



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년08월27일

(11) 등록번호 10-2698737

(24) 등록일자 2024년08월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

G01N 33/86 (2006.01) C07K 16/36 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01) G01N 33/58 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

(52) CPC특허분류

G01N 33/86 (2013.01)

C07K 16/36 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2018-7014261

(22) 출원일자(국제) 2016년10월19일

심사청구일자 2021년10월18일

(85) 번역문제출일자 2018년05월18일

(65) 공개번호 10-2018-0093897

(43) 공개일자 2018년08월22일

(86) 국제출원번호 PCT/US2016/057640

(87) 국제공개번호 WO 2017/070170

국제공개일자 2017년04월27일

(30) 우선권주장

62/243,505 2015년10월19일 미국(US)

62/335,311 2016년05월12일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

WO2014113712 A1*

WO2015061183 A1

WO2015061182 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

다케다 파머수티컬 컴패니 리미티드

일본 오사카시 주오구 도쇼마찌 4 쯔메 1-1

(72) 발명자

섹스톤 다니엘 제이.

미국 매사추세츠주 02176 멜로즈 59 마빈 로드

파우셋 라이언

미국 매사추세츠주 02176 멜로즈 29 버치 힐 로드

코식 야나

미국 매사추세츠주 02474 알링턴 넘버2 112 워런

스트리트

(74) 대리인

양영준, 박보현

전체 청구항 수 : 총 29 항

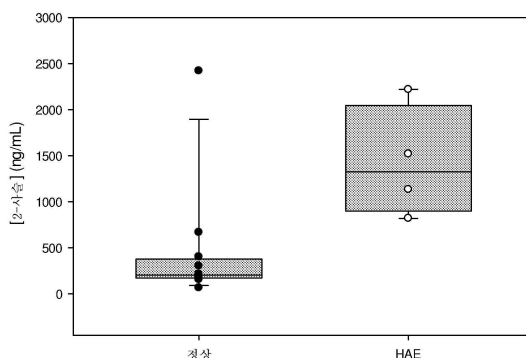
심사관 : 차명훈

(54) 발명의 명칭 절단된 고분자량 키노노겐의 검출을 위한 면역검정법

(57) 요약

본 개시내용은 높은 민감성 및 특이성으로 절단된 고분자량 키노노겐(HMWK)을 검출하기 위한 면역검정법 및 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

대표도 - 도9



(52) CPC특허분류

G01N 33/53 (2018.05)

G01N 33/58 (2020.05)

G01N 33/6854 (2013.01)

C07K 2317/70 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

절단된 고분자량 키니노겐(high molecular weight kininogen: HMWK)을 검출하기 위한 면역검정법(immunoassay)으로서,

- (i) 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 제1 물질이 부동화된(immobilized) 지지체 부재를 제공하는 단계;
- (ii) 상기 (i)의 지지체 부재를 절단된 HMWK를 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플과 접촉시키는 단계;
- (iii) 상기 (ii)에서 얻어진 지지체 부재를 HMWK에 결합하는 제2 물질과 접촉시키는 단계로서, 상기 제2 물질은 라벨에 접합된, 상기 지지체 부재를 제2 물질과 접촉시키는 단계; 및
- (iv) 상기 지지체 부재에 결합된 상기 제2 물질의 라벨로부터 방출된 신호를 직접적으로 또는 간접적으로 검출하여, 상기 생물학적 샘플에서의 상기 절단된 HMWK의 수치를 결정하는 단계를 포함하되,

상기 제1 물질은 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고, FSFYVMV의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 1 서열, GISPSGGNTAYADSVK의 중쇄 CDR2 서열 및 KLFYYDDTKGYFDF의 중쇄 CDR3 서열, 및 SGSSSNIGSNVYV의 경쇄 CDR1 서열, RNNQRPS의 경쇄 CDR2 서열 및 AWDDSLNGRV의 경쇄 CDR3 서열을 포함하는, 면역검정법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 4에 제시된 중쇄 가변 영역 서열 및 서열번호 5에 제시된 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는, 면역검정법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

- (a) 상기 지지체 부재는 96웰 플레이트이고;
- (b) 단계 (ii) 전에, 상기 (i)의 지지체 부재는 차단 완충제와 항온처리되고(incubated);
- (c) 상기 제2 물질은, HMWK에 결합하는, 다중클론 항체, 단일클론 항체, 또는 2가지 이상의 단일클론 항체의 혼합물이고;
- (d) 상기 라벨은 신호 방출 물질이고;
- (e) 상기 라벨은 수용체-리간드 쌍의 부재이고, 상기 면역검정법은, 단계 (iv) 전에, 상기 지지체 부재에 결합된 상기 (iii)에서의 제2 물질을 상기 수용체-리간드 쌍의 다른 부재와 접촉시키는 단계를 더 포함하되, 상기 다른 부재는 신호 방출 물질에 접합되고, 선택적으로 상기 수용체-리간드 쌍은 바이오틴 및 스트렙타비딘이고;
- (f) 단계 (ii)는 $ZnCl_2$ 의 존재 하에 수행되고;
- (g) 상기 생물학적 샘플은 인간 대상체로부터 얻어지고; 그리고/또는
- (h) 상기 면역검정법은 웨스턴 블롯 검정법, ELISA 검정법 또는 측면 유동 검정법인, 면역검정법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 생물학적 샘플은, 1종 이상의 프로테아제 저해제를 포함하는 배기된 채혈관에 수집된 혈액 샘플로부터 가공처리된, 혈청 샘플 또는 혈장 샘플인, 면역검정법.

청구항 5

제3항의 면역검정법을 포함하는, 인간 대상체의 질환이 혈장 칼리크레인(pKa1)에 의해 매개되는지 결정하는데

관련된 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 인간 대상체는 상기 질환을 가지며, 상기 면역검정법은 상기 질환이 단계 (iv)에서 결정된 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 pKa1에 의해 매개되는지를 결정하는 단계를 더 포함하되, 상기 생물학적 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치와 대조군 샘플의 것으로부터의 편차는 상기 질환이 pKa1에 의해 매개됨을 나타내는, 방법.

청구항 6

제3항의 면역검정법을 포함하는, 인간 대상체의 질환의 진단에 관련된 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 인간 대상체가 단계 (iv)에서 결정된 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 혈장 칼리크레인(pKa1)에 의해 매개되는 질환을 갖거나 이의 위험이 있는지를 결정하는 단계를 더 포함하되, 상기 대상체로부터의 생물학적 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치는 대조군 샘플의 절단된 HMWK의 수치로부터 편차가 있는 경우, 상기 대상체가 상기 질환을 갖거나 이의 위험이 있는 것으로 확인되는, 방법.

청구항 7

제3항의 면역검정법을 포함하는, 인간 대상체의 질환에 대한 치료 효능을 평가하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 인간 대상체는 상기 질환의 치료 중에 있고, 상기 방법은 단계 (iv)에서 결정된 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 상기 치료의 효능을 평가하는 단계를 더 포함하되, 상기 생물학적 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치와 대조군 샘플의 것으로부터의 편차는 상기 치료 효능을 나타내는, 방법.

청구항 8

제3항의 면역검정법을 포함하는, 대상체에 대한 적합한 치료를 확인하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 방법은 절단된 HMWK의 수준에 기초하여 상기 대상체에 적절한 치료를 확인하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 9

제3항의 면역검정법을 포함하는, 질환의 치료를 위한 후보로서 대상체를 확인하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 방법은 절단된 HMWK의 수준에 기초하여 질환의 치료를 위한 후보로서 상기 대상체를 확인하는 것을 추가로 포함하는, 방법.

청구항 10

제3항의 면역검정법을 포함하는, 대상체에서 질환 발작의 위험을 평가하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 대상체는 상기 질환의 병력이 있고, 상기 면역검정법은 절단된 HMWK의 수준에 기초하여 대상체에서 질환 발작의 위험을 평가하는 것을 추가로 포함하며, 여기서 대상체로부터의 생물학적 샘플에서의 절단된 HMWK의 수준과 대조군 샘플에서의 그것과의 편차는 질환 발작의 위험을 나타내는, 방법.

청구항 11

절단된 고분자량 키니노겐(HMWK)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 FSFYVMV의 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 1 서열, GISPSGGNTAYADSVK의 중쇄 CDR2 서열 및 KLFYYDDTKGYFDF의 중쇄 CDR3 서열, 및 SGSSNIGSNYYV의 경쇄 CDR1 서열, RNNQRPS의 경쇄 CDR2 서열 및 AWDDSLNGRV의 경쇄 CDR3 서열을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 12

제11항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 4에 제시된 중쇄 가변 영역 서열 및 서열번호 5에 제시된 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 13

절단된 고분자량 키니노겐(HMWK)을 검출하기 위한 키트로서,

절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 제1 물질을 포함하되, 상기 제1 물질은 제11항의 항체 또는 이의 항원 결합

단편인, 키트.

청구항 14

제13항에 있어서,

- (i) 상기 키트는 HMWK, 지지체 부재 또는 둘 다에 결합하는 제2 물질을 더 포함하고;
- (ii) 상기 지지체 부재는 96웰 플레이트이고; 그리고/또는
- (iii) 상기 키트는 상기 절단된 HMWK를 검출하기 위한 설명서를 더 포함하는, 키트.

청구항 15

온전한 고분자량 키니노겐(HMWK) 및 절단된 HMWK 둘 다에 결합하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 저분자량 키니노겐(low molecular weight kininogen: LMWK)에 결합하지 않고;

상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은,

- (i) 서열번호 6 및 7;
- (ii) 서열번호 8 및 9;
- (iii) 서열번호 10 및 11;
- (vi) 서열번호 12 및 13;
- (v) 서열번호 14 및 15;
- (vi) 서열번호 16 및 17;
- (vii) 서열번호 18 및 19;
- (viii) 서열번호 20 및 21;
- (ix) 서열번호 22 및 23;
- (x) 서열번호 24 및 25;
- (xi) 서열번호 26 및 27;
- (xii) 서열번호 28 및 29;
- (xiii) 서열번호 30 및 31; 또는
- (xiv) 서열번호 32 및 33

에 제시된, 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 1, 중쇄 CDR2 및 중쇄 CDR3, 및 경쇄 CDR1, 경쇄 CDR2 및 경쇄 CDR3 서열을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 16

제15항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은,

- (i) 서열번호 6 및 7;
- (ii) 서열번호 8 및 9;
- (iii) 서열번호 10 및 11;
- (vi) 서열번호 12 및 13;
- (v) 서열번호 14 및 15;
- (vi) 서열번호 16 및 17;

- (vii) 서열번호 18 및 19;
- (viii) 서열번호 20 및 21;
- (ix) 서열번호 22 및 23;
- (x) 서열번호 24 및 25;
- (xi) 서열번호 26 및 27;
- (xii) 서열번호 28 및 29;
- (xiii) 서열번호 30 및 31; 또는
- (xiv) 서열번호 32 및 33

에 제시된, 중쇄 가변 영역 서열 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 17

온전한 고분자량 키니노겐(HMWK) 및 절단된 HMWK 둘 다에 결합하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서,

상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 또한 저분자량 키니노겐(LMWK)에 결합하고;

상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은,

- (i) 서열번호 34 및 35;
- (ii) 서열번호 36 및 37;
- (iii) 서열번호 38 및 39;
- (vi) 서열번호 40 및 41;
- (v) 서열번호 42 및 43;
- (vi) 서열번호 44 및 45;
- (vii) 서열번호 46 및 47;
- (viii) 서열번호 48 및 49;
- (ix) 서열번호 50 및 51;
- (x) 서열번호 52 및 53;
- (xi) 서열번호 54 및 55;
- (xii) 서열번호 56 및 57;
- (xiii) 서열번호 58 및 59;
- (xiv) 서열번호 60 및 61;
- (xv) 서열번호 62 및 63;
- (xvi) 서열번호 64 및 65;
- (xvii) 서열번호 66 및 67; 또는
- (xviii) 서열번호 76 및 77

에 제시된, 중쇄 상보성 결정 영역(CDR) 1, 중쇄 CDR2 및 중쇄 CDR3, 및 경쇄 CDR1, 경쇄 CDR2 및 경쇄 CDR3 서열을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 18

제17항에 있어서, 상기 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편은,

- i) 서열번호 34 및 35;
- ii) 서열번호 36 및 37;
- iii) 서열번호 38 및 39;
- iv) 서열번호 40 및 41;
- v) 서열번호 42 및 43;
- vi) 서열번호 44 및 45;
- vii) 서열번호 46 및 47;
- viii) 서열번호 48 및 49;
- ix) 서열번호 50 및 51;
- x) 서열번호 52 및 53;
- xi) 서열번호 54 및 55;
- xii) 서열번호 56 및 57;
- xiii) 서열번호 58 및 59;
- xiv) 서열번호 60 및 61;
- xv) 서열번호 62 및 63;
- xvi) 서열번호 64 및 65;
- xvii) 서열번호 66 및 67; 또는
- xviii) 서열번호 76 및 77

에 제시된, 중쇄 가변 영역 서열 및 경쇄 가변 영역 서열을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 19

샘플에서 절단된 고분자 키니노겐(HMWK)을 검출하는 방법으로서,

- (i) 절단된 HMWK를 함유하는 것으로 의심되는 샘플을 제11항의 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 접촉시키는 단계;
- (ii) 상기 절단된 HMWK와 단계 (i)에서 형성된 항체의 복합체를 측정하는 단계; 및
- (iii) 단계 (ii)의 결과에 기초하여 상기 샘플에서의 상기 절단된 HMWK의 수치를 결정하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 20

제19항에 있어서,

- (a) 상기 샘플은 대상체로부터 얻어진 생물학적 샘플이고;
- (b) 상기 생물학적 샘플은 혈청 샘플 또는 혈장 샘플이고;
- (c) 상기 대상체는 인간 환자이고;
- (d) 상기 방법은 효소 연결 면역흡착 검정법(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA), 면역블로팅 검정법 또는 측면 유동 검정법을 이용하여 수행되고; 그리고/또는
- (e) 단계 (i)은 $ZnCl_2$ 의 존재 하에 수행되는, 방법.

청구항 21

제20항에 있어서, 1종 이상의 프로테아제 저해제를 포함하는 배기된 채혈관에 상기 생물학적 샘플을 수집하는

단계를 더 포함하는, 방법.

청구항 22

제19항의 방법을 포함하는, 대상체의 질환이 혈장 칼리크레인(pKal)에 의해 매개되는지 결정하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 대상체는 질환을 갖고, 상기 방법은 상기 질환이 단계 (iii)에서 결정된 절단된 HMWK의 수준에 기초하여 혈장 칼리크레인(pKal)에 의해 매개되는지를 결정하는 단계를 더 포함하되, 상기 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치와 대조군 샘플에서의 그것과의 편차는 상기 질환이 pKal에 의해 매개됨을 나타내는, 방법.

청구항 23

제19항의 방법을 포함하는, pKal에 의해 매개되는 질환을 갖거나 이의 위험이 있는 것으로 대상체를 진단하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 방법은 단계 (iii)에서 결정된 절단된 HMWK의 수준에 기초하여 상기 대상체가 상기 질환을 갖거나 이의 위험이 있는 것으로 결정하는 단계를 추가로 포함하되, 여기서 상기 대상체로부터의 샘플의 절단된 HMWK의 수준과 대조군 샘플의 절단된 HMWK 수준이 편차가 있는 경우, 상기 대상체는 상기 질환을 갖거나 이의 위험이 있는 것으로 확인되는, 방법.

청구항 24

제19항의 방법을 포함하는, 대상체의 질환에 대한 치료 효능을 평가하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서,

상기 대상체는 상기 질환의 치료 중에 있는 인간 환자이고, 상기 방법은 단계 (iii)에서 결정된 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 상기 치료의 효능을 평가하는 단계를 더 포함하되, 상기 대상체로부터의 샘플에서 절단된 HMWK의 수준과 대조군 샘플의 그것과의 편차는 치료 효능을 나타내는, 방법.

청구항 25

제19항의 방법을 포함하는, 대상체에 대한 적절한 치료를 확인하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 방법은 절단된 HMWK의 수준에 기초하여 상기 대상체에 대한 적절한 치료를 확인하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 26

제19항의 방법을 포함하는, 대상체를 질환의 치료 후보로 확인하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 방법은 절단된 HMWK의 수준에 기초하여 상기 대상체를 질환의 치료를 위한 후보로 확인하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 27

제19항의 방법을 포함하는, 대상체에서 질환 발작의 위험을 평가하는데 관련된 정보를 제공하는 방법으로서, 상기 대상체는 pKal에 의해 매개되는 질환의 병력이 있는 인간 환자이고, 상기 방법은 절단된 HMWK의 수준에 기초하여 대상체에서 질환 발작의 위험을 평가하는 것을 추가로 포함하며, 여기서 대상체로부터의 생물학적 샘플에서의 절단된 HMWK의 수준과 대조군 샘플의 그것과의 편차는 질환 발작의 위험을 나타내는, 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 질환은 유전성 혈관부종(HAE)인, 방법.

청구항 29

제5항에 있어서, 상기 질환은 유전성 혈관부종(HAE)인, 방법.

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 35 U.S.C. § 119(e) 하에 2015년 10월 19일자로 출원된 미국 가출원 제62/243,505호 및 2016년 5월 12일자로 출원된 미국 가출원 제62/335,311호(이의 각각의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)의 이익을 주장한다.

배경 기술

[0003] 키니노젠은 키닌, 예컨대 브래디키닌 및 칼리딘의 전구체이다. 스플라이싱 변이체인 고분자량 키니노젠(high molecular-weight kininogen: HMWK) 및 저분자량 키니노젠(low molecular-weight kininogen: LMWK)의 2개의 유형의 인간 키니노젠이 존재한다. HMWK는 응고 및 염증에서 주로 보인자로서 작용하고, 혈장 칼리크레인(pKal) 매개된 브래디키닌 생성에 대한 바람직한 기질이다.

[0004] 혈장 칼리크레인(pKal)은 응고에서 주요 브래디키닌 생성 효소이다. pKal의 활성화는 유전성 혈관부종(hereditary angioedema: HAE)과 연관된 질환 병리학과 연관된 접촉 시스템을 통해 발생한다. pKal은 HMWK(단쇄 폴리펩타이드)를 절단하여 브래디키닌 및 절단된 형태 HMWK(다이설파이드 결합에 의해 함께 연결된 2개의 폴리펩타이드 사슬을 함유)를 생성시킨다[Cugno et al., Blood (1997) 89:3213-3218].

[0005] 절단된 HMWK는 유전성 혈관부종(HAE) 발작 동안 전체 키니노젠의 약 47%로 증가하였다. 문헌[Cugno et al., Blood (1997) 89:3213-3218], 이것을 HAE 발작을 모니터링하기 위한 바이오마커로 만든다. 따라서, 생물학적 샘플에서 절단된 HMWK의 수치를 검출하기 위한 민감하고 신뢰성 있는 검정을 개발하는 것이 관심 있다.

발명의 내용

[0006] 본 개시내용의 몇몇 양태는 높은 민감성 및 특이성으로 절단된 고분자량 키니노젠(HMWK)을 검출하기 위한 면역검정법을 제공한다. 상기 방법은 (i) 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 제1 물질(예를 들어, 항체, 예컨대 559B-M004-B04)이 부착된 지지체 부재를 제공하는 단계; (ii) (i)의 지지체 부재를 절단된 HMWK를 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플과 접촉시키는 단계; (iii) (ii)에서 얻은 지지체 부재를 HMWK에 결합하는 제2 물질과 접촉시키는 단계(여기서, 제2 물질은 라벨에 접합됨); 및 (iv) 직접적으로 또는 간접적으로 지지체 부재에 결합된 제2 물질의 라벨로부터 방출된 신호를 검출하여서, 생물학적 샘플에서 절단된 HMWK의 수치를 결정하는 단계를 포함한다. 몇몇 경우에, 단계 (ii)는 $ZnCl_2$ 의 존재 하에 수행될 수 있다.

[0007] 몇몇 실시형태에서, 단계 (ii) 전에, (i)의 지지체 부재는 차단 완충제와 항온처리된다.

[0008] 몇몇 실시형태에서, 제2 물질은 HMWK에 결합하는 다중클론 항체, 단일클론 항체, 또는 2개 이상의 단일클론 항체의 혼합물이다. 혼합물에서의 2개 이상의 단일클론 항체는 HMWK에서 상이한 에피토프에 결합할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 라벨은 신호 방출 물질이다. 몇몇 실시형태에서, 라벨은 수용체-리간드 쌍의 부재이다. 그 경우에, 면역검정법은, 단계 (iv) 전에, 지지체 부재에서 부동화된 (iii)에서의 제2 물질을 수용체-리간드 쌍의 다른 부재와 접촉시키는 단계(여기서, 다른 부재는 신호 방출 물질에 접합됨)를 더 포함할 수 있다. 일 예에서, 수용체-리간드 쌍은 바이오틴 및 스트렙타비딘이다.

[0009] 본 개시내용의 또 다른 양태는 샘플에서 절단된 고분자 키니노젠(HMWK)을 검출하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 (i) 절단된 HMWK를 함유하는 것으로 의심되는 샘플을 본 명세서에 기재된 임의의 항체(예를 들어, 559B-M004-B04)와 접촉시키는 단계; (ii) 절단된 HMWK 및 단계(i)에서 형성된 항체의 복합체를 측정하는 단계; 및 (iii) 단계 (ii)의 결과에 기초하여 샘플에서 절단된 HMWK의 수치를 결정하는 단계를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 단계 (i)는 $ZnCl_2$ 의 존재 하에 수행된다. 몇몇 실시형태에서, 단계 (i)는 효소 연결 면역흡착 검정(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA) 또는 면역블로팅 검정을 이용하여 수행된다.

[0010] 본 명세서에 기재된 임의의 방법에서, 샘플은 대상체(예를 들어, 인간 환자)로부터 얻은 생물학적 샘플, 예컨대

혈장 샘플의 혈청 샘플일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 1종 이상의 프로테아제 저해제를 포함하는 배기된 채혈관으로 샘플을 수집하는 단계를 더 포함한다.

- [0011] 본 명세서에 기재된 임의의 검정 방법(예를 들어, 면역검정법)은 ELISA 검정법, 웨스턴 블롯 검정법 또는 측면 유동 검정법일 수 있다.
- [0012] 몇몇 실시형태에서, 생물학적 샘플은 질환을 갖는 대상체(예를 들어, 인간 환자)로부터 얻어진다. 검정 방법은 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 질환이 혈장 칼리크레인에 의해 매개되는지를 결정하는 단계(여기서, 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치, 대조군 샘플의 것으로부터의, 편차는 질환이 혈장 칼리크레인에 의해 매개된다는 것을 나타냄)를 더 포함할 수 있다.
- [0013] 본 명세서에 기재된 임의의 검정 방법은 혈장 칼리크레인에 의해 매개되는 질환 또는 장애를 갖는 환자를 확인하는 단계, 또는 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 질환 또는 장애의 치료의 효능을 평가하는 단계를 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은, 대상체가 장애를 갖는 것으로 확인된 경우, 장애를 치료하기 위한 유효량의 치료제, 예컨대 혈장 칼리크레인(pKa1) 저해제, 브래디키닌 2 수용체(B2R) 저해제, 및/또는 C1 에스테라제 저해제를 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, pKa1 저해제는 항-pKa1 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 치료제는 라나텔루맙, 에칼란타이드, 이카티반트, 또는 인간 혈장 유래 C1 에스테라제 저해제이다.
- [0014] 몇몇 실시형태에서, 대상체는 장애에 대한 치료 중에 있는 인간 환자이고, 상기 방법은 단계 (iii)에서 결정된 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 치료의 효능을 평가하는 단계(여기서, 대상체로부터의 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치, 대조군 샘플의 것으로부터의, 편차는 치료 효능을 나타냄)를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 대상체에 대한 적합한 치료를 확인하는 단계를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 질환의 치료에 대한 후보로서 대상체를 확인하는 단계를 더 포함한다.
- [0015] 몇몇 실시형태에서, 인간 환자는 질환(예를 들어, HAE)의 병력을 가진다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 절단된 HMWK의 수치를 기준으로 대상체에서의 질환 발작의 위험을 평가하는 단계(여기서, 대상체로부터의 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치, 대조군 샘플의 것으로부터의, 편차는 질환 발작의 위험을 나타냄)를 더 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은, 대상체가 질환 발작의 위험에 있는 경우, 치료제를 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함한다.
- [0016] 또 다른 양태에서, 절단된 고분자량 키니노젠(HMWK)을 검출하기 위한 키트가 제공되고, 키트는 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 제1 물질(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 항체)을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 키트는 HMWK, 지지체 부재, 또는 둘 다에 결합하는 제2 물질 및 임의로 절단된 HMWK를 검출하기 위한 설명서를 더 포함한다. 몇몇 예에서, 지지체 부재는 96웰 플레이트이다.
- [0017] 본 개시내용의 또 다른 양태에서, 절단된 고분자량 키니노젠(HMWK)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체가 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 559B-M004-B04와 동일한 에피토프에 결합하거나, 절단된 HMWK에 대한 결합에 대해 559B-M004-B04에 대항하여 경쟁한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 559B-M004-B04와 동일한 중쇄 및 경쇄 상보성 결정 영역, 예를 들어 559B-M004-B04와 동일한 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일 예에서, 항체는 559B-M004-B04이다.
- [0018] 샘플에서 절단된 고분자 키니노젠(HMWK)을 검출하기 위한 방법에서 본 명세서에 기재된 바와 같은 절단된 HMWK에 특이적인 임의의 항체를 사용할 수 있다. 이러한 방법은 (i) 절단된 HMWK를 함유하는 것으로 의심되는 샘플을 항체와 접촉시키는 단계; (ii) 절단된 HMWK 및 단계 (i)에서 형성된 항체의 복합체를 측정하는 단계; 및 (iii) 단계 (ii)의 결과에 기초하여 샘플에서 절단된 HMWK의 수치를 결정하는 단계를 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 샘플은 생물학적 샘플, 예컨대 인간 대상체로부터 얻은 혈청 샘플 또는 혈장 샘플이다. 이 방법으로부터 얻은 결과는 혈장 칼리크레인에 의해 매개되는 장애, 예컨대 HAE를 발생시키는 것에 대해 샘플이 얻어진 대상체의 위험을 결정하는 것에 의존할 수 있다. 몇몇 경우에, 단계 (i)는 $ZnCl_2$ 의 존재 하에 수행될 수 있다.
- [0019] 본 명세서에 기재된 임의의 면역검정법은 웨스턴 블롯 포맷 또는 ELISA 포맷일 수 있다.
- [0020] 훨씬 또 다른 양태에서, 온전한 고분자량 키니노젠(HMWK) 및 절단된 HMWK 둘 다에 결합하는 단리된 항체가 제공된다.
- [0021] 몇몇 실시형태에서, 온전한 및 절단된 HMWK 둘 다에 결합하는 항체는 저분자량 키니노젠(LMWK)에 결합하지 않는

다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 559B-M0067-E02, 559B-M0039-G07, 559B-M0044-E09, 559B-M0003-C08, 559B-M0039-H06, 559B-M0039-D08, 559B-M0068-C07, 559B-M0021-G11, 559B-M0061-G06, 559B-M0036-G12, 559B-M0042-E06, 559B-M0070-H10, 559B-M0068-D01 또는 559B-M0004-E08과 동일한 에피토프에 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 온전한 HMWK 및/또는 절단된 HMWK에 대한 결합에 대해 559B-M0067-E02, 559B-M0039-G07, 559B-M0044-E09, 559B-M0003-C08, 559B-M0039-H06, 559B-M0039-D08, 559B-M0068-C07, 559B-M0021-G11, 559B-M0061-G06, 559B-M0036-G12, 559B-M0042-E06, 559B-M0070-H10, 559B-M0068-D01 또는 559B-M0004-E08에 대항하여 경쟁한다.

[0022] 몇몇 실시형태에서, 항체는 559B-M0067-E02, 559B-M0039-G07, 559B-M0044-E09, 559B-M0003-C08, 559B-M0039-H06, 559B-M0039-D08, 559B-M0068-C07, 559B-M0021-G11, 559B-M0061-G06, 559B-M0036-G12, 559B-M0042-E06, 559B-M0070-H10, 559B-M0068-D01 또는 559B-M0004-E08과 동일한 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다. 몇몇 예에서, 항체는 559B-M0067-E02, 559B-M0039-G07, 559B-M0044-E09, 559B-M0003-C08, 559B-M0039-H06, 559B-M0039-D08, 559B-M0068-C07, 559B-M0021-G11, 559B-M0061-G06, 559B-M0036-G12, 559B-M0042-E06, 559B-M0070-H10, 559B-M0068-D01 및 559B-M0004-E08로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0023] 다른 실시형태에서, 온전한 HMWK 및 절단된 HMWK 둘 다에 결합하는 항체는 또한 LMWK에 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 559B-M0069-C09, 559B-M0038-F04, 559B-M0044-C05, 559B-M0047-H01, 559B-M0019-E12, 559B-X0004-B05, 559B-M0048-D12, 559B-M0053-G01, 559B-M0038-H03, 559B-M0017-H08, 559B-M0035-F05, 559B-M0035-H09, 559B-M0043-C06, 559B-M0003-A08, 559B-M0054-B11, 559B-M0067-G11, 559B-M0064-H02 또는 559B-M0065-B10과 동일한 에피토프에 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 온전한 HMWK, 절단된 HMWK, 및/또는 LMWK에 대한 결합에 대해 559B-M0069-C09, 559B-M0038-F04, 559B-M0044-C05, 559B-M0047-H01, 559B-M0019-E12, 559B-X0004-B05, 559B-M0048-D12, 559B-M0053-G01, 559B-M0038-H03, 559B-M0017-H08, 559B-M0035-F05, 559B-M0035-H09, 559B-M0043-C06, 559B-M0003-A08, 559B-M0054-B11, 559B-M0067-G11, 559B-M0064-H02 또는 559B-M0065-B10에 대항하여 경쟁한다.

[0024] 몇몇 실시형태에서, 항체는 559B-M0069-C09, 559B-M0038-F04, 559B-M0044-C05, 559B-M0047-H01, 559B-M0019-E12, 559B-X0004-B05, 559B-M0048-D12, 559B-M0053-G01, 559B-M0038-H03, 559B-M0017-H08, 559B-M0035-F05, 559B-M0035-H09, 559B-M0043-C06, 559B-M0003-A08, 559B-M0054-B11, 559B-M0067-G11, 559B-M0064-H02 또는 559B-M0065-B10과 동일한 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다. 몇몇 예에서, 항체는 559B-M0069-C09, 559B-M0038-F04, 559B-M0044-C05, 559B-M0047-H01, 559B-M0019-E12, 559B-X0004-B05, 559B-M0048-D12, 559B-M0053-G01, 559B-M0038-H03, 559B-M0017-H08, 559B-M0035-F05, 559B-M0035-H09, 559B-M0043-C06, 559B-M0003-A08, 559B-M0054-B11, 559B-M0067-G11, 559B-M0064-H02 및 559B-M0065-B10으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0025] 본 개시내용의 하나 이상의 실시형태의 상세내용이 하기 설명에 기재되어 있다. 본 개시내용의 다른 특징 또는 이점은 하기 도면 및 몇몇 실시형태의 상세한 설명, 및 또한 첨부된 청구범위로부터 명확할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0026] 하기 도면은 본 명세서의 부분을 형성하고, 본 개시내용의 소정의 양태를 추가로 나타내도록 포함되고, 본 개시내용은 본 명세서에 제시된 구체적인 실시형태의 상세한 설명과 조합되어 이들 도면 중 하나 이상을 참조하여 더 잘 이해될 수 있다.

도 1은 표시된 ELISA 조건 하에 온전한 HMWK(어두운 회색 막대) 또는 절단된 HMWK(밝은 회색 막대)에 대한 559B-M0004-B04의 결합을 보여주는 그래프이다.

도 2는 온전한 1-사슬(온전한) HMWK, 2-사슬(절단된) HMWK 또는 LMWK에 대한 다양한 Fab 클론의 결합을 보여주는 그래프를 제시한다. a: 본 명세서에 기재된 파지 디스플레이 스크리닝 방법을 이용하여 확인된 Fab 클론. 온전한 HMWK는 어두운 회색 막대로 도시되고, 절단된 HMWK는 밝은 회색 막대로 도시되고, LMWK는 중간 회색 막대로 도시된다. b: 몇몇 예시적인 Fab 클론에 대한 결합. LMWK는 어두운 회색 막대로 도시되고, 온전한 HMWK는 밝은 회색 막대로 도시되고, 절단된 HMWK는 중간 회색 막대로 도시된다.

도 3은 온전한 HMWK, 절단된 HMWK 또는 LMWK를 향한 559B-M0004-B04의 특이성을 보여주는 그래프이다. 정제된 절단된 HMWK를 SBT 검정 완충제(원형) 또는 HMWK 결핍 혈장(사각형)으로 스파이킹하였다. 정제된 온전한 HMWK를 SBT 검정 완충제(삼각형)로 스파이킹하였다. 정제된 LMWK를 SBT 검정 완충제(다이아몬드)로 스파이킹하였다. y 축은 흡광 단위의 ELISA 신호를 제시하고, x 축은 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 단위의 키니노겐의 농도를 제시한다.

도 4는 혈장 또는 검정 완충제 중의 2-사슬 HMWK(절단된 HMWK)의 검출을 보여주는 그래프이다. 정제된 절단된 HMWK를 SBT 검정 완충제(칠하지 않은 원형), SBT 검정 완충제로 스파이킹하고, 10% 혈장(사각형) 또는 HMWK 결핍 혈장의 존재 하에 분석하고, 10% 혈장(삼각형)의 존재 하에 분석하였다. 정제된 절단된 HMWK를 또한 검정 완충제로 스파이킹하고, 2.5% 혈장(다이아몬드) 또는 HMWK 결핍 혈장의 존재 하에 분석하고, 2.5% 혈장(칠한 원형)의 존재 하에 분석하였다. y축은 흡광 단위의 ELISA 신호를 제시하고, x축은 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 단위의 키니노겐의 농도를 제시한다.

도 5는 접촉 시스템 활성화 전 및 후의 표시된 인간 혈장 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치를 보여주는 그래프이다. a: FXIIa 또는 엘라그산에 의한 접촉 시스템 활성화 전 및 후. b: FXIIa, pKal 또는 엘라그산에 의한 접촉 시스템 활성화 전 및 후.

도 6은 엘라그산에 의한 접촉 시스템의 활성화 전 및 후의 12명의 정상 인간 공여자로부터의 혈장 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치를 보여주는 그래프이다.

도 7은 pKal 저해제에 의한 저해 후 절단된 HMWK의 수치를 보여주는 그래프를 제시한다. a: 엘라그산에 의한 접촉 시스템 활성화 전의 란다텔루맵/DX-2930 또는 C1-INH에 의한 저해. b: 10nM FXIIa에 의한 접촉 시스템 활성화 전의 란다텔루맵/DX-2930에 의한 혼주된 시트르산나트륨 혈장 샘플의 저해.

도 8은 FXIIa 또는 엘라그산에 의한 접촉 시스템 활성화 후의 표시된 시점에서의 절단된 HMWK 생성을 보여주는 그래프이다.

도 9는 정상 대상체 및 HAE를 갖는 대상체로부터의 혈장 샘플에서의 2-사슬 HMWK의 수치를 보여주는 그래프이다.

도 10은, 본 명세서에 기재된 2-사슬 HMWK ELISA 검정으로부터 얻은 결과와 일치하는, HMWK 웨스턴 블롯 분석으로부터 얻은 결과를 보여주는 사진이다. 인간 시트르화 혈장 샘플(정상 혈장, FXII 결핍 혈장 및 프리칼리크레인 결핍 혈장)을 마우스 단일클론 항-HMWK 경쇄 항체, 이어서 염소 항-마우스 검출 항체에 의해 프로빙하였다. 분석된 혈장 샘플을 비처리하거나, 100nM pKal, 10nM FXIIa 또는 10% 엘라그산에 의해 활성화하였다.

도 11은 시트르화 또는 EDTA 혈장 샘플에 대한 ZnCl_2 의 첨가가 ELISA 검정에서 2-사슬 HMWK의 신호를 증가시킨다는 것을 보여주는 그래프이다. x축은 40배 희석 후 검정 웰에서의 ZnCl_2 의 농도를 보여준다.

도 12는 본 명세서에 기재된 항체를 사용한 검정의 발견 및 개발의 도식을 제시한다. a: 2-사슬 HMWK 결합 항체를 발견하기 위해 이용된 파지 디스플레이 방법의 도식. b: 시트르화 혈장에서 2-사슬 HMWK를 포획하기 위해 2-사슬 HMWK 특이적 항체/Fab(예를 들어, 559B-M0004-B04)가 96웰 플레이트에서 부동화되고, 이어서 세척되고, 라벨에 접합된 항-HMWK 항체(항-HMWK-HRP)에 의해 검출된, 예시적인 샌드위치 ELISA 검정.

도 13은, 시트르화 혈장 샘플이 2-사슬 HMWK(10% 최종 희석)에 의해 스파이킹된, 2-사슬 HMWK 샌드위치 ELISA 표준 곡선으로부터의 결과를 보여주는 그래프이다.

도 14는 파지 디스플레이 선택 및 스크리닝에 의한 2-사슬 HMWK 특이적 항체의 확인을 보여준다. a: 시험된 각각의 항체(Fab)에 대해 x축에서의 2-사슬 HMWK 결합 검정 대 1-사슬 HMWK 결합 검정의 비와 비교하여 y축에서의 2-사슬 HMWK 결합 검정 대 LMWK 결합 검정의 결과의 비를 작도한다. 제조한 Fab 단편을 바이오티닐화 2-사슬 HMWK, 1-사슬 HMWK 또는 LMWK, 이어서 스트렙타비딘-HRP의 첨가 전에 384웰 플레이트로 수동으로 부동화하였다. b: 표시된 단리된 Fab 단편에 대한 1-사슬 HMWK, 2-사슬 HMWK 또는 LMWK에 대한 결합을 보여준다.

도 15는 559B-M0004-B04에 대한 결합에 대한 2-사슬 HMWK 및 키니노겐 펩타이드(HKH20 및 GCP28)의 경쟁을 보여주는 그래프이다.

도 16은 인간 혈장 샘플에서 2-사슬 HMWK의 검출을 위한 최적화된 샌드위치 ELISA에 대한 표준 곡선을 보여주는 그래프이다.

도 17은 건강한 대상체 및 HAE 환자로 부터의 시트르화 혈장 샘플에서 2-사슬 HMWK의 수치를 비교하는 웨스턴 블로팅 분석의 그래프를 제시한다. a: HAE 발작 사이에("기저") 및 HAE 발작 동안에("발작") 건강한 대상체("HV") 및 HAE 환자로 부터의 샘플에서 2-사슬 HMWK의 백분율을 비교하는 산란 선도. b: HAE 기저 샘플 대 건강한 대상체로부터의 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC(수신자 조작 특성: receiver operating characteristic) 분석($\text{AUC} = 0.977$). c: HAE 발작 샘플 대 건강한 대상체로부터의 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석($\text{AUC} = 1$). d: HAE 발작 샘플 대 HAE 기저 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성

을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.625).

도 18은 건강한 대상체 및 HAE 환자로부터의 SCAT169 혈장 샘플에서 2-사슬 HMWK의 수치를 비교하는 웨스턴 블로팅 분석의 그래프를 제시한다. a: HAE 발작 사이에("기저") 및 HAE 발작 동안에("발작") 건강한 대상체("HV") 및 HAE 환자로부터의 샘플에서 2-사슬 HMWK의 백분율을 비교하는 산란 선도. b: HAE 기저 샘플 대 건강한 대상체로부터의 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.915). c: HAE 발작 샘플 대 건강한 대상체로부터의 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.967). d: HAE 발작 샘플 대 HAE 기저 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.597).

도 19는 건강한 대상체 및 HAE 환자로부터의 시트르화 혈장 샘플에서 2-사슬 HMWK의 수치를 비교하는 ELISA 분석의 그래프를 제시한다. a: HAE 발작 사이에("기저") 및 HAE 발작 동안에("발작") 건강한 대상체("HV") 및 HAE 환자로부터의 샘플에서 2-사슬 HMWK의 백분율을 비교하는 산란 선도. b: HAE 기저 샘플 대 건강한 대상체로부터의 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.795). c: HAE 발작 샘플 대 건강한 대상체로부터의 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.866). d: HAE 발작 샘플 대 HAE 기저 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.709).

도 20은 건강한 대상체 및 HAE 환자로부터의 SCAT169 샘플에서 2-사슬 HMWK의 수치를 비교하는 ELISA 분석의 그래프를 제시한다. a: HAE 발작 사이에("기저") 및 HAE 발작 동안에("발작") 건강한 대상체("HV") 및 HAE 환자로부터의 샘플에서 2-사슬 HMWK의 백분율을 비교하는 산란 선도. b: HAE 기저 샘플 대 건강한 대상체로부터의 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.999). c: HAE 발작 샘플 대 건강한 대상체로부터의 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 1). d: HAE 발작 샘플 대 HAE 기저 샘플의 검출에 대한 감수성 및 특이성을 비교하는 ROC 분석(AUC = 0.8176).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0027] 혈장 칼리크레인(plasma kallikrein: pKa1)은 접착 시스템의 세린 프로테아제 성분이고, 순환에서 주요 브래디키닌 생성 효소이다. 접착 시스템은 프롤릴카복시펩티다제에 의해 내피 세포에서 또는 외래 또는 음으로 하전된 표면에 대한 노출 시 XIIa 인자(XII 인자 또는 FXII의 활성 형태)에 의해 활성화된다(Sainz I.M. et al., Thromb Haemost 98, 77-83, 2007). 혈장 칼리크레인의 활성화는 XII 인자의 이의 피드백 활성화를 통해 고유한 응고를 증폭시키고, 키니노젠 전구체, 고분자량 키니노젠(HMWK)을 단백질분해로 절단하여서, 전염증성 노나펩타이드 브래디키닌 및 절단된 HMWK(다이설파이드 결합에 의해 연결된 2개의 폴리펩타이드 사슬(2-사슬 HMWK로도 공지됨)을 함유)를 방출한다.
- [0028] 순환에서 주요 키니노게나제로서, 혈장 칼리크레인은 맥관구조에서 브래디키닌의 생성을 주로 담당한다. C1-저해제 단백질(C1-INH)의 유전적 결핍은 유전성 혈관부종(HAE)을 발생시킨다. HAE를 갖는 환자는 미지의 트리거에 의해 대개 촉발되는 고통스러운 부종의 급성 발작을 겪는다(Zuraw B.L. et al., N Engl J Med 359, 1027-1036, 2008). 동물 모델에서의 약물학적 물질의 사용 또는 유전적 연구를 통해, 혈장 칼리크레인-키닌 시스템(혈장 KKS)은 다양한 질환에 연루되었다.
- [0029] 절단된 HMWK의 수치는 HAE 발작, 및 다른 pKa1 연관 장애에서 상승하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 절단된 HMWK는 질환 발생 및/또는 치료 효능을 모니터링하기 위한 바이오마커로서 작용할 수 있다. 그러나, 당해 분야는 이의 절단된 버전으로부터 온전한 HMWK를 효과적으로 구별할 수 있는 적합한 물질 및/또는 적합한 검정이 부족하다.
- [0030] 본 개시내용은, 적어도 부분적으로, 높은 특이성 및 민감도로 절단된 HMWK의 검출을 허용하는 특정한 면역검정법의 개발에 기초한다. 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 물질이 지지체 부재(예를 들어, 다중웰 플레이트)에 부동화된 샌드위치 ELISA가, 항원(이 경우에, 절단된 HMWK)이 지지체 부재에 부동화된 ELISA의 세팅과 비교하여, 검출 효율을 예상치 못하게 증대시켰다는 것이 관찰되었다. 추가로, 소 혈청 알부민(BSA)을 함유하는 차단 완충제보다는 LowCross 차단 완충제(카제인 함유)를 사용하는 것이 절단된 HMWK에 특이적인 항체를 발견하기 위한 초기 스크리닝 동안 검출 특이성 및 민감도를 증대시켰다는 것이 예상치 못하게 관찰되었다. 더구나, 384웰 플레이트와 비교하여 96웰 플레이트를 사용할 때 검출 특이성 및 민감도가 추가로 증대되었다. 본 개시내용은 또한, 적어도 부분적으로, 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체의 단리에 기초한다.
- [0031] 따라서, 절단된 HMWK(예를 들어, 46kDa의 분자량을 갖는 절단된 HMWK)에 특이적으로 결합하는 물질(예를 들어, 항체)을 사용하여, HMWK 종을 함유하는 것으로 의심되는 생물학적 샘플에서 절단된 HMWK의 존재를 검출하거나 이의 수치를 측정하기 위한 면역검정법이 본 명세서에 제공된다. 절단된 HMWK의 수치와 pKa1과 연관되거나 이에

의해 매개되는 장애(예를 들어, HAE) 사이의 상관관계를 고려하면, 본 명세서에 기재된 면역검정법은 이러한 질환의 위험에 있는 환자를 확인하고/하거나, 질환 진행을 모니터링하고/하거나, 이러한 장애에 대한 치료의 효능을 모니터링하도록 적용될 수 있다.

[0032] **I. 절단된 HMWK의 특정한 검출에 대한 면역검정법**

[0033] 본 개시내용의 일 양태는 높은 민감성 및 특이성으로 절단된 HMWK를 검출하는 면역검정법에 관한 것이다. 이러한 면역검정법은 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 물질이 96웰 플레이트일 수 있는 지지체 부재에 부동화된 샌드위치 ELISA를 수반할 수 있다. 본 명세서에 기재된 면역검정법은, 온전한 HMWK 및 절단된 HMWK 둘 다, 및 LMWK를 함유할 수 있는, 생물학적 샘플, 예를 들어 혈청 샘플 또는 혈장 샘플에서의 절단된 HMWK의 선택적 검출을 허용한다.

[0034] (i) 고분자량 키니노젠

[0035] 고분자량 키니노젠(HMWK)은, 본 명세서에서 온전한 HMWK라 지칭되는, 대략 110kDa의 분자량을 갖는, 단일 폴리펩타이드(1-사슬) 다중 도메인(도메인 1-6) 단백질로서 혈장에 존재한다. HMWK를 코딩하는 인간 유전자는 키니노젠 1(KNG1)이다. KNG1은 전사되고 대안적으로 스플라이싱되어, HMWK 또는 저분자량 키니노젠(LMWK)을 코딩하는 mRNA를 형성한다. HMWK의 예시적인 단백질 서열은 하기 제공된다:

[0036] >gi|156231037|ref|NP_001095886.1| 키니노젠-1 아이소폼 1 전구체 [호모 사피엔스]

[0037] MKLITILFLCSRLLSLTQESQSEEDCNDKDLFKAVDAALKKYNSQNSQNNQFVLYRITTEATKTVGSDTFYSFKYEIKEGDCPVQSGKTWQDCEYKDAAKAATGECTATVGKRSSTKFSVATQTCQITPAEGPVVTAQYDCLGCVHPISTQSPDLEPILRHGIQYFNNNTQHSSLFMLNEVKRAQRQVVAGLNFRITYSIVQTNCSKENFLFLTPDCKSLWNGDTGECTDNAYIDILRIASFQNCDIYPGKDFVQPPTKICVGCPRDIPTNSPELEETLTHTITKLNAENNATFYFKIDNVKKARVQVVAGKKYFIDFVARETTCSKESNEELTESCETKKLGQSLDCNAEVYVVPWEKKIYPTVNCQPLGMISLMKRPFGSPFRSSRIGEIKEETTVSPHSTSMAPAQDEERDSGKEQGHTRRHDWGHEKQQRKHNHGHGKHHERDQGHGHRGHGLGHGHEQQHGLGHGKFKLDDLEHQGGHVL DHGKHKHKHGHGKHKNKGKKNKGHNKGWTEHLASSEDSTTPSAQTQEKTEGTPIPSLAKPGVTVTFSDFQSDLIATMMPPI SPAPIQSDDDWIPDIQIDPNGLSFNPI SDFPDTTSPKCPGRPWKSVSEINPTTQMKESYFDLTDGLS (서열 번호 1)

[0038] 본 명세서에서 "온전한 키니노젠"이라 또한 칭하는, 온전한 HMWK는 예를 들어 응고제 또는 면역학적 방법, 예를 들어 방사면역검정법을 이용하여 분석될 수 있다(예를 들어, 문헌[Kerbiriou-Nabias, D.M., Br J Haematol, 1984, 56(2):2734-86]을 참조한다). 인간 HMWK의 경쇄에 대한 단일클론 항체가 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Reddigari, S.R. & Kaplan, A.P., Blood, 1999, 74:695-702]을 참조한다. 발색 기질에 의존하는 HMWK에 대한 검정을 또한 이용할 수 있다. 예를 들어, 문헌[Scott, C.F. et al. Thromb Res, 1987, 48(6):685-700; Gallimore, M.J. et al. Thromb Res, 2004, 114(2):91-96]을 참조한다.

[0039] HMWK는, 9개의 아미노산, 전염증성 펩타이드 브래디키닌 및, 본 명세서에서 절단된 HMWK라 칭하는, HMWK의 2-사슬을 방출하도록, 도메인 4 내에 pKa1에 의해 절단된다. HMWK의 2 사슬은, 다이설파이드 결합에 의해 연결된, 도메인 1-3을 함유하는 중쇄 및 도메인 5 및 6을 함유하는 경쇄이다. 온전한 HMWK의 초기 절단 시, 중쇄 및 경쇄는 각각 대략 65kDa 및 56kDa의 분자량을 가진다. 추가의 단백질분해 가공처리는 46kDa 경쇄를 생성시킨다.

[0040] 절단된 키니노젠의 중쇄 및 경쇄의 예시적인 서열은 하기 제공된다.

[0041] > 절단된 키니노젠-1 중쇄

[0042] QESQSEEDCNDKDLFKAVDAALKKYNSQNSQNNQFVLYRITTEATKTVGSDTFYSFKYEIKEGDCPVQSGKTWQDCEYKDAAKAATGECTATVGKRSSTKFSVATQTCQITPAEGPVVTAQYDCLGCVHPISTQSPDLEPILRHGIQYFNNNTQHSSLFMLNEVKRAQRQVVAGLNFRITYSIVQTNCSKENFLFLTPDCKSLWNGDTGECTDNAYIDILRIASFQNCDIYPGKDFVQPPTKICVGCPRDIPTNSPELEETLTHTITKLNAENNATFYFKIDNVKKARVQVVAGKKYFIDFVARETTCSKESNEELTESCETKKLGQSLDCNAEVYVVPWEKKIYPTVNCQPLGMISLMK (서열 번호 2)

[0043] > 절단된 키니노젠-1 경쇄

[0044] SSRIGEIKEETTVSPHSTSMAPAQDEERDSGKEQGHTRRHDWGHEKQQRKHNHGHGKHHERDQGHGHRGHGLGHGHEQQHGLGHGKFKLDDLEHQGGHVL DHGKHKHKHGHGKHKNKGKKNKGHNKGWTEHLASSEDSTTPSAQTQEKTEGTPIPSLAKPGVTVTFSDFQSDLIATMMPPI SPAPIQSDDDWIPDIQIDPNGLSFNPI SDFPDTTSPKCPGRPWKSVSEINPTTQMKESYFDLTDGLS (서열 번호 3)

[0045] (ii) 절단된 HMWK에 특이적인 항체

[0046] 본 명세서에 기재된 면역검정법은 절단된 HMWK에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 물질, 예를 들어 온전한

HMWK에 존재하지 않는 절단된 HMWK에서 네오에피토프를 인식하는 물질을 사용할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 절단된 HMWK 결합 물질은 항체이다.

[0047] 항체(복수 형태와 상호 호환되게 사용됨)는 면역글로불린 분자의 가변 영역에 위치한 적어도 하나의 항원 인식 부위를 통해 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 폴리펩타이드 등과 같은 표적에 특이적 결합을 할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, 용어 "항체"는 온전한(즉, 전장) 다중클론 또는 단일클론 항체뿐만 아니라, 이의 항원 결합 단편(예컨대, Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), 단일 사슬(scFv), 이의 돌연변이체, 항체 부분, 인간화된 항체, 키메라 항체, 다이아바디, 선형 항체, 단쇄 항체, 다중특이적 항체(예를 들어, 이중특이적 항체)를 포함하는 융합 단백질, 및 필요한 특이성의 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 구성, 예를 들어 항체의 글라이코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체 및 공유로 변형된 항체를 포괄한다. 항체는 IgD, IgE, IgG, IgA 또는 IgM(또는 이의 하위종류)과 같은 임의의 종류의 항체를 포함하고, 항체는 임의의 특정한 종류일 필요는 없다. 이의 중쇄의 불변 도메인의 항체 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 종류로 배정될 수 있다. IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM의 면역글로불린의 5개의 주요 종류가 있고, 이들 중 몇몇은 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2와 같은 하위종류(아이스타입)로 추가로 분할될 수 있다. 면역글로불린의 상이한 종류에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤라 불린다. 면역글로불린의 상이한 종류의 아단위 구조 및 3차원 구성은 널리 공지되어 있다.

[0048] 본 명세서에 기재된 임의의 항체는 단일클론 또는 다중클론일 수 있다. "단일클론 항체"는 균질한 항체 집단을 의미하고, "다중클론 항체"는 불균질한 항체 집단을 의미한다. 이 2개의 용어는 항체의 공급원 또는 이것이 만들어진 방식에 제한하지 않는다.

[0049] 절단된 HMWK 또는 이의 에피토프에 "특이적으로 결합하는" 항체는 당해 분야에 널리 공지된 용어이고, 이러한 특이적 결합을 결정하는 방법은 당해 분야에 또한 널리 공지되어 있다. 분자가 대안적인 표적(예를 들어, 온전한 HMWK 및/또는 LMWK)과 하는 것보다 특정한 표적 항원(여기서 절단된 HMWK)과, 더 빈번히, 더 신속히, 더 긴 기간에 의해 및/또는 더 높은 친화도로, 반응하거나 회합하는 경우, 그 분자는 "특이적 결합"을 나타낸다고 말해진다. 항체가 다른 물질에 결합하는 것보다, 더 높은 친화도, 결합도로, 더 신속히 및/또는 더 긴 기간에 의해 결합하는 경우, 그 항체는 표적 항원에 "특이적으로 결합한다". 예를 들어, 절단된 HMWK 또는 이 내부의 에피토프에 특이적으로(또는 우선적으로) 결합하는 항체는, 이것이 다른 항원(예를 들어, 온전한 HMWK 또는 LMWK) 또는 동일한 항원에서의 다른 에피토프에 결합하는 것보다, 더 높은 친화도, 결합도로, 더 신속히 및/또는 더 긴 기간에 의해, 이 표적 항원에 결합하는 항체이다. 이 정의를 읽어서, 예를 들어 제1 표적 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 제2 표적 항원에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하거나 결합하지 않을 수 있는 것으로 또한 이해된다. 그러므로, "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 배타적 결합을 (포함할 수 있더라도) 반드시 요하지는 않는다. 반드시, 하지만, 일반적으로, 결합의 언급은 우선적 결합을 의미한다.

[0050] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체(및 절단된 LMWK 및 온전한 LMWK 둘 다, 및 임의로 LMWK에 결합하는 다른 항체)는 절단된 HMWK(또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 또 다른 표적 항원)에 대한 적합한 결합 친화도를 가진다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, "결합 친화도"는 겔보기 결합 상수 또는 K_A를 의미한다. K_A는 해리 상수(K_D)의 역수이다. 본 명세서에 기재된 항체는 적어도 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹, 10⁻¹⁰M의, 또는 이것보다 낮은 결합 친화도(K_D)를 가질 수 있다. 결합 친화도의 증가는 K_D의 감소에 상응한다. 제2 표적에 비해 제1 표적에 대한 항체의 더 높은 친화도 결합은 제2 표적의 결합에 대한 K_A(또는 숫자 값 K_D)보다 제1 표적의 결합에 대한 더 높은 K_A(또는 더 작은 숫자 값 K_D)로 표시될 수 있다. 이러한 경우에, 항체는 제2 표적(예를 들어, 제2 입체구성에서의 동일한 단백질 또는 이의 모방체; 또는 제2 단백질)에 비해 제1 표적(예를 들어, 제1 입체구성에서의 단백질 또는 이의 모방체)에 대한 특이성을 가진다. (예를 들어, 특이성 또는 다른 비교에 대한) 결합 친화도의 차이는 적어도 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 10배, 15배, 20배, 37.5배, 50배, 70배, 80배, 91배, 100배, 500배, 1000배, 10,000배 또는 10⁵배일 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체의 결합 친화도는 온전한 HMWK 및/또는 LMWK에 대한 그 항체의 결합 친화도보다 10배, 100배, 10,000배 또는 10⁵배 높을 수 있다.

[0051] 결합 친화도는 평형 투석, 평형 결합, 겔 여과, ELISA, 표면 플라즈몬 공명 또는 (예를 들어, 형광 검정을 이용한) 분광법을 포함하는 다양한 방법에 의해 결정될 수 있다. 결합 친화도를 평가하기 위한 예시적인 조건은 HBS-P 완충제(10mM HEPES(pH 7.4), 150mM NaCl, 0.005% (v/v) 계면활성제 P20) 중에 있다. 이 기법은 표적 단

백질 농도의 함수로서 결합된 결합 단백질의 농도를 측정하도록 이용될 수 있다. 결합된 결합 단백질의 농도([결합된])는 유리 결합 단백질의 농도([유리]) 및 표적에서의 결합 단백질에 대한 결합 부위의 농도와 관련되고, 여기서 (N)은 하기 식에 의해 표적 분자마다의 결합 부위의 수이다:

$$[결합된] = [N][유리]/(K_d + [유리])$$

K_d 를 정확히 결정하는 것이 항상 필요한 것이 아니더라도, 이것이 때때로 예를 들어 ELISA 또는 FACS 분석과 같은 방법을 이용하여 결정된 친화도의 정량적 측정을 얻기에 충분하므로 K_d 에 비례하고, 따라서 친화도의 정성적 측정을 얻도록, 또는 시험관내 또는 생체내 검정과 같은 기능적 검정에서, 예를 들어 활성에 의해 친화도의 추론을 얻도록, 더 높은 친화도가 예를 들어 2배 더 높은지를 결정하는 것과 같은 비교에 이용될 수 있다.

몇몇 실시형태에서, 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체(또한 항-절단된 HMWK 항체라 칭함)는 559B-M004-B04와 절단된 HMWK의 동일한 에피토프에 결합한다. "에피토프"는 결합 단백질(예를 들어, 항체, 예컨대 Fab 또는 전장 항체)에 의해 결합된 표적 항원에서의 부위를 의미한다. 그 부위는 전부 아미노산 성분으로 이루어지거나, 전부 단백질의 아미노산의 화학 변형(예를 들어, 글라이코실 모이어티)으로 이루어지거나, 이들의 조합으로 이루어질 수 있다. 중첩 에피토프는 적어도 1개의 공통 아미노산 잔기, 글라이코실기, 포스페이트기, 설페이트기 또는 다른 분자 특징을 포함한다. 몇몇 경우에, 에피토프는 선형이고, 다른 경우에, 에피토프는 구성적이다.

제1 항체가 제2 항체가 결합하는 표적 항원에서 동일한 부위에 결합하거나, 제2 항원이 결합하는 부위와 중첩하는(예를 들어, 아미노산 서열 또는 다른 분자 특징(예를 들어, 글라이코실기, 포스페이트기 또는 설페이트기)의 면에서, 예를 들어 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 100% 중첩하는) 부위에 결합하는 경우, 제1 항체는 제2 항체와 "동일한 에피토프에 결합한다".

몇몇 실시형태에서, 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체는 HMWK에 대한 결합에 대해 559B-M004-B04에 대항하여 경쟁한다. 에피토프에 대한 제1 항체의 결합이 에피토프에 결합하는 제2 항체의 양을 (예를 들어, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 또는 이것 초과로) 감소시키는 경우, 제1 항체는 제2 항체와 "결합에 대해 경쟁한다". 상기 조성물은 직접적(예를 들어, 제1 항체는 제2 항체가 결합한 에피토프와 동일한, 또는 이것과 중첩하는 에피토프에 결합함), 또는 간접적(예를 들어, 에피토프에 대한 제1 항체의 결합은, 에피토프에 결합하는 제2 항체의 능력을 감소시키는, 표적 항원의 입체 변화를 발생시킴)일 수 있다.

몇몇 예에서, 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체는 559B-M004-B04의 상응하는 V_H CDR과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 V_H CDR1, V_H CDR2 및/또는 V_H CDR3을 포함하는 V_H 사슬을 포함한다. 대안적으로 또는 게다가, 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체는 559B-M004-B04의 상응하는 V_L CDR과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 V_L CDR1, V_L CDR2 및/또는 V_L CDR3을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체는 559B-M004-B04와 동일한 중쇄 및/또는 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)을 가진다.

"상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은, 항원에 특이성 및 결합 친화도를 부여하는, 항체 가변 영역 내의 아미노산의 비인접한 서열을 의미하는 것으로 당해 분야에 공지되어 있다. 일반적으로, 각각의 중쇄 가변 영역에 세 (3) 개의 CDR 및 각각의 경쇄 가변 영역에 세 (3) 개의 CDR이 존재한다. 소정의 CDR의 정확한 아미노산 서열 경계는 Kabat et al. (1991), 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (Kabat" 넘버링 계획), Al-Lazikani et al., (1997) JMB 273,927-948 (Chothia" 넘버링 계획), MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) (접촉 넘버링 계획), Lefranc M P et al., Dev Comp Immunol, 2003 January; 27(1):55-77 (IMGT 넘버링 계획), 및 Honegger A and Pluckthun A, J Mol Biol, 2001 Jun. 8; 309(3):657-70 (AHO 넘버링 계획)에 의해 기재된 것을 포함하는 임의의 수의 널리 공지된 계획을 이용하여 용이하게 결정될 수 있다.

소정의 CDR의 경계는 확인에 사용되는 계획에 따라 변할 수 있다. 예를 들어, Kabat 계획은 구조적 정렬에 기초하는 한편, Chothia 계획은 구조적 정보에 기초한다. 접촉 계획은 복잡한 결정 구조의 분석에 기초하고, Chothia 넘버링 계획과 관련한 많은 면에서 유사하다. 따라서, 달리 기재되지 않는 한, 소정의 항체의 용어 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 본 명세서에서 상기 기재된 임의의 공지된 계획에 의해 한정된 바대로 상보성 결정 영역을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다.

동일한 넘버링 체계에 의해 결정된 것처럼, 항체가 559B-M004-B04와 동일한 V_H 및/또는 V_L CDR(및 본 명세서에

개시된 다른 예시적인 항체)을 갖는 경우, 이러한 항체는 559B-M004-B04(또는 본 명세서에 개시된 다른 예시적인 항체)와 동일한 CDR을 갖는 것으로 생각되고, 본 개시내용의 범위 내에 있다. 예를 들어, 이러한 항체는 Chothia 넘버링 계획에 의해 결정된 바대로 클론 559B-M004-B04와 동일한 V_H 및/또는 V_L CDR을 가질 수 있다. 또 다른 예에서, 본 개시내용의 범위 내의 항-절단된 HMWK 항체는 Kabat 넘버링 계획에 의해 결정된 바대로 클론 559B-M004-B04와 동일한 V_H 및/또는 V_L CDR을 가질 수 있다.

[0061] 대안적으로 또는 게다가, 항-절단된 HMWK 항체는 559B-M004-B04의 V_H 사슬과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 V_H 사슬 및/또는 559B-M004-B04의 V_L 사슬과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 V_L 사슬을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 559B-M004-B04이다.

[0062] 2개의 아미노산 서열의 "퍼센트 동일성"은 문헌[Karlin and Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-77, 1993]에서와 같이 변형된 문헌[Karlin and Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-68, 1990]의 알고리즘을 이용하여 결정된다. 이러한 알고리즘은 문헌[Altschul, *et al. J. Mol. Biol.* 215:403-10, 1990]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램(버전 2.0)으로 도입된다. BLAST 단백질 검색은 XBLAST 프로그램, 점수=50, 단어길이=3으로 수행되어서, 관심 있는 단백질 분자와 상동성인 아미노산 서열을 얻을 수 있다. 2개의 서열 사이에 갭이 존재하는 경우, 문헌[Altschul *et al., Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402, 1997]에 기재된 바와 같은 Gapped BLAST를 이용할 수 있다. BLAST 및 Gapped BLAST 프로그램을 이용하는 경우, 각각의 프로그램(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터를 이용할 수 있다.

[0063] 559B-M004-B04의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 서열을 하기 표시된다. 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열 및 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 서열은 밑줄 표시되고 볼드체이다(예로서 하나의 계획에 의해 확인됨).

[0064] >559B-R0048-A01(559B-M0004-B04) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 4)

[0065] EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFT**FSFYVMV**WVRQAPGKLEWVS**GISPSGGNTAYADSVK**GRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC**ARKLFY**
YDDTKGYFDFWGQGLTVTVSS

[0066] >559B-R0048-A01(559B-M0004-B04) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 5)

[0067] QYELTQPPSASGTPGQRVTLSC**SGSSNIGSNYYVY**WYQQLPGTAPKLLI**RNNQRP**SGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCA**AWDDSLN**GRVFG
GGTKLTVL

[0068] 몇몇 경우에, 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체는 559B-M0004-B04에서의 중쇄 CDR 중 1개 이상 또는 경쇄 CDR 중 1개 이상, 예를 들어 잔기가 절단된 HMWK와 상호작용하는 것에 관여하지 않을 것 같은 위치에서 1개 이상(예를 들어, 5개 이하, 3개 이하 또는 1개 이하)의 보존적 돌연변이를 함유할 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, "보존적 아미노산 치환"은 아미노산 치환이 이루어진 단백질의 상대 전하 또는 크기 특징을 변경하지 않는 아미노산 치환을 의미한다. 변이체는 당해 분야의 숙련자에게 공지된 폴리펩타이드 서열을 변경하기 위한 방법에 따라 제조될 수 있고, 예컨대 이러한 방법을 편찬한 문헌, 예를 들어 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook, *et al.*, eds., Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989, 또는 Current Protocols in Molecular Biology, F.M. Ausubel, *et al.*, eds., John Wiley & Sons, Inc., New York]에서 발견된다. 아미노산의 보존적 치환은 하기 그룹 내의 아미노산 중에 이루어진 치환을 포함한다: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; 및 (g) E, D.

[0069] 본 명세서에 기재된 바와 같은 절단된 HMWK(및 온전한 HMWK 및/또는 LMWK에 결합할 수 있는 항체)에 결합할 수 있는 항체는 당해 분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Harlow and Lane, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, New York]을 참조한다.

[0070] 몇몇 실시형태에서, 표적 항원(절단된 HMWK, 온전한 HMWK, 및/또는 LMWK)에 특이적인 항체는 종래의 하이브리도마 기술에 의해 제조될 수 있다. KLH와 같은 운반 단백질에 임의로 커플링된 전장 표적 항원 또는 이의 단편은 그 항원에 결합하는 항체를 생성하기 위한 숙주 동물을 면역화하는데 사용될 수 있다. 숙주 동물의 면역화의 경로 및 스케줄은 본 명세서에 추가로 기재되는 바와 같이 일반적으로 항체 자극 및 제조를 위한 확립된 기법 및 종래의 기법과 일치한다. 마우스, 인간화 및 인간 항체의 제조를 위한 일반적인 기법은 당해 분야에 공지되어 있고 본 명세서에 기재되어 있다. 인간을 포함하는 임의의 포유류 대상체 또는 이로부터 세포를 생성하는 항체

는 인간 하이브리도마 세포주를 포함하는 포유류의 제조를 위한 기본으로서 작용하도록 조작될 수 있다는 것이 고안된다. 통상적으로, 숙주 동물은 본 명세서에 기재된 바를 포함하여 일정한 양의 면역원으로 복강내, 근육내, 경구로, 피하로, 발바닥내, 및/또는 피내 접종된다.

[0071] 하이브리도마는 문헌[Kohler, B. and Milstein, C. (1975) Nature 256:495-497]의 일반 체세포 혼성화 기법을 이용하여 또는 문헌[Buck, D. W., et al., In Vitro, 18:377-381 (1982)]에 의해 변형된 바대로 림프구 및 불활화된 골수종 세포로부터 제조될 수 있다. X63-Ag8.653(이것으로 제한되지는 않음)을 포함하는 입수 가능한 골수종 세포주 및 Salk Institute, Cell Distribution Center(미국 캘리포니아주 샌 디에고)로부터의 것은 혼성화에 사용될 수 있다. 일반적으로, 이 기법은 융합유도물질(fusogen), 예컨대 폴리에틸렌 글라이콜을 사용하여, 또는 당해 분야의 숙련자에게 널리 공지된 전기 수단에 의해 골수종 세포 및 림프구 세포를 융합하는 것을 수반한다. 융합 후, 세포는 혼성화되지 않은 모 세포를 제거하기 위해 융합 배지로부터 분리되고, 선택적 성장 배지, 예컨대 하이포산틴-아미노프테린-타이미딘(HAT) 배지에서 성장한다. 혈청이 보충되거나 보충되지 않은, 본 명세서에 기재된 임의의 배지는 단일클론 항체를 분비하는 하이브리도마를 배양하도록 사용될 수 있다. 세포 융합 기법에 대한 또 다른 대안으로서, EBV 불활화된 B 세포는 본 명세서에 기재된 항-PKα1 단일클론 항체를 생성하도록 사용될 수 있다. 하이브리도마는 원하는 경우 증식되고 서브클로닝되고, 상정액은 종래의 면역검정 절차(예를 들어, 방사선면역검정법, 효소 면역검정법 또는 형광 면역검정법)에 의해 항면역원 활성화에 평가된다.

[0072] 항체의 공급원으로서 사용될 수 있는 하이브리도마는 PKα1 활성을 방해할 수 있는 단일클론 항체를 생성하는 모 하이브리도마의 모든 유도체, 자손 세포를 포함한다. 이러한 항체를 생성하는 하이브리도마는 공지된 절차를 이용하여 시험관내 또는 생체내 성장할 수 있다. 단일클론 항체는, 원하는 경우, 황산암모늄 침전, 겔 전기영동, 투석, 크로마토그래피 및 초미세여과와 같은 종래의 면역글로불린 정제 절차에 의해 배양 배지 또는 체액으로부터 분리될 수 있다. 원치않는 활성은, 존재하는 경우, 예를 들어 고상에 부착된 면역원으로 만들어진 흡착제 위에서 제조를 수행하고, 원하는 항체를 면역원으로부터 용리시키거나 방출시킴으로써 제거될 수 있다. 이작용성 또는 유도체화 물질, 예를 들어 말레이미도벤조일 설포숙신이미드 에스터(시스테인 잔기를 통한 접합), N-하이드록시숙신이미드(라이신 잔기를 통한), 글루타르알데하이드, 숙신산 무수물, SOCl₂ 또는 R1N=C=NR(여기서, R 및 R1은 상이한 알킬 기입)을 사용한, 면역화되는 종에서 면역원성인 단백질, 예를 들어 키홀 림프 헤모시아닌, 혈청 알부민, 소 타이로글로불린 또는 대두 트립신 저해제에 접합된 표적 아미노산 서열을 함유하는 표적 항원 또는 단편에 의한 숙주 동물의 면역화는 항체(예를 들어, 단일클론 항체)의 집단을 생성시킬 수 있다.

[0073] 원하는 경우, 관심 있는(예를 들어, 하이브리도마에 의해 제조된) 항체(단일클론 또는 다중클론)는 서열분석될 수 있고, 폴리뉴클레오타이드 서열은 이후 발현 또는 전파를 위해 벡터로 클로닝될 수 있다. 관심 있는 항체를 코딩하는 서열은 숙주 세포에서 벡터에서 유지될 수 있고, 숙주 세포는 이후 증식되고 추가의 사용을 위하여 동결될 수 있다. 대안에서, 폴리뉴클레오타이드 서열은 항체의 친화도(친화도 성숙), 또는 다른 특징을 개선하기 위해 유전자 조작에 사용될 수 있다. 항체 서열을 유전적으로 조작하여 표적 항원에 대한 더 높은 친화도 및/또는 특이성을 얻는 것이 바람직할 수 있다. 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드 변화가 항체에 대해 이루어질 수 있고, 여전히 표적 항원에 대한 이의 결합 특이성을 유지할 수 있다는 것이 당해 분야의 숙련자에게 명백할 것이다.

[0074] 다른 실시형태에서, 완전한 인간 항체는 특이적 인간 면역글로불린 단백질을 발현하도록 조작된 상업적으로 구입 가능한 마우스를 사용함으로써 얻어질 수 있다. 더 바람직한(예를 들어, 완전한 인간 항체) 또는 더 튼튼한 면역 반응을 생성하도록 설계된 형질전환 동물은 인간화 또는 인간 항체의 생성을 위해 또한 사용될 수 있다. 이러한 기술의 예는 제노마우스(Xenomouse)(등록상표)(Amgen, Inc.(캘리포니아주 프리몬트)) 및 HuMAb-마우스(HuMAb-Mouse)(등록상표) 및 TC 마우스(TC Mouse)(등록상표)(Medarex, Inc.(뉴저지주 프린스턴))이다. 또 다른 대안에서, 항체는 파지 디스플레이 또는 효모 기술에 의해 재조합으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,565,332호; 제5,580,717호; 제5,733,743호; 및 제6,265,150호; 및 문헌[Winter et al., (1994) Annu. Rev. Immunol. 12:433-455]을 참조한다. 대안적으로, 파지 디스플레이 기술(McCafferty et al., (1990) Nature 348:552-553)은 비면역화된 공여자로부터의 면역글로불린 가변(V) 도메인 유전자 레퍼토리로 부터 시험관내 인간 항체 및 항체 단편을 제조하도록 사용될 수 있다.

[0075] 온전한 항체(전장 항체)의 항원 결합 단편은 일상적 방법을 통해 제조될 수 있다. 예를 들어, F(ab')₂ 단편은 항체 분자 및 F(ab')₂ 단편의 다이설파이드 브릿지를 환원시킴으로써 생성될 수 있는 Fab 단편의 펩신 분해에 의해 제조될 수 있다.

[0076] 중쇄 가변 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열 및 경쇄 가변 영역을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 연결함

으로써, 제조합 기술을 통해 단쇄 항체를 제조할 수 있다. 바람직하게는, 가요성 링커는 2개의 가변 영역 사이에 도입된다. 대안적으로, 단쇄 항체의 제조에 대해 기재된 기법(미국 특허 제4,946,778호 및 제4,704,692호)은 파지 또는 효모 scFv 라이브러리를 제조하기 위해 적용될 수 있고, PKa1에 특이적인 scFv 클론은 일상적 절차에 따라 라이브러리로부터 확인될 수 있다. 양성 클론은 표적 항원, 예컨대 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 것을 확인하기 위해 추가의 스크리닝으로 처리될 수 있다.

[0077] 몇몇 실시형태에서, 절단된 HMWK(또는 온전한 HMWK 또는 LMWK)에 특이적인 항체는 합성 라이브러리 또는 천연 라이브러리일 수 있는 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 천연 항체 라이브러리는 일상적 실행 후 천연 공급원(예를 들어, 인간 공여자)으로부터 유래한 라이브러리를 의미한다. 합성 항체 라이브러리는 구성원이 미리 결정된 규칙에 따라 설계되는 라이브러리를 의미한다(예를 들어, 중쇄, 경쇄, 또는 둘 다의 완전 무작위화 CDR 영역, 예컨대 CDR 또는 반 무작위화 CDR 영역, 예컨대 CDR1 또는 CDR2를 가짐).

[0078] 몇몇 경우에, 항체 라이브러리는 디스플레이 라이브러리(예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리 또는 효모 디스플레이 라이브러리)이다. 디스플레이 라이브러리는 집합체의 수집품이고, 각각의 집합체는 접근 가능한 폴리펩타이드 성분 및 폴리펩타이드 성분을 코딩하거나 확인하는 회수 가능한 성분을 포함한다. 폴리펩타이드 성분은 상이한 아미노산 서열이 표시되도록 변한다. 폴리펩타이드 성분은 임의의 길이, 예를 들어 3개의 아미노산 내지 300개 초과 아미노산일 수 있다. 디스플레이 라이브러리 집합체는 sFab의 1개 초과 폴리펩타이드 성분, 예를 들어 2개의 폴리펩타이드 사슬을 포함할 수 있다. 하나의 예시적인 실행에서, 디스플레이 라이브러리는 절단된 HMWK(및 본 명세서에 기재된 다른 표적 항원)에 결합하는 단백질을 확인하도록 사용될 수 있다. 선택에서, 라이브러리의 각각의 구성원의 폴리펩타이드 성분은 절단된 HMWK(또는 이의 단편)에 의해 프로빙되고, 폴리펩타이드 성분이 절단된 HMWK에 결합하는 경우, 디스플레이 라이브러리 구성원은 통상적으로 지지체에 대한 보유에 의해 확인된다. 파지 디스플레이 항체 라이브러리를 사용한 절단된 HMWK에 특이적인 항체를 확인하기 위한 예시적인 예시는 도 12에 제공된다.

[0079] 보유된 디스플레이 라이브러리 구성원은 지지체로부터 회수되고 분석된다. 분석은 증폭 및 유사한 또는 비유사한 조건 하에 후속하는 선택을 포함할 수 있다. 예를 들어, 양성 및 음성 선택은 교대할 수 있다. 분석은 또한 자세한 규명을 위한 폴리펩타이드 성분의 아미노산 서열의 결정 및 폴리펩타이드 성분의 정제를 포함할 수 있다.

[0080] 당해 분야에 널리 공지된 방법을 이용하여 당해 분야에 공지되고 본 명세서에 기재된 방법에 따라 얻어진 항체를 규명할 수 있다. 예를 들어, 하나의 방법은 항원이 결합하는 에피토프를 확인하는 것 또는 "에피토프 맵핑"이다. 예를 들어 문헌[Harlow and Lane, Using Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1999의 Chapter 11]에 기재된 바대로, 항체-항원 복합체의 결정 구조를 푸는 것, 경쟁 검정, 유전자 단편 발현 검정 및 합성 펩타이드 기반 검정을 포함하는, 단백질에서 에피토프의 위치를 맵핑하고 규명하기 위한, 당해 분야에 공지된 많은 방법이 존재한다. 추가의 예에서, 에피토프 맵핑은 항체가 결합하는 서열을 결정하도록 이용될 수 있다. 에피토프는 선형 에피토프(즉, 아미노산의 단일 스트레치에 함유됨), 또는 단일 스트레치(1차 구조 선형 서열)에 반드시 함유될 수는 없는, 아미노산의 3차원 상호작용에 의해 형성된 구성적 에피토프일 수 있다. 다양한 길이(예를 들어, 적어도 4개 내지 6개의 아미노산 길이)의 펩타이드는 단리되거나(예를 들어, 제조합으로) 합성되고, 항체와의 결합 검정에 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, 항체가 결합하는 에피토프는 표적 항원 서열로부터 유래한 중첩하는 펩타이드를 사용하고 항체에 의한 결합을 결정함으로써 체계적인 스크리닝에서 결정될 수 있다. 유전자 단편 발현 검정에 따라, 표적 항원을 코딩하는 오픈 리딩 프레임은 무작위로 또는 특이적 유전자 구성에 의해 단편화되고, 시험하고자 하는 항체와의 항원의 발현된 단편의 반응성은 결정된다. 유전자 단편은 예를 들어 PCR에 의해 제조되고, 이후 방사성 아미노산의 존재 하에 시험관내 단백질로 전사되고 번역될 수 있다. 이후, 방사성으로 표지된 항원 단편에 대한 항체의 결합은 면역침전 및 겔 전기영동에 의해 결정된다.

[0081] 소정의 에피토프는 파지 입자의 표면에서 디스플레이된 랜덤 펩타이드 서열의 큰 라이브러리(파지 라이브러리)를 사용함으로써 확인될 수 있다. 대안적으로, 유사한 결합 검정에서 시험 항체에 대한 결합에 대해 중첩하는 펩타이드 단편의 한정된 라이브러리를 시험할 수 있다. 추가의 예에서, 항원 결합 도메인의 돌연변이유발, 도메인 스와핑 실험 및 알라닌 스캐닝 돌연변이유발은 에피토프 결합에 필요하고/하거나, 충분하고/하거나, 필수적인 잔기를 확인하도록 수행될 수 있다. 예를 들어, 도메인 스와핑 실험은 HMWK 폴리펩타이드의 다양한 단편이 가깝게 관련되지만 항원에 의해 구별되는 단백질로부터의 서열에 의해 대체(스와핑)되는 표적 항원의 돌연변이체를 사용하여 수행될 수 있다. 돌연변이체 HMWK에 대한 항체의 결합을 평가함으로써, 항체에 대한 특정한 항원

단편의 결합의 중요성은 평가될 수 있다.

[0082] 대안적으로, 항체가 다른 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지를 결정하기 위해 동일한 항원에 결합하는 것으로 공지된 다른 항체를 사용하여 경쟁 검정을 수행할 수 있다. 경쟁 검정은 당해 분야의 숙련자에게 널리 공지되어 있다.

[0083] 임의의 항-절단된 HMWK 항체는 또한 본 개시내용의 범위 내에 있다.

[0084] (iii) 면역검정법

[0085] 절단된 HMWK를 검출하기 위한 면역검정법이 본 명세서에 제공된다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, 용어 "면역검정법"은 상호 호환 가능하게 면역 기반 검정 또는 면역학적 기반 검정이라 칭해질 수 있다. 일반적으로, 면역검정법은 항체와 같은 분자에 결합하는 물질을 사용하여 샘플 내의 분자(예를 들어, HMWK)의 존재 및/또는 농도(수치)를 검출한다. 면역검정법의 예는 웨스턴 블롯, 효소 연결 면역흡착 검정법(ELISA), 측면 유동 검정법, 방사선면역검정법, 전기 화학 발광 기반 검출 검정법, 자기 면역검정법, 및 관련 기법을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 면역검정법은 ELISA 검정법이다. 몇몇 실시형태에서, 면역검정법은 샌드위치 ELISA 검정법이다. 몇몇 실시형태에서, 면역검정법은 측면 유동 검정법이다.

[0086] ELISA는 당해 분야에 공지되어 있고(예를 들어, 문헌[Crowther, John R (2009). "The ELISA Guidebook." 2nd ed. Humana Press and Lequin R (2005). "Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)". Clin. Chem. 51 (12): 2415-8] 참조), 예시적인 ELISA는 본 명세서에 기재되어 있다. ELISA를 수행하기 위한 키트는 당해 분야에 또한 공지되어 있고, 상업적으로 구입 가능하다(예를 들어, Life Technologies 및 BD Biosciences로부터의 ELISA 키트 참조).

[0087] 본 명세서에 기재된 면역검정법을 수행하기 위해, 대상체로부터 샘플을 얻을 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, "샘플"은 대상체로부터의 조직, 예를 들어 혈액, 혈장 또는 단백질을 포함하는 조성물을 의미한다. 샘플은 대상체로부터 취한 초기 비가공처리된 샘플, 및 후속하여 가공처리된, 예를 들어 부분적으로 정제되거나 보존된 형태 둘 다를 포함한다. 예시적인 샘플은 혈액, 혈장, 눈물 또는 점액을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 샘플은 체액 샘플, 예컨대 혈청 또는 혈장 샘플이다. 본 명세서에 기재된 면역검정법에 의해 분석하고자 하는 샘플은 대상체로부터 취한 초기 비가공처리된 샘플 또는 후속하여 가공처리된, 예를 들어 부분적으로 정제되거나 보존된 형태일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 예를 들어 질환 또는 장애의 진행을 평가하거나 치료의 효능을 평가하기 위해, 시간에 걸쳐 또는 특정한 시간에 대상체로부터 다수(예를 들어, 적어도 2개, 3개, 4개, 5개 또는 이것 초과)의 샘플을 수집할 수 있다. 치료 전에 및 후에 또는 치료의 과정 동안에 다수의 샘플을 얻을 수 있다.

[0088] 당해 분야에 공지된 임의의 수단을 이용하여 대상체로부터 샘플을 얻을 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 배기된 수집 관(예를 들어, 배기된 채혈관)으로 샘플(예를 들어, 혈액 샘플)을 수집함으로써 대상체로부터 샘플을 얻는다. 몇몇 실시형태에서, 배기된 수집 관은, 예를 들어 샘플 수집 동안 접촉 시스템의 생체외 활성화를 감소시키거나 방지하도록, 1종 이상의 프로테아제 저해제를 함유한다. 이러한 프로테아제 저해제는 액체 제제에 함유될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 프로테아제 저해제는 적어도 1종의 세린 프로테아제 저해제 및 적어도 1종의 시스테인 프로테아제 저해제를 포함한다. 이러한 배기된 수집 관은 당해 분야에 공지되어 있다. 예를 들어, PCT 출원 제US2016/046681호를 참조한다. 임의로, 배기된 채혈관은 1종 이상의 응고방지제를 더 포함할 수 있다.

[0089] 해당 방법에 의해 치료하고자 하는 "환자", "대상체" 또는 "숙주"(이들 용어는 상호 양립 가능하게 사용됨)는 인간 또는 비인간 동물을 의미할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 대상체는 칼리크레인 매개된 장애, 예를 들어 브래디키닌 매개된 장애, 예컨대 유전성 혈관부종(HAE), 히스타민 비의존적 특발성 혈관부종, 류마티스성 관절염, 크론병, 루푸스, 알츠하이머병, 패혈성 쇼크, 화상 손상, 뇌 허혈/재관류 손상, 뇌부종, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신장병증, 황반부종, 혈관염, 동맥 또는 정맥 혈전증, 심실 보조 장치 또는 스텐트와 연관된 혈전증, 혈전증을 동반하는 헤파린 유도 혈소판감소증, 혈전 색전증 질환 및 불안정 협심증을 동반한 관상 동맥 질환, 부종, 눈 질환, 통풍, 장 질환, 구강 점막염, 신경병증성 통증, 염증성 통증, 척추관 협착증-퇴행성 척추 질환, 수술 후 장폐색, 대동맥류, 골관절염, 유전성 혈관부종, 폐색전증, 뇌졸중, 두부 외상 또는 중양주변 뇌부종, 패혈증, 급성 중대뇌동맥(middle cerebral artery: MCA) 허혈성 사건(뇌졸중), 재협착증(예를 들어, 혈관성형술 후), 전신성 홍반성 낭창 신장염, 자가면역 질환, 염증성 질환, 심혈관 질환, 신경학적 질환, 단백질 미스폴딩과 연관된 질환, 혈관신생, 고혈압성 신장병증 및 당뇨병성 신장병증과 연관된 질환, 알레르기 및 호흡기 질환(예를 들어, 아나필락시스, 천식, 만성 폐쇄성 폐 질환, 급성 호흡 곤란 증후군, 낭성 섬유증, 지속성, 비염)

및 조직 손상(예를 들어, 화상 또는 화학물질 손상)이 의심되거나 이의 위험에 있거나 이것으로 고생한다.

- [0090] 대안적으로 또는 게다가, 본 명세서에 기재된 분석을 요하는 대상체는 질환 또는 장애의 환자일 수 있다. 이러한 대상체는 현재 질환(예를 들어, HAE)의 발작 하에 있을 수 있거나, 과거에(예를 들어, 현재 질환 휴지 동안) 질환을 겪을 수 있다. 몇몇 예에서, 대상체는 질환의 치료, 예를 들어 C1 에스테라제 저해제(C1-INH), 혈장 칼리크레인 저해제, 또는 브래디키닌 저해제를 수반하는 치료 중에 있을 수 있는 인간 환자이다. 다른 경우에, 이러한 인간 환자는 이러한 치료가 없을 수 있다.
- [0091] 본 명세서에 기재된 샘플은 샘플에서 절단된 HMWK의 수치를 결정하도록 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 물질을 사용하여 분석으로 처리될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 면역검정법은 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 제1 물질(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체)이 지지체 부재에 부동화된 샌드위치 ELISA의 포맷일 수 있다. 이후, 지지체 부재는 절단된 HMWK/제1 물질(예를 들어, 항체) 복합체의 형성을 허용하는 조건 하에 적합한 시간 기간 동안 본 명세서에 기재된 바와 같이 샘플과 항온처리될 수 있다. 이후, 이러한 복합체는 HMWK에 결합하는 제2 물질을 사용하여 검출될 수 있다. 제2 물질은 직접적으로 또는 간접적으로 신호를 방출할 수 있는 라벨에 접합될 수 있다. 신호의 강도는 샘플에서의 절단된 HMWK의 수치를 나타낸다.
- [0092] 당해 분야에 공지된 임의의 지지체 부재는 막, 비드, 슬라이드 또는 다중웰 플레이트(이들로 제한되지는 않음)를 포함하는 방법에서 사용될 수 있다. 면역검정법에 적절한 지지체 부재의 선택은 샘플의 수 및 제2 물질에 접합된 라벨로부터 방출된 신호를 검출하는 방법과 같은 다양한 인자에 따라 달라질 것이다.
- [0093] 몇몇 실시형태에서, 지지체 부재는 막, 예컨대 나이트로셀룰로스 막, 폴리비닐리덴 플루오라이드(PVDF) 막 또는 셀룰로스 아세테이트 막이다. 몇몇 예에서, 면역검정법은 웨스턴 블롯 검정 포맷 또는 측면 유동 검정 포맷일 수 있다.
- [0094] 몇몇 실시형태에서, 지지체 부재는 다중웰 플레이트, 예컨대 ELISA 플레이트이다. 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 면역검정법은 고속 플랫폼에서 수행될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 다중웰 플레이트, 예를 들어 24웰, 48웰, 96웰, 384웰 또는 이것 초과인 웰 플레이트는 고속 면역검정법에 사용될 수 있다. 개별적인 은 각각의 웰에서 동시에 수행될 수 있다. 따라서, 검정 처리량을 증가시키기 위해 다중웰을 동시에 측정하기 위해 플레이트 판독기를 사용하는 것이 일반적으로 바람직하다. 몇몇 실시형태에서, 다중웰(예를 들어, 4웰, 16웰, 24웰, 48웰, 96웰, 384웰 또는 이것 초과인 웰)을 동시에 영상화할 수 있는 플레이트 판독기는 이 플랫폼에 사용될 수 있다. 예를 들어, 상업적으로 구입 가능한 플레이트 판독기(예를 들어, Perkin Elmer(매사추세츠주 왈탐)로부터 구입 가능한 plate::vision 시스템을) 사용할 수 있다. 이 플레이트 판독기는 동역학 기반 형광성 분석을 할 수 있다. plate::vision 시스템은 높은 수집 효율 광학부품을 갖고, 병렬의 96웰의 분석에 설계된 특수 광학부품을 가진다. 추가의 적합한 병렬의 플레이트 판독기는 SAFIRE(Tecan(캘리포니아주 산 호세)), FLIPRETETRA(등록상표)(Molecular Devices(캘리포니아주 유니온 시티)), FDSS7000(Hamamatsu(뉴저지주 브릿지워터)) 및 CellLux(Perkin Elmer(매사추세츠주 왈탐))를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.
- [0095] 실시예 1에 기재된 바대로, 다중웰 플레이트의 웰의 표면적 및/또는 용적이 면역검정법의 결과에 영향을 미칠 수 있다는 것이 예상치 못하게 발견되었다. 몇몇 실시형태에서, 기재된 면역검정법은 96웰 플레이트, 예컨대 96웰 ELISA 플레이트에서 수행된다.
- [0096] 다른 실시형태에서, 본 개시내용의 고속 스크리닝 면역검정법은 자동화(예를 들어, 로봇 검정에 적응)될 수 있다.
- [0097] 몇몇 실시형태에서, 면역검정법은 저속 플랫폼, 예를 들어 단일 면역검정 포맷에서 수행될 수 있다. 예를 들어, 저속 플랫폼은 진단학적 방법, 질환 및/또는 치료 진행의 모니터링, 및/또는 질환 또는 장애가 특정한 치료로부터 이익을 얻을 수 있는지를 예측하는 것에 대해 생물학적 샘플(예를 들어, 생물학적 조직, 조직 추출물)에서 절단된 HMWK의 존재 및 양을 측정하도록 사용될 수 있다.
- [0098] 당해 분야에 공지된 임의의 방법은 본 명세서에 또한 기재된 바와 같은 지지체 부재에 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 물질, 예컨대 본 명세서에 기재된 항체를 부동화하도록 이용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 부동화는 지지체 부재에 대한 물질(예를 들어, 항체)의 결합을 수반한다. 다른 실시형태에서, 부동화는 지지체 부재에 대한 항체의 흡수를 수반한다. 이러한 흡수 방법은 예를 들어 다중웰 플레이트의 웰에서 완충제 중에 항체를 항온처리함으로써 수행될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 항체와 같은 물질은 코팅 완충제에 제공되고, 다중웰 플레이트의 웰에서 항온처리된다. 접촉 완충제는 당해 분야의 숙련자에게 명확할 것이고, 제조되거나 상업적 공급원으로서 얻어질 수 있다. 코팅 완충제의 비제한적인 예는 50mM 중탄산나트륨(pH 9.6); 0.2M 중탄산나트륨(pH

9.4); 인산염 완충 용액(50mM 포스페이트, pH 8.0, 0.15M NaCl); 카보네이트-바이카보네이트 용액; 및 TBS(50mM TRIS, pH 8.0, 0.15M NaCl)를 포함한다.

- [0099] 몇몇 실시형태에서, 제1 물질은 제1 물질과 지지체 부재 사이의 소수성 상호작용에 의해 지지체 부재에서 부동화된다. 몇몇 실시형태에서, 제1 물질은 전기영동 전달을 이용하여 지지체 부재에서 부동화된다.
- [0100] 부동화 전에 또는 후에, 또는 둘 다에, 지지체 부재는 차단 완충제와 항온처리될 수 있다. 일반적으로, 차단 완충제는 지지체 막의 임의의 노출된 표면(예를 들어, 제1 물질이 점유하지 않는 지지체 막에서의 부위)을 차단하도록 사용된다. 차단 완충제의 사용은 검출된 기준 신호(즉, "배경 간섭")를 감소시키고/시키거나, 면역검정법의 민감도를 개선하고/하거나, 지지체 막에 대한 샘플의 성분의 비특이적 결합을 감소시킬 수 있다. 실시예 1에 기재된 바대로, 차단 완충제의 선택은 면역검정법의 결과에 영향을 미쳤다. 몇몇 실시형태에서, 차단 완충제는 혈청 알부민, 예컨대 소 혈청 알부민 또는 인간 혈청 알부민을 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 차단 완충제는 BSA 완충제(예를 들어, PBS 완충제 중의 2% BSA)이다. 몇몇 실시형태에서, 차단 완충제는 혈청 알부민, 예컨대 소 혈청 알부민 또는 인간 혈청 알부민이 없다. 몇몇 실시형태에서, 차단 완충제는 카세인 단편, 및 임의로 NaCl 및 Tween을 포함하고, pH 7.0 내지 7.4를 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 카세인 단편은 고순도 카세인 단편이다. 이러한 차단 완충제는 제조되거나, 상업적 공급원(예를 들어, CANDOR Bioscience로부터의 Blocking Solution LowCross)으로부터 얻어질 수 있다.
- [0101] 절단된 HMWK에 특이적인 물질이 부착된 지지체 부재는, 절단된 HMWK를 함유하는 것으로 의심되는, 본 명세서에 기재된 바와 같이 샘플과 접촉(항온처리)될 수 있다. 일반적으로, 용어 "접촉"은, 샘플 내의, 있다면, 항체와 같은 물질과 절단된 HMWK 사이의 복합체의 형성에 충분한 적합한 기간 동안 생물학적 샘플 또는 물질을 갖는 지지체 부재의 노출을 의미한다. 이후, 샘플은 지지체 부재로부터 제거될 수 있고, 이것은 이후 임의의 비결합한 절단된 HMWK를 제거하도록 수회 세척될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 접촉은 생물학적 샘플 또는 물질이 지지체 막의 표면에 걸쳐 이동하는 모세관 작용에 의해 수행된다.
- [0102] 이후, 지지체 부재는 적합한 기간 동안 HMWK에 결합하는 제2 물질과 항온처리될 수 있어서, 지지체 부재에 부착된 HMWK에 대한 제2 물질의 결합을 허용한다.
- [0103] 제2 물질은 HMWK에 결합할 수 있는 임의의 물질, 예컨대 HMWK에 결합할 수 있는 항체(HMWK의 절단된 형태에 특이적이거나, 절단된 HMWK 및 온전한 HMWK 둘 다와 상호반응할 수 있음)일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 제2 물질은 HMWK(절단된 및/또는 온전한)에 결합하는 하나 이상의 항체를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 항체는 마우스 단일클론 항체 또는 단일클론 양 항체이다. 이것은 직접적으로 또는 (예를 들어, 하나 이상의 추가 화합물과의 상호작용을 통해) 간접적으로 신호를 방출할 수 있는 화합물인 라벨과 접합된다.
- [0104] 몇몇 실시형태에서, 라벨은 신호(예를 들어, 염료 또는 형광단)를 직접적으로 방출하거나, 기질(예를 들어, 효소, 예컨대 HRP 또는 β -갈락토시다제(유색 생성물로 무색 기질을 전환할 수 있음))과 상호작용 시 신호를 방출하는 신호 방출 물질이다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, 용어 형광단("형광성 라벨" 또는 "형광성 염료"이라고도 칭함)은 한정된 여기 파장에서 광 에너지를 흡수하고 상이한 파장에서 광 에너지를 방출하는 모이머티를 의미한다.
- [0105] 다른 실시형태에서, 라벨은 수용체-리간드 쌍의 구성원일 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, "리간드-수용체 쌍"은 서로에 대한 특정한 친화도를 갖는 한 쌍의 분자(예를 들어, 생물학적 분자), 예를 들어 바이오틴-스트렙타비딘을 의미한다. 이 경우에, 제1 물질-절단된 HMWK-제2 물질을 보유하는 지지체 부재는 수용체-리간드 쌍의 2개의 구성원이 상호작용하도록 적합한 기간 동안 리간드-수용체 쌍의 다른 구성원과 추가로 항온처리될 수 있다. 수용체-리간드 쌍의 다른 구성원은 본 명세서에 기재된 바대로 신호 방출 물질과 접합된다. 일 예에서, 제2 물질은 바이오틴에 접합되고, HRP 접합된 스트렙타비딘은 검출에 사용된다.
- [0106] 임의의 비결합한 접합체를 세척한 후, 기질 용액은 검출을 보조하도록 첨가될 수 있다. 예를 들어, 설정된 간격 후, 반응은 (예를 들어, 1N NaOH를 첨가함으로써) 중단될 수 있고, 형성된 유색 생성물의 농도는 분광광도계에 의해 측정될 수 있다. 색상의 강도는 결합한 항원의 농도에 비례한다.
- [0107] 다음에, 본 명세서에 기재된 바대로 라벨로부터 방출된 신호를 일상적 방법론에 의해 검출/측정할 수 있고, 이 방법론은 면역검정법의 특정한 포맷 및 여기서 사용된 신호 방출 물질에 의존할 것이다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, 용어 "측정하는" 또는 "측정" 또는 대안적으로 "검출하는" 또는 "검출"은 샘플 내의 물질의 존재, 부재, 분량 또는 양(유효량일 수 있음)을 평가하는 것, 예를 들어 이러한 물질의 정성적 또는 정량적 농도 수치의 도출, 또는 그렇지 않으면 대상체의 가치 또는 분류를 평가하는 것을 의미한다.

- [0108] 웨스턴 블롯 검정과 같은 검정은 상업적으로 구입 가능한 LICOR 영상화 기술과 같은 정량적 영상화 시스템(예를 들어, LI-COR Biosciences로부터의 Odyssey(등록상표) CLx 적외선 영상화 시스템 참조)의 사용을 추가로 수반할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 전기 화학 발광 검출 검정 또는 전기 화학 발광 및 패턴화 어레이 기술의 조합에 의존하는 검정(예를 들어, Meso Scale Discovery(MSD)로부터의 ECL 또는 MULTI-ARRAY 기술 검정)을 이용한다.
- [0109] 본 명세서에 기재된 임의의 면역검정법, 예를 들어 면역검정법의 하나 이상의 단계는 적합한 검정 완충제 중에 수행될 수 있고, 이는 당해 분야의 숙련자에게 명확할 것이다. 몇몇 실시형태에서, 검정 완충제는 $ZnCl_2$ 를 함유하거나 이에 의해 보충된다. 몇몇 실시형태에서, 검정 완충제는 적어도 약 $10\ \mu M$, $20\ \mu M$, $30\ \mu M$, $40\ \mu M$, $50\ \mu M$, $60\ \mu M$, $70\ \mu M$, $80\ \mu M$, $90\ \mu M$, $100\ \mu M$, $150\ \mu M$, $200\ \mu M$, $250\ \mu M$, $300\ \mu M$, $350\ \mu M$, $400\ \mu M$, $450\ \mu M$, $500\ \mu M$ 또는 이것 초과와 $ZnCl_2$ 를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 $ZnCl_2$ 함유 검정 완충제는 절단된 HMWK에 특이적인 물질(예를 들어, 절단된 HMWK에 특이적인 항체)이 절단된 HMWK에 결합하는 단계에서 사용된다. $ZnCl_2$ 는 절단된 HMWK에 대한 물질(예를 들어, 항체)의 결합 활성을 증대시킨다.
- [0110] 몇몇 실시형태에서, 검정 완충제는 혈청 알부민, 예컨대 소 혈청 알부민 또는 인간 혈청 알부민을 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 검정 완충제는 적어도 약 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09%, 0.1%, 0.12%, 0.014%, 0.16%, 0.18%, 0.2%, 0.25%, 0.3%, 0.4% 또는 이것 초과와 BSA를 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 검정 완충제는 계면활성제, 예컨대 Tween-20을 함유한다. 몇몇 실시형태에서, 검정 완충제는 0.01%, 0.02%, 0.03%, 0.04%, 0.05%, 0.06%, 0.07%, 0.08%, 0.09%, 0.1% 또는 이것 초과와 계면활성제를 함유한다. 일 예에서, 검정 완충제는 PBS 중의 0.1% BSA 및 0.05% Tween-20을 함유한다.
- [0111] (iv) 진단학적 및 예후학적 분야
- [0112] 본 명세서에 기재된 검정 방법 및 키트는, 절단된 HMWK의 수치와 (예를 들어, 바이오마커로서의) 이러한 질환 또는 장애 사이의 상관관계를 고려하면, 혈장 칼리크레인과 연관된 질환 또는 장애, 예컨대 본 명세서에 기재된 것(예를 들어, HAE)의 평가에 적용될 수 있다. 대안적으로 또는 게다가, 본 명세서에 기재된 검정 방법 및 키트는 이러한 질환의 진행을 모니터링하고/하거나, 질환의 치료의 효능을 평가하고/하거나, 특정한 치료에 적합한 환자를 확인하고/하거나, 대상체에서 질환 상태(예를 들어, 발작 대 휴지)를 예측하기 위해 사용될 수 있다.
- [0113] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 면역검정법에 의해 결정된 절단된 HMWK의 수치는 생물학적 샘플이 얻어지는 대상체(예를 들어, 인간 환자)가 혈장 칼리크레인과 연관된 질환 또는 장애, 예컨대 HAE 또는 자가면역 질환, 예컨대 RA, UC 및 크론병을 갖거나 이의 위험에 있는지를 평가하는 것에 의존할 수 있다. 이후, 절단된 키니노겐의 수치는 샘플 내의 절단된 키니노겐의 값(예를 들어, 백분율), 온전한 키니노겐의 값, 또는 둘 다를 결정하기 위해 샘플 내의 온전한 키니노겐 또는 키니노겐의 전체 양과 비교될 수 있다. 절단된 키니노겐 및/또는 온전한 키니노겐의 값은 대상체가 pKa1 매개된 장애, 예를 들어 HAE 또는 자가면역 질환, 예컨대 RA, UC 및 크론병을 갖거나 이의 위험에 있는지를 결정하기 위한 기준 값과 비교될 수 있다. 예를 들어, 절단된 키니노겐의 백분율이 기준 값이거나 이보다 높은 경우, 대상체는 pKa1 매개된 장애, 예컨대 HAE, RA, UC 및 크론병을 갖거나 이의 위험에 있는 것으로 확인될 수 있다. 대안적으로, 온전한 키니노겐의 백분율이 기준 값이거나 이보다 작은 경우, 대상체는 pKa1 매개된 장애, 예컨대 HAE, RA, UC 및 크론병을 갖거나 이의 위험에 있는 것으로 확인될 수 있다.
- [0114] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법의 분석을 위한 샘플은 유전성 혈관부종(HAE)을 갖거나 이의 위험에 있는 인간 대상체로부터 유래한다. HAE는 또한 "퀸케(Quincke) 부종", C1 에스테라제 저해제 결핍, C1 저해제 결핍 및 유전성 혈관신경성 부종(HANE)으로 공지되어 있다. HAE는 예를 들어 사지, 얼굴, 생식기, 위장관 및 기도에 영향을 미칠 수 있는 심각한 종창(혈관부종)의 재발성 삽화를 특징으로 한다. HAE의 증상은 예를 들어 팔, 다리, 입술, 눈, 혀 및/또는 목의 종창; 목 종창 및 갑작스런 목숨을 수반할 수 기도 폐색; 명확한 원인이 없는 복부 경련의 반복 삽화; 및/또는 장의 종창(중증일 수 있고, 복부 경련, 구토, 탈수, 설사, 통증 및/또는 쇼크를 발생시킬 수 있음)을 포함한다. 이 HAE를 갖는 개인의 약 1/3이 발작 동안 윤곽성 홍반이라 불리는 가렵지 않은 발진을 전개시킨다.
- [0115] 기도의 종창은 삶을 위협할 수 있고, 몇몇 환자에서 사망을 야기한다. 사망률은 15% 내지 33%로 추정된다. HAE는 매년 약 15,000건 내지 30,000건의 응급실 방문을 발생시킨다.
- [0116] 외상 또는 스트레스, 예를 들어 치아 시술, 병(예를 들어, 바이러스 질병, 예컨대 감기 및 독감), 월경 및 수술은 혈관부종의 발작을 촉발할 수 있다. HAE의 급성 공격을 예방하기 위해, 환자는 이전에 야기된 발작을 갖는

특별한 자극을 피하도록 시도할 수 있다. 그러나, 많은 경우에, 공지된 촉발인자 없이도 발작이 발생한다. 통상적으로, HAE 증상은 처음에 어린이에서 나타나고, 사춘기 동안 악화한다. 대체로, 치료되지 않은 개인은 1주 내지 2주마다 발작을 갖고, 대부분의 삽화는 약 3일 내지 4일 동안 지속한다 (ghr.nlm.nih.gov/condition/hereditary-angioedema). 발작의 빈도 및 기간은 유전성 혈관부종을 갖는 사람 중에서, 심지어 동일한 가족의 사람 중에서 크게 변한다.

[0117] I형, II형 및 III형으로 공지된 3개의 유형의 HAE가 존재한다. HAE가 50,000명 중 1명의 사람에게 영향을 미치고, I형이 사례의 약 85%를 차지하며, II형이 사례의 약 15%를 차지하고, III형이 매우 희귀한 것으로 추정된다. III형이 가장 새로 기재된 형태이고, 원래 여성에게만 발생하는 것으로 생각되었지만, 이환된 남성을 갖는 가족이 확인되었다.

[0118] HAE는 상염색체 우성 패턴으로 유전되어서, 이환된 사람은 1명의 이환된 부모로부터 돌연변이를 유전 받을 수 있다. 유전자에서의 새로운 돌연변이가 또한 발생할 수 있고, 이에 따라 HAE는 이의 가족에서 장애의 병력을 갖지 않은 사람에서 또한 발생할 수 있다. 사례의 20 내지 25%는 새로운 자발적인 돌연변이로부터 생기는 것으로 예상된다.

[0119] SERPING1 유전자의 돌연변이는 유전성 혈관부종 I형 및 II형을 발생시킨다. SERPING1 유전자는 염증을 조절하는데 중요한 C1 저해제 단백질을 만드는 명령을 제공한다. C1 저해제는 염증을 촉진하는 소정의 단백질의 활성을 차단한다. 유전성 혈관부종 I형을 발생시키는 돌연변이는 혈액 중 C1 저해제의 수치를 감소시킨다. 반대로, II형을 발생시키는 돌연변이는 비정상적으로 작용하는 C1 저해제를 생성시킨다. 적절한 수치의 기능적 C1 저해제 없이는, 과도한 양의 브래디키닌이 생성된다. 브래디키닌은 혈관벽을 통해 신체 조직으로 유체의 누출을 증가시킴으로써 염증을 촉진한다. 신체 조직에서의 과도한 유체 축적은 유전성 혈관부종 I형 및 II형을 갖는 개인에서 보이는 종창의 삽화를 발생시킨다.

[0120] F12 유전자의 돌연변이는 유전성 혈관부종 III형의 몇몇 경우와 연관된다. F12 유전자는 응고 인자 XII를 만드는 명령을 제공한다. 혈액 응고(응혈)에서 중요한 역할을 하는 것 이외에, XII 인자는 또한 염증의 중요한 자극 인자이고, 브래디키닌의 생성에 관여된다. F12 유전자의 소정의 돌연변이는 활성이 증가한 XII 인자를 생성시킨다. 그 결과, 더 많은 브래디키닌이 생성되고, 혈관벽은 더 누수하여서, 종창의 삽화를 발생시킨다. 유전성 혈관부종 III형의 다른 사례의 원인은 공지되어 있지 않다. 하나 이상의 아직 확인되지 않은 유전자의 돌연변이는 이 경우에 장애의 원인일 수 있다.

[0121] HAE는 알레르기 또는 다른 의학 병태로부터 생긴 혈관부종의 다른 형태와 유사하게 존재할 수 있지만, 이것은 원인 및 치료에서 상당히 다르다. HAE가 알레르기로 오진될 때, 이것은 항히스타민제, 스테로이드제 및/또는 에피네프린(통상적으로 HAE에서 비효과적이지만, 에피네프린은 삶을 위협하는 반응에 사용될 수 있음)에 의해 가장 흔히 치료된다. 오진은 또한 복부 종창을 갖는 환자에 대해 불필요한 탐색적 수술을 발생시키고, 몇몇 HAE 환자에서 복통은 정신신체증(psychosomatic)으로 부정확하게 진단된다.

[0122] C1 저해제 치료, 및 HAE에 대한 다른 치료제는 문헌[Kaplan, A.P., *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 126(5):918-925]에 기재되어 있다.

[0123] HAE 발작의 급성 치료는 가능한 빨리 부종의 진행을 중지시키도록 제공된다. 정맥내 투여되는 공여자 혈액으로부터의 C1 저해제 농축물은 하나의 급성 치료제이지만; 이 치료제는 많은 나라에서 이용 가능하지 않다. C1 저해제 농축물이 이용 가능하지 않은 응급 상황에서, 새로 동결된 혈장(fresh frozen plasma: FFP)이 또한 C1 저해제를 함유하므로, 이를 대안으로서 사용할 수 있다.

[0124] 유럽에서 1979년 이후로 인간 혈액으로부터 유래한 정제된 C1 저해제가 사용되었다. 몇몇 C1 저해제 치료제가 미국에서 현재 이용 가능하고, 2종의 C1 저해제 제품이 캐나다에서 현재 이용 가능하다. 급성 발작을 위해 2009년에 식품의약청(F.D.A.)이 살균된 베리네트(Beriner) P(CSL Behring)를 허가하였다. 예방을 위해 2008년에 F.D.A.가 나노여과된 신리지(CINRYZE)(등록상표)를 허가하였다. 루신(Rhucin)/루코네스트(Ruconest)(Pharmin g)는 인간 혈액 매개 병원균으로 인해 감염성 질환 전달의 위험을 보유하지 않는 개발 중인 제조합 C1 저해제이다.

[0125] 급성 HAE 발작의 치료는 또한 통증 경감을 위한 약제 및/또는 IV 유체를 포함할 수 있다.

[0126] 다른 치료 양상은 C1 저해제의 합성을 자극하거나 C1 저해제 소비를 감소시킬 수 있다. 안드로젠 약제, 예컨대 다나졸(danazol)은 C1 저해제의 생성을 자극함으로써 발작의 빈도 및 중증도를 감소시킬 수 있다.

- [0127] 헬리코박터 파일로리(*helicobacter pylori*)는 복부 발작을 촉발할 수 있다. 에이치. 파일로리를 치료하기 위한 항생제는 복부 발작을 감소시킬 수 있다.
- [0128] 더 새로운 치료는 접촉 캐스케이드를 공격한다. 에칼란타이드(KALBITOR(등록상표))는 혈장 칼리크레인을 저해하고, 미국에서 승인되었다. 이카티반트(FIRAZYR(등록상표), Shire)는 브래디키닌 B2 수용체를 저해하고, 유럽 및 미국에서 승인되었다.
- [0129] HAE의 진단은 예를 들어 가족 병력 및/또는 혈액 시험에 의존할 수 있다. HAE I형, II형 및 III형과 연관된 실험실 발견은 예를 들어 문헌[Kaplan, A.P., *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 126(5):918-925]에 기재되어 있다. I형 HAE에서, C4의 수치와 같이 C1 저해제의 수치가 감소하지만, C1q 수치는 정상이다. II형 HAE에서, C1 저해제의 수치는 정상이거나 증가하지만; C1 저해제 기능은 비정상이다. C4 수치는 감소하고, C1q 수치는 정상이다. III형에서, C1 저해제, C4 및 C1q의 수치는 모두 정상일 수 있다. 본 개시내용은, 적어도 부분적으로, 건강한 개체와 비교하여 HAE 환자로부터의 샘플에서 차등적인 수치를 갖는 추가 단백질의 확인에 기초한다(표 1). 2-HMWK의 수치 또는 존재의 측정은 대상체가 질환, 예컨대 HAE를 가지는지를 확인하기 위해 이용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 환자가 HAE 발작을 갖거나 가지는지를 결정하기 위해 이용될 수 있다.
- [0130] HAE의 증상은, 예를 들어 질의서, 예를 들어 환자, 임상의 또는 가족 구성원이 완료한 질의서를 사용하여 평가될 수 있다. 이러한 질의서는 당해 분야에 공지되어 있고, 예를 들어 육안 아날로그 스케일을 포함한다. 예를 들어, 문헌[McMillan, C.V. et al. *Patient*. 2012;5(2):113-26]을 참조한다.
- [0131] 대상체로부터의 샘플에서 검출된 절단된 키니노겐 및/또는 온전한 키니노겐의 값은 대상체가 PKa1 매개된 장애(예를 들어, HAE)를 갖거나 이의 위험에 있는지를 결정하기 위해 기준 값과 비교될 수 있다. 대안적으로 또는 게다가, 대상체로부터의 샘플에서 검출된 절단된 키니노겐 및/또는 온전한 키니노겐의 수치는 장애에 대한 치료의 효능, 장애의 예후 또는 중증도 및/또는 치료의 후보자로서의 대상체의 확인을 평가하기 위해 기준 값과 비교될 수 있다.
- [0132] 기준 값은 절단된 키니노겐 백분율의 대조군 수치일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 대조군 수치는, 바람직하게는 후보 대상체와 동일한 종인, 건강한 대상체 또는 건강한 대상체의 집단으로부터 얻은 대조군 샘플, 예컨대 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈장 샘플)에서의 절단된 키니노겐의 백분율이다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, 건강한 대상체는 절단된 및/또는 온전한 키니노겐의 수치가 측정되는 때에 표적 질환(예를 들어, PKa1 매개된 장애, 예컨대 HAE 또는 자가면역 질환, 예컨대 RA, US 및 크론병)이 분명히 없거나, 질환의 병력을 갖지 않는 대상체이다.
- [0133] 대조군 수치는 또한 미리 결정된 수치 또는 한계치일 수 있다. 이러한 미리 결정된 수치는 표적 질환을 갖지 않거나 이의 위험이 없는 대상체의 집단에서 절단된 키니노겐의 백분율을 나타낼 수 있다. 이것은 표적 질환을 갖는 대상체의 집단에서의 절단된 키니노겐의 백분율을 또한 나타낼 수 있다.
- [0134] 미리 결정된 수치는 다양한 형태를 취할 수 있다. 예를 들어, 이것은 단일 컷오프 값, 예컨대 중앙치 또는 평균일 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 미리 결정된 수치는, 예컨대 하나의 한정된 군이 표적 질환을 갖는 것으로 알려지고, 또 다른 한정된 군이 표적 질환을 갖지 않는 것으로 알려지는 경우, 비교 군에 기초하여 확립될 수 있다. 대안적으로, 미리 결정된 수치는 미리 결정된 백분위 내의 대조군 집단에서 절단된 키니노겐의 백분율을 나타내는 범위와 같은 범위일 수 있다.
- [0135] 본 명세서에 기재된 바와 같은 대조군 수치는 일상적 기술에 의해 결정될 수 있다. 몇몇 예에서, 대조군 수치는 본 명세서에 또한 기재된 바와 같이 대조군 샘플에서 종래의 방법(예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 시험 샘플에서 절단된 및/또는 온전한 키니노겐의 수치를 얻기 위한 동일한 검정)을 수행함으로써 얻어질 수 있다. 다른 예에서, 절단된 및/또는 온전한 키니노겐의 수치는 대조군 집단의 구성원으로부터 얻어질 수 있고, 결과는, 대조군 집단에서 절단된 및/또는 온전한 키니노겐의 수치를 나타내는 대조군 수치(미리 결정된 수치)를 얻기 위해, 예를 들어 컴퓨터 프로그램에 의해 분석될 수 있다.
- [0136] 후보 대상체로부터 얻은 샘플에서의 절단된 키니노겐의 백분율을 본 명세서에 기재된 바와 같은 기준 값과 비교함으로써, 이것은 후보 대상체가 PKa1 매개된 질환(예를 들어, HAE 또는 자가면역 질환, 예컨대 RA, UC 및 크론병)을 갖거나 이의 위험에 있는지에 대해 결정될 수 있다. 예를 들어, 후보 대상체의 샘플에서의 절단된 키니노겐의 백분율이 기준 값으로부터 벗어나는 경우(예를 들어, 기준 값과 비교하여 증가 또는 기준 값과 비교하여 감소), 후보 대상체는 질환을 갖거나 이의 위험에 있는 것으로 확인될 것이다. 기준 값이 표적 질환을 갖는 대상체의 집단에서의 절단된 키니노겐의 백분율 범위를 나타낼 때, 그 범위에 해당하는 후보자의 샘플에서의 절단

된 키니노겐의 백분율은 후보 대상체가 표적 질환을 갖거나 이의 위험에 있다는 것을 나타낸다. 몇몇 경우에, 기준 값은 절단된 키니노겐의 부재를 나타내는 배경 수치를 나타낼 수 있다. 절단된 키니노겐의 존재는 이러한 배경 기준 값으로부터의 편차로서 간주된다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, 대조군 샘플 또는 기준 값으로부터의 "편차"는 절단된 HMWK의 수치, 및 샘플에서의 절단된 HMWK의 존재 또는 부재를 포괄한다.

[0137] 본 명세서에 사용된 바와 같은, "증가한 수치 또는 기준 값보다 높은 수치"는 절단된 키니노겐의 수치/백분율이 대조군 샘플에서의 절단된 키니노겐의 수치/백분율의 미리 결정된 한계치와 같은 기준 값보다 높다는 것을 의미한다. 대조군 수치는 본 명세서에 자세히 기재되어 있다.

[0138] 절단된 키니노겐의 증가한 백분율은 기준 값보다 예를 들어 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500% 또는 이것 초과 많은 절단된 키니노겐 백분율을 포함한다. 절단된 키니노겐의 증가한 백분율은 0의 상태(예를 들어, 샘플에서 포획 시약에 결합하는 절단된 키니노겐 및/또는 온전한 키니노겐이 없거나 검출 불가)로부터 0이 아닌 상태(예를 들어, 약간의 또는 검출 가능한 절단된 키니노겐 및/또는 온전한 키니노겐)로 현상을 증가시키는 것을 또한 포함한다.

[0139] 본 명세서에 사용된 바와 같은, "감소한 백분율/수치 또는 기준 값보다 낮은 백분율/수치"는 절단된 키니노겐의 수치/백분율이 대조군 샘플에서의 절단된 키니노겐의 미리 결정된 한계치와 같은 기준 값보다 낮다는 것을 의미한다. 대조군 수치는 본 명세서에 자세히 기재되어 있다.

[0140] 절단된 키니노겐의 감소한 수치는 기준 값보다 예를 들어 1%, 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 150%, 200%, 300%, 400%, 500% 또는 이것 초과 적은 절단된 키니노겐을 포함한다. 포획 시약에 결합하는 절단된 키니노겐의 감소한 수치는 0이 아닌 상태(예를 들어, 샘플에서 약간의 또는 검출 가능한 절단된 키니노겐)로부터 0의 상태(예를 들어, 샘플에서 절단된 키니노겐이 없거나 검출 불가)로 현상을 감소시키는 것을 또한 포함한다.

[0141] 몇몇 실시형태에서, 후보 대상체는 pKa1 매개된 장애, 예를 들어 HAE 또는 자가면역 질환, 예컨대 RA, UC 및 크론병 등의 증상을 갖는 인간 환자이다. 예를 들어, 대상체는 부종, 종창(여기서, 상기 종창은 완전하거나 주로 말초임); 두드러기; 발작, 통증, 및 감염의 증거의 존재 하의 종창; 히스타민 비매개된 부종, 종창의 재발성 발작, 또는 이의 조합을 가진다. 다른 실시형태에서, 대상체는 샘플이 수집되는 때에 pKa1 매개된 장애의 증상을 갖지 않거나, pKa1 매개된 장애의 증상의 병력을 갖지 않거나, pKa1 매개된 장애, 예컨대 HAE의 병력을 갖지 않는다. 훨씬 다른 실시형태에서, 대상체는 항-히스타민 치료제, 코티코스테로이드 치료제, 또는 둘 다에 저항성이다.

[0142] 본 명세서에 기재된 방법에 의해 확인된 대상체는 적합한 치료로 처리될 수 있다.

[0143] 본 명세서에 기재된 검정 방법 및 키트는, 절단된 HMWK의 수치와 이러한 질환 사이의 상관관계를 고려하면, 혈장 칼리크레인과 연관된 질환, 예컨대 본 명세서에 기재된 것에 대한 치료의 효능의 평가를 위해 적용될 수 있다. 예를 들어, 다수의 생물학적 샘플(예를 들어, 혈액 또는 혈장 샘플)은 치료 전에 및 후에 또는 치료의 과정 동안에 치료가 수행되는 대상체로부터 수집될 수 있다. 절단된 및/또는 온전한 키니노겐의 수치는 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 검정 방법에 의해 측정될 수 있고, 절단된 및/또는 온전한 키니노겐의 (예를 들어, 백분율)은 이에 따라 결정될 수 있다. 절단된 키니노겐의 백분율이 치료 후 또는 치료의 과정에 걸쳐 감소하는 경우(초기에 수집된 샘플에서의 것과 비교된 차후에 수집된 샘플에서의 절단된 키니노겐 백분율) 또는 온전한 키니노겐의 백분율이 치료 후 또는 치료의 과정에 걸쳐 증가하는 경우, 이것은 치료가 효과적이라는 것을 나타낸다. 몇몇 예에서, 치료는 치료제, 예컨대 칼리크레인 저해제, 브래니키닌 B2 수용체 길항제 또는 C1-INH 대체 물질을 수반한다. 치료제의 예는 란다텔루맙(DX-2930), 에칼란타이드(DX-88), 이칸티반트 및 인간 혈장 유래 C1-INH를 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다.

[0144] 대상체가 치료에 반응성이 아닌 것으로 확인되면, 치료제의 더 높은 용량 및/또는 투약의 빈도는 확인된 대상체에게 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 치료제의 용량 또는 투약의 빈도는 치료에 반응성으로서 확인되거나 추가의 치료를 요하지 않는 대상체에서 유지되거나 감소하거나 중단된다. 대안적으로, 상이한 치료는 제1 치료에 반응성이 아닌 것으로 발견된 대상체에게 적용될 수 있다.

[0145] 다른 실시형태에서, 단독의 또는 온전한 키니노겐과 조합된, 절단된 키니노겐의 값은 pKa1 저해제에 의해 치료 가능할 수 있는 장애를 확인하는 것에 또한 의존할 수 있다. 이 방법을 실행하기 위해, 표적 질환을 갖는 대상체(예를 들어, 혈액 샘플 또는 혈장 샘플)로부터 수집된 샘플에서의 절단된 키니노겐의 수치 및/또는 온전한 키니노겐의 수치는 적합한 검정, 예를 들어 본 명세서에 기재된 것, 예컨대 웨스턴 블롯 또는 ELISA 검정에 의해

측정될 수 있다. 절단된 및/또는 온전한 키니노겐의 백분율과 같은 값은 본 명세서에 기재된 바대로 결정될 수 있다. 절단된 키니노겐 및/또는 온전한 키니노겐의 값은 본 명세서에 기재된 바와 같은 기준 값과 비교될 수 있다. 절단된 키니노겐/온전한 키니노겐의 값이 기준 값으로부터 벗어나는 경우(예를 들어, 증가 또는 감소), 이것은 pKa1 저해제가 질환을 치료하는 데 효과적일 수 있다는 것을 나타낸다. 예를 들어, 절단된 키니노겐의 백분율이 치료 후에 또는 치료의 기간에 걸쳐 감소하는 경우, 치료는 효과적인 것으로 확인될 수 있다. 대안적으로, 온전한 키니노겐의 백분율이 치료 후에 또는 치료의 기간에 걸쳐 증가하는 경우, 치료는 효과적인 것으로 확인된다.

[0146] 질환이 pKa1 저해제에 감수성인(이에 의해 치료될 수 있는) 것으로 확인되는 경우, 상기 방법은 유효량의 pKa1 저해제, 예를 들어 에칼란타이드(DX-88), EPIKAL-2 또는 란다텔루맙(DX-2930)을 질환을 갖는 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함할 수 있다.

[0147] 혈장 칼리크레인과 연관된 질환 또는 장애의 중증도 또는 질환 상태를 평가하는 방법이 본 개시내용의 범위 내에 또한 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바대로, HAE는 대상체가 질환의 증상을 나타내지 않는 동안에 휴지 상태(기저 상태)에 있을 수 있다. HAE 발작은 통상적으로 대상체가 2일 내지 5일 지속할 수 있는 예를 들어 손, 발, 얼굴, 위장관, 생식기 및 후두(목)에서의 통증 및 종창을 경험할 수 있는 재발성 삽화이다. 몇몇 실시형태에서, 2-HMWK의 수치는 대상체가 HAE 발작을 경험할 것인지, 경험하는 중인지 또는 곧 경험할 것인지를 나타낸다. 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은 HAE를 갖는 대상체로부터 얻은 샘플에서의 2-HMWK의 수치를 동일한 대상체로부터의 샘플, 예를 들어 기저 상태의 동일한 대상체로부터 얻은 샘플 또는 HAE 발작 동안 동일한 대상체로부터 얻은 샘플에서 2-HMWK의 수치와 비교하는 것을 수반한다.

[0148] (v) 비임상학적 분야

[0149] 추가로, 본 명세서에 기재된 절단된 2-HMWK의 수치를 검출하기 위한 검정은 조사 목적을 위해 이용될 수 있다. 혈장 칼리크레인과 연관되거나 이에 의해 매개된 많은 질환 및 장애가 확인되었지만, 다른 질환이 유사한 기전에 의해 매개되거나 유사한 성분을 수반하는 것이 가능하다. 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 혈장 칼리크레인과 연관되거나 이에 의해 매개되는 것 또는 접촉 활성화 시스템의 성분과 연관된 것으로 질환을 확인하도록 이용될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 방법은 기전(예를 들어, 질환 진행에 관여된 새로운 생물학적 경로 또는 과정의 발견) 또는 질환의 진행을 연구하도록 이용될 수 있다.

[0150] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 검정을 이용하여 측정된 바와 같은 절단된 2-HMWK의 수치는 접촉 활성화 시스템과 연관된 질환에 대한 새로운 치료제의 개발에 의존할 수 있다. 예를 들어, 절단된 2-HMWK의 수치는 새로운 치료제가 투여된 대상체로부터 얻은 샘플에서 측정될 수 있다(예를 들어, 임상 실험). 몇몇 실시형태에서, 절단된 2-HMWK의 수치는 새로운 치료제의 효능 또는 새로운 치료제 전에, 동안에 또는 후에 대상체에서의 질환의 진행을 나타낼 수 있다.

[0151] II. 혈장 칼리크레인과 연관된 질환의 치료

[0152] 본 명세서에 기재된 방법 및 검정을 이용하여 확인되는 것처럼, 혈장 칼리크레인과 연관된 질환의 위험이 있거나 이를 겪는 대상체는 임의의 적절한 치료제에 의해 치료될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 제공된 방법은, 기재된 방법, 예를 들어 절단된 2-HMWK의 수치의 측정의 결과에 기초하여, 대상체에 대한 치료를 선택하는 것을 포함한다.

[0153] 몇몇 실시형태에서, 상기 방법은, 2-HMWK 검출과 같은 검정의 결과에 기초하여, 대상체에 대한 투여에 대해, 치료제, 예를 들어 칼리크레인 저해제, 브래디키닌 B2 수용체 저해제, 및/또는 C1 에스테라제 저해제를 선택하는 것 또는 투여하는 것 중 하나 또는 둘 다를 포함한다.

[0154] 몇몇 실시형태에서, 치료제는 대상체에게 1회 이상 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 저해제는 대상체에게 투여된다. 몇몇 실시형태에서, 칼리크레인 저해제는 펩타이드, 소분자 저해제, 칼리크레인 항체 또는 이들의 단편이다. 몇몇 실시형태에서, 브래디키닌 B2 수용체의 길항제는 대상체에게 투여된다. 몇몇 실시형태에서, C1-INH는 대상체에게 투여된다.

[0155] 치료제, 예를 들어 칼리크레인 저해제, 브래디키닌 B2 수용체 저해제, 및/또는 C1-INH는 접촉 활성화 시스템을 수반하는 질환 또는 병태의 치료를 위한 병용 치료의 일부로서 또 다른 치료와 같이 투여될 수 있다. 예를 들어, 칼리크레인 저해제, 브래디키닌 B2 수용체 길항제 또는 C1-INH 대체 물질 중 하나 이상, 예를 들어 칼리크레인 저해제, 브래디키닌 B2 수용체 길항제 또는 C1-INH 대체 물질 중 하나 이상 및 또 다른 치료제와의 병용 치료는 다수의 상이한 구성으로 제공될 수 있다. 제1 물질은 다른 치료의 투여 전에 또는 후에 투여될 수 있다.

몇몇 상황에서, 제1 물질 및 또 다른 치료(예를 들어, 치료제)는 동시에 또는 시간상 매우 근접하게(예를 들어, 예컨대 동일한 치료 세션 동안 주사 사이의 짧은 시간 간격) 투여된다. 제1 물질 및 다른 치료는 또한 더 긴 시간상 간격으로 투여될 수 있다.

[0156]

혈장 칼리크레인 결합제(예를 들어, 결합 단백질, 예를 들어 폴리펩타이드, 예를 들어 저해 폴리펩타이드, 예를 들어 항체, 예를 들어 저해 항체, 또는 다른 결합제, 예를 들어 소분자)는 다양한 질환 및 병태, 예를 들어 혈장 칼리크레인 활성을 수반하는 질환 및 병태에 대한 유용한 치료제이다. 예를 들어, 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 활성을 수반하는 질환 또는 병태는 유전성 혈관부종(HAE)이다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합제, 예컨대 혈장 칼리크레인 저해제는 활성화 시스템과 연관된 질환의 위험이 있거나 이를 겪는 대상체에게 투여된다.

[0157]

조직 및/또는 혈장 칼리크레인인 칼리크레인의 다수의 유용한 단백질 저해제는 쿠니츠 도메인을 포함한다. 본 명세서에 사용된 바와 같은, "쿠니츠 도메인"은 적어도 51개의 아미노산을 가지고 적어도 2개, 및 바람직하게는 3개의 다이설파이드를 함유하는 폴리펩타이드 도메인이다. 제1 및 제6 시스테인, 제2 및 제4, 및 제3 및 제5 시스테인이 다이설파이드 결합을 형성하도록 도메인이 폴딩되거나(예를 들어, 58개의 아미노산을 갖는 쿠니츠 도메인에서, 시스테인은 하기 제공된 BPTI 상동성 서열의 넘버링에 따라 5번, 14번, 30번, 38번, 51번 및 55번 아미노산에 상응하는 위치에 존재할 수 있고, 다이설파이드는 5번과 55번, 14번과 38번 및 30번과 51번 위치에서의 시스테인 사이에 형성될 수 있음), 2개의 다이설파이드가 존재하는 경우, 이것은 이의 시스테인의 상응하는 하위집단 사이에 형성될 수 있다. 각각의 시스테인 사이의 간격은 하기 제공된 BPTI 서열의 넘버링에 따라 5번 내지 55번, 14번 내지 38번 및 30번 내지 51번에 상응하는 위치 사이에 하기 간격의 7개, 5개, 4개, 3개, 2개, 1개 또는 0개의 아미노산 내에 있을 수 있다. BPTI 서열은 임의의 총괄적 쿠니츠 도메인에서의 특정한 위치를 의미하기 위한 기준으로 사용될 수 있다. BPTI에 대한 관심 있는 쿠니츠 도메인의 비교는 정렬된 시스테인의 수가 최대화되는 베스트 피트 정렬을 확인함으로써 수행될 수 있다.

[0158]

BPTI의 쿠니츠 도메인의 (고해상도의) 3D 구조가 공지되어 있다. X선 구조 중 하나는 "6PTI"로서 브룩헤이븐 단백질 데이터 뱅크(Brookhaven Protein Data Bank)에 기탁된다. 몇몇 BPTI 동족체의 3D 구조(Eigenbrot et al., *Protein Engineering* (1990) 3(7):591-598; Hynes et al., *Biochemistry* (1990) 29:10018-10022)가 공지되어 있다. 적어도 81개의 쿠니츠 도메인 서열이 공지되어 있다. 공지된 인간 동족체는 조직 인자 경로 저해제(TFPI)로도 공지된 LACI의 3개의 쿠니츠 도메인(Wun et al., *J. Biol. Chem.* (1988) 263(13):6001-6004; Girard et al., *Nature* (1989) 338:518-20; Novotny et al., *J. Biol. Chem.* (1989) 264(31):18832-18837), APP-I인 인터- α -트립신 저해제의 2개의 쿠니츠 도메인(Kido et al., *J. Biol. Chem.* (1988) 263(34):18104-18107), 콜라겐으로부터의 쿠니츠 도메인, TFPI-2의 3개의 쿠니츠 도메인(Sprecher et al., *PNAS USA* (1994) 91:3353-3357), 간세포 성장 인자 활성화 저해제 1형의 쿠니츠 도메인, 간세포 성장 인자 활성화 저해제 2형의 쿠니츠 도메인, 미국 특허 공보 제2004-0152633호에 기재된 쿠니츠 도메인을 포함한다. LACI는 3개의 쿠니츠 도메인을 함유하는 39kDa의 분자량을 갖는 인간 혈청 포스포단백질(표 1에서의 아미노산 서열)이다.

표 1

예시적인 천연 쿠니츠 도메인

LACI (서열 번호 78)	<p>1 MIYTMKKVHA LWASVCLLN LAPAPLNads eedehtiit dtelpplkIM 51 HSFCAPKADD GPCKAIMKRF FFNIFTRQCE EFIYGGCEGN QNRFESLEEC 101 KKMCTRDnan riikttlqqe kpdfCfleeed pgiCrgyitr yfynnqtqkC 151 erfkyggClg nmnnfetlee CkniCedgpn gfvvdnygtq lnavnnsitp 201 qstkvpslfe fhgpswCltp adrglCrane nrfyynsvig kCrpfkysgC 251 ggnennftsk qeClraCkkg fiqriskggl iktkrkrkkq rvkiayeeif 301 vknm</p> <p>신호 서열(1-28)은 대문자이고 밑줄 표시된다 LACI-K1(50-107)은 대문자이다 LACI-K2(121-178)는 밑줄 표시된다 LACI-K3(211-270)은 볼드체이다</p>
BPTI (서열 번호 79)	<p>1 2 3 4 5 123456789012345678901234567890123456789012345678 RPDFCLEPPYTGPCKARIIRFYNAKAGLCQTFVYGGCRAKRNNFKSAEDCMRTCGGA</p>

[0159]

- [0160] 상기 쿠니츠 도메인은 LACI-K1(50번 내지 107번 잔기), LACI-K2(121번 내지 178번 잔기) 및 LACI-K3(213번 내지 270번 잔기)이라 칭해진다. LACI의 cDNA 서열은 Wun 등(*J. Biol. Chem.* (1988) 263(13):6001-6004)에서 보고되어 있다. Girard 등(*Nature* (1989) 338:518-20)은 3개의 쿠니츠 도메인의 각각의 P1 잔기가 변경되는 돌연변이를 연구를 보고한다. LACI-K1은 F.VIIa가 조직 인자와 복합체화될 때 VIIa 인자(F.VIIa)를 저해하고, LACI-K2는 Xa 인자를 저해한다.
- [0161] 다양한 방법은 서열 데이터베이스로부터 쿠니츠 도메인을 확인하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 쿠니츠 도메인의 공지된 아미노산 서열, 공통 서열 또는 모티프(예를 들어, ProSite 모티프)는 예를 들어 BLAST를 이용하여 GenBank 서열 데이터베이스(국립 생물공학 정보 센터(National Center for Biotechnology Information), 국립 보건원(National Institutes of Health)(메릴랜드주 베데스다))에 대해; 예를 들어 Pfam 조사에 대한 디폴트 매개변수를 사용하여 HMM(Hidden Markov Model)의 Pfam 데이터베이스에 대해; 또는 ProDom 데이터베이스에 대해 조사될 수 있다. 예를 들어, Pfam Release 9의 Pfam 수탁 번호 PF00014는 다수의 쿠니츠 도메인 및 쿠니츠 도메인을 확인하기 위한 HMM을 제공한다. Pfam 데이터베이스의 설명은 문헌[Sonhammer et al. *Proteins* (1997) 28(3):405-420]에서 발견될 수 있고, HMM의 상세한 설명은 예를 들어 문헌[Gribskov et al. *Meth. Enzymol.* (1990) 183:146-159; Gribskov et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1987) 84:4355-4358; Krogh et al. *J. Mol. Biol.* (1994) 235:1501-1531; 및 Stultz et al. *Protein Sci.* (1993) 2:305-314]에서 발견될 수 있다. 문헌[Schultz et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1998) 95:5857 and Schultz et al. *Nucl. Acids Res* (2000) 28:231]에 기재된 바와 같은 HMM의 SMART 데이터베이스(Simple Modular Architecture Research Tool, EMBL, 독일 하이델베르크). SMART 데이터베이스는 HMMer2 조사 프로그램의 숨겨진 Markov 모델에 의해 프로파일링함으로써 확인된 도메인을 함유한다(R. Durbin et al. (1998) *Biological sequence analysis: probabilistic models of proteins and nucleic acids*. Cambridge University Press). 데이터베이스는 또한 주석되고 모니터링된다. ProDom 단백질 도메인 데이터베이스는 상동성 도메인의 자동 편집으로 이루어진다(Corpet et al. *Nucl. Acids Res.* (1999) 27:263-267). ProDom의 현재의 버전은 SWISS-PROT 38 및 TREMBL 단백질 데이터베이스의 재귀적 PSI-BLAST 조사(Altschul et al. *Nucleic Acids Res.* (1997) 25:3389-3402; Gouzy et al. *Computers and Chemistry* (1999) 23:333-340)를 이용하여 지어진다. 데이터베이스는 자동으로 각각의 도메인에 대한 공통 서열을 생성한다. Prosite는 쿠니츠 도메인을 모티프로서 기재하고, 쿠니츠 도메인을 포함하는 단백질을 확인한다. 예를 들어, 문헌[Falquet et al. *Nucleic Acids Res.* (2002) 30:235-238]을 참조한다.
- [0162] 쿠니츠 도메인은 2개의 루프 영역("결합 루프")에서 주로 아미노산을 사용하여 표적 프로테아제와 상호작용한다. 제1 루프 영역은 BPTI의 13번 내지 20번 아미노산에 상응하는 잔기 사이이다. 제2 루프 영역은 BPTI의 31번 내지 39번 아미노산에 상응하는 잔기 사이이다. 쿠니츠 도메인의 예시적인 라이브리리는 제1 및/또는 제2 루프 영역에서 하나 이상의 아미노산 위치가 변한다. 칼리크레인과 상호작용하는 쿠니츠 도메인을 스크리닝할 때 또는 개선된 친화도 변이체에 대해 선택할 때 변하는 특히 유용한 위치는 BPTI의 서열과 관련하여 13번, 15번, 16번, 17번, 18번, 19번, 31번, 32번, 34번 및 39번 위치를 포함한다. 이들 위치 중 적어도 몇몇은 표적 프로테아제와 가깝게 접촉하는 것으로 예상된다. 다른 위치, 예를 들어 3차원 구조에서 상기 언급된 위치에 인접한 위치를 변화시키는 것이 또한 유용하다.
- [0163] 쿠니츠 도메인의 "프레임워크 영역"은, 쿠니츠 도메인의 일부이지만, 구체적으로 제1 및 제2 결합 루프 영역에서의 잔기, 즉 BPTI의 13번 내지 20번 아미노산 및 BPTI의 31번 내지 39번 아미노산에 상응하는 잔기를 배제한, 잔기로서 정의된다. 반대로, 결합 루프에 있지 않은 잔기는 더 넓은 범위의 아미노산 치환(예를 들어, 보존적 치환 및/또는 비보존적 치환)을 용인할 수 있다.
- [0164] 일 실시형태에서, 이 쿠니츠 도메인은 인간 지단백질 연관된 응고 저해제(LACI) 단백질의 쿠니츠 도메인 1을 포함하는 루프로 된 구조의 변이체 형태이다. LACI는 파라다임 쿠니츠 도메인인 3개의 내부의 잘 한정된 펩타이드 루프 구조를 함유한다(Girard, T. et al., *Nature* (1989) 338:518-520). 본 명세서에 기재된 LACI의 쿠니츠 도메인 1의 변이체는 스크리닝되고, 단리되고, 증대된 친화도 및 특이성으로 칼리크레인에 결합한다(예를 들어 미국 특허 제5,795,865호 및 제6,057,287호 참조). 이들 방법은 칼리크레인, 예를 들어 혈장 칼리크레인과 상호작용하는 다른 쿠니츠 도메인을 얻기 위해 다른 쿠니츠 도메인 프레임워크에 또한 적용될 수 있다. 칼리크레인 기능의 유용한 조절제는 통상적으로 칼리크레인 결합 및 저해 검정을 이용하여 결정된 바대로 칼리크레인에 결합하고/하거나, 이를 저해한다.
- [0165] 몇몇 양태에서, 혈장 칼리크레인 저해제는 혈장 칼리크레인의 활성 형태에 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 혈장

칼리크레인 저해제는 혈장 칼리크레인, 예를 들어 인간 혈장 칼리크레인 및/또는 쥐와 칼리크레인에 결합하거나 이를 저해한다. 예시적인 폴리펩타이드 혈장 칼리크레인 물질은 미국 특허 제5,795,865호, 미국 특허 제 5,994,125호, 미국 특허 제6,057,287호, 미국 특허 제6,333,402호, 미국 특허 제7,628,983호, 및 미국 특허 제 8,283,321호, 미국 특허 제7,064,107호, 미국 특허 제7,276,480호, 미국 특허 제7,851,442호, 미국 특허 제 8,124,586호, 미국 특허 제7,811,991호 및 미국 공보 제20110086801호(이의 각각의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 저해제는 저해 폴리펩타이드 또는 펩타이드이다. 몇몇 실시형태에서, 저해 펩타이드는 에칼란타이드(DX-88 또는 KALBITOR(등록상표); 서열 번호 80이라고도 칭함)이다. 몇몇 실시형태에서, 칼리크레인 저해제는 서열 번호 80의 3번 내지 60번 아미노산의 약 58개 아미노산 서열 또는 서열 번호 80의 60개 아미노산 서열을 갖는 DX-88 폴리펩타이드를 포함하거나, 이들로 이루어진다.

[0166] Glu Ala Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp Gly Pro Cys Arg Ala Ala His Pro Arg Trp Phe Phe Asn Ile Phe Thr Arg Gln Cys Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn Arg Phe Glu Ser Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp (서열 번호 80).

[0167] 혈장 칼리크레인 저해제는 전장 항체(예를 들어, IgG(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA(예를 들어, IgA1, IgA2), IgD 및 IgE)일 수 있거나, 오직 항원 결합 단편(예를 들어, Fab, F(ab')₂ 또는 scFv 단편)을 포함할 수 있다. 결합 단백질은 2개의 중쇄 면역글로불린 및 2개의 경쇄 면역글로불린을 포함할 수 있거나, 단쇄 항체일 수 있다. 혈장 칼리크레인 저해제는 제조할 단백질, 예컨대 인간화된, CDR 그래프팅된, 키메라성, 탈면역화된 또는 시험관내 생성된 항체일 수 있고, 인간 생식선 면역글로불린 서열로부터 유래한 불변 영역을 임의로 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 저해제는 단일클론 항체이다.

[0168] 예시적인 혈장 칼리크레인 결합 단백질은 미국 공보 제20120201756호(이의 전체 내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)에 개시되어 있다. 몇몇 실시형태에서, 칼리크레인 결합 단백질은 M162-A04, M160-G12, M142-H08, X63-G06, X101-A01(DX-2922라고도 칭해짐), X81-B01, X67-D03, X67-G04, X81-B01, X67-D03, X67-G04, X115-B07, X115-D05, X115-E09, X115-H06, X115-A03, X115-D01, X115-F02, X124-G01(본 명세서에서 DX-2930 또는 라나텔루맙이라고도 칭해짐), X115-G04, M29-D09, M145-D11, M06-D09 및 M35-G04로 이루어진 군으로부터 선택된 항체의 경쇄 및/또는 중쇄를 갖는 항체(예를 들어, 인간 항체)이다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 단백질은 M162-A04, M160-G12, M142-H08, X63-G06, X101-A01(본 명세서에서 DX-2922이라고도 칭해짐), X81-B01, X67-D03, X67-G04, X81-B01, X67-D03, X67-G04, X115-B07, X115-D05, X115-E09, X115-H06, X115-A03, X115-D01, X115-F02, X124-G01, X115-G04, M29-D09, M145-D11, M06-D09 및 M35-G04와 동일한 에피토프와 경쟁하거나 이들에 결합한다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 결합 단백질은 라나텔루맙이다. US 제20110200611호 및 US 제20120201756호(본 명세서에 참고로 포함됨)를 참조한다.

[0169] 혈장 칼리크레인 저해 항체의 예는 라나텔루맙이다. 라나텔루맙의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 하기 제공되고, CDR 영역은 볼드체로 및 밑줄이 그어져 확인된다.

[0170] 라나텔루맙 중쇄 가변 영역 서열 (서열 번호 81)

[0171] EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS HYIMWVRQA PGKGLEWVSG IYSSGGITVY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAYRR IGVPRRDEFD IWGQGTMTV SS

[0172] 라나텔루맙 경쇄 가변 영역 서열 (서열 번호 82)

[0173] DIQMTQSPS TLSASVGRV TITCRASQSI SSWLAWYQK PGKAPKLLIY KASTLESGVP SRFSGSGSGT EFTLTISLQ PDDFATYYCQ QYNTYWFYFGQ GTKVEI

[0174] 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 저해제는 본 명세서에 기재된 혈장 칼리크레인 저해제와 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 이것 초과와 서열 동일성을 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 저해제는 본 명세서에 기재된 혈장 칼리크레인 저해제와 HC 및/또는 LC 프레임워크 영역(예를 들어, HC 및/또는 LC FR 1, 2, 3, 및/또는 4)에서 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 이것 초과와 서열 동일성을 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 저해제는 본 명세서에 기재된 혈장 칼리크레인 저해제와 HC 및/또는 LC CDR(예를 들어, HC 및/또는 LC CDR1, 2, 및/또는 3)에서 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 이것 초과와 서열 동일성을 가질 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 혈장 칼리크레인 저해제는 본 명세서에 기재된 혈장 칼리크레인 저해제와 불변 영역(예를 들어, CH1, CH2, CH3, 및/또는 CL1)에서 약 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 또는

는 이것 초과와 서열 동일성을 가질 수 있다.

[0175] 몇몇 양태에서, 소분자는 혈장 칼리크레인의 활성 형태에 결합하고 이를 저해한다.

[0176] **브래디키닌 B2 수용체 저해제**

[0177] 몇몇 실시형태에서, 브래디키닌 B2 수용체 저해제(예를 들어, 길항제)는 대상체에게 투여된다. 예시적인 브래디키닌 B2 수용체 길항제는 이카티반트(Firazyr(등록상표))를 포함하고, 이는 브래디키닌 B2 수용체에 대한 네이티브 브래디키닌의 결합을 차단하는 10개의 아미노산을 함유하는 펩티도미메틱 약물이다.

[0178] **C1-INH 대체 물질**

[0179] 몇몇 실시형태에서, C1 에스테라제 저해제(C1-INH), 예컨대 대체 C1-INH 물질은 대상체에게 투여된다. 예시적인 C1-INH 대체 물질은 공중에 이용 가능하고, 예를 들어 인간 혈장 유래 C1-INH, 예를 들어 Berinert(등록상표) 및 CINRYZE(등록상표)를 포함한다.

[0180] **III. 절단된 HMWK의 검출을 위한 키트**

[0181] 본 개시내용은 절단된 HMWK를 함유하는 것으로 의심되는 샘플, 예를 들어 인간 환자로부터의 생물학적 샘플에서 절단된 HMWK를 평가하는 데 사용하기 위한 키트를 또한 제공한다. 이러한 키트는 온전한 HMWK 또는 LMWK와 비교하여 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 제1 물질을 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 제1 물질은 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 임의의 항체(예를 들어, 559B-M004 또는 본 명세서에 기재된 바와 같은 이의 기능성 변이체)와 같은 항체이다. 몇몇 실시형태에서, 키트는 절단된 HMWK에 대한 제1 물질의 결합을 검출하기 위한 제2 물질(예를 들어, HMWK에 결합하는 항체)을 더 포함한다. 제2 물질은 라벨에 접합될 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 제2 물질은 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체이다. 다른 실시형태에서, 제2 물질은 절단된 HMWK 및 온전한 HMWK 둘 다와 교차 반응하는 항체이다.

[0182] 키트는 면역검정법을 수행하고, 제1 물질을 부동화하기 위한 지지체 부재를 더 포함할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 지지체 부재는 96웰 플레이트, 예컨대 96웰 ELISA 플레이트이다. 키트는 코팅 완충제; 검정 완충제, 예컨대 $ZnCl_2$ 를 함유하는 검정 완충제; 차단 완충제; 세척 완충제; 및/또는 중지 완충제로 제한되지는 않는, 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 완충제를 또한 포함할 수 있다.

[0183] 몇몇 실시형태에서, 키트는 본 명세서에 기재된 임의의 방법에 따라 사용하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 포함된 설명서는, 인간 환자로부터 수집된 생물학적 샘플일 수 있는, 샘플에서 절단된 및/또는 온전한 HMWK의 수치를 측정하기 위해 키트에 함유된 성분을 어떻게 사용할지의 설명을 포함할 수 있다. 대안적으로 또는 게다가, 키트는 LMWK의 수치를 측정하기 위해 키트에 함유된 성분을 어떻게 사용할지의 설명을 포함할 수 있다.

[0184] 키트의 사용에 관한 설명서는 일반적으로 각각의 성분의 양 및 본 명세서에 기재된 검정 방법을 수행하기에 적합한 조건에 관한 정보를 포함한다. 키트에서의 성분은 단일 용량, 벌크 패키지(예를 들어, 다중 용량 패키지) 또는 하위단위 용량일 수 있다. 본 개시내용의 키트에 공급된 설명서는 통상적으로 라벨 또는 패키지 인서트(예를 들어, 키트에 포함된 종이 시트) 위의 서면 설명서이지만, 기계 판독 가능한 설명서(예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크에 보유된 설명서)가 또한 허용 가능하다.

[0185] 라벨 또는 패키지 인서는 키트가 절단된 및/또는 온전한 HMWK의 수치를 평가하기 위해 사용된다는 것을 나타낸다. 몇몇 실시형태에서, 키트는 LMWK의 수치를 평가하기 위해 사용된다. 설명서는 본 명세서에 기재된 임의의 방법을 실행하기 위해 제공될 수 있다.

[0186] 본 개시내용의 키트는 적합한 패키징에 있다. 적합한 패키징은 바이알, 병, 단지, 가요성 패키징(예를 들어, 밀봉 Mylar 또는 플라스틱 백) 등을 포함하지만, 이들로 제한되지는 않는다. 특정한 장치, 예컨대 흡입기, 비강 흡입 장치(예를 들어, 분무기) 또는 인퓨전 장치, 예컨대 미니펌프와 조합하여 사용하기 위한 패키지가 또한 고려된다. 키트는 무균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘이 관통할 수 있는 스톱퍼를 갖는 바이알일 수 있음). 용기는 또한 무균 접근 포트를 가질 수 있다(예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘이 관통할 수 있는 스톱퍼를 갖는 바이알일 수 있음).

[0187] 키트는 임의로 추가 성분, 예컨대 해석적 정보, 예컨대 대조 및/또는 표준 또는 기준 샘플을 제공할 수 있다. 보통, 키트는 용기 및 용기 위의 또는 이것과 연관된 라벨 또는 패키지 인서트(들)를 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 본 개시내용은 상기 기재된 키트의 내용물을 포함하는 제조 물품을 제공한다.

[0188] IV. 절단된 HMWK에 결합하는 다른 항체

[0189] 절단된 HMWK 및 온전한 HMWK 둘 다에 결합하는 단리된 항체는 또한 본 명세서에 제공된다. 몇몇 실시형태에서, 이러한 항체는 LMWK에 결합하지 않거나 낮은 친화도로 LMWK에 결합한다. 다른 실시형태에서, 이러한 항체는 또한 LMWK에 결합한다.

[0190] 몇몇 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 절단된 HMWK에 특이적으로 결합하는 항체 및 온전한 HMWK(또는 추가로 LMWK)는 하나 이상의 표적 항원에 대한 적합한 결합 친화도를 가질 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체는 적어도 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M, 또는 이것보다 적은 결합 친화도(K_D)를 가질 수 있다.

[0191] 상기 기재된 항체의 예 및 이의 결합 특이성은 하기 실시예 2에서 표 2에 제공된다. 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열은 하기 제공되고, CDR 영역은 (예로서 하나의 체계에 의해 결정된) 볼드체로 및 밑줄이 그어져 확인된다:

>550B-R0049-A01 (550B-M0067-E02) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 6)
EVQLLES^{GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSL}LYPMVWVRQAPGKGLEWVSSSIYPSGGFTTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCAR^{SSRYYYGMDVWGQGTITVTVSS}

>550B-R0049-A01 (550B-M0067-E02) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 7)
QYELTQPPSM^{SGTIFGQRVTISCSGSSSNIGSEYVYWFQQLPGTAPKLLIV}RNDQRPSGVDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDET
DYIC^{STWDDTLRTGVFGGGTKVTVL}

>550B-R0049-G05 (550B-M0039-G07) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 8)
EVQLLES^{GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS}RYRMVWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGFTTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCTT^{DNGDYALAHWGQGTITVTVSS}

>550B-R0049-G05 (550B-M0039-G07) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 9)
QDIQMTQSP^{SSLSASVGDRTITTCRASQRIINYNLWVQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVTSRFSGSGSGTFTLTIS}SLQPEDFA
TYIC^{QQSYAPLTFGGGTRVEIK}

>550B-R0048-A09 (550B-M0044-E09) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 10)
EVQLLES^{GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS}QYSMGWVRQAPGKGLEWVSSIYSSGGSTQYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTATYYCAR^{TRRGWFGEDYIIYMDVWGQGTITVTVSS}

>550B-R0048-A09 (550B-M0044-E09) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 11)
QDIQMTQSP^{SSLSASVGDRTITTCRASQIRINDVGVYQQKPGKAPQRLIYAASSLQSGVTSRFSGSGSGTEFTLTIS}SLQPEDFA
TYIC^{LQHNSYPLTFGGGTRVEIK}

>550B-R0048-E01 (550B-M0003-C08) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 12)
EVQLLES<sup>GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPYIMVWVRQAPGKGLEWVSSISPSGGKTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCAR^{LGGSSSYIIYMDVWGQGTITVTVSS}</sup>

>550B-R0048-E01 (550B-M0003-C08) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 13)
QSALTQSP<sup>SASGTFGQRVTISCSGSSSNIGGNTVNWYQQFPGTAPKLLIYSNNQRPSGVDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEA
IYYC^{ASWDDRLNGHWVFGGGTRLTVL}</sup>

>550B-R0049-G01 (550B-M0039-H06) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 14)
EVQLLES^{GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS}AYDMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSGGGTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCAR^{GDDYDGFDAFDI}WGQGTITVTVSS

>550B-R0049-G01 (550B-M0039-H06) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 15)
QSALTQPA^{SVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNLVS}WYQQHPGKAPKLMIVEGSKRPSGVDRFSGSKSGNTASLIISGLQAEDE
ADYY^{CCSYAGSYSYVFGTGRITVL}

>550B-R0049-E05 (550B-M0039-D08) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 16)
EVQLLES^{GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS}NIYAMQWVRQAPGKGLEWVSSWIYSSGGPTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCAR^{GLPGQPFDFY}WGQGTITVTVSS

>550B-R0049-E05 (550B-M0039-D08) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 17)

[0192]

QSELTPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGNVYVYVYQQFPGTAPKLLIYRNNQRPSGVTPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA
DYVCATWDDRLSGWVFGGGLTKLTVL

>559B-R0048-A11 (559B-M0068-C07) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 18)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYQMHVVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGSTPYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS
LRAEDTAVVYCARGHHGMDVWVGQTTVTSS

>559B-R0048-A11 (559B-M0068-C07) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 19)
QDIQMTQSPSSVSASVGRVITTCRASQGISSWLAWYQQKPKGAPKLLIYAASNLSQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFA
TVYCQKYNIAPIYTFGGGKLEIK

>559B-R0048-A03 (559B-M0021-G11) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 20)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYPMTVVRQAPGKGLEWVSGISSGGSTPYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS
LRAEDTAVVYCARMVRGVIAKAFDIWVGQTMVTSS

>559B-R0048-A03 (559B-M0021-G11) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 21)
QVELTPPSASGTPGQRTVITSCSGSSSNIGSHYVFWYQQLPGAAPKLLIYRNNQRPSGVTPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEA
DYVCATWDSNLSAWVFGGGLTKLTVL

>559B-R0048-C05 (559B-M0061-G06) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 22)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYTMVVRQAPGKGLEWVSVISSGGKTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS
LRAEDTAVVYCARTANRPFDIWVGQTMVTSS

>559B-R0048-C05 (559B-M0061-G06) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 23)
QDIQMTQSPAALSVSPGERATLSCRASQSVSSDLAWYQQKPGQAPRLLIHGASTRATGIPARFSGSGSGREFTLTISLQSEDF
VYYCQYNDWPPLEFGPGTKVNIK

>559B-R0049-A03 (559B-M0036-G12) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 24)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYYMAVVRQAPGKGLEWVSGIVPSGGQTGYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS
LRAEDTAVVYCARTRRGWFGEDYVYMDVWVGKGLVTSS

>559B-R0049-A03 (559B-M0036-G12) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 25)
QDIQMTQSPGTLSPGERATVSCRASQSVGSTYLAWYQHKGAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISLQEPEDF
AIYYCQHFHTSPPGITFGGQTRLLEIK

>559B-R0048-C09 (559B-M0042-E06) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 26)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYKMSVVRQAPGKGLEWVSVISPSGGRTYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNS
LRAEDTAVVYCARGTRTSGLDVWVGQGLVTSS

>559B-R0048-C09 (559B-M0042-E06) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 27)
QSALTQPASVSGSPGQSIITISCTGTSSDVGGYKYVSWYQQHPGKAPKLLIYVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE
ADYYCSSYTSSTTVWFGGGLTKLTVL

[0193]

>550B-R0048-E00 (550B-M0070-H10) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 28)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**TYGMR**WVRQAPGKLEWVS**VISPSGGKTN**YADSVKGRFTISRDNSEKNTLYLQMNS
LRAEDTAVIYCARG**RPDYAMDV**WGQGTITVTVSS

>550B-R0048-E00 (550B-M0070-H10) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 29)
QSALTQPPSASGAPGQRTVITSC**SGSSSNIGSNTVNW**YQKLPGTAPKLLI**YNDRRPS**GVPDFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEA
DIYCAAWDDSLSGPVFGGKLTIVL

>550B-R0048-E05 (550B-M0068-D01) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 30)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**IYPM**SWVRQAPGKLEWVS**GISPSGGKTAY**ADSVKGRFTISRDNSEKNTLYLQMNS
LRAEDTAVIYCARG**QGRAVRGKLYYGM**DVWGQGTITVTVSS

>550B-R0048-E05 (550B-M0068-D01) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 31)
QSALTQPPSASGAPGQRTVITSC**SGSSSNIGTNNWN**YQKLPGTAPKLLI**SSHRRPS**GVPDFSASKSGTSASLAISGLQSEDEA
DIYCAAWDDSLNGPVFGGKLTIVL

>550B-R0048-C01 (550B-M0004-E08) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 32)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**MYHM**NWVRQAPGKLEWVS**SIYSSGGSTRY**ADSVKGRFTISRDNSEKNTLYLQMNS
LRAEDTAVIYCARG**VRYGM**DVWGQGTITVTVSS

>550B-R0048-C01 (550B-M0004-E08) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 33)
QDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCR**ASQGIS**SLAWYQKPKGAPKLLI**YAASSLQ**SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFA
TYIC**QQANSFPIT**FGGKTRLEIK

>550B-R0049-C01 (550B-M0069-C09) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 34)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**MYDMH**WVRQAPGKLEWVS**SISSSGGYTQY**ADSVKGRFTISRDNSEKNTLYLQMNS
LRAEDTAVIYCARG**RLIAAAGG**FDVWGQGTITVTVSS

>550B-R0049-C01 (550B-M0069-C09) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 35)
QDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCR**ASQSIGI**YLNWYQKPKGAPKLLI**YAASSLQ**SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPDFA
TYIC**QRTYGRPLT**FGGKTRLEIK

>550B-R0049-A05 (550B-M0038-F04) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 36)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**KYEM**MWVRQAPGKLEWVS**SISPSGGYTM**YADSVKGRFTISRDNSEKNTLYLQMNS
LRAEDTAVIYCARG**HRKWNDA**PFDSWGQGTITVTVSS

>550B-R0049-A05 (550B-M0038-F04) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 37)
QDIQMTQSPSSLSASVGDRVAITCR**ASQSIDTYL**NWYQKPKGAPKLLI**YAASKLED**GVPSRFSGSGTGTDFLTIRSLQPEDFA
SYFC**QQSYSSPGIT**FGPGKTRLEIK

>550B-R0048-G05 (550B-M0044-C05) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 38)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**IYQMY**WVRQAPGKLEWVS**SIYSSGGRTFY**ADSVKGRFTISRDNSEKNTLYLQMNS
LRAEDTAVIYCARG**SWYVGGNEYFQH**WGQGTITVTVSS

>550B-R0048-G05 (550B-M0044-C05) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 39)

[0194]

QSVLTQSPSLSLSPGQTASIPCSGDTLGNKFVSWYQQKFGQSVLVIYQDTKFPSGIPERFSGSNSGNTATLTITGTQAMDEADY
YQVWDSNSYAFGPGTKVTVL

>559B-R0048-C11 (559B-M0047-H01) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 40)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYMMYVVRQAPGKGLEWVSSISSGGFTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCARVRLAVAAPDYWGQGLTVTVSS

>559B-R0048-C11 (559B-M0047-H01) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 41)
QSELTPASVSGSPGQSITISCIQTSSDIGTYNYVSWYQQHPGKAPKLMYDVNTRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE
ADYYCSSYTTSTVWVFGGGTTLTVL

>559B-R0048-C03 (559B-M0010-E12) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 42)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYMMYVVRQAPGKGLEWVSRISPSGGWTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCTRGQWMDVWGQGLTVTVSS

>559B-R0048-C03 (559B-M0010-E12) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 43)
QDIQMTQSPSSLSASVGRVITICRASQNTIGYLNWYQQKPKAPNLLIYDASRMNTGVPSRFSGSGSGTDYILTIVKLEPEDIG
TYFCQHTDDFSVTFGGGTVKDLK

>559B-R0048-A05 (559B-X0004-B05) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 44)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYMMYVVRQAPGKGLEWVSVISSGGYTAYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSL
RAEDTAVYYCAAKRