJ-346PC

<140> PCT/US2008/082745

<141> 2008-11-07

<150> 61/002,253

<151> 2007-11-07

<150> 61/191,551

<151> 2008-09-10

<160> 106

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1722

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Arg Thr Gly Trp Ala Thr Pro Arg Arg Pro Ala Gly Leu Leu Met

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

Leu Leu Phe Trp Phe Phe Asp Leu Ala Glu Pro Ser Gly Arg Ala Ala

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

Asn Asp Pro Phe Thr Ile Val His Gly Asn Thr Gly Lys Cys Ile Lys

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

Pro Val Tyr Gly Trp Ile Val Ala Asp Asp Cys Asp Glu Thr Glu Asp

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

Lys Leu Trp Lys Trp Val Ser Gln His Arg Leu Phe His Leu His Ser

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

Gln Lys Cys Leu Gly Leu Asp Ile Thr Lys Ser Val Asn Glu Leu Arg

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

Met Phe Ser Cys Asp Ser Ser Ala Met Leu Trp Trp Lys Cys Glu His

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

His Ser Leu Tyr Gly Ala Ala Arg Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Asp Gly

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

His Gly Thr Ala Ile Ser Asn Ala Ser Asp Val Trp Lys Lys Gly Gly

130 135 140

Ser Glu Glu Ser Leu Cys Asp Gln Pro Tyr His Glu Ile Tyr Thr Arg

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Thr Trp His His Asp Cys Ile Leu Asp Glu Asp His Ser Gly Pro

180 185 190

Trp Cys Ala Thr Thr Leu Asn Tyr Glu Tyr Asp Arg Lys Trp Gly Ile

195 200 205

Cys Leu Lys Pro Glu Asn Gly Cys Glu Asp Asn Trp Glu Lys Asn Glu

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Glu Ala Tyr Val Ser Cys Gln Asn Gln Gly Ala Asp Leu Leu Ser

245 250 255

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

260 265 270

Ala Lys Ile Phe Trp Ile Gly Leu Asn Gln Leu Tyr Ser Ala Arg Gly

275 280 285

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

290 295 300

Asp Arg Pro Ser Ala Pro Thr Ile Gly Gly Ser Ser Cys Ala Arg Met

305 310 315 320

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

325 330 335

Pro Tyr Val Cys Arg Lys Pro Leu Asn Asn Thr Val Glu Leu Thr Asp

340 345 350

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

355 360 365

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

370	375	380
Ala His Ala Lys Cys Lys Ala Phe Ser Ser Asp Leu Ile Ser Ile His		
385	390	395
400		
Ser Leu Ala Asp Val Glu Val Val Val Thr Lys Leu His Asn Glu Asp		
405	410	415
Ile Lys Glu Glu Val Trp Ile Gly Leu Lys Asn Ile Asn Ile Pro Thr		
420	425	430
Leu Phe Gln Trp Ser Asp Gly Thr Glu Val Thr Leu Thr Tyr Trp Asp		
435	440	445
Glu Asn Glu Pro Asn Val Pro Tyr Asn Lys Thr Pro Asn Cys Val Ser		
450	455	460
Tyr Leu Gly Glu Leu Gly Gln Trp Lys Val Gln Ser Cys Glu Glu Lys		
465	470	475
480		
Leu Lys Tyr Val Cys Lys Arg Lys Gly Glu Lys Leu Asn Asp Ala Ser		
485	490	495
Ser Asp Lys Met Cys Pro Pro Asp Glu Gly Trp Lys Arg His Gly Glu		
500	505	510
Thr Cys Tyr Lys Ile Tyr Glu Asp Glu Val Pro Phe Gly Thr Asn Cys		
515	520	525
Asn Leu Thr Ile Thr Ser Arg Phe Glu Gln Glu Tyr Leu Asn Asp Leu		
530	535	540
Met Lys Lys Tyr Asp Lys Ser Leu Arg Lys Tyr Phe Trp Thr Gly Leu		
545	550	555
560		
Arg Asp Val Asp Ser Cys Gly Glu Tyr Asn Trp Ala Thr Val Gly Gly		
565	570	575
Arg Arg Arg Ala Val Thr Phe Ser Asn Trp Asn Phe Leu Glu Pro Ala		
580	585	590
Ser Pro Gly Gly Cys Val Ala Met Ser Thr Gly Lys Ser Val Gly Lys		
595	600	605
Trp Glu Val Lys Asp Cys Arg Ser Phe Lys Ala Leu Ser Ile Cys Lys		
610	615	620

Lys Met Ser Gly Pro Leu Gly Pro Glu Glu Ala Ser Pro Lys Pro Asp
 625 630 635 640
 Asp Pro Cys Pro Glu Gly Trp Gln Ser Phe Pro Ala Ser Leu Ser Cys
 645 650 655

Tyr Lys Val Phe His Ala Glu Arg Ile Val Arg Lys Arg Asn Trp Glu
 660 665 670
 Glu Ala Glu Arg Phe Cys Gln Ala Leu Gly Ala His Leu Ser Ser Phe
 675 680 685
 Ser His Val Asp Glu Ile Lys Glu Phe Leu His Phe Leu Thr Asp Gln
 690 695 700
 Phe Ser Gly Gln His Trp Leu Trp Ile Gly Leu Asn Lys Arg Ser Pro
 705 710 715 720

Asp Leu Gln Gly Ser Trp Gln Trp Ser Asp Arg Thr Pro Val Ser Thr
 725 730 735
 Ile Ile Met Pro Asn Glu Phe Gln Gln Asp Tyr Asp Ile Arg Asp Cys
 740 745 750
 Ala Ala Val Lys Val Phe His Arg Pro Trp Arg Arg Gly Trp His Phe
 755 760 765
 Tyr Asp Asp Arg Glu Phe Ile Tyr Leu Arg Pro Phe Ala Cys Asp Thr
 770 775 780

Lys Leu Glu Trp Val Cys Gln Ile Pro Lys Gly Arg Thr Pro Lys Thr
 785 790 795 800
 Pro Asp Trp Tyr Asn Pro Asp Arg Ala Gly Ile His Gly Pro Pro Leu
 805 810 815
 Ile Ile Glu Gly Ser Glu Tyr Trp Phe Val Ala Asp Leu His Leu Asn
 820 825 830
 Tyr Glu Glu Ala Val Leu Tyr Cys Ala Ser Asn His Ser Phe Leu Ala
 835 840 845

Thr Ile Thr Ser Phe Val Gly Leu Lys Ala Ile Lys Asn Lys Ile Ala
 850 855 860
 Asn Ile Ser Gly Asp Gly Gln Lys Trp Trp Ile Arg Ile Ser Glu Trp

865	870	875	880
Pro Ile Asp Asp His Phe Thr Tyr Ser Arg Tyr Pro Trp His Arg Phe			
885	890	895	
Pro Val Thr Phe Gly Glu Glu Cys Leu Tyr Met Ser Ala Lys Thr Trp			
900	905	910	
Leu Ile Asp Leu Gly Lys Pro Thr Asp Cys Ser Thr Lys Leu Pro Phe			
915	920	925	
Ile Cys Glu Lys Tyr Asn Val Ser Ser Leu Glu Lys Tyr Ser Pro Asp			
930	935	940	
Ser Ala Ala Lys Val Gln Cys Ser Glu Gln Trp Ile Pro Phe Gln Asn			
945	950	955	960
Lys Cys Phe Leu Lys Ile Lys Pro Val Ser Leu Thr Phe Ser Gln Ala			
965	970	975	
Ser Asp Thr Cys His Ser Tyr Gly Gly Thr Leu Pro Ser Val Leu Ser			
980	985	990	
Gln Ile Glu Gln Asp Phe Ile Thr Ser Leu Leu Pro Asp Met Glu Ala			
995	1000	1005	
Thr Leu Trp Ile Gly Leu Arg Trp Thr Ala Tyr Glu Lys Ile Asn			
1010	1015	1020	
Lys Trp Thr Asp Asn Arg Glu Leu Thr Tyr Ser Asn Phe His Pro			
1025	1030	1035	
Leu Leu Val Ser Gly Arg Leu Arg Ile Pro Glu Asn Phe Phe Glu			
1040	1045	1050	
Glu Glu Ser Arg Tyr His Cys Ala Leu Ile Leu Asn Leu Gln Lys			
1055	1060	1065	
Ser Pro Phe Thr Gly Thr Trp Asn Phe Thr Ser Cys Ser Glu Arg			
1070	1075	1080	
His Phe Val Ser Leu Cys Gln Lys Tyr Ser Glu Val Lys Ser Arg			
1085	1090	1095	
Gln Thr Leu Gln Asn Ala Ser Glu Thr Val Lys Tyr Leu Asn Asn			
1100	1105	1110	

Leu Tyr Lys Ile Ile Pro Lys Thr Leu Thr Trp His Ser Ala Lys
 1115 1120 1125
 Arg Glu Cys Leu Lys Ser Asn Met Gln Leu Val Ser Ile Thr Asp
 1130 1135 1140
 Pro Tyr Gln Gln Ala Phe Leu Ser Val Gln Ala Leu Leu His Asn
 1145 1150 1155

Ser Ser Leu Trp Ile Gly Leu Phe Ser Gln Asp Asp Glu Leu Asn
 1160 1165 1170
 Phe Gly Trp Ser Asp Gly Lys Arg Leu His Phe Ser Arg Trp Ala
 1175 1180 1185
 Glu Thr Asn Gly Gln Leu Glu Asp Cys Val Val Leu Asp Thr Asp
 1190 1195 1200
 Gly Phe Trp Lys Thr Val Asp Cys Asn Asp Asn Gln Pro Gly Ala
 1205 1210 1215

Ile Cys Tyr Tyr Ser Gly Asn Glu Thr Glu Lys Glu Val Lys Pro
 1220 1225 1230
 Val Asp Ser Val Lys Cys Pro Ser Pro Val Leu Asn Thr Pro Trp
 1235 1240 1245
 Ile Pro Phe Gln Asn Cys Cys Tyr Asn Phe Ile Ile Thr Lys Asn
 1250 1255 1260
 Arg His Met Ala Thr Thr Gln Asp Glu Val His Thr Lys Cys Gln
 1265 1270 1275

Lys Leu Asn Pro Lys Ser His Ile Leu Ser Ile Arg Asp Glu Lys
 1280 1285 1290
 Glu Asn Asn Phe Val Leu Glu Gln Leu Leu Tyr Phe Asn Tyr Met
 1295 1300 1305
 Ala Ser Trp Val Met Leu Gly Ile Thr Tyr Arg Asn Asn Ser Leu
 1310 1315 1320
 Met Trp Phe Asp Lys Thr Pro Leu Ser Tyr Thr His Trp Arg Ala
 1325 1330 1335

Gly Arg Pro Thr Ile Lys Asn Glu Lys Phe Leu Ala Gly Leu Ser

1340	1345	1350												
Thr	Asp	Gly	Phe	Trp	Asp	Ile	Gln	Thr	Phe	Lys	Val	Ile	Glu	Glu
1355	1360	1365												
Ala	Val	Tyr	Phe	His	Gln	His	Ser	Ile	Leu	Ala	Cys	Lys	Ile	Glu
1370	1375	1380												
Met	Val	Asp	Tyr	Lys	Glu	Glu	His	Asn	Thr	Thr	Leu	Pro	Gln	Phe
1385	1390	1395												

Met	Pro	Tyr	Glu	Asp	Gly	Ile	Tyr	Ser	Val	Ile	Gln	Lys	Lys	Val
1400	1405	1410												
Thr	Trp	Tyr	Glu	Ala	Leu	Asn	Met	Cys	Ser	Gln	Ser	Gly	Gly	His
1415	1420	1425												
Leu	Ala	Ser	Val	His	Asn	Gln	Asn	Gly	Gln	Leu	Phe	Leu	Glu	Asp
1430	1435	1440												
Ile	Val	Lys	Arg	Asp	Gly	Phe	Pro	Leu	Trp	Val	Gly	Leu	Ser	Ser
1445	1450	1455												

His	Asp	Gly	Ser	Glu	Ser	Ser	Phe	Glu	Trp	Ser	Asp	Gly	Ser	Thr
1460	1465	1470												
Phe	Asp	Tyr	Ile	Pro	Trp	Lys	Gly	Gln	Thr	Ser	Pro	Gly	Asn	Cys
1475	1480	1485												
Val	Leu	Leu	Asp	Pro	Lys	Gly	Thr	Trp	Lys	His	Glu	Lys	Cys	Asn
1490	1495	1500												
Ser	Val	Lys	Asp	Gly	Ala	Ile	Cys	Tyr	Lys	Pro	Thr	Lys	Ser	Lys
1505	1510	1515												

Lys	Leu	Ser	Arg	Leu	Thr	Tyr	Ser	Ser	Arg	Cys	Pro	Ala	Ala	Lys
1520	1525	1530												
Glu	Asn	Gly	Ser	Arg	Trp	Ile	Gln	Tyr	Lys	Gly	His	Cys	Tyr	Lys
1535	1540	1545												
Ser	Asp	Gln	Ala	Leu	His	Ser	Phe	Ser	Glu	Ala	Lys	Lys	Leu	Cys
1550	1555	1560												
Ser	Lys	His	Asp	His	Ser	Ala	Thr	Ile	Val	Ser	Ile	Lys	Asp	Glu
1565	1570	1575												

Asp Glu Asn Lys Phe Val Ser Arg Leu Met Arg Glu Asn Asn Asn
 1580 1585 1590
 Ile Thr Met Arg Val Trp Leu Gly Leu Ser Gln His Ser Val Asp
 1595 1600 1605
 Gln Ser Trp Ser Trp Leu Asp Gly Ser Glu Val Thr Phe Val Lys
 1610 1615 1620
 Trp Glu Asn Lys Ser Lys Ser Gly Val Gly Arg Cys Ser Met Leu
 1625 1630 1635

Ile Ala Ser Asn Glu Thr Trp Lys Lys Val Glu Cys Glu His Gly
 1640 1645 1650
 Phe Gly Arg Val Val Cys Lys Val Pro Leu Gly Pro Asp Tyr Thr
 1655 1660 1665
 Ala Ile Ala Ile Ile Val Ala Thr Leu Ser Ile Leu Val Leu Met
 1670 1675 1680
 Gly Gly Leu Ile Trp Phe Leu Phe Gln Arg His Arg Leu His Leu
 1685 1690 1695

Ala Gly Phe Ser Ser Val Arg Tyr Ala Gln Gly Val Asn Glu Asp
 1700 1705 1710
 Glu Ile Met Leu Pro Ser Phe His Asp
 1715 1720

<210> 2

<211> 408

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

atggagtttggctgagctggtttcctcgttgctctttaagaggtgtccagtgtcag	60
gtgcagctggtggacttggggaggcgtgtccagccgtggaggtccctgagactctcc	120
tgtcagcgtctggattcatcttcgtatcataatggcatgcactggtccgcaggtcca	180
ggcaaggggctggatgggtggcagttataatgtatgtatggtaataatactatgca	240

gactccgtgaaggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctg	300
caaataacaacgcctgagagccgaggacacgcgtgttattactgtgcgagagctccctcac	360
tttgactactggggccaggaaaccctggtcaccgtctccctcagctagc	408

<210> 3

<211> 134

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln

20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Pro His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser

130

<210> 4

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Ala Pro His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 100 105 110

Val Ser Ser
 115

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ile Tyr Gly Met His

1 5

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

1 5 10 15
 Gly

<210> 7

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

Ala Pro His Phe Asp Tyr

1 5

<210> 8

<211> 384

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 8

atggatgga gctgtatcat cctgttcctc gtggccacag caaccgggtt ccactccgac	60
atccagatga cccagtcctcc atcctcaactg tctgcattctg ttggagacag agtaccatc	120
acttgtcggt cgagtcaggg tattagcagc tggtagcct ggtatcagca gaaaccagag	180
aaagcccta agtccctgat ctatgctca tccagttgc aaagtgggtt cccatcaagg	240

ttcagcggca gtggatctgg gacagattt actctcacca tcagcagcct gcagcctgaa	300
gattttcaa ctattactg ccaacagttt aatagttacc cgtacacttt tggccagggg	360
accaagctgg agatcaaacg tacg	384

<210> 9

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Asp Met Arg Val Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Cys

1 5 10 15

Phe Pro Gly Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

85 90 95

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

100	105	110
Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile		
115	120	125
Lys		

<210> 10			
<211> 107			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 10			
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly			
1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp			

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

85	90	95	
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys			
100	105		
<210> 11			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> Homo sapiens			
<400> 11			

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1	5	10	
<210> 12			
<211> 7			

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Hon

<400> 13

1

<210> 14

<211> 439

-212- DNR

<213> hom sapiens
<400> 14

atggagttg ggctgagctg gttttcctc gttgctctt taagagggtgt ccagtgtcag 60
gtgcagctgg tggagctgg gggaggcgtg gtccagcctg ggaggtccct gagactctcc 120
tgtcagcgt ctggattcat cttcagttatc tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180
ggcaagggc tggagtggtt ggcagttata tggatgtatg gaagtaataa atactatgca 240
gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gcgtgtatt actgtgcgag agctcctcac 360

tttgactact ggggccaggg aaccctggtc accgtctcct cagcctccac caagggccca 420
tcggtcttcc ccctggcac 439

<210> 15

<211> 134

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 15

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln

20	25	30
Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe		
35	40	45
Ser Ile Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu		
50	55	60
Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala		
65	70	75
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn		
85	90	95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val		
100	105	110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Pro His Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
115	120	125
Leu Val Thr Val Ser Ser		
130		
<210> 16		
<211> 115		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 16		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ile Phe Ser Ile Tyr		
20	25	30
Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		

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

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

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

Val Ser Ser

115

<210> 17

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Ile Tyr Gly Met His

1	5	
---	---	--

<210> 18

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

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

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

Gly

<210> 19

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Ala Pro His Phe Asp Tyr

1	5	
---	---	--

<210> 20

<211> 387

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 20

atggacatga gggccccgc tcagctcctg gggcttctgc tgctctggct cccaggtgcc 60

agatgtgcca tccagttgac ccagtctcca tcctccctgt ctgcacatgtt	aggagacaga	120
gtcaccatca ctgcggggc aagtcaaggc attagcagtg cttagcctg gtatcagcag		180
aaaccaggga aagtcctaa gctcctgatc tatgtgcct ccagttgga aagtgggtc		240
ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagattca ctctcaccat cagcagcctg		300

cagcctgaag attttcaac ttattactgt caacagtttta atagttaccc tctcacttcc		360
ggcggaggga ccaagggtgga gatcaaa		387

<210> 21

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val

65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

85 90 95

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

100 105 110

Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile

115 120 125

Lys

<210> 22

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Phe Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 23

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 24

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 26

<211> 417

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 26

atggagtttggctgagctggtttccctc	gttgctcttt	taagaggtgt	ccagtgtcag	60
gtgcagctgg	tggagtctgg	gggaggcggtg	gtccagccctg	120
tgtgcagcgt	ctggattcac	cttcagtaat	tatggcatgt	180
ggcaagggc	tggagtgggt	ggcagttata	tggatgatg	240
gactccgtga	aggccgatt	caccatctcc	agagacaatt	300
caaataaca	gcctgagacgc	cgaggacacg	gctgtatctg	360

ggatggtaacttggactattggggccaggga	accctggta	ccgtctccctc	agcttagc	417
---------------------------------	-----------	-------------	----------	-----

<210> 27

<211> 149

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

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

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln

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

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

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

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

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

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

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

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

85	90	95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val		
100	105	110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Leu Trp Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly		
115	120	125
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser		
130	135	140
Val Phe Pro Leu Ala		
145		
<210> 28		
<211> 130		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 28		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr		
20 25 30		
Gly Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Asp Leu Trp Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro		
115	120	125
Leu Ala		
130		

<210> 29
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 29
 Asn Tyr Gly Met Tyr

1 5

<210> 30

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

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

1 5 10 15

Gly

<210> 31

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Asp Leu Trp Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 32

<211> 384

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 32

atggatgga gctgtatcat cctgttcctc gtggccacag caaccgtgt ccactccgaa 60

attgtgtga cacagtctcc agccaccctg tctttgtctc cagggaaag agccaccctc 120

tcctgcaggg ccagtcagag tggtagcagc tacttagcct ggtaccaaca gaaacctggc 180

caggctccca ggctcctcat ctatgtgca tccaaacaggg ccactggcat cccagccagg 240

ttcagtggca gtgggtctgg gacagacttc actctcacca tcagcgcct agaggctgaa 300

gattttcag ttattactg tcagcagcgt cgcaactggc cgctcactt cggcggaggg 360
 accaagggtgg agatcaaacg tacg 384
 <210> 33
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 33
 Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro
 1 5 10 15

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

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

<210> 34
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 34

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

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

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Asn Trp Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 36

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 37

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Gln Gln Arg Arg Asn Trp Pro Leu Thr

1 5

<210> 38

<211> 447

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 38

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300
caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag agacttctac 360
tggtaacttcg atctctgggg ccgtggcacc ctggtcactg tctctcagc ctccaccaag 420
ggcccatcggtcttcccccttggcaagg 447

<210> 39

<211> 148

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

Met Glu Phe Gly Leu Thr Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln

20 25 30

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

35 40 45

Ser Thr Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro

50 55 60

Glu Trp Val Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Gly Asn Lys Tyr Tyr Ala

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

85 90 95

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

100 105 110

Cys Ala Arg Asp Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu
115 120 125

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

130 135 140

Phe Pro Leu Ala

145

<210> 40

<211> 129

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser 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 Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110

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

115 120 125

Ala

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

Thr Tyr Gly Met His

1 5

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

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

1 5 10 15

Gly

<210> 43

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Asp Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu

1 5

<210> 44

<211> 372

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 44

atggaagccc cagctcagct tctttcctc ctgctactct ggctccaga taccaccgga 60

gaaatttgtt tgacacagtc tccagccacc ctgttttgt ctccagggga aagagccacc 120

ctctcctgca gggccagtca gagtgtagc agctacttag cctggtagca acagaaacct 180

ggccaggctc ccaggctct catctatgtat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 240

aggttcagtgc cagtggtgtc tgggacagac ttctactctca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttgc cagtttattat ctttcagcag ctttttttttgc tcggccaagg gaccaagg 360

gaaatcaaac ga 372

<210> 45

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg

100 105 110

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120

<210> 46

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Thr Phe Gly Gln

85 90 95

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 48

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 49

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Gln Gln Arg Arg Thr

1 5

<210> 50

<211> 454

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 50

atggagttg ggctgagctg gttttcctc gttgcttt taagagggtt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcggtg gtccagccctg ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tataacatgc actgggtccg ccaggtcca 180
 ggcaaggggc tggagtgggt ggcattata tggtatgtg gaagtaataa atactatgga 240
 gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaaaaacac gctgtatctg 300
 caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcag agaagagctg 360
 gggatcgggt ggtacttcga tctctgggc cgtggcaccc tggtcaactgt ctcctcagcc 420
 tccaccaagg gcccatcggt cttccccctg gcac 454
 <210> 51
 <211> 151
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 51

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

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

Glu Trp Val Ala Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly
 65 70 75 80

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Glu Leu Gly Ile Gly Trp Tyr Phe Asp Leu
 115 120 125

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly
 130 135 140

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
 145 150

<210> 52

<211> 132

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser 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 Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly 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 Glu Glu Leu Gly Ile Gly Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg

100 105 110

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

115 120 125

Phe Pro Leu Ala

130

<210> 53

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Ser Tyr Asn Met His

1 5

<210> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

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

1 5 10 15

Gly

<210> 55

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Glu Glu Leu Gly Ile Gly Trp Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 56

<211> 454

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 56

atggaagccc cagctcagct tctttcctc ctgctactct ggctccaga taccaccgga 60

gaaatttgtt tgacacagtc tccagccacc ctgtttgt ctccagggga aagagccacc 120

ctctcctgca gggcagtca gagtgtagc agctacttag cctggtacca acagaaacct 180

ggccaggctc ccaggctct catctatgtat gcatccaaca gggccactgg catccagcc 240

aggttcagtgcgcagggtc tgggacagac ttcaactca ccatcagcag cctagagcct 300

gaagattttgcagtttata ctgtcagcag cgtggacgt tggccaagg gaccaagggtg 360

gaaatcaaaccgactgtggc tgcaccatct gtcttcatct tccggccatc tggatgac 420

ttgaaatctg gaactgcctc tgggtgtgc ctgc 454

<210> 57

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Met Glu Ala Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro

1 5 10 15

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

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

<210> 58

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Thr Phe Gly Gln
 85 90 95
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

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

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1	5
---	---

<210> 61

<211> 5

<212> PRT

<

<213> Homo sapiens

<400> 61

Gln Gln Arg Arg Thr

1	5
---	---

<210> 62

<211> 433

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 62

atggagttg tgcgtagctg gggttcctt gttgtatataaaaagggtgt ccagtgtgag	60
gttcagctgg tgcagtctgg gggaggcttg gtacatcctg ggggtccct gagactctcc	120
tgtgcaggct ctggattcac cttcagtaac tatgtatgc actgggtcg ccaggctcca	180
ggaaaaggtc tggagtgggt atcaactatt ggtactggtg gtggcacacc ctatgcagac	240
tccgtgaagg gccgcttac catctccaga gacaatgcca agaactccctt gtatctcaa	300

atgaacagcc tgagagccga ggacatggct gtgtattact gtgcattaaag tgctttgat

360

gtctggggcc aaggacaat ggtcaccgtc tcttcagcct ccaccaaggg cccatcggtc 420
 ttccccctgg cac 433

<210> 63

<211> 144

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Met Glu Phe Val Leu Ser Trp Val Leu Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Cys Ala Leu Ser Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val

115 120 125

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

130 135 140

<210> 64

<211> 125

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Thr Ile Gly Thr Gly Gly Thr Pro 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Leu Ser Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser

100 105 110

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

115 120 125

<210> 65

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

Asn Tyr Ala Met His

1 5

<210> 66

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

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

1 5 10 15

<210> 67

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Ser Ala Phe Asp Val

1 5

<210> 68

<211> 466

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 68

atggagtttgcgttg	tgctgagctgggtttcctt	gttgctatataaaagggtt	ccagtgtgag	60
gttcagctgg	tgcagtcgtgg	gggaggcttgc	gtacatcctgggggtccct	120

tgtgcaggctt	ctggattcac	cttcagtagc	tatgctatgc	actgggttcg	ccaggctcca	180
ggaaaaggctt	tggagtgggtt	atcagctattt	ggtaactgggtt	gttacacata	ctatgttagac	240
tccgtgaagg	gccgattcac	catctccaga	gacaatgccaa	agaagtcctt	gtatcttcaa	300
atgaacagcc	tgagagccga	ggacatggctt	gtgttattactt	gtgcaagaga	gccgttttac	360
gatattttga	ctggtttattcc	ccataactttt	gactactgggg	gccagggaaac	cctggtcacc	420
gtctcctcag	cctccaccaa	gggcccattcg	gtttcccccc	tggcac		466

<210> 69

<211> 143

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Met Glu Phe Val Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Met Ala Val Tyr
 100 105 110
 Tyr Cys Ala Arg Glu Pro Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Pro
 115 120 125

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 70

<211> 124

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Glu Pro Phe Tyr Asp Ile Leu Thr Gly Tyr Ser Pro Tyr Phe Asp

100 105 110

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

115 120

<210> 71

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Ser Tyr Ala Met His

1 5

<210> 72

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

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

1 5 10 15

<210> 73

<211> 16

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 73

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

1 5 10 15

<210> 74

<211> 454

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 74

atggagtttggctgagctgggtttcctcgttgctcttttaagaggtgtccagtgtcag 60

gtgcagctggtggagtctggggaggcgctggtcagccctggaggtccctgagactctcc 120

tgtgcagcgtctggattcaccttcagtagctataacatgcactggtccgccaggctcca 180

ggcaaggggctggagtgggtggcagttatatgatgatggaagtaataaatctatggaa 240

gactccgtgaaggccgattcaccatctccagagacaattccaagaacacgctgtatctg 300

caaataacaacgcctgagacgcgaggacacggtgtgtattactgtgcgagagaagagctg 360

gggatcgggttgtacttcgatctctggggccgtgcaccctgtcaactgtctctcagcc 420

tccaccaagggccatcggtttccccctggcac 454

<210> 75

<211> 139

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Val Val Gln

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Glu Glu Leu Gly Ile Gly Trp Tyr Phe Asp Leu

115 120 125

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 76

<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser 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 Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly 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 Glu Glu Leu Gly Ile Gly Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 77

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Ser Tyr Asn Met His

1 5

<210

> 78

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Glu Glu Leu Gly Ile Gly Trp Tyr Phe Asp Leu

1 5 10

<210> 80

<211> 475

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 80

atggacatga gggccccgc tcagctcccg gggcttctgc tgctctggct cccagggtgcc	60
agatgtgcca tccagttgac ccagtcctca tcctccctgt ctgcatctgt aggagacaga	120

gtcaccatca cttgccgggc aagtcaaggc attagcagtg cttagcctg gtatcagcag	180
aaaccaggga aagtcctaa gtcctgatc tatgtgcct ccagttggaa aagtgggtc	240
ccatcaaggt tcagcggcag tggatctggg acagattca ctctcaccat cagcagcctg	300
cagccgtgaag atttgcac ttattactgt caacagttta atagttaccc tcacttcggc	360
caagggacac gactggagat taaacgaact gtggctgcac catctgtctt catctcccg	420
ccatctgtatc agcagttgaa atctggaact gcctctgtt tgtgcctgca agggc	475

<210> 81

<211> 128

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Pro Gly Ala Arg Cys Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val

65 70 75 80

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

85 90 95

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

100 105 110

Phe Asn Ser Tyr Pro His Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

115

120

125

<210> 82

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Phe Asn Ser Tyr Pro His

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 84

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Gln Gln Phe Asn Ser Tyr Pro His

1 5

<210> 86

<211> 445

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 86

atggagtttg ggctgagctg gttttcctc gttgctttt taagaggtgt ccagtgtcag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcggtg gtccagccgt ggaggtccct gagactctcc 120

tgtgcagcgt ctggattcac cttcagtagc tatggcatgc actgggtccg ccaggctcca 180

ggcaaggggc tggagtgggt ggcagttata tggatgtatg gaagtaataa atactatgca 240

gactccgtga agggccgatt caccatctcc agagacaatt ccaagaacac gctgtatctg 300

caaataaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgcgag aggccccct 360

cggtacttcg atctctgggg ccgtggcacc ctggtaactg ttcctcagc ctccaccaag 420

ggcccatcgg tcttccccct ggcac 445

<210> 87

<211> 136

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Leu Arg Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Tyr Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 88

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Gly Pro Pro Arg Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 89

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 90

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

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

1 5 10 15

Gly

<210> 91

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Gly Pro Pro Arg Tyr Phe Asp Leu

1 5

<210> 92

<

211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro

85 90 95

<210> 93

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Ser 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 Phe Asn Ser Tyr Pro

85 90 95

<210> 94

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 95

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser 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 Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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

<210> 96

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Gly Thr Gly Gly Thr 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg

<210> 97

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of artificial sequence: Synthetic

consensus sequence"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Asn" or "Thr" or "Ser"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> /note="Residue given in the sequence has no preference

with respect to those in the annotation for said position"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Asn" or "Ala"
 <220><221> misc_feature
 <222> (3)..(3)
 <223> /note="Residue given in the sequence has no preference
 with respect to those in the annotation for said position"
 <220><221> VARIANT
 <222> (5)..(5)
 <223> /replace="Tyr"
 <220><221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> /note="Residue given in the sequence has no preference
 with respect to those in the annotation for said position"
 <400> 97
 Ile Tyr Gly Met His
 1 5
 <
 210> 98
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of artificial sequence: Synthetic
 consensus sequence"
 <220><221> VARIANT
 <222> (1)..(1)
 <223> /replace="Ile" or "Phe" or "Thr" or "Ala"
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(1)
 <223> /note="Residue given in the sequence has no preference
 with respect to those in the annotation for said position"
 <220><221> VARIANT
 <222> (3)..(3)
 <223> /replace="Gly"
 <220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Thr"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Gly"

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(5)

<223> /note="Residues given in the sequence have no preference

with respect to those in the annotations for said positions"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Gly" or "Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Thr"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Pro"

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(9)

<223> /note="Residues given in the sequence have no preference

with respect to those in the annotations for said positions"

<220><221> VARIANT

<222> (11)..(11)

<223> /replace="Ala" or "Val"

<220><221> VARIANT

<222> (12)..(12)

<223> /replace="Gly" or " "

<220><221> misc_feature

<222> (11)..(12)

<223> /note="Residues given in the sequence have no preference

with respect to those in the annotations for said positions"

<400> 98

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

1 5 10 15
Gly

<210> 99

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of artificial sequence: Synthetic
consensus sequence"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Gly" or "Tyr" or "Ser" or "Pro" or " "

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Trp" or "Ser" or "Arg"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Ala" or "His"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(3)

<223> /note="Residues given in the sequence have no preference

with respect to those in the annotations for said positions"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Leu" or "Val"

<220><221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> /note="Residue given in the sequence has no preference

with respect to those in the annotation for said position"

<400> 99

Ala Pro Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 100

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of artificial sequence: Synthetic
consensus sequence"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Gly"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Val"

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(6)

<223> /note="Residues given in the sequence have no preference

with respect to those in the annotations for said positions"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Trp" or "Ala"

<220><221> misc_feature

<222> (9)..(9)

<223> /note="Residue given in the sequence has no preference

with respect to those in the annotation for said position"

<400> 100

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 101

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of artificial sequence: Synthetic
consensus sequence"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Ala"

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223>

> /note="Residue given in the sequence has no preference
with respect to those in the annotation for said position"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Leu"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Gln" or "Glu"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Ser"

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(7)

<223> /note="Residues given in the sequence have no preference
with respect to those in the annotations for said positions"

<400> 101
Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr
1 5
<210> 102
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of artificial sequence: Synthetic
consensus sequence"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Tyr" or "Phe"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Asn"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Ser" or "Asn"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Trp" or " "

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace=" "

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Leu" or "His" or " "

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace=" "

<220><221> misc_feature

<222> (3)..(9)

<223> /note="Residues given in the sequence have no preference

with respect to those in the annotations for said positions"

<400> 102

Gln Gln Arg Arg Thr Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 103

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Gln 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 Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys 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 Asp Leu Trp Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 104

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400

> 104

Gln 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 Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ile Ile Trp Tyr Asp Gly Gly Asn Lys 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 Asp Phe Tyr Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser
 115
 <210> 105
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 105

Gln 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 Ser Tyr
 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Phe Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Gly 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 Glu Glu Leu Gly Ile Gly Trp Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Arg
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 106
 <211> 113
 <212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Thr Ile Gly Thr Gly Gly Thr Pro 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 Met Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Leu Ser Ala Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser

100 105 110

Ser