



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2019년04월29일
(11) 등록번호 10-1973930
(24) 등록일자 2019년04월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/00 (2006.01) C07K 16/32 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/00 (2013.01)
C07K 16/32 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7002645(분할)
(22) 출원일자(국제) 2011년11월04일
심사청구일자 2019년01월25일
(85) 번역문제출일자 2019년01월25일
(65) 공개번호 10-2019-0015583
(43) 공개일자 2019년02월13일
(62) 원출원 특허 10-2013-7014071
원출원일자(국제) 2011년11월04일
심사청구일자 2016년11월04일
(86) 국제출원번호 PCT/CA2011/001238
(87) 국제공개번호 WO 2012/058768
국제공개일자 2012년05월10일
(30) 우선권주장
61/410,746 2010년11월05일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
W02009089004 A1
(뒷면에 계속)
전체 청구항 수 : 총 30 항

(73) 특허권자
자임웁크스 인코포레이티드
캐나다 브리티시 콜럼비아 브이6에이치 3브이9 밴
쿠버 웨스트 8번 애비뉴 540-1385
(72) 발명자
카브레라 에릭 에스코바
캐나다 브리티시 콜럼비아 브이5에이 4비3 버나비
우드리지 플레이스 8562
폰 크로이텐슈타인 토마스 스프레터
캐나다 브리티시 콜럼비아 브이6이 1에스8 밴쿠버
하우드 스트리트 1007 - 1330
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 이상영

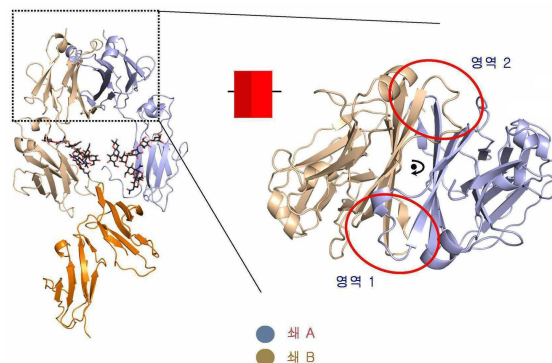
심사관 : 김은영

(54) 발명의 명칭 Fc 도메인 내의 돌연변이를 갖는 안정한 이중이량체 항체 디자인

(57) 요약

제공된 스카폴드는 이펙터 기능의 조절에 관여하는 다양한 Fc 수용체들 사이의 선택성을 천연 동종이량체(대칭) Fc 분자에 의해 달성될 수 있는 선택성보다 높은 수준으로 달성하고 생성된 변이체 Fc 이중이량체의 증가된 안정성 및 순도를 달성하기 위해 다양한 도메인들(예를 들면, CH2 및 CH3) 내에 비대칭으로 존재하는 중쇄를 갖는다. 이들 신규 분자들은 항체가 거동하는 천연 방식을 변경하도록 디자인되어 있고 치료제에서 사용되는 불균질한 성분들의 복합체를 포함한다.

대표도



- (52) CPC특허분류
C07K 16/468 (2013.01)
 C07K 2317/30 (2013.01)
 C07K 2317/524 (2013.01)
 C07K 2317/526 (2013.01)
 C07K 2317/64 (2013.01)
- (72) 발명자
덱시트 수르지트 브히마라오
 캐나다 브리티시 콜럼비아 브이7이 3엔5 리치몬드
 킹피셔 드라이브 51 - 11651
라리오 파울라 이레네
 캐나다 브리티시 콜럼비아 브이5피 4엑스2 밴쿠버
 이. 켄트 애비뉴 사우스 201 - 2080
푼 데이빗 카이 유엔
 캐나다 브리티시 콜럼비아 브이7이 2비6 리치몬드
 레일웨이 애비뉴 9320
드안젤로 이고르 에드문도 파울로
 캐나다 브리티시 콜럼비아 브이3에이치 5엡3 포트
 무디 알더 드라이브 15
- (56) 선행기술조사문헌
 W02007110205 A1
 W02006106905 A1
 W02010115553 A1
 Protein Engineering, Design and Selection,
 Vol. 23, No. 4, pp. 195-202 (2010. 02.)
 Journal of Biological Chemistry. Vol. 285, No.
 25, pp. 19637-19646 (2010.06.)
- (30) 우선권주장
 61/425,375 2010년12월21일 미국(US)
 61/439,341 2011년02월03일 미국(US)
 61/475,614 2011년04월14일 미국(US)
 61/491,846 2011년05월31일 미국(US)
 61/497,861 2011년06월16일 미국(US)
-

명세서

청구범위

청구항 1

이종이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이종다량체로서, 여기서 이종이량체 Fc 영역은 제1 CH3 도메인 폴리펩티드 및 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 제1 및 제2 CH3 도메인 폴리펩티드는 각각 독립적으로 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 변형을 포함하고, 여기서 이종이량체 Fc 영역은 90% 초과와 순도를 갖고, 변이체 CH3 도메인은 70℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖고, 여기서

(a) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드는 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드는 위치 T366 및 T394에서 아미노산 변형을 포함하며, 여기서

위치 F405에서의 아미노산 변형은 F405A, F405I, F405M, F405S, F405T 또는 F405V이고,

위치 Y407에서의 아미노산 변형은 Y407I 또는 Y407V이고,

위치 T366에서의 아미노산 변형은 T366I, T366L 또는 T366M이고,

위치 T394에서의 아미노산 변형은 T394W이고,

위치 L351에서의 아미노산 변형은 L351Y이며, 또는

(b) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드는 위치 Y407에서 아미노산 변형을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드는 위치 T366 및 K409에서 아미노산 변형을 포함하며, 여기서

위치 Y407에서의 아미노산 변형은 Y407A, Y407I 또는 Y407V이고,

위치 T366에서의 아미노산 변형은 T366A, T366I, T366L, T366M 또는 T366V이고,

위치 K409에서의 아미노산 변형은 K409F 또는 K409W이며,

여기서 아미노산 잔기의 넘버링은 카바트(Kabat)에 기재된 바와 같은 EU 인덱스에 따른 것이고,

이종이량체 Fc 영역은 IgG Fc 영역인 단리된 이종다량체.

청구항 2

제1항에 있어서, 이종이량체 Fc 영역이 Fc γ 수용체의 선택적 결합을 촉진하기 위한 비대칭 아미노산 변형을 포함하는 변이체 CH2 도메인을 추가로 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 3

제1항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 T366 및 T394에서 아미노산 변형을 포함하며, 위치 F405에서의 아미노산 변형이 F405A, F405T, F405S 또는 F405V인 단리된 이종다량체.

청구항 4

제1항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 T366 및 T394에서 아미노산 변형을 포함하며, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 K392에서 아미노산 변형을 추가로 포함하는 것이며, 여기서 위치 K392에서의 아미노산 변형이 K392F, K392L, 또는 K392M인 단리된 이종다량체.

청구항 5

제1항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 Y407에서 아미노산 변형을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 T366 및 K409에서 아미노산 변형을 포함하며, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 L351에서 L351Y, L351I 및 L351F로부터 선택되는 아미노산 변형을 추가로 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 6

제5항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 K409F, 및 아미노산 변형 T366A, T366V, T366I 또는 T366L 중 하나를 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 7

제6항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 D399, S400 또는 F405 중 하나 이상에서 추가 아미노산 변형을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 T411, N390 또는 K392 중 하나 이상에서 추가 아미노산 변형을 포함하며, 여기서

위치 T411에서의 아미노산 변형은 T411R, T411K, T411D 또는 T411E이고;

위치 D399에서의 아미노산 변형은 D399R, D399W, D399Y 또는 D399K이고;

위치 S400에서의 아미노산 변형은 S400E, S400D 또는 S400R이고;

위치 F405에서의 아미노산 변형은 F405V이고;

위치 N390에서의 아미노산 변형은 N390R 또는 N390K이고;

위치 K392에서의 아미노산 변형은 K392M, K392R, K392L, K392F 또는 K392E인 단리된 이종다량체.

청구항 8

제5항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366V 및 K409F를 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 9

제1항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y407A를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 10

제9항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R 및 S400R을 추가로 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 K392E 및 T411E를 추가로 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 11

제1항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366L 또는 T366I 중 하나 및 아미노산 변형 T394W를 포함하고 아미노산 변형 K392M, K392L 또는 K392F 중 하나를 추가로 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 12

제1항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366L 또는 T366I 중 하나 및 아미노산 변형 T394W를 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 13

제1항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 T366 및 T394에서 아미노산 변형을 포함하며, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 S400 또는 Q347 중 하나 또는 양자 모두에서 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 위치 K360 또는 N390 중 하나 또는 양자 모두에서 아미노산 변형을 추가로 포함하며, 여기서

위치 S400에서의 아미노산 변형은 S400E 또는 S400D이고;

위치 Q347에서의 아미노산 변형은 Q347R 또는 Q347E이고;

위치 K360에서의 아미노산 변형은 K360D 또는 K360E이고;

위치 N390에서의 아미노산 변형은 N390R 또는 N390K인 단리된 이종다량체.

청구항 14

제13항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S400E 또는 Q347R 중 적어도 하나를 추가로 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 N390R 또는 K360E 중 적어도 하나를 추가로 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 15

제1항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366I 또는 T366L 중 하나, 아미노산 변형 K392L 또는 K392M 중 하나 및 아미노산 변형 T394W를 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 16

제1항에 있어서,

(a) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366I, K392M 및 T394W를 포함하거나,

(b) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366L, K392M 및 T394W를 포함하거나,

(c) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366I, K392L 및 T394W를 포함하거나,

(d) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366L, K392L 및 T394W를 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 17

제16항에 있어서,

(a) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S400E를 추가로 포함하거나,

(b) 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 N390R을 추가로 포함하거나,

(c) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S400E를 추가로 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 N390R을 추가로 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 18

제17항에 있어서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, S400E, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366L, N390R, K392M 및 T394W를 포함하는 것인 단리된 이종다량체.

청구항 19

이종이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이종다량체로서, 여기서 이종이량체 Fc 영역은 제1 CH3 도메인 폴리펩티드 및 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 상기 제1 및 제2 CH3 도메인 폴리펩티드는 각각 독립적으로 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 변형을 포함하며, 여기서

(a) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 E357H 및 S364F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y 및 K370I를 포함하거나 (변이체 AZ12), 또는

(b) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 E357H 및 S364F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y 및 K370F를 포함하거나 (변이체 AZ14), 또는

(c) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 E357L, T366A, K409F 및 T411N을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ15), 또는

- (d) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366I 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ17), 또는
- (e) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, V397T, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366L 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ19), 또는
- (f) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, V397T, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366M 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ20), 또는
- (g) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, L368M, V397T, F405I 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366L 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ21), 또는
- (h) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, V397T, L398D, S400E, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366I, N390R 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ25), 또는
- (i) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Q347R, L351Y, V397T, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S354N, K360E, T366I 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ29), 또는
- (j) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T350V, L351Y, V397T, S400E, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T350V, T366I, T394W 및 T411R을 포함하거나 (변이체 AZ30), 또는
- (k) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Q347R, T350V, L351Y, V397T, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T350V, K360E, T366I, T394W 및 T411R을 포함하거나 (변이체 AZ32), 또는
- (l) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366I, K392M 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ33), 또는
- (m) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, S400E, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366I, N390R, K392M 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ34), 또는
- (n) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 R344H, L351Y, K370Q, G371D, S400E, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366I, N390R, T394W, K409M 및 T411R을 포함하거나 (변이체 AZ42), 또는
- (o) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, K370T, G371D, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 E357Q, S364R, T394W 및 K409I를 포함하거나 (변이체 AZ44), 또는
- (p) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 R344H, L351Y, K370T, G371D, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 E357Q, S364R, T366I, T394W, K409I 및 T411R을 포함하거나 (변이체 AZ46), 또는
- (q) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, K370A, G371S, D399R, F405S 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 E357Q, Q362R, S364Y, T366I, T394W 및 K409S를 포함하거나 (변이체 AZ47), 또는
- (r) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, V397S, D399W, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Q362R, T366I, T394W 및 K409M을 포함하거나 (변이체 AZ48), 또는
- (s) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, V397S, D399Y, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Q362R, T366I, T394W 및 K409I를 포함하거나 (변이체 AZ49), 또는
- (t) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ63), 또는
- (u) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ64), 또는
- (v) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351F 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ65), 또는
- (w) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366S 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아

미노산 변형 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ66), 또는

(x) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366C 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ67), 또는

(y) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366L 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ68), 또는

(z) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366M 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ69), 또는

(aa) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366V 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ70), 또는

(bb) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351I, T366S, L368F 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ71), 또는

(cc) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399W 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ72), 또는

(dd) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399W, S400D 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ73), 또는

(ee) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399W, S400E 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ74), 또는

(ff) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K409F 및 T411R을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399W, S400D 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ75), 또는

(gg) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K409F 및 T411R을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 G371D, D399W 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ76), 또는

(hh) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K409F 및 T411R을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 K370Q, G371D, D399W 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ77), 또는

(ii) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, N390R 및 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399Y, S400D 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ78), 또는

(jj) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Q362R, T366A, K409F 및 T411K를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ79), 또는

(kk) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Q362K, T366A, K409F 및 T411R을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ81), 또는

(ll) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, N390K, K392F, K409F 및 T411R을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S400E 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ82), 또는

(mm) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, N390K, K392R, K409F 및 T411K를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S400E 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ83), 또는

(nn) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, N390K, K409F 및 T411R을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S400D 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ84), 또는

(oo) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K392L, K409F 및 T411D를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ85), 또는

(pp) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K392L, K409F 및 T411E를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ86), 또는

(qq) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K392L, K409F 및 T411D를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399K 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ87), 또는

(rr) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K392L, K409F 및 T411E를 포함하고, 제2 CH3 도메인

폴리펩티드가 아미노산 변형 D399K 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ88), 또는

(ss) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K392M, K409F 및 T411E를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ89), 또는

(tt) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K392F, K409F 및 T411D를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R, F405V 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ91), 또는

(uu) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K409F 및 T411E를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R, S400E 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ92), 또는

(vv) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K409F 및 T411E를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R, S400D 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ93), 또는

(ww) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K392E, K409F 및 T411E를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R, S400R 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ94), 또는

(xx) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366A, K392E, K409F 및 T411D를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 D399R, S400R 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ95), 또는

(yy) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S364Y, T366A, K409F 및 T411R을 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ98), 또는

(zz) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366V 및 K409W를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, L368S 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ100), 또는

(aaa) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 T366V 및 K409W를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하거나 (변이체 AZ101), 또는

(bbb) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S354R, D356K, E357Q 및 S364F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S354E, K370F 및 K439E를 포함하거나 (변이체 AZ106), 또는

(ccc) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 K409F 및 T411E를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L368V, D399K 및 S400D를 포함하거나 (변이체 AZ114), 또는

(ddd) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 K409F를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L368V 및 D399Y를 포함하거나 (변이체 AZ115), 또는

(eee) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 K360E, L368D 및 K370E를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y349R, E357R 및 T411R을 포함하거나 (변이체 AZ122), 또는

(fff) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 K360E, K370T 및 G371D를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y349R, E357Q 및 S364R을 포함하거나 (변이체 AZ123), 또는

(ggg) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 K360E, K370T 및 G371D를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y349R, E357Q 및 S364K를 포함하거나 (변이체 AZ124), 또는

(hhh) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y349C, L351Y, V397T, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 S354C, T366I 및 T394W를 포함하거나 (변이체 AZ129), 또는

(iii) 제1 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 L351Y, S354C, V397T, F405M 및 Y407V를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드가 아미노산 변형 Y349C, T366I 및 T394W를 포함하며 (변이체 AZ130),

여기서 아미노산 잔기의 넘버링은 카바트(Kabat)에 기재된 바와 같은 EU 인덱스에 따른 것인, 단리된 이종다량체.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 이종이량체 Fc 영역이 인간 IgG Fc 영역인 단리된 이종다량체.

청구항 21

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 이종이량체 Fc 영역이 IgG1 Fc 영역인 단리된 이종다량체.

청구항 22

제21항에 있어서, IgG1 Fc 영역이 인간 IgG1 Fc 영역인 단리된 이종다량체.

청구항 23

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 이종특이적 항체 또는 다중특이적 항체인 단리된 이종다량체.

청구항 24

제23항에 있어서, 이종이량체 Fc 영역이 IgG1 Fc 영역인 단리된 이종다량체.

청구항 25

제24항에 있어서, IgG1 Fc 영역이 인간 IgG1 Fc 영역인 단리된 이종다량체.

청구항 26

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, 치료제에 접합된 것인 단리된 이종다량체.

청구항 27

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 이종다량체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포.

청구항 28

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 단리된 이종다량체를 코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드.

청구항 29

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 단리된 이종다량체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 하나 이상의 발현 벡터.

청구항 30

a) 적어도 하나의 포유동물 세포를 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 단리된 이종다량체를 코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드로 형질감염시켜 일시적으로 또는 안정적으로 형질감염된 적어도 하나의 포유동물 세포를 생성하고,

b) 일시적으로 또는 안정적으로 형질감염된 적어도 하나의 포유동물 세포를 단리된 이종다량체를 발현하기에 적합한 조건 하에 배양하는 것

을 포함하는, 제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 따른 단리된 이종다량체를 포유동물 세포에서 발현시키는 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

1. 도입

[0002]

1.1 관련 출원에 대한 상호 참조

[0003]

본원은 2010년 11월 5일자로 출원된 미국 가특허출원 제61/410,746호; 2010년 12월 21일자로 출원된 미국 가특허출원 제61/425,375호; 2011년 2월 3일자로 출원된 미국 가특허출원 제61/439,341호; 2011년 4월 14일자로 출원된 미국 가특허출원 제61/475,614호; 2011년 5월 31일자로 출원된 미국 가특허출원 제61/491,846호; 및 2011년 6월 16일자로 출원된 미국 가특허출원 제61/497,861호(이들 각각은 전체적으로 본원에 참고로 도입됨)의 미국 특허법 제119조(e)(35 U.S.C. § 119(e)) 하의 이익을 주장한다.

[0004]

1.2 서열목록에 관한 진술

[0005]

본원은 2011년 11월 4일자로 생성되었고 15 킬로바이트의 크기를 갖는 텍스트 파일 자임웁크스(Zymeworks)

V84467W0.txt로서 본원과 함께 제출된 서열목록을 참고로 도입한다.

1.3. 발명의 기술분야

본 개시내용은 일반적으로 폴리펩티드 이중이량체, 이의 조성물, 및 이러한 폴리펩티드 이중이량체를 제조하고 사용하는 방법을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 이중이량체 Fc 도메인을 포함하는 열안정성 다중특이적 항체(이중특이적 항체를 포함함)에 관한 것이다.

배경 기술

1.4 발명의 배경기술

이중특이적 항체는 2개의 분리된 상이한 항원들(또는 동일한 항원의 상이한 에피토프들)에 동시에 결합할 수 있는 항체 기초 분자이다. 이중특이적 항체의 한 용도는 세포독성 면역 이펙터(effector) 세포가 예컨대, 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC)에 의한 종양 세포의 향상된 사멸을 위해 전용되게 하는 것이다. 이 상황에서, 이중특이적 항체의 한 아암(arm)은 종양 세포 상의 항원에 결합하고, 다른 아암은 이펙터 세포 상에서 발현된 결정인자(determinant)에 결합한다. 이중특이적 항체는 종양 세포와 이펙터 세포를 가교연결함으로써 이펙터 세포를 종양 세포의 근처에 데려올 뿐만 아니라 이들의 활성화를 동시에 유발하여 효과적인 종양 세포 사멸을 이끌어낸다. 또한, 이중특이적 항체는 화학요법제 또는 방사성요법제가 종양 조직 내에 풍부하게 하여 정상 조직에 대한 유해한 효과를 최소화하는 데에 사용되어 왔다. 이 상황에서, 이중특이적 항체의 한 아암은 파괴에 대해 표적화된 세포 상에서 발현된 항원에 결합하고, 다른 아암은 화학요법 약물, 방사성동위원소 또는 독소를 전달한다.

이중특이적 항체의 일반적인 개발에서 주요 장애물은 임상전 연구 및 임상 연구 둘다를 위한 충분한 질 및 양의 물질을 제조하는 것이 어렵다는 점이다.

전장 이중특이적 항체의 전통적인 제조는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 동시발현에 기초하고, 이때 상이한 2개의쇄는 상이한 특이성을 갖는다(Millstein et al., 1983, Nature, 305:537-539). 항체 분자의 Fc 부분이 이량체화하는 고유의 성향은 중쇄와 경쇄의 다양한 조합으로 구성된 최대 10개의 상이한 IgG 분자들(이들 중 하나만이 정확한 이중특이적 구조를 가짐)의 복합 혼합물의 형성을 초래한다. 통상적으로 친화성 크로마토그래피 단계에 의해 수행되는 정확한 분자의 정제는 다소 번거롭고 생성물 수율은 낮다. 유사한 절차가 PCT 국제 공보 제WO 93/08829호 및 문헌(Traunecker et al., 1991, EMBO J., 10:3655-3659)에 개시되어 있다. 따라서, 전통적인 하이브리도마 기법을 이용하여 2개의 상이한 표적들에 결합하도록 선택된 2개의 Fab 아암을 갖는 이중특이적 항체 분자의 제조는 도전과제이다(Segal DM et al. (2001) J Immunol Methods. 248, 1-6). 삼기능성 항체인 카투막소맙(Catumaxomab)은 래트/마우스 쿼드로마(quadroma) 유래의 이중특이적 mAb이고 이 분자의 정제는 단백질 A 컬럼 기초 크로마토그래피 분리에서의 pH 의존성 용출에 기초하여 달성된다(Lindhofer H. et al. (1995) J. Immunol. 155, 219-225).

이중특이적 항체 제조를 위한 또 다른 전통적인 방법은 상이한 특이성을 갖는 2개의 항체 또는 이들의 단편의 화학적 접합이다. 그러나, 이 방법도 복잡하고, 화학적 변형 과정은 항체를 불활성화시킬 수 있거나 응집을 촉진할 수 있다. 원치 않는 생성물로부터의 정제가 어려운 과제로 남아 있기 때문에, 이중특이적 항체의 생성된 낮은 수율 및 좋지 않은 질은 이 과정이 임상 개발을 위해 요구되는 대규모 제조에 적합하지 않게 한다. 또한, 이들 분자들은 전통적인 항체 입체구조를 유지할 수 없다.

최근에, 다양한 이중이량체화 기법이 이중특이적 항체의 제조를 개선하는 데에 이용되고 있다. 그러나, 단순한 이중이량체화 도메인, 예컨대, Jun/Fos 코일드-코일(coiled-coil)과 scFv 도메인의 융합은 동종이량체와 이중이량체의 혼합물을 발생시키고 재폴딩에 의해 조립될 필요가 있다(de Kruif and Logtenberg, J. Biol. Chem. 271: 7630-4, 1996). scFv 단편과 전장 항체의 융합도 이량체화 방안으로서 이용되었다(Coloma and Morrison, Nat. Biotechnol. 15: 159-63, 1997). 그러나, 이러한 융합은 좋지 않은 고체 조직 침투 성능을 갖는 큰 분자를 발생시킨다. 2개의 scFv 단편들의 융합도 이중특이적 단백질을 발생시키는 데에 이용되고 있다(예를 들면, 미국 매릴랜드주 베테스다에 소재하는 마이크로멧 인코포레이티드(Micromet Inc.)에 의한 BITE[®] 항체, 미국 특허 제7,635,472호). 그러나, 이러한 단백질들은 Fc 영역을 함유하지 않으므로 Fc 영역을 통한 그들의 활성의 조절을 허용하지 않는다. 또한, 이들 단백질들은 작으므로(약 55 kDa) 혈청에서 상대적으로 짧은 반감기를 갖는다.

다른 이중이량체화 기법에서, 이중특이적 항체는 한 아암 내의 제1 결합 특이성을 갖는 하이브리드 면역글로불

린 중쇄, 및 다른 아암 내의 (제2 결합 특이성을 제공하는) 하이브리드 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍으로 구성된다. 이 비대칭 구조는 이중특이적 분자의 절반에서만 면역글로불린 경쇄가 존재하는 것이 용이한 분리 방법을 제공하기 때문에 원치 않는 면역글로불린 쇄 조합물로부터 원하는 이중특이적 화합물의 분리를 용이하게 하는 것으로 밝혀졌다. 이 방법은 PCT 국제 공보 제WO 94/04690호에 개시되어 있다. 이중특이적 항체의 발생에 대한 추가 세부설명에 대해서는 예를 들면, 문헌(Suresh et al., 1986, Methods in Enzymology, 121:210)을 참조한다.

[0015] PCT 국제 공보 제WO 96/27011호에 기재된 또 다른 방법에 따르면, 재조합 세포 배양물로부터 회수되는 이중이량체의 백분율을 최대화하도록 한 쌍의 항체 분자를 조작할 수 있다. 이 방법에서, 제1 항체 분자의 CH3 경계면으로부터의 하나 이상의 작은 아미노산 측쇄를 보다 큰 측쇄(예를 들면, 티로신 또는 트립토판)로 치환시킨다. 큰 아미노산 측쇄를 보다 작은 아미노산 측쇄(예를 들면, 알라닌 또는 트레오닌)로 치환시킴으로써 상기 큰 측쇄(들)와 동일하거나 유사한 크기의 보완 "캐비티(cavities)"를 제2 항체 분자의 경계면 상에서 생성한다. 이것은 다른 원치 않는 최종 생성물, 예컨대, 동종이량체에 비해 이중이량체의 수율을 증가시키는 기작을 제공한다[미국 특허 제005731168호, 미국 특허 제007183076B2호, 문헌(Ridgway JB, Presta LG, Carter P. Protein Eng 1996 Jul; 9(7): 617-21), 및 문헌(Atwell S, Ridgway JB, Wells JA, Carter P. J Mol Biol 1997 Jul 4; 270(1): 26-35)]. 구나세카란(Gunasekaran)과 동료들(Gunasekaran K. et al. (2010) J Biol Chem. 285, 19637-46)은 최근에 선택적 이중이량체화 목적을 달성하기 위해 상보적 정전기 디자인 방법을 이용하였다. 데이비스(Davis)와 동료들(Davis, JH. et al. (2010) Prot Eng Des Sel; 23(4):195-202)은 인간 IgA 및 IgG CH3 서열의 교대 절편으로 구성된 가닥 교환 조작된 도메인(SEED)을 사용하여 CH3 도메인을 디자인하였고, 이들은 우선적으로 이중이량체의 형태로 결합한다. 그러나, 이들 기술들 모두가 모 분자 또는 야생형 분자보다 상당히 덜 안정한 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 항체를 발생시킨다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0016] 따라서, 증가된 안정성 및 순도를 갖는 이중이량체를 선택하도록 변형된 대안적인 다중특이적 변이체 Fc 이중이량체, 특히 변이체 CH3 도메인에 대한 필요성이 당업계에 남아있다.

과제의 해결 수단

[0017] 2. 발명의 요약

[0018] 본 발명의 한 양태에 따라, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 상기 이중이량체 Fc 영역은 Fc γ 수용체의 선택적 결합을 촉진하기 위한 비대칭 아미노산 변형을 포함하는 변이체 CH2 도메인을 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 상기 변이체 CH2 도메인은 야생형 CH2 도메인에 비해 Fc γ IIIa 수용체에 선택적으로 결합한다. 한 실시양태에서, 상기 변이체 CH3 도메인은 약 70℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다.

[0019] 또 다른 양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 70℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다. 한 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역은 야생형 Fc 영역에 비해 상대적으로 CH3 도메인 내에 추가 이황화 결합을 포함하지 않고, 보다 구체적으로 상기 이중이량체 Fc 영역은 야생형 Fc 영역에 비해 상대적으로 CH3 도메인 내에 추가 이황화 결합을 포함하지 않는다. 대안적 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역은 야생형 Fc 영역에 비해 상대적으로 변이체 CH3 도메인 내에 추가 이황화 결합을 포함하되, 용융 온도(T_m)는 상기 추가 이황화 결합의 부재 하에서 약 70℃ 이상이다. 또 다른 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역은 야생형 Fc 영역에 비해 상대적으로 변이체 CH3 도메인 내에 추가 이황화 결합을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 77.5℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다.

[0020] 한 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 70℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖고, 상기 이중이량체 Fc 영역은 약 90% 초과 순도를 갖거나, 상기 이중이량체 Fc 영역은 약 95% 이상의 순도를 갖거나, 상기 이중이량체 Fc 영역은 약 98% 이상의 순도를 갖는다.

- [0021] 또한, 한 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 70℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖거나, 상기 T_m은 약 71℃ 이상이거나, 상기 T_m은 약 74℃ 이상이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 이중이량체 Fc 영역은 약 98% 이상의 순도를 갖고 상기 T_m은 약 73℃이거나, 상기 이중이량체 Fc 영역은 약 90% 이상의 순도를 갖고 상기 T_m은 약 75℃이다.
- [0022] 일부 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다. 한 양태에서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드는 위치 T411, D399, S400, F405, N390 또는 K392에서 추가 아미노산 변형을 포함한다. 위치 T411에서의 아미노산 변형은 T411N, T411R, T411Q, T411K, T411D, T411E 및 T411W로부터 선택된다. 위치 D399에서의 아미노산 변형은 D399R, D399W, D399Y 및 D399K로부터 선택된다. 위치 S400에서의 아미노산 변형은 S400E, S400D, S400R 및 S400K로부터 선택된다. 위치 F405에서의 아미노산 변형은 F405I, F405M, F405T, F405S, F405V 및 F405W로부터 선택된다. 위치 N390에서의 아미노산 변형은 N390R, N390K 및 N390D로부터 선택된다. 위치 K392에서의 아미노산 변형은 K392V, K392M, K392R, K392L, K392F 및 K392E로부터 선택된다.
- [0023] 일부 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T366V 및 K409F를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다.
- [0024] 또 다른 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 아미노산 변형 Y407A를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T366V 및 K409F를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다. 한 양태에서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드는 아미노산 변형 K392E, T411E, D399R 및 S400R을 추가로 포함한다. 또 다른 양태에서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드는 아미노산 변형 D399R, S400R 및 Y407A를 포함하고, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366A, K409F, K392E 및 T411E를 포함한다. 추가 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 약 74℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖고, 상기 이중이량체는 약 95% 이상의 순도를 갖는다.
- [0025] 또 다른 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 위치 L351에서의 아미노산 변형 및 아미노산 변형 Y407A를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 위치 T366에서의 아미노산 변형 및 아미노산 변형 K409F를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다. 한 양태에서, 위치 L351에서의 아미노산 변형은 L351Y, L351I, L351D, L351R 및 L351F로부터 선택된다. 또 다른 양태에서, 위치 Y407에서의 아미노산 변형은 Y407A, Y407V 또는 Y407S로부터 선택된다. 또 다른 양태에서, 위치 T366에서의 아미노산 변형은 T366A, T366I, T366L, T366M, T366Y, T366S, T366C, T366V 및 T366W로부터 선택된다. 한 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 약 75℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖고, 상기 이중이량체는 약 90% 이상의 순도를 갖는다.
- [0026] 또 다른 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 위치 F405에서의 아미노산 변형 및 아미노산 변형 L351Y 및 Y407V를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T394W를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다. 한 양태에서, 제1 CH3 도메인 폴리펩티드 또는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드는 위치 K392, T411, T366, L368 또는 S400에서 아미노산 변형을 포함한다. 위치 F405에서의 아미노산 변형은 F405A, F405I, F405M, F405T, F405S, F405V 또는 F405W이다. 위치 K392에서의 아미노산 변형은 K392V, K392M, K392R, K392L, K392F 또는 K392E이다. 위치 T411에서의 아미노산 변형은 T411N, T411R, T411Q, T411K, T411D, T411E 또는 T411W이다. 위치 S400에서의 아미노산 변형은 S400E, S400D, S400R 또는 S400K이다. 위치 T366에서의 아미노산 변형은 T366A, T366I, T366L, T366M, T366Y, T366S, T366C, T366V 또는 T366W이다. 위치 L368에서의 아미노산 변형은 L368D, L368R, L368T, L368M, L368V, L368F, L368S 또는 L368A이다.
- [0027] 또 다른 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T394W를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다. 한 양태에서, 제2 CH3 도메인 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366L 또는 T366I를 포함한다.
- [0028] 또 다른 실시양태에서, 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체가 제공되고, 이때 상기 이중이량체

Fc 영역은 아미노산 변형 F405A 및 Y407V를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T366I, K392M 및 T394W를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다.

[0029] 일부 실시양태에서, 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이종다량체가 제공되고, 이때 상기 이종이량체 Fc 영역은 아미노산 변형 F405A 및 Y407V를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T366L, K392M 및 T394W를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다.

[0030] 또 다른 실시양태에서, 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이종다량체가 제공되고, 이때 상기 이종이량체 Fc 영역은 아미노산 변형 F405A 및 Y407V를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T366L 및 T394W를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다.

[0031] 또 다른 실시양태에서, 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이종다량체가 제공되고, 이때 상기 이종이량체 Fc 영역은 아미노산 변형 F405A 및 Y407V를 포함하는 제1 CH3 도메인 폴리펩티드, 및 아미노산 변형 T366I 및 T394W를 포함하는 제2 CH3 도메인 폴리펩티드를 포함한다.

[0032] 상기 이종다량체의 일부 실시양태에서, 이종특이적 항체 또는 다중특이적 항체가 제공된다.

[0033] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 이종다량체 및 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 조성물이 제공된다.

[0034] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 이종다량체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다.

[0035] 일부 실시양태에서, 하나 이상의 치료 항체를 포함하는 이종다량체가 제공된다. 한 양태에서, 치료 항체는 아바 고보맙(abagovomab), 아달리무맙(adalimumab), 알렘투주맙(alemtuzumab), 아우로그랩(aurograb), 바피뉴주맙(bapineuzumab), 바실릭시맙(basiliximab), 벨리무맙(belimumab), 베바시주맙(bevacizumab), 브리아키누맙(briakinumab), 카나키누맙(canakinumab), 카툼악소맙(catumaxomab), 세르톨리주맙 페골(certolizumab pegol), 세톡시맙(cetuximab), 다클리주맙(daclizumab), 데노수맙(denosumab), 에팔리주맙(efalizumab), 갈릭시맙(galiximab), 겐투주맙 오조가미신(gentuzumab ozogamicin), 골리무맙(golimumab), 이브리투모맙 티옥세탄(ibrutinomab tiuxetan), 인플릭시맙(infliximab), 이필리무맙(ipilimumab), 루밀릭시맙(lumiliximab), 메폴리주맙(mepolizumab), 모타비주맙(motavizumab), 뮈로모넵(muromonab), 마이코그랩(mycograb), 나탈리주맙(natalizumab), 니모투주맙(nimotuzumab), 오크렐리주맙(ocrelizumab), 오파투무맙(ofatumumab), 오말리주맙(omalizumab), 팔리비주맙(palivizumab), 파니투무맙(panitumumab), 페르투주맙(pertuzumab), 라니비주맙(ranibizumab), 레슬리주맙(reslizumab), 리툽시맙(rituximab), 테플리주맙(teplizumab), 토실리주맙(tocilizumab)/아틀리주맙(atlizumab), 토시투모넵(tositumomab), 트라스투주맙(trastuzumab), 프록시늄(Proxinium)TM, 렌카렉스(Rencarex)TM, 우스테키누맙(ustekinumab) 및 잘루투무맙(zalutumumab)으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0036] 본 발명의 이종다량체의 또 다른 실시양태에서, 암 항원을 특징으로 하는 암을 갖는 환자에서 암을 치료하는 방법으로서, 치료 유효량의 이종다량체를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

[0037] 본 발명의 이종다량체의 또 다른 실시양태에서, 면역 항원을 특징으로 하는 면역 장애를 갖는 환자에서 면역 장애를 치료하는 방법으로서, 치료 유효량의 이종다량체를 상기 환자에게 투여하는 단계를 포함하는 방법이 제공된다.

[0038] 또 다른 실시양태에서, 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이종다량체가 제공되고, 이때 상기 이종이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 표 1, 표 6 또는 표 7에 나열된 변이체들로부터 선택된다.

발명의 효과

[0039] 제공된 스카폴드는 이펙터 기능의 조절에 관여하는 다양한 Fc 수용체들 사이의 선택성을 천연 동종이량체(대칭) Fc 분자에 의해 달성될 수 있는 선택성보다 높은 수준으로 달성하고 생성된 변이체 Fc 이종이량체의 증가된 안정성 및 순도를 달성하기 위해 다양한 도메인들(예를 들면, CH2 및 CH3) 내에 비대칭으로 존재하는 중쇄를 갖는다. 이들 신규 분자들은 항체가 거동하는 천연 방식을 변경하도록 디자인되어 있고 치료제에서 사용되는 불균질한 성분들의 복잡체를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0040] 도 1은 CH3(상부), CH2(중간) 및 수용체 영역을 보여주는, 야생형 항체의 도식 3-D 구조이다. 좌측 상의 점선

직사각형은 CH3의 표적 면적의 2개 영역인 영역 1 및 영역 2를 보여주는 우측에 확대되어 있다.

도 2는 위치 368에서 야생형 잔기를 보여주는 도식 3-D 표시이다.

도 3은 돌연변이된 위치 368을 보여주는 영역 1의 도식 3-D 표시이다.

도 4는 영역 2 내의 추가 돌연변이의 도식 3-D 표시이다.

도 5는 처음 3개 변이체 AZ1, AZ2 및 AZ3에 대한 충돌 점수, 경계면 면적 차이, 팩킹 차이, 정전기 에너지 차이 및 전체적인 "친화성 점수"에 대한 인-실리코(in silico) 계산의 표이다.

도 6은 변이체 AZ1 "상에 구축된" 변이체 AZ2 및 AZ3을 보여주는 도식 3-D 영상을 보여준다.

도 7은 AZ2 및 AZ3 변이체의 도식 3-D 표시를 보여준다.

도 8은 AZ1, AZ2 및 AZ3 이중이량체 및 동종이량체에 대한, 도 5에서와 같은 표를 보여준다. 친화성 점수는 동종이량체와 관련 없으므로 동종이량체에 대한 그 양태를 보여주는 점수는 없다.

도 9는 야생형(좌측) 및 돌연변이된 AZ4(우측)의 3-D 표시의 도식 표시이다.

도 10은 AZ4 이중이량체 및 동종이량체에 대한 인-실리코 계산을 보여주는, 도 5와 같은 표이다.

도 11은 CH3 변이체 AZ5(좌측) 및 AZ6(우측)의 도식 표시이다.

도 12는 AZ4, AZ5 및 AZ6에 대한 인-실리코 데이터를 보여주는, 도 5에 대해 기재된 바와 같은 표이다.

도 13은 이중이량체 방법을 이용하였을 때 수용체 영역에서의 결합 특징의 가능성을 보여주는 도면과 함께, 항체의 도식 3-D 표시(좌측)이다.

도 14는 IgG 분자의 개략적 표시이다.

도 15는 Fc γ 수용체들의 다중 서열 정렬을 보여준다. 진뱅크(Genebank)/유니프롯(Uniprot) 서열 ID는 다음과 같다: Fc γ RIIA(sp P12318), Fc γ RIIB(sp P31994), Fc γ RIIC(gi 126116592), Fc γ RIIIA(sp P08637), Fc γ RIIIB(sp 075015).

도 16은 Fc-Fc γ RIIIB 복합체의 결정 구조의 개략도이다(PDB ID: 1T83, Radaev & Sun). Fc와 Fc γ 수용체의 1:1 복합체가 Fc의 2개쇄들과 Fc γ R 사이의 비대칭 접촉과 함께 관찰된다.

도 17은 비대칭 Fc 스카폴드에 기초한 대안적 다기능성 분자의 개략도를 보여준다: 비대칭 Fc 스카폴드 및 비대칭 Fc-단량체 IgG 아암.

도 18은 비대칭 Fc 스카폴드에 기초한 대안적 다기능성 분자의 개략도를 보여준다: 비대칭 Fc-단일특이적 IgG 아암 및 비대칭 Fc-이중특이적 IgG 아암(공통의 경쇄).

도 19는 비대칭 Fc 스카폴드에 기초한 대안적 다기능성 분자의 예시를 보여준다: 비대칭 Fc-이중특이적 IgG 아암 및 기능성 분자, 예컨대, 독소.

도 20은 비대칭 Fc 스카폴드에 기초한 대안적 다기능성 분자를 예시한다: 비대칭 Fc-단일 scFv 아암 및 비대칭 Fc-이중특이적 scFv 아암.

도 21은 비대칭 Fc 스카폴드에 기초한 대안적 다기능성 분자를 예시한다: 비대칭 Fc-삼중특이적 scFv 아암 및 비대칭 Fc-사중특이적 scFv 아암.

도 22는 보다 우수한 Fc γ R 선택성을 위한 Fc의 한 면 상의 돌연변이의 비대칭 디자인이 Fc γ R 상호작용에 대한 생산적 면 및 야생형 유사 상호작용을 갖는 비생산적 면을 도입한다는 것을 보여준다. Fc의 비생산적 면 상의 돌연변이는 FcR과의 상호작용을 차단하고 Fc의 극성을 편향시켜 생산적 면 상에서만 상호작용하도록 도입될 수 있다.

도 23은 야생형 인간 IgG1에 대한 아미노산 서열을 보여준다.

도 24는 하기 더 상세히 기재되어 있는 바와 같이 양성 디자인 방법과 음성 디자인 방법을 조합하는, Fc 이중이량체 디자인의 반복 과정을 보여준다.

도 25는 이중이량체 순도를 측정하는 데에 이용된 시험관내 분석을 보여준다. 상기 분석은 상이한 분자량의 하기 2개 Fc 중쇄를 갖는 전장 단일특이적 항체 스카폴드에 기초한다: 중쇄 A는 C-말단 히스태그(HisTag)(His)를

갖고, 중쇄 B는 C-말단 절단가능한 mRFP 태그(RFP)를 갖는다. 상기 2개 중쇄 A(His) 및 B(RFP)는 고정된 양의 경쇄와 함께 상이한 상대적 비로 발현되어 상이한 분자량을 갖는 3개의 가능한 이량체 종을 발생시킨다: a) 동종이량체 쇄 A(His)/쇄 A(His)(약 150 kDa); b) 이종이량체 쇄 A(His)/쇄 B(RFP)(약 175 kDa); 및 c) 동종이량체 쇄 B(RFP)/쇄 B(RFP)(약 200 kDa). 발현 후, 실시예 2에 기재되어 있는 바와 같이, 이종이량체 대 2개의 동종이량체의 비는 분자량에 의한 3개의 이량체 종의 분리를 가능하게 하는 비환원 SDS-PAGE에 의해 측정되었다. SDS-PAGE 겔은 쿠마시 브릴리언트 블루(Coomassie Brilliant Blue)로 염색되었다.

도 25a: 시험된 변이체는 WT 쇄 A(His) 단독; WT 쇄 B(RFP) 단독; WT 쇄 A(His) 플러스 쇄 B(RFP); 및 95% 초과와 비교된 이종이량체 순도를 갖는 대조군 1 쇄 A(His) 플러스 쇄 B(RFP)이었다. 이량체 밴드의 조성은 상기 예시된 바와 같이 IgG-Fc에 대한 항체(항-Fc), mRFP 태그에 대한 항체(항-mRFP) 및 히스태그에 대한 항체(항-His)를 사용하는 웨스턴 블롯에 의해 검증되었다. SDS-PAGE는 His/His 동종이량체에 대한 단일 밴드, His/RFP 이종이량체에 대한 이중 밴드 및 RFP 동종이량체에 대한 다중 밴드를 보여준다. 상기 다중 밴드는 mRFP 태그의 인공물이고 Fc 이종이량체의 물리적 성질에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되었다.

도 25b: SDS-PAGE 분석은 공개된 Fc 이종이량체 변이체 대조군 1 내지 4를 대조군으로서 사용함으로써 검증되었다(표 A 참조). 상기 변이체들은 쇄 A(His) 대 쇄 B(RFP)의 상이한 상대적 비로 발현되었다: 구체적으로, 비 1:3은 25%, 10%, 65%의 LC, HC_His, HC_mRFP 비와 동등하고, 비 1:1은 25%, 20%, 55%의 LC, HC_His, HC_mRFP 비와 동등하고, 비 3:1은 25%, 40%, 35%의 LC, HC_His, HC_mRFP 비와 동등하다(쇄 A(His) 대 쇄 B(RFP)의 겔보기 1:1 발현은 WT Fc의 경우 20%/55%(His/RFP)에 가까운 것으로 확인되었다).

도 25c는 스카폴드 1 변이체의 이종이량체 순도를 측정하기 위한 비환원 SDS-PAGE 분석을 보여준다. Fc 변이체들은 쇄 A(His) 대 쇄 B(RFP)의 상이한 상대적 비로 발현되었고 도 2에 기재된 바와 같이 비환원 SDS-PAGE에 의해 분석되었다. 구체적으로, 비 1:3은 25%, 10%, 65%의 LC, HC_His, HC_mRFP 비와 동등하고, 비 1:1은 25%, 20%, 55%의 LC, HC_His, HC_mRFP 비와 동등하고, 비 3:1은 25%, 40%, 35%의 LC, HC_His, HC_mRFP 비와 동등하다(쇄 A(His) 대 쇄 B(RFP)의 겔보기 1:1 발현은 WT Fc의 경우 20%/55%(His/RFP)에 가까운 것으로 확인되었다).

도 26은 단백질 A 친화성 크로마토그래피에 의해 정제되고 도 25에 기재된 바와 같이 비환원 SDS-PAGE에 의해 분석된, 쇄 A(His) 대 쇄 B(RFP)의 특정 비(표 2 참조)로 발현된 Fc 이종이량체 변이체를 보여준다.

도 26A는 상이한 변이체들이 SDS-PAGE 결과의 가시적 검사에 기초한 순도의 카테고리로서 어떻게 분류되는지를 예시한다. 비교를 위해, 동등한 양의 단백질 A 정제된 생성물을 겔 상에 적재하였다. 비환원 SDS-PAGE에 기초한 순도의 이 정의는 선택된 변이체 대한 LC/MS에 의해 확인되었다(도 28 참조).

도 26B는 스카폴드 1 및 2의 선택된 단백질 A 정제된 이종이량체 변이체의 예시적 SDS-PAGE 결과이다(AZ94, AZ86, AZ70, AZ33 및 AZ34).

도 27은 CH3-CH3 도메인의 용융 온도를 측정하기 위한 DSC 분석을 예시하고, 이때 2종의 독립적인 방법들이 이용되었다.

도 27A: 온도기록도가 4개의 독립적인 비-2-상태-전이에 피팅되었고 헤르셴틴에 대한 보고된 문헌 값들에 가까운 CH2 및 Fab 전이에 대한 약 72°C(CH2) 및 약 82°C(Fab)의 값을 산출하도록 최적화되었다.

도 27B: 이종이량체 변이체들에 대한 표준화된 온도기록도 및 기준 보정된 온도기록도가 WT로부터 차감되어 CH3 전이에 대해서만 양성 및 음성 차이 피크를 산출하였다.

도 28은 실시예 2에 기재된 바와 같은 예시적 변이체 AZ70의 LC/MS 분석을 예시한다. 글리코실화된 이종이량체 및 동종이량체에 대한 예측된(계산된 평균) 질량이 표시되어 있다. 이종이량체 질량과 일치하는 영역은 글리신의 상실(-57 Da) 및 1개 또는 2개의 헥소스의 추가(각각 +162 Da 및 +324 Da)에 상응하는 주 피크를 함유한다. 이종이량체 순도는 상기 동종이량체들 중 어느 하나에 상응하는 상당한 피크가 존재하지 않는 경우 90% 초과로서 분류된다.

도 29는 WT Fc(도 29A); AZ6(도 29B); AZ33(도 29C); 및 AZ19(도 29D)의 CH3 경계면을 보여준다. 상세한 설명 단락에 기재된 바와 같은 포괄적인 인-실리코 분석 및 변이체들과 WT의 비교는 WT보다 더 낮은 초기 AZ33 이종이량체의 안정성에 대한 이유들 중 하나가 Y407 및 T366의 코어 상호작용/팩킹의 상실이라는 것을 보여주었다. 초기 AZ33은 도 29B에 예시된 바와 같이 이 소수성 코어에서 비최적 팩킹을 보여주는데, 이것은 이 영역, 특히 위치 T366에서의 최적화가 AZ33의 안정성을 개선할 것임을 암시한다. 이것은 T366I 및 T366L을 갖는 도 29C 및 도 29D에 예시되어 있다. 실험적 데이터는 이 구조적 분석과 상관관계를 갖고 T366L이 Tm의 최대 개선을 제공한

다는 것을 보여준다. 실시예 5를 참조한다.

도 30은 초기 스카폴드 1 변이체 AZ8에서 예시된, 입체구조적 동역학 분석의 유용성 및 중요성을 보여준다. 인-실리코 돌연변이유발 후 구조(WT에 가까운 주쇄 입체구조)가 50 ns 분자 동역학 시뮬레이션 분석의 대표적인 구조와 겹쳐져 있다. 도면은 AZ8 변이체 대 WT의 루프 영역 D399-S400에서의 큰 입체구조적 차이를 강조하고, 이 차이는 소수성 코어를 용매에 노출시키고 AZ8 이중이량체의 감소된 안정성을 야기한다.

도 31은 포괄적인 인-실리코 분석 및 MD 시뮬레이션으로부터의 정보가 기재된 양성 디자인 방법에서 어떻게 이용되었는지를 예시한다. 도 30에 예시된 바와 같이, WT보다 더 낮은 AZ8의 안정성에 대한 이유들 중 하나는 주로 F405 팩킹 상호작용의 상실에 기인하는, 루프 399-400 내지 409의 약화된 상호작용이다(도 31A(WT) 대 도 31B(AZ8)의 비교 참조). 양성 디자인 방법들 중 하나는 399-400 루프 입체구조를 안정화시키기 위한, 면적의 소수성 팩킹의 최적화이었다. 이것은 도 31C에 예시되어 있는 K392M 돌연변이에 의해 달성되었다. 도 31C는 초기 음성 디자인 변이체 AZ8의 74°C 대 68°C의 T_m을 갖는 이중이량체 AZ33을 나타낸다.

도 32는 분자 동역학 궤도의 주요 성분 분석을 이용하였을 때 관찰된 Fc 분자의 동역학을 예시한다. 도 32A는 기준물질로서 Fc 구조의 주쇄 선을 보여준다. 도 32B 및 32C는 Fc 구조에서 상부 2개의 주요 움직임 방식에 따라 관찰된 동역학의 중첩을 나타낸다. 채 A 및 B의 CH2 도메인들은 서로에 대해 상대적으로 상당한 개방/폐쇄 움직임을 나타내는 반면, CH3 도메인들은 상대적으로 경직되어 있다. CH3 경계면에서의 돌연변이는 CH2 도메인에서의 이 개방/폐쇄 움직임의 상대적 유연성 및 동역학에 영향을 미친다.

도 33은 2개의 스카폴드-2 변이체들 대 WT의 소수성 코어 팩킹을 예시한다: WT Fc(도 33A); AZ63(도 33B); 및 AZ70(도 33C). 초기 스카폴드-2 변이체의 포괄적인 인-실리코 분석은 Y407-T366의 코어 WT 상호작용의 상실이 WT보다 더 낮은 초기 스카폴드-2 변이체의 안정성에 대한 이유들 중 하나라는 것을 암시하였다. Y407-T366의 상실은 돌연변이 K409F에 의해 부분적으로 보완되지만, 도 33B에 예시된 바와 같이, 특히 T366A 돌연변이는 WT에 비해 상기 변이체를 불안정화시키는 캐비티를 소수성 코어 내에 남겨둔다. 도 33C에서 Fc 변이체 AZ70으로 나타낸 바와 같이 추가 돌연변이 T366V_L351Y에 의한 이 소수성 코어의 표적화는 성공적인 것으로 입증되었고; AZ70은 75.5°C의 실험적으로 측정된 T_m을 갖는다. 표 4 및 실시예 6을 참조한다.

도 34는 2개의 스카폴드-2 변이체들 대 WT의 루프 399-400의 상호작용을 예시한다: WT Fc(도 34A); AZ63(도 34B); 및 AZ94(도 34C). 초기 스카폴드-2 변이체의 포괄적인 인-실리코 분석은 돌연변이 K409F로 인한 WT 염-가교 K409-D399의 상실(도 34A) 및 이로 인해 충족되지 않은 D399(도 34B)가 399-400 루프의 보다 더 "개방된" 입체구조를 야기한다는 것을 암시하였다. 나아가, 이것은 소수성 코어의 보다 많은 용매 노출 및 WT에 비해 변이체의 추가 불안정화를 초래한다. 399-400 루프를 안정화시키고 K409-D399 상호작용의 상실을 보완하기 위해 이용되는 방법들 중 하나는 변이체 AZ94에 대해 도 34C에 예시된 바와 같이 추가 염 가교 D399R-T411E 및 S400R-K392E의 디자인이었다. 실험 데이터는 95% 초과된 순도 및 74°C의 T_m을 보여주었다. 표 4 및 실시예 6을 참조한다. 추가로, AZ94가 초기 스카폴드-2 변이체(순도 <90%, T_m 71°C)에 비해 상당히 더 높은 순도 및 안정성을 갖는다고 하더라도, AZ94의 소수성 코어 돌연변이는 변이체 AZ70에서 확인된 "가장 우수한" 소수성 코어 돌연변이보다 덜 바람직하다(도 33). AZ70에서 소수성 코어 내의 돌연변이(T366V_L351Y)가 루프 399-400에서 AZ94의 염-가교 돌연변이로부터 멀리 떨어져 있기 때문에, AZ70 아미노산 돌연변이와 추가 AZ94 돌연변이의 조합은 AZ70 또는 AZ94보다 더 높은 용융 온도를 가질 것으로 예상된다. 이 조합은 실시예 1 내지 4에 기재된 바와 같이 시험될 수 있다.

도 35는 6개의 Fc γ 수용체에 결합하는 동종이량체 IgG1 Fc, 이중이량체 변이체 het1(대조군 1)(A:Y349C_T366S_L368A_Y407V/B:S354C_T366W) 및 het2(대조군 4)(A:K409D_K392D/B:D399K_D356K)의 결합 상수(K_a(M⁻¹))를 예시한다. 이중이량체 Fc 변이체는 야생형 IgG1 Fc에 비해 Fc γ 수용체와의 약간 변경된 결합을 보여주는 경향을 나타낸다. 실시예 7을 참조한다.

도 36a는 기준으로서 야생형 결합 강도에 기초할 때 IIBF, IIBY 및 IIAr 수용체에 대한 야생형 IgG1 Fc 및 이의 다양한 동종이량체 및 비대칭 돌연변이체 형태들의 상대적 결합 강도를 보여준다. (Homo Fc + S267D)는 2개의 채 상에 S267D 돌연변이를 갖는 동종이량체 Fc의 결합 강도를 의미한다. (Het Fc + asym S267D)는 Fc에서 2개의 채들 중 하나에 도입된 S267D 돌연변이를 갖는 이중이량체 Fc의 결합 강도를 의미한다. 상기 2개의 Fc 채들 중 어느 하나 상에 돌연변이를 도입함으로써 수득된 결합 강도의 평균이 보고되어 있다. 1개의 채 상에 이 돌연변이를 도입하는 것은 결합 강도를 동종이량체 방식으로 도입된 동일한 돌연변이에 대해 관찰된 강도의 대략 절반까지 감소시켰다. (Het Fc + asym S267D + asym E269K)는 2개의 Fc 채들 중 하나 상에 비대칭 방식으로 도입된 S267D 및 E269K 돌연변이 둘다를 갖는 이중이량체 Fc의 결합 강도를 의미한다. E269K 돌연변이는 Fc γ R과 Fc의

면들 중 하나의 상호작용을 차단하고 결합 강도를 비대칭 S267D 변이체(Het Fc + S267D) 자체에 대해 관찰된 결합 강도의 대략 절반까지 감소시킬 수 있다. 이때, Het Fc는 도 35에서 변이체 het2(대조군 4)에 대해 표시된 바와 같이 CH3 돌연변이로 구성된다.

도 36b는 다양한 Fc 및 이의 변이체들과 다수의 FcγRIIa, FcγRIIb 및 FcγRIIIa 동종이형(allotypes)의 결합 상수($K_a(M^{-1})$)를 보여준다. 야생형 IgG1 Fc와 다양한 Fcγ 수용체들의 K_a 는 수평 음영을 갖는 막대로서 표시되어 있다. 수직 음영을 갖는 막대(동종이량체 기초 2)는 돌연변이 S239D/D265S/I332E/S298A를 갖는 동종이량체 Fc의 K_a 를 나타낸다. 비스듬한 음영을 갖는 막대는 CH2 도메인 내에 비대칭 돌연변이 A:S239D/D265S/I332E/E269K 및 B:S239D/D265S/S298A를 갖는 이종이량체 Fc의 K_a 를 나타낸다. 비대칭 돌연변이의 도입은 IIIa 수용체와 IIa/IIb 수용체 사이의 증가된 선택성을 달성할 수 있다. 이때, 이종이량체 Fc는 도 35에서 변이체 het2(대조군 4)에 대해 표시된 바와 같이 CH3 돌연변이로 구성된다.

도 36c는 야생형 IgG1, 및 Fc 영역의 CH2 도메인 내에 동종이량체 또는 비대칭 돌연변이를 포함하는 3개의 다른 변이체들에 대한 결합 상수($K_a(M^{-1})$)를 보여준다. 야생형 Fc의 K_a 는 격자무늬 음영을 갖는 막대로 표시되어 있다. Fc의 2개 쇄들 상에 동종이량체 방식으로 도입된 기초 돌연변이 S239D/K326E/A330L/I332E/S298A를 갖는 Fc 변이체(동종이량체 기초 1)의 K_a 는 비스듬한 패턴을 갖는 막대로 표시되어 있다. 관련된 돌연변이가 이종이량체 Fc(이종 기초 1)의 쇄 A 및 B 내에 비대칭 방식으로 도입된 것은 수평선으로 표시되어 있다. 수직 음영 선을 갖는 막대는 E269K 돌연변이를 포함하는 비대칭 변이체(이종 기초 1+PD)를 나타낸다. 이때, 이종이량체 Fc는 도 35에서 변이체 het2(대조군 4)에 대해 표시된 바와 같이 CH3 돌연변이로 구성된다.

도 37 - 표 6은 스카폴드 1에 대해 실시예 5에 기재된 바와 같은 제3 디자인 단계에 기초한 변이체 CH3 도메인들의 목록이다.

도 38 - 표 7은 스카폴드 2에 대해 실시예 6에 기재된 바와 같은 제3 디자인 단계에 기초한 변이체 CH3 도메인들의 목록이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

4. 상세한 설명

본 발명은 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 특정 아미노산 변형을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 제공한다. 한 실시양태에서, 변형된 CH3 도메인은 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 특정 아미노산 변형을 포함한다(예를 들면, 표 1 참조). 또 다른 실시양태에서, 변형된 CH3 도메인은 증가된 안정성을 갖는 이량체 형성을 촉진하기 위한 특정 아미노산 변형을 포함한다(예를 들면, 표 4, 표 6 및 표 7 참조). 안정성은 CH3 도메인의 용융 온도(T_m)로서 측정되고, 증가된 안정성은 약 70°C 이상의 T_m 을 의미한다. CH3 도메인은 이종다량체 또는 이종특이적 항체의 Fc 영역의 일부를 형성한다. 따라서, 한 실시양태에서, 본원은 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 이종다량체를 제공하고, 이때 상기 이종이량체 Fc 영역은 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변형된 또는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 표 1에 나열된 변이체들로부터 선택된다. 제2 실시양태에서, 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 이종다량체가 제공되고, 이때 상기 이종이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 70°C 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다.

변형된 CH3 도메인을 발생시키는 데에 이용될 수 있는 아미노산 변형은 아미노산 삽입, 결실, 치환 및 재배열을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. CH3 도메인의 변형 및 변형된 CH3 도메인은 본원에서 "CH3 변형", "변형된 CH3 도메인", "변이체 CH3 도메인" 또는 "CH3 변이체"로서 총칭된다. 이들 변형된 CH3 도메인들은 선택된 분자 내로 도입될 수 있다. 따라서, 한 실시양태에서 변형된 CH3 도메인을 포함하는 Fc 영역(본원에서 사용된 바와 같이, "Fc 영역" 및 유사한 용어는 CH3 도메인의 적어도 일부를 포함하는 임의의 중쇄 불변 영역 도메인을 포괄함)을 포함하는 분자, 구체적으로 폴리펩티드, 보다 구체적으로 면역글로불린(예를 들면, 항체) 및 다른 결합 단백질이 제공된다. 변형된 CH3 도메인(예를 들면, 하나 이상의 아미노산 삽입, 결실, 치환 또는 재배열을 포함하는 CH3 도메인)을 포함하는 Fc 영역을 포함하는 분자는 본원에서 "Fc 변이체", "이종이량체" 또는 "이종다량체"로서 지칭된다. 본 Fc 변이체는 이종이량체 Fc 변이체 또는 영역을 발생시키기 위해 비대칭적으로 변형된 CH3 도메인을 포함한다. 각각의 Fc 영역이 1개의 쇄 A 및 1개의 쇄 B 폴리펩티드를 포함하는 한, Fc 영역은 상호교환적으로 사용될 수 있는 2개의 중쇄 불변 도메인 폴리펩티드(쇄 A 및 쇄 B)로 구성된다. 2개의 변형된 CH3 도메인이 Fc 변이체를 형성하는 경우 아미노산 변형은 비대칭 방식으로 CH3 내로 도입되어 이종이량체를 발생시

킨다(예를 들면, 표 1 참조). 본원에서 사용된 바와 같이, 비대칭 아미노산 변형은 임의의 변형이고, 이때 한 폴리펩티드(예를 들면, "쇄 A") 상의 특정 위치에 존재하는 아미노산은 이중이량체 또는 Fc 변이체의 동일 위치에 존재하는 제2 폴리펩티드(예를 들면, "쇄 B") 상의 아미노산과 상이하다. 이것은 2개의 아미노산들 중 하나만이 변형된 결과일 수 있거나, 아미노산 둘다가 Fc 변이체의 쇠 A 및 쇠 B로부터의 2개의 상이한 아미노산으로 변형된 결과일 수 있다. 변이체 CH3 도메인은 하나 이상의 비대칭 아미노산 변형을 포함하는 것으로 이해된다.

[0044] 본 설명에서, 달리 표시되어 있지 않은 한, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비 범위 또는 정수 범위는 언급된 범위 내의 임의의 정수 및 적절한 경우 이들의 분수(예컨대, 정수의 십분의 일 및 백분의 일)의 값을 포함하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 달리 표시되어 있지 않은 한, "약"은 표시된 범위, 값, 순서 또는 구조의 $\pm 10\%$ 를 의미한다. 문맥이 달리 표시하거나 명시하지 않은 한, 본원에서 사용된 바와 같은 용어 "한" 및 "하나"는 나열된 성분들 중 "하나 이상"을 의미하는 것임을 이해해야 한다. 대안적 용어(예를 들면, "또는")의 사용은 대안들 중 어느 하나, 둘다 또는 이들의 임의의 조합을 의미하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "함유한다" 및 "포함한다"는 동의어로 사용된다. 또한, 본원에 기재된 구조들 및 치환기들(예를 들면, 변이체 CH3 도메인들)의 다양한 조합으로부터 유도된 개별 단일 쇠 폴리펩티드 또는 이중이량체는 각각의 단일 쇠 폴리펩티드 또는 이중이량체가 개별적으로 기재된 것과 동일한 정도로 본원에 의해 개시된다는 것을 이해해야 한다. 따라서, 개별 단일 쇠 폴리펩티드 또는 이중이량체를 형성하기 위한 특정 성분의 선택은 본 개시내용의 범위 내에 있다.

[0045] "제1 폴리펩티드"는 제2 폴리펩티드와 결합될 임의의 폴리펩티드이고 본원에서 "쇄 A"로도 지칭된다. 제1 폴리펩티드와 제2 폴리펩티드는 "경계면"에서 만난다. "제2 폴리펩티드"는 "경계면"을 통해 제1 폴리펩티드와 결합될 임의의 폴리펩티드이고 본원에서 "쇄 B"로도 지칭된다. "경계면"은 제2 폴리펩티드의 경계면에서 하나 이상의 "접촉" 아미노산 잔기와 상호작용하는 제1 폴리펩티드 내의 "접촉" 아미노산 잔기를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 경계면은 바람직하게는 IgG 항체, 가장 바람직하게는 인간 IgG₁ 항체로부터 유래된 Fc 영역의 CH3 도메인을 포함한다.

[0046] 본원에서 사용된 바와 같이, "단리된" 이중다량체는 그의 천연 세포 배양 환경의 성분으로부터 확인되고 분리되고/되거나 회수된 이중다량체를 의미한다. 그의 천연 환경의 오염 성분은 이중다량체에 대한 진단 또는 치료 용도를 방해할 물질이고 효소, 호르몬 및 다른 단백질성 또는 비단백질성 용질을 포함할 수 있다.

[0047] 변이체 Fc 이중이량체는 일반적으로 실질적인 균질성까지 정제된다. 어구 "실질적으로 균질한", "실질적으로 균질한 형태" 및 "실질적인 균질성"은 생성물이 원치 않는 폴리펩티드 조합물(예를 들면, 동종이량체)로부터 유래된 부산물을 실질적으로 갖지 않는다는 것을 표시하기 위해 사용된다. 순도의 관점에서 표현될 때, 실질적인 균질성은 부산물의 양이 10%를 초과하지 않고 바람직하게는 5% 미만, 보다 바람직하게는 1% 미만, 가장 바람직하게는 0.5% 미만이라는 것을 의미하고, 이때 백분율은 중량을 기준으로 한 것이다.

[0048] 본원에서 상이하게 명시적으로 정의되어 있지 않은 한, 항체 기술 분야의 당업자에 의해 이해되는 용어들은 당업계에서 획득된 의미가 각각 부여받는다. 항체는 가변 영역, 힌지(hinge) 영역 및 불변 도메인을 갖는 것으로 공지되어 있다. 번역글로불린 구조 및 기능은 예를 들면, 문헌(Harlow et al., Eds., Antibodies: A Laboratory Manual, Chapter 14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, 1988))에서 검토되어 있다.

[0049] 야생형 동종이량체로부터 변이체 Fc 이중이량체의 디자인은 안정성 대 특이성의 균형을 이룸으로써 단백질 조각의 면에서 양성 및 음성 디자인의 개념에 의해 예시되고, 이때 돌연변이는 폴리펩티드가 세포 배양 조건에서 발현될 때 동종이량체 형성에 비해 이중이량체 형성을 유도할 목적으로 도입된다. 음성 디자인 방법은 용적이 큰 측쇄를 한 쇠 상에 도입하고 작은 측쇄를 반대 쇠 상에 도입함으로써, 예를 들면, 제넨테크(Genentech)에 의해 개발된 낚스-인투-홀스(knobs-into-holes) 방법(Ridgway JB, Presta LG, Carter P. 'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization. Protein Eng. 1996 Jul;9(7):617-21; Atwell S, Ridgway JB, Wells JA, Carter P. Stable heterodimers from remodeling the domain interface of a homodimer using a phage display library. J Mol Biol. 270(1):26-35 (1997))을 이용함으로써, 또는 동종이량체 형성의 반발을 초래하는 정전기 조작, 예를 들면, 암젠(Amgen)에 의해 개발된 정전기 조종 방법(Gunashekar K, et al. Enhancing antibody Fc heterodimer formation through electrostatic steering effects: applications to bispecific molecules and monovalent IgG. JBC 285 (25): 19637-19646 (2010))을 이용함으로써 동종이량체의 형성에 불리한 상호작용을 최대화한다. 이들 2개 예에서, 이중이량체 형성을 유도하기 위해 음성 디자인 비대칭 점 돌연변이가 야생형 CH3 도메인 내로 도입되었다.

최근에, Fc 이종이량체를 개발하기 위해 음성 디자인 방법만이 이용되어 왔다. 공개된 결과는 음성 디자인 방법만을 이용하여 디자인한 이종이량체가 95% 초과와 이종이량체 순도와 함께 높은 특이성을 나타내지만 복합체를 상당히 불안정화시킨다는 것을 보여준다(상기). 이들 음성 디자인 이종이량체는 69℃ 이하의 변형된 CH3 도메인의 용융 온도를 보유하고 야생형에 비해 추가 이황화 결합을 갖지 않는다. 하기 표 A를 참조한다.

[표 A]

공개된 Fc 이종이량체 항체

	쇄	조작 방법	공급원	순도	Tm °C
야생형	-				81-83
	-				
대조군 4	Y349C_T366S_L368A_Y407V	놉스-인트루-홀스 플러스 이황화물	제넨테크 (Merchant et al.)	95%	>77**
	S354C_T366W				
대조군 3	K409D_K392D	정전기 조종	암젠 (Gunasekaran et al.)	<80%	NP
	D399K				
대조군 2	T366S_L368A_Y407V	놉스-인트루-홀스	제넨테크 (Atwell et al.)	95%	69
	T366W				
대조군 1	K409D_K392D	정전기 조종	암젠 (Gunasekaran et al.)	100%*	67
	D399K_E356K				
대조군 5	IgG-IgA 키메라	가닥 교환	EMD 세로노(Serono) (Muda et al.)	>90%	68

* 본 발명자들은 문헌에서 이미 보고된 바와 같은 100%가 아니라 본 발명자들의 분석 시스템에서 대조군 1에 대한 90% 초과와 순도를 관찰하였다.

** 본 발명자들은 본 발명자들의 분석 시스템에서 대조군 4에 대한 77℃ 초과와 Tm을 관찰하였고 이 변이체에 대한 Tm은 문헌에 공개되어 있지 않다.

NP - 대조군 3에 대한 Tm은 공개되어 있지 않고 본 발명자들의 분석 시스템에서 시험되지 않았다. 문헌에 보고된 값들이 사용된 분석 시스템에 따라 달라지기 때문에 야생형 IgG1에 대한 용융 온도는 81 내지 83의 범위로서 표시되고, 본 발명자들은 본 발명자들의 분석 시스템에서 81.5℃의 값을 보고한다.

음성 디자인과 대조적으로, 단백질을 조작하기 위해 이용되는 일반적인 개념은 양성 디자인이다. 이 경우, 아미노산 변형은 단백질 내의 또는 단백질 사이의 유리한 상호작용을 최대화하기 위해 폴리펩티드 내로 도입된다. 이 방법은 동종이량체에 대한 영향을 무시하면서 원하는 이종이량체를 특이적으로 안정화시키는 다수의 돌연변이를 도입할 때, 순 효과가 동종이량체에 비해 원하는 이종이량체 상호작용에 대한 보다 우수한 특이성 및 이로 인한 보다 높은 이종이량체 특이성일 것이라고 가정한다. 양성 디자인 방법은 원하는 단백질 상호작용의 안정성을 최적화하지만 90% 초과와 특이성을 좀처럼 달성하지 못한다는 것이 단백질 조작의 면에서 이해된다(Havranek JJ & Harbury PB. Automated design of specificity in molecular recognition. Nat Struct Biol. 10(1):45-52 (2003); Bolon DN, Grant RA, Baker TA, Sauer RT. Specificity versus stability in computational protein design. Proc Natl Acad Sci U S A. 6;102(36):12724-9 (2005); Huang PS, Love JJ, Mayo SL. A de novo designed protein protein interface Protein Sci. 16(12):2770-4 (2007)). 따라서, 지금까지, 치료 항체 제조 및 개발을 위해 특이성이 안정성보다 더 중요하였기 때문에 양성 디자인 방법은 Fc 이종이량체를 디자인하

는 데에 이용되지 않았다. 또한, 유리한 양성 디자인 돌연변이가 예측되기 어려울 수 있다. 안정성, 예컨대, 추가 이황화 결합을 개선하기 위한 다른 방법이 Fc 이종이량체의 안정성을 개선하기 위해 시도되었으나 상기 분자에 대한 개선은 제한적으로 성공적이었다(표 A 참조). 이것은 모든 조작된 Fc CH3 도메인 이황화 결합들이 용매에 노출되고 이것이 이황화 결합의 수명을 단축시킴으로써 특히 조작된 CH3 도메인이 (이황화 결합의 부재 하에서 69°C의 T_m을 갖는 대조군 4에서와 같이) 추가 이황화 결합의 부재 하에서 70°C 미만의 T_m을 가질 때 이종이량체의 장기간 안정성에 대한 상당한 영향을 미치기 때문일 수 있다(대조군 2 참조). CH3 도메인의 (용융 온도로서 측정된) 고유 안정성이 이황화 결합의 부재 하에서 70°C 이상인 한, 특히 CH3 도메인의 (용융 온도로서 측정된) 고유 안정성이 이황화 결합의 부재 하에서 72°C 이상일 때, 안정성을 개선하기 위한 다른 방법, 예컨대, 이황화 결합도 본 Fc 변이체와 함께 이용될 수 있다는 것이 고려된다.

[0053] 따라서, 본 발명자들은 안정하고 고도로 특이적인 이종이량체를 형성하는, Fc 이종이량체를 디자인하는 신규 방법을 본원에서 개시한다. 이 디자인 방법은 구조적 모델링 및 컴퓨터를 이용한 모델링에 의해 안내된 단백질 조작 기법과 함께 음성 디자인 방법 및 양성 디자인 방법 둘다를 조합한다. 이 강력한 방법은 본 발명자들이 IgG1 CH3 도메인 내의 돌연변이들의 신규 조합을 디자인할 수 있게 하였고, 이때 표준 세포 배양 조건만을 이용하여 동종이량체에 비해 90% 초과와 순도를 갖는 이종이량체를 형성하였고, 생성된 이종이량체는 70°C 이상의 용융 온도를 가졌다. 예시적 실시양태에서, Fc 변이체 이종이량체는 73°C 이상의 용융 온도 및 98% 초과와 순도를 갖는다. 다른 예시적 실시양태에서, Fc 변이체 이종이량체는 75°C 이상의 용융 온도 및 90% 초과와 순도를 갖는다.

[0054] 일부 실시양태에서, 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이종다량체가 제공되고, 이때 상기 이종이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70°C 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다. 본원에서 사용된 바와 같이, "증가된 안정성" 또는 "안정한 이종이량체"는 이종이량체 형성에 있어서 약 70°C 이상의 용융 온도를 갖는 변이체 CH3 도메인을 의미한다. 또한, 용어 "이종이량체 형성을 촉진하기 위한"은 본원에서 동종이량체 형성에 비해 90% 초과와 이종이량체 형성을 발생시키는 CH3 도메인 내의 아미노산 돌연변이를 의미하는 것으로 이해된다.

[0055] 추가 실시양태에서, 증가된 안정성은 추가 이황화 결합의 부재 하에서 존재한다. 특히, 증가된 안정성은 CH3 도메인 내의 추가 이황화 결합의 부재 하에서 존재한다. 한 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 야생형 CH3 도메인에 비해 추가 이황화 결합을 포함하지 않는다. 대안적 실시양태에서, 변이체 CH3은 야생형 CH3 도메인에 비해 하나 이상의 이황화 결합을 포함하되, 상기 변이체 CH3은 이황화 결합의 부재 하에서 70°C 이상의 용융 온도를 갖는다. 한 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 야생형 CH3 도메인에 비해 하나 이상의 이황화 결합을 포함하고, 상기 변이체 CH3 도메인은 약 77.5°C 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다. 한 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 야생형 CH3 도메인에 비해 하나 이상의 이황화 결합을 포함하고, 상기 변이체 CH3 도메인은 약 78°C 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 야생형 CH3 도메인에 비해 하나 이상의 이황화 결합을 포함하고, 상기 변이체 CH3 도메인은 약 78°C 초과, 약 78.5°C 초과, 약 79°C 초과, 약 79.5°C 초과, 약 80°C 초과, 약 80.5°C 초과 또는 약 81°C 초과와 용융 온도(T_m)를 갖는다.

[0056] 한 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 약 70°C 초과, 약 70.5°C 초과, 약 71°C 초과, 약 71.5°C 초과, 약 72°C 초과, 약 72.5°C 초과, 약 73°C 초과, 약 73.5°C 초과, 약 74°C 초과, 약 74.5°C 초과, 약 75°C 초과, 약 75.5°C 초과, 약 76°C 초과, 약 76.5°C 초과, 약 77°C 초과, 약 77.5°C 초과, 약 78°C 초과, 약 78.5°C 초과, 약 79°C 초과, 약 79.5°C 초과, 약 80°C 초과, 약 80.5°C 초과 또는 약 81°C 초과와 용융 온도를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 약 70°C, 약 70.5°C, 약 71°C, 약 71.5°C, 약 72°C, 약 72.5°C, 약 73°C, 약 73.5°C, 약 74°C, 약 74.5°C, 약 75°C, 약 75.5°C, 약 76°C, 약 76.5°C, 약 77°C, 약 77.5°C, 약 78°C, 약 78.5°C, 약 79°C, 약 79.5°C, 약 80°C, 약 80.5°C 또는 약 81°C의 용융 온도를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 약 70°C 내지 약 81°C, 약 70.5°C 내지 약 81°C, 약 71°C 내지 약 81°C, 약 71.5°C 내지 약 81°C, 약 72°C 내지 약 81°C, 약 72.5°C 내지 약 81°C, 약 73°C 내지 약 81°C, 약 73.5°C 내지 약 81°C, 약 74°C 내지 약 81°C, 약 74.5°C 내지 약 81°C, 약 75°C 내지 약 81°C, 약 75.5°C 내지 약 81°C, 약 76°C 내지 약 81°C, 약 76.5°C 내지 약 81°C, 약 77°C 내지 약 81°C, 약 77.5°C 내지 약 81°C, 약 78°C 내지 약 81°C, 약 78.5°C 내지 약 81°C, 또는 약 79°C 내지 약 81°C의 용융 온도를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 약 71°C 내지 약 76°C, 약 72°C 내지 약 76°C, 약 73°C 내지 약 76°C, 또는 약 74°C 내지 약 76°C의 용융 온도를 갖는다.

[0057] 개선된 안정성 이외에, 이종이량체 Fc 영역은 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는

변이체 CH3 도메인을 포함한다. 이들 아미노산 돌연변이는 동종이량체 형성에 비해 이종이량체 형성을 촉진하는 것으로 이해된다. 동종이량체 형성에 비해 이 이종이량체 형성은 본원에서 "순도", "특이성", "이종이량체 순도" 또는 "이종이량체 특이성"으로서 총칭된다. 이종이량체 순도는 이종이량체 종의 선택적 정제 전에 표준 세포 배양 조건 하에서 용액에서 형성된 동종이량체 종에 비해 형성된 원하는 이종이량체의 백분율을 의미하는 것으로 이해된다. 예를 들면, 90%의 이종이량체 순도는 용액 종의 이량체 종의 90%가 원하는 이종이량체라는 것을 표시한다. 한 실시양태에서, Fc 변이체 이종이량체는 약 90% 초과, 약 91% 초과, 약 92% 초과, 약 93% 초과, 약 94% 초과, 약 95% 초과, 약 96% 초과, 약 97% 초과, 약 98% 초과 또는 약 99% 초과 또는 약 100%의 순도를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체 이종이량체는 약 90%, 약 91%, 약 92%, 약 93%, 약 94%, 약 95%, 약 96%, 약 97%, 약 98%, 약 99% 또는 약 100%의 순도를 갖는다.

[0058] 특정 실시양태에서, 단리된 이종다량체는 이종이량체 Fc 영역을 포함하고, 이때 상기 이종이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70℃ 이상의 용융 온도(Tm)를 갖고, 생성된 이종이량체는 90% 초과 또는 약 90% 초과, 약 91% 초과, 약 92% 초과, 약 93% 초과, 약 94% 초과, 약 95% 초과, 약 96% 초과, 약 97% 초과, 약 98% 초과 또는 약 99% 초과 또는 약 100%의 순도를 갖는다. 한 양태에서, 생성된 Fc 변이체 이종이량체는 90% 초과 또는 약 90% 초과, 약 91% 초과, 약 92% 초과, 약 93% 초과, 약 94% 초과, 약 95% 초과, 약 96% 초과, 약 97% 초과, 약 98% 초과 또는 약 99% 초과 또는 약 100%의 순도를 갖는다. 추가 양태에서, 변이체 CH3 도메인은 70℃ 이상의 용융 온도를 갖고, 생성된 Fc 변이체 이종이량체는 약 90% 초과, 약 91% 초과, 약 92% 초과, 약 93% 초과, 약 94% 초과, 약 95% 초과, 약 96% 초과, 약 97% 초과, 약 98% 초과 또는 약 99% 초과 또는 약 100%의 순도를 갖는다.

[0059] 개선된 안정성 및 순도를 갖는 이들 Fc 변이체들을 디자인하기 위해, 본 발명자들은 컴퓨터를 이용한 디자인 및 실험 스크리닝의 반복 과정을 이용하여 양성 디자인 방법과 음성 디자인 방법의 가장 성공적인 조합을 선택하였다(도 24 참조).

[0060] 구체적으로, 초기 디자인 단계에서, 상이한 음성 디자인 Fc 변이체 이종이량체들을 제조하였고 실시예 1 내지 3에 기재된 바와 같이 발현 및 안정성에 대해 시험하였다. 초기 디자인 단계는 Fc 변이체 이종이량체 AZ1 내지 AZ16을 포함하였다(표 1 참조). 낮은 안정성(예를 들면, 71℃ 미만의 Tm)을 가질 것으로 예측되었던 음성 디자인 Fc 변이체 이종이량체들의 이 초기 세트로부터 90% 초과 또는 약 90% 초과, 약 91% 초과, 약 92% 초과, 약 93% 초과, 약 94% 초과, 약 95% 초과, 약 96% 초과, 약 97% 초과, 약 98% 초과 또는 약 99% 초과 또는 약 100%의 순도를 갖는 Fc 변이체 이종이량체들을 추가 개발을 위해 선택하였다. 이것은 Fc 변이체 이종이량체 AZ6, AZ8 및 AZ15를 포함하였다. 제2 디자인 단계에서, 선택된 Fc 변이체 이종이량체들을 상세한 컴퓨터를 이용한 분석 및 구조적 분석 후 양성 디자인 방법을 이용하여 추가로 변형시켜 안정성 및 순도 둘다를 유도하였다. 선택된 Fc 변이체 이종이량체들(AZ6, AZ8 및 AZ15)을 컴퓨터를 이용한 방법 및 포괄적인 구조-기능 분석으로 각각 분석하여, 이들 Fc 변이체가 야생형 Fc 동종이량체의 안정성(IgG1의 경우 81℃임)보다 더 낮은 안정성을 갖는 구조적 이유를 확인하였다. Fc 변이체 이종이량체 및 Tm 값의 목록에 대해서는 표 4를 참조한다.

[0061] 일부 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 AZ1, AZ2, AZ3, AZ4, AZ5, AZ6, AZ7, AZ8, AZ9, AZ10, AZ11, AZ12, AZ13, AZ14, AZ15 및 AZ16으로부터 선택된다. 선택된 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 AZ6, AZ8 또는 AZ15이다.

[0062] 컴퓨터를 이용한 수단 및 구조-기능 분석은 분자 동역학 분석(MD), 측쇄/주쇄 재팩킹, 지식 기초 잠재력(KBP), 캐비티 및 (소수성) 팩킹 분석(LJ, CCSD, SASA, dSASA(탄소/모든 원자)), 정전기-GB 계산 및 커플링 분석을 포함하였으나 이들로 한정되지 않았다(컴퓨터를 이용한 방법의 개요에 대해서는 도 24 참조).

[0063] 본 발명자들의 단백질 조작 방법의 한 양태는 X-선 결정학으로부터 유도된 Fc IgG 단백질의 구조적 정보와, CH3 도메인의 야생형 및 변이체 형태의 컴퓨터를 이용한 모델링 및 시뮬레이션의 조합에 의존하였다. 이것은 본 발명자들이 개별 아미노산의 잠재적 역할 및 그들의 협동 작용에 대한 신규 구조적 및 물리화학적 통찰을 획득할 수 있게 하였다. 다수의 변이체 CH3 도메인들로부터 수득된 이들 구조적 및 물리화학적 통찰은 그들의 안정성 및 순도에 관한 수득된 실험 데이터와 함께 본 발명자들이 Fc 동종이량체와 비교된 Fc 이종이량체의 순도 및 안정성과 시뮬레이션된 구조적 모델 사이의 관계에 대한 이해를 발전시키는 데에 도움을 주었다. 본 발명자들의 시뮬레이션을 실행하기 위해, 본 발명자들은 완전하고 현실적인 모델을 구축하고 IgG1 항체의 야생형 Fc 구조의 질을 개량함으로써 시작하였다. X-선 결정학으로부터 유도된 단백질 구조는 생리학적 조건 하에서 수성 매질 중의 단백질의 일부 특징에 대한 세부사항 면에서 결여되어 있고, 본 발명자들의 개량 절차는 이들 한계점들을 다루었다. 이들은 단백질 구조의 결실 영역(중중 단백질의 유연한 부분, 예컨대, 루프 및 몇몇 잔기 측쇄)의 구축, 중성 잔기 및 하전된 잔기의 양성자화 상태의 평가 및 정의, 및 상기 단백질과 결합된 잠재적 기능적으로

관련된 물 분자의 배치를 포함한다.

- [0064] 분자 동역학(MD) 알고리즘은 본 발명자들이 수성 환경에서 Fc 동종이량체 및 변이체 CH3 도메인의 고유 동역학 성질을 평가하기 위해 단백질 구조를 시뮬레이션함으로써 사용한 하나의 수단이다. 분자 동역학 시뮬레이션은 단백질 및 이의 국소 환경 내의 모든 원자 물질들, 이 경우 Fc 및 이의 주변 물 분자를 구성하는 원자들 사이에 작용하는 상호작용 및 힘으로부터 발생하는 움직임으로부터 비롯된 분자의 동역학 궤도를 추적한다. 분자 동역학 시뮬레이션 후, 상기 궤도의 다양한 양태를 분석하여 Fc 동종이량체 및 변이체 Fc 이종이량체의 구조적 및 동역학적 특징에 대한 통찰을 획득하였고, 본 발명자들은 이 통찰을 이용하여 상기 분자의 순도 및 안정성 둘다를 개선하는 특정 아미노산 돌연변이를 확인하였다.
- [0065] 따라서, 발생된 MD 궤도를 방법, 예컨대, 주 성분 분석을 이용하여 연구함으로써 Fc 구조에서 고유 저 주파수 움직임 방식을 밝혔다. 이것은 단백질의 잠재적 입체구조적 하위상태에 대한 통찰을 제공한다(도 32 참조). Fc 영역에서 쇠 A와 B 사이의 매우 중요한 단백질-단백질 상호작용은 CH3 도메인의 경계면에서 일어나지만, 본 발명자들의 시뮬레이션은 이 경계면이 서로에 대해 CH2 도메인들의 N-말단의 "개방" 및 "폐쇄"를 수반하는 움직임으로 한지로서 작용한다는 것을 보여주었다. CH2 도메인은 도 16에서 볼 수 있는 바와 같이 이 말단에서 FcGR과 상호작용한다. 따라서, 이론에 구속받고자 하는 것은 아니지만, CH3 경계면에서 아미노산 돌연변이의 도입이 Fc의 N-말단에서 개방/폐쇄 움직임의 크기 및 성질에 영향을 미침으로써 Fc가 FcGR과 상호작용하는 방법에 영향을 미치는 듯하다. 실시예 4 및 표 5를 참조한다.
- [0066] 또한, 발생된 MD 궤도를 연구함으로써 Fc 구조에서 특정 아미노산 잔기 위치들의 돌연변이성을 이들의 유연성의 프로파일링 및 이들의 환경의 분석에 기초하여 확인하였다. 이 알고리즘은 본 발명자들이 단백질 구조 및 기능에 영향을 미칠 수 있는 잔기를 확인할 수 있게 함으로써 변이체 CH3 도메인의 후속 디자인 단계를 위한 잔기 특징 및 돌연변이성에 대한 독특한 통찰을 제공하였다. 또한, 이 분석은 본 발명자들이 다수의 시뮬레이션을 비교하고 프로파일링 후 이상치(outliers)에 기초하여 돌연변이성을 평가할 수 있게 하였다.
- [0067] 또한, 발생된 MD 궤도를 연구함으로써 단백질에서 상호관련된 잔기 움직임 및 잔기들 사이의 커플링의 결과로서 잔기들의 네트워크의 형성을 확인하였다. Fc 구조 내의 잔기들의 동역학적 상관관계 및 네트워크의 발견은 동역학적 물질로서 단백질을 이해하고 멀리 떨어져 있는 부위들에서의 돌연변이들의 효과에 대한 통찰을 발전시키는 데에 있어서 매우 중요한 단계이다. 예를 들면, 실시예 6을 참조한다.
- [0068] 따라서, 본 발명자들은 돌연변이의 부위의 국소 환경에 대한 돌연변이의 영향을 상세히 연구하였다. 쇠 A와 B 사이의 CH3 경계면에서 잘 팩킹된 코어의 형성은 안정한 Fc 구조에서 상기 2개의 쇠들의 자연발생적 페어링을 위해 매우 중요하다. 우수한 팩킹은 접촉 기들 사이의 유리한 상호작용과 커플링된 상호작용하는 분자 파트너들 사이의 강한 구조적 상보성의 결과이다. 유리한 상호작용은 용매 노출로부터 잘 제거된 파묻힌 소수성 접촉으로부터 발생되고/되거나 친수성 극성 기들 사이의 상보적 정전기 접촉의 형성으로부터 발생된다. 이들 소수성 접촉 및 친수성 접촉은 CH3 경계면에서 이량체 형성의 자유 에너지에 엔트로피적으로 및 엔탈피적으로 기여한다. 본 발명자들은 다양한 알고리즘을 이용하여 쇠 A와 쇠 B 사이의 CH3 경계면에서 팩킹을 정확하게 모델링한 후, 다수의 관련된 물리화학적 성질의 점수를 매겨 상기 경계면의 열역학적 성질을 평가한다.
- [0069] 본 발명자들은 유연성 주쇄를 포함하는 다수의 단백질 팩킹 방법을 이용하여 본 발명자들이 컴퓨터를 이용하여 스크리닝한 많은 수의 변이체들에 대한 모델 구조를 최적화하고 준비하였다. 팩킹 후, 본 발명자들은 접촉 밀도, 충돌 점수, 수소 결합, 소수성 및 정전기를 포함하는 다수의 관점을 평가하였다. 용매화 모델의 이용은 본 발명자들이 용매 환경의 효과를 보다 정확하게 다루고 단백질 내의 특정 위치의 돌연변이 후 자유 에너지 차이를 대안적 잔기 유형과 대조할 수 있게 하였다. 접촉 밀도 및 충돌 점수는 효과적인 단백질 팩킹의 매우 중요한 양태인 상보성의 척도를 제공한다. 이들 스크리닝 절차는 쌍별 잔기 상호작용 에너지 및 엔트로피 계산에 의존하는 지식 기초 잠재력 또는 커플링 분석 방법의 적용에 기초한다.
- [0070] 이 포괄적인 인-실리코 분석은 경계면 핫스팟(hotspots), 비대칭의 부위, 캐비티 및 잘 팩킹되지 않은 영역, 개별 부위의 구조적 동역학 및 국소 비폴딩의 부위에 대해 야생형과 비교된 각각의 Fc 변이체의 차이의 상세한 이해를 제공하였다. 기재된 컴퓨터를 이용한 분석의 이들 조합된 결과들은 보다 낮은 안정성(예를 들면, 68℃의 Tm) 및/또는 90% 미만 순도의 보다 낮은 특이성에 대한 조합된 원인인면서 최적화되지 않은 특정 잔기, 서열/구조적 모티프 및 캐비티를 확인시켜주었다. 제2 디자인 단계에서, 본 발명자들은 추가 점 돌연변이로 이들 가설을 구체적으로 다루기 위해 표적화된 양성 디자인을 이용하였고 전술된 방법 및 분석을 이용하여 인-실리코 조작으로 이들을 시험하였다(도 24 참조). 단계 2에서 각각 표적화된 디자인에 대한 안정성 및 순도를 개선하기 위해 디자인된 Fc 변이체 이종이량체(Fc 변이체 이종이량체 AZ17 내지 AZ101)를 실시예 1 내지 4에 기재된 바와

같이 발현 및 안정성에 대해 실험적으로 검증하였다.

- [0071] 일부 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 AZ17, AZ18, AZ19, AZ20, AZ21, AZ22, AZ23, AZ24, AZ25, AZ26, AZ27, AZ28, AZ29, AZ30, AZ31, AZ32, AZ33, AZ34, AZ35, AZ36, AZ37, AZ38, AZ39, AZ40, AZ41, AZ42, AZ43, AZ44, AZ45, AZ46, AZ47, AZ48, AZ49, AZ50, AZ51, AZ52, AZ53, AZ54, AZ55, AZ56, AZ57, AZ58, AZ59, AZ60, AZ61, AZ62, AZ63, AZ64, AZ65, AZ66, AZ67, AZ68, AZ69, AZ70, AZ71, AZ72, AZ73, AZ74, AZ75, AZ76, AZ77, AZ78, AZ79, AZ80, AZ81, AZ82, AZ83, AZ84, AZ85, AZ86, AZ87, AZ88, AZ89, AZ90, AZ91, AZ92, AZ93, AZ94, AZ95, AZ96, AZ97, AZ98, AZ99, AZ100 또는 AZ101이다. 예시적 실시양태에서, 상기 변이체 CH3 도메인은 AZ17, AZ18, AZ19, AZ20, AZ21, AZ22, AZ23, AZ24, AZ25, AZ26, AZ27, AZ28, AZ29, AZ30, AZ31, AZ32, AZ33, AZ34, AZ38, AZ42, AZ43, AZ44, AZ45, AZ46, AZ47, AZ48, AZ49, AZ50, AZ52, AZ53, AZ54, AZ58, AZ59, AZ60, AZ61, AZ62, AZ63, AZ64, AZ65, AZ66, AZ67, AZ68, AZ69, AZ70, AZ71, AZ72, AZ73, AZ74, AZ75, AZ76, AZ77, AZ78, AZ79, AZ81, AZ82, AZ83, AZ84, AZ85, AZ86, AZ87, AZ88, AZ89, AZ91, AZ92, AZ93, AZ94, AZ95, AZ98, AZ99, AZ100 또는 AZ101이다. 특정 실시양태에서, 상기 변이체 CH3 도메인은 AZ33 또는 AZ34이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 변이체 CH3 도메인은 AZ70 또는 AZ90이다.
- [0072] 예시적 실시양태에서, 상기 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366I, K392M 및 T394W를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y, S400E, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366I, N390R, K392M 및 T394W를 포함한다.
- [0073] 컴퓨터를 이용한 구조-기능 분석, 표적화된 조작 및 실험 검증의 이 반복 과정을 이용하여 후속 디자인 단계에서 표 1에 나열된 남은 Fc 변이체들을 디자인하였고 70℃ 초과와 CH3 도메인 용융 온도와 함께 90% 초과와 순도 및 증가된 안정성을 갖는 Fc 변이체 이중이량체를 발생시켰다. 일부 실시양태에서, 상기 Fc 변이체는 AZ1 내지 AZ136으로부터 선택된 아미노산 돌연변이를 포함한다. 추가 실시양태에서, Fc 변이체는 표 4에 나열된 Fc 변이체들로부터 선택된 아미노산 돌연변이를 포함한다.
- [0074] 제1 디자인 단계 및 제2 디자인 단계로부터 2개의 코어 스카폴드, 즉 스카폴드 1 및 스카폴드 2가 확인되었고, 이때 추가 아미노산 변형이 Fc 변이체 이중이량체의 순도 및 안정성을 미세하게 조정하기 위해 이들 스카폴드들 내로 도입되었다. AZ8, AZ17 내지 AZ62 및 표 6에 나열된 변이체들을 포함하는 스카폴드 1의 개발에 대한 상세한 설명에 관해서는 실시예 5를 참조한다. AZ15, AZ63 내지 AZ101 및 표 7에 나열된 변이체들을 포함하는 스카폴드 2의 개발에 대한 상세한 설명에 관해서는 실시예 6을 참조한다.
- [0075] 스카폴드 1의 코어 돌연변이는 L351Y_F405A_Y407V/T394W를 포함한다. 스카폴드 1a는 아미노산 돌연변이 T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V를 포함하고, 스카폴드 1b는 아미노산 돌연변이 T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V를 포함한다. 실시예 5를 참조한다.
- [0076] 일부 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T394W를 포함한다. 한 양태에서, 변이체 CH3 도메인은 위치 F405 및/또는 K392에서 점 돌연변이를 추가로 포함한다. 위치 K392에서의 이들 돌연변이는 K392V, K392M, K392R, K392L, K392F 또는 K392E를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 위치 F405에서의 이들 돌연변이는 F405I, F405M, F405S, F405V 또는 F405W를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 또 다른 양태에서, 변이체 CH3 도메인은 위치 T411 및/또는 S400에서 점 돌연변이를 추가로 포함한다. 위치 T411에서의 이들 돌연변이는 T411N, T411R, T411Q, T411K, T411D, T411E 또는 T411W를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 위치 S400에서의 이들 돌연변이는 S400E, S400D, S400R 또는 S400K를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T394W를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드 및/또는 제2 폴리펩티드는 위치 T366 및/또는 L368에서 추가 아미노산 변형을 포함한다. 위치 T366에서의 이들 돌연변이는 T366A, T366I, T366L, T366M, T366Y, T366S, T366C, T366V 또는 T366W를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 예시적 실시양태에서, 위치 T366에서의 아미노산 돌연변이는 T366I이다. 또 다른 예시적 실시양태에서, 위치 T366에서의 아미노산 돌연변이는 T366L이다. 위치 L368에서의 돌연변이는 L368D, L368R, L368T, L368M, L368V, L368F, L368S 및 L368A를

포함하나 이들로 한정되지 않는다.

- [0077] 일부 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366L 및 T394W를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366I 및 T394W를 포함한다.
- [0078] 일부 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366L, K392M 및 T394W를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y, F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366I, K392M 및 T394W를 포함한다.
- [0079] 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366L, K392M 및 T394W를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366I, K392M 및 T394W를 포함한다.
- [0080] 일부 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366L 및 T394W를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 F405A 및 Y407V를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366I 및 T394W를 포함한다.
- [0081] 예시적 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 74℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 74℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖고 상기 이중이량체는 약 98% 이상의 순도를 갖는다.
- [0082] 일부 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70℃ 초과 용융 온도(T_m)를 갖고 상기 변이체 CH3 도메인은 표 6으로부터 선택된다.
- [0083] 스카폴드 2의 코어 돌연변이는 L351Y_Y407A/T366A_K409F를 포함한다. 스카폴드 2a는 아미노산 돌연변이 L351Y_Y407A/T366V_K409F를 포함하고, 스카폴드 2b는 아미노산 돌연변이 Y407A/T366A_K409F를 포함한다. 실시예 6을 참조한다.
- [0084] 일부 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함한다. 한 양태에서, 변이체 CH3 도메인은 위치 T366, L351 및 Y407에서 점 돌연변이를 추가로 포함한다. 위치 T366에서의 이들 돌연변이는 T366I, T366L, T366M, T366Y, T366S, T366C, T366V 또는 T366W를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 특정 실시양태에서, 위치 T366에서의 돌연변이는 T366V이다. 위치 L351에서의 돌연변이는 L351I, L351D, L351R 또는 L351F를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 위치 Y407에서의 돌연변이는 Y407V 또는 Y407S를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 표 1, 표 4 및 실시예 6에 나열된 CH3 변이체 AZ63 내지 AZ70을 참조한다.
- [0085] 예시적 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함한다.
- [0086] 예시적 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이

량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 75.5℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 75℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖고 상기 이중이량체는 약 90% 이상의 순도를 갖는다.

[0087] 다른 일부 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 L351Y 및 Y407A를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 위치 T411, D399, S400, F405, N390 및/또는 K392에서 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 위치 D399에서의 이들 돌연변이는 D399R, D399W, D399Y 또는 D399K를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 위치 T411에서의 돌연변이는 T411N, T411R, T411Q, T411K, T411D, T411E 또는 T411W를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 위치 S400에서의 돌연변이는 S400E, S400D, S400R 또는 S400K를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 위치 F405에서의 돌연변이는 F405I, F405M, F405S, F405S, F405V 또는 F405W를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 위치 N390에서의 돌연변이는 N390R, N390K 또는 N390D를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 위치 K392에서의 돌연변이는 K392V, K392M, K392R, K392L, K392F 또는 K392E를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 표 1, 표 4 및 실시예 6에 나열된 CH3 변이체 AZ71 내지 AZ101을 참조한다.

[0088] 예시적 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드(본원에서쇄 A 및쇄 B로도 지칭됨)를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 Y407A를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366A 및 K409F를 포함한다. 한 양태에서, 이 변이체 CH3 도메인은 아미노산 변형 K392E, T411E, D399R 및 S400R을 추가로 포함한다. 추가 실시양태에서, 변이체 CH3 도메인은 제1 폴리펩티드 및 제2 폴리펩티드를 포함하고, 이때 제1 폴리펩티드는 아미노산 변형 D399R, S400R 및 Y407A를 포함하고, 제2 폴리펩티드는 아미노산 변형 T366A, K409F, K392E 및 T411E를 포함한다.

[0089] 예시적 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 74℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 약 74℃ 이상의 용융 온도(T_m)를 갖고 상기 이중이량체는 약 95% 이상의 순도를 갖는다.

[0090] 일부 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70℃ 초과 용융 온도(T_m)를 갖고, 상기 변이체 CH3 도메인은 표 7로부터 선택된다.

[0091] 나아가, 개선된 안정성 및 순도를 갖는 Fc 변이체 이중이량체를 디자인하는 이 신규 방법은 Fc 영역의 다른 클래스 및 동종형에 적용될 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc 영역은 인간 IgG Fc 영역이다. 추가 실시양태에서, 인간 IgG Fc 영역은 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역이다. 몇몇 실시양태에서, Fc 영역은 IgG, IgA, IgD, IgE 및 IgM으로 구성된 군으로부터 선택된 면역글로불린으로부터 유래된다. 몇몇 실시양태에서, IgG는 IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3 및 IgG4로 구성된 군으로부터 선택된 하위유형의 IgG이다.

[0092] [표 1]

Fc 변이체 이중이량체의 발생을 위한 CH3 도메인 아미노산 변형

야생형 IgG1	변이체	쇄	Fc 돌연변이						
		A	-	-	-	-	-	-	-
		B	-	-	-	-	-	-	-
CH3 변이체	AZ1	A	L368D	K370Q	-	-	-	-	-
		B	E357R	L368R	-	-	-	-	-
	AZ2	A	L351I	L368D	K370Q	-	-	-	-
		B	E357R	L368R	-	-	-	-	-
	AZ3	A	L351D	L368D	K370Q	-	-	-	-
		B	E357R	L368R	-	-	-	-	-
	AZ4	A	L368D	K370E	-	-	-	-	-
		B	E357R	L368R	-	-	-	-	-
	AZ5	A	L368D	K370E	-	-	-	-	-
		B	E357K	L368R	-	-	-	-	-
	AZ6	A	V397S	F405A	Y407V	-	-	-	-
		B	K392V	T394W	-	-	-	-	-
	AZ7	A	L351R	V397S	F405A	Y407V	-	-	-
		B	K392V	T394W	-	-	-	-	-
	AZ8	A	L351Y	V397S	F405A	Y407V	-	-	-
		B	K392V	T394W	-	-	-	-	-
	AZ9	A	V397S	F405A	Y407V	-	-	-	-
		B	L368R	K392V	T394W	-	-	-	-
	AZ10	A	V397T	F405I	-	-	-	-	-
		B	K392V	T394H	-	-	-	-	-
	AZ11	A	E357W	S364F	-	-	-	-	-
		B	Y349A	L351Y	K370I	-	-	-	-
	AZ12	A	E357H	S364F	-	-	-	-	-
		B	L351Y	K370I	-	-	-	-	-
	AZ13	A	E357W	S364F	-	-	-	-	-
		B	Y349A	L351Y	K370F	-	-	-	-
	AZ14	A	E357H	S364F	-	-	-	-	-
		B	L351Y	K370F	-	-	-	-	-
	AZ15	A	E357L	T366A	K409F	T411N	-	-	-

[0093]

	B	L351Y	Y407A	-	-	-	-	-
AZ16	A	E357L	T366A	K409Y	T411N	-	-	-
	B	L351Y	L368T	Y407A	-	-	-	-
AZ17	A	L351Y	F405A	Y407V	-	-	-	-
	B	T366I	T394W	-	-	-	-	-
AZ18	A	L351Y	V397T	F405M	Y407V	-	-	-
	B	T366I	T394W	-	-	-	-	-
AZ19	A	L351Y	V397T	F405M	Y407V	-	-	-
	B	T366L	T394W	-	-	-	-	-
AZ20	A	L351Y	V397T	F405M	Y407V	-	-	-
	B	T366M	T394W	-	-	-	-	-
AZ21	A	L351Y	L368M	V397T	F405I	Y407V	-	-
	B	T366L	T394W	-	-	-	-	-
AZ22	A	L351Y	L368M	V397T	F405I	Y407V	-	-
	B	T366M	T394W	-	-	-	-	-
AZ23	A	L351Y	V397T	F405M	Y407V	-	-	-
	B	L351I	T366I	T394W	-	-	-	-
AZ24	A	L351Y	V397T	L398D	F405M	Y407V	-	-
	B	S354E	T366I	T394W	-	-	-	-
AZ25	A	L351Y	V397T	L398D	S400E	F405M	Y407V	-
	B	T366I	N390R	T394W	-	-	-	-
AZ26	A	R344H	L351Y	V397T	S400E	F405M	Y407V	-
	B	Q362R	T366I	T394W	-	-	-	-
AZ27	A	R344H	L351Y	V397T	D401E	F405M	Y407V	-
	B	Q362R	T366I	T394W	-	-	-	-
AZ28	A	Q347R	L351Y	V397T	F405M	Y407V	-	-
	B	S354E	K360E	T366I	T394W	-	-	-
AZ29	A	Q347R	L351Y	V397T	F405M	Y407V	-	-
	B	S354N	K360E	T366I	T394W	-	-	-
AZ30	A	T350V	L351Y	V397T	S400E	F405M	Y407V	-
	B	T350V	T366I	T394W	T411R	-	-	-
AZ31	A	R344H	L351Y	V397T	L398D	F405M	Y407V	-
	B	T366I	T394W	T411R	-	-	-	-
AZ32	A	Q347R	T350V	L351Y	V397T	F405M	Y407V	-

[0094]

	B	T350V	K360E	T366I	T394W	T411R	-	-
AZ33	A	L351Y	F405A	Y407V	-	-	-	-
	B	T366I	K392M	T394W	-	-	-	-
AZ34	A	L351Y	S400E	F405A	Y407V	-	-	-
	B	T366I	N390R	K392M	T394W	-	-	-
AZ35	A	L351Y	K370Q	G371D	F405M	Y407V	-	-
	B	Q362R	T366I	T394W	K409R	T411Q	-	-
AZ36	A	L351Y	K370Q	G371D	F405S	Y407V	-	-
	B	Q362R	T366I	T394W	K409R	T411Q	-	-
AZ37	A	R344H	L351Y	K370Q	G371D	L398D	F405M	Y407V
	B	Q362R	T366I	T394W	K409R	T411Q	-	-
AZ38	A	R344H	L351Y	K370Q	G371D	S400E	F405M	Y407V
	B	Q362R	T366I	N390R	T394W	K409R	T411Q	-
AZ39	A	L351Y	K370Q	G371D	F405M	Y407V	-	-
	B	T366I	T394W	T411R	-	-	-	-
AZ40	A	L351Y	K370Q	G371D	F405M	Y407V	-	-
	B	T366I	T394W	K409M	T411R	-	-	-
AZ41	A	R344H	L351Y	K370Q	G371D	L398D	F405M	Y407V
	B	T366I	T394W	K409M	T411R	-	-	-
AZ42	A	R344H	L351Y	K370Q	G371D	S400E	F405M	Y407V
	B	T366I	N390R	T394W	K409M	T411R	-	-
AZ43	A	L351Y	K370T	G371D	F405I	Y407V	-	-
	B	E357Q	S364R	T394W	-	-	-	-
AZ44	A	L351Y	K370T	G371D	F405M	Y407V	-	-
	B	E357Q	S364R	T394W	K409I	-	-	-
AZ45	A	R344H	L351Y	K370T	G371D	S400E	F405M	Y407V
	B	E357Q	S364R	T366I	N390R	T394W	K409I	-
AZ46	A	R344H	L351Y	K370T	G371D	F405M	Y407V	-
	B	E357Q	S364R	T366I	T394W	K409I	T411R	-
AZ47	A	L351Y	K370A	G371S	Q399R	F405S	Y407V	-
	B	E357Q	Q362R	S364Y	T366I	T394W	K409S	-
AZ48	A	L351Y	V397S	D399W	F405M	Y407V	-	-
	B	Q362R	T366I	T394W	K409M	-	-	-
AZ49	A	L351Y	V397S	D399Y	F405M	Y407V	-	-

[0095]

	B	Q362R	T366I	T394W	K409I	-	-	-
AZ50	A	R344H	L351Y	V397T	L398D	D399W	F405M	Y407V
	B	Q362R	T366I	T394W	K409M	-	-	-
AZ51	A	R344H	L351Y	V397T	D399W	S400E	F405M	Y407V
	B	Q362R	T366I	T394W	K409M	-	-	-
AZ52	A	L368V	K370F	F405I	Y407V	-	-	-
	B	E357Q	S364Y	T366I	T394W	-	-	-
AZ53	A	L368V	K370Y	F405I	Y407V	-	-	-
	B	E357Q	S364Y	T394W	-	-	-	-
AZ54	A	R344H	L368V	K370Y	F405M	Y407V	-	-
	B	E357Q	Q362R	S364Y	T394W	-	-	-
AZ55	A	L368V	K370Y	S400E	F405M	Y407V	-	-
	B	E357Q	S364Y	N390R	T394W	-	-	-
AZ56	A	L368V	K370Y	L398D	F405M	Y407V	-	-
	B	E357Q	S364Y	T394W	T411R	-	-	-
AZ57	A	R344H	L351Y	K370Y	F405M	Y407V	-	-
	B	E357Q	Q362R	S364T	T366I	T394W	-	-
AZ58	A	L368V	V397T	F405M	Y407V	-	-	-
	B	T366Y	T394W	-	-	-	-	-
AZ59	A	L368V	K370Q	V397T	F405M	Y407V	-	-
	B	T366Y	T394W	-	-	-	-	-
AZ60	A	R344H	L368V	V397T	S400E	F405M	Y407V	-
	B	Q362R	T366Y	T394W	-	-	-	-
AZ61	A	L368V	V397T	S400E	F405M	Y407V	-	-
	B	T366Y	N390R	T394W	-	-	-	-
AZ62	A	L368V	V397T	L398D	F405M	Y407V	-	-
	B	T366Y	T394W	T411R	-	-	-	-
AZ63	A	T366A	K409F	-	-	-	-	-
	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ64	A	T366A	K409F	-	-	-	-	-
	B	L351Y	Y407A	-	-	-	-	-
AZ65	A	T366A	K409F	-	-	-	-	-
	B	L351F	Y407A	-	-	-	-	-
AZ66	A	T366S	K409F	-	-	-	-	-

[0096]

	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ67	A	T366C	K409F	-	-	-	-	-
	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ68	A	T366L	K409F	-	-	-	-	-
	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ69	A	T366M	K409F	-	-	-	-	-
	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ70	A	T366V	K409F	-	-	-	-	-
	B	L351Y	Y407A	-	-	-	-	-
AZ71	A	T366A	K409F	-	-	-	-	-
	B	L351I	T366S	L368F	Y407A	-	-	-
AZ72	A	T366A	K409F	-	-	-	-	-
	B	D399W	Y407A	-	-	-	-	-
AZ73	A	T366A	K409F	-	-	-	-	-
	B	D399W	S400D	Y407A	-	-	-	-
AZ74	A	T366A	K409F	-	-	-	-	-
	B	D399W	S400E	Y407A	-	-	-	-
AZ75	A	T366A	K409F	T411R	-	-	-	-
	B	D399W	S400D	Y407A	-	-	-	-
AZ76	A	T366A	K409F	T411R	-	-	-	-
	B	G371D	D399W	Y407A	-	-	-	-
AZ77	A	T366A	K409F	T411R	-	-	-	-
	B	K370Q	G371D	D399W	Y407A	-	-	-
AZ78	A	T366A	N390R	K409F	-	-	-	-
	B	D399Y	S400D	Y407A	-	-	-	-
AZ79	A	Q362R	T366A	K409F	T411K	-	-	-
	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ80	A	Q362R	T366A	K409F	T411R	-	-	-
	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ81	A	Q362K	T366A	K409F	T411R	-	-	-
	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ82	A	T366A	N390K	K392R	K409F	T411R	-	-
	B	S400E	Y407A	-	-	-	-	-
AZ83	A	T366A	N390K	K392R	K409F	T411K	-	-
	B	S400E	Y407A	-	-	-	-	-
AZ84	A	T366A	N390K	K409F	T411R	-	-	-
	B	S400D	Y407A	-	-	-	-	-
AZ85	A	T366A	K392L	K409F	T411D	-	-	-
	B	D399R	Y407A	-	-	-	-	-
AZ86	A	T366A	K392L	K409F	T411E	-	-	-
	B	D399R	Y407A	-	-	-	-	-
AZ87	A	T366A	K392L	K409F	T411D	-	-	-

[0097]

	B	D399K	Y407A	-	-	-	-	-
AZ88	A	T366A	K392L	K409F	T411E	-	-	-
	B	D399K	Y407A	-	-	-	-	-
AZ89	A	T366A	K392M	K409F	T411E	-	-	-
	B	D399R	Y407A	-	-	-	-	-
AZ90	A	T366A	K392M	K409F	T411D	-	-	-
	B	D399R	Y407A	-	-	-	-	-
AZ91	A	T366A	K392F	K409F	T411D	-	-	-
	B	D399R	F405V	Y407A	-	-	-	-
AZ92	A	T366A	K409F	T411E	-	-	-	-
	B	D399R	S400E	Y407A	-	-	-	-
AZ93	A	T366A	K409F	T411E	-	-	-	-
	B	D399R	S400D	Y407A	-	-	-	-
AZ94	A	T366A	K392E	K409F	T411E	-	-	-
	B	D399R	S400R	Y407A	-	-	-	-
AZ95	A	T366A	K392E	K409F	T411D	-	-	-
	B	D399R	S400R	Y407A	-	-	-	-
AZ96	A	Q362E	T366A	K409F	T411W	-	-	-
	B	D399R	Y407A	-	-	-	-	-
AZ97	A	Q362D	T366A	K409F	T411W	-	-	-
	B	D399R	Y407A	-	-	-	-	-
AZ98	A	S364Y	T366A	K409F	T411R	-	-	-
	B	Y407A	-	-	-	-	-	-
AZ99	A	T366V	K409W	-	-	-	-	-
	B	L368V	Y407S	-	-	-	-	-
AZ100	A	T366V	K409W	-	-	-	-	-
	B	L351Y	L368S	Y407A	-	-	-	-
AZ101	A	T366V	K409W	-	-	-	-	-
	B	L351Y	Y407A	-	-	-	-	-
AZ102	A	E357Q	S364F	K392E	-	-	-	-
	B	K370F	V397R	S400R	-	-	-	-
AZ103	A	E357Q	S364F	K392E	V397E	-	-	-
	B	K370F	V397R	S400R	-	-	-	-
AZ104	A	E357Q	S364F	N390D	K392E	-	-	-
	B	K370F	V397R	S400K	-	-	-	-
AZ105	A	E357Q	S364F	K370E	G371W	-	-	-
	B	E357Q	K360R	S364N	K370F	-	-	-
AZ106	A	S354R	D356K	E357Q	S364F	-	-	-
	B	S354E	K370F	K439E	-	-	-	-
AZ107	A	Q347R	E357Q	S364F	-	-	-	-
	B	Q347E	K360E	K370F	-	-	-	-
AZ108	A	E357Q	S364F	K370E	-	-	-	-
	B	E357R	K370F	-	-	-	-	-
AZ109	A	E357Q	S364F	L368D	K370E	-	-	-
	B	E357R	K370F	-	-	-	-	-

[0098]

AZ110	A	E357Q	S364F	K370T	G371D	-	-	-
	B	E357Q	S364R	K370F	-	-	-	-
AZ111	A	E357Q	S364Y	K392E	-	-	-	-
	B	K370F	V397R	S400K	-	-	-	-
AZ112	A	E357Q	S364Y	K392E	-	-	-	-
	B	L368A	K370F	V397R	S400K	-	-	-
AZ113	A	K409F	T411E	-	-	-	-	-
	B	L368V	D399R	S400D	-	-	-	-
AZ114	A	K409F	T411E	-	-	-	-	-
	B	L368V	D399K	S400D	-	-	-	-
AZ115	A	K409F	-	-	-	-	-	-
	B	L368V	D399Y	-	-	-	-	-
AZ116	A	E357Q	K409F	T411R	-	-	-	-
	B	L368A	K370F	-	-	-	-	-
AZ117	A	S354R	D356K	K409F	T411R	-	-	-
	B	S354E	L368V	S400E	K439E	-	-	-
AZ118	A	K360E	K370E	-	-	-	-	-
	B	Y349R	E357R	-	-	-	-	-
AZ119	A	K360E	K370E	-	-	-	-	-
	B	Y349K	E357R	-	-	-	-	-
AZ120	A	S354E	K360E	K370E	-	-	-	-
	B	Y349R	E357R	-	-	-	-	-
AZ121	A	K360E	L368D	K370E	-	-	-	-
	B	Y349R	E357R	-	-	-	-	-
AZ122	A	K360E	L368D	K370E	-	-	-	-
	B	Y349R	E357R	T411R	-	-	-	-
AZ123	A	K360E	K370T	G371D	-	-	-	-
	B	Y349R	E357Q	S364R	-	-	-	-
AZ124	A	K360E	K370T	G371D	-	-	-	-
	B	Y349R	E357Q	S364K	-	-	-	-
AZ125	A	S364E	K370T	G371D	-	-	-	-
	B	E357Q	S364R	G371R	-	-	-	-
AZ126	A	S364E	K370T	G371D	-	-	-	-
	B	E357Q	S364R	G371K	-	-	-	-
AZ127	A	G371D	T411E	-	-	-	-	-
	B	G371R	T411R	-	-	-	-	-
AZ128	A	G371D	T411E	-	-	-	-	-
	B	G371K	T411R	-	-	-	-	-
AZ129	A	Y349C	L351Y	V397T	F405M	Y407V	-	-
	B	S354C	T366I	T394W	-	-	-	-
AZ130	A	L351Y	S354C	V397T	F405M	Y407V	-	-
	B	Y349C	T366I	T394W	-	-	-	-
AZ132	A	L368A	F405W	Y407V	-	-	-	-
	B	T366W	-	-	-	-	-	-

[0099]

[0100]

본원에서 정의된 바와 같은 Fc 영역은 CH3 도메인 또는 이의 단편을 포함하고 힌지, CH1 또는 CH2를 포함하는 하나 이상의 추가 불변 영역 도메인 또는 이의 단편을 추가로 포함할 수 있다. Fc 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌(Kabat et al., 1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, Va)에 기재된 바와 같은 EU 지수의 넘버링이라는 것이 이해될 것이다. "카바트에 기재된 바와 같은 EU 지수"는 인간 IgG1 카바트 항체의 EU 지수 넘버링을 의미한다. 편의상, 표 B는 인간 IgG1로부터의 CH2 및 CH3 도메인의 카바트에 기재된 바와 같은 EU 지수에 따라 넘버링된 아미노산을 제공한다.

[0101] [표 B]

CH2 도메인						CH3 도메인					
EU 번호	아미노산	EU 번호	아미노산	EU 번호	아미노산	EU 번호	아미노산	EU 번호	아미노산	EU 번호	아미노산
231	A	271	P	311	Q	341	G	381	W	421	N
232	P	272	E	312	D	342	Q	382	E	422	V
233	E	273	V	313	W	343	P	383	S	423	F
234	L	274	K	314	L	344	R	384	N	424	S
235	L	275	F	315	N	345	E	385	G	425	C
236	G	276	N	316	G	346	P	386	Q	426	S
237	G	277	W	317	K	347	Q	387	P	427	V
238	P	278	Y	318	E	348	V	388	E	428	M
239	S	279	V	319	Y	349	Y	389	N	429	H
240	V	280	D	320	K	350	T	390	N	430	E
241	F	281	G	321	C	351	L	391	Y	431	A
242	L	282	V	322	K	352	P	392	K	432	L
243	F	283	E	323	V	353	P	393	T	433	H
244	P	284	V	324	S	354	S	394	T	434	N
245	P	285	H	325	N	355	R	395	P	435	H
246	K	286	N	326	K	356	D	396	P	436	Y
247	P	287	A	327	A	357	E	397	V	437	T
248	K	288	K	328	L	358	L	398	L	438	Q
249	D	289	T	329	P	359	T	399	D	439	K
250	T	290	K	330	A	360	K	400	S	440	S
251	L	291	P	331	P	361	N	401	D	441	L
252	M	292	R	332	I	362	Q	402	G	442	S
253	I	293	E	333	E	363	V	403	S	443	L
254	S	294	E	334	K	364	S	404	F	444	S
255	R	295	Q	335	T	365	L	405	F	445	P
256	T	296	Y	336	I	366	T	406	L	446	G
257	P	297	N	337	S	367	C	407	Y	447	K
258	E	298	S	338	K	368	L	408	S		
259	V	299	T	339	A	369	V	409	K		
260	T	300	Y	340	K	370	K	410	L		
261	C	301	R			371	G	411	T		
262	V	302	V			372	F	412	V		
263	V	303	V			373	Y	413	D		
264	V	304	S			374	P	414	K		
265	D	305	V			375	S	415	S		
266	V	306	L			376	D	416	R		
267	S	307	T			377	I	417	W		
268	H	308	V			378	A	418	Q		
269	E	309	L			379	V	419	Q		
270	D	310	H			380	E	420	G		

[0102]

[0103]

일부 실시양태에서, Fc 변이체는 CH2 도메인을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, CH2 도메인은 변이체 CH2 도메인이다. 몇몇 실시양태에서, 변이체 CH2 도메인은 제1 폴리펩티드 쇠 및/또는 제2 폴리펩티드 쇠 내에 비대칭 아미노산 치환을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 상기 이종다량체의 1개 쇠가 Fc 수용체에 선택적으로 결합하도록 CH2 도메인 내에 비대칭 아미노산 치환을 포함한다.

[0104]

일부 실시양태에서, 이종다량체는 Fc 수용체에 선택적으로 결합한다. 몇몇 실시양태에서, Fc 수용체는 Fc γ 수용체 패밀리의 구성원이다. 몇몇 실시양태에서, 상기 수용체는 Fc γ RI, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIc, Fc γ RIIIa 및 Fc γ RIIIb로부터 선택된다. 한 실시양태에서, CH2 도메인은 Fc γ 수용체와의 선택적 결합을 촉진하는 비대칭 아미노산 변형을 포함한다.

[0105]

몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 Fc γ RIIIa에 선택적으로 결합한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 S267D, K392D 및 K409D로부터 선택된 비대칭 아미노산 치환을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 Fc γ RIIa에 선택적으로 결합한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 S239D, K326E, A330L 및 I332E로부터 선택된 비대칭 아미노산 치환을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 Fc γ RIIb에 선택적으로 결합한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 S239D, D265S, E269K 및 I332E로부터 선택된 비대칭 아미노산 치환을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 Fc γ RIIIa 및 Fc γ RIIa에 선택적으로 결합한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 S239D, D265S 및 S298A로부터 선택된 비대칭 아미노산 치환을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 Fc γ RIIIa 및 Fc γ RIIb에 선택적으로 결합한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 S239D, S298A, K326E, A330L 및 I332E로부터 선택된 비대칭 아미노산 치환을 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 Fc γ RIIa 및 Fc γ RIIb에 선택적으로 결합한다. 몇몇 실시양태에서, 이종다량체는 S239D, D265S, S298A 및 I332E로부터 선택된 비대칭 아미노산 치환을 포함한다.

[0106]

일부 실시양태에서, 본원에 기재된 이종다량체를 포함하는 다기능성 치료제를 디자인하는 방법이 제공된다. 몇

몇 실시양태에서, 변이체 Fc 이중이량체를 포함하는 이기능성 치료제를 디자인하는 방법이 제공된다. 몇몇 실시양태에서, CH3 도메인 내에 돌연변이를 갖는 유도된 변이체 Fc 이중이량체의 CH2 도메인 내의 비대칭 돌연변이를 디자인하는 방법이 제공된다. 몇몇 실시양태에서, 비대칭 Fc 내의 돌연변이에 기초하여 상이한 Fc γ 수용체에 대한 선택성을 디자인하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fc γ 수용체의 결합을 Fc 분자의 한 면으로 편향되게 하는 돌연변이를 디자인하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, Fc γ 수용체가 본원에 기재된 이중다량체의 비대칭 Fc 스카폴드의 한 면과만 상호작용하도록 편향시키는 극성 유발제(driver)를 디자인하는 방법이 제공된다.

[0107] 몇몇 실시양태에서, 우선적인 Fc γ 수용체 선택성 프로파일을 이끌어내는 돌연변이를 비대칭 Fc의 CH2 도메인 내에 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 몇몇 실시양태에서, CH3 도메인 내의 돌연변이는 이중이량체 Fc의 우선적인 형성을 이끌어낸다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 비대칭 Fc에 기초하여 이중특이적 치료제를 디자인하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 비대칭 Fc에 기초하여 다중특이적 치료제를 디자인하는 방법이 제공된다.

[0108] 단일클론 항체, 예컨대, IgG는 다수의 면역글로불린(Ig) 구조 도메인들을 각각 포함하는 동등한 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄 폴리펩티드로 구성된 대칭 분자이다(도 14). mAb의 IgG 클래스는 4개의 동형체 중 하나, 즉 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4로 존재한다. 중쇄는 4개의 (VH, CH1, CH2 및 CH3) Ig 도메인으로 구성되고, 경쇄는 2개의 (VL 및 CL) Ig 도메인으로 구성된다. 중쇄 각각으로부터의 VH 및 CH1 도메인은 경쇄의 VL 및 CL 도메인과 조합되어 mAb의 2개 Fab("항원 결합 단편") 아암을 형성한다. 2개의 중쇄의 CH3 도메인과 CH2 도메인은 CH3 도메인을 가로지른 단백질-단백질 접촉 및 CH2 도메인 내의 글리코실화를 통해 상호작용하여 동중이량체 Fc("결정화 가능한 단편") 영역을 형성한다. 항체의 CH1 도메인과 CH2 도메인 사이의 링커 영역은 항체 분자의 힌지 영역을 구성한다. mAb의 Fab 영역과 Fc 영역을 연결하는 것 이외에, 힌지는 2개의 중쇄를 가로지른 이황화 연결을 유지하고 이들을 함께 붙잡고 있다. 힌지 영역 내의 아미노산 및 이황화 연결의 수는 IgG의 4개 동종형들 사이에 현저히 상이하다. IgG 분자 내의 글리코실화 패턴은 상당히 다양할 수 있고, 약 30개의 상이한 탄수화물 모이어티들이 IgG 분자에서 관찰되었다(Arnold J.N.; Wormald M.R.; Sim R.B.; Rudd P.M. and Dwek R.A. (2007) Annual Reviews of Immunology 25, 21-50).

[0109] 단일클론 항체 구조의 대칭 성질은 동일한 에피토프를 인식하도록 성숙된 그들의 항원 결합 성능 친화성을 갖는 2개의 Fab 아암을 발생시킨다. 다른 한편으로, 항체 분자의 Fc 부분은 면역 또는 "이펙터" 세포 상의 다양한 수용체 분자들과의 상호작용에 관여하고, 이들 상호작용 중 일부는 이펙터 기능, 예컨대, 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC), 항체 의존성 세포 매개 식균작용(ADCP) 및 보체 활성화를 매개하는 역할을 수행한다. 일반적으로, 이펙터 기능은 병원체 또는 독소 중화 및 제거를 이끌어내는 면역 반응, 보체 활성화 및 체액 면역 시스템으로부터의 식균 반응을 포함한다. 이펙터 세포 상의 Fc γ 수용체(Fc γ R) 분자는 일체형 항체-항원 면역 복합체에 포함된 활성화된 IgG 항체의 Fc와 접촉하여 이펙터 반응을 매개하고 조절한다. 단일클론 항체에 기초한 단백질 치료제와 이들 Fc γ 수용체의 상호작용의 최적화는 이들 약물 후보물질들의 효능을 개선할 수 있다.

[0110] 인간에서, 각각의 클래스 내에 추가 다형체 유형을 갖는 Fc γ R들의 공지된 3개 클래스들이 존재한다. IgG1 분자 내의 Fc는 나노몰 범위 내의 해리 상수로 Fc γ RI(CD64)에 결합하는 것으로 공지되어 있는 반면, Fc γ RII(CD32) 및 Fc γ RIII(CD16) 결합은 마이크로몰 범위에서 일어난다(Bruhns P.; Iannascoli B.; England P.; Mancardi D.A.; Fernandez N.; Jorieux S. and Daeron M. (2009) Blood 113: 3716-25). 고 친화성 Fc γ RI 수용체는 단량체 형태로 IgG에 결합할 수 있는 반면, 저 친화성 Fc γ RII 및 Fc γ RIII 수용체는 친화력(avidity) 효과의 결과로서 항원-항체 면역 복합체 또는 IgG 응집체에만 결합할 수 있다. 상이한 IgG 형태들은 상이한 Fc γ R들에 대해 상이한 친화성을 갖고, 특히 IgG1 및 IgG3은 보다 강한 활성을 나타낸다. Fc γ 수용체는 경막 단백질의 세포외 도메인이고 세포 내의 신호전달 경로를 조절하는 데에 관여하는 세포질 도메인을 보유한다. 이들 분자들은 항체에 의해 매개된 면역 복합체와의 결합시 면역 세포 표면 상에서 밀집되었을 때 이들 세포 표면 수용체들의 세포질 말단 상에서 Fc γ R에 연결된 신호전달 유닛의 성질에 따라 이펙터 반응을 조절한다(Nimmerjahn F. and Ravetch J.V. (2008) Nature Immunol Rev 8(1):34-47).

[0111] 인간 면역체 수준에서, 3개의 유전자들이 Fc γ RI(Fc γ RIA, Fc γ RIB, Fc γ RIC) 및 Fc γ RII(Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, Fc γ RIIC)를 코딩하고, 2개의 유전자들이 Fc γ RIII(Fc γ RIIIA, Fc γ RIIIB)를 코딩한다. IgG 결합 인간 Fc γ 수용체들 중에서 Fc γ RIA, Fc γ RIC 및 Fc γ RIIIA 유형들은 이펙터 기능의 활성화를 이끌어내는 세포질 면역수용체 티로신 기초 활성화 모티프(ITAM)를 함유하는 공통의 γ -쇄 신호 어댑터 단백질과 막 결합되어 있는 것으로 밝혀졌다. Fc γ RIIA 및 Fc γ RIIC도 세포질 ITAM을 포함하지만 공통의 γ -쇄 신호 어댑터 단백질을 갖지 않는다. 동시에, Fc γ RIIB는 면역수용체 티로신 기초 억제 모티프(ITIM)에 연결되어 있다. ITIM 인산화를 초래하는 Fc γ

RIIB의 활성화는 활성화 신호전달 캐스케이드(cascade)의 억제를 초래한다. Fc γ RIIB는 티로신 기초 면역조절 세포질 꼬리들 중 어느 것도 결여하지만 GPI(글리코실-포스파티딜-이노시톨) 고착제(anchor)를 갖고 Fc γ RIIA의 존재 하에서 몇몇 과립구의 활성화에 기여하는 것으로 밝혀졌다.

[표 C]

Fc γ 수용체 특징

수용체	대립형질	신호전달 모티프	기능	IgG 결합 친화성
Fc γ RI (CD64)		ITAM	활성화	IgG1 \approx IgG3 > IgG4
Fc γ RIIa (CD32a)	131(H/R)	ITAM	활성화	IgG1 > IgG3 > IgG2 > IgG4
Fc γ RIIb (CD32b)	232(I/T)	ITIM	억제	IgG3 \approx IgG1 \approx IgG4 > IgG2
Fc γ RIIc (CD32c)	57(Q/절두(Truncation))	ITAM	활성화	IgG3 \approx IgG1 \approx IgG4 > IgG2
Fc γ RIIIa (CD16a)	158(V/F)	ITAM	활성화	IgG3 > IgG1 > IgG4 > IgG2
Fc γ RIIIb (CD16b)	NA1/2 SH/78(A/D)	GPI	활성화	IgG3 > IgG1

ITAM: 면역수용체 티로신 기초 활성화 모티프; ITIM: 면역수용체 티로신 기초 억제 모티프;
GPI: 글리코포스포이노시톨

ITAM 및 ITIM 모티프 및 관련된 수용체 분자의 기능적 역할이 공지되어 있지만, 조합되어 신호전달을 조절하는 성질 및 기작은 특히 신호전달도입에 관여하는 다른 면역 세포 표면 수용체 및 어댑터 분자(예를 들면, BCR들, CD22, CD45 등)의 숙주의 활성화와 조합될 때 완전히 이해되지 않는다. 이 상황에서, 정교한 선택성 프로파일로 이들 Fc γ 수용체들과 상호작용할 수 있는 Fc 유사 분자의 디자인은 미묘한 조절 활성을 갖는 이러한 수용체 분자의 효과를 파악하고 조절하고자 하는 임의의 시도에서 귀중한 스카폴드이다.

Fc γ R들을 식별할 수 있는 항체 분자들을 디자인하고자 하는 노력은 Fc γ RII 및 Fc γ RIII 수용체 유형의 세포의 Fc 결합 구획들이 적어도 부분적으로 조상 절편 중복(ancestral segment duplication)에 기인할 수 있는 높은 서열 유사성을 나타낸다는 사실(도 15)에 의해 복잡해진다. Fc γ RII 수용체의 2개 주요 유형인 A 및 B는 69% 서열 동일성을 갖는 반면, Fc γ RIIA 및 Fc γ RIIIA는 약 44% 서열 동일성을 나타낸다. Fc γ RIIB 및 Fc γ RIIC는 세포내 영역에서 상당히 상이하지만(각각 ITIM 및 ITAM 모티프의 존재가 주목할만함) 세포외 영역에서 단지 2개의 잔기에 의해 구별된다. 그 결과, 1개의 수용체에 결합하는 데에 필요한 치료 항체 분자가 다른 수용체 클래스에도 잠재적으로 결합하여 의도되지 않은 치료 효과를 발생시킬 가능성이 있다는 것이 예측될 수 있다.

추가 복잡한 문제로서, 수용체 클래스 각각이 다수의 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP) 및 카피 수 변경(CNV)을 제공한다. 발생된 수용체 다양성은 IgG에 대한 그들의 친화성 및 그의 작용 기작에 상이하게 영향을 미친다. 이들 유전적 변경은 Fc γ 수용체에 대한 특정 IgG 서브클래스의 친화성에 영향을 미치거나, 다운스트림 이펙터 이벤트를 변경하거나 수용체 발현의 수준을 변경하는 기작에 영향을 미침으로써, 기능적으로 관련된 표현형, 비기능적 수용체 변이체 또는 기능적으로 미공지된 수용체 변이체를 발생시킬 수 있다(Bournazos S.; Woof J.M.; Hart S.P. and Dransfield I. (2009) Clinical and Experimental Immunology 157(2):244-54). 이들은 활성화 수용체 신호전달과 억제 수용체 신호전달 사이의 균형을 변경하여 질환 감수성 표현형의 생성을 초래하는 복잡한 효과를 잠재적으로 발생시킨다.

이들 대립형질 변경들 중 일부는 표 C에 나열되어 있다. 특히, Fc γ RIIa에서 R131 변이체는 IgG1에 대한 높은 반응자인 반면, 대안적 H131 변이체는 IgG2 및 IgG3과의 보다 효율적인 상호작용을 보인다. Fc γ RIIIa의 경우, 위치 158에서 V에 대한 동형접합성 공여자는 인간 IgG1, IgG3 및 IgG4에 대한 전자 동종이형의 보다 높은 친화성으로 인해 동형접합 F/F158 개체에 비해 증가된 NK 세포 활성을 나타낸다. Fc γ RIIb의 대립형질 변이체 NA1 및 NA2는 상기 수용체의 글리코실화에서의 차이를 초래하는 4개 아미노산 치환의 결과이다. NA1 대립형질은 호중구에 의한 면역 복합체의 향상된 결합 및 식균작용을 제공한다. Fc γ RIIB는 2개의 공지된 대립형질 변이체, 즉 232I 및 232T를 갖는다. 232T 변이체는 그의 음성 조절 활성에서 강하게 손상되어 있는 것으로 공지되어 있다. Fc γ R 다형성의 빈도; 및 이 빈도와, 감염 또는 질환 상태, 예컨대, 전신성 홍반 루푸스(SLE), 류마티스성 관절염(RA), 혈관염, 면역 매개 혈전성 자반증(ITP), 중증근무력증, 다발성 경화증(MS) 및 면역 신경병증(결

랑-바레 증후군(GBS))의 소인에 대한 상이한 반응성의 관련성이 보고되었다.

[0118] Fc γ R 유전자, 특히 Fc γ RIIB, Fc γ RIIc 및 Fc γ RIIIA의 좌위에서의 카피 수 변경은 입증되었고, 이들 차이와 이들 수용체의 세포 표면 발현 사이의 추가 상관관계가 인지되었다. 대조적으로, Fc γ RIIa 및 Fc γ RIIb는 유전자 카피 수 변경을 보이지 않는다. Fc γ RIIb의 낮은 카피 수는 실제로 자가면역 질환인 전신성 홍반 루푸스(SLE)에서 사구체신염과 관련되어 있다(Aitman TJ et al. (2006) Nature 16; 439(7078):851-5). 이것은 비신호 전달 GPI 모듈이 Fc γ RIIb 수용체에 고착된다는 사실이 주어졌을 때 특히 흥미롭다. 이들 Fc γ RIIb 수용체들의 존재가 Fc와 다른 신호전달 Fc γ R들의 상호작용의 경쟁적 억제체로서 잠재적으로 작용할 수 있다고 가정될 수 있다. Fc γ RIIc에서의 카피 수 변경의 효과도 특히 흥미롭다. Fc γ RIIc 내의 위치 202에 존재하는 C/T SNP는 글루타민 잔기를 정지 코돈으로 전환시켜 기능성 단백질의 발생을 방해한다. Fc γ RIIc의 기능성 개방 판독 프레임(open reading frame)은 건강한 개체(백인 집단)의 9%에서 발현되고, ITP 집단에서 대립형질의 상당한 과다발현(19%)이 존재하는데, 이것은 ITP에 대한 이들 표현형들의 소인을 암시한다(Breunis WB et al. (2008) Blood 111(3):1029-38). NK 세포 상에서 기능성 Fc γ RIIc를 발현하는 개체에서 달성된 ADCC는 Fc γ RIIa보다 더 높은 정도로 이들 수용체들에 의해 매개된다는 것이 입증되었다. 이들 다형성 및 유전적 변경과 관련된 이러한 복잡성은 고도로 다듬어진 치료제를 필요로 하는 맞춤형 치료 방법에 대한 필요성을 강조한다.

[0119] 다양한 이펙터 세포들은 이들 Fc γ 수용체들의 제시에서 상이할 뿐만 아니라 그들의 체액 및 조직 분포에서도 상이하고, 따라서 이 차이는 그들의 활성화 및 작용 기작에서의 변경에 기여한다(표 D). 특정 Fc γ R 유형을 인식하도록 치료 항체의 선택성을 조정하고 이펙터 세포의 일부 클래스들의 영향을 조절하는 것은 특정 질환 상태에 대한 이펙터 기작의 최적화를 이끌어낸다. 이것은 치료될 질환 상태에 따라 특정 이펙터 양상을 선택적으로 활성화시키거나 억제하기 위한 것이다.

[0120] [표 D]

Fc γ R들의 세포 분포

	Fc γ RI (CD64)	Fc γ RIIa (CD32a)	Fc γ RIIb (CD32b)	Fc γ RIIc (CD32c)	Fc γ RIIIa (CD16a)	Fc γ RIIIb (CD16b)	관포
림프							
B 세포			✓				혈액
혈장 세포			✓				조직
NK 세포				✓	✓		혈액
골수							
단핵구	✓	✓	✓		✓		혈액
수지상 세포	✓	✓	✓		✓		조직
혈소판		✓					혈액
대식 세포	✓	✓	✓		✓		조직
호중구	✓		✓			✓	혈액
호산구	✓					✓	혈액
호염기구			✓				혈액
비만 세포			✓			✓	조직

[0121]

[0122] 추가로, Fc γ R들은 소포 수지상세포, 내피세포, 미세아교세포, 파골세포 및 혈관사이세포에 의해서도 발현된다. 현재, 이들 다른 세포들 상에서의 Fc γ R 발현의 기능적 의미는 공지되어 있지 않다.

[0123] 고 친화성 Fc γ RI는 3개의 C형 변이글로불린 슈퍼패밀리(IgSF) 도메인으로 구성되는 반면, 저 친화성 Fc γ RII 및 Fc γ RIII는 각각 2개의 C형 IgSF 도메인으로 구성된다. Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa 및 Fc γ RIIIb 수용체 단백질들의 구조는 결정학에 의해 밝혀졌다. 이들 구조들에서 2개의 IgSF 도메인들은 서로에 대해 상대적으로 50° 내지 55° 에 위치하고 힌지에 의해 연결되어 있다.

[0124] Fc-Fc γ R 공복합체(co-complex)의 공개적으로 이용가능한 구조는 Fc-Fc γ RIIIb 시스템의 구조이고, 상기 복합체에서 Fc γ R 기하구조는 단백질의 아포(apo) 상태에서 관찰된 기하구조와 매우 유사하게 유지된다(Sondermann P.; Huber R.; Oosthuizen V. and Jacob U. (2000) Nature 406, 267-273; Radaev S.; Motyaka S.; Fridman W.; Sautes-Fridman C. and Sun P.D. (2001) J Biol Chem 276, 16469-16477; Sondermann P. et al. Biochem Soc Trans. 2002 Aug; 30(4):481-6; Sondermann P, Oosthuizen V. Immunol Lett. 2002 Jun 3; 82(1-2):51-6;

Radaev S, Sun P. Mol Immunol. 2002 May; 38(14):1073-83)(도 16). 상기 수용체들 사이의 강한 서열 유사성 및 구조적 유사성은 다른 수용체들에 결합된 Fc의 비교 모델의 기초를 형성한다. 다른 한편으로, 이들 수용체 분자들 사이의 서열 유사성 및 구조적 유사성은 상기 수용체들과 그들의 다양한 동형체들 사이의 정교한 선택성을 갖는 Fc의 디자인을 어렵게 만든다.

[0125] 결정학에 기초한 Fc-Fc γ R 복합체의 구조적 평가 전, Fc 분자에서 대칭의 2배 축이 2개의 잠재적 결합 부위 및 Fc-Fc γ R 결합에 대한 효과적인 2:1 화학양론을 의미하는지에 대한 의문이 존재하였다. Fc-Fc γ R 상호작용의 핵자기 공명(NMR) 기초 구조적 연구는 상기 분자의 한 면 상에서의 Fc와 1개 Fc γ R의 결합이 제2 Fc γ R 분자와 동일한 항체 분자의 Fc의 결합을 방해하는 입체구조적 변화를 유도한다는 것을 보여준다(Kato K. et al (2000) J. Mol. Biol. 295(2):213-24). Fc-Fc γ RIIb의 이용가능한 공결정(co-crystal) 복합체의 기하구조는 Fc γ R과 Fc가 1:1 화학양론으로 비대칭 배향으로 결합한다는 것을 확인시켜준다. 도 16에 나타난 바와 같이, Fc γ R은 편자 모양 Fc 분자의 한 말단 상의 갈라진 틈에 결합하고 2개의 쇠들로부터의 CH2 도메인과 접촉하고 있다.

[0126] 알라닌 스캐닝 돌연변이유발(Shields RL et al. (2001) JBC 276(9): 6591-604)은 다양한 수용체 유형들과 상호 접촉하여 Fc-Fc γ R 상호작용 및 인식에 관여하는 Fc의 잔기들에 대한 통찰을 제공한다. 전통적으로, 치료 항체의 최적화는 활성화 수용체 Fc γ RIII과의 증가된 결합(미국 특허 제6,737,056호) 또는 Fc γ RIIb에 대한 감소된 친화성(미국 특허출원 공보 제2009/0010920A1호)을 나타내는 돌연변이 근처에 집중되었다. 이들 대안적 변이체들에서, 돌연변이는 2개의 쇠들 내에 동시에 도입된다.

[0127] 단일클론 항체는 종종 표적 및 이펙터 면역 세포의 공간적 국소화를 유도함으로써 그의 치료 활성을 나타낸다. 천연 항체는 그의 Fab 도메인을 사용하여 표적과 상호작용하고 Fc 도메인을 사용하여 이펙터 세포와 상호작용함으로써 이것을 매개한다. 이들은 세포 매개 반응이 유도될 수 있도록 면역 복합체를 이펙터 세포와 대면하여 병치할 수 있다. 다수의 항체 분자들에 의한 단일 표적의 표적화를 포함하는 면역 복합체의 형성에서 유래되는, Fc γ R 신호전달에 필요한 친화력 효과는 면역 작용에서 시공적인 조직화의 중요성의 또 다른 예이다.

[0128] mAb 분자의 이펙터 활성의 일부로서 유도된 세포 신호전달에 대한 시공적인 양태도 존재한다. 세포 신호전달, 예컨대, Fc γ R 분자 활성화에 기초한 세포 신호전달은 지질 래프트(rafts)로서 지칭되는 막 도메인의 영역 내에서의 관련 수용체 분자들의 국소화를 수반한다. 지질 래프트에는 글리코스핑고지질 및 콜레스테롤, 및 Src 패밀리에 인산화효소(kinases)를 포함하는 업스트림 신호 전달도입체의 여러 클래스들이 풍부하다. 세포 자극시, 다양한 신호전달 분자, 어댑터 단백질 및 신호전달 인산화효소뿐만 아니라 인산분해효소(phosphatases)가 동원된다. 지질 래프트에서 분자 조립은 신호 전달도입을 위해 중요하다.

[0129] 상이한 항원 특이성과 증가된 친화력을 조합하여 보다 우수한 결합 성질을 제공하는 비천연 디자인 방법은 이중 특이적 치료제 디자인의 기초이다. 이중특이적 항체, 또는 다른 형태의 이중특이적 또는 다기능성 단백질 치료제는 표적과 다양한 이펙터 세포들 사이의 상호작용을 매개하기 위해 디자인된다(Muller & Kontermann (2010) BioDrugs 24(2):89-98). 다중특이적 치료 분자는 헬퍼 T 세포 또는 다른 면역 이펙터 세포를 특정 표적 세포로 다시 향하게 하도록 조작된다.

[0130] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 Fc γ RIIa, Fc γ RIIb 및/또는 Fc γ RIIIa에 대한 계산된 결합 친화성에 기초하여 인-실리코에서 Fc 변이체 폴리펩티드를 확인하는 방법에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 상기 방법은 상기 Fc 변이체 폴리펩티드의 인-실리코 정전기, 용매화, 팩킹, 팩킹 밀도, 수소 결합 및 엔트로피 효과를 계산하는 단계를 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 Fc 변이체 폴리펩티드를 구축하는 단계, 치료 항체의 면에서 상기 폴리펩티드를 발현시키는 단계, 및 포유동물 세포에서 상기 항체를 추가로 발현시키는 단계를 추가로 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 방법은 인-실리코에서 확인된 Fc 변이체 폴리펩티드를 부위 지정 돌연변이유발, PCR 기초 돌연변이유발, 카세트 돌연변이유발 또는 드 노보(de novo) 합성으로 구축하는 단계를 포함한다.

[0131] 합성 Fc 스카폴드의 디자인에서 고려되어야 하는 인자는 입체적 반발에 대한 인-실리코 계산, 파묻힌 경계면 면적의 변화, 상대적 접촉 밀도, 상대적 용매화 및 정전기 효과를 포함한다. 이들 모든 매트릭스들을 사용하여 친화성 점수를 획득하였다.

[0132] 한 양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 상에 구축된 비대칭 스카폴드의 디자인을 통해 정교한 Fc γ R 선택성 프로파일을 달성하는 분자 디자인을 기술한다. 이 스카폴드는 CH2 도메인 내의 비대칭 돌연변이가 다양한 신규 선택성 프로파일을 달성할 수 있게 한다. 추가로, 상기 스카폴드는 다기능성(이기능성, 삼기능성, 사기능성 또는 오기능성) 치료 분자의 조작을 위한 고유 특징을 갖는다.

- [0133] 비대칭 스카폴드는 분자의 보다 우수한 재활용을 가능하게 하고 그의 반감기 및 관련된 약물동역학적 성질을 향상시키기 위해 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 pH 의존성 결합 성질에 대해 최적화될 수 있다.
- [0134] 비대칭 스카폴드는 기능적으로 관련된 Fc γ RI 수용체 동종이형과의 결합에 대해 최적화될 수 있다. Fc γ RI은 만성 염증성 장애, 예컨대, 류마티스성 관절염, 아토피성 피부염, 건선 및 다수의 폐 질환들에 관여하는 대식세포상의 두드러진 마커이다.
- [0135] 비대칭 스카폴드는 단백질 A 결합에 대해 최적화될 수 있다. 단백질 A 결합은 종종 항체 분자의 분리 및 정제를 위해 이용된다. 저장 동안 치료제의 응집을 피하기 위해 돌연변이가 비대칭 스카폴드 내에 도입될 수 있다.
- [0136] 따라서, 본 발명의 Fc 변이체는 특히, 증가된 혈청 반감기, 증가된 결합 친화성, 감소된 면역원성, 증가된 생성, 향상된 또는 감소된 ADCC 또는 CDC 활성, 변경된 글리코실화 및/또는 이황화 결합 및 변형된 결합 특이성을 포함하나 이들로 한정되지 않는 바람직한 특징을 갖는 항체를 발생시키는 하나 이상의 추가 아미노산 잔기 치환, 돌연변이 및/또는 변형을 함유할 수 있다는 것이 구체적으로 고려된다.
- [0137] 본 발명의 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 증가된 포유동물, 특히 인간 생체내 반감기(예를 들면, 혈청 반감기), 증가된 생체내 안정성(예를 들면, 혈청 반감기) 및/또는 증가된 시험관내 안정성(예를 들면, 저장 수명), 및/또는 증가된 용융 온도(T_m)를 포함하는 다른 변경된 특징을 가질 수 있다는 것이 고려된다. 한 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 15일 초과, 20일 초과, 25일 초과, 30일 초과, 35일 초과, 40일 초과, 45일 초과, 2개월 초과, 3개월 초과, 4개월 초과 또는 5개월 초과의 생체내 반감기를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 15일 초과, 30일 초과, 2개월 초과, 3개월 초과, 6개월 초과, 12개월 초과, 24개월 초과, 36개월 초과 또는 60개월 초과의 시험관내 반감기(예를 들면, 액체 또는 분말 제제)를 갖는다.
- [0138] 본 발명의 Fc 변이체는 대상체에게 투여되었을 때 변경된 면역원성을 가질 수 있다는 것도 당업자에 의해 인식될 것이다. 따라서, 상기 Fc 변이체의 면역원성을 최소화하는 변이체 CH3 도메인은 일반적으로 치료 적용을 위해 보다 더 바람직하다는 것이 고려된다.
- [0139] 본 발명의 Fc 변이체는 이펙터 기능을 변경하는 변형을 포함하나 이것으로 한정되지 않는 다른 Fc 변형과 조합될 수 있다. 본 발명은 본 발명의 Fc 변이체를 다른 Fc 변형과 조합하여 항체 또는 Fc 융합 단백질에서 부가적, 상승작용적 또는 신규 성질을 제공하는 것을 포괄한다. 이러한 변형은 힌지, CH1 또는 CH2(또는, 상기 변형이 본 발명의 변이체 CH3 도메인의 안정성 및 순도 성질을 부정적으로 변경하지 않는 한, CH3) 도메인 또는 이들의 조합물에서 존재할 수 있다. 본 발명의 Fc 변이체는 그들과 조합되는 변형의 성질을 향상시킨다는 것이 고려된다. 예를 들면, 본 발명의 Fc 변이체가 야생형 Fc 영역을 포함하는 비교가능한 분자보다 더 높은 친화성으로 Fc γ RIIIA에 결합하는 것으로 공지된 돌연변이체와 조합되는 경우, 본 발명의 돌연변이체와의 조합은 Fc γ RIIIA 친화성을 보다 높은 배수만큼 향상시킨다.
- [0140] 한 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 다른 공지된 Fc 변이체, 예컨대, 하기 문헌들에 개시된 Fc 변이체와 조합될 수 있다: 문헌(Duncan et al., 1988, Nature 332:563-564); 문헌(Lund et al., 1991, J Immunol 147:2657-2662); 문헌(Lund et al., 1992, Mol Immunol 29:53-59); 문헌(Alegre et al., 1994, Transplantation 57:1537-1543); 문헌(Hutchins et al., 1995, Proc Natl. Acad Sci USA 92:11980-11984); 문헌(Jefferis et al., 1995, Immunol Lett. 44:111-117); 문헌(Lund et al., 1995, Faseb J 9:115-119); 문헌(Jefferis et al., 1996, Immunol Lett 54:101-104); 문헌(Lund et al., 1996, Immunol 157:4963-4969); 문헌(Armour et al., 1999, Eur J Immunol 29:2613-2624); 문헌(Idusogie et al., 2000, J Immunol 164:4178-4184); 문헌(Reddy et al., 2000, J Immunol 164:1925-1933); 문헌(Xu et al., 2000, Cell Immunol 200:16-26); 문헌(Idusogie et al., 2001, J Immunol 166:2571-2575); 문헌(Shields et al., 2001, J Biol Chem 276:6591-6604); 문헌(Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65); 문헌(Presta et al., 2002, Biochem Soc Trans 30:487-490); 미국 특허 제5,624,821호, 제5,885,573호 및 제6,194,551호; 미국 특허출원 제60/601,634호 및 제60/608,852호; 및 PCT 국제 공보 제WO 00/42072호 및 제WO 99/58572호.
- [0141] 당업자는 본 발명의 Fc 변이체가 변경된 Fc 리간드(예를 들면, Fc γ R, C1q) 결합 성질(결합 성질의 예로는 결합 특이성, 평형 해리 상수(K_D), 해리 및 결합 속도(각각 K_{off} 및 K_{on}), 결합 친화성 및/또는 친화력)을 가질 수 있고 일부 변경이 보다 더 또는 보다 덜 바람직하다는 것을 이해할 것이다. 평형 해리 상수(K_D)가 k_{off}/k_{on} 으로서 정의된다는 것은 당업계에서 잘 공지되어 있다. 일반적으로, 낮은 K_D 를 갖는 결합 분자(예를 들면, 항체)가 높은 K_D 를 갖는 결합 분자(예를 들면, 항체)보다 바람직한 것으로 이해된다. 그러나, 몇몇 경우, k_{on} 또는 k_{off} 의 값이

K_D 의 값보다 더 적절할 수 있다. 당업자는 어떤 반응속도 파라미터가 주어진 항체 적용에 가장 중요한지를 결정할 수 있다. 예를 들면, Fc와 음성 조절제 Fc γ RIIB의 결합을 비변화된 상태로 남기거나 심지어 감소시키면서 Fc와 하나 이상의 양성 조절제(예를 들면, Fc γ RIIA)의 결합을 향상시키는 변형된 CH3 및/또는 CH2는 ADCC 활성을 향상시키는 데에 보다 더 유리할 것이다. 대안적으로, 하나 이상의 양성 조절제와의 결합을 감소시키고/시키거나 Fc γ RIIB와의 결합을 향상시키는 변형된 CH3 및/또는 CH2는 ADCC 활성을 감소시키는 데에 유리할 것이다. 따라서, 결합 친화성의 비(예를 들면, 평형 해리 상수(K_D))는 Fc 변이체의 ADCC 활성이 향상되는지 아니면 감소되는지를 표시할 수 있다. 예를 들면, Fc γ RIIA/Fc γ RIIB 평형 해리 상수(K_D)의 비의 감소는 개선된 ADCC 활성과 상관관계를 가질 것이지만, 상기 비의 증가는 ADCC 활성의 감소와 상관관계를 가질 것이다.

[0142] Fc 변이체의 특징규명의 일부로서, 상기 변이체를 Fc γ RIIA(CD16a) 및 Fc γ RIIB(CD32b)에 대한 그들의 결합 친화성에 대해 시험하였고 야생형 IgG1과 비교된 비로서 보고하였다. (실시예 4 및 표 5를 참조한다.) 이 경우, 이들 활성화 Fc 수용체 및 억제 Fc 수용체와의 결합에 대한 CH3 도메인 돌연변이의 영향을 평가할 수 있었다. 한 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70°C 초과 용융 온도(T_m)를 갖고, 이때 상기 이중이량체와 CD16a의 결합은 야생형 동종이량체와 비교될 때 거의 동일하다. 일부 실시양태에서, 상기 이중이량체와 CD16a의 결합은 야생형 동종이량체에 비해 증가된다. 대안적 실시양태에서, 상기 이중이량체와 CD16a의 결합은 야생형 동종이량체에 비해 감소된다.

[0143] 일부 실시양태에서, 본원은 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 단리된 이중다량체를 제공하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70°C 초과 용융 온도(T_m)를 갖고, 이때 상기 이중이량체와 CD32b의 결합은 야생형 동종이량체와 비교될 때 거의 동일하다. 일부 실시양태에서, 상기 이중이량체와 CD32b의 결합은 야생형 동종이량체에 비해 증가된다. 대안적 실시양태에서, 상기 이중이량체와 CD32b의 결합은 야생형 동종이량체에 비해 감소된다.

[0144] 당업자는 CD16a 및 CD32b와의 결합에 대한 K_D 를 Fc 변이체 대 야생형 동종이량체의 비로서 보고하는 대신에, 상기 K_D 를 CD16a에 결합하는 Fc 변이체 대 CD32b에 결합하는 Fc 변이체의 비로서 보고할 수 있다는 것을 이해할 것이다(데이터는 제시되지 않음). 이 비는 하기 보다 상세히 기재된 바와 같이 야생형에 비해 비변화된, 증가된 또는 감소된, ADCC에 대한 변이체 CH3 도메인 돌연변이의 효과 표시를 제공할 것이다.

[0145] ELISA 분석, 표면 플라스몬 공명 분석, 면역침전 분석(하기 "특징규명 및 기능 분석"의 표제를 갖는 단락 참조) 및 다른 방법, 예컨대, 간접 결합 분석, 경쟁 억제 분석, 형광 공명 에너지 전달(FRET), 겔 전기영동 및 크로마토그래피(예를 들면, 겔 여과)를 포함하나 이들로 한정되지 않는, Fc-Fc γ R 상호작용, 즉 Fc 영역과 Fc γ R의 특이적 결합을 측정하는 당업계의 공지된 시험관내 분석(생화학적 또는 면역학적 기초 분석)을 이용하여 Fc γ R에 대한 본 발명의 Fc 변이체의 친화성 및 결합 성질을 먼저 측정한다. 이들 방법들 및 다른 방법들은 조사될 성분들 중 하나 이상의 성분 상의 표지를 이용할 수 있고/있거나 발색 표지, 형광 표지, 발광 표지 또는 동위원소 표지를 포함하나 이들로 한정되지 않는 다양한 검출 방법들을 이용할 수 있다. 결합 친화성 및 반응속도에 대한 상세한 설명은 항체-면역원 상호작용에 초점을 두는 문헌(Paul, W. E., ed., Fundamental Immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999))에서 찾을 수 있다.

[0146] 본 발명의 분자의 결합 성질은 하나 이상의 Fc γ R 매개자 이펙터 세포 기능을 측정하는 시험관내 기능 분석(하기 "특징규명 및 기능 분석"의 표제를 갖는 단락 참조)에 의해서도 특징규명된다는 것이 고려된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 분자는 시험관내 기초 분석에서의 결합 성질과 유사한 생체내 모델(예컨대, 본원에 기재되고 개시된 생체내 모델)에서의 결합 성질을 갖는다. 그러나, 본 발명은 시험관내 기초 분석에서 원하는 표현형을 나타내지 않지만 생체내에서 원하는 표현형을 나타내는 본 발명의 분자를 배제하지 않는다.

[0147] 본 발명은 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 증가된 친화성으로 Fc γ RIIA(CD16a)에 결합하는 Fc 변이체를 포괄한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 증가된 친화성으로 Fc γ RIIA에 결합하고 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된 또는 감소된 결합 친화성으로 Fc γ RIIB(CD32b)에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 감소된 Fc γ RIIA/Fc γ RIIB 평형 해리 상수(K_D)의 비를 갖는다.

- [0148] 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 감소된 친화성으로 Fc γ RIIIA(CD16a)에 결합하는 Fc 변이체도 본 발명에 의해 포괄된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 감소된 친화성으로 Fc γ RIIIA에 결합하고 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된 또는 증가된 결합 친화성으로 Fc γ RIIB에 결합한다.
- [0149] 한 실시양태에서, Fc 변이체는 증가된 친화성으로 Fc γ RIIIA에 결합한다. 특정 실시양태에서, 상기 Fc 변이체는 비교가능한 분자의 Fc γ RIIIA에 대한 친화성보다 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 7배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 100배 이상 또는 200배 이상 더 높은 Fc γ RIIIA에 대한 친화성을 갖는다. 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 증가된 Fc γ RIIIA에 대한 친화성을 갖는다.
- [0150] 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 약 2배 내지 10배, 약 5배 내지 50배, 약 25배 내지 250배, 약 100배 내지 500배 또는 약 250배 내지 1000배 감소된 Fc 리간드(예를 들면, Fc γ R, C1q)에 대한 평형 해리 상수(K_D)를 갖는다.
- [0151] 또 다른 실시양태에서, 상기 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 7배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 400배 이상 또는 600배 이상 감소된 Fc γ RIIIA에 대한 평형 해리 상수(K_D)를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 감소된 Fc γ RIIIA에 대한 평형 해리 상수(K_D)를 갖는다.
- [0152] 한 실시양태에서, Fc 변이체는 비변화된 또는 감소된 친화성으로 Fc γ RIIB에 결합한다. 특정 실시양태에서, 상기 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된, 또는 1배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 감소된 Fc γ RIIB에 대한 친화성을 갖는다. 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된, 또는 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 감소된 Fc γ RIIB에 대한 친화성을 갖는다.
- [0153] 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된, 또는 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 7배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 100배 이상 또는 200배 이상 증가된 Fc γ RIIB에 대한 평형 해리 상수(K_D)를 갖는다. 또 다른 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된, 또는 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 증가된 Fc γ RIIB에 대한 평형 해리 상수(K_D)를 갖는다.
- [0154] 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 증가된 친화성으로 Fc γ RIIIA에 결합하고 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된 또는 감소된 친화성으로 Fc γ RIIB에 결합한다. 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 1배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 증가된 Fc γ RIIIA에 대한 친화성을 갖는다. 또 다른 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된, 또는 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 7배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 감소된 Fc γ RIIB에 대한 친화성을 갖는다. 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 증가된 Fc γ RIIIA에 대한 친화성을 갖고, 상기 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된, 또는 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 증가된 Fc γ RIIB에 대한 친화성을 갖는다.
- [0155] 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 감소된 Fc γ RIIIA/Fc γ RIIB 평형 해리 상수(K_D)의 비를 갖는다. 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 1배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 감소된 Fc γ RIIIA/Fc γ RIIB 평형 해리 상수(K_D)의 비를 갖는다. 또 다른 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상,

20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 감소된 Fc γ RIIIA/Fc γ RIIB 평형 해리 상수(K_D)의 비를 갖는다.

[0156] 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 감소된 친화성으로 Fc γ RIIIA에 결합한다. 특정 실시양태에서, 상기 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 1배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 감소된 Fc γ RIIIA에 대한 친화성을 갖는다. 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 감소된 Fc γ RIIIA에 대한 친화성을 갖는다.

[0157] 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 감소된 친화성으로 Fc γ RIIIA에 결합하고 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 비변화된 또는 증가된 친화성으로 Fc γ RIIB에 결합한다. 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 1배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 감소된 Fc γ RIIIA에 대한 친화성을 갖는다. 또 다른 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자의 Fc γ RIIB에 대한 친화성보다 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 7배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 더 높은 Fc γ RIIB에 대한 친화성을 갖는다. 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 감소된 Fc γ RIIIA에 대한 친화성을 갖고, 상기 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 증가된 Fc γ RIIB에 대한 친화성을 갖는다.

[0158] 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자의 Fc γ RIIIA에 대한 평형 해리 상수(K_D)에 비해 1배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상 또는 50배 이상 증가된 Fc γ RIIIA에 대한 평형 해리 상수(K_D)를 갖는다. 특정 실시양태에서, 상기 Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 7배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 감소된 Fc γ RIIB에 대한 평형 해리 상수(K_D)를 갖는다.

[0159] Fc γ R 선택성에 대한 CH2 변경

[0160] Fc-Fc γ R 복합체에서 Fc-Fc γ R 단백질-단백질 상호작용은 Fc 분자 내의 2개 쇠가 Fc γ R 분자 상의 2개의 상이한 부위와 상호작용한다는 것을 암시한다. 천연 Fc 분자 내의 2개 중쇄에서 대칭이 존재하지만, 1개 쇠 상의 잔기들 주변의 국소 Fc γ R 환경은 반대 Fc 쇠 상의 동일한 잔기 위치를 둘러싸는 Fc γ R 잔기와 상이하다. 2개의 대칭 관련 위치들은 Fc γ R 잔기들의 상이한 선택과 상호작용한다.

[0161] Fc와 Fc γ R의 결합에서 비대칭이 존재하는 한, Fc 분자의 쇠 A 및 B에 공존하는 돌연변이는 대칭 방식으로의 Fc γ R과의 상호작용에 영향을 미치지 않는다. 동종이량체 Fc 구조에서 Fc의 1개 쇠와 그의 국소 Fc γ R 환경의 상호작용을 최적화하기 위해 돌연변이가 도입될 때, 제2 쇠 내의 상응하는 돌연변이는 필요한 Fc γ R 결합 및 선택성 프로파일에 유리할 수 있거나, 불리할 수 있거나 기여하지 않을 수 있다.

[0162] 구조 및 컴퓨터 이용에 의해 안내된 방법을 이용하여 Fc의 2개 쇠에서 비대칭 돌연변이를 조합함으로써 Fc의 2개 쇠 상에 동일한 돌연변이를 도입하는 전통적인 Fc 조작 방법의 이들 한계점을 극복한다. Fc의 2개 쇠가 수용체 분자의 그들의 상응하는 면과의 향상된 결합을 위해 독립적으로 최적화되는 경우 수용체들 사이의 보다 우수한 결합 선택성을 달성할 수 있다.

[0163] 예를 들면, Fc의 1개 쇠 상의 특정 위치에 존재하는 돌연변이는 특정 잔기에 대한 선택성을 향상시키도록 디자인될 수 있는 반면(양성 디자인 노력), 동일한 잔기 위치는 대안적 Fc γ 수용체 유형의 그의 국소 환경과 불리하게 상호작용하도록 돌연변이될 수 있고(음성 디자인 노력), 이로써 2개 수용체들 사이의 보다 우수한 선택성을 달성할 수 있다. 일부 실시양태에서, 상이한 Fc γ 수용체에 비해 1개의 Fc γ 수용체에 선택적으로 결합하는 (예를 들면, Fc γ RIIb 대신에 Fc γ RIIIa에 선택적으로 결합하는) CH2 도메인 내의 비대칭 아미노산 변형을 디자인하는 방법이 제공된다. 다른 일부 실시양태에서, 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 변형을 CH3 도메인 내에 포함하는 변이체 Fc 이종이량체의 CH2 도메인 내의 비대칭 아미노산 변형을 디자인하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, CH2 도메인 내에 비대칭 아미노산 변형을 포함하는 변이체 Fc 이종이량체에 기초하여 상이한 Fc γ 수용체에 대한 선택성을 디자인하는 방법이 제공된다. 또 다른 실시양태에서, Fc γ 수용체와 Fc 분자

의 한 면의 결합을 편향시키는 비대칭 아미노산 변형을 디자인하는 방법이 제공된다. 다른 일부 실시양태에서, Fc γ 수용체가 CH2 도메인 내에 비대칭 아미노산 변형을 포함하는 변이체 Fc 이종이량체의 한 면과만 상호작용하도록 편향시키는 극성 유발제를 디자인하는 방법이 제공된다.

[0164] CH2 도메인 내의 돌연변이의 비대칭 디자인은 Fc 분자의 한 면 상에서 Fc γ R을 인식하도록 다듬어질 수 있다. 이것은 비대칭 Fc 스카폴드의 생산적 면을 구성하는 반면, 반대 면은 디자인된 선택성 프로파일 없이 야생형 유사 상호작용 성향을 제공하고 비생산적 면으로서 간주될 수 있다. 음성 디자인 방법을 이용하여 상기 비생산 면 상에 돌연변이를 도입하여 비대칭 Fc 스카폴드의 이 면과 Fc γ R의 상호작용을 차단함으로써, Fc γ 수용체에 대한 원하는 상호작용 경향을 강화할 수 있다.

[0165] [표 E]

상기한 Fc γ 수용체들에 대한 Fc의 잠재적으로 흥미로운 선택성 프로파일

	수용체 결합		
	Fc γ RIIIa F/V	Fc γ RIIIa H/R	Fc γ RIIb F/Y
변이체	↑ / -	×	×
	×	↑ / -	×
	×	×	↑ / -
	↑ / -	↑ / -	×
	↑ / -	×	↑ / -
	×	↑ / -	↑ / -

(↑/-)는 특정 수용체 유형 또는 그의 동종이형 중 하나에 대한 증가된 또는 야생형 유사 결합을 나타내는 변이체를 표시한다. (×)는 수용체 또는 서브 세트 동종이형에 대한 뚜렷한 결합이 없음을 표시한다.

[0166]

[0167] 또한, 본 발명은 증가된 안정성을 갖는 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하는 Fc 영역에 융합된 결합 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드에 관한 것으로서, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70℃ 초과 용융 온도(T_m)를 갖는다. 변이체 CH3 도메인을 포함하는 이종이량체를 포함하는 분자는 당업자에게 잘 공지된 방법에 의해 발생될 수 있다는 것이 구체적으로 고려된다. 요약하건대, 이러한 방법은 원하는 특이성을 갖는 가변 영역 또는 결합 도메인(예를 들면, 파지 디스플레이 또는 발현 라이브러리로부터 단리되거나 인간 또는 비인간 항체로부터 유래된 가변 영역 또는 수용체의 결합 도메인)과 변이체 Fc 이종이량체의 조합을 포함하나 이것으로 한정되지 않는다. 대안적으로, 당업자는 Fc 영역을 포함하는 분자(예를 들면, 항체)의 Fc 영역 내의 CH3 도메인을 변형시킴으로써 변이체 Fc 이종이량체를 발생시킬 수 있다.

[0168] 한 실시양태에서, Fc 변이체는 항체 또는 Fc 융합 단백질이다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 증가된 안정성을 갖는 이종이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하는 Fc 영역을 포함하는 항체를 제공하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70℃ 초과 용융 온도(T_m)를 갖는다. 이러한 항체는 Fc 변이체를 발생시키도록 변형될 수 있는 CH3 도메인을 함유하는 Fc 영역을 천연적으로 포함하는 IgG 분자, 또는 변이체 CH3 도메인을 포함하는 Fc 영역을 함유하도록 조작된 항체 유도체를 포함한다. 본 발명의 Fc 변이체는 변이체 CH3 도메인을 포함하는 Fc 영역을 포함하는, 바람직하게는 항원에 특이적으로 결합하는(즉, 특이적 항원-항체 결합을 분석하는 당업계의 잘 공지된 면역분석에 의해 측정되었을 때 비특이적 결합과 경쟁하는) 임의의 항체 분자를 포함한다. 이러한 항체는 다중클론 항체, 단일클론 항체, 단일특이적 항체, 이중특이적 항체, 다중특이적 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 단일 쇄 항체, Fab 단편, F(ab')₂ 단편, 이황화 결합된 Fvs, 및 VL 또는 VH 도메인을 함유하거나 심지어 항원에 특이적으로 결합하는 상보성 결정 영역(CDR)을 함유하는 단편(일부 경우 변이체 Fc 이종이량체를 함유하거나 변이체 Fc 이종이량체에 융합되도록 조작됨)을 포함하나 이들로 한정되지 않는다.

[0169] "항체 의존성 세포 매개 세포독성" 또는 "ADCC"는 일부 세포독성 세포(예를 들면, 천연 살해(NK)세포, 호중구 및 대식세포) 상에 존재하는 Fc 수용체(FcR) 상에 결합된 분비된 항체가 이들 세포독성 이펙터 세포들로 하여금 항원-치유 표적 세포에 특이적으로 결합한 후 상기 표적 세포를 세포독소로 사멸시킬 수 있게 하는 세포독성의 한 형태를 의미한다. 표적 세포의 표면에 대해 유도된 특이적 고 친화성 IgG 항체는 세포독성 세포를 "무장시키고" 이러한 사멸을 위해 절대적으로 필요하다. 표적 세포의 용해는 세포외에서 일어나고 직접적인 세포 대 세포

접촉을 필요로 하고 보체를 수반하지 않는다.

- [0170] ADCC에 의한 표적 세포의 용해를 매개하는 임의의 특정 항체의 능력을 분석할 수 있다. ADCC 활성을 평가하기 위해, 항원-항체 복합체에 의해 활성화되어 표적 세포의 세포용해를 초래할 수 있는 면역 이펙터 세포와 함께 관심 있는 항체를 표적 세포에 첨가한다. 세포용해는 일반적으로 용해된 세포로부터의 표지(방사성 기질, 형광 염료 또는 천연 세포내 단백질)의 방출에 의해 검출된다. 이러한 분석에 유용한 이펙터 세포는 말초혈 단핵세포(PBMC) 및 천연 살해(NK) 세포를 포함한다. 시험관내 ADCC 분석의 구체적인 예는 문헌(Wisecarver et al., 1985, 79:277); 문헌(Bruggemann et al., 1987, J Exp Med 166:1351); 문헌(Wilkinson et al., 2001, J Immunol Methods 258:183); 문헌(Patel et al., 1995 J Immunol Methods 184:29) 및 본원(하기 "특징규명 및 기능 분석"의 표제를 갖는 단락 참조)에 기재되어 있다. 대안적으로 또는 추가로, 관심 있는 항체의 ADCC 활성은 생체내, 예를 들면, 동물 모델, 예컨대, 문헌(Clynes et al., 1998, PNAS USA 95:652)에 개시된 동물 모델에서 평가될 수 있다.
- [0171] 본 발명의 Fc 변이체는 하나 이상의 Fc γ R 매개자 이펙터 세포 기능을 측정하는 시험관내 기능 분석에 의해 특징규명된다는 것이 고려된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 분자는 시험관내 기초 분석에서의 결합 성질 및 이펙터 세포 기능과 유사한 생체내 모델(예컨대, 본원에 기재되고 개시된 생체내 모델)에서의 결합 성질 및 이펙터 세포 기능을 갖는다. 그러나, 본 발명은 시험관내 기초 분석에서 원하는 표현형을 나타내지 않지만 생체내에서 원하는 표현형을 나타내는 본 발명의 분자를 배제하지 않는다.
- [0172] 본 발명은 향상된 CDC 기능을 갖는 Fc 변이체를 추가로 제공한다. 한 실시양태에서, Fc 변이체는 증가된 CDC 활성을 갖는다. 한 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자의 CDC 활성보다 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 더 높은 CDC 활성을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자의 친화성보다 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 7배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 더 높은 친화성으로 C1q에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 증가된 CDC 활성을 갖는다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 증가된 친화성으로 C1q에 결합하고, 향상된 CDC 활성을 갖고, 하나 이상의 항원에 특이적으로 결합한다.
- [0173] 또한, 본 발명은 감소된 CDC 기능을 갖는 Fc 변이체를 제공한다. 한 실시양태에서, Fc 변이체는 감소된 CDC 활성을 갖는다. 한 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자의 CDC 활성보다 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 더 낮은 CDC 활성을 갖는다. 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 1배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 50배 이상 또는 100배 이상 감소된 친화성으로 C1q에 결합한다. 또 다른 실시양태에서, Fc 변이체는 비교가능한 분자에 비해 상대적으로 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 100% 이상, 150% 이상 또는 200% 이상 감소된 CDC 활성을 갖는다. 특정 실시양태에서, Fc 변이체는 감소된 친화성으로 C1q에 결합하고, 감소된 CDC 활성을 갖고, 하나 이상의 항원에 특이적으로 결합한다.
- [0174] 몇몇 실시양태에서, Fc 변이체는 하나 이상의 조작된 당형태(glycoform), 즉 Fc 영역을 포함하는 분자에 공유부착된 탄수화물 조성물을 포함한다. 조작된 당형태는 이펙터 기능의 향상 또는 감소를 포함하나 이들로 한정되지 않는 다양한 목적에 유용할 수 있다. 조작된 당형태는 당업자에게 공지된 임의의 방법, 예를 들면, 조작된 또는 변이체 발현 균주의 사용, 하나 이상의 효소, 예를 들면, β (1,4)-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III(GnTIII)와의 동시발현, 다양한 유기체 또는 다양한 유기체로부터의 세포주에서 Fc 영역을 포함하는 분자의 발현, 또는 Fc 영역을 포함하는 분자의 발현 후 탄수화물(들)의 변형에 의해 발생될 수 있다. 조작된 당형태를 발생시키는 방법은 당업계에서 공지되어 있고, 문헌(Umana et al., 1999, Nat. Biotechnol 17:176-180), 문헌(Davies et al., 20017 Biotechnol Bioeng 74:288-294), 문헌(Shields et al., 2002, J Biol Chem 277:26733-26740), 문헌(Shinkawa et al., 2003, J Biol Chem 278:3466-3473), 미국 특허 제6,602,684호, 미국 특허출원 제10/277,370호, 미국 특허출원 제10/113,929호, PCT 국제 공보 제WO 00/61739A1호, PCT 국제 공보 제WO 01/292246A1호, PCT 국제 공보 제WO 02/311140A1호 및 PCT 국제 공보 제WO 02/30954A1호에 기재된 방법; 포틸리전트(Potillegent)TM 기술(바이오와 인코포레이티드(Biowa, Inc.), 미국 뉴저지주 프린스턴 소재); 및 글리코(Glyco)MABTM 글리코실화 조작 기술(글리카트 바이오테크놀로지 아게(GLYCART biotechnology AG), 스위스 취리히 소재)을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 예를 들면, PCT 국제 공보 제WO 00061739호, 유럽 특허출원 공보 제01229125호, 미국 특허출원 공보 제20030115614호 및 문헌(Okazaki et al., 2004, JMB, 336: 1239-49)을 참조한다.

- [0175] Fc 변이체는 가변 영역 및 이중이량체 Fc 영역을 포함하는 항체를 포함하고, 이때 상기 이중이량체 Fc 영역은 증가된 안정성을 갖는 이중이량체 형성을 촉진하기 위한 아미노산 돌연변이를 포함하는 변이체 CH3 도메인을 포함하고, 이때 상기 변이체 CH3 도메인은 70℃ 초과 용융 온도(T_m)를 갖는 것이 고려된다. 항체인 Fc 변이체는 하나 이상의 항원에 특이적으로 결합하는 가변 도메인 또는 이의 단편을, 변이체 CH3 도메인을 포함하는 이중이량체 Fc 영역과 조합함으로써 "드 노보" 제조될 수 있다. 대안적으로, 이중이량체 Fc 변이체는 항원에 결합하는 Fc 영역 함유 항체의 CH3 도메인을 변형시킴으로써 제조될 수 있다.
- [0176] 본 발명의 항체는 합성 항체, 단일클론 항체, 재조합 제조된 항체, 인트라바디, 단일특이적 항체, 다중특이적 항체, 이중특이적 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 합성 항체, 단일쇄 FvFc(scFvFc), 단일쇄 Fvs(scFv), 및 항-이디오타입(항-Id) 항체를 포함할 수 있으나 이들로 한정되지 않는다. 특히, 본 발명의 방법에서 사용되는 항체는 면역글로불린 분자 및 면역글로불린 분자의 면역학적 활성 부분을 포함한다. 본 발명의 면역글로불린 분자는 임의의 유형(예를 들면, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 클래스(예를 들면, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂) 또는 서브클래스의 면역글로불린 분자일 수 있다.
- [0177] 본 발명의 항체는 조류 및 포유동물(예를 들면, 인간, 무린, 당나귀, 양, 토끼, 염소, 기니아 피그, 낙타, 말 또는 닭)을 포함하는 임의의 동물로부터 유래될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 인간 또는 인간화된 단일클론 항체, 특히 이중특이적 단일클론 항체이다. 본원에서 사용된 바와 같이, "인간" 항체는 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체를 포함하고 인간 면역글로불린 라이브러리로부터 단리되거나 인간 유전자로부터 항체를 발현하는 마우스로부터 단리된 항체를 포함한다.
- [0178] 모든 폴리펩티드처럼 항체는 폴리펩티드가 순 전하를 보유하지 않는 pH로서 일반적으로 정의되는 등전점(pI)을 갖는다. 용액의 pH가 단백질의 등전점(pI)과 동일할 때 단백질 가용성이 전형적으로 가장 낮다는 것은 당업계에 공지되어 있다. 항체에서 이온화가능한 잔기의 수 및 위치를 변경하여 pI를 조절함으로써 가용성을 최적화할 수 있다. 예를 들면, 폴리펩티드의 pI는 적절한 아미노산 치환을 만들어(예를 들면, 비하전된 잔기, 예컨대, 알라닌을 하전된 아미노산, 예컨대, 라이신으로 치환시켜) 조절할 수 있다. 임의의 특정 이론에 구속받으려 하는 것은 아니지만, 항체의 pI를 변화시키는 상기 항체의 아미노산 치환은 상기 항체의 가용성 및/또는 안정성을 개선할 수 있다. 당업자는 어떤 아미노산 치환이 특정 항체의 원하는 pI를 달성하는 데에 가장 적절한 것인지를 이해할 것이다. 단백질의 pI는 등전 포커싱(isoelectric focusing) 및 컴퓨터를 이용한 다양한 알고리즘을 포함하나 이들로 한정되지 않는 다양한 방법에 의해 측정될 수 있다(예를 들면, 문헌(Bjellqvist et al., 1993, Electrophoresis 14:1023) 참조). 한 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체의 pI는 pH 6.2 내지 pH 8.0이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체의 pI는 pH 6.8 내지 pH 7.4이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체의 pI를 변경시키는 치환은 항원에 대한 상기 변이체의 결합 친화성을 유의하게 감소시키지 않을 것이다. 증가된 안정성을 갖는 변이체 CH3 도메인도 pI를 변화시킬 수 있다는 것이 고려된다. 한 실시양태에서, 변이체 Fc 이중이량체는 특히 증가된 안정성 및 순도 둘다 및 pI의 임의의 원하는 변화에 영향을 미치도록 선택된다.
- [0179] 본 발명의 항체는 단일특이적, 이중특이적 또는 삼중특이적일 수 있거나 보다 더 높은 다중특이성을 가질 수 있다. 다중특이적 항체는 원하는 표적 분자의 상이한 에피토프들에 특이적으로 결합할 수 있거나 표준 분자 및 이중 에피토프, 예컨대, 이중 폴리펩티드 또는 고체 지지체 물질 둘다에 특이적으로 결합할 수 있다. 예를 들면, PCT 국제 공보 제WO 94/04690호, 제WO 93/17715호, 제WO 92/08802호, 제WO 91/00360호 및 제WO 92/05793호; 문헌(Tutt, et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69); 미국 특허 제4,474,893호, 제4,714,681호, 제4,925,648호, 제5,573,920호 및 제5,601,819호; 및 문헌(Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148:1547)을 참조한다.
- [0180] 다기능성 표적화 분자의 다양한 실시양태들이 도 20에 나타낸 바와 같이 이 비대칭 스카폴드에 기초하여 디자인될 수 있다.
- [0182] *다중특이적 항체는 2개 이상의 상이한 항원에 대한 결합 특이성을 갖는다. 이러한 분자는 통상적으로 단지 2개의 항원에 결합할 것이지만(즉, 이중특이적 항체, BsAb), 추가 특이성을 갖는 항체, 예컨대, 삼중특이적 항체는 본 발명에 의해 포괄된다. BsAb의 예로는 종양 세포 항원에 대해 유도된 한 아암 및 세포독성 분자에 대해 유도된 다른 아암을 갖는 BsAb, 2개의 상이한 종양 세포 항원들에 대해 유도된 2개의 아암을 갖는 BsAb, 2개의 상이한 가용성 리간드들에 대해 유도된 2개의 아암을 갖는 BsAb, 가용성 리간드에 대해 유도된 한 아암 및 세포 표면 수용체에 대해 유도된 다른 아암을 갖는 BsAb, 또는 2개의 상이한 세포 표면 수용체들에 대해 유도된 2개의 아암을 갖는 BsAb가 있으나 이들로 한정되지 않는다. 이중특이적 항체의 제조 방법은 당업계에서 공지되어 있다.

- [0183] 상이한 방법에 따르면, 원하는 결합 특이성을 갖는 항체 가변 도메인(항체-항원 결합 부위)은 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 상기 융합은 힌지의 적어도 일부, CH2 및 CH3 영역을 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 도메인과의 융합일 수 있다. 경쇄 결합에 필요한 부위를 함유하는 제1 중쇄 불변 영역(CH1)은 융합체들 중 적어도 하나에 존재한다는 것이 고려된다. 면역글로불린 중쇄 융합체 및 원하는 경우 면역글로불린 경쇄를 코딩하는 DNA들은 분리된 발현 벡터 내로 삽입되고 적합한 숙주 유기체 내로 동시형질감염된다. 이것은 구축에서 사용된 3개의 폴리펩티드 쇠들의 동등하지 않은 비가 최적 수율을 제공하는 실시양태에서 3개의 폴리펩티드 단편의 상호 비율을 조절하는 데 있어서 큰 유연성을 제공한다. 실시예 1 및 표 2를 참조한다. 그러나, 동등한 비의 2개 이상의 폴리펩티드 쇠들의 발현이 높은 수율을 발생시킬 때 또는 상기 비가 특별한 의의를 갖지 않을 때 2개의 또는 모든 3개의 폴리펩티드 쇠들에 대한 코딩 서열을 1개의 발현 벡터 내에 삽입할 수 있다.
- [0184] 이중특이적 항체는 가교연결된 또는 "이중접합체" 항체를 포함한다. 예를 들면, 이중접합체에서 항체들 중 하나는 아비딘에 커플링될 수 있고 다른 하나는 바이오틴에 커플링될 수 있다. 예를 들면, 이러한 항체는 면역 시스템 세포를 원치 않는 세포에 표적화하기 위해(미국 특허 제4,676,980호) 및 HIV 감염을 치료하기 위해(PCT 국제 공보 제WO 91/00360호 및 제WO 92/200373호, 및 유럽 특허 제03089호) 제안되었다. 임의의 편리한 가교연결 방법을 이용하여 이중접합체 항체를 제조할 수 있다. 적합한 가교연결제는 당업계에서 잘 공지되어 있고 다수의 가교연결 기법들과 함께 미국 특허 제4,676,980호에 개시되어 있다.
- [0185] 본 발명의 변이체 CH3 도메인 및 생성된 Fc 이종이량체를 포함하는, 2 초과와 원자수를 갖는 항체가 고려된다. 예를 들면, 삼중특이적 항체가 제조될 수 있다. 예를 들면, 문헌(Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991))을 참조한다.
- [0186] 본 발명의 항체는 포유동물(예를 들면, 인간)에서 15일 초과, 20일 초과, 25일 초과, 30일 초과, 35일 초과, 40일 초과, 45일 초과, 2개월 초과, 3개월 초과, 4개월 초과 또는 5개월 초과와 반감기(예를 들면, 혈청 반감기)를 갖는 항체도 포괄한다. 포유동물(예를 들면, 인간)에서 본 발명의 항체의 증가된 반감기는 상기 포유동물에서 상기 항체 또는 항체 단편의 혈청 역가를 보다 더 높임으로써 상기 항체 또는 항체 단편의 투여 빈도를 감소시키고/시킴거나 투여될 상기 항체 또는 항체 단편의 농도를 감소시킨다. 증가된 시험관내 반감기를 갖는 항체는 당업자에게 공지된 기법에 의해 발생될 수 있다. 예를 들면, 증가된 생체내 반감기를 갖는 항체는 Fc 도메인과 FcRn 수용체 사이의 상호작용에 관여하는 아미노산 잔기로서 확인된 아미노산 잔기를 변형시킴으로써(예를 들면, 치환시키거나, 결실시키거나 부가함으로써) 발생될 수 있다(예를 들면, PCT 국제 공보 제WO 97/34631호 및 제WO 04/029207호; 미국 특허 제6,737,056호; 및 미국 특허 공보 제2003/0190311호 참조).
- [0187] 변이체 CH3 도메인을 포함하는 변이체 Fc 이종이량체가 다중특이적 항체(본원에서 본 발명의 항체로서 지칭됨)인 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 관심 있는 항원에 특이적으로 결합한다. 특히, 본 발명의 항체는 이중특이적 항체이다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 폴리펩티드 항원에 특이적으로 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 항체는 비폴리펩티드 항원에 특이적으로 결합한다. 또 다른 실시양태에서, 질환 또는 장애를 앓고 있는 포유동물에게 본 발명의 항체를 투여함으로써 상기 포유동물에서 치료 이점을 발생시킬 수 있다.
- [0188] 하기 단백질 목록뿐만 아니라 하기 단백질 목록에 속하는 서브유닛, 도메인, 모티프 및 에피토프를 포함하나 이들로 한정되지 않는 사실상 임의의 분자가 변이체 Fc 이종이량체 단백질(예를 들면, 항체, Fc 융합 단백질)에 의해 표적화될 수 있고/있거나 변이체 Fc 이종이량체 단백질 내로 도입될 수 있다: 레닌; 인간 성장 호르몬 및 소 성장 호르몬을 포함하는 성장 호르몬; 성장 호르몬 방출 인자; 부갑상선 호르몬; 갑상선 자극 호르몬; 지단백질; 알파-1-항트립신; 인슐린 A-쇄; 인슐린 B-쇄; 전구인슐린; 여포 자극 호르몬; 칼시토닌; 황체 형성 호르몬; 글루카곤; 응고 인자, 예컨대, 인자 VII, 인자 VIIIC, 인자 IX, 조직 인자(TF) 및 본 빌레브란트(von Willebrands) 인자; 항-응고 인자, 예컨대, 단백질 C; 심방나트륨이뇨 인자; 폐 계면활성제; 플라스미노겐 활성화제, 예컨대, 유로키나제(urokinase), 또는 인간 소변 또는 조직 유형 플라스미노겐 활성화제(t-PA); 붐베신; 트롬빈; 조혈 성장 인자; 중앙 괴사 인자-알파 및 중앙 괴사 인자-베타; 엔케팔리나제(enkephalinase); RANTES(regulated on activation normally T-cell expressed and secreted); 인간 대식세포 염증 단백질(MIP-1-알파); 혈청 알부민, 예컨대, 인간 혈청 알부민; 물러리안(Muellerian) 억제 물질; 렐락신(relaxin) A-쇄; 렐락신 B-쇄; 전구렐락신; 마우스 성선자극호르몬 관련 펩티드; 미생물 단백질, 예컨대, 베타-락타마제(lactamase); DNase; IgE; 세포독성 T-림프구 관련 항원(CTLA), 예컨대, CTLA-4; 인히빈(inhibin); 액티빈(activin); 혈관 내피 성장 인자(VEGF); 호르몬 또는 성장 인자에 대한 수용체, 예컨대, EGFR, VEGFR; 인터페론, 예컨대, 알파 인터페론(α -IFN), 베타 인터페론(β -IFN) 및 감마 인터페론(γ -IFN); 단백질 A 또는 D; 류마티스 인자; 신경영양 인자, 예컨대, 골 유래의 신경영양 인자(BDNF), 뉴로트로핀-3, 뉴로트로핀-4, 뉴로트로핀-5 또는 뉴로트로핀-6(NT-3, NT-4, NT-5 또는 NT-6), 또는 신경 성장 인자; 혈소판 유래의 성장 인자

(PDGF); 섬유모세포 성장 인자, 예컨대, AFGF 및 PFGF; 표피 성장 인자(EGF); 형질전이 성장 인자(TGF), 예컨대, TGF-알파 및 TGF-베타(TGF-1, TGF-2, TGF-3, TGF-4 또는 TGF-5를 포함함); 인슐린 유사 성장 인자-I 및 인슐린 유사 성장 인자-II(IGF-I 및 IGF-II); 데스(des)(1-3)-IGF-I(또는 IGF-I), 인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질; CD 단백질, 예컨대, CD2, CD3, CD4, CD8, CD11a, CD14, CD18, CD19, CD20, CD22, CD23, CD25, CD33, CD34, CD40, CD40L, CD52, CD63, CD64, CD80 및 CD147; 에리쓰로포이에틴; 골유도성 인자; 면역독소; 골 형태형성 단백질(BMP); 인터페론, 예컨대, 인터페론-알파, 인터페론-베타 및 인터페론-감마; 콜로니 자극 인자(CSF), 예컨대, M-CSF, GM-CSF 및 G-CSF; 인터루킨(IL), 예를 들면, IL-1 내지 IL-13; TNF α , 수퍼옥사이드 디스무타제(superoxide dismutase); T-세포 수용체; 표면 막 단백질; 부패 가속화 인자; 바이러스 항원, 예컨대, AIDS 외피의 부분, 예를 들면, gp120; 수송 단백질; 귀소(homing) 수용체; 어드레신(addressin); 조절 단백질; 세포 부착 분자, 예컨대, LFA-1, Mac 1, p150.95, VLA-4, ICAM-1, ICAM-3 및 VCAM, a4/p7 인테그린 및 Xv/p3 인테그린(a 또는 이의 서브유닛을 포함함), 인테그린 알파 서브유닛, 예컨대, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, 알파7, 알파8, 알파9, 알파D, CD11a, CD11b, CD51, CD11c, CD41, 알파IIb, 알파IELb; 인테그린 베타 서브유닛, 예컨대, CD29, CD18, CD61, CD104, 베타5, 베타6, 베타7 및 베타8; $\alpha V\beta 3$, $\alpha V\beta 5$ 및 $\alpha 4\beta 7$ 을 포함하나 이들로 한정되지 않는 인테그린 서브유닛 조합물; 아포토시스 경로의 구성원; IgE; 혈액 군 항원; f1k2/f1t3 수용체; 비만(OB) 수용체; mp1 수용체; CTLA-4; 단백질 C; Eph 수용체, 예컨대, EphA2, EphA4, EphB2 등; 인간 백혈구 항원(HLA), 예컨대, HLA-DR; 보체 단백질, 예컨대, 보체 수용체 CR1, C1Rq 및 다른 보체 인자, 예컨대, C3 및 C5; 당단백질 수용체, 예컨대, GpIb α , GPIIb/IIIa 및 CD200; 및 상기 나열된 폴리펩티드들 중 임의의 폴리펩티드의 단편.

[0189] 하기 항원들을 포함하나 이들로 한정되지 않는 암 항원에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체도 고려된다: ALK 수용체(플레이오토프린(pleiotrophin) 수용체), 플레이오토프린, KS 1/4 범(pan)-암종 항원; 난소 암종 항원(CA125); 전립선 산성 포스페이트; 전립선 특이적 항원(PSA); 흑색종 관련 항원 p97; 흑색종 항원 gp75; 고분자량 흑색종 항원(HMW-MAA); 전립선 특이적 막 항원; 암배아 항원(CEA); 다형성 상피 뮤신 항원; 인간 모유 지방 구형 항원; 대장 종양 관련 항원, 예컨대, CEA, TAG-72, CO17-1A, GICA 19-9, CTA-1 및 LEA; 버킷 림프종 항원-38.13; CD19; 인간 B-림프종 항원-CD20; CD33; 흑색종 특이적 항원, 예컨대, 강글리오사이드 GD2, 강글리오사이드 GD3, 강글리오사이드 GM2 및 강글리오사이드 GM3; 종양 특이적 이식 유형 세포 표면 항원(TSTA); T-항원, DNA 종양 바이러스 및 RNA 종양 바이러스의 외피 항원을 포함하는, 바이러스에 의해 유도된 종양 항원; 발암태아성 항원-알파-태아단백질, 예컨대, 결장의 CEA, 5T4 발암태아성 영양막 당단백질 및 방광 종양 발암태아성 항원; 분화 항원, 예컨대, 인간 폐 암종 항원 L6 및 L20; 섬유육종의 항원; 인간 백혈병 T 세포 항원-Gp37; 신생 당단백질; 스펅고지질; 유방암 항원, 예컨대, EGFR(표피 성장 인자 수용체); NY-BR-16; NY-BR-16 및 HER2 항원(p185HER2); 다형성 상피 뮤신(PEM); 악성 인간 림프구 항원-APO-1; 분화 항원, 예컨대, 태아 적혈구에서 발견된 I 항원; 성인 적혈구에서 발견된 일차 내배엽 I 항원; 착상전 배아; 위 선암종에서 발견된 I(Ma); 유방 상피에서 발견된 M18 및 M39; 골수 세포에서 발견된 SSEA-1; VEP8; VEP9; My1; Va4-D5; 대장암에서 발견된 D₁₅₆₋₂₂; TRA-1-85(혈액 군 H); 정소암 및 난소암에서 발견된 SCP-1; 결장 선암종에서 발견된 C14; 폐 선암종에서 발견된 F3; 위암에서 발견된 AH6; Y 헵텐; 배아 암종 세포에서 발견된 Ley; TL5(혈액 군 A); A431 세포에서 발견된 EGF 수용체; 췌장암에서 발견된 E₁ 시리즈(혈액 군 B); 배아 암종 세포에서 발견된 FC10.2; 위 선암종 항원; 선암종에서 발견된 CO-514(혈액 군 Lea); 선암종에서 발견된 NS-10; CO-43(혈액 군 Leb); A431 세포의 EGF 수용체에서 발견된 G49; 결장 선암종에서 발견된 MH2(혈액 군 ALeb/Ley); 결장암에서 발견된 19.9; 위암 뮤신; 골수 세포에서 발견된 T_{5A7}; 흑색종에서 발견된 R₂₄; 배아 암종 세포에서 발견된 4.2, G_{D3}, D1.1, OFA-1, G_{M2}, OFA-2, G_{D2} 및 M1:22:25:8, 및 4 세포 내지 8 세포 단계 배아에서 발견된 SSEA-3 및 SSEA-4; 피부 T 세포 림프종 항원; MART-1 항원; 시알리(Sialy) Tn(STn) 항원; 결장암 항원 NY-CO-45; 폐암 항원 NY-LU-12 발리안트(valiant) A; 선암종 항원 ART1; 부신생물(Paraneoplastic) 관련 뇌-정소-암 항원(발암신경 항원 MA2; 부신생물 신경 항원); 신경종양학적 복부(ventral) 항원 2(NOVA2); 간세포암종 항원 유전자 520; 종양 관련 항원 CO-029; 종양 관련 항원 MAGE-C1(암/정소 항원 CT7), MAGE-B1(MAGE-XP 항원), MAGE-B2(DAM6), MAGE-2, MAGE-4-a, MAGE-4-b 및 MAGE-X2; 암-정소 항원(NY-EOS-1); 및 상기 나열된 폴리펩티드들 중 임의의 폴리펩티드의 단편.

[0190] 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 이종다량체는 하나 이상의 치료 항체를 포함한다. 몇몇 실시양태에서, 치료 항체는 암 표적 항원에 결합한다. 한 실시양태에서, 치료 항체는 아바고보맙, 아달리무맙, 알렘투주맙, 아우로그맙, 바피뉴주맙, 바실릭시맙, 벨리무맙, 베바시주맙, 브리아키누맙, 카나키누맙, 카툼작소맙, 세르톨리주맙, 페골, 세특시맙, 다클리주맙, 데노수맙, 에팔리주맙, 갈릭시맙, 겐투주맙 오조가미신, 골리무맙, 이브리투모맙, 티옥세탄, 인플릭시맙, 이필리무맙, 루밀릭시맙, 메폴리주맙, 모타비주맙, 듀로모넵, 마이코그맙, 나탈리주맙,

니모투주맵, 오크렐리주맵, 오파투무맵, 오말리주맵, 팔리비주맵, 파니투무맵, 페르투주맵, 라니비주맵, 레슬리주맵, 리톡시맵, 테플리주맵, 토실리주맵/아틀리주맵, 토시투모맵, 트라스투주맵, 프록시늄TM, 렌카렉스TM, 우스테키누맵, 잘루투무맵 및 임의의 다른 항체 중 하나일 수 있거나 이들로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0191] 본 발명의 항체는 (즉, 임의의 유형의 분자와 항체의 공유부착에 의해) 변형된 유도체를 포함한다. 비한정적 방식으로 예를 들면, 항체 유도체는 예를 들면, 글리코실화, 아세틸화, 페길화, 인산화, 아마이드화, 공지된 보호/차단 기에 의한 유도체화, 단백질용해성 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질과의 연결 등에 의해 변형된 항체를 포함한다. 다수의 화학적 변형들 중 임의의 화학적 변형이 특이적 화학적 절단, 아세틸화, 포르밀화, 투니카마이신의 대사적 합성 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는 공지된 기법에 의해 수행될 수 있다. 추가로, 상기 유도체는 하나 이상의 비고전적 아미노산을 함유할 수 있다.

[0192] 증가된 생체내 반감기를 갖는 항체 또는 이의 단편은 중합체 분자, 예컨대, 고분자량 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 항체 또는 항체 단편에 부착시킴으로써 발생될 수 있다. PEG와 항체 또는 항체 단편의 N-말단 또는 C-말단의 부위 특이적 접합 또는 라이신 잔기 상에 존재하는 엘실론-아미노기를 통해 다기능성 링거를 사용하거나 사용하지 않고 PEG를 상기 항체 또는 항체 단편에 부착시킬 수 있다. 생물학적 활성의 상실을 최소화하는 직쇄 또는 분지쇄 중합체 유도체화가 이용될 것이다. PEG 분자와 항체의 적절한 접합을 보장하기 위해 접합도는 SDS-PAGE 및 질량 분광측정법에 의해 철저히 모니터링될 것이다. 비반응된 PEG는 예를 들면, 크기 배제 또는 이온 교환 크로마토그래피에 의해 항체-PEG 접합체로부터 분리될 수 있다.

[0193] 추가로, 생체내에서 보다 더 안정하거나 생체내에서 보다 긴 반감기를 갖는 항체 또는 항체 단편을 제조하기 위해 항체를 알부민에 접합시킬 수 있다. 기법은 당업계에서 잘 공지되어 있다(예를 들면, PCT 국제 공보 제WO 93/15199호, 제WO 93/15200호 및 제WO 01/77137호; 및 유럽 특허 제413,622호 참조). 본 발명은 펩티드, 폴리펩티드, 단백질, 융합 단백질, 핵산 분자, 소분자, 미메틱(mimetic) 물질, 합성 약물, 무기 분자 및 유기 분자를 포함하나 이들로 한정되지 않는 하나 이상의 모이어티에 접합되거나 융합된 항체 또는 이의 단편의 용도를 포괄한다.

[0194] 본 발명은 이종 단백질 또는 폴리펩티드(또는 이들의 단편, 예를 들면, 10개 이상, 20개 이상, 30개 이상, 40개 이상, 50개 이상, 60개 이상, 70개 이상, 80개 이상, 90개 이상 또는 100개 이상의 아미노산으로 구성된 폴리펩티드)에 제조합적으로 융합되거나 화학적으로 접합되어 융합 단백질을 발생시키는 항체 또는 이의 단편의 용도를 포괄한다. 상기 융합은 반드시 직접적일 필요는 없고 링커 서열을 통해 일어날 수 있다. 예를 들면, 항체는 항체를 특정 세포 표면 수용체에 대해 특이적인 항체에 융합시키거나 접합시킴으로써 시험관내에서 또는 생체내에서 이종 폴리펩티드를 특정 세포 유형에 표적화하는 데에 사용될 수 있다. 당업계에서 공지된 방법을 이용하여 이종 폴리펩티드에 융합되거나 접합된 항체를 시험관내 면역분석 및 정제 방법에서 사용할 수도 있다. 예를 들면, PCT 국제 공보 제WO 93/21232호, 유럽 특허 제439,095호, 문헌(Naramura et al., 1994, Immunol. Lett. 39:91-99), 미국 특허 제5,474,981호, 문헌(Gillies et al., 1992, PNAS 89:1428-1432) 및 문헌(Fell et al., 1991, J. Immunol. 146:2446-2452)을 참조한다.

[0195] 본 발명은 항체 단편에 융합되거나 접합된 이종 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 추가로 포함한다. 예를 들면, 이종 폴리펩티드는 Fab 단편, Fd 단편, Fv 단편, F(ab)₂ 단편, VH 도메인, VL 도메인, VH CDR, VL CDR, 또는 이들의 단편에 융합될 수 있거나 접합될 수 있다. 폴리펩티드를 항체 부분에 융합시키거나 접합시키는 방법은 당업계에서 잘 공지되어 있다. 예를 들면, 미국 특허 제5,336,603호, 제5,622,929호, 제5,359,046호, 제5,349,053호, 제5,447,851호 및 제5,112,946호; 유럽 특허 제307,434호 및 제367,166호; PCT 국제 공보 제WO 96/04388호 및 제WO 91/06570호; 문헌(Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 10535-10539); 문헌(Zheng et al., 1995, J. Immunol. 154:5590-5600); 및 문헌(Vil et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:11337-11341)을 참조한다.

[0196] 추가 융합 단백질, 예를 들면, 항원(예를 들면, 상기 항원)에 특이적으로 결합하는 항체의 추가 융합 단백질은 유전자 서플링, 모티프 서플링, 엑손 서플링 및/또는 코돈 서플링("DNA 서플링"으로서 총칭됨) 기법을 통해 발생될 수 있다. DNA 서플링을 이용하여 본 발명의 항체 또는 이의 단편의 활성을 변경시킬 수 있다(예를 들면, 보다 높은 친화성 및 보다 낮은 해리 속도를 갖는 항체 또는 이의 단편). 일반적으로, 미국 특허 제5,605,793호, 제5,811,238호, 제5,830,721호, 제5,834,252호 및 제5,837,458호; 문헌(Patten et al., 1997, Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33); 문헌(Harayama, 1998, Trends Biotechnol. 16(2): 76-82); 문헌(Hansson, et al., 1999, J. Mol. Biol. 287:265-76); 및 문헌(Lorenzo and Blasco, 1998, Biotechniques 24(2): 308-313)을 참조한다. 항체 또는 이의 단편, 또는 코딩된 항체 또는 이의 단편은 제조합 전에 오류 유발

PCR, 무작위 뉴클레오타이드 삽입 또는 다른 방법에 의한 무작위 돌연변이유발에 노출됨으로써 변경될 수 있다. 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드의 하나 이상의 부분으로서, 항원에 특이적으로 결합하는 부분은 하나 이상의 이중 분자의 하나 이상의 성분, 모티프, 절편, 부분, 도메인, 단편 등과 조합될 수 있다.

[0197] 본 발명은 치료제에 접합된 변이체 Fc 이중이량체 또는 이의 단편의 용도를 추가로 포괄한다.

[0198] 항체 또는 이의 단편은 치료 모이어티, 예컨대, 세포독소, 예를 들면, 세포증식정지제 또는 살세포제, 치료제 또는 방사성 금속 이온, 예를 들면, 알파-방사체에 접합될 수 있다. 세포독소 또는 세포독성제는 세포에 유해한 임의의 물질을 포함한다. 예로는 리보뉴클레아제(ribonuclease), 모노메틸아우리스타틴 E 및 F, 파클리탁셀, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티둠 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포사이드, 테노포사이드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디하이드록시 안쓰라신 디온, 미톡산트론, 미쓰라마이신, 악티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 퓨로마이신, 에피루비신, 및 사이클로포스포아미드 및 이들의 유사체 및 상동체가 있다. 치료제는 항대사물질(예를 들면, 메토폭세이트, 6-머캅토프린, 6-티오구아닌, 사이타라빈, 5-플루오로우라실 데카르바진), 알킬 화제(예를 들면, 메클로레타민, 티오에프 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴(BCNU) 및 로무스틴(CCNU), 사이클로포스포아미드, 부셀판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C 및 시스디클로로디아민 백금(II)(DDP) 시스플라틴), 안쓰라사이클린(예를 들면, 다우노루비신(이전 명칭: 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제(예를 들면, 닥티노마이신(이전 명칭: 악티노마이신), 블레오마이신, 미쓰라마이신, 및 안쓰라마이신(AMC)), 및 항-유사분열제(예를 들면, 빈크리스틴 및 빈블라스틴)를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 치료 모이어티의 보다 광범위한 목록은 PCT 국제 공보 제WO 03/075957호에서 발견될 수 있다.

[0199] 추가로, 항체 또는 이의 단편은 주어진 생물학적 반응을 변형시키는 치료제 또는 약물 모이어티에 접합될 수 있다. 치료제 또는 약물 모이어티는 고전적인 화학적 치료제로 한정되는 것으로서 간주되어서는 안 된다. 예를 들면, 약물 모이어티는 원하는 생물학적 활성을 보유하는 단백질 또는 폴리펩티드일 수 있다. 이러한 단백질은 예를 들면, 독소, 예컨대, 애브린, 리신 A, 온코나제(Onconase)(또는 또 다른 세포독성 RNase), 슈도모나스 외독소, 콜레라 독소 또는 디프테리아 독소; 단백질, 예컨대, 종양 괴사 인자, α -인터페론, β -인터페론, 신경 성장 인자, 혈소판 유래의 성장 인자, 조직 플라스미노겐 활성화제, 아포토시스제, 예를 들면, TNF- α , TNF- β , AIM I(PCT 국제 공보 제WO 97/33899호 참조), AIM II(PCT 국제 공보 제WO 97/34911호 참조), Fas 리간드(Takahashi et al., 1994, J. Immunol., 6:1567), 및 VEGI(PCT 국제 공보 제WO 99/23105호 참조), 혈전제 또는 항혈관신생제, 예를 들면, 안지오테나틴 또는 엔도스타틴; 또는 생물학적 반응 변형제, 예를 들면, 림포카인(예를 들면, 인터루킨-1("IL-1"), 인터루킨-2("IL-2"), 인터루킨-6("IL-6"), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자("GM-CSF"), 및 과립구 콜로니 자극 인자("G-CSF")), 또는 성장 인자(예를 들면, 성장 호르몬("GH"))을 포함할 수 있다.

[0200] 더욱이, 항체는 치료 모이어티, 예컨대, 방사성 물질, 또는 방사성금속 이온의 접합에 유용한 거대고리 킬레이터에 접합될 수 있다(방사성물질의 예에 대해서는 상기 참조). 일부 실시양태에서, 상기 거대고리 킬레이터는 링커 분자를 통해 항체에 접합될 수 있는 1,4,7,10-테트라아자사이클로도데칸-N,N',N'',N'''-테트라아세트산(DOTA)이다. 이러한 링커 분자는 당업계에서 통상적으로 공지되어 있고 문헌(Denardo et al., 1998, Clin Cancer Res. 4:2483), 문헌(Peterson et al., 1999, Bioconjug. Chem. 10:553) 및 문헌(Zimmerman et al., 1999, Nucl. Med. Biol. 26:943)에 기재되어 있다.

[0201] 항체를 폴리펩티드 모이어티에 융합시키거나 접합시키는 방법은 당업계에서 공지되어 있다. 예를 들면, 미국 특허 제5,336,603호, 제5,622,929호, 제5,359,046호, 제5,349,053호, 제5,447,851호 및 제5,112,946호; 유럽 특허 제307,434호 및 제367,166호; PCT 국제 공보 제WO 96/04388호 및 제WO 91/06570호; 문헌(Ashkenazi et al., 1991, PNAS USA 88:10535); 문헌(Zheng et al., 1995, J Immunol 154:5590); 및 문헌(Vil et al., 1992, PNAS USA 89:11337)을 참조한다. 항체와 모이어티의 융합은 반드시 직접적인 필요는 없고 링커 서열을 통해 일어날 수 있다. 이러한 링커 분자는 당업계에서 통상적으로 공지되어 있고 문헌(Denardo et al., 1998, Clin Cancer Res 4:2483), 문헌(Peterson et al., 1999, Bioconjug Chem 10:553), 문헌(Zimmerman et al., 1999, Nucl Med Biol 26:943) 및 문헌(Garnett, 2002, Adv Drug Deliv Rev 53:171)에 기재되어 있다.

[0202] Fc 변이체, 또는 이의 유도체, 유사체 또는 단편(예를 들면, 본 발명의 항체 또는 융합 단백질)의 재조합 발현은 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 발현 벡터의 구축을 필요로 한다. 일단 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드가 수득되면, 상기 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)의 제조를 위한 벡터는 당업계에서 잘 공지된 기법을 이용하는

재조합 DNA 기술에 의해 제조될 수 있다. 따라서, Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질) 코딩 뉴클레오타이드 서열을 함유하는 폴리뉴클레오타이드를 발현시켜 단백질을 제조하는 방법이 본원에 기재되어 있다. 당업자에게 잘 공지되어 있는 방법을 이용하여, Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질) 코딩 서열 및 적절한 전사 및 번역 조절 신호를 함유하는 발현 벡터를 구축할 수 있다. 이들 방법은 예를 들면, 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법 및 생체내 유전적 재조합을 포함한다. 따라서, 본 발명은 프로모터에 작동가능하게 연결된, 본 발명의 Fc 변이체를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 복제가능한 벡터를 제공한다. 전장 항체쇄(예를 들면, 중쇄 또는 경쇄)의 발현을 위해 또는 비항체 유래의 폴리펩티드와 적어도 변이체 CH3 도메인을 포함하는 Fc 영역의 융합체를 포함하는 완전한 Fc 변이체의 발현을 위해, 상기 벡터가 항체 분자의 불변 영역(예를 들면, PCT 국제 공보 제WO 86/05807호, PCT 국제 공보 제WO 89/01036호 및 미국 특허 제5,122,464호 참조) 및 항체의 가변 도메인을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있거나, Fc 변이체를 발생시키는 폴리펩티드가 상기 벡터 내로 클로닝될 수 있다.

[0203] 발현 벡터는 통상적인 기법에 의해 숙주 세포로 전달되고, 이어서 형질감염된 세포는 통상적인 기법에 의해 배양되어 본 발명의 Fc 변이체를 생성한다. 따라서, 본 발명은 이중 프로모터에 작동가능하게 연결된, 본 발명의 Fc 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 숙주 세포를 포함한다. 이중쇄 항체를 포함하는 Fc 변이체의 발현을 위한 특정 실시양태에서, 하기 상세히 기재된 바와 같이, 중쇄 및 경쇄 둘다를 코딩하는 벡터는 전체 면역글로불린 분자의 발현을 위해 숙주 세포 내에서 동시발현될 수 있다.

[0204] 다양한 숙주 발현 벡터 시스템을 사용하여 본 발명의 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질 분자)를 발현시킬 수 있다(예를 들면, 미국 특허 제5,807,715호 참조). 이러한 숙주 발현 시스템은 관심 있는 코딩 서열이 생성된 후 정제될 수 있는 비핵질을 나타낼 뿐만 아니라 적절한 뉴클레오타이드 코딩 서열로 형질전환되었거나 형질감염되었을 때 제자리에서 본 발명의 Fc 변이체를 발현할 수 있는 세포도 나타낸다. 이들은 Fc 변이체 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 미생물, 예컨대, 세균(예를 들면, 이. 콜라이(*E. coli*) 및 바실러스 서브틸리스(*B. subtilis*)); Fc 변이체 코딩 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모(예를 들면, 사카로마이세스 피키아(*Saccharomyces Pichia*)); Fc 변이체 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들면, 마콜로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; Fc 변이체 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들면, 꽃양배추 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 Fc 변이체 코딩 서열을 함유하는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들면, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 포유동물 세포의 계능으로부터 유래된 프로모터(예를 들면, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유동물 바이러스로부터 유래된 프로모터(예를 들면, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)를 함유하는 재조합 발현 구축물을 보유하는 포유동물 세포 시스템(예를 들면, COS, CHO, BHK, 293, NS0 및 3T3 세포)을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 일부 실시양태에서, 세균 세포, 예컨대, 에스케리치아 콜라이(*Escherichia coli*) 또는 진핵 세포가 재조합 항체 또는 융합 단백질 분자인 Fc 변이체의 발현을 위해 사용된다. 예를 들면, 포유동물 세포, 예컨대, 중국 햄스터 난소 세포(CHO)는 벡터, 예컨대, 인간 사이토메갈로바이러스로부터의 주요 중간 초기 유전자 프로모터 요소와 함께 항체를 위한 효과적인 발현 시스템이다(Foecking et al., 1986, Gene 45:101; and Cockett et al., 1990, Bio/Technology 8:2). 특정 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열의 발현은 항시적(constitutive) 프로모터, 유도성 프로모터 또는 조직 특이적 프로모터에 의해 조절된다.

[0205] 세균 시스템에서, 다수의 발현 벡터들이 발현될 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)에 대해 의도된 용도에 따라 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들면, 다량의 이러한 단백질이 Fc 변이체의 약학 조성물의 발생을 위해 제조되어야 하는 경우, 용이하게 정제되는 고도의 융합 단백질 생성물의 발현을 유도하는 벡터가 바람직할 수 있다. 이러한 벡터는 lac Z-융합 단백질이 제조되도록 Fc 변이체 코딩 서열이 lac Z 코딩 서열과 인 프레임으로 벡터 내로 개별적으로 라이게이션될 수 있는 이. 콜라이 발현 벡터 pUR278(Ruther et al., 1983, EMBO 12:1791); pIN 벡터(Inouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109; Van Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509) 등을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 또한, pGEX 벡터를 사용하여 글루타티온 5-트랜스퍼라제(GST)와의 융합 단백질로서 외래 폴리펩티드를 발현시킬 수 있다. 일반적으로, 이러한 융합 단백질은 가용성을 나타내고 매트릭스 글루타티온 아가로스 비드에의 흡착 및 결합 후 자유 글루타티온의 존재 하에서의 용출에 의해 용해된 세포로부터 용이하게 정제될 수 있다. pGEX 벡터는 클로닝된 표적 유전자 생성물이 GST 모이어티로부터 방출될 수 있도록 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 디자인된다.

[0206] 곤충 시스템에서, 오토그라파 칼리포르니카(*Autographa californica*) 핵 다면체형성(polyhedrosis) 바이러스

(AcNPV)가 외래 유전자를 발현하기 위한 벡터로서 사용된다. 상기 바이러스는 스포도프테라 프루기페르다 (*Spodoptera frugiperda*) 세포에서 증식한다. Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질) 코딩 서열은 상기 바이러스의 비필수 영역(예를 들면, 폴리헤드린 유전자) 내로 개별적으로 클로닝될 수 있고 AcNPV 프로모터(예를 들면, 폴리헤드린 프로모터)의 조절 하에 배치될 수 있다.

[0207]

포유동물 숙주 세포에서, 다수의 바이러스 기초 발현 시스템들이 이용될 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로서 사용되는 경우, 관심 있는 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질) 코딩 서열은 아데노바이러스 전사/번역 조절 복합체, 예를 들면, 후기 프로모터 및 삼부분(tripartite) 리더 서열에 라이게이션될 수 있다. 그 다음, 이 키메라 유전자는 시험관내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 게놈 내로 삽입될 수 있다. 바이러스 게놈의 비필수 영역(예를 들면, 영역 E1 또는 E3) 내로의 삽입은 감염된 숙주에서 생존가능하고 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 발현할 수 있는 재조합 바이러스를 발생시킬 것이다(예를 들면, 문헌 (Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359) 참조). 삽입된 항체 코딩 서열의 효율적인 번역을 위해 특이적 개시 신호도 요구될 수 있다. 이들 신호는 ATG 개시 코돈 및 인접 서열을 포함한다. 나아가, 개시 코돈은 전체 삽입체의 번역을 보장하기 위해 원하는 코딩 서열의 판독 프레임과 일치하여(in phase) 존재해야 한다. 이들 외인성 번역 조절 신호 및 개시 코돈은 다양한 기원, 즉 천연 및 합성 기원으로부터 유래될 수 있다. 발현의 효율은 적절한 전사 인핸서(enhancer) 요소, 전사 종결요소 등의 포함에 의해 향상될 수 있다(예를 들면, 문헌(Bittner et al., 1987, Methods in Enzymol. 153:516-544) 참조).

[0208]

Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)의 발현은 당업계에서 공지된 임의의 프로모터 또는 인핸서 요소에 의해 조절될 수 있다. Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 코딩하는 유전자의 발현을 조절하기 위해 사용될 수 있는 프로모터는 SV40 초기 프로모터 영역(Bernoist and Chambon, 1981, Nature 290:304-310), 라우스 육종 바이러스의 3' 긴 말단 반복부(repeat) 내에 함유된 프로모터(Yamamoto, et al., 1980, Cell 22:787-797), 헤르페스 티미딘 인산화효소 프로모터(Wagner et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78:1441-1445), 메탈로티오네인 유전자의 조절 서열(Brinster et al., 1982, Nature 296:39-42), 테트라사이클린(Tet) 프로모터(Gossen et al., 1995, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 89:5547-5551); 원핵 발현 벡터, 예컨대, β -락타마제 프로모터(Villa-Kamaroff et al., 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 75:3727-3731) 또는 tac 프로모터(DeBoer et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 80:21-25; 문헌("Useful proteins from recombinant bacteria" in Scientific American, 1980, 242:74-94) 또한 참조); 노팔린(nopaline) 합성효소 프로모터 영역(Herrera-Estrella et al., Nature 303:209-213), 꽃양배추 모자이크 바이러스 35S RNA 프로모터(Gardner et al., 1981, Nucl. Acids Res. 9:2871), 또는 광합성 효소 리불로스 비포스페이트 카복실라제의 프로모터(Herrera-Estrella et al., 1984, Nature 310:115-120)를 포함하는 식물 발현 벡터; 효모 또는 다른 진균으로부터의 프로모터 요소, 예컨대, Gal 4 프로모터, ADC(알코올 탈수소효소) 프로모터, PGK(포스포글리세롤 인산화효소) 프로모터, 알칼리성 인산분해효소 프로모터; 및 조직 특이성을 나타내고 형질전환 동물에서 이용되고 있는 하기 동물 전사 조절 영역을 포함하나 이들로 한정되지 않는다: 췌장 선포세포에서 활성을 나타내는 엘라스타제(elastase) I 유전자 조절 영역(Swift et al., 1984, Cell 38:639-646; Ornitz et al., 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:399-409; MacDonald, 1987, Hepatology 7:425-515), 췌장 베타 세포에서 활성을 나타내는 인슐린 유전자 조절 영역(Hanahan, 1985, Nature 315:115-122), 림프 세포에서 활성을 나타내는 면역글로불린 유전자 조절 영역(Grosschedl et al., 1984, Cell 38:647-658; Adames et al., 1985, Nature 318:533-538; Alexander et al., 1987, Mol. Cell. Biol. 7:1436-1444), 정소, 유방, 림프 및 비만 세포에서 활성을 나타내는 마우스 유선 종양 바이러스 조절 영역(Leder et al., 1986, Cell 45:485-495), 간에서 활성을 나타내는 알부민 유전자 조절 영역(Pinkert et al., 1987, Genes and Devel. 1:268-276), 간에서 활성을 나타내는 알파-태아단백질 유전자 조절 영역(Krumlauf et al., 1985, Mol. Cell. Biol. 5:1639-1648; Hammer et al., 1987, Science 235:53-58), 간에서 활성을 나타내는 알파 1-항트립신 유전자 조절 영역(Kelsey et al., 1987, Genes and Devel. 1:161-171), 골수 세포에서 활성을 나타내는 베타-글로빈 유전자 조절 영역(Mogham et al., 1985, Nature 315:338-340; Kollias et al., 1986, Cell 46:89-94), 뇌 내의 희소돌기아교세포에서 활성을 나타내는 수초 염기성 단백질 유전자 조절 영역(Readhead et al., 1987, Cell 48:703-712), 골격근에서 활성을 나타내는 미오신 경쇄-2 유전자 조절 영역(Sani, 1985, Nature 314:283-286), 신경 세포에서 활성을 나타내는 신경 특이적 에놀라제(NSE)(Morelli et al., 1999, Gen. Virol. 80:571-83), 신경 세포에서 활성을 나타내는 뇌 유래의 신경영양 인자(BDNF) 유전자 조절 영역(Tabuchi et al., 1998, Biochem. Biophysic. Res. Com. 253:818-823), 성상세포에서 활성을 나타내는 아교세포 섬유 산성 단백질(GFAP) 프로모터(Gomes et al., 1999, Braz J Med Biol Res 32(5): 619-631; Morelli et al., 1999, Gen. Virol. 80:571-83), 및 시상하부에서 활성을 나타내는 성선자극호르몬 방출 호르몬 유전자 조절 영역(Mason et al., 1986,

Science 234:1372-1378).

[0209] 본 발명의 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 코딩하는 유전자의 삽입체를 함유하는 발현 벡터를 하기 3종의 일반적인 방법에 의해 확인될 수 있다: (a) 핵산 혼성화, (b) "마커" 유전자 기능의 존재 또는 부재, 및 (c) 삽입된 서열의 발현. 제1 방법에서, 발현 벡터에서 펩티드, 폴리펩티드, 단백질 또는 융합 단백질을 코딩하는 유전자의 존재는 상기 펩티드, 폴리펩티드, 단백질 또는 융합 단백질 각각을 코딩하는 삽입된 유전자에 대한 상동성을 나타내는 서열을 포함하는 프로브를 사용하는 핵산 혼성화에 의해 검출될 수 있다. 제2 방법에서, 재조합 벡터/숙주 시스템은 항체 또는 융합 단백질을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열의 벡터 내로의 삽입에 의해 야기되는 일부 "마커" 유전자 기능(예를 들면, 티미딘 인산화효소 활성, 항생제에 대한 내성, 형질전환 표현형, 바콜로바이러스 내에서의 폐색체(occlusion body) 형성 등)의 존재 또는 부재에 기초하여 확인되고 선택될 수 있다. 예를 들면, Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 코딩하는 뉴클레오타이드 서열이 벡터의 마커 유전자 서열 내로 삽입되는 경우, 항체 또는 융합 단백질 삽입체를 코딩하는 유전자를 함유하는 재조합체는 마커 유전자 기능의 부재에 의해 확인될 수 있다. 제3 방법에서, 재조합 발현 벡터는 재조합체에 의해 발현된 유전자 생성물(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)의 분석에 의해 확인될 수 있다. 이러한 분석은 예를 들면, 시편관내 분석 시스템에서의 융합 단백질의 물리적 또는 기능적 성질, 예를 들면, 항-생체활성 분자 항체와의 결합에 기초할 수 있다.

[0210] 또한, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나 원하는 특정 방식으로 유전자 생성물을 변형시키고 프로세싱하는 숙주 세포 군주가 선택될 수 있다. 일부 프로모터들로부터의 발현은 일부 유도제들의 존재 하에서 상승될 수 있으므로, 유전적으로 조작된 융합 단백질의 발현은 조절될 수 있다. 나아가, 상이한 숙주 세포들은 번역 및 번역 후 프로세싱 및 변형(예를 들면, 단백질의 글리코실화, 인산화 등)을 위한 특징적이고 특이적인 기작을 갖는다. 발현된 외래 단백질의 원하는 변형 및 프로세싱을 보장하도록 적절한 세포주 또는 숙주 시스템이 선택될 수 있다. 예를 들면, 세균 시스템에서의 발현은 비글리코실화된 생성물을 생성할 것이고, 효모에서의 발현은 글리코실화된 생성물을 생성할 것이다. 유전자 생성물의 일차 전사체의 적절한 프로세싱(예를 들면, 글리코실화 및 인산화)을 위한 세포 기구를 보유하는 진핵 숙주 세포가 사용될 수 있다. 이러한 포유동물 숙주 세포는 CHO, VERY, BHK, Hela, COS, MDCK, 293, 3T3, WI38, NS0 및 특히 신경 세포주, 예를 들면, SK-N-AS, SK-N-FI, SK-N-DZ 인간 신경모세포종(Sugimoto et al., 1984, J. Natl. Cancer Inst. 73: 51-57), SK-N-SH 인간 신경모세포종(Biochim. Biophys. Acta, 1982, 704: 450-460), Daoy 인간 소뇌 수모세포종(He et al., 1992, Cancer Res. 52: 1144-1148), DBTRG-05MG 아교모세포종 세포(Kruse et al., 1992, In Vitro Cell. Dev. Biol. 28A: 609-614), IMR-32 인간 신경모세포종(Cancer Res., 1970, 30: 2110-2118), 1321N1 인간 정상세포종(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1977, 74: 4816), MOG-G-CCM 인간 정상세포종(Br. J. Cancer, 1984, 49: 269), U87MG 인간 아교모세포종-정상세포종(Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1968, 74: 465-486), A172 인간 아교모세포종(Olopade et al., 1992, Cancer Res. 52: 2523-2529), C6 래트 아교종 세포(Benda et al., 1968, Science 161: 370-371), Neuro-2a 마우스 신경모세포종(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1970, 65: 129-136), NB41A3 마우스 신경모세포종(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1962, 48: 1184-1190), SCP 양 맥락열기(Bolin et al., 1994, J. Virol. Methods 48: 211-221), G355-5, PG-4 고양이 정상 정상세포(Haapala et al., 1985, J. Virol. 53: 827-833), Mpf 흰담비 뇌(Trowbridge et al., 1982, In Vitro 18: 952-960), 및 정상 세포주, 예컨대, CTX TNA2 래트 정상 피질 뇌(Radany et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 6467-6471), 예컨대, CRL7030 및 Hs578Bst를 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 나아가, 상이한 벡터/숙주 발현 시스템들이 상이한 정도로 프로세싱 반응을 수행할 수 있다.

[0211] 재조합 단백질의 장기간 고수율 생성을 위해, 안정한 발현이 종종 바람직하다. 예를 들면, 본 발명의 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 안정하게 발현하는 세포주가 조작될 수 있다. 바이러스 복제 기점을 함유하는 발현 벡터를 사용하기 보다는 숙주 세포를 적절한 발현 조절 요소(예를 들면, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결요소, 폴리아데닐화 부위 등)에 의해 조절되는 DNA 및 선택 마커로 형질전환시킬 수 있다. 외래 DNA의 도입 후, 조작된 세포를 영양강화 배지에서 1일 내지 2일 동안 증식시킬 수 있고, 이어서 선택 배지로 교체한다. 재조합 플라스미드 내의 선택 마커는 선택에 대한 내성을 부여하고 세포가 상기 플라스미드를 그의 염색체 내로 안정하게 삽입하고 증식하여 군집(추후 클로닝되고 세포주로 증폭될 수 있음)을 형성할 수 있게 한다. 이 방법은 항원에 특이적으로 결합하는 Fc 변이체를 발현하는 세포주를 조작하는 데에 유리하게 이용될 수 있다. 이러한 조작된 세포주는 항원에 특이적으로 결합하는 Fc 변이체(예를 들면, 폴리펩티드 또는 융합 단백질)의 활성에 영향을 미치는 화합물의 스크리닝 및 평가에 있어서 특히 유용할 수 있다.

[0212] 각각 tk-세포, hgprrt-세포 또는 aprt-세포에서 사용될 수 있는 헤르페스 심플렉스 바이러스 티미딘 인산화효소

(Wigler et al., 1977, Cell 11:223), 하이포잔틴-구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Szybalska & Szybalski, 1962, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:2026) 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Lowy et al., 1980, Cell 22:817) 유전자를 포함하나 이들로 한정되지 않는 다수의 선택 시스템들이 이용될 수 있다. 또한, 항대사물질 내성이 메토타렉세이트에 대한 내성을 부여하는 dhfr(Wigler et al., 1980, Natl. Acad. Sci. USA 77:3567; O'Hare et al., 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527); 마이코페놀산에 대한 내성을 부여하는 gpt(Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072); 아미노글리코사이드 G-418에 대한 내성을 부여하는 neo(Colberre-Garapin et al., 1981, J. Mol. Biol. 150:1); 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 hygro(Santerre et al., 1984, Gene 30:147) 유전자들에 대한 선택의 기초로서 이용될 수 있다.

[0213] 일단 본 발명의 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)가 재조합 발현에 의해 생성되면, 상기 변이체는 당업계에서 공지되어 있는 임의의 단백질 정제 방법, 예를 들면, 크로마토그래피(예를 들면, 이온 교환, 친화성, 특히 단백질 A 후 특이적 항원에 대한 친화성, 및 크기분류(sizing) 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 상이한 가용성, 또는 임의의 다른 표준 단백질 정제 기법에 의해 정제될 수 있다.

[0214] Fc 변이체는 분비 신호 없이 직접적으로 생성되었을 때 숙주 세포 용해물로부터 회수될 수도 있지만 일반적으로 배양 배지로부터 분비된 폴리펩티드로서 회수된다. Fc 변이체가 막에 결합된 경우, 상기 Fc 변이체는 적합한 세제 용액(예를 들면, 트리톤-X 100)의 사용을 통해 막으로부터 방출될 수 있다.

[0215] Fc 변이체가 인간으로부터 유래된 재조합 세포 이외의 재조합 세포에서 생성된 경우, 상기 Fc 변이체는 인간으로부터 유래된 단백질 또는 폴리펩티드를 완전히 갖지 않는다. 그러나, Fc 변이체에 대해 실질적으로 균질한 제제를 수득하기 위해 재조합 세포 단백질 또는 폴리펩티드로부터 Fc 변이체를 정제하는 것이 필요하다. 제1 단계로서, 배양 배지 또는 용해물을 통상적으로 원심분리하여 미립자 세포 데브리스를 제거한다.

[0216] 항체 불변 도메인을 갖는 Fc 이종이량체는 하이드록시아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 또는 친화성 크로마토그래피에 의해 편리하게 정제될 수 있고, 이때 친화성 크로마토그래피가 바람직한 정제 기법이다. 다른 단백질 정제 기법, 예컨대, 이온 교환 컬럼 상에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 겔 상의 크로마토그래피, 헤파린 세파로스 상의 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지(예컨대, 폴리아스파르트산 컬럼) 상의 크로마토그래피, 크로마토포싱, SDS-PAGE 및 황산암모늄 침전도 회수될 폴리펩티드에 따라 이용될 수 있다. 친화성 리간드로서의 단백질 A의 적합성은 사용되는 면역글로불린 Fc 도메인의 중 및 동종형에 의해 좌우된다. 단백질 A는 인간 $\gamma 1$, $\gamma 2$ 또는 $\gamma 4$ 중쇄에 기초한 면역글로불린 Fc 영역을 정제하는 데에 사용될 수 있다(Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983)). 단백질 G는 모든 마우스 동종형들 및 인간 $\gamma 3$ 에 대해 권장된다(Guss et al., EMBO J. 5:1567-1575 (1986)). 친화성 리간드가 부착되는 매트릭스는 가장 흔하게는 아가로스이지만, 다른 매트릭스가 이용될 수 있다. 기계적으로 안정한 매트릭스, 예컨대, 조절된 공극 유리 또는 폴리(스티렌디비닐)벤젠이 아가르스에 의해 달성될 수 있는 보다 빠른 유속 및 보다 짧은 프로세싱 시간을 가능하게 한다. 면역어드헤신(immunoadhesin)과 단백질 A 또는 G 친화성 컬럼의 결합을 위한 조건은 전체적으로 Fc 도메인의 특징, 즉 그의 중 및 동종형에 의해 좌우된다. 일반적으로, 적절한 리간드가 선택된 경우, 효율적인 결합은 조건이 조절되지 않은 배양액으로부터 직접적으로 일어난다. 결합된 변이체 Fc 이종이량체는 산성 pH(3.0 이상)에서 효율적으로 용출될 수 있거나 약한 카오토로픽(chaotropic) 염을 함유하는 중성 pH 완충제에서 효율적으로 용출될 수 있다. 이 친화성 크로마토그래피 단계는 95% 초과 순도를 갖는 변이체 Fc 이종이량체 제제를 발생시킬 수 있다.

[0217] Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다(예를 들면, 문헌(Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3. (Academic Press, New York, 1987)) 참조). 예를 들면, 항체 또는 융합 단백질을 발현하는 벡터 시스템 내의 마커가 증폭될 수 있는 경우, 숙주 세포의 배양물에 존재하는 억제제의 수준의 증가는 마커 유전자의 카피 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역이 항체 유전자와 관련되어 있기 때문에, 항체 또는 융합 단백질의 생성도 증가할 것이다(Crouse et al., 1983, Mol. Cell. Biol. 3:257).

[0218] 숙주 세포는 본 발명의 2개 발현 벡터들, 예를 들면, 중쇄 유래의 폴리펩티드를 코딩하는 제1 벡터 및 경쇄 유래의 폴리펩티드를 코딩하는 제2 벡터로 동시형질감염될 수 있다. 상기 2개의 벡터들은 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드의 동등한 발현을 가능하게는 동일한 선택 마커를 함유할 수 있다. 대안적으로, 융합 단백질, 또는 중쇄 폴리펩티드 및 경쇄 폴리펩티드 둘다를 코딩하고 발현할 수 있는 단일 벡터가 사용될 수 있다. 융합 단백질, 또는 중쇄 및 경쇄에 대한 코딩 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다.

[0219] **특징규명 및 기능 분석**

[0220] 본 발명의 Fc 변이체(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)는 다양한 방식으로 특징규명될 수 있다. 한 실시양태에서, SDS-PAGE 겔, 웨스턴 블롯, 밀도측정법 또는 질량 분광측정법을 포함하나 이들로 한정되지 않는 당업계의 잘 공지된 기법을 이용하여 변이체 Fc 이종이량체의 순도를 평가한다. 크기 배제 크로마토그래피, UV 가시광 및 CD 분광법, 질량 분광법, 시차 광 산란, 벤치 탑 안정성 분석, 다른 특징규명 기법과 커플링된 동결 해동, 시차 주사 열량측정법, 시차 주사 형광측정법, 소수성 상호작용 크로마토그래피, 등전 포커싱, 수용체 결합 분석 또는 상대적 단백질 발현 수준을 포함하나 이들로 한정되지 않는 다수의 기법을 이용하여 단백질 안정성을 특징규명할 수 있다. 예시적 실시양태에서, 당업계에서 잘 공지된 기법, 예컨대, 시차 주사 열량측정법 또는 시차 주사 형광측정법을 이용하여 야생형 CH3 도메인과 비교된 변이체 CH3 도메인의 용융 온도로 변이체 Fc 이종이량체의 안정성을 평가한다.

[0221] 본 발명의 Fc 변이체는 리간드(예를 들면, Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, C1q)에 특이적으로 결합하는 능력에 대해 평가될 수도 있다. 이러한 분석은 용액 내에서(예를 들면, 문헌(Houghten, Bio/Techniques, 13:412-421, 1992)), 비드 상에서(Lam, Nature, 354:82-84, 1991), 칩 상에서(Fodor, Nature, 364:555-556, 1993), 세균 상에서(미국 특허 제5,223,409호), 플라스미드 상에서(Cull et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:1865-1869, 1992) 또는 파지 상에서(Scott and Smith, Science, 249:386-390, 1990; Devlin, Science, 249:404-406, 1990; Cwirla et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:6378-6382, 1990; and Felici, J. Mol. Biol., 222:301-310, 1991) 수행될 수 있다. 그 다음, 리간드(예를 들면, Fc γ RIIA, Fc γ RIIB, C1q 또는 항원)에 특이적으로 결합하는 것으로 확인된 분자들은 리간드에 대한 그들의 친화성에 대해 분석될 수 있다.

[0222] 본 발명의 Fc 변이체는 당업계에서 공지된 임의의 방법에 의해 분자, 예컨대, 항원(예를 들면, 암 항원 및 다른 항원과의 교차반응성) 또는 리간드(예를 들면, Fc γ R)와의 특이적 결합에 대해 분석될 수 있다. 특이적 결합 및 교차반응성을 분석하는 데에 이용될 수 있는 면역분석은 기법, 예컨대, 웨스턴 블롯, 방사면역분석, ELISA(효소 연결된 면역흡착 분석), "샌드위치" 면역분석, 면역침전 분석, 침강소 반응, 겔 확산, 침강소 반응, 면역확산 분석, 응집 분석, 보체 고정화 분석, 면역방사측정 분석, 형광 면역분석 또는 단백질 A 면역분석을 이용하는 경쟁 분석 및 비경쟁 분석 시스템을 포함하나 이들로 한정되지 않는다. 이러한 분석들은 당업계에서 상용되고 잘 공지되어 있다(예를 들면, 문헌(Ausubel et al., eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York) 참조).

[0223] 본 발명의 Fc 변이체와 분자, 예컨대, 항원 또는 리간드(예를 들면, Fc γ R)의 결합 친화성 및 상호작용의 해리 속도는 경쟁 결합 분석에 의해 측정될 수 있다. 경쟁 결합 분석의 일례는 표지된 리간드, 예컨대, Fc γ R(예를 들면, ³H 또는 ¹²⁵I)을 증가하는 양의 비표지된 리간드, 예컨대, Fc γ R의 존재 하에서 관심 있는 분자(예를 들면, 본 발명의 Fc 변이체)와 함께 항온처리하는 단계 및 상기 표지된 리간드에 결합된 상기 분자를 검출하는 단계를 포함하는 방사면역분석이다. 리간드에 대한 본 발명의 분자의 친화성 및 결합 해리 속도는 스캐차드(scatchard) 분석에 의해 포화 데이터로부터 측정될 수 있다.

[0224] 또한, 당업계에서 공지된 임의의 표면 플라스몬 공명(SPR) 기초 분석(예를 들면, 비아코어(BIAcore) 반응속도 분석)을 이용하여 Fc 변이체의 반응속도 파라미터를 측정할 수 있다. SPR 기초 기술의 검토를 위해서는 문헌(Mullet et al., 2000, Methods 22: 77-91), 문헌(Dong et al., 2002, Review in Mol. Biotech., 82: 303-23), 문헌(Fivash et al., 1998, Current Opinion in Biotechnology 9: 97-101) 및 문헌(Rich et al., 2000, Current Opinion in Biotechnology 11: 54-61)을 참조한다. 추가로, 미국 특허 제6,373,577호, 제6,289,286호, 제5,322,798호, 제5,341,215호 및 제6,268,125호에 기재된, 단백질-단백질 상호작용을 측정하는 임의의 SPR 기구 및 SPR 기초 방법이 본 발명의 방법에서 고려된다.

[0225] 당업자에게 공지된 임의의 기법을 이용하는 형광 활성화된 세포 분류(FACS)가 Fc 변이체와 세포 표면 상에서 발현된 분자(예를 들면, Fc γ RIIA, Fc γ RIIB)의 결합을 특징규명하는 데에 이용될 수 있다. 유세포 분류기는 라이브리리 삼입체를 함유하는 다수의 개별 세포들을 신속하게 조사할 수 있다(예를 들면, 시간 당 1000만 개 내지 1억 개의 세포)(Shapiro et al., Practical Flow, Cytometry, 1995). 생물학적 세포를 분류하고 조사하는 유세포 분석기는 당업계에서 잘 공지되어 있다. 공지된 유세포 분석기는 예를 들면, 미국 특허 제4,347,935호, 제5,464,581호, 제5,483,469호, 제5,602,039호, 제5,643,796호 및 제6,211,477호에 기재되어 있다. 다른 공지된 유세포 분석기는 벡톤 디킨슨 앤드 컴퍼니(Becton Dickinson and Company)에 의해 제작된 FACS 벤티지(Vantage)TM 시스템 및 유니온 바이오메트리카(Union Biometrika)에 의해 제작된 COPASTM 시스템이다.

- [0226] 본 발명의 Fc 변이체는 Fc γ R 매개 이펙터 세포 기능을 매개하는 그의 능력을 특징으로 할 수 있다. 분석될 수 있는 이펙터 세포 기능의 예로는 항체 의존성 세포 매개 세포독성(ADCC), 식균작용, 옹소닌화, 옹소닌식균작용, C1q 결합 및 보체 의존성 세포 매개 세포독성(CDC)이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 당업자에게 공지된, 이펙터 세포 기능 활성을 측정하는 임의의 세포 기초 또는 세포 부재 분석이 이용될 수 있다(이펙터 세포 분석에 대해서는 문헌(Perussia et al., 2000, Methods Mol. Biol. 121: 179-92), 문헌(Baggiolini et al., 1998 Experientia, 44(10): 841-8), 문헌(Lehmann et al., 2000 J. Immunol. Methods, 243(1-2): 229-42), 문헌(Brown E J. 1994, Methods Cell Biol., 45: 147-64), 문헌(Munn et al., 1990 J. Exp. Med., 172: 231-237), 문헌(Abdul-Majid et al., 2002 Scand. J. Immunol. 55: 70-81) 및 문헌(Ding et al., 1998, Immunity 8:403-411) 참조).
- [0227] 특히, 당업자에게 공지된 임의의 표준 방법을 이용하여 본 발명의 Fc 변이체를 이펙터 세포(예를 들면, 천연 살해 세포)에서의 Fc γ R 매개 ADCC 활성에 대해 분석할 수 있다(예를 들면, 문헌(Perussia et al., 2000, Methods Mol. Biol. 121: 179-92) 참조). 본 발명의 분자의 ADCC 활성을 측정하는 예시적 분석은 표적 세포를 [⁵¹Cr]Na₂CrO₄ (이 세포막 투과성 분자는 세포질 단백질에 결합하고 느린 반응속도로 세포로부터 자발적으로 방출되지만 표적 세포 괴사 후 대량으로 방출되기 때문에 표지를 위해 통상적으로 사용됨)로 표지하는 단계; 상기 표적 세포를 본 발명의 Fc 변이체로 옹소닌화하는 단계; 옹소닌화된 방사성표지된 표적 세포를 마이크로타이터 플레이트에서 표적 세포 대 이펙터 세포의 적절한 비로 이펙터 세포와 조합하는 단계; 세포의 혼합물을 37℃에서 16시간 내지 18시간 동안 항온처리하는 단계; 및 상청액을 수집하는 단계; 및 방사성을 분석하는 단계를 포함하는 ⁵¹Cr 방출 분석에 기초한다. 그 다음, 예를 들면, 하기 식을 이용하여 본 발명의 분자의 세포독성을 측정할 수 있다: % 용해 = (실험 cpm - 표적 누출 cpm)/(세제 용해 cpm - 표적 누출 cpm) X 100%, 또는 대안적으로, % 용해 = (ADCC-AICC)/(최대 방출 - 자발적 방출). 하기 식을 이용하여 특이적 용해를 계산할 수 있다: 특이적 용해 = 본 발명의 분자의 존재 하에서의 % 용해 - 본 발명의 분자의 부재 하에서의 % 용해. 표적:이펙터 세포 비 또는 항체 농도를 변경함으로써 그래프를 발생시킬 수 있다.
- [0228] C1q에 결합하여 보체 의존성 세포독성(CDC)을 매개하는 Fc 변이체의 능력을 특징구명하는 방법은 당업계에서 잘 공지되어 있다. 예를 들면, C1q 결합을 측정하기 위해, C1q 결합 ELISA를 수행할 수 있다. 예시적 분석은 하기 단계를 포함할 수 있다: 분석 플레이트를 4℃에서 코팅 완충제 중의 폴리펩티드 변이체 또는 출발 폴리펩티드(대조군)로 밤새 코팅할 수 있다. 그 다음, 상기 플레이트를 세척하고 차단할 수 있다. 세척 후, 인간 C1q의 분취액을 각각의 웰에 첨가하고 실온에서 2시간 동안 항온처리할 수 있다. 추가 세척 후, 100 μ l의 양 항-보체 C1q 퍼록시다제 결합 항체를 각각의 웰에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 항온처리할 수 있다. 상기 플레이트를 세척 완충제로 다시 세척할 수 있고, OPD(O-페닐렌디아민 디하이드로클로라이드(시그마))를 함유하는 100 μ l의 기질 완충제를 각각의 웰에 첨가할 수 있다. 황색 색채의 등장에 의해 관찰된 산화 반응을 30분 동안 진행시킬 수 있고 100 μ l의 4.5 NH₂SO₄를 첨가하여 중단시킬 수 있다. 그 다음, 흡광도를 (492-405) nm에서 판독할 수 있다.
- [0229] 보체 활성화를 평가하기 위해, (예를 들면, 문헌(Gazzano-Santoro et al., 1996, J. Immunol. Methods 202:163)에 기재된 바와 같이) 보체 의존성 세포독성(CDC) 분석을 수행할 수 있다. 요약하건대, 다양한 농도의 Fc 변이체 및 인간 보체를 완충제로 희석할 수 있다. Fc 변이체에 결합하는 항원을 발현하는 세포를 약 1 \times 10⁶ 개 세포/ml의 밀도까지 희석할 수 있다. Fc 변이체, 희석된 인간 보체 및 항원을 발현하는 세포의 혼합물을 평저 조직 배양 96웰 플레이트에 첨가하고 37℃ 및 5% CO₂에서 2시간 동안 항온처리하여 보체 매개 세포 용해를 용이하게 할 수 있다. 그 다음, 50 μ l의 알라마 블루(alar blue)(아큐메드 인터내셔널(Accumed International))을 각각의 웰에 첨가하고 37℃에서 밤새 항온처리할 수 있다. 530 nm에서 여기하고 590 nm에서 방사하는 96웰 형광측정기를 이용하여 흡광도를 측정한다. 결과를 상대적 형광 유닛(RFU)으로 표현할 수 있다. 표준 곡선으로부터 샘플 농도를 계산할 수 있고, 비교가능한 분자(즉, 비변형된 또는 야생형 CH3 도메인을 갖는 Fc 영역을 포함하는 분자)에 비해 상대적인 % 활성을 관심 있는 Fc 변이체에 대해 기록한다.
- [0230] 기니아 피그, 토끼 또는 인간 혈청을 사용하여 보체 분석을 수행할 수 있다. 문헌(Korzeniewski et al., 1983, Immunol. Methods 64(3): 313-20) 및 문헌(Decker et al., 1988, J. Immunol Methods 115(1): 61-9)에 기재된 바와 같이 세포내 효소, 예컨대, 락테이트 탈수소효소(LDH)의 방출을 모니터링하거나 표적 세포를 표지하는 세포내 표지, 예컨대, 유로프, 크로뮴 51 또는 인듐 111의 방출을 모니터링함으로써 표적 세포의 보체 용해를 검출할 수 있다.

- [0231] **방법**
- [0232] 본 발명은 질환, 장애 또는 감염과 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나, 치료하거나 호전시키기 위해 본 발명의 하나 이상의 Fc 변이체를 동물, 특히 포유동물, 특히 인간에게 투여하는 것을 포괄한다. 본 발명의 Fc 변이체는 이펙터 세포 기능(예를 들면, ADCC, CDC)의 변경된 효능이 요구되는 질환 또는 장애의 치료 또는 예방에 특히 유용하다. 상기 Fc 변이체 및 이의 조성물은 일차 또는 전이성 신생물 질환(즉, 암) 및 감염성 질환의 치료 또는 예방에 특히 유용하다. 본 발명의 분자는 당업계에서 공지된 바와 같이 또는 본원에 기재되어 있는 바와 같이 약학적으로 허용가능한 조성물로 제공될 수 있다. 하기 상세히 기재되어 있는 바와 같이, 본 발명의 분자는 암(특히, 수동 면역요법), 자가면역 질환, 염증성 장애 또는 감염성 질환을 치료하거나 예방하는 방법에서 사용될 수 있다.
- [0233] 본 발명의 Fc 변이체는 암, 자가면역 질환, 염증성 장애 또는 감염성 질환의 치료 또는 예방용으로 당업계에서 공지된 다른 치료제와 함께 유리하게 사용될 수도 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 예를 들면, 분자와 상호작용하는 이펙터 세포의 수 또는 활성을 증가시키고 면역 반응을 증가시키는 데에 기여하는 단일클론 또는 키메라 항체, 림포카인 또는 조혈 성장 인자(예컨대, IL-2, IL-3 및 IL-7)와 함께 사용될 수 있다. 본 발명의 Fc 변이체는 질환, 장애 또는 감염의 치료를 위해 사용되는 하나 이상의 약물, 예를 들면, 항암제, 소염제 또는 항바이러스제와 함께 유리하게 사용될 수도 있다.
- [0234] 따라서, 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 Fc 변이체를 투여함으로써 암 및 관련 병태와 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나, 치료하거나 호전시키는 방법을 제공한다. 임의의 작용 기작에 구속되고자 하는 것은 아니지만, 비교가능한 분자보다 더 높은 친화성으로 Fc γ RIIIA 및/또는 Fc γ RIIA와 결합하고 비교가능한 분자보다 더 낮은 친화성으로 Fc γ RIIB에도 결합하는 본 발명의 Fc 변이체, 및/또는 향상된 이펙터 기능, 예를 들면, ADCC, CDC, 식균작용, 옵소닌화 등을 갖는 상기 Fc 변이체는 암세포의 선택적 표적화 및 효율적 파괴를 발생시킬 것이다.
- [0235] 추가로, 본 발명은 현행 표준 및 실험 화학요법, 호르몬 요법, 생물학적 요법, 면역요법, 방사선 요법 또는 수술을 포함하나 이들로 한정되지 않는, 암의 치료 또는 예방용으로 당업자에게 공지된 다른 요법과 함께 본 발명의 하나 이상의 Fc 변이체를 투여하는 것을 추가로 포괄한다. 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 분자는 암의 치료 및/또는 예방용으로 당업자에게 공지된 하나 이상의 항암제, 치료 항체 또는 다른 약제의 치료 또는 예방 유효량과 함께 투여될 수 있다. 본 발명의 Fc 변이체와 함께 사용될 수 있는 투약법 및 요법의 예는 당업계에서 잘 공지되어 있고 다른 문헌(예를 들면, PCT 국제 공보 제WO 02/070007호 및 제WO 03/075957호 참조)에 상세히 기재되어 있다.
- [0236] 본 발명의 방법 및 조성물에 치료될 수 있거나 예방될 수 있는 암 및 관련 장애는 하기 장애들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다: 백혈병, 림프종, 다발성 골수종, 골 및 결합 조직 육종, 뇌종양, 유방암, 부신암, 갑상선암, 췌장암, 뇌하수체암, 안암, 질암, 음문암, 자궁경부암, 자궁암, 난소암, 식도암, 위암, 결장암, 직장암, 간암, 담낭암, 담관암종, 폐암, 정소암, 전립선암, 음경암, 구강암, 타액선암, 인두암, 피부암, 신장암, 및 방광암(이러한 장애들의 검토를 위해서는 문헌(Fishman et al., 1985, Medicine, 2d Ed., J.B. Lippincott Co., Philadelphia) 및 문헌(Murphy et al., 1997, Informed Decisions: The Complete Book of Cancer Diagnosis, Treatment, and Recovery, Viking Penguin, Penguin Books U.S.A., Inc., United States of America) 참조).
- [0237] 본 발명은 암 및 관련 장애의 치료 및/또는 예방용으로 당업계에서 공지된 임의의 항체가 본 발명의 변이체 CH3 도메인을 포함하는 Fc 영역을 포함하도록 상기 항체를 조작하는 것을 추가로 고려한다.
- [0238] 특정 실시양태에서, 본 발명의 분자(예를 들면, 변이체 Fc 이중이량체를 포함하는 항체)는 일차 종양의 성장 또는 암세포의 전이를 본 발명의 상기 분자의 부재 하에서의 일차 종양의 성장 또는 전이에 비해 상대적으로 99% 이상, 95% 이상, 90% 이상, 85% 이상, 80% 이상, 75% 이상, 70% 이상, 60% 이상, 50% 이상, 45% 이상, 40% 이상, 35% 이상, 30% 이상, 25% 이상, 20% 이상 또는 10% 이상 억제하거나 감소시킨다.
- [0239] 본 발명은 대상체에서 염증성 장애와 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나, 치료하거나 관리하기 위한 본 발명의 하나 이상의 Fc 변이체의 용도를 포괄한다. 임의의 작용 기작에 구속받고자 하는 것은 아니지만, Fc γ RIIB에 대한 향상된 친화성을 갖는 Fc 변이체는 활성화 수용체의 약화 및 이로써 면역 반응의 약화를 초래할 것이고 자가면역 장애의 치료 및/또는 예방을 위한 치료 효능을 가질 것이다. 나아가, 염증 장애와 관련된 하나 초과 표적에 결합하는 항체, 예컨대, 변이체 Fc 이중이량체를 포함하는 이중특이적 항체는 1가 요법에 비해 상승작용적 효과를 제공할 수 있다.

- [0240] 본 발명은 치료 또는 예방 유효량의 하나 이상의 소염제와 함께 본 발명의 Fc 변이체를 투여하는 것을 추가로 포괄한다. 또한, 본 발명은 치료 또는 예방 유효량의 하나 이상의 면역조절제와 함께 본 발명의 Fc 변이체를 상기 대상체에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 자가면역 질환과 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나, 치료하거나 관리하는 방법을 제공한다. 본 발명의 Fc 변이체의 투여에 의해 치료될 수 있는 자가면역 질환의 예로는 하기 질환들이 있으나 이들로 한정되지 않는다: 원형 탈모증, 강직성 척추염, 항인지질 증후군, 자가면역 에디슨병, 부신의 자가면역 질환, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 난소염 및 고환염, 자가면역 혈소판감소증, 베체트병, 수포성 유천포창, 심근염, 복강 스프루-피부염, 만성 피로 면역 기능장애 증후군(CFIDS), 만성 염증성 탈수초 다발신경병증, 처그-스트라우스 증후군, 반흔성 유천포창, CREST 증후군, 저온 응집소 질환, 크론병, 원반모양 루푸스, 본태성 혼합 한랭글로불린혈증, 섬유근육통-섬유근육염, 사구체신염, 그레이브스병, 췌장-마레, 하시모토 갑상선염, 특발성 폐 섬유증, 특발성 혈소판감소성 자반증(ITP), IgA 신경병증, 소아 관절염, 편평태선, 홍반 루푸스, 메니에르병, 혼합 결합 조직 질환, 다발성 경화증, 1형 또는 면역 매개 진성 당뇨병, 중증근무력증, 심상성 유천포창, 악성 빈혈, 결절다발동맥염, 다발원골염, 다분비선 증후군, 류마티스성 다발근육통, 다발근육염 및 피부근육염, 일차 무감마글로불린혈증, 일차 담관간경화증, 건선, 건선성 관절염, 레이노울드 현상, 레이터 증후군, 류마티스성 관절염, 사르코이드증, 공피증, 쇼그렌 증후군, 강직 증후군, 전신성 홍반 루푸스, 홍반 루푸스, 타카야수 동맥염, 측두 동맥염/거대세포 동맥염, 케양성 결장염, 포도막염, 혈관염, 예컨대, 헤르페스모양피부염 혈관염, 백반증 및 베게너 육아종증. 염증 장애의 예로는 천식, 뇌염, 염증성 장 질환, 만성 폐색성 폐 질환(COPD), 알레르기성 장애, 패혈증성 쇼크, 폐 섬유증, 미분화된 척추관절병증, 미분화된 관절병증, 관절염, 염증성 골용해, 및 만성 바이러스 또는 세균 감염으로부터 비롯된 만성 염증이 있으나 이들로 한정되지 않는다. 몇몇 자가면역 장애는 염증성 병태와 관련되어 있으므로 자가면역 장애와 염증성 장애 사이에 중첩이 있는 것으로 간주된다. 따라서, 몇몇 자가면역 장애는 염증성 장애로서 간주될 수도 있다. 본 발명의 방법에 따라 예방될 수 있거나, 치료될 수 있거나 관리될 수 있는 염증성 장애의 예로는 천식, 뇌염, 염증성 장 질환, 만성 폐색성 폐 질환(COPD), 알레르기성 장애, 패혈증성 쇼크, 폐 섬유증, 미분화된 척추관절병증, 미분화된 관절병증, 관절염, 염증성 골용해, 및 만성 바이러스 또는 세균 감염으로부터 비롯된 만성 염증이 있으나 이들로 한정되지 않는다.
- [0241] 본 발명의 Fc 변이체는 염증성 장애를 갖는 동물, 특히 포유동물에 의해 경험된 염증을 감소시키는 데에 사용될 수도 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 Fc는 동물의 염증을 상기 분자가 투여되지 않은 동물의 염증에 비해 상대적으로 99% 이상, 95% 이상, 90% 이상, 85% 이상, 80% 이상, 75% 이상, 70% 이상, 60% 이상, 50% 이상, 45% 이상, 40% 이상, 35% 이상, 30% 이상, 25% 이상, 20% 이상 또는 10% 이상 감소시킨다.
- [0242] 본 발명은 자가면역 질환 또는 염증성 질환의 치료 및/또는 예방용으로 당업계에서 공지된 임의의 항체가 본 발명의 변이체 Fc 이중이량체를 포함하도록 상기 항체를 조작하는 것을 추가로 고려한다.
- [0243] 본 발명은 치료 또는 예방 유효량의 본 발명의 하나 이상의 Fc 변이체를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 감염성 질환을 치료하거나 예방하는 방법도 포괄한다. 본 발명의 Fc 변이체에 의해 치료될 수 있거나 예방될 수 있는 감염성 질환은 바이러스, 세균, 진균, 원생동물 및 기생충을 포함하나 이들로 한정되지 않는 감염성 물질에 의해 야기된다.
- [0244] 본 발명의 방법과 함께 본 발명의 Fc 변이체를 사용하여 치료할 수 있거나 예방할 수 있는 바이러스 질환은 하기 바이러스들에 의해 야기되는 바이러스 질환들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다: A형 간염 바이러스, B형 간염 바이러스, C형 간염 바이러스, 인플루엔자 바이러스, 수두 바이러스, 아데노바이러스, 헤르페스 심플렉스 I형 바이러스((HSV-I), 헤르페스 심플렉스 II형 바이러스((HSV-II), 우역 바이러스, 리노바이러스, 에코바이러스, 로타바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 유두종 바이러스, 파포바 바이러스, 사이토메갈로바이러스, 에키노바이러스, 아르보바이러스, 헨타바이러스, 콕사키 바이러스, 볼거리 바이러스, 홍역 바이러스, 풍진 바이러스, 폴리오 바이러스, 천연두 바이러스, 엡스테인 바 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스 I형(HIV-I), 인간 면역결핍 바이러스 II형(HIV-II), 및 바이러스 질환, 예컨대, 바이러스 수막염, 뇌염, 탕기 또는 천연두의 병원 물질.
- [0245] 본 발명의 방법과 함께 본 발명의 Fc 변이체를 사용하여 치료할 수 있거나 예방할 수 있는, 세균에 의해 야기되는 세균 질환은 하기 세균 질환들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다: 마이코박테리아 리케치아(*Mycobacterium rickettsia*), 마이코플라스마, 네이세리아(*Neisseria*), 슈도모나스 뉴모니아(*S. pneumonia*), 보렐리아 부르그도르페리(*Borrelia burgdorferi*)(라임병), 바실러스 안트라시스(*Bacillus anthracis*)(탄저병), 파상풍, 스트렙토코커스(*Streptococcus*), 스탕필로코커스(*Staphylococcus*), 마이코박테리움, 파상풍, 백일해, 콜레라, 흑사병, 디프테리아, 클라미디아, 스탕필로코커스 아우레우스(*S. aureus*) 및 레기오넬라(*Legionella*). 본 발명의 방법과

함께 본 발명의 분자를 사용하여 치료할 수 있거나 예방할 수 있는, 원생동물에 의해 야기되는 원생동물 질환은 하기 원생동물 질환들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다: 레이쉬매니아(*leishmania*), 코크지디오아(*kokzidioa*), 트립파노소마(*trypanosoma*) 또는 말라리아. 본 발명의 방법과 함께 본 발명의 분자를 사용하여 치료할 수 있거나 예방할 수 있는, 기생충에 의해 야기되는 기생충 질환은 하기 기생충 질환들을 포함하나 이들로 한정되지 않는다: 클라미디아(*chlamydia*) 및 리케치아(*rickettsia*).

[0246] 몇몇 실시양태에서, 본 발명의 Fc 변이체는 감염성 질환의 치료 및/또는 예방용으로 당업자에게 공지된 하나 이상의 추가 치료제의 치료 또는 예방 유효량과 함께 투여될 수 있다. 본 발명은 감염성 질환의 치료 및/또는 예방용으로 당업자에게 공지된 다른 분자(항생제, 항진균제 및 항바이러스제를 포함하나 이들로 한정되지 않음)와 함께 본 발명의 분자를 사용하는 것을 고려한다.

[0247] 본 발명은 본 발명의 Fc 변이체(예를 들면, 항체, 폴리펩티드)를 포함하는 방법 및 약학 조성물을 제공한다. 또한, 본 발명은 유효량의 하나 이상의 본 발명의 Fc 변이체, 또는 하나 이상의 본 발명의 Fc 변이체를 포함하는 약학 조성물을 대상체에게 투여함으로써 질환, 장애 또는 감염과 관련된 하나 이상의 증상을 치료하고 예방하고 호전시키는 방법을 제공한다. 한 양태에서, 상기 Fc 변이체는 실질적으로 정제된다(즉, 그의 효과를 제한하거나 원치 않는 부작용을 생성하는 물질(동종이량체 및 다른 세포 물질을 포함함)을 실질적으로 갖지 않는다). 특정 실시양태에서, 대상체는 동물, 예컨대, 비영장류(예를 들면, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트 등) 및 영장류(예를 들면, 원숭이, 예컨대, 사이노몰거스 원숭이 및 인간)를 포함하는 포유동물이다. 특정 실시양태에서, 대상체는 인간이다. 또 다른 특정 실시양태에서, 본 발명의 항체는 대상체와 동일한 종으로부터 유래된다.

[0248] 조성물의 투여 경로는 치료될 병태에 의해 좌우된다. 예를 들면, 전신 장애, 예컨대, 림프암 또는 전이된 종양의 치료를 위해서는 정맥내 주사가 바람직할 수 있다. 투여될 조성물의 투여량은 표준 투여량-반응 연구와 함께 과도한 실험 없이 당업자에 의해 측정될 수 있다. 이러한 측정을 수행하는 데 있어서 고려될 관련 환경은 치료될 병태 또는 병태들, 투여될 조성물의 선택, 개별 환자의 연령, 체중 및 반응, 및 환자의 증상의 중증도를 포함한다. 상기 조성물은 병태에 따라 환자에게 경구, 비경구, 비내, 질, 직장, 설측, 설하, 협측, 협내 및/또는 경피 투여될 수 있다.

[0249] 따라서, 경구, 설측, 설하, 협측 및 협내 투여를 위해 디자인된 조성물은 당업계에서 잘 공지된 수단, 예를 들면, 불활성 희석제 또는 식용성 담체에 의해 과도한 실험 없이 만들어질 수 있다. 상기 조성물은 젤라틴 캡슐 내에 봉입될 수 있거나 정제로 압축될 수 있다. 경구 치료 투여를 위해, 본 발명의 약학 조성물은 부형제와 함께 도입될 수 있고 정제, 트로치, 캡슐제, 엘릭시르, 현탁액, 시럽, 와이퍼, 저작 검 등의 형태로 사용될 수 있다.

[0250] 정제, 환제, 캡슐제, 트로치 등은 결합제, 수용제, 붕해제, 윤활제, 감미제 및/또는 방향제도 함유할 수 있다. 결합제의 몇몇 예로는 미세결정질 셀룰로스, 검 트라가칸스 및 젤라틴이 있다. 부형제의 예로는 전분 및 락토스가 있다. 붕해제의 몇몇 예로는 알긴산, 옥수수전분 등이 있다. 윤활제의 예로는 스테아르산마그네슘 및 스테아르산칼륨이 있다. 활택제의 일례는 콜로이드성 이산화규소이다. 감미제의 몇몇 예로는 수크로스, 사카린 등이 있다. 방향제의 예로는 페퍼민트, 메틸 살리실레이트, 오렌지 방향제 등이 있다. 이들 다양한 조성물들의 제조에 사용되는 물질은 약학적으로 순수해야 하고 사용되는 양에서 독성을 나타내지 않아야 한다.

[0251] 본 발명의 약학 조성물은 비경구, 예를 들면, 정맥내, 근육내, 경막내 및/또는 피하 주사에 의해 투여될 수 있다. 비경구 투여는 본 발명의 조성물을 용액 또는 현탁액 내로 도입함으로써 달성될 수 있다. 이러한 용액 또는 현탁액은 멸균 희석제, 예컨대, 주사용수, 식염수 용액, 고정유, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린, 프로필렌 글리콜 및/또는 다른 합성 용매도 포함할 수 있다. 비경구 제제는 항균제, 예컨대, 벤질 알코올 및/또는 메틸 파라벤, 항산화제, 예컨대, 아스코르브산 및/또는 중아황산나트륨, 및 킬레이팅제, 예컨대, EDTA도 포함할 수 있다. 완충제, 예컨대, 아세트산염, 시트르산염 및 인산염, 및 긴장성 조절제, 예컨대, 염화나트륨 및 텍스트로스로 첨가될 수 있다. 비경구 제제는 앰플, 일회용 주사기, 및/또는 유리 또는 플라스틱으로 만들어진 다회 투여량 바이알 내에 봉입될 수 있다. 직장 투여는 조성물을 직장 및/또는 대장 내로 투여하는 것을 포함한다. 이것은 좌약제 및/또는 관장제의 사용을 통해 달성될 수 있다. 좌약 제제는 당업계에서 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 경피 제제는 피부를 통한 조성물의 경피 흡수를 포함한다. 경피 제제는 패치, 연고, 크림, 겔, 고약 등을 포함한다. 본 발명의 조성물은 환자에게 비내 투여될 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 비내 투여 또는 비투여는 조성물을 환자의 비도 및/또는 비강의 점막으로 투여하는 것을 포함한다.

[0252] 본 발명의 약학 조성물은 질환, 장애 또는 감염과 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나 치료하거나 호전시키기 위해 본 발명의 방법에 따라 사용될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 멸균되어 있고 대상체에게 투여하기

에 적합한 형태로 존재한다는 것이 고려된다.

[0253] 한 실시양태에서, 본 발명의 조성물은 내독소 및/또는 관련 발열원성 물질을 실질적으로 갖지 않는 발열원 무함 유 제제이다. 내독소는 미생물의 내부에 국한되어 있고 미생물이 분해되거나 사멸할 때 방출되는 독소를 포함한다. 발열원성 물질은 세균 및 다른 미생물의 외막으로부터의 발열 유도 열안정성 물질(당단백질)도 포함한다. 이들 물질들 둘다가 인간에게 투여된 경우 발열, 저혈압 및 쇼크를 야기할 수 있다. 잠재적 유해 효과로 인해 소량의 내독소조차도 정맥내로 투여되는 약학 약물 용액으로부터 제거하는 것이 유리하다. 식품의약청("FDA")은 정맥내 약물 적용을 위해 1시간의 단일 기간 이내에 체중 kg 당 투여량 당 5 내독소 유닛(EU)의 상한을 설정하였다(The United States Pharmacopeial Convention, Pharmacopeial Forum 26 (1):223 (2000)). 치료 단백질이 체중 kg 당 수백 또는 수천 mg의 양으로 투여되는 경우(단일클론 항체를 사용하는 경우일 수 있음), 미량의 내독소조차도 제거하는 것이 유리하다. 특정 실시양태에서, 조성물 중의 내독소 및 발열원 수준은 10 EU/mg 미만, 5 EU/mg 미만, 1 EU/mg 미만, 0.1 EU/mg 미만, 0.01 EU/mg 미만 또는 0.001 EU/mg 미만이다.

[0254] 본 발명은 하기 단계들을 포함하는, 질환, 장애 또는 감염과 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나, 치료하거나 호전시키는 방법을 제공한다: (a) 하나 이상의 Fc 변이체를 포함하는 조성물을 상기 예방, 치료 또는 호전이 필요한 대상체에게 1회 투여량의 예방 또는 치료 유효량으로 투여하는 단계; 및 (b) 1회 이상의 후속 투여량의 상기 Fc 변이체를 투여하여 항원에 연속적으로 결합하는 Fc 변이체의 혈장 농도를 원하는 수준(예를 들면, 약 0.1 $\mu\text{g/ml}$ 내지 약 100 $\mu\text{g/ml}$)에서 유지하는 단계. 특정 실시양태에서, Fc 변이체의 혈장 농도는 10 $\mu\text{g/ml}$, 15 $\mu\text{g/ml}$, 20 $\mu\text{g/ml}$, 25 $\mu\text{g/ml}$, 30 $\mu\text{g/ml}$, 35 $\mu\text{g/ml}$, 40 $\mu\text{g/ml}$, 45 $\mu\text{g/ml}$ 또는 50 $\mu\text{g/ml}$ 에서 유지된다. 특정 실시양태에서, 투여될 Fc 변이체의 상기 유효량은 투여량 당 1 mg/kg 이상 내지 8 mg/kg이다. 또 다른 특정 실시양태에서, 투여될 Fc 변이체의 상기 유효량은 투여량 당 4 mg/kg 이상 내지 5 mg/kg이다. 또 다른 특정 실시양태에서, 투여될 Fc 변이체의 상기 유효량은 투여량 당 50 mg 내지 250 mg이다. 또 다른 특정 실시양태에서, 투여될 Fc 변이체의 상기 유효량은 투여량 당 100 mg 내지 200 mg이다.

[0255] 본 발명은 질환, 장애 또는 감염과 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나, 치료하거나 호전시키는 프로토콜도 포괄하고, 이때 Fc 변이체가 Fc 변이체 및/또는 변이체 융합 단백질 이외의 요법(예를 들면, 예방제 또는 치료제)과 함께 사용된다. 본 발명은 본 발명의 Fc 변이체가 현재 표준 및 실험 화학요법을 포함하는 다른 암 요법을 증강시키고 이들 다른 암 요법과 상승작용하고/하거나, 이들 다른 암 요법의 효능을 향상시키고/시키거나, 이들 다른 암 요법의 내성을 개선하고/하거나, 이들 다른 암 요법에 의해 야기된 부작용을 감소시킨다는 인식에 부분적으로 기초한다. 본 발명의 조합 요법은 부가적 효능, 부가적 치료 효과 또는 상승작용적 효과를 갖는다. 본 발명의 병용 요법은 질환, 장애 또는 감염과 관련된 하나 이상의 증상을 예방하거나, 치료하거나 호전시키기 위해 Fc 변이체와 함께 사용되는 요법(예를 들면, 예방제 또는 치료제)의 투여량을 낮출 수 있고/있거나, 질환, 장애 또는 감염을 갖는 대상체의 삶의 질을 개선하고/하거나 예방 또는 치료 효과를 달성하기 위해 이러한 예방제 또는 치료제를 상기 대상체에게 투여하는 빈도를 낮출 수 있다. 또한, 본 발명의 병용 요법은 현재 단일 약제 요법 및/또는 기존 병용 요법의 투여와 관련된 원치 않는 또는 불리한 부작용을 감소시키거나 회피함으로써 치료 프로토콜에의 환자 순응성을 개선한다. 본 발명의 Fc 변이체와 함께 사용될 수 있는 다수의 분자들이 당업계에서 잘 공지되어 있다. 예를 들면, PCT 국제 공보 제WO 02/070007호, PCT 국제 공보 제WO 03/075957호 및 미국 특허 공보 제2005/064514호를 참조한다.

[0256] 본 발명은 Fc γ R 및/또는 C1q에 대한 변경된 결합 친화성, 및 변경된 ADCC 및/또는 CDC 활성을 갖고 항원에 특이적으로 결합하고 검출가능한 물질, 치료제 또는 치료 약물에 접합되어 있거나 융합되어 있는 하나 이상의 Fc 변이체를 하나 이상의 용기 내에 포함하는, 질환, 장애 또는 감염과 관련된 하나 이상의 증상의 모니터링, 진단, 예방, 치료 또는 호전을 위해 사용될 키트를 제공한다.

[0257] 5. 실시예

[0258] 하기 실시예는 본 발명의 실시를 예시하기 위해 제공된다. 하기 실시예는 본 발명의 전체 범위를 한정하거나 정의하기 위한 것이 아니다.

[0259] 실시예 1: 이중이량체 Fc 도메인을 갖는 2가 이중특이적 항체의 발생

[0260] 인간/포유동물 발현을 위해 최적화된 코돈을 사용하는 유전자 합성을 통해 항체 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자를 구축하였다. 공지된 Her2/neu 결합 Ab(Carter P. et al. (1992) Humanization of an anti P185 Her2 antibody for human cancer therapy. Proc Natl Acad Sci 89, 4285)로부터 Fab 서열을 발생시켰고, Fc는 IgG1 동종형(서열번호 1)이었다. 최종 유전자 생성물을 포유동물 발현 벡터 pTT5(NRC-BRI, 캐나다 소재) 내로 서브클

로닝하였다(Durocher, Y., Perret, S. & Kamen, A. High-level and high-throughput recombinant protein production by transient transfection of suspension-growing human HEK293-EBNA1 cells. *Nucleic acids research* 30, E9 (2002)). pTT5 주형 벡터의 부위 지정 돌연변이유발을 통해 돌연변이를 CH3 도메인 내에 도입하였다. 만들어진 변이체 CH3 도메인 돌연변이들의 목록에 대해서는 표 1, 표 6 및 표 7을 참조한다.

[0261] 이중이량체의 형성을 평가하고 동중이량체 대 이중이량체의 비를 측정하기 위해, 상이한 크기의 C-말단 연장부를 갖는 2개의 이중이량체 중쇄(구체적으로, C-말단 히스태그를 갖는 쇠 A 및 C-말단 mRFP 플러스 스트렙태그(StrepTag)II를 갖는 쇠 B)를 디자인하였다. 이 분자량 차이는 도 25a에 예시된 바와 같이 비환원 SDS-PAGE에서 동중이량체 대 이중이량체의 구별을 가능하게 한다.

[0262] 대수 증식기에서 HEK293 세포를 2.5:1의 PEI:DNA 비로 1 mg/ml의 25 kDa 수성 폴리에틸렌이민(PEI, 폴리사이언시스(Polysciences))으로 형질감염시켰다(Raymond C. et al. A simplified polyethylenimine-mediated transfection process for large-scale and high-throughput applications. *Methods*. 55(1):44-51 (2011)). 이중이량체의 형성을 위한 최적 농도 범위를 측정하기 위해, DNA를 상기 2개 중쇄의 3개 상이한 비로 형질감염시켰다. 예를 들면, 이것은 2 ml 배양 부피, 및 5% GFP, 45% 연어 정자 DNA, 25% 경쇄 및 25% 총 중쇄로 구성된 형질감염 DNA를 이용하여 수행하였고, 이때 65%/55%/35% 또는 10%/20%/40%에서 (C-말단 히스태그를 갖는) 중쇄 A 플라스미드 및 (C-말단 스트렙태그II 플러스 RFP를 갖는) 중쇄 B 플라스미드를 10%/65%, 20%/55% 및 40%/35%의 3개 상이한 상대적 비(쇠_A(His)/쇠_B(mRFP))로 샘플링하였다(WT_His/WT_mRFP 이중이량체의 겔보기 1:1 발현 비는 DNA 비 20%/55%에 가까운 것으로 측정되었다). F17 혈청 무함유 배지(김코(Gibco))에서 형질감염시킨지 4시간 내지 48시간 후, TN1 펩톤을 0.5%의 최종 농도로 첨가하였다. 발현된 항체를 SDS-PAGE로 분석하여 최적 이중이량체 형성을 위한 중쇄 대 경쇄의 가장 우수한 비를 측정하였다(도 25b 및 25c 참조).

[0263] 5% GFP 및 45% 연어 정자 DNA와 함께 AZ33 및 AZ34의 선택된 DNA 비, 예를 들면, 50% 경쇄 플라스미드, 25% 중쇄 A 플라스미드 및 25% 중쇄 B를 사용하여 150 ml의 세포 배양물을 전술된 바와 같이 형질감염시켰다. 5일 내지 6일 후, 4000 rpm에서의 원심분리 후 수집된 배양 배지를 사용하여 형질감염된 세포를 수거하였고 0.45 µm 필터를 이용하여 정화시켰다. 순도 및 용융 온도의 측정을 포함하는 추가 분석을 위해 발생된 CH3 돌연변이를 갖는 항체들 각각에 대한 규모 확대 형질감염 분석에서 사용된 경쇄 및 중쇄 A 및 B 플라스미드의 백분율의 목록에 대해서는 하기 표 2를 참조한다.

[0264] [표 2]

변이체	LC/HCA/HCB	변이체	LC/HCA/HCB	변이체	LC/HCA/HCB	변이체	LC/HCA/HCB
야생형	50%,50%	AZ47	50%,25%,25%	AZ77	40%,20%,40%	AZ98	50%,20%,30%
AZ12	50%,25%,25%	AZ48	40%,25%,35%	AZ78	50%,20%,30%	AZ100	50%,20%,30%
AZ14	50%,25%,25%	AZ49	50%,25%,25%	AZ79	25%,35%,40%	AZ101	50%,20%,30%
AZ15	50%,25%,25%	AZ63	50%,20%,30%	AZ81	25%,35%,40%	AZ106	25%,35%,40%
AZ17	50%,25%,25%	AZ64	50%,20%,30%	AZ82	50%,20%,30%	AZ114	25%,20%,55%
AZ19	50%,25%,25%	AZ65	50%,20%,30%	AZ83	50%,20%,30%	AZ115	25%,20%,55%
AZ20	50%,25%,25%	AZ66	50%,20%,30%	AZ84	50%,20%,30%	AZ122	25%,20%,55%
AZ21	50%,25%,25%	AZ67	50%,20%,30%	AZ85	50%,25%,25%	AZ123	40%,20%,40%
AZ25	50%,25%,25%	AZ68	50%,20%,30%	AZ86	40%,15%,45%	AZ124	40%,20%,40%
AZ29	50%,25%,25%	AZ69	50%,20%,30%	AZ87	50%,25%,25%	AZ129	40%,30%,30%
AZ30	50%,25%,25%	AZ70	50%,20%,30%	AZ88	50%,25%,25%	AZ130	40%,30%,30%
AZ32	50%,25%,25%	AZ71	40%,20%,40%	AZ89	40%,15%,45%		
AZ33	50%,25%,25%	AZ72	40%,20%,40%	AZ91	50%,25%,25%		
AZ34	50%,25%,25%	AZ73	40%,20%,40%	AZ92	40%,20%,40%		
AZ42	50%,25%,25%	AZ74	40%,20%,40%	AZ93	40%,20%,40%		
AZ44	50%,25%,25%	AZ75	40%,20%,40%	AZ94	50%,25%,25%		
AZ46	50%,25%,25%	AZ76	40%,20%,40%	AZ95	50%,20%,30%		

[0265]

[0266] 실시예 2: 이중이량체 Fc 도메인을 갖는 2가 단일특이적 항체의 정제

[0267]

정화된 배양 배지를 MabSelect SuRe(지이 헬스케어(GE Healthcare)) 단백질 A 컬럼 상에 적재하고 pH 7.2에서 10배 컬럼 부피의 PBS 완충제로 세척하였다. pH 11에서 TRIS로 중화된 항체를 함유하는 풀링된 분획과 함께, pH 3.6에서 10배 컬럼 부피의 시트르산염 완충제를 사용하여 항체를 용출하였다. Econo-Pac 10DG 컬럼(바이오-라드(Bio-Rad))을 이용하여 단백질을 최종적으로 탈염시켰다. 25℃에서 PBS에서 1:10,000의 비로 항체를 장내인산화효소(enterokinase)(NEB)와 함께 밤새 항온처리하여 중쇄 B 상의 C-말단 mRFP 태그를 제거하였다. 겔 여과로 혼합물로부터 항체를 정제하였다. 겔 여과를 위해, 3.5 mg의 항체 혼합물을 1.5 ml까지 농축하였고 AKTA 익스프레스(Express) FPLC를 통해 1 ml/분의 유속으로 세파덱스(Sephadex) 200 하이로드(HiLoad) 16/600 200 pg 컬럼(지이 헬스케어) 상에 적재하였다. pH 7.4에서 PBS 완충제를 1 ml/분의 유속으로 사용하였다. 정제된 항체에 상응하는 분획을 수집하고 약 1 mg/ml까지 농축하고 -80℃에서 저장하였다.

[0268]

비환원 SDS-PAGE 및 질량 분광측정법을 이용하여 동중이량체와 비교된 이중이량체의 형성을 분석하였다. 단백질 A 정제된 항체를 4% 내지 12% 구배 SDS-PAGE 비환원 겔 상에서 런닝시켜 장내인산화효소(EK) 처리 전에 형성된 이중이량체의 백분율을 측정하였다(도 26 참조). 질량 분광측정법을 위해, 모든 트랩(Trap) LC/MS(ESI-TOF) 실험을 워터스(Waters) Q-TOF2 질량 분광측정기와 접속된 아질런트(Agilent) 1100 HPLC 시스템 상에서 수행하였다. 5 µg의 겔 여과 정제된 항체를 단백질 마이크로트랩(1.0 × 8.0 mm) 내로 주입하고 1% 아세트니트릴로 8분 동안 세척하고 1% 내지 20% 아세트니트릴 구배/0.1% 포름산 구배로 2분 동안 세척한 후, 20% 내지 60% 아세트니트릴/0.1% 포름산 구배로 20분 동안 용출하였다. 용출물(30 µl/분 내지 50 µl/분)을 분광측정기로 향하게 하였고, 이때 스펙트럼이 매초마다 획득되었다(m/z 800 내지 4,000)(도 28 참조). 각각 85% 초과 이중이량체 형성을 갖는 AZ12 및 AZ14를 제외하고 추가 분석을 위해 90% 초과 이중이량체를 갖는 변이체를 선택하였다.

[0269]

실시예 3: 시차 주사 열량측정법(DSC)을 이용하여 이중이량체 Fc 도메인을 갖는 2가 단일특이적 항체의 안정성 측정

[0270]

GE VP-모세관 기구를 이용하여 모든 DSC 실험을 수행하였다. 단백질을 PBS(pH 7.4) 내로 완충제 교환하고 0.4

mg/ml 내지 0.5 mg/ml까지 희석하였고, 0.137 ml를 샘플 셀 내에 적재하고 20℃부터 100℃까지 1℃/분의 스캔 속도로 측정하였다. 오리진(Origin) 소프트웨어(지이 헬쓰케어)를 이용하여 데이터를 분석하고, PBS 완충제 배경을 차감하였다(도 27 참조). 시험된 변이체들의 목록 및 측정된 용융 온도에 대해서는 표 3을 참조한다. 70℃ 이상의 용융 온도를 갖는 변이체들의 목록 및 각각의 변이체에 대한 특이적 T_m에 대해서는 표 4를 참조한다.

[표 3]

동종이량체 형성에 비해 90% 이상의 이종이량체 형성을 갖는 IgG1 항체 내의 변이체
CH3 도메인의 용융 온도 측정

변이체	T _m °C	변이체	T _m °C	변이체	T _m °C	변이체	T _m °C
야생형	81	AZ29	70	AZ63	71.5	AZ87	71
대조군 1	69	AZ30	71	AZ64	74	AZ88	72
대조군 2	69	AZ31	68	AZ65	73	AZ89	72.5
AZ3	65	AZ32	71.5	AZ66	72.5	AZ91	71.5
AZ6	68	AZ33	74	AZ67	72	AZ92	71.5
AZ8	68	AZ34	73.5	AZ68	72	AZ93	71.5
AZ12	77	AZ38	69	AZ69	71	AZ94	73.5
AZ14	77	AZ42	70	AZ70	75.5	AZ95	72
AZ15	71.5	AZ43	67	AZ71	71	AZ98	70
AZ16	68.5	AZ44	71.5	AZ72	70.5	AZ99	69
AZ17	71	AZ46	70.5	AZ73	71	AZ100	71.5
AZ18	69.5	AZ47	70.5	AZ74	71	AZ101	74
AZ19	70.5	AZ48	70.5	AZ75	70	AZ106	74
AZ20	70	AZ49	71	AZ76	71.5	AZ114	71
AZ21	70	AZ50	69	AZ77	71	AZ115	70
AZ22	69	AZ52	68	AZ78	70	AZ117	69.5
AZ23	69	AZ53	68	AZ79	70	AZ122	71

AZ24	69.5	AZ54	67	AZ81	70.5	AZ123	70
AZ25	70.5	AZ58	69	AZ82	71	AZ124	70
AZ26	69	AZ59	69	AZ83	71	AZ125	69
AZ27	68	AZ60	67	AZ84	71.5	AZ126	69
AZ28	69.5	AZ61	69	AZ85	71.5	AZ129	70.5
		AZ62	68	AZ86	72.5	AZ130	71

[0274] [표 4]

IgG1 항체 내의 선택된 변이체 CH3 도메인의 용융 온도 측정

변이체	Tm °C	변이체	Tm °C	변이체	Tm °C	변이체	Tm °C
야생형	81.5	AZ42	70	AZ73	71	AZ91	71.5
대조군 1	69	AZ44	71.5	AZ74	71	AZ92	71.5
대조군 2	69	AZ46	70.5	AZ75	70	AZ93	71.5
AZ12	>77	AZ47	70.5	AZ76	71.5	AZ94	73.5
AZ14	>77	AZ48	70.5	AZ77	71	AZ95	72
AZ15	71.5	AZ49	71	AZ78	70	AZ98	70
AZ17	71	AZ63	71.5	AZ79	70	AZ100	71.5
AZ19	70.5	AZ64	74	AZ81	70.5	AZ101	74
AZ20	70	AZ65	73	AZ82	71	AZ106	74
AZ21	70	AZ66	72.5	AZ83	71	AZ114	71
AZ25	70.5	AZ67	72	AZ84	71.5	AZ115	70
AZ29	70	AZ68	72	AZ85	71.5	AZ122	71
AZ30	71	AZ69	71	AZ86	72.5	AZ123	70
AZ32	71.5	AZ70	75.5	AZ87	71	AZ124	70
AZ33	74	AZ71	71	AZ88	72	AZ129	70.5
AZ34	73.5	AZ72	70.5	AZ89	72.5	AZ130	71

[0275]

[0276] 실시예 4: 표면 플라즈몬 공명을 이용한 FcγR 결합의 평가

[0277] pH 7.4에서 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3.4 mM EDTA 및 0.05% 트윈 20과 함께 바이오라드 프로테온(BioRad ProteOn) XPR36 기구를 25°C에서 이용하여 모든 결합 실험을 수행하였다. 대략 3000 공명 유닛(RU)이 소광된 남은 활성 기로 고정될 때까지 10 mM NaOAc(pH 4.5) 중의 4.0 μg/ml를 25 μl/분의 속도로 주입하여 제조항 HER-2/neu(p185, ErbB-2(이바이오사이언시스 인코포레이티드(eBiosciences, Inc.))를 활성화된 GLM 센서칩 상에서 포획하였다. 안정한 기준을 확립하기 위한 완충제 주입 후 25 μl/분의 속도로 240초 동안 주입하였을 때(대략 500 RU를 발생시킴) 변이체 CH3 도메인을 포함하는 정제된 항-HER-2/neu 항체 40 μg/ml가 Her-2/neu 단백질에 결합함으로써 상기 센서칩 상에서 간접적으로 포획되었다. 180초 해리 단계를 가지면서 FcγR(CD16a(f 동종이형) 및 CD32b) 농도(6000, 2000, 667, 222 및 74.0 nM)를 60 μl/분의 속도로 120초 동안 주입하여 결합 센소그램의 세트를 획득하였다. 발생된 K_D 값을 평형 피트 모델을 이용하여 결합 등온선으로부터 측정하였고, 값을 3회의 독립적인 실시의 평균으로서 보고하였다. 야생형 IgG1 Fc 도메인과의 비교를 수행하였고, 결합을 WT kD 대 변이체 kD의 비로서 표현하였다(표 5 참조).

[0278] [표 5]

kD 야생형 IgG1 대 CD16a 및 CD32b에 독립적으로 결합하는 변이체 CH3 도메인
항체의 비

변이체	CD16a 비 WT/변이체	CD32b 비 WT/변이체	변이체	CD16a 비 WT/변이체	CD32b 비 WT/변이체
대조군 1	1.28	1.68	AZ64	0.95	0.9
대조군 2	1.1	1.13	AZ65	0.93	0.9
AZ3	1.75	1.87	AZ66	1.26	1.19
AZ6	1.38	1	AZ67	1.21	1.13
AZ8	1.75	1.64	AZ68	1.02	1.1
AZ12	N/A	N/A	AZ69	0.96	1.05
AZ14	N/A	N/A	AZ70	1.06	1.11
AZ15	0.72	0.59	AZ71	0.89	0.95
AZ16	0.95	0.64	AZ72	1.04	1.02
AZ17	2.28	2.37	AZ73	1.09	1.07
AZ18	1.53	1.7	AZ74	1.25	1.17
AZ19	1.55	1.89	AZ75	1.34	1.22
AZ20	2.56	1.93	AZ76	0.99	1
AZ21	2.41	3.28	AZ77	1	1.08
AZ22	2.02	2.37	AZ78	0.9	1
AZ23	1	2.16	AZ79	1.01	0.8
AZ24	1.79	2.26	AZ81	1.01	0.84
AZ25	2.02	2.37	AZ82	0.97	0.94

[0279]

AZ26	2.38	2.59	AZ83	0.94	0.94
AZ27	2.27	2.38	AZ84	0.93	1
AZ28	1.45	2.15	AZ85	1.01	1.14
AZ29	1.62	2.13	AZ86	1.22	1.18
AZ30	1.61	2.38	AZ87	1.03	1.1
AZ31	1.63	2.29	AZ88	1.11	1.15
AZ32	1.82	2.48	AZ89	1.12	1.24
AZ33	1.91	1.89	AZ91	1.11	1.11
AZ34	1.88	1.88	AZ92	1.21	1.24
AZ38	1.78	1.44	AZ93	1.21	1.18
AZ42	1.28	1.09	AZ94	1.17	1.19
AZ43	1.63	1.73	AZ95	0.86	0.96
AZ44	2.76	3.07	AZ98	0.79	0.82
AZ46	2.16	2.66	AZ99	1.16	1.15
AZ47	1.76	2.12	AZ100	1.13	1.12
AZ48	2.02	1.59	AZ101	1.24	1.23
AZ49	2.09	2.9	AZ106	0.76	0.64
AZ50	2.33	1.86	AZ114	1.3	0.84
AZ52	1.55	1.5	AZ115	1.13	0.82
AZ53	1.87	1.27	AZ117	0.89	1
AZ54	1.36	1.64	AZ122	0.89	0.92
AZ58	2.33	1.48	AZ123	0.85	0.92
AZ59	1.18	1.57	AZ124	0.99	1.09

AZ60	1.51	1.23	AZ125	1	1
AZ61	1.41	1.75	AZ126	0.86	0.9
AZ62	1.53	1.88	AZ129	1.91	2.57
AZ63	0.9	0.95	AZ130	1.91	2.54

실시예 5: Fc_{CH3} 조작을 이용한 Fc 변이체의 합리적인 디자인 - 스카폴드 1(1a 및 1b), 및 AZ17-62 및 AZ133-AZ2438의 개발

초기 음성 디자인 Fc 변이체 AZ8을 안정성 및 순도에 대해 개선하기 위해, 전술된 구조적 방법 및 컴퓨터를 이용한 방법을 이용하였다(도 24 참조). 예를 들면, AZ8의 상세한 구조-기능 분석은 야생형 인간 IgG1과 비교된 AZ8의 도입된 돌연변이 L351Y_V397S_F405A_Y407V/K392V_T394W 각각에 대한 상세한 이해를 제공하였고 중요한 코어 이중이량체 돌연변이가 L351Y_F405A_Y407V/T394W인 반면, V397S 및 K392V가 이중이량체 형성과 관련되지

않는다는 것을 보여주었다. 상기 코어 돌연변이(L351Y_F405A_Y407V/T394W)는 본원에서 "스카폴드 1" 돌연변이로서 지칭된다. 나아가, 상기 분석은 야생형(WT) 동종이량체 형성에 비해 상실되는 중요한 경계면 핫스팟이 WT-F405-K409 및 Y407-T366의 상호작용, 및 Y407-Y407 및 -F405의 팩킹이라는 것을 보여주었다(도 29 참조). 이것은 루프 영역 D399-S400-D401(도 30 참조) 및 K370에서의 관련 β -시트에서 큰 입체구조적 차이를 보여준 팩킹, 캐비티 및 MD 분석에 반영되었다. 이것은 쇄간 상호작용 K409-D399의 상실(도 30 참조), 및 K370과 E357의 강한 수소결합의 약화를 초래하였다(K370은 S364 및 E357과 더 이상 직접적으로 접촉하지 않지만 전체적으로 용매에 노출된다). WT IgG1 CH3 도메인에서, 이들 영역들은 경계면을 가장자리에 고정시키고 벌크 용매 경쟁으로부터 코어 상호작용을 보호하고 유리한 소수성 반 데르 발스 상호작용의 동역학적 발생을 증가시킨다. 결과는 WT에 비해 AZ8의 보다 낮은 파묻힌 표면적 및 소수성 코어의 보다 높은 용매 접근성이었다. 이것은 WT 안정성에 비해 AZ8의 보다 낮은 안정성에 대해 가장 중요한 인자가 a) WT-F405-K409 상호작용의 상실 및 F405의 팩킹, 및 b) Y407-Y407 및 Y407-T366의 강한 팩킹 상호작용의 상실이라는 것을 암시하였다. 도 29를 참조한다.

[0284] 결과적으로, 본 발명자들은 WT에 비해 AZ8의 낮은 안정성의 원인이 되는 핵심 잔기/서열 모티프를 확인하였다. 따라서, AZ8의 안정성 및 이종이량체 특이성을 개선하기 위해, 후속 양성 디자인 조작 노력은 보다 더 "폐쇄된" - WT 유사 입체구조에서 위치 399-401의 루프 입체구조의 안정화(도 30 참조), 및 위치 T366 및 L368에서 소수성 코어의 전체적인 약간 감소된(보다 더 느슨한) 팩킹에 대한 보완(도 29 참조)에 특히 집중되었다.

[0285] 위치 399-401의 루프 입체구조의 이 안정화를 달성하기 위해, 기재된 컴퓨터를 이용한 방법을 이용하여 본 발명자들의 상이한 표적화된 디자인 방안을 평가하였다. 구체적으로, Fc 변이체 AZ8에 대한 3개의 상이한 독립적인 옵션들을 분석하여 상기 확인된 핵심 영역을 안정성의 개선에 대해 최적화하였다. 먼저, 소수성 코어를 보호하고 399-400의 루프 입체구조를 안정화시키기 위해 위치 K409 및 F405A에 인접한 캐비티를 보다 더 우수한 소수성 팩킹에 대해 평가하였다(도 30 참조). 이것은 위치 F405 및 K392에서의 추가 점 돌연변이를 포함하였으나 이들로 한정되지 않았다. 둘째, 399-400의 루프 입체구조를 안정화시키고 소수성 코어를 보호하기 위해 위치 399-409의 정전기 상호작용의 개선에 대해 옵션들을 평가하였다. 이것은 위치 T411 및 S400에서의 추가 점 돌연변이를 포함하였으나 이들로 한정되지 않았다. 셋째, 코어 소수성 팩킹을 개선하기 위해 코어 팩킹 위치 T366, T394W 및 L368에서 캐비티를 평가하였다(도 29 참조). 이것은 위치 T366 및 L368에서의 추가 점 돌연변이를 포함하였으나 이들로 한정되지 않았다. 상이한 독립적인 양성 디자인 방안을 인-실리코에서 평가하였고, 컴퓨터를 이용한 수단을 이용하여 확인한 가장 우수한 순위의 변이체들(AZ17-AZ62)을 실시예 1 내지 4에 기재된 바와 같이 발현 및 안정성에 대해 실험적으로 검증하였다. 이 디자인 단계로부터 수득된, 70°C 이상의 용융 온도를 갖는 Fc 변이체들의 목록에 대해서는 표 4를 참조한다.

[0286] Fc 변이체 AZ33은 안정성 및 순도를 개선하기 위해 스카폴드 1이 스카폴드 1a 돌연변이를 발생시키도록 변형되어 있는 Fc 변이체의 개발의 일례이다. 이 Fc 변이체는 소수성 코어를 보호하고 399-400의 루프 입체구조를 안정화시키기 위해 위치 392-394-409 및 366에서 소수성 팩킹을 개선하고자 하는 목적으로 AZ8에 기초하여 디자인되었다. 이 Fc 변이체 AZ33 이종이량체는 AZ8의 코어 돌연변이와 상이한 2개의 추가 점 돌연변이 K392M 및 T366I를 갖는다. 상기 돌연변이 T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V는 본원에서 "스카폴드 1a" 돌연변이로서 지칭된다. 돌연변이 K392M은 소수성 코어를 보호하고 399-400의 루프 입체구조를 안정화시키기 위해 위치 K409 및 F405A에 인접한 캐비티에서 팩킹을 개선하도록 디자인되었다(도 31 참조). T366I는 코어 소수성 팩킹을 개선하고 T394W 쇄의 동종이량체의 형성을 제거하도록 디자인되었다(도 29 참조). AZ33에 대한 실험 데이터는 초기 음성 디자인 Fc 변이체 AZ8(Tm 68°C)에 비해 상당히 개선된 안정성을 보였는데, 이때 AZ33은 74°C의 Tm 및 98% 초과량의 이종이량체 함량을 갖는다(도 25c 참조).

[0287] **Fc 변이체 이종이량체의 단계 3 디자인에서 스카폴드 1 돌연변이를 사용한 Fc 변이체의 개발**

[0288] AZ33이 초기 출발 변이체 AZ8에 비해 상당한 안정성 및 특이성(또는 순도) 개선을 제공한다 하더라도, 본 발명자들의 분석은 Fc 변이체 이종이량체의 안정성의 추가 개선이 AZ33의 실험 데이터 및 전달된 디자인 방법을 이용한 추가 아미노산 변형에 의해 달성될 수 있다는 것을 보여준다. 상이한 디자인 방안이 발현 및 안정성에 대해 독립적으로 시험되었지만, 독립적인 디자인 방안은 전달가능하고, 가장 성공적인 이종이량체는 상이한 디자인들의 조합을 함유할 것이다. 구체적으로, AZ8의 최적화를 위해, 잔기 L366T-L368에서 코어 팩킹을 최적화하는 돌연변이들과 독립적으로 K409-F405A-K392에 인접한 캐비티에서 팩킹 돌연변이들을 평가하였다. 이들 2개 영역 366-368 및 409-405-392는 서로 멀리 떨어져 있고 독립적인 것으로서 간주된다. 예를 들면, Fc 변이체 AZ33은 366-368이 아니라 409-405-392에서 팩킹에 대해 최적화되어 있는데, 이는 이들 최적화 돌연변이들이 별도로 평가되었기 때문이다. 366-368 돌연변이들의 비교는 T366L이 T366 및 T366I(Fc 변이체 AZ33의 개발에서 사용된 점 돌연변이)에 비해 개선된 안정성을 갖는다는 것을 암시한다. 결과적으로, 제시된 실험 데이터는 예를 들면,

T366I 대신에 T366L의 도입에 의한 AZ33의 추가 최적화를 즉시 암시한다. 따라서, CH3 도메인 내의 아미노산 돌연변이 T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V는 본원에서 "스카폴드 1b" 돌연변이로서 지칭된다.

[0289] 유사한 방식으로, 완전한 실험 데이터를 분석함으로써 현재 Fc 변이체 이중이량체 AZ33을 추가로 개선하기 위해 사용될 수 있는 점 돌연변이를 확인하였다. 이들 확인된 돌연변이들을 전술된 컴퓨터를 이용한 방법으로 분석하고 순위를 매겨 표 6에 나타난 바와 같은 AZ33에 기초한 추가 Fc 변이체 이중이량체들의 목록을 수득하였다.

[0290] **실시예 6: Fc_CH3 조작을 이용한 Fc 변이체의 합리적인 디자인 - 스카폴드 2(a 및 b), 및 AZ63-101 및 AZ2199-AZ2524의 개발**

[0291] 초기 음성 디자인 단계 Fc 변이체 AZ15를 안정성 및 순도에 대해 개선하기 위해, 전술된 구조적 방법 및 컴퓨터를 이용한 방법을 이용하였다(도 24 참조). 예를 들면, Fc 변이체 AZ15의 상세한 구조-기능 분석은 야생형(WT) 인간 IgG1과 비교된 AZ15의 도입된 돌연변이 L351Y_Y407A/E357L_T366A_K409F_T411N 각각에 대한 상세한 이해를 제공하였고 중요한 코어 이중이량체 돌연변이가 L351Y_Y407A/T366A_K409F인 반면, E357L 및 T411N이 이중이량체 형성 및 안정성과 직접적으로 관련되지 않는다는 것을 보여주었다. 상기 코어 돌연변이(L351Y_Y407A/T366A_K409F)는 본원에서 "스카폴드 2" 돌연변이로서 지칭된다. 나아가, 상기 분석은 야생형(WT) 동종이량체 형성에 비해 상실되는 중요한 경계면 핫스팟이 염 가교 D399-K409, 수소결합 Y407-T366 및 Y407-Y407의 팩킹이라는 것을 보여주었다. 하기 제공된 본 발명자들의 상세한 분석은 본 발명자들이 어떻게 본 발명자들의 원래의 Fc 변이체 AZ15의 안정성을 개선하였는지, 및 개선된 안정성을 갖는 이들 Fc 변이체들을 달성하기 위해 만들어진 위치 및 아미노산 변형을 기술한다.

[0292] **스카폴드 2 돌연변이를 이용한 Fc 변이체의 개발, 및 스카폴드 2a 돌연변이의 추가 개발**

[0293] 본 발명자들의 인-실리코 분석은 WT-Y407-Y407 상호작용의 상실로 인한 Fc 변이체 AZ15 돌연변이 K409F_T366A_Y407A의 비최적 팩킹 및 소수성 코어의 전체적인 감소된 팩킹을 보여주었다. 후속 조작 단계에서 양성 디자인 노력은 초기 Fc 변이체 AZ15에서 이들 팩킹 결함을 보완하기 위한 점 돌연변이에 집중되었다. 표적화된 잔기는 위치 T366, L351 및 Y407을 포함하였다. 이들의 상이한 조합들을 인-실리코에서 시험하였고 컴퓨터를 이용한 수단을 이용하여 확인한 가장 우수한 순위의 Fc 변이체들(AZ63-AZ70)을 실시예 1 내지 4에 기재된 바와 같이 발현 및 안정성에 대해 실험적으로 검증하였다.

[0294] Fc 변이체 AZ70은 안정성 및 순도를 개선하기 위해 스카폴드 2가 스카폴드 2a 돌연변이를 발생시키도록 변형되어 있는 Fc 변이체의 개발의 일례이다. 이 Fc 변이체는 전술된 바와 같이 소수성 코어에서 보다 우수한 팩킹을 달성하고자 하는 목적으로 AZ15에 기초하여 디자인되었다. Fc 변이체 AZ70은 T366이 T366A 대신에 T366V로 돌연변이되었다는 점을 제외하고 전술된 바와 동일한 스카폴드 2 코어 돌연변이(L351Y_Y407A/T366A_K409F)를 갖는다. L351Y 돌연변이는 366A_409F/407A 변이체 용융 온도를 71.5°C에서 74°C로 개선하고, 366A로부터 366V로의 추가 변화는 Tm을 75.5°C까지 개선한다(각각 71.5°C, 74°C 및 75.5°C의 Tm을 갖는 표 4의 AZ63, AZ64 및 AZ70 참조). 상기 코어 돌연변이(L351Y_Y407A/T366V_K409F)는 본원에서 "스카폴드 2a" 돌연변이로서 지칭된다. Fc 변이체 AZ70에 대한 실험 데이터는 초기 음성 디자인 Fc 변이체 AZ15(Tm 71°C)에 비해 상당히 개선된 안정성을 보여주었는데, 이때 AZ70은 75.5°C의 Tm 및 90% 초과 이중이량체 함량을 갖는다(도 33 및 27 참조).

[0295] **스카폴드 2 돌연변이를 이용한 Fc 변이체의 개발 및 스카폴드 2b 돌연변이의 추가 개발**

[0296] 분자 동역학 시뮬레이션(MD) 및 팩킹 분석은 아마도 WT 염 가교 K409-D399의 상실로 인한 루프 399-400의 바람직한 보다 더 "개방된" 입체구조를 보여주었다. 또한, 이것은 K392와의 보완 상호작용을 선호하고 상기 루프의 보다 더 "개방된" 입체구조를 유도하는 충족되지 않은 D399를 발생시킨다. 상기 보다 더 "개방된" 루프 입체구조는 코어 CH3 도메인 경계면 잔기의 전체적인 감소된 팩킹 및 보다 더 높은 용매 접근성을 초래하고, 이것은 이중이량체 복합체를 상당히 불안정화시켰다. 따라서, 표적화된 양성 디자인 노력들 중 하나는 D399-K409 염 가교 및 K409의 팩킹 상호작용의 상실을 보완하는 추가 점 돌연변이를 이용하여 이 루프를 보다 더 "폐쇄된" WT 유사 입체구조로 유지하는 것이었다. 표적화된 잔기는 위치 T411, D399, S400, F405, N390, K392 및 이들의 조합을 포함하였다. 상이한 팩킹, 소수성 및 정전기 양성 조작 방법을 상기 위치들에 대해 인-실리코에서 시험하였고, 컴퓨터를 이용한 수단을 이용하여 확인한 가장 우수한 순위의 Fc 변이체들(AZ71-AZ101)을 실시예 1 내지 4에 기재된 바와 같이 발현 및 안정성에 대해 실험적으로 검증하였다.

[0297] Fc 변이체 AZ94는 안정성 및 순도를 개선하기 위해 스카폴드 2가 추가 점 돌연변이와 함께 스카폴드 2b 돌연변이를 발생시키도록 변형되어 있는 Fc 변이체의 개발의 일례이다. 이 Fc 변이체는 루프 399-400을 보다 더 "폐쇄된" WT 유사 입체구조로 유지하고 전술된 바와 같은 D399-K409 염 가교의 상실을 보완하고자 하는 목적으로

AZ15에 기초하여 디자인되었다. Fc 변이체 AZ94는 스카폴드 2에 대한 4개의 추가 점 돌연변이 (L351Y_Y407A/T366A_K409F)를 갖고 L351Y를 야생형 L351로 복귀시켜 이 Fc 변이체에 대한 코어 돌연변이로서 (Y407A/T366A_K409F)를 남긴다. 상기 코어 돌연변이 Y407A/T366A_K409F는 본원에서 "스카폴드 2b" 돌연변이로서 지칭된다. AZ94의 4개 추가 점 돌연변이는 K392E_T411E/D399R_S400R이다. 돌연변이 T411E/D399R은 추가 염 가교를 형성하고 K409/D399 상호작용의 상실을 보완하도록 조작되었다(도 34). 추가로, 이 염 가교는 2개의 잠재적 동종이량체에서 전하-전하 상호작용에 불리하게 작용함으로써 동종이량체 형성을 방해하도록 디자인되었다. 추가 돌연변이 K392E/S400R은 또 다른 염 가교를 형성하여 399-400 루프를 보다 더 "폐쇄된" WT 유사 입체구조로 더 유지하기 위한 것이었다(도 34). AZ94에 대한 실험 데이터는 초기 음성 디자인 Fc 변이체 AZ15((T_m 71°C, 90% 초과)의 순도)에 비해 개선된 안정성 및 순도를 보였고, 이때 Fc 변이체 AZ94는 74°C의 T_m 및 95% 초과)의 이종이량체 함량 또는 순도를 갖는다.

[0298] **Fc 변이체 이종이량체의 단계 3 디자인에서 스카폴드 2 돌연변이를 이용한 Fc 변이체의 개발**

[0299] Fc 변이체 AZ70 및 AZ94 둘다가 초기 음성 디자인 Fc 변이체 AZ15에 비해 안정성 및 순도의 상당한 개선을 제공하지만, 본 발명자들의 분석 및 AZ70과 AZ94의 비교는 Fc 변이체 이종이량체의 안정성에 대한 추가 개선이 추가 아미노산 변형에 의해 달성될 수 있다는 것을 직접적으로 보여준다. 예를 들면, Fc 변이체 AZ70 및 AZ94는 초기 변이체 AZ15에서 2개의 상이한 비최적화된 영역들을 표적화하도록 디자인되었고, 이것은 소수성 코어에서의 팩킹을 개선하고 코어 경계면 잔기의 외부에서 돌연변이를 만들어 추가 염 가교 및 수소결합을 발생시켜 위치 399-401의 루프 입체구조를 안정화시킴으로써 달성되었다. Fc 변이체 AZ70 및 AZ94의 추가 점 돌연변이는 서로 멀리 떨어져 있으므로 독립적이고 2a 및 2b 돌연변이를 포함하는 동일한 스카폴드 2 코어 돌연변이 주변에서 디자인된 다른 Fc 변이체로 전달될 수 있다. 특히, AZ70만이 최적화된 코어 돌연변이 L351Y_Y407A/T366A_K409F를 보유하되 추가 염 가교를 전혀 보유하지 않는 반면, AZ94는 4개의 추가 정전기 돌연변이 (K392E_T411E/D399R_S400R)를 포함하되 소수성 코어 경계면에서 1개 더 적은 돌연변이(Y407A/T366A_K409F)를 갖는다. 이들 스카폴드 2b 돌연변이들은 AZ70보다 덜 안정하지만(예를 들면, AZ94와 동등한 코어 돌연변이 및 72°C의 T_m을 갖는 AZ63 참조), K392E_T411E/D399R_S400R 돌연변이의 추가에 의해 보완된다. 제시된 실험 안정성 및 순도 데이터는 소수성 코어를 최적화하는 AZ70의 돌연변이와 AZ94의 정전기 돌연변이의 조합이 Fc 변이체 이종이량체의 안정성 및 순도를 더 개선할 것임을 보여준다. 유사한 방식으로, 스카폴드 2 Fc 변이체(AZ63-101)에 대한 완전한 실험 데이터를 분석함으로써 Fc 변이체 이종이량체 AZ70 및 AZ94를 더 개선하기 위해 사용될 수 있는 점 돌연변이를 확인하였다. 이들 확인된 돌연변이들을 전술된 컴퓨터를 이용한 방법으로 더 분석하고 순위를 매겨 표 7에 나타난 바와 같은 AZ70 및 AZ94에 기초한 추가 Fc 변이체 이종이량체들의 목록을 수득하였다.

[0300] **실시예 7: FcγR 결합에 대한 이종이량체 CH3의 효과**

[0301] FcγR에 대한 이종이량체 Fc 활성의 원형 일례로서, 본 발명자들은 실시예 4에 기재된 SPR 분석에서 Her2 결합 Fab 아암과 함께 이종이량체 Fc 영역 A:K409D_K392D/B:D399K_D356K(대조군 1(도 35에서 het 1)) 및 A:Y349C_T366S_L368A_Y407V/B:S354C_T366W(대조군 4(도 35에서 het 2))를 갖는 2개의 변이체 항체들을 FcγR 결합에 대해 시험하였다. 도 35에 나타난 바와 같이, 본 발명자들은 상기 이종이량체 Fc 영역들을 둘다가 야생형 IgG1 Fc 영역과 동일한 상대적 강도로 상이한 Fcγ 수용체들에 결합하지만, 전체적으로 상기 이종이량체 Fc 영역이 야생형 항체보다 약간 더 우수하게 FcγR 각각에 결합한다는 것을 관찰하였다. 이것은 Fc의 CH3 경계면에 존재하는 돌연변이가 본 발명자들의 분자 동역학 시뮬레이션 및 분석에서 관찰된 바와 같이 CH2 도메인을 가로질러 Fcγ 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 강도에 영향을 미칠 수 있다는 것을 암시한다.

[0302] **실시예 8: FcγR 결합에 대한 이종이량체 Fc의 CH2 내의 비대칭 돌연변이의 효과**

[0303] Fc 영역의 CH2 도메인 내의 위치 267에 존재하는 세린의 아스파르트산으로의 돌연변이(S267D)는 CH2 도메인의 2개 쇠들 내에 동종이량체 방식으로 도입되었을 때 Fcγ IIbF, IIbY 및 IIaR 수용체들과의 결합을 향상시키는 것으로 공지되어 있다. 도 36a에 제시된 데이터가 보여주는 바와 같이, 이 돌연변이를 이종이량체 Fc 분자 내의 CH2 도메인들 중 단지 1개의 CH2 도메인 상에 도입함으로써, 이 돌연변이가 동종이량체 CH2 Fc 내로 도입될 때에 비해 상대적으로 대략 절반의 결합 강도 개선을 획득할 수 있다. 다른 한편으로, Fc의 동종이량체 CH2 도메인 내의 E269K 돌연변이는 Fc 영역과 FcγR의 결합을 방해한다. 본 발명자들은 이들 유리한 돌연변이 및 불리한 돌연변이를 Fc의 CH2 도메인 내의 2개 쇠들 중 하나 상에 비대칭적으로 도입함으로써 Fcγ 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 강도를 향상 조절하는 방법을 제공한다. 이종이량체 Fc 내의 1개 CH2 쇠 상에서 비대칭 방식에 의한 E269K 돌연변이의 도입은 상기 돌연변이가 존재하는 면에서 FcγR의 결합을 차단하면서 상기 Fc의 다른 면이 정

상적인 방식으로 FcγR과 상호작용하게 함으로써 극성 유발제로서 작용한다. 이 실험으로부터의 결과는 도 36a에 제시되어 있다. 독립적인 방식으로 Fc의쇄 돌다를 통해 결합 강도를 선택적으로 변경할 기회는 Fc와 Fcγ 수용체 사이의 결합 강도 및 선택성을 조절하는 증가된 기회를 제공한다. 따라서, CH2 도메인 내의 돌연변이의 이러한 비대칭 디자인은 본 발명들이 일부 결합 모델에 유리하거나 불리하도록 양성 및 음성 디자인 방법을 도입할 수 있게 함으로써 선택성을 도입할 보다 많은 기회를 제공한다.

[0304] 후속 실험에서, 본 발명자들은 Fcγ IIaR, IIbF 및 IIbY 수용체와의 보다 더 약한 결합을 계속 나타내면서 Fcγ IIIaF 및 IIIaV 수용체에 대한 증가된 결합 강도를 보이는 기초 Fc 돌연변이체 S239D_D265S_I332E_S298A의 선택성 프로파일을 변경하였다. 이것은 도 36b에 나타난 결합 프로파일에서 보여진다. 본 발명자들은 비대칭 돌연변이 E269K를쇄 A 내로 도입하고쇄 B에서 I332E 돌연변이를 회피함으로써 IIa 및 IIb 수용체 결합을 더 약화시키고 Fc가 IIIa 수용체 결합에 대해 보다 더 특이적이게 만드는 신규 FcγR 결합 프로파일을 발생시킬 수 있었다.

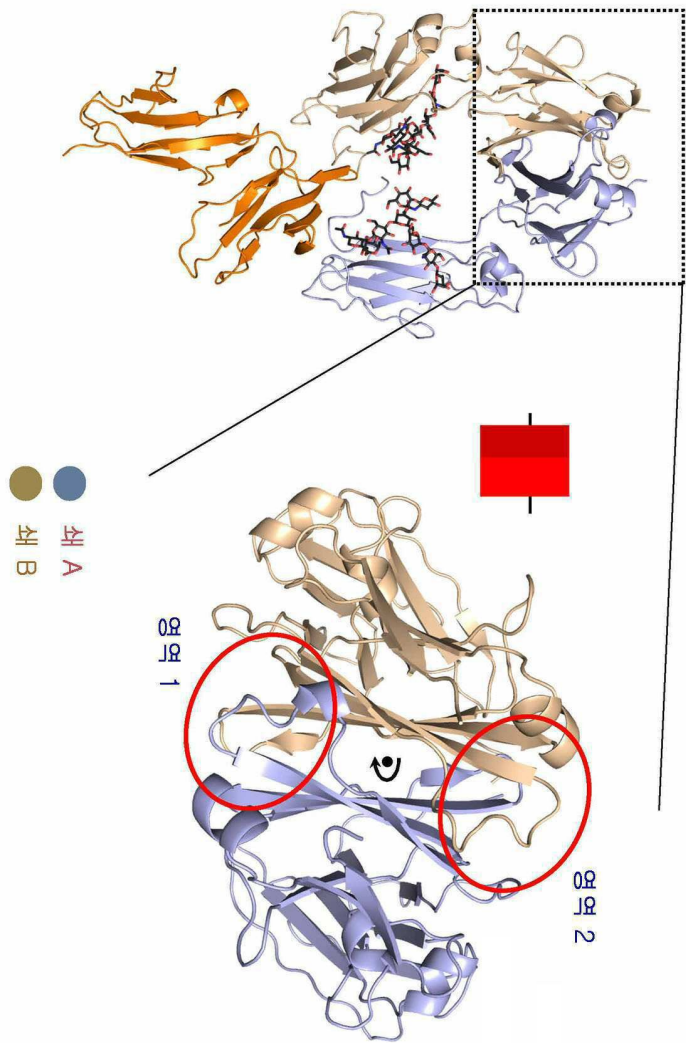
[0305] 도 36c에 나타난 또 다른 예에서, 비대칭 돌연변이는 CH2 도메인 내의 돌연변이 S239D/K326E/A330L/I332E/S298A를 포함하는 동종이량체 Fc에 비해 상대적으로 강조되어 있다. 이 변이체는 야생형 IgG1 Fc에 비해 상대적으로 IIIa 수용체에 대한 증가된 결합을 보일 뿐만 아니라 야생형 Fc보다 약간 더 강하게 IIa 및 IIb 수용체에 결합한다. 또한, 비대칭 방식 A:S239D/K326E/A330L/I332E 및 B:S298A에 의한 이들 돌연변이들의 도입은 IIIa 결합을 감소시키고 과정에서 선택성을 느슨하게 하면서 IIa/IIb 수용체 결합을 증가시킨다. 본 발명자들은 비대칭 E269K 돌연변이를 이 이종이량체 변이체 내로 도입함으로써(즉, A:S239D/K326E/A330L/I332E/E269K 및 B:S298A) IIa/IIb 결합을 야생형 수준으로 다시 감소시킬 수 있다. 이것은 Fc의 CH2 도메인 내의 비대칭 돌연변이의 사용이 개선된 FcγR 선택성을 디자인할 상당한 기회를 제공할 수 있다는 사실을 강조한다.

[0306] 실시예에서 사용된 시약들은 상업적으로 입수될 수 있거나 당업계에서 공지된 상업적으로 입수가능한 기구, 방법 또는 시약의 사용을 통해 제조될 수 있다. 상기 실시예는 본 발명의 다양한 양태 및 본 발명의 방법의 실시를 예시한다. 실시예는 본 발명의 많은 상이한 실시양태들의 배타적 설명을 제공하기 위한 것이 아니다. 따라서, 상기 본 발명이 명확한 이해를 목적으로 예시 및 예에 의해 다소 상세히 기재되어 있다 하더라도, 당업계에서 통상의 기술을 가진 자는 첨부된 특허청구범위 기술적 사상 또는 범위를 벗어나지 않으면서 본 발명에 대한 많은 변화 및 변형을 만들 수 있다는 것을 용이하게 인식할 것이다.

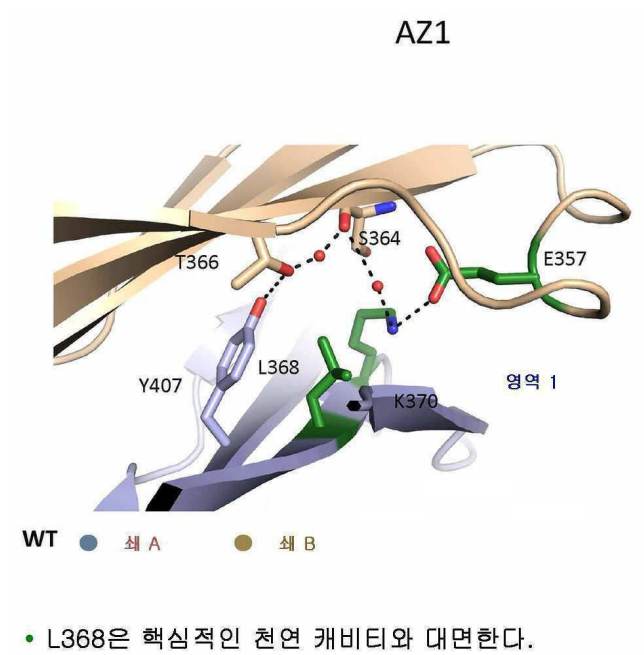
[0307] 본 명세서에서 언급된 모든 공개문헌들, 특허들 및 특허출원들은 각각의 개별 공개문헌, 특허 또는 특허출원이 본원에 참고로 도입되는 것으로 구체적으로 및 개별적으로 표시되어 있는 것과 동일한 정도로 본 명세서 내로 참고로 도입된다.

도면

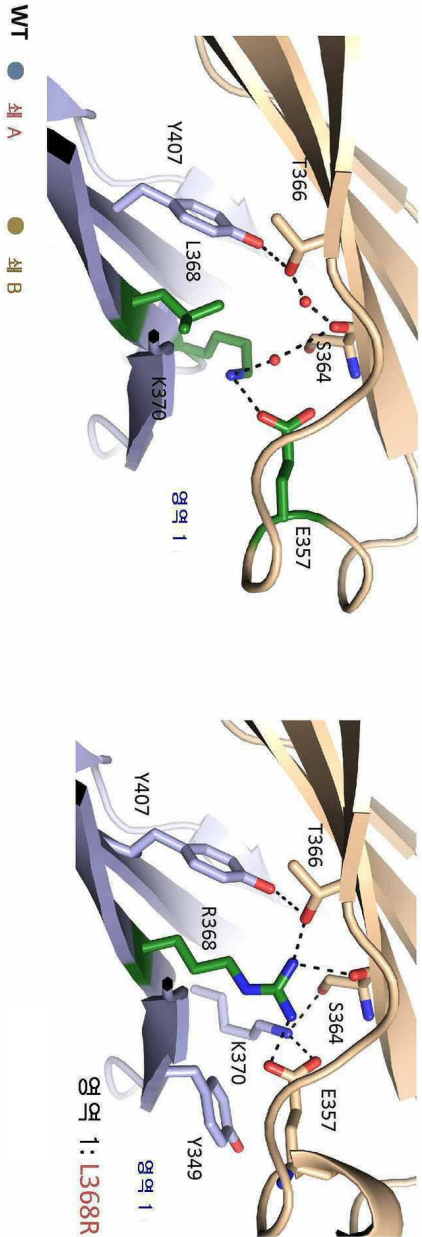
도면1



도면2



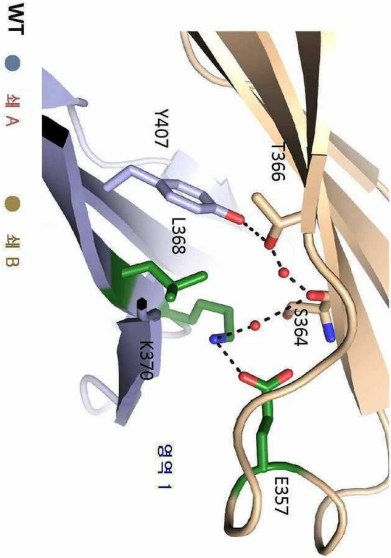
자임웁크스 변이체: AZ1



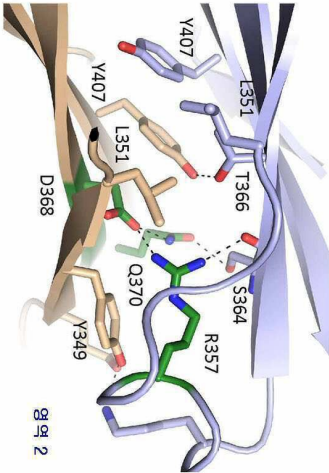
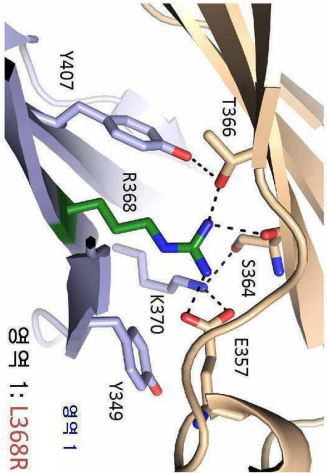
도면3

- L368은 핵심적인 천연 캐비티와 대면한다.
- L368R은 영역 1에서 팩킹을 개선함으로써 안정성을 증가시킨다.

자임웁크스 변이체: AZ1



- L368은 핵심적인 천연 캐비티와 대면한다.
- L368R은 영역 1에서 팩킹을 개선함으로써 안정성을 증가시킨다.
- 추가 돌연변이는 유리한 정전기 상호작용을 생성한다.



자임워크스 변이체: AZ1

	중등점수 (kcal/mol) - WT +	Δ경계면면적 (Å²) - WT +	Δ백링 (sd) - WT +	Δ정전기 (kcal/mol) - WT +	권회성점수 - WT +
대조군 1	-26.2	-46.0	-0.4	12.3	2.1
AZ1	-14.6	9.9	0.1	-12.3	-0.4

대조군 (쇄 A)	-33.6	9.3	-0.5	94.4	N/A
대조군 (쇄 B)	-11.5	-77.9	-0.1	69.5	N/A
AZ1 (쇄 A)	-36.6	23.1	-0.2	87.3	N/A
AZ1 (쇄 B)	-21.3	-50.8	-0.1	30.8	N/A

green

유리한

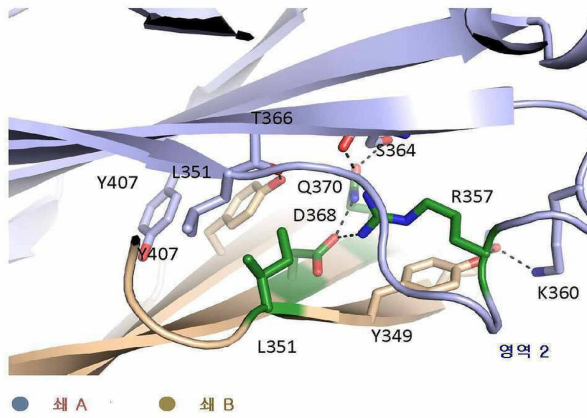
red

불리한

도면6

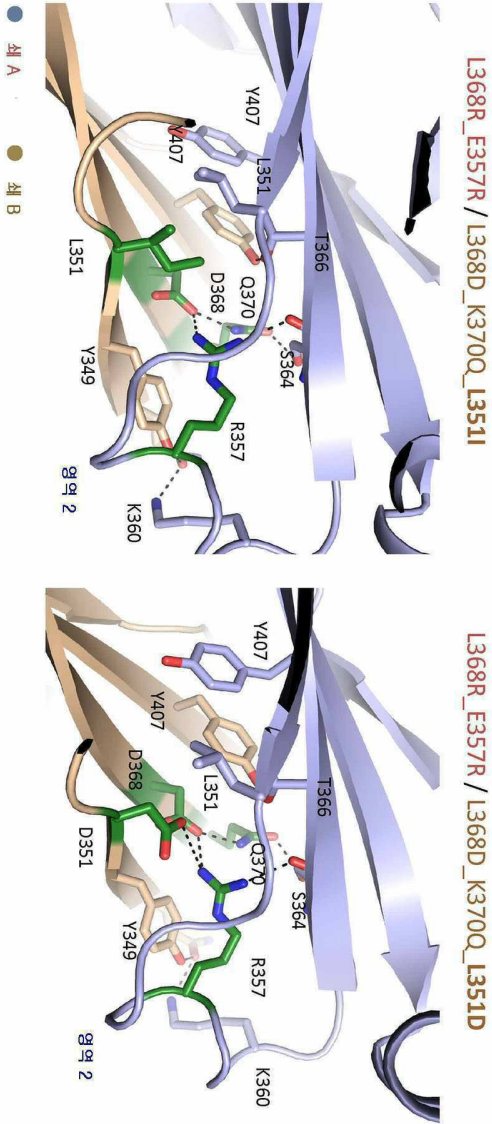
자임워크스 변이체: AZ2, AZ3

L368R_E357R / L368D_K370Q_L351I



- AZ1 상에서 구축된 변이체 AZ2 및 AZ3
- L351I(AZ2)가 디자인되고 팩킹을 개선함으로써 이종이량체 형성에 유리하다.

자임워크스 변이체 : AZ2, AZ3



- AZ1 상에서 구축된 변이체 AZ2 및 AZ3
- L351I(AZ2)가 디자인되고 팩킹을 개선함으로써 이중이량체 형성에 유리하다.
- L351D(AZ3)가 디자인되고 정전기 상호작용을 개선함으로써 이중이량체 형성에 유리하다.

지임워크스 변이체: AZ1, AZ2, AZ3

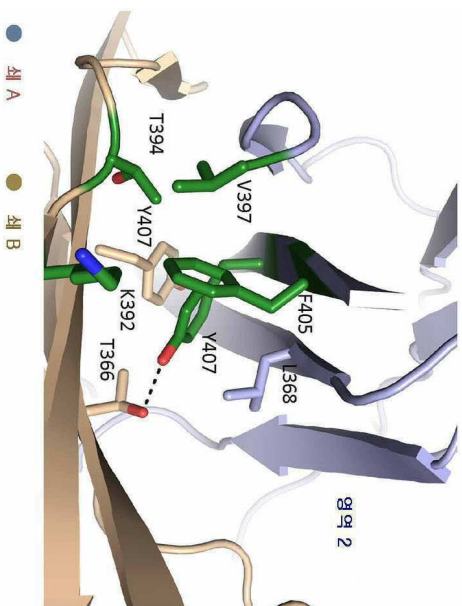
	중등 점수 (K_{cat}/mol) - wt. +	Δ 경계면 면적 (\AA^2) - wt. +	Δ 팩킹 (\AA) - wt. +	Δ 정전기 (K_{cat}/mol) - wt. +	전하성 점수 - wt. +
대조군 1 이론이랑체	-26.2	-46.0	-0.4	12.3	2.1
	-14.6	9.9	0.1	-12.3	-0.4
	-3.1	0.7	0.0	-17.2	-0.4
	-12.1	-16.1	0.1	-6.4	-0.4
대조군 (색 A) 대조군 (색 B) 이론이랑체	-33.6	9.3	-0.5	94.4	N/A
	-11.5	-77.9	-0.1	69.5	N/A
	-36.6	23.1	-0.2	87.3	N/A
	-21.3	-50.8	-0.1	30.8	N/A
	76.4	-123.5	-0.3	52.2	N/A
AZ3 (색 B)	-16.8	-80.2	-0.4	60.6	N/A

green유리한

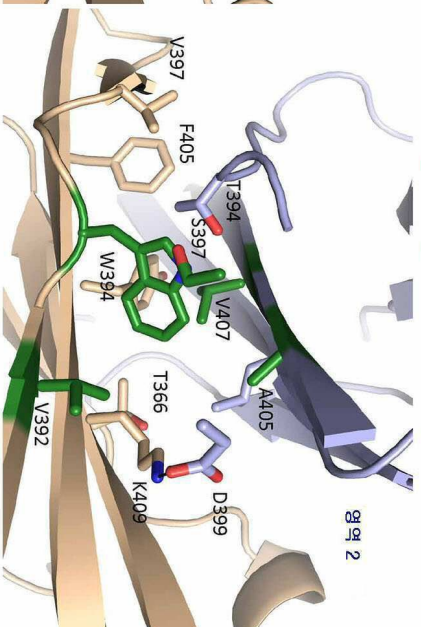
red불리한

자임위크스 변이체: AZ4

WT



V397S_F405A_Y407V / K392V_T394W



도면9

- T394W는 이종이량체 형성을 유발하기 위해 경계면 코어에서 음성적으로 디자인된다.
- 주변 돌연변이는 팩킹을 최적화하고 안정성을 보장하기 위해 디자인된다.

자임워크스 변이체 : AZ4

	중등점수 (kcal/mol) - Wt. +	Δ경계면면적 (Å²) - Wt. +	Δ팩킹 (sd) - Wt. +	Δ경전기 (kcal/mol) - Wt. +	친화성점수 - Wt. +
대조군 2	-10.8	8.4	-0.1	8.1	0.7
AZ4	-3.5	-31.1	0.2	3.0	-0.7

대조군 2 (쇄 A)	154.2	-4.7	N/A	15.6	N/A
대조군 2 (쇄 B)	8.3	-71.7	-0.3	2.3	N/A
AZ4 (쇄 A)	553.6	1.1	N/A	32.1	N/A
AZ4 (쇄 B)	5.6	-115.5	-0.5	6.9	N/A

green

유리한

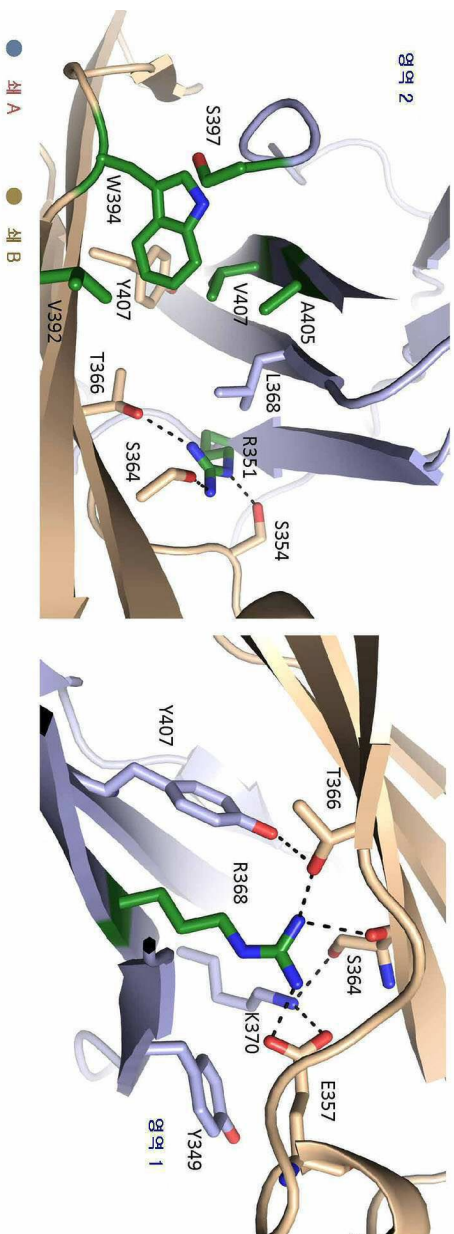
red

불리한

자임워크스 변이체 : AZ5, AZ6

L351R_V397S_F405A_Y407V / K392V_T394W

V397S_F405A_Y407V / K392V_T394W_L368R



- 음성 디자인(AZ4)의 가능한 불안정화 효과가 추가에 의해 방지된다.
- 영역 2에서 정전기 상호작용을 개선하기 위한 AZ5 내의 L351R
- 영역 1에서 팩킹 및 정전기 상호작용을 개선하기 위한 AZ6 내의 L368R

도면11

자임워크스 변이체: AZ4, AZ5, AZ6

	중립 점수 (k_{cal}/mol) - wt. +	Δ 경계면 면적 (\AA^2) - wt. +	Δ 팽창 (sd) - wt. +	Δ 정전기 (k_{cal}/mol) - wt. +	전하성 점수 - wt. +
대조군 2	-10.8	8.4	-0.1	8.1	0.7
AZ4	-3.5	-31.1	0.2	3.0	-0.7
AZ5	-5.1	-25.1	0.2	-5.5	-0.8
AZ6	-13.8	-32.5	0.0	-11.7	-0.3
대조군 2 (쇄 A)	154.2	-4.7	N/A	15.6	N/A
대조군 2 (쇄 B)	8.3	-71.7	-0.3	2.3	N/A
AZ4 (쇄 A)	553.6	1.1	N/A	32.1	N/A
AZ4 (쇄 B)	5.6	-115.5	-0.5	6.9	N/A
AZ5 (쇄 A)	274.9	-44.3	N/A	35.5	N/A
AZ6 (쇄 B)	25.2	-100.9	-0.3	-16.1	N/A

green

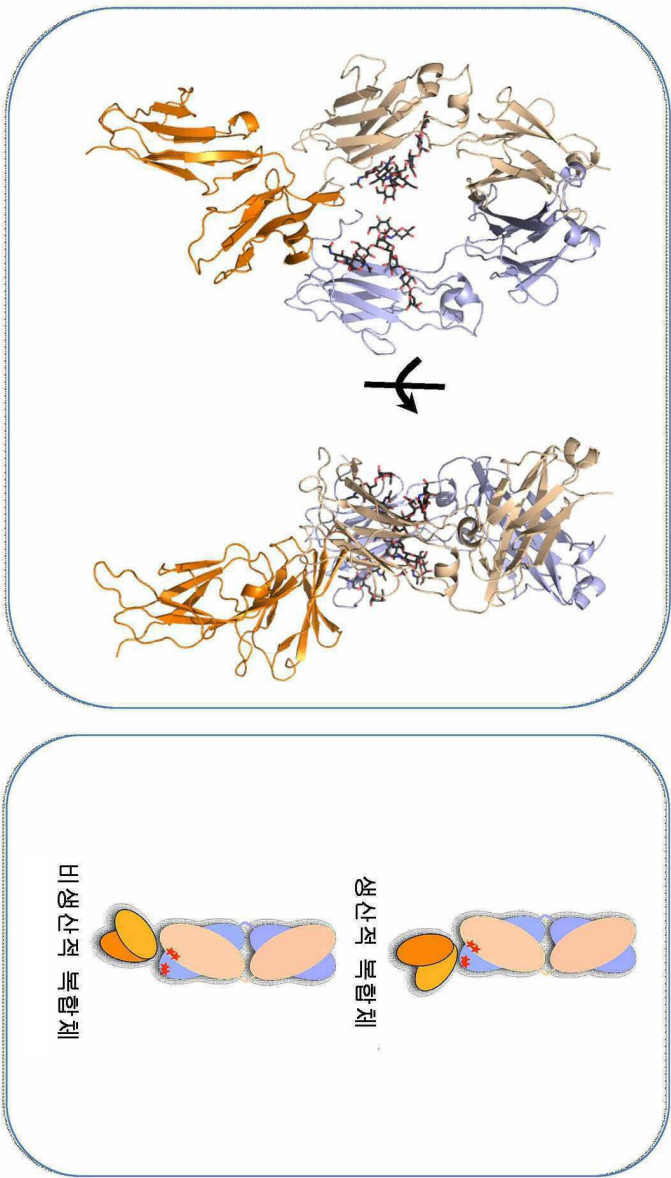
유리한

red

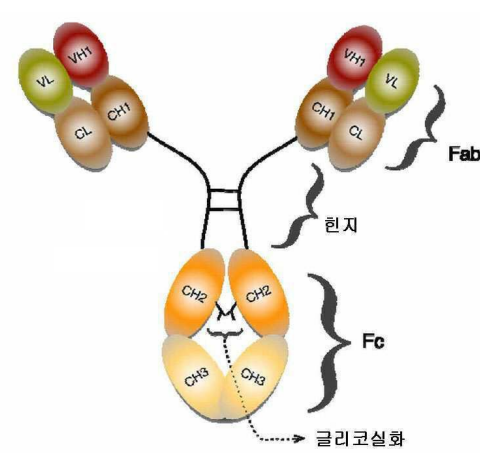
불리한

도면12

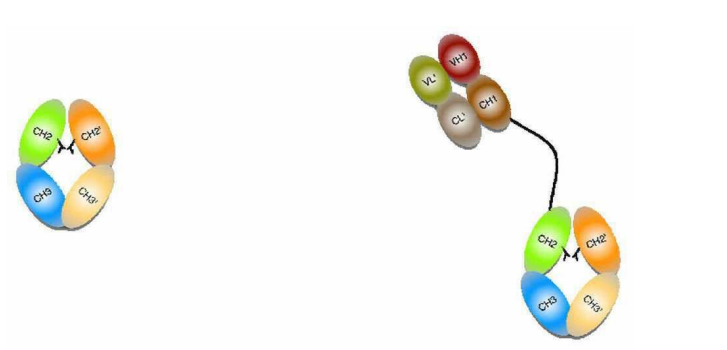
도면13



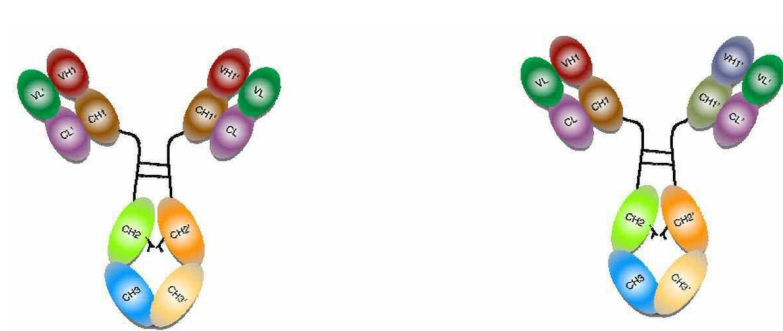
도면14



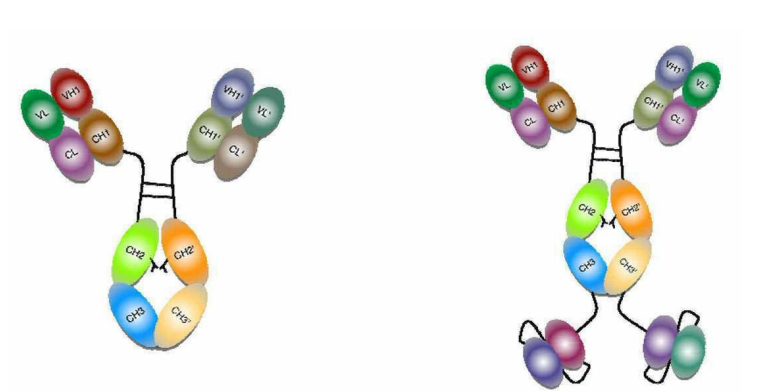
도면17



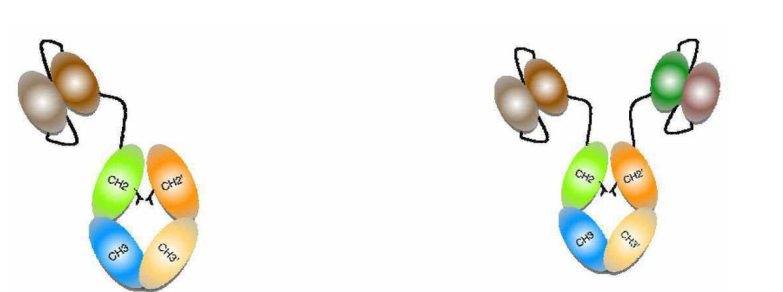
도면18



도면19



도면20



도면21



도면22

생산적 접촉	비생산적 접촉

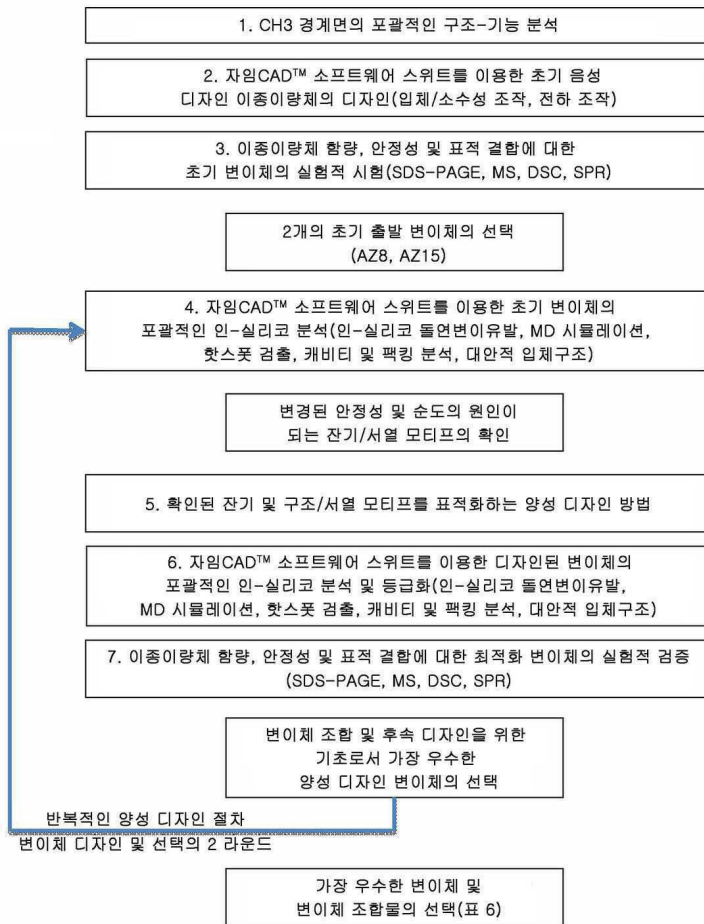
도면23

모 야생형 중쇄 IgG1 서열

GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

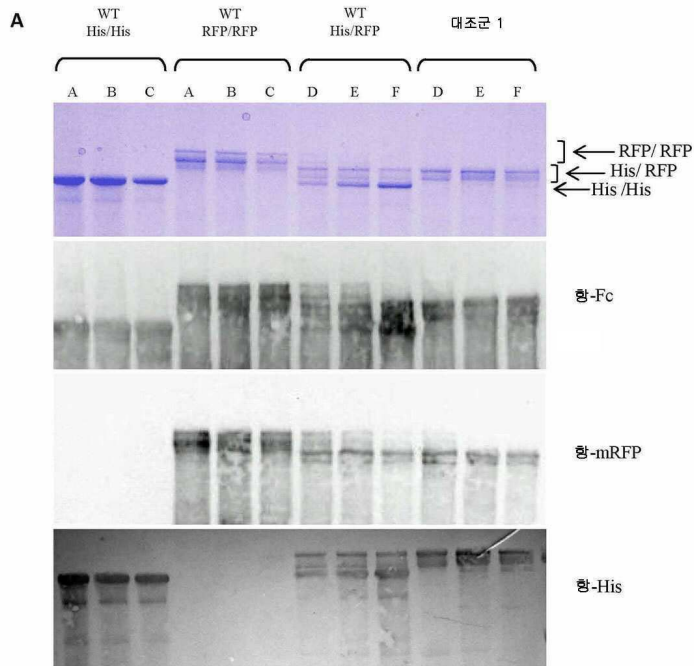
도면24

이종이량체 Fc 디자인의 반복적 방법



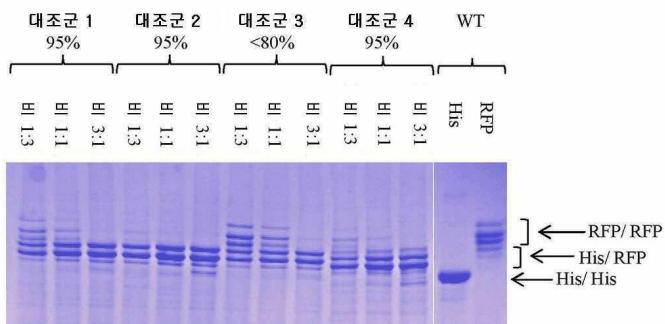
도면25a

이종이량체 순도를 측정하기 위한 비환원 SDS-PAGE 분석



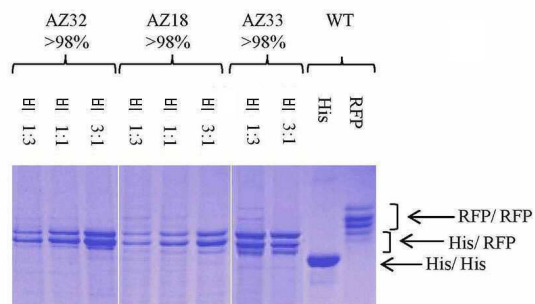
도면25b

이종이량체 순도를 측정하기 위한 비환원 SDS-PAGE 분석



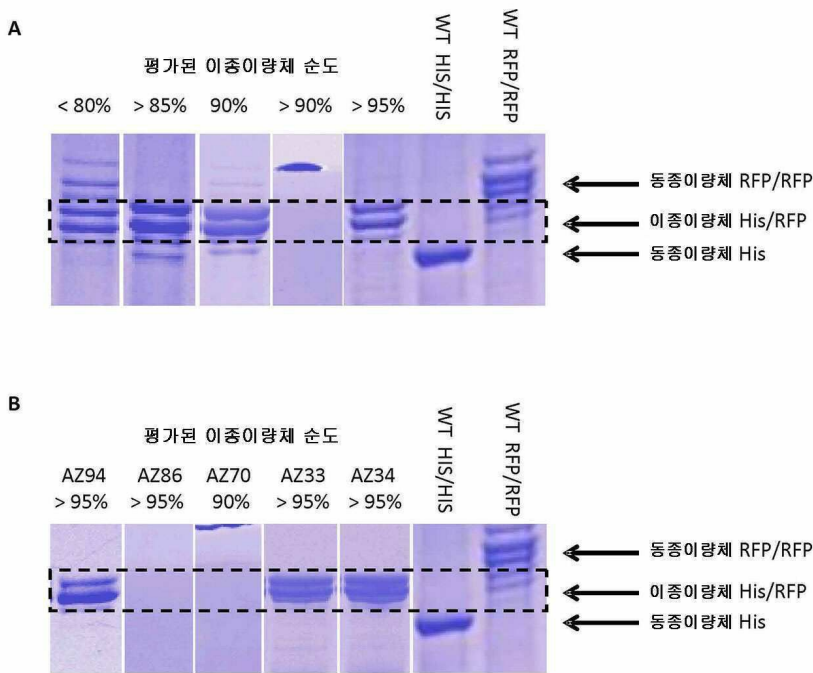
도면25c

이종이량체 순도를 측정하기 위한 비환원 SDS-PAGE 분석

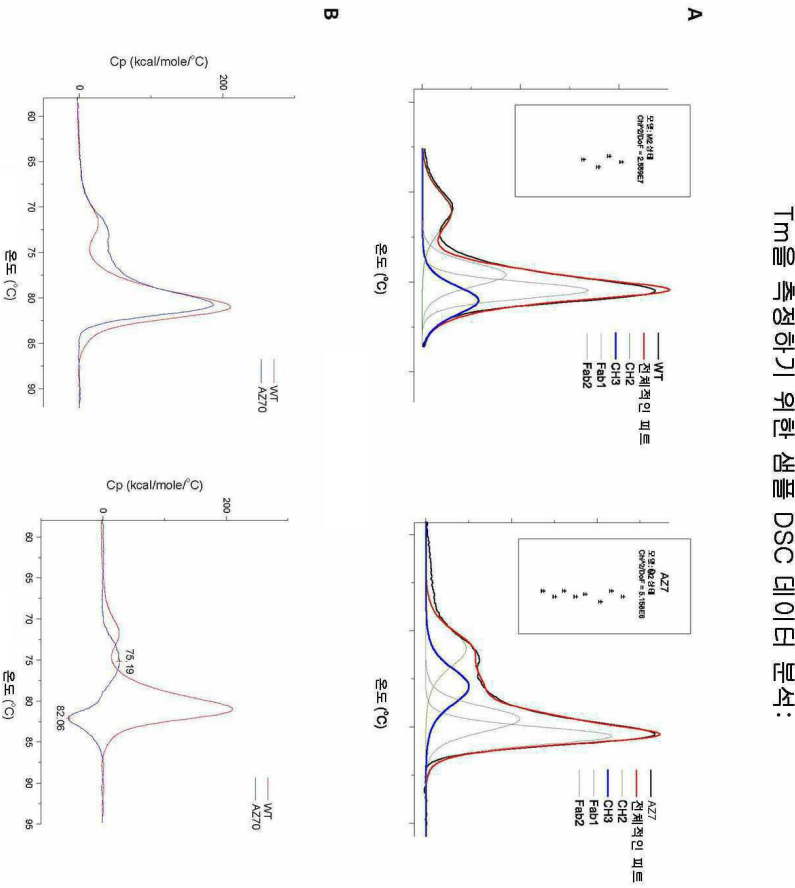


도면26

비환원 SDS-PAGE를 이용한 단백질 A 정제 후 이중이량체 순도 측정

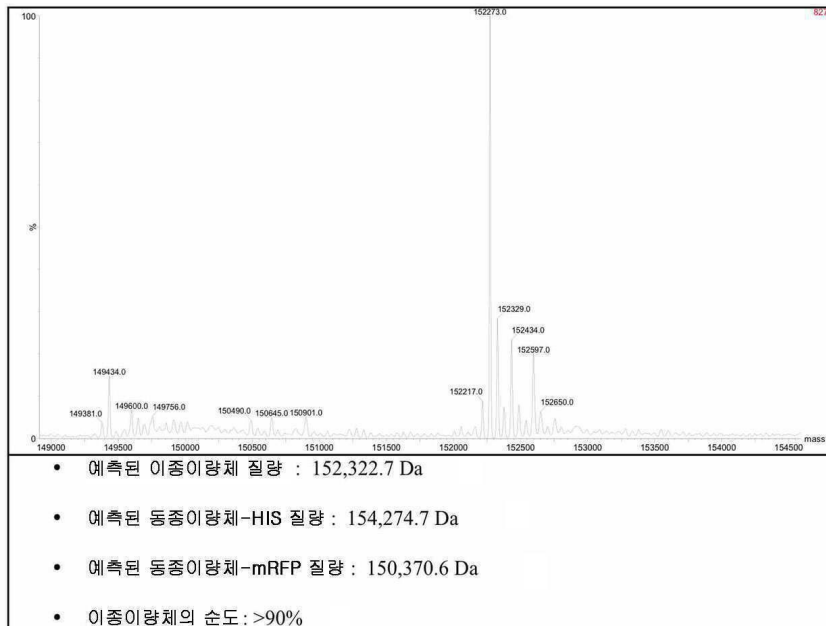


도면27



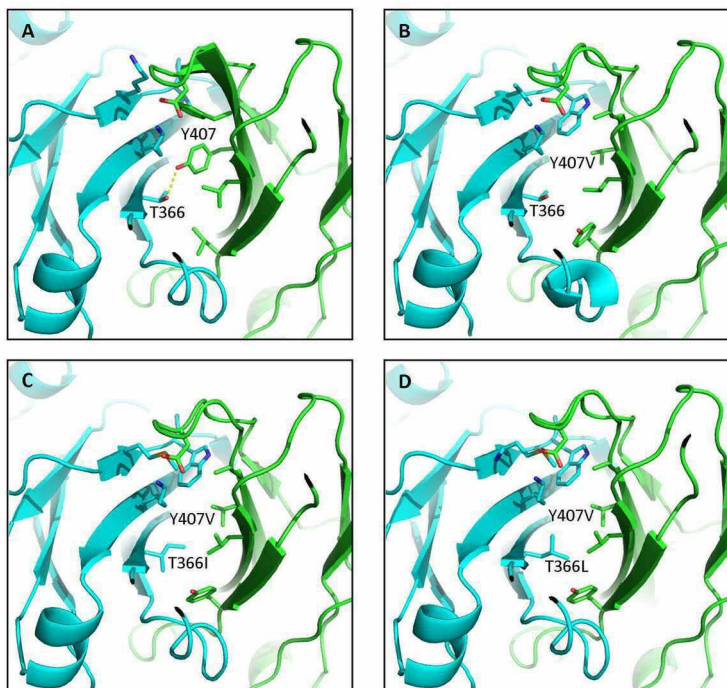
도면28

이종이량체 순도를 측정하기 위한 LC/MS 데이터 분석

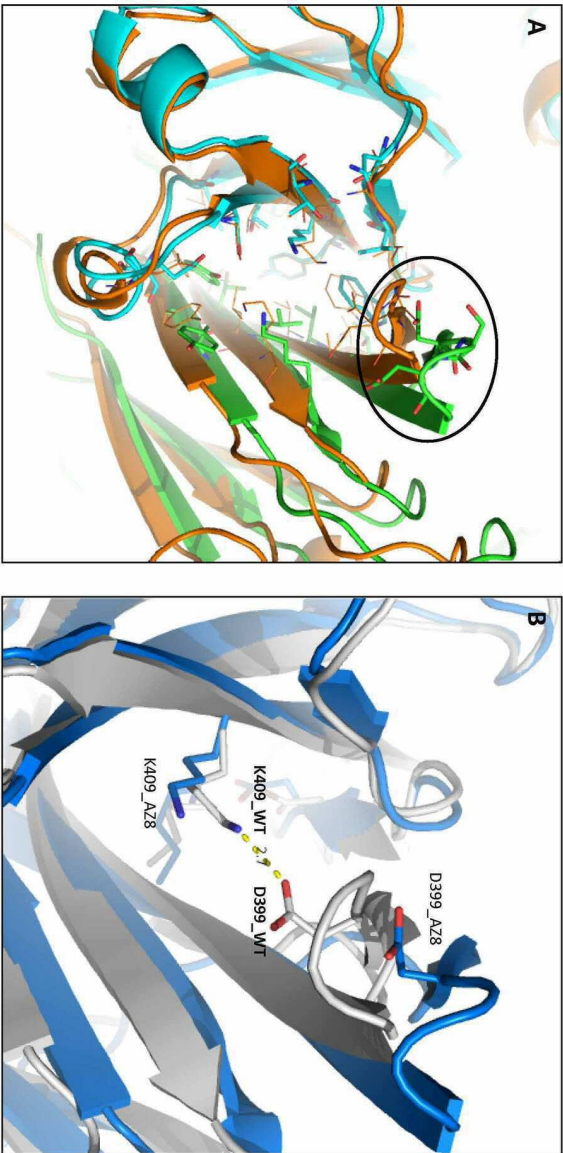


도면29

초기 음성 디자인 변이체의 인-실리코 분석 및
독립적인 양성 디자인 최적화: 스카폴드 1 - 소수성 코어

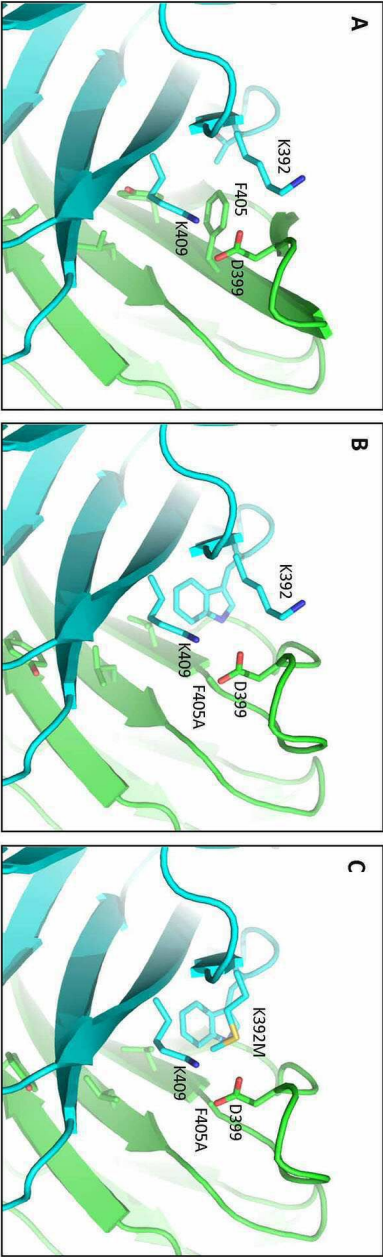


도면30



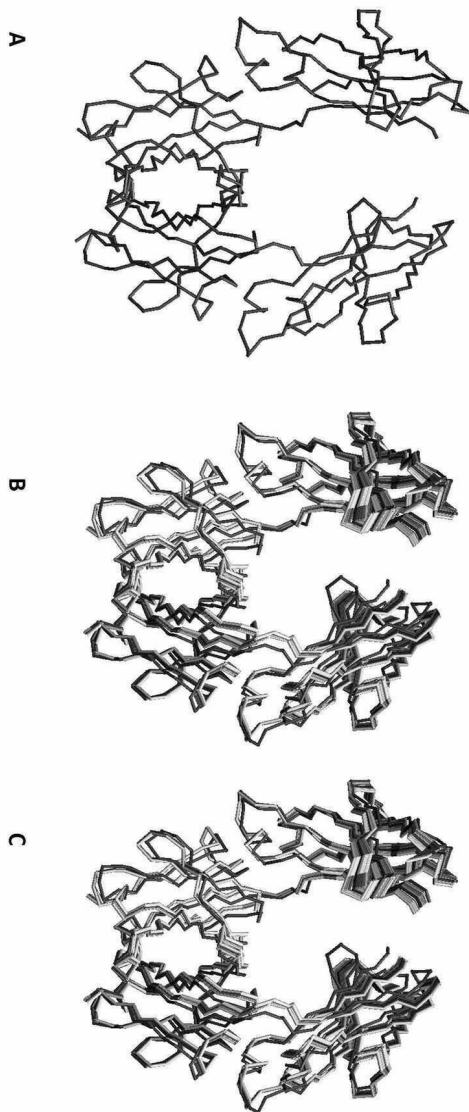
초기 음성 디자인 변이체의 인-실리코 분석 및 독립적인 양성 디자인 최적화:
스킵폴드 1 - 399-400 루프 일체 구조를 안정화시킨

도면31

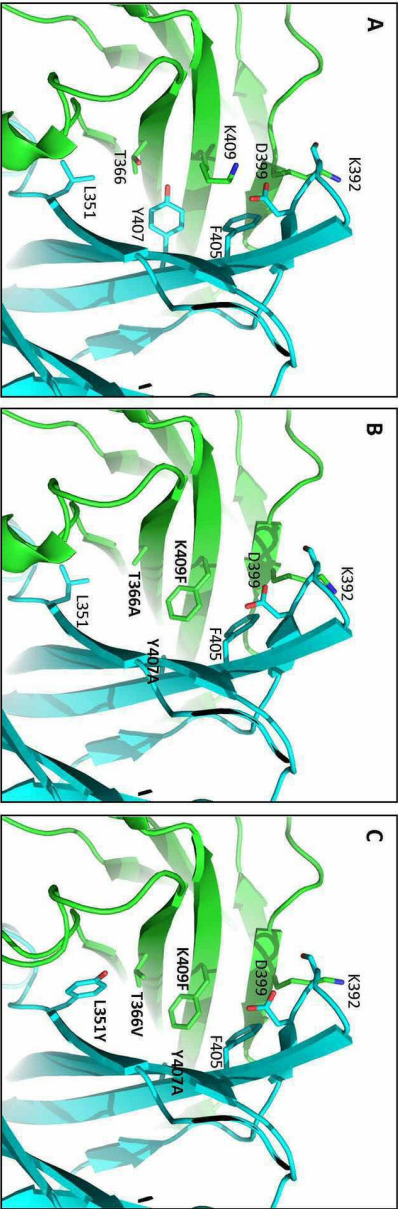


초기 음성 디자인 변이체의 인-실리코 분석 및 독립적인 양성 디자인 최적화:
스카폴드 1 - 399-400 루프 입체구조를 안정화시킴

도면32

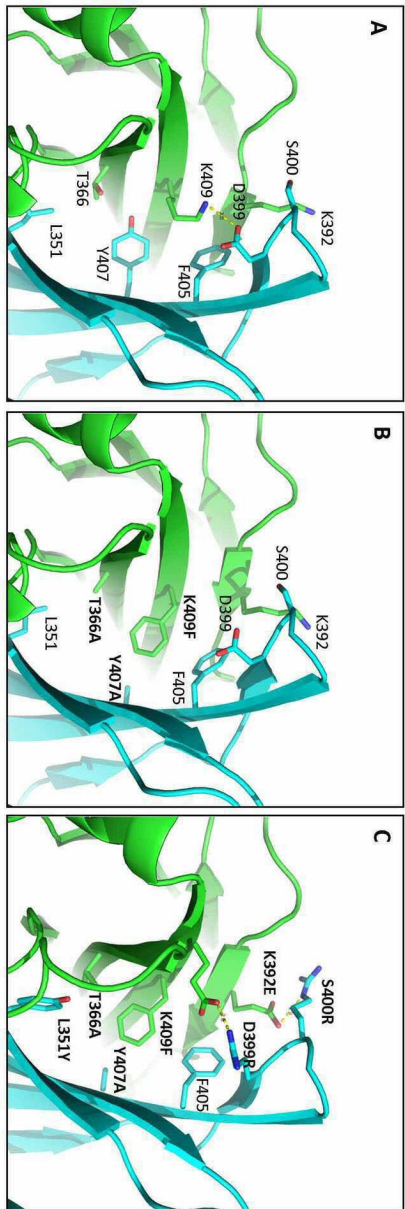


도면33



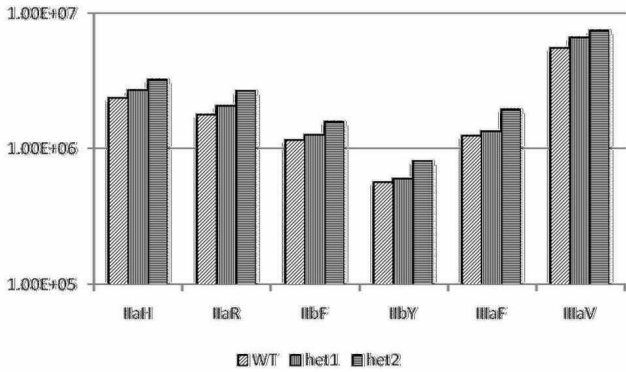
초기 음성 디자인 변이체의 인-실리코 분석 및 독립적인 양성 디자인 최적화:
스카폴드 2 - 소수성 팩킹

도면34

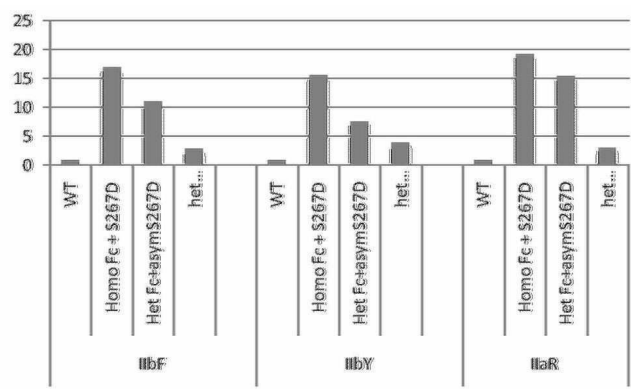


초기 음성 디자인 변이체의 인-실리코 분석 및 독립적인 양성 디자인 최적화:
스카폴드 2 - 399-400 루프 입체구조를 안정화시킴

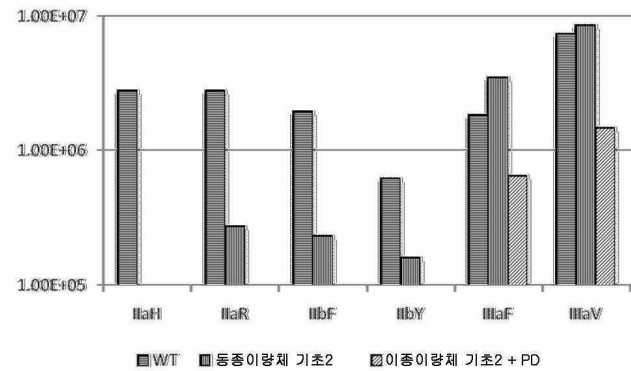
도면35



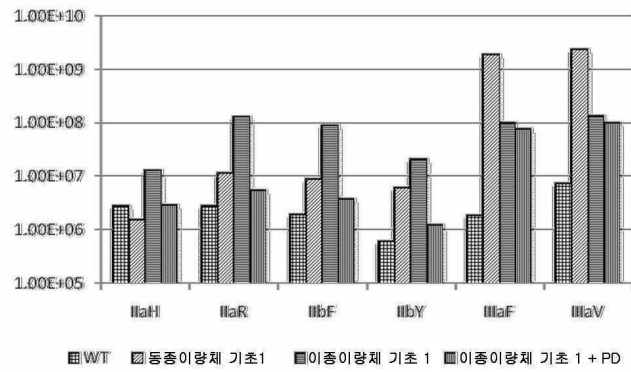
도면36a



도면36b



도면36c



도면37a

표 6

변이체	Fc 돌연변이 섹 A	Fc 돌연변이 섹 B
AZ133	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ134	Q347R_T350V_L351Y_F405A_Y407V	T350V_K360E_T366L_K392M_T394W_T411R
AZ135	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ136	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ137	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ138	L351L_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ139	L351L_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ140	L351L_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ141	L351L_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ142	L351L_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ143	L351L_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ144	L351L_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ145	L351L_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ146	L351L_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ147	L351L_F405T_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ148	L351L_F405T_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ149	L351L_F405T_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ150	L351L_F405T_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ151	L351L_F405T_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ152	L351L_F405T_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ153	L351L_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ154	L351L_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ155	L351L_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ156	L351L_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ157	L351L_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ158	L351L_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ159	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ160	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ161	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ162	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ163	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ164	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ165	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ166	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ167	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ168	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ169	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ170	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ171	L351Y_F405T_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ172	L351Y_F405T_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ173	L351Y_F405T_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ174	L351Y_F405T_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ175	L351Y_F405T_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ176	L351Y_F405T_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ177	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ178	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ179	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ180	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ181	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ182	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ183	Q347E_L351L_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ184	Q347E_L351L_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ185	Q347E_L351L_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ186	Q347E_L351L_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W

도면37b

AZ187	Q347E_L351L_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ188	Q347E_L351L_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ189	Q347E_L351L_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ190	Q347E_L351L_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ191	Q347E_L351L_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ192	Q347E_L351L_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ193	Q347E_L351L_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ194	Q347E_L351L_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ195	Q347E_L351L_F405T_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ196	Q347E_L351L_F405T_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ197	Q347E_L351L_F405T_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ198	Q347E_L351L_F405T_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ199	Q347E_L351L_F405T_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ200	Q347E_L351L_F405T_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ201	Q347E_L351L_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ202	Q347E_L351L_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ203	Q347E_L351L_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ204	Q347E_L351L_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ205	Q347E_L351L_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ206	Q347E_L351L_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ207	Q347E_L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ208	Q347E_L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ209	Q347E_L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ210	Q347E_L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ211	Q347E_L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ212	Q347E_L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ213	Q347E_L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ214	Q347E_L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ215	Q347E_L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ216	Q347E_L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ217	Q347E_L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ218	Q347E_L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ219	Q347E_L351Y_F405T_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ220	Q347E_L351Y_F405T_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ221	Q347E_L351Y_F405T_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ222	Q347E_L351Y_F405T_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ223	Q347E_L351Y_F405T_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ224	Q347E_L351Y_F405T_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ225	Q347E_L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W
AZ226	Q347E_L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W
AZ227	Q347E_L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W
AZ228	Q347E_L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W
AZ229	Q347E_L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W
AZ230	Q347E_L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W
AZ231	Q347R_L351L_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ232	Q347R_L351L_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ233	Q347R_L351L_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ234	Q347R_L351L_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ235	Q347R_L351L_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ236	Q347R_L351L_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ237	Q347R_L351L_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ238	Q347R_L351L_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ239	Q347R_L351L_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ240	Q347R_L351L_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ241	Q347R_L351L_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ242	Q347R_L351L_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ243	Q347R_L351L_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ244	Q347R_L351L_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W

도면37c

AZ245	Q347R_L351L_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ246	Q347R_L351L_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ247	Q347R_L351L_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ248	Q347R_L351L_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ249	Q347R_L351L_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ250	Q347R_L351L_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ251	Q347R_L351L_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ252	Q347R_L351L_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ253	Q347R_L351L_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ254	Q347R_L351L_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ255	Q347R_L351L_F405T_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ256	Q347R_L351L_F405T_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ257	Q347R_L351L_F405T_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ258	Q347R_L351L_F405T_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ259	Q347R_L351L_F405T_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ260	Q347R_L351L_F405T_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ261	Q347R_L351L_F405T_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ262	Q347R_L351L_F405T_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ263	Q347R_L351L_F405T_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ264	Q347R_L351L_F405T_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ265	Q347R_L351L_F405T_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ266	Q347R_L351L_F405T_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ267	Q347R_L351L_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ268	Q347R_L351L_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ269	Q347R_L351L_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ270	Q347R_L351L_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ271	Q347R_L351L_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ272	Q347R_L351L_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ273	Q347R_L351L_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ274	Q347R_L351L_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ275	Q347R_L351L_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ276	Q347R_L351L_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ277	Q347R_L351L_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ278	Q347R_L351L_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ279	Q347R_L351Y_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ280	Q347R_L351Y_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ281	Q347R_L351Y_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ282	Q347R_L351Y_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ283	Q347R_L351Y_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ284	Q347R_L351Y_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ285	Q347R_L351Y_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ286	Q347R_L351Y_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ287	Q347R_L351Y_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ288	Q347R_L351Y_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ289	Q347R_L351Y_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ290	Q347R_L351Y_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ291	Q347R_L351Y_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ292	Q347R_L351Y_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ293	Q347R_L351Y_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ294	Q347R_L351Y_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ295	Q347R_L351Y_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ296	Q347R_L351Y_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ297	Q347R_L351Y_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ298	Q347R_L351Y_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ299	Q347R_L351Y_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ300	Q347R_L351Y_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ301	Q347R_L351Y_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ302	Q347R_L351Y_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W

도면37d

AZ303	Q347R L351Y F405T Y407I	K360D T366L K392L T394W
AZ304	Q347R L351Y F405T Y407I	K360D T366L K392M T394W
AZ305	Q347R L351Y F405T Y407I	K360D T366L K392F T394W
AZ306	Q347R L351Y F405T Y407I	K360E T366L K392L T394W
AZ307	Q347R L351Y F405T Y407I	K360E T366L K392M T394W
AZ308	Q347R L351Y F405T Y407I	K360E T366L K392F T394W
AZ309	Q347R L351Y F405T Y407V	K360D T366L K392L T394W
AZ310	Q347R L351Y F405T Y407V	K360D T366L K392M T394W
AZ311	Q347R L351Y F405T Y407V	K360D T366L K392F T394W
AZ312	Q347R L351Y F405T Y407V	K360E T366L K392L T394W
AZ313	Q347R L351Y F405T Y407V	K360E T366L K392M T394W
AZ314	Q347R L351Y F405T Y407V	K360E T366L K392F T394W
AZ315	Q347R L351Y F405V Y407I	K360D T366L K392L T394W
AZ316	Q347R L351Y F405V Y407I	K360D T366L K392M T394W
AZ317	Q347R L351Y F405V Y407I	K360D T366L K392F T394W
AZ318	Q347R L351Y F405V Y407I	K360E T366L K392L T394W
AZ319	Q347R L351Y F405V Y407I	K360E T366L K392M T394W
AZ320	Q347R L351Y F405V Y407I	K360E T366L K392F T394W
AZ321	Q347R L351Y F405V Y407V	K360D T366L K392L T394W
AZ322	Q347R L351Y F405V Y407V	K360D T366L K392M T394W
AZ323	Q347R L351Y F405V Y407V	K360D T366L K392F T394W
AZ324	Q347R L351Y F405V Y407V	K360E T366L K392L T394W
AZ325	Q347R L351Y F405V Y407V	K360E T366L K392M T394W
AZ326	Q347R L351Y F405V Y407V	K360E T366L K392F T394W
AZ327	Q347K L351L F405A Y407I	K360D T366L K392L T394W
AZ328	Q347K L351L F405A Y407I	K360D T366L K392M T394W
AZ329	Q347K L351L F405A Y407I	K360D T366L K392F T394W
AZ330	Q347K L351L F405A Y407I	K360E T366L K392L T394W
AZ331	Q347K L351L F405A Y407I	K360E T366L K392M T394W
AZ332	Q347K L351L F405A Y407I	K360E T366L K392F T394W
AZ333	Q347K L351L F405A Y407V	K360D T366L K392L T394W
AZ334	Q347K L351L F405A Y407V	K360D T366L K392M T394W
AZ335	Q347K L351L F405A Y407V	K360D T366L K392F T394W
AZ336	Q347K L351L F405A Y407V	K360E T366L K392L T394W
AZ337	Q347K L351L F405A Y407V	K360E T366L K392M T394W
AZ338	Q347K L351L F405A Y407V	K360E T366L K392F T394W
AZ339	Q347K L351L F405S Y407I	K360D T366L K392L T394W
AZ340	Q347K L351L F405S Y407I	K360D T366L K392M T394W
AZ341	Q347K L351L F405S Y407I	K360D T366L K392F T394W
AZ342	Q347K L351L F405S Y407I	K360E T366L K392L T394W
AZ343	Q347K L351L F405S Y407I	K360E T366L K392M T394W
AZ344	Q347K L351L F405S Y407I	K360E T366L K392F T394W
AZ345	Q347K L351L F405S Y407V	K360D T366L K392L T394W
AZ346	Q347K L351L F405S Y407V	K360D T366L K392M T394W
AZ347	Q347K L351L F405S Y407V	K360D T366L K392F T394W
AZ348	Q347K L351L F405S Y407V	K360E T366L K392L T394W
AZ349	Q347K L351L F405S Y407V	K360E T366L K392M T394W
AZ350	Q347K L351L F405S Y407V	K360E T366L K392F T394W
AZ351	Q347K L351L F405T Y407I	K360D T366L K392L T394W
AZ352	Q347K L351L F405T Y407I	K360D T366L K392M T394W
AZ353	Q347K L351L F405T Y407I	K360D T366L K392F T394W
AZ354	Q347K L351L F405T Y407I	K360E T366L K392L T394W
AZ355	Q347K L351L F405T Y407I	K360E T366L K392M T394W
AZ356	Q347K L351L F405T Y407I	K360E T366L K392F T394W
AZ357	Q347K L351L F405T Y407V	K360D T366L K392L T394W
AZ358	Q347K L351L F405T Y407V	K360D T366L K392M T394W
AZ359	Q347K L351L F405T Y407V	K360D T366L K392F T394W
AZ360	Q347K L351L F405T Y407V	K360E T366L K392L T394W

도면37e

AZ361	Q347K_L351L_F405T_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ362	Q347K_L351L_F405T_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ363	Q347K_L351L_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ364	Q347K_L351L_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ365	Q347K_L351L_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ366	Q347K_L351L_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ367	Q347K_L351L_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ368	Q347K_L351L_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ369	Q347K_L351L_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ370	Q347K_L351L_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ371	Q347K_L351L_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ372	Q347K_L351L_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ373	Q347K_L351L_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ374	Q347K_L351L_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ375	Q347K_L351Y_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ376	Q347K_L351Y_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ377	Q347K_L351Y_F405A_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ378	Q347K_L351Y_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ379	Q347K_L351Y_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ380	Q347K_L351Y_F405A_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ381	Q347K_L351Y_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ382	Q347K_L351Y_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ383	Q347K_L351Y_F405A_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ384	Q347K_L351Y_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ385	Q347K_L351Y_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ386	Q347K_L351Y_F405A_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ387	Q347K_L351Y_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ388	Q347K_L351Y_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ389	Q347K_L351Y_F405S_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ390	Q347K_L351Y_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ391	Q347K_L351Y_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ392	Q347K_L351Y_F405S_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ393	Q347K_L351Y_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ394	Q347K_L351Y_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ395	Q347K_L351Y_F405S_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ396	Q347K_L351Y_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ397	Q347K_L351Y_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ398	Q347K_L351Y_F405S_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ399	Q347K_L351Y_F405T_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ400	Q347K_L351Y_F405T_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ401	Q347K_L351Y_F405T_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ402	Q347K_L351Y_F405T_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ403	Q347K_L351Y_F405T_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ404	Q347K_L351Y_F405T_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ405	Q347K_L351Y_F405T_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ406	Q347K_L351Y_F405T_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ407	Q347K_L351Y_F405T_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ408	Q347K_L351Y_F405T_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ409	Q347K_L351Y_F405T_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ410	Q347K_L351Y_F405T_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ411	Q347K_L351Y_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ412	Q347K_L351Y_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392M_T394W
AZ413	Q347K_L351Y_F405V_Y407I	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ414	Q347K_L351Y_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ415	Q347K_L351Y_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ416	Q347K_L351Y_F405V_Y407I	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ417	Q347K_L351Y_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392L_T394W
AZ418	Q347K_L351Y_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392M_T394W

도면37f

AZ419	Q347K_L351Y_F405V_Y407V	K360D_T366L_K392F_T394W
AZ420	Q347K_L351Y_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392L_T394W
AZ421	Q347K_L351Y_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392M_T394W
AZ422	Q347K_L351Y_F405V_Y407V	K360E_T366L_K392F_T394W
AZ423	L351L_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ424	L351L_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ425	L351L_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ426	L351L_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ427	L351L_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ428	L351L_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ429	L351L_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ430	L351L_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ431	L351L_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ432	L351L_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ433	L351L_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ434	L351L_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ435	L351L_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ436	L351L_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ437	L351L_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ438	L351L_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ439	L351L_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ440	L351L_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ441	L351L_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ442	L351L_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ443	L351L_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ444	L351L_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ445	L351L_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ446	L351L_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ447	L351L_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ448	L351L_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ449	L351L_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ450	L351L_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ451	L351L_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ452	L351L_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ453	L351L_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ454	L351L_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ455	L351L_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ456	L351L_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ457	L351L_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ458	L351L_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ459	L351L_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ460	L351L_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ461	L351L_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ462	L351L_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ463	L351L_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ464	L351L_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ465	L351L_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ466	L351L_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ467	L351L_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ468	L351L_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ469	L351L_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ470	L351L_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ471	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ472	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ473	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ474	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ475	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ476	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W

도면37g

AZ477	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ478	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ479	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ480	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ481	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ482	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ483	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ484	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ485	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ486	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ487	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ488	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ489	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ490	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ491	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ492	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ493	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ494	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ495	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ496	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ497	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ498	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ499	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ500	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ501	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ502	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ503	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ504	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ505	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ506	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ507	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ508	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ509	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ510	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ511	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ512	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ513	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ514	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ515	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ516	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ517	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ518	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ519	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
AZ520	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411K
AZ521	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ522	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411K
AZ523	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
AZ524	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411K
AZ525	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ526	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411K
AZ527	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
AZ528	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411K
AZ529	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ530	L351L_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411K
AZ531	L351L_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
AZ532	L351L_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411K
AZ533	L351L_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ534	L351L_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411K

도면37h

AZ535	L351L F405A Y407V	T366L K392M T394W K409L T411R
AZ536	L351L F405A Y407V	T366L K392M T394W K409L T411K
AZ537	L351L F405A Y407V	T366L K392M T394W K409M T411R
AZ538	L351L F405A Y407V	T366L K392M T394W K409M T411K
AZ539	L351L F405A Y407V	T366L K392F T394W K409L T411R
AZ540	L351L F405A Y407V	T366L K392F T394W K409L T411K
AZ541	L351L F405A Y407V	T366L K392F T394W K409M T411R
AZ542	L351L F405A Y407V	T366L K392F T394W K409M T411K
AZ543	L351L F405S Y407I	T366L K392L T394W K409L T411R
AZ544	L351L F405S Y407I	T366L K392L T394W K409L T411K
AZ545	L351L F405S Y407I	T366L K392L T394W K409M T411R
AZ546	L351L F405S Y407I	T366L K392L T394W K409M T411K
AZ547	L351L F405S Y407I	T366L K392M T394W K409L T411R
AZ548	L351L F405S Y407I	T366L K392M T394W K409L T411K
AZ549	L351L F405S Y407I	T366L K392M T394W K409M T411R
AZ550	L351L F405S Y407I	T366L K392M T394W K409M T411K
AZ551	L351L F405S Y407I	T366L K392F T394W K409L T411R
AZ552	L351L F405S Y407I	T366L K392F T394W K409L T411K
AZ553	L351L F405S Y407I	T366L K392F T394W K409M T411R
AZ554	L351L F405S Y407I	T366L K392F T394W K409M T411K
AZ555	L351L F405S Y407V	T366L K392L T394W K409L T411R
AZ556	L351L F405S Y407V	T366L K392L T394W K409L T411K
AZ557	L351L F405S Y407V	T366L K392L T394W K409M T411R
AZ558	L351L F405S Y407V	T366L K392L T394W K409M T411K
AZ559	L351L F405S Y407V	T366L K392M T394W K409L T411R
AZ560	L351L F405S Y407V	T366L K392M T394W K409L T411K
AZ561	L351L F405S Y407V	T366L K392M T394W K409M T411R
AZ562	L351L F405S Y407V	T366L K392M T394W K409M T411K
AZ563	L351L F405S Y407V	T366L K392F T394W K409L T411R
AZ564	L351L F405S Y407V	T366L K392F T394W K409L T411K
AZ565	L351L F405S Y407V	T366L K392F T394W K409M T411R
AZ566	L351L F405S Y407V	T366L K392F T394W K409M T411K
AZ567	L351L F405V Y407I	T366L K392L T394W K409L T411R
AZ568	L351L F405V Y407I	T366L K392L T394W K409L T411K
AZ569	L351L F405V Y407I	T366L K392L T394W K409M T411R
AZ570	L351L F405V Y407I	T366L K392L T394W K409M T411K
AZ571	L351L F405V Y407I	T366L K392M T394W K409L T411R
AZ572	L351L F405V Y407I	T366L K392M T394W K409L T411K
AZ573	L351L F405V Y407I	T366L K392M T394W K409M T411R
AZ574	L351L F405V Y407I	T366L K392M T394W K409M T411K
AZ575	L351L F405V Y407I	T366L K392F T394W K409L T411R
AZ576	L351L F405V Y407I	T366L K392F T394W K409L T411K
AZ577	L351L F405V Y407I	T366L K392F T394W K409M T411R
AZ578	L351L F405V Y407I	T366L K392F T394W K409M T411K
AZ579	L351L F405V Y407V	T366L K392L T394W K409L T411R
AZ580	L351L F405V Y407V	T366L K392L T394W K409L T411K
AZ581	L351L F405V Y407V	T366L K392L T394W K409M T411R
AZ582	L351L F405V Y407V	T366L K392L T394W K409M T411K
AZ583	L351L F405V Y407V	T366L K392M T394W K409L T411R
AZ584	L351L F405V Y407V	T366L K392M T394W K409L T411K
AZ585	L351L F405V Y407V	T366L K392M T394W K409M T411R
AZ586	L351L F405V Y407V	T366L K392M T394W K409M T411K
AZ587	L351L F405V Y407V	T366L K392F T394W K409L T411R
AZ588	L351L F405V Y407V	T366L K392F T394W K409L T411K
AZ589	L351L F405V Y407V	T366L K392F T394W K409M T411R
AZ590	L351L F405V Y407V	T366L K392F T394W K409M T411K
AZ591	L351Y S400D F405A Y407I	T366L N390R K392L T394W
AZ592	L351Y S400D F405A Y407I	T366L N390R K392M T394W

도면37i

AZ593	L351Y_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ594	L351Y_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ595	L351Y_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ596	L351Y_S400D_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ597	L351Y_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ598	L351Y_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ599	L351Y_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ600	L351Y_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ601	L351Y_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ602	L351Y_S400D_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ603	L351Y_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ604	L351Y_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ605	L351Y_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ606	L351Y_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ607	L351Y_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ608	L351Y_S400D_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ609	L351Y_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ610	L351Y_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ611	L351Y_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ612	L351Y_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ613	L351Y_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ614	L351Y_S400D_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ615	L351Y_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ616	L351Y_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ617	L351Y_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ618	L351Y_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ619	L351Y_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ620	L351Y_S400D_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ621	L351Y_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ622	L351Y_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ623	L351Y_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ624	L351Y_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ625	L351Y_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ626	L351Y_S400D_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ627	L351Y_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ628	L351Y_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ629	L351Y_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ630	L351Y_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ631	L351Y_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ632	L351Y_S400D_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ633	L351Y_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ634	L351Y_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ635	L351Y_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ636	L351Y_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ637	L351Y_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ638	L351Y_S400D_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ639	L351Y_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ640	L351Y_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ641	L351Y_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ642	L351Y_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ643	L351Y_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ644	L351Y_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ645	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ646	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ647	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ648	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ649	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ650	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W

도면37j

AZ651	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ652	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ653	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ654	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ655	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ656	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ657	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ658	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ659	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ660	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ661	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ662	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ663	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ664	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ665	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ666	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ667	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ668	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ669	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ670	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ671	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ672	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ673	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ674	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ675	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ676	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ677	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ678	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ679	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ680	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ681	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W
AZ682	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W
AZ683	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W
AZ684	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W
AZ685	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W
AZ686	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W
AZ687	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
AZ688	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411K
AZ689	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ690	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411K
AZ691	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
AZ692	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411K
AZ693	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ694	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411K
AZ695	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
AZ696	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411K
AZ697	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ698	L351Y_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411K
AZ699	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
AZ700	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411K
AZ701	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ702	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411K
AZ703	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
AZ704	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411K
AZ705	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ706	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411K
AZ707	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
AZ708	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411K

도면37k

A2709	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
A2710	L351Y_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411K
A2711	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
A2712	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411K
A2713	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
A2714	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411K
A2715	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
A2716	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411K
A2717	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
A2718	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411K
A2719	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
A2720	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411K
A2721	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
A2722	L351Y_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411K
A2723	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
A2724	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411K
A2725	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
A2726	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411K
A2727	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
A2728	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411K
A2729	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
A2730	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411K
A2731	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
A2732	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411K
A2733	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
A2734	L351Y_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411K
A2735	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
A2736	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411K
A2737	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
A2738	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411K
A2739	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
A2740	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411K
A2741	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
A2742	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411K
A2743	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
A2744	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411K
A2745	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
A2746	L351Y_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411K
A2747	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
A2748	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411K
A2749	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
A2750	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411K
A2751	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
A2752	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411K
A2753	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
A2754	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411K
A2755	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
A2756	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411K
A2757	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
A2758	L351Y_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411K
A2759	D399C_F405A_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
A2760	D399C_F405A_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
A2761	D399C_F405A_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
A2762	D399C_F405A_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
A2763	D399C_F405A_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
A2764	D399C_F405A_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
A2765	D399C_F405A_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
A2766	D399C_F405A_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409M_T411T

도면371

AZ767	D399C_F405A_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409I_T411L
AZ768	D399C_F405A_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409I_T411T
AZ769	D399C_F405A_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ770	D399C_F405A_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ771	D399C_F405A_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ772	D399C_F405A_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ773	D399C_F405A_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ774	D399C_F405A_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ775	D399C_F405S_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409I_T411L
AZ776	D399C_F405S_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409I_T411T
AZ777	D399C_F405S_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ778	D399C_F405S_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ779	D399C_F405S_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ780	D399C_F405S_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ781	D399C_F405S_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ782	D399C_F405S_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ783	D399C_F405S_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409I_T411L
AZ784	D399C_F405S_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409I_T411T
AZ785	D399C_F405S_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ786	D399C_F405S_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ787	D399C_F405S_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ788	D399C_F405S_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ789	D399C_F405S_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ790	D399C_F405S_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ791	D399C_F405V_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409I_T411L
AZ792	D399C_F405V_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409I_T411T
AZ793	D399C_F405V_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ794	D399C_F405V_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ795	D399C_F405V_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ796	D399C_F405V_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ797	D399C_F405V_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ798	D399C_F405V_Y407I	T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ799	D399C_F405V_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409I_T411L
AZ800	D399C_F405V_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409I_T411T
AZ801	D399C_F405V_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ802	D399C_F405V_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ803	D399C_F405V_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ804	D399C_F405V_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ805	D399C_F405V_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ806	D399C_F405V_Y407V	T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ807	L351L_D399R_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411E
AZ808	L351L_D399R_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411E
AZ809	L351L_D399R_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409I_T411E
AZ810	L351L_D399R_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411E
AZ811	L351L_D399R_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411E
AZ812	L351L_D399R_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411E
AZ813	L351L_D399R_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411E
AZ814	L351L_D399R_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411E
AZ815	L351L_D399R_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411E
AZ816	L351L_D399R_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411E
AZ817	L351L_D399R_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411E
AZ818	L351L_D399R_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411E
AZ819	L351L_D399R_F405M_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409V_T411E
AZ820	L351L_D399R_F405M_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409V_T411E
AZ821	L351L_D399R_F405M_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409V_T411E
AZ822	L351L_D399R_F405M_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409V_T411E
AZ823	L351L_D399R_F405M_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409V_T411E
AZ824	L351L_D399R_F405M_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409V_T411E

도면37m

AZ825	L351L_D399R_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411E
AZ826	L351L_D399R_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411E
AZ827	L351L_D399R_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411E
AZ828	L351L_D399R_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411E
AZ829	L351L_D399R_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411E
AZ830	L351L_D399R_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411E
AZ831	L351L_D399R_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411E
AZ832	L351L_D399R_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411E
AZ833	L351L_D399R_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411E
AZ834	L351L_D399R_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411E
AZ835	L351L_D399R_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411E
AZ836	L351L_D399R_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411E
AZ837	L351L_D399R_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409L_T411E
AZ838	L351L_D399R_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411E
AZ839	L351L_D399R_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409L_T411E
AZ840	L351L_D399R_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411E
AZ841	L351L_D399R_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411E
AZ842	L351L_D399R_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411E
AZ843	L351L_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411E
AZ844	L351L_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411E
AZ845	L351L_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411E
AZ846	L351L_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411E
AZ847	L351L_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411E
AZ848	L351L_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411E
AZ849	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ850	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ851	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ852	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ853	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ854	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ855	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ856	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ857	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ858	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ859	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ860	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ861	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ862	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ863	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ864	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ865	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ866	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ867	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ868	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ869	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ870	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ871	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ872	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ873	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ874	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ875	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ876	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ877	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ878	L351L_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ879	L351L_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ880	L351L_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ881	L351L_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ882	L351L_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N

도면37n

AZ883	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390N K392M T394W T411S
AZ884	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390N K392M T394W T411T
AZ885	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390N K392F T394W T411N
AZ886	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390N K392F T394W T411S
AZ887	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390N K392F T394W T411T
AZ888	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392L T394W T411N
AZ889	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392L T394W T411S
AZ890	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392L T394W T411T
AZ891	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392M T394W T411N
AZ892	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392M T394W T411S
AZ893	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392M T394W T411T
AZ894	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392F T394W T411N
AZ895	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392F T394W T411S
AZ896	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390D K392F T394W T411T
AZ897	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392L T394W T411N
AZ898	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392L T394W T411T
AZ899	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392L T394W T411S
AZ900	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392L T394W T411T
AZ901	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392M T394W T411N
AZ902	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392M T394W T411S
AZ903	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392M T394W T411T
AZ904	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392M T394W T411N
AZ905	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392F T394W T411S
AZ906	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392F T394W T411T
AZ907	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392F T394W T411N
AZ908	L351L S400R F405A Y407V	T366L N390E K392F T394W T411S
AZ909	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392L T394W T411T
AZ910	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392L T394W T411N
AZ911	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392L T394W T411S
AZ912	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392M T394W T411T
AZ913	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392M T394W T411N
AZ914	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392M T394W T411S
AZ915	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392F T394W T411T
AZ916	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392F T394W T411N
AZ917	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390N K392F T394W T411S
AZ918	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392L T394W T411T
AZ919	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392L T394W T411N
AZ920	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392L T394W T411S
AZ921	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392M T394W T411T
AZ922	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392M T394W T411N
AZ923	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392M T394W T411S
AZ924	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392F T394W T411T
AZ925	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392F T394W T411N
AZ926	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390D K392F T394W T411S
AZ927	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392L T394W T411T
AZ928	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392L T394W T411N
AZ929	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392L T394W T411S
AZ930	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392L T394W T411T
AZ931	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392M T394W T411N
AZ932	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392M T394W T411S
AZ933	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392M T394W T411T
AZ934	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392M T394W T411N
AZ935	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392F T394W T411S
AZ936	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392F T394W T411T
AZ937	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392F T394W T411N
AZ938	L351L S400R F405S Y407I	T366L N390E K392F T394W T411S
AZ939	L351L S400R F405S Y407V	T366L N390N K392L T394W T411T
AZ940	L351L S400R F405S Y407V	T366L N390N K392L T394W T411N

도면370

AZ941	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ942	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ943	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ944	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ945	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ946	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ947	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ948	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ949	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ950	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ951	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ952	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ953	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ954	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ955	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ956	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ957	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ958	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ959	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ960	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ961	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ962	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ963	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ964	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ965	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ966	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ967	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ968	L351L_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ969	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ970	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ971	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ972	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ973	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ974	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ975	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ976	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ977	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ978	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ979	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ980	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ981	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ982	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ983	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ984	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ985	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ986	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ987	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ988	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ989	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ990	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ991	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ992	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ993	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ994	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ995	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ996	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ997	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ998	L351L_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T

도면37p

AZ999	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1000	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1001	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1002	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1003	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1004	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1005	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1006	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1007	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1008	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1009	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1010	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1011	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1012	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1013	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1014	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1015	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1016	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1017	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1018	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1019	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1020	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1021	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1022	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1023	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1024	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1025	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1026	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1027	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1028	L351L_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1029	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1030	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1031	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1032	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1033	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1034	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1035	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1036	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1037	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1038	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1039	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1040	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1041	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1042	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1043	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1044	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1045	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1046	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1047	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1048	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1049	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1050	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1051	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1052	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1053	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1054	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1055	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1056	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N

도면37q

AZ1057	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1058	L351L_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1059	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1060	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1061	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1062	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1063	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1064	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1065	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1066	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1067	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1068	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1069	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1070	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1071	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1072	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1073	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1074	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1075	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1076	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1077	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1078	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1079	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1080	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1081	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1082	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1083	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1084	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1085	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1086	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1087	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1088	L351L_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1089	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1090	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1091	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1092	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1093	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1094	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1095	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1096	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1097	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1098	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1099	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1100	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1101	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1102	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1103	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1104	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1105	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1106	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1107	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1108	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1109	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1110	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1111	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1112	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1113	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1114	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L

도면37r

AZ1115	L351L_S400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1116	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1117	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1118	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1119	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1120	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1121	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1122	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1123	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1124	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1125	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1126	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1127	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1128	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1129	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1130	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1131	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1132	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1133	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1134	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1135	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1136	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1137	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1138	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1139	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1140	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1141	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1142	L351L_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1143	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1144	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1145	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1146	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1147	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1148	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1149	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1150	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1151	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1152	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1153	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1154	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1155	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1156	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1157	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1158	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1159	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1160	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1161	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1162	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1163	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1164	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1165	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1166	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1167	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1168	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1169	L351L_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1170	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1171	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1172	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S

도면37s

AZ1173	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1174	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1175	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1176	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1177	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1178	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1179	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1180	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1181	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1182	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1183	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1184	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1185	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1186	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1187	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1188	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1189	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1190	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1191	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1192	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1193	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1194	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1195	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1196	L351L_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1197	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1198	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1199	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1200	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1201	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1202	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1203	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1204	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1205	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1206	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1207	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1208	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1209	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1210	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1211	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1212	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1213	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1214	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1215	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1216	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1217	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1218	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1219	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1220	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1221	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1222	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1223	L351L_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1224	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1225	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1226	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1227	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1228	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1229	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1230	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N

도면37t

AZ1231	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1232	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1233	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1234	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1235	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1236	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1237	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1238	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1239	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1240	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1241	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1242	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1243	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1244	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1245	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1246	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1247	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1248	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1249	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1250	L351L_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1251	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1252	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1253	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1254	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1255	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1256	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1257	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1258	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1259	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1260	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1261	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1262	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1263	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1264	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1265	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1266	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1267	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1268	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1269	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1270	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1271	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1272	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1273	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1274	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1275	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1276	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1277	L351L_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1278	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1279	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1280	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1281	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1282	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1283	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1284	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1285	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1286	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1287	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1288	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L

도면37u

AZ1289	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1290	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1291	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1292	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1293	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1294	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1295	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1296	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1297	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1298	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1299	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1300	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1301	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1302	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1303	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1304	L351L_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1305	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1306	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1307	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1308	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1309	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1310	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1311	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1312	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1313	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1314	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1315	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1316	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1317	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1318	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1319	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1320	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1321	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1322	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1323	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1324	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1325	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1326	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1327	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1328	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1329	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1330	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1331	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1332	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1333	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1334	L351L_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1335	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1336	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1337	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1338	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1339	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1340	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1341	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1342	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1343	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1344	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1345	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1346	L351L_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T

도면37v

AZ1347	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390D K392M T394W T411N
AZ1348	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390D K392M T394W T411S
AZ1349	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390D K392M T394W T411T
AZ1350	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390D K392F T394W T411N
AZ1351	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390D K392F T394W T411S
AZ1352	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390D K392F T394W T411T
AZ1353	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392L T394W T411N
AZ1354	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392L T394W T411L
AZ1355	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392L T394W T411S
AZ1356	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392L T394W T411T
AZ1357	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392M T394W T411N
AZ1358	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392M T394W T411L
AZ1359	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392M T394W T411S
AZ1360	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392M T394W T411T
AZ1361	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392F T394W T411N
AZ1362	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392F T394W T411L
AZ1363	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392F T394W T411S
AZ1364	L351L S400K F405A Y407V	T366L N390E K392F T394W T411T
AZ1365	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392L T394W T411N
AZ1366	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392L T394W T411S
AZ1367	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392L T394W T411T
AZ1368	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392M T394W T411N
AZ1369	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392M T394W T411S
AZ1370	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392M T394W T411T
AZ1371	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392F T394W T411N
AZ1372	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392F T394W T411S
AZ1373	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390N K392F T394W T411T
AZ1374	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392L T394W T411N
AZ1375	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392L T394W T411S
AZ1376	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392L T394W T411T
AZ1377	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392M T394W T411N
AZ1378	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392M T394W T411S
AZ1379	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392M T394W T411T
AZ1380	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392F T394W T411N
AZ1381	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392F T394W T411S
AZ1382	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390D K392F T394W T411T
AZ1383	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392L T394W T411N
AZ1384	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392L T394W T411L
AZ1385	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392L T394W T411S
AZ1386	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392L T394W T411T
AZ1387	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392M T394W T411N
AZ1388	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392M T394W T411L
AZ1389	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392M T394W T411S
AZ1390	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392M T394W T411T
AZ1391	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392F T394W T411N
AZ1392	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392F T394W T411L
AZ1393	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392F T394W T411S
AZ1394	L351L S400K F405S Y407I	T366L N390E K392F T394W T411T
AZ1395	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392L T394W T411N
AZ1396	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392L T394W T411S
AZ1397	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392L T394W T411T
AZ1398	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392M T394W T411N
AZ1399	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392M T394W T411S
AZ1400	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392M T394W T411T
AZ1401	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392F T394W T411N
AZ1402	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392F T394W T411S
AZ1403	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390N K392F T394W T411T
AZ1404	L351L S400K F405S Y407V	T366L N390D K392L T394W T411N

도면37w

AZ1405	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1406	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1407	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1408	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1409	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1410	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1411	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1412	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1413	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1414	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1415	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1416	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1417	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1418	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1419	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1420	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1421	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1422	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1423	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1424	L351L_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1425	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1426	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1427	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1428	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1429	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1430	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1431	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1432	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1433	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1434	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1435	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1436	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1437	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1438	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1439	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1440	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1441	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1442	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1443	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1444	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1445	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1446	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1447	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1448	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1449	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1450	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1451	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1452	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1453	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1454	L351L_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1455	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1456	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1457	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1458	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1459	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1460	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1461	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1462	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S

도면37x

AZ1463	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1464	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1465	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1466	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1467	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1468	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1469	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1470	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1471	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1472	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1473	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1474	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1475	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1476	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1477	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1478	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1479	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1480	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1481	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1482	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1483	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1484	L351L_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1485	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1486	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1487	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1488	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1489	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1490	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1491	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1492	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1493	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1494	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1495	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1496	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1497	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1498	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1499	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1500	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1501	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1502	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1503	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1504	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1505	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1506	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1507	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1508	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1509	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1510	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1511	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1512	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1513	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1514	L351L_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1515	L351L_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1516	L351L_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1517	L351L_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1518	L351L_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1519	L351L_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1520	L351L_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T

도면37y

AZ1521	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390N K392F T394W T411N
AZ1522	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390N K392F T394W T411S
AZ1523	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390N K392F T394W T411T
AZ1524	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392L T394W T411N
AZ1525	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392L T394W T411S
AZ1526	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392L T394W T411T
AZ1527	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392M T394W T411N
AZ1528	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392M T394W T411S
AZ1529	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392M T394W T411T
AZ1530	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392F T394W T411N
AZ1531	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392F T394W T411S
AZ1532	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390D K392F T394W T411T
AZ1533	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392L T394W T411N
AZ1534	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392L T394W T411L
AZ1535	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392L T394W T411S
AZ1536	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392L T394W T411T
AZ1537	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392M T394W T411N
AZ1538	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392M T394W T411L
AZ1539	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392M T394W T411S
AZ1540	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392M T394W T411T
AZ1541	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392F T394W T411N
AZ1542	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392F T394W T411L
AZ1543	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392F T394W T411S
AZ1544	L351L S400K F405V Y407V	T366L N390E K392F T394W T411T
AZ1545	L351Y D399R F405A Y407I	T366L K392L T394W K409L T411E
AZ1546	L351Y D399R F405A Y407I	T366L K392L T394W K409M T411E
AZ1547	L351Y D399R F405A Y407I	T366L K392M T394W K409L T411E
AZ1548	L351Y D399R F405A Y407I	T366L K392M T394W K409M T411E
AZ1549	L351Y D399R F405A Y407I	T366L K392F T394W K409L T411E
AZ1550	L351Y D399R F405A Y407I	T366L K392F T394W K409M T411E
AZ1551	L351Y D399R F405A Y407V	T366L K392L T394W K409L T411E
AZ1552	L351Y D399R F405A Y407V	T366L K392L T394W K409M T411E
AZ1553	L351Y D399R F405A Y407V	T366L K392M T394W K409L T411E
AZ1554	L351Y D399R F405A Y407V	T366L K392M T394W K409M T411E
AZ1555	L351Y D399R F405A Y407V	T366L K392F T394W K409L T411E
AZ1556	L351Y D399R F405A Y407V	T366L K392F T394W K409M T411E
AZ1557	L351Y D399R F405M Y407I	T366L K392L T394W K409V T411E
AZ1558	L351Y D399R F405M Y407I	T366L K392M T394W K409V T411E
AZ1559	L351Y D399R F405M Y407I	T366L K392F T394W K409V T411E
AZ1560	L351Y D399R F405M Y407V	T366L K392L T394W K409V T411E
AZ1561	L351Y D399R F405M Y407V	T366L K392M T394W K409V T411E
AZ1562	L351Y D399R F405M Y407V	T366L K392F T394W K409V T411E
AZ1563	L351Y D399R F405S Y407I	T366L K392L T394W K409L T411E
AZ1564	L351Y D399R F405S Y407I	T366L K392L T394W K409M T411E
AZ1565	L351Y D399R F405S Y407I	T366L K392M T394W K409L T411E
AZ1566	L351Y D399R F405S Y407I	T366L K392M T394W K409M T411E
AZ1567	L351Y D399R F405S Y407I	T366L K392F T394W K409L T411E
AZ1568	L351Y D399R F405S Y407I	T366L K392F T394W K409M T411E
AZ1569	L351Y D399R F405S Y407V	T366L K392L T394W K409L T411E
AZ1570	L351Y D399R F405S Y407V	T366L K392L T394W K409M T411E
AZ1571	L351Y D399R F405S Y407V	T366L K392M T394W K409L T411E
AZ1572	L351Y D399R F405S Y407V	T366L K392M T394W K409M T411E
AZ1573	L351Y D399R F405S Y407V	T366L K392F T394W K409L T411E
AZ1574	L351Y D399R F405S Y407V	T366L K392F T394W K409M T411E
AZ1575	L351Y D399R F405V Y407I	T366L K392L T394W K409L T411E
AZ1576	L351Y D399R F405V Y407I	T366L K392L T394W K409M T411E
AZ1577	L351Y D399R F405V Y407I	T366L K392M T394W K409L T411E
AZ1578	L351Y D399R F405V Y407I	T366L K392M T394W K409M T411E

도면37z

AZ1579	L351Y_D399R_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409L_T411E
AZ1580	L351Y_D399R_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411E
AZ1581	L351Y_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409L_T411E
AZ1582	L351Y_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411E
AZ1583	L351Y_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409L_T411E
AZ1584	L351Y_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411E
AZ1585	L351Y_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409L_T411E
AZ1586	L351Y_D399R_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411E
AZ1587	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1588	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1589	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1590	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1591	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1592	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1593	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1594	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1595	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1596	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1597	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1598	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1599	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1600	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1601	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1602	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1603	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1604	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1605	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1606	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1607	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1608	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1609	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1610	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1611	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1612	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1613	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1614	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1615	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1616	L351Y_S400R_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1617	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1618	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1619	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1620	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1621	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1622	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1623	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1624	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1625	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1626	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1627	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1628	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1629	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1630	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1631	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1632	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1633	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1634	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1635	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1636	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L

도면37aa

AZ1637	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1638	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1639	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1640	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1641	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1642	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1643	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1644	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1645	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1646	L351Y_S400R_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1647	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1648	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1649	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1650	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1651	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1652	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1653	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1654	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1655	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1656	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1657	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1658	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1659	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1660	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1661	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1662	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1663	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1664	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1665	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1666	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1667	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1668	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1669	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1670	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1671	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1672	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1673	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1674	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1675	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1676	L351Y_S400R_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1677	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1678	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1679	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1680	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1681	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1682	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1683	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1684	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1685	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1686	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1687	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1688	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1689	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1690	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1691	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1692	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1693	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1694	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T

도면37bb

AZ1695	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1696	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1697	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1698	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1699	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1700	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1701	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1702	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1703	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1704	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1705	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1706	L351Y_S400R_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1707	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1708	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1709	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1710	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1711	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1712	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1713	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1714	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1715	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1716	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1717	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1718	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1719	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1720	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1721	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1722	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1723	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1724	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1725	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1726	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1727	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1728	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1729	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1730	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1731	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1732	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1733	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1734	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1735	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1736	L351Y_S400R_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1737	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1738	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1739	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1740	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1741	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1742	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1743	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1744	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1745	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1746	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1747	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1748	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1749	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1750	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1751	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1752	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N

도면37cc

AZ1753	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1754	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1755	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1756	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1757	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1758	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1759	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1760	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1761	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1762	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1763	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1764	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1765	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1766	L351Y_S400R_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1767	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1768	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1769	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1770	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1771	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1772	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1773	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1774	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1775	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1776	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1777	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1778	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1779	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1780	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ1781	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1782	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1783	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1784	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1785	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1786	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1787	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1788	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1789	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1790	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1791	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1792	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1793	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1794	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1795	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1796	L351Y_S400R_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1797	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1798	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1799	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ1800	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1801	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1802	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ1803	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1804	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1805	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ1806	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ1807	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ1808	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ1809	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ1810	L351Y_S400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S

도면37dd

AZ1811	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ1812	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ1813	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ1814	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ1815	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ1816	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ1817	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ1818	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ1819	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ1820	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ1821	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ1822	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ1823	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ1824	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ1825	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ1826	L351Y_5400R_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ1827	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1828	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1829	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1830	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1831	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1832	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1833	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1834	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1835	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1836	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1837	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1838	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1839	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1840	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1841	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1842	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1843	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1844	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1845	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1846	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1847	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1848	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1849	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1850	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1851	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1852	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1853	L351Y_5400E_F405A_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1854	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1855	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1856	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1857	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1858	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1859	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1860	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1861	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1862	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1863	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1864	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1865	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1866	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1867	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1868	L351Y_5400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S

도면37ee

AZ1869	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1870	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1871	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1872	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1873	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1874	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1875	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1876	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1877	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1878	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1879	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1880	L351Y_S400E_F405A_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1881	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1882	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1883	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1884	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1885	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1886	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1887	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1888	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1889	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1890	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1891	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1892	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1893	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1894	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1895	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1896	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1897	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1898	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1899	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1900	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1901	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1902	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1903	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1904	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1905	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1906	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1907	L351Y_S400E_F405S_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1908	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1909	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1910	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1911	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1912	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1913	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1914	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1915	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1916	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1917	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1918	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1919	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1920	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1921	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1922	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1923	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1924	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1925	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1926	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N

도면37ff

AZ1927	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1928	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1929	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1930	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1931	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1932	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1933	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1934	L351Y_S400E_F405S_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1935	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1936	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1937	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1938	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1939	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1940	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1941	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1942	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1943	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1944	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1945	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1946	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1947	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1948	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1949	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1950	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1951	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1952	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1953	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1954	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1955	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1956	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1957	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ1958	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1959	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1960	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1961	L351Y_S400E_F405T_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1962	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1963	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1964	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1965	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1966	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1967	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1968	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1969	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1970	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1971	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1972	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ1973	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ1974	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ1975	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ1976	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ1977	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ1978	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ1979	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ1980	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ1981	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ1982	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ1983	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ1984	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L

도면37gg

AZ1985	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ1986	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ1987	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ1988	L351Y_S400E_F405T_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ1989	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ1990	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ1991	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ1992	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ1993	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ1994	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ1995	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ1996	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ1997	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ1998	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ1999	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ2000	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2001	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2002	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ2003	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2004	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2005	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ2006	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2007	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ2008	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ2009	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ2010	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ2011	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ2012	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ2013	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ2014	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ2015	L351Y_S400E_F405V_Y407I	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S
AZ2016	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411N
AZ2017	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411L
AZ2018	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392L_T394W_T411S
AZ2019	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411N
AZ2020	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411L
AZ2021	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392M_T394W_T411S
AZ2022	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411N
AZ2023	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411L
AZ2024	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390R_K392F_T394W_T411S
AZ2025	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2026	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411L
AZ2027	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2028	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2029	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411L
AZ2030	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2031	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2032	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411L
AZ2033	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2034	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411N
AZ2035	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411L
AZ2036	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392L_T394W_T411S
AZ2037	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411N
AZ2038	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411L
AZ2039	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392M_T394W_T411S
AZ2040	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411N
AZ2041	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411L
AZ2042	L351Y_S400E_F405V_Y407V	T366L_N390K_K392F_T394W_T411S

도면37hh

AZ2043	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2044	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2045	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ2046	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2047	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2048	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ2049	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2050	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2051	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ2052	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ2053	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ2054	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ2055	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ2056	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ2057	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ2058	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ2059	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ2060	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ2061	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2062	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ2063	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ2064	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2065	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2066	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ2067	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2068	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2069	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2070	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ2071	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ2072	L351Y_S400K_F405A_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2073	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2074	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2075	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ2076	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2077	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2078	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ2079	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2080	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2081	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ2082	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ2083	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ2084	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ2085	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ2086	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ2087	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ2088	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ2089	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ2090	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ2091	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2092	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ2093	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ2094	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2095	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2096	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ2097	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2098	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2099	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2100	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N

도면37ii

AZ2101	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ2102	L351Y_S400K_F405A_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2103	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2104	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2105	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ2106	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2107	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2108	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ2109	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2110	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2111	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ2112	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ2113	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ2114	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ2115	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ2116	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ2117	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ2118	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ2119	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ2120	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ2121	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2122	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ2123	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ2124	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ2125	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2126	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ2127	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2128	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ2129	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ2130	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ2131	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ2132	L351Y_S400K_F405S_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2133	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2134	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2135	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ2136	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2137	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2138	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ2139	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2140	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2141	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ2142	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ2143	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ2144	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ2145	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ2146	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ2147	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ2148	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ2149	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ2150	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ2151	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2152	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ2153	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ2154	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ2155	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2156	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ2157	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2158	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T

도면37jj

AZ2159	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ2160	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ2161	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ2162	L351Y_S400K_F405S_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2163	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2164	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2165	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ2166	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2167	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2168	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ2169	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2170	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2171	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ2172	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ2173	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ2174	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ2175	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ2176	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ2177	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ2178	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ2179	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ2180	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ2181	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2182	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ2183	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ2184	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ2185	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2186	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ2187	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2188	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ2189	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ2190	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ2191	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ2192	L351Y_S400K_F405T_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2193	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2194	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2195	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ2196	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2197	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2198	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ2199	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2200	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2201	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ2202	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ2203	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ2204	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ2205	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ2206	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ2207	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ2208	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ2209	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ2210	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ2211	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2212	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ2213	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ2214	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ2215	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2216	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L

도면37kk

AZ2217	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2218	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ2219	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ2220	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ2221	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ2222	L351Y_S400K_F405T_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2223	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2224	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2225	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ2226	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2227	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2228	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ2229	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2230	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2231	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ2232	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ2233	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ2234	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ2235	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ2236	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ2237	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ2238	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ2239	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ2240	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ2241	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2242	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ2243	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ2244	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T
AZ2245	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2246	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2247	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ2248	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2249	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ2250	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ2251	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ2252	L351Y_S400K_F405V_Y407I	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2253	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411N
AZ2254	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411S
AZ2255	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392L_T394W_T411T
AZ2256	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411N
AZ2257	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411S
AZ2258	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392M_T394W_T411T
AZ2259	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411N
AZ2260	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411S
AZ2261	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390N_K392F_T394W_T411T
AZ2262	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411N
AZ2263	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411S
AZ2264	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392L_T394W_T411T
AZ2265	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411N
AZ2266	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411S
AZ2267	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392M_T394W_T411T
AZ2268	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411N
AZ2269	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411S
AZ2270	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390D_K392F_T394W_T411T
AZ2271	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411N
AZ2272	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411L
AZ2273	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411S
AZ2274	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392L_T394W_T411T

도면3711

AZ2275	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411N
AZ2276	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411L
AZ2277	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411S
AZ2278	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392M_T394W_T411T
AZ2279	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411N
AZ2280	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411L
AZ2281	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411S
AZ2282	L351Y_S400K_F405V_Y407V	T366L_N390E_K392F_T394W_T411T
AZ2283	Y349C_D399C_F405A_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2284	Y349C_D399C_F405A_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2285	Y349C_D399C_F405A_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2286	Y349C_D399C_F405A_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2287	Y349C_D399C_F405A_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ2288	Y349C_D399C_F405A_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ2289	Y349C_D399C_F405A_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ2290	Y349C_D399C_F405A_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ2291	Y349C_D399C_F405A_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2292	Y349C_D399C_F405A_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2293	Y349C_D399C_F405A_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2294	Y349C_D399C_F405A_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2295	Y349C_D399C_F405A_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ2296	Y349C_D399C_F405A_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ2297	Y349C_D399C_F405A_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ2298	Y349C_D399C_F405A_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ2299	Y349C_D399C_F405S_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2300	Y349C_D399C_F405S_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2301	Y349C_D399C_F405S_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2302	Y349C_D399C_F405S_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2303	Y349C_D399C_F405S_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ2304	Y349C_D399C_F405S_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ2305	Y349C_D399C_F405S_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ2306	Y349C_D399C_F405S_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ2307	Y349C_D399C_F405S_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2308	Y349C_D399C_F405S_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2309	Y349C_D399C_F405S_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2310	Y349C_D399C_F405S_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2311	Y349C_D399C_F405S_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ2312	Y349C_D399C_F405S_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ2313	Y349C_D399C_F405S_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ2314	Y349C_D399C_F405S_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ2315	Y349C_D399C_F405V_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2316	Y349C_D399C_F405V_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2317	Y349C_D399C_F405V_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2318	Y349C_D399C_F405V_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2319	Y349C_D399C_F405V_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ2320	Y349C_D399C_F405V_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ2321	Y349C_D399C_F405V_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ2322	Y349C_D399C_F405V_Y407I	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ2323	Y349C_D399C_F405V_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2324	Y349C_D399C_F405V_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2325	Y349C_D399C_F405V_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411L
AZ2326	Y349C_D399C_F405V_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409L_T411T
AZ2327	Y349C_D399C_F405V_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411L
AZ2328	Y349C_D399C_F405V_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409K_T411T
AZ2329	Y349C_D399C_F405V_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411L
AZ2330	Y349C_D399C_F405V_Y407V	S354C_T366L_K392C_T394W_K409M_T411T
AZ2331	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2332	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R

도면37mm

AZ2333	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2334	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2335	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2336	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2337	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2338	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2339	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2340	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2341	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2342	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2343	L351L_K370T_G371D_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2344	L351L_K370T_G371D_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2345	L351L_K370T_G371D_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2346	L351L_K370T_G371D_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2347	L351L_K370T_G371D_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2348	L351L_K370T_G371D_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2349	L351Y_K370T_G371D_F405A_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2350	L351Y_K370T_G371D_F405A_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2351	L351Y_K370T_G371D_F405A_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2352	L351Y_K370T_G371D_F405A_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2353	L351Y_K370T_G371D_F405A_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2354	L351Y_K370T_G371D_F405A_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2355	L351Y_K370T_G371D_F405S_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2356	L351Y_K370T_G371D_F405S_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2357	L351Y_K370T_G371D_F405S_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2358	L351Y_K370T_G371D_F405S_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2359	L351Y_K370T_G371D_F405S_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2360	L351Y_K370T_G371D_F405S_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2361	L351Y_K370T_G371D_F405V_Y407I	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2362	L351Y_K370T_G371D_F405V_Y407I	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2363	L351Y_K370T_G371D_F405V_Y407I	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2364	L351Y_K370T_G371D_F405V_Y407V	T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2365	L351Y_K370T_G371D_F405V_Y407V	T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2366	L351Y_K370T_G371D_F405V_Y407V	T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2367	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
AZ2368	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2369	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
AZ2370	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2371	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
AZ2372	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2373	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
AZ2374	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2375	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
AZ2376	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2377	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
AZ2378	L351L_K370T_G371D_F405A_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2379	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
AZ2380	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2381	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
AZ2382	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2383	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
AZ2384	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407I	E357Q_S364R_T366L_K392F_T394W_K409M_T411R
AZ2385	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392L_T394W_K409L_T411R
AZ2386	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392L_T394W_K409M_T411R
AZ2387	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392M_T394W_K409L_T411R
AZ2388	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392M_T394W_K409M_T411R
AZ2389	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392F_T394W_K409L_T411R
AZ2390	L351L_K370T_G371D_F405S_Y407V	E357Q_S364R_T366L_K392F_T394W_K409M_T411R

도면 37nn

[illegible]

도면38a

표 7

변이체	Fc 돌연변이 세트 A	Fc 돌연변이 세트 B
A22439	T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407A
A22440	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
A22441	T366I_K409F	L351Y_Y407A
A22442	T366I_K409F	L351Y_Y407I
A22443	T366I_K409F	L351Y_Y407V
A22444	T366M_K409F	L351Y_Y407A
A22445	T366M_K409F	L351Y_Y407I
A22446	T366M_K409F	L351Y_Y407V
A22447	T366V_K409F	L351Y_Y407A
A22448	T366V_K409F	L351Y_Y407I
A22449	T366V_K409F	L351Y_Y407V
A22450	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407A
A22451	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407I
A22452	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407L
A22453	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407M
A22454	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407V
A22455	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407A
A22456	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407I
A22457	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407L
A22458	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407M
A22459	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407V
A22460	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407A
A22461	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407I
A22462	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407L
A22463	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407M
A22464	T366I_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407V
A22465	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407A
A22466	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407I
A22467	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407L
A22468	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407M
A22469	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407V
A22470	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407A
A22471	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407I
A22472	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407L
A22473	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407M
A22474	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407V
A22475	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407A
A22476	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407I
A22477	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407L
A22478	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407M
A22479	T366I_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407V
A22480	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407A
A22481	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407I
A22482	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407L
A22483	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407M
A22484	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407V
A22485	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407A
A22486	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407I
A22487	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407L
A22488	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407M
A22489	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407V
A22490	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407A
A22491	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407I
A22492	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407L

도면38b

AZ2493	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407M
AZ2494	T366M_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407V
AZ2495	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407A
AZ2496	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407I
AZ2497	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407L
AZ2498	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407M
AZ2499	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407V
AZ2500	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407A
AZ2501	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407I
AZ2502	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407L
AZ2503	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407M
AZ2504	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407V
AZ2505	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407A
AZ2506	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407I
AZ2507	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407L
AZ2508	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407M
AZ2509	T366M_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407V
AZ2510	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407A
AZ2511	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407I
AZ2512	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407L
AZ2513	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407M
AZ2514	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405L_Y407V
AZ2515	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407A
AZ2516	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407I
AZ2517	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407L
AZ2518	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407M
AZ2519	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405M_Y407V
AZ2520	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407A
AZ2521	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407I
AZ2522	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407L
AZ2523	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407M
AZ2524	T366V_T394S_K409W	L351Y_F405F_Y407V
AZ2525	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407A
AZ2526	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407I
AZ2527	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407L
AZ2528	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407M
AZ2529	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405L_Y407V
AZ2530	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407A
AZ2531	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407I
AZ2532	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407L
AZ2533	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407M
AZ2534	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405M_Y407V
AZ2535	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407A
AZ2536	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407I
AZ2537	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407L
AZ2538	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407M
AZ2539	T366V_T394V_K409W	L351Y_F405F_Y407V
AZ2540	T366I_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407A
AZ2541	T366I_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407I
AZ2542	T366I_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407V
AZ2543	T366I_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407A
AZ2544	T366I_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407I
AZ2545	T366I_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407V
AZ2546	T366I_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407A
AZ2547	T366I_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407I
AZ2548	T366I_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407V
AZ2549	T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407A
AZ2550	T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407I

도면38c

AZ2551	T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407V
AZ2552	T366M_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407A
AZ2553	T366M_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407I
AZ2554	T366M_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407V
AZ2555	T366M_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407A
AZ2556	T366M_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407I
AZ2557	T366M_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407V
AZ2558	T366M_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407A
AZ2559	T366M_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407I
AZ2560	T366M_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407V
AZ2561	T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407A
AZ2562	T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407I
AZ2563	T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407V
AZ2564	T366V_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407A
AZ2565	T366V_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407I
AZ2566	T366V_K392C_K409F_T411I	L351Y_D399C_Y407V
AZ2567	T366V_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407A
AZ2568	T366V_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407I
AZ2569	T366V_K392C_K409F_T411L	L351Y_D399C_Y407V
AZ2570	T366V_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407A
AZ2571	T366V_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407I
AZ2572	T366V_K392C_K409F_T411T	L351Y_D399C_Y407V
AZ2573	T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407A
AZ2574	T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407I
AZ2575	T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_Y407V
AZ2576	T366I_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2577	T366I_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2578	T366I_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2579	T366I_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2580	T366I_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2581	T366I_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2582	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2583	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2584	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2585	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2586	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2587	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2588	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2589	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2590	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2591	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2592	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2593	T366I_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2594	T366I_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2595	T366I_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2596	T366I_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2597	T366I_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2598	T366I_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2599	T366I_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2600	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2601	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2602	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2603	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2604	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2605	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2606	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2607	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2608	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V

도면38d

AZ2609	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2610	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2611	T366I_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2612	T366M_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2613	T366M_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2614	T366M_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2615	T366M_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2616	T366M_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2617	T366M_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2618	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2619	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2620	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2621	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2622	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2623	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2624	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2625	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2626	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2627	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2628	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2629	T366M_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2630	T366M_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2631	T366M_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2632	T366M_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2633	T366M_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2634	T366M_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2635	T366M_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2636	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2637	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2638	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2639	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2640	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2641	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2642	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2643	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2644	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2645	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2646	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2647	T366M_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2648	T366V_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2649	T366V_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2650	T366V_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2651	T366V_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2652	T366V_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2653	T366V_K392D_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2654	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2655	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2656	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2657	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2658	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2659	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2660	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2661	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2662	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2663	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2664	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2665	T366V_K392D_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2666	T366V_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407A

도면38e

AZ2667	T366V_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2668	T366V_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2669	T366V_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2670	T366V_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2671	T366V_K392E_K409F_T411D	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2672	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2673	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2674	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2675	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2676	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2677	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2678	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2679	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2680	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2681	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407A
AZ2682	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407I
AZ2683	T366V_K392E_K409F_T411E	L351Y_D399K_S400S_Y407V
AZ2684	S354C_T366I_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2685	S354C_T366I_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2686	S354C_T366I_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2687	S354C_T366I_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2688	S354C_T366I_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2689	S354C_T366I_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2690	S354C_T366I_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2691	S354C_T366I_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2692	S354C_T366I_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2693	S354C_T366M_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2694	S354C_T366M_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2695	S354C_T366M_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2696	S354C_T366M_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2697	S354C_T366M_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2698	S354C_T366M_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2699	S354C_T366M_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2700	S354C_T366M_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2701	S354C_T366M_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2702	S354C_T366V_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2703	S354C_T366V_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2704	S354C_T366V_K392C_K409F_T411I	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2705	S354C_T366V_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2706	S354C_T366V_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2707	S354C_T366V_K392C_K409F_T411L	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2708	S354C_T366V_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407A
AZ2709	S354C_T366V_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407I
AZ2710	S354C_T366V_K392C_K409F_T411T	Y349C_L351Y_D399C_Y407V
AZ2711	Q362E_T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407A
AZ2712	Q362E_T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407I
AZ2713	Q362E_T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407V
AZ2714	Q362E_T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407A
AZ2715	Q362E_T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407I
AZ2716	Q362E_T366I_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407V
AZ2717	Q362E_T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407A
AZ2718	Q362E_T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407I
AZ2719	Q362E_T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407V
AZ2720	Q362E_T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407A
AZ2721	Q362E_T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407I
AZ2722	Q362E_T366M_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407V
AZ2723	Q362E_T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407A
AZ2724	Q362E_T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407I

도면38f

A22725	Q362E_T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371G_D399R_Y407V
A22726	Q362E_T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407A
A22727	Q362E_T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407I
A22728	Q362E_T366V_K392L_K409F_T411E	L351Y_G371S_D399R_Y407V
A22729	T366I_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
A22730	T366I_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
A22731	T366I_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
A22732	T366I_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
A22733	T366I_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
A22734	T366I_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
A22735	T366I_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
A22736	T366I_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
A22737	T366I_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
A22738	T366I_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
A22739	T366I_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
A22740	T366I_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
A22741	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
A22742	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
A22743	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
A22744	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
A22745	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
A22746	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
A22747	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
A22748	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
A22749	T366I_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
A22750	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
A22751	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
A22752	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
A22753	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
A22754	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
A22755	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
A22756	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
A22757	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
A22758	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
A22759	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
A22760	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
A22761	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
A22762	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
A22763	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
A22764	T366I_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
A22765	T366I_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
A22766	T366I_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
A22767	T366I_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
A22768	T366I_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
A22769	T366I_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
A22770	T366I_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
A22771	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
A22772	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
A22773	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
A22774	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
A22775	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
A22776	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
A22777	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
A22778	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
A22779	T366I_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
A22780	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
A22781	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
A22782	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V

도면38g

AZ2783	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2784	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2785	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2786	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2787	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2788	T366I_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2789	T366I_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2790	T366I_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2791	T366I_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2792	T366I_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2793	T366I_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2794	T366I_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2795	T366I_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2796	T366I_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2797	T366I_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2798	T366I_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2799	T366I_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2800	T366I_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2801	T366M_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2802	T366M_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2803	T366M_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2804	T366M_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2805	T366M_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2806	T366M_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2807	T366M_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2808	T366M_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2809	T366M_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2810	T366M_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2811	T366M_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2812	T366M_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2813	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2814	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2815	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2816	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2817	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2818	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2819	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2820	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2821	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2822	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2823	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2824	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2825	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2826	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2827	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2828	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2829	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2830	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2831	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2832	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2833	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2834	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2835	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2836	T366M_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2837	T366M_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2838	T366M_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2839	T366M_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2840	T366M_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A

도면38h

AZ2841	T366M_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2842	T366M_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2843	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2844	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2845	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2846	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2847	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2848	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2849	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2850	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2851	T366M_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2852	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2853	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2854	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2855	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2856	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2857	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2858	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2859	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2860	T366M_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2861	T366M_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2862	T366M_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2863	T366M_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2864	T366M_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2865	T366M_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2866	T366M_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2867	T366M_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2868	T366M_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2869	T366M_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2870	T366M_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2871	T366M_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2872	T366M_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2873	T366V_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2874	T366V_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2875	T366V_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2876	T366V_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2877	T366V_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2878	T366V_N390R_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2879	T366V_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2880	T366V_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2881	T366V_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2882	T366V_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2883	T366V_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2884	T366V_N390R_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2885	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2886	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2887	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2888	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2889	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2890	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2891	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2892	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2893	T366V_N390N_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2894	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2895	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2896	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2897	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2898	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I

도면38i

AZ2899	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2900	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2901	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2902	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2903	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2904	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2905	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2906	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2907	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2908	T366V_N390N_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2909	T366V_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2910	T366V_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2911	T366V_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2912	T366V_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2913	T366V_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2914	T366V_N390N_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2915	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2916	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2917	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2918	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2919	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2920	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2921	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2922	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2923	T366V_N390D_K392I_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2924	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407A
AZ2925	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407I
AZ2926	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400R_Y407V
AZ2927	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407A
AZ2928	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407I
AZ2929	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400K_Y407V
AZ2930	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407A
AZ2931	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407I
AZ2932	T366V_N390D_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400S_Y407V
AZ2933	T366V_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2934	T366V_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2935	T366V_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2936	T366V_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2937	T366V_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2938	T366V_N390K_K392L_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V
AZ2939	T366V_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407A
AZ2940	T366V_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407I
AZ2941	T366V_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400D_Y407V
AZ2942	T366V_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407A
AZ2943	T366V_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407I
AZ2944	T366V_N390K_K392K_K409F_T411E	L351Y_D399R_S400E_Y407V

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> ZYMEWORKS INC.

CABRERA, Eric

von KREUDENSTEIN, Thomas

DIXIT, Surjit

LARIO, Paula

POON, David

D'ANGELO, Igor

<120> Stable Heterodimeric Antibody Design with Mutations in the Fc Domain

<130> V84467W0

<150> US 61/410,746

<151> 2010-11-05

<150> US 61/425,375

<151> 2010-12-21

<150> US 61/439,341

<151> 2011-02-03

<150> US 61/475,614

<151> 2011-04-14

<150> US 61/491,846

<151> 2011-05-31

<150> US 61/497,861

<151> 2011-06-16

<160> 6

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 212

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

35 40 45

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

130 135 140
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 145 150 155 160
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 165 170 175

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 180 185 190
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 195 200 205
 Ser Pro Gly Lys
 210

<210> 2

<211> 317

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
 1 5 10 15
 Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp

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

85 90 95
 Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser
 100 105 110
 Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr
 115 120 125

Pro His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His
130 135 140
Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly
145 150 155 160
Lys Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln
165 170 175
Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly
180 185 190
Tyr Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro
195 200 205
Ser Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile Ile Val Ala Val Val Ile
210 215 220
Ala Thr Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala Val Val Ala Leu Ile Tyr
225 230 235 240
Cys Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Asn Ser Thr Asp Pro Val Lys Ala
245 250 255
Ala Gln Phe Glu Pro Pro Gly Arg Gln Met Ile Ala Ile Arg Lys Arg
260 265 270
Gln Leu Glu Glu Thr Asn Asn Asp Tyr Glu Thr Ala Asp Gly Gly Tyr
275 280 285
Met Thr Leu Asn Pro Arg Ala Pro Thr Asp Asp Asp Lys Asn Ile Tyr
290 295 300
Leu Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn Ser Asn Asn
305 310 315
<210> 3
<211> 310
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 3
Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr

20 25 30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp

65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln

85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr

100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val

115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu

130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu

145 150 155 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg

165 170 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly

180 185 190

Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Leu Tyr Ser Ser Lys

195 200 205

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

210 215 220

Ile Val Ala Val Val Thr Gly Ile Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala

225 230 235 240

Val Val Ala Leu Ile Tyr Cys Arg Lys Lys Arg Ile Ser Ala Leu Pro

245 250 255

Gly Tyr Pro Glu Cys Arg Glu Met Gly Glu Thr Leu Pro Glu Lys Pro

260 265 270
Ala Asn Pro Thr Asn Pro Asp Glu Ala Asp Lys Val Gly Ala Glu Asn

275 280 285
Thr Ile Thr Tyr Ser Leu Leu Met His Pro Asp Ala Leu Glu Glu Pro

290 295 300

Asp Asp Gln Asn Arg Ile

305 310

<210> 4

<211> 323

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr

20 25 30
Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp

65 70 75 80

Ser Ile Pro Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln

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

100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val

115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu

130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu

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

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

275 280 285
Thr Ala Asp Gly Gly Tyr Met Thr Leu Asn Pro Arg Ala Pro Thr Asp
290 295 300
Asp Asp Lys Asn Ile Tyr Leu Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn
305 310 315 320
Ser Asn Asn

<210> 5

<211> 254

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Val Ser Ala
1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45
Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
50 55 60
Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80
Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu
85 90 95
Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110
Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125
His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140
Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160
Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Phe
165 170 175
Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190
Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
195 200 205
Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220
Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp
225 230 235 240
Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys
245 250

<210> 6

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala

1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro

20 25 30

Gln Trp Tyr Ser Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln

35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu

50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr

65 70 75 80

Val Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu

85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln

100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys

115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln

180 185 190

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

195 200 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly

210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile

225 230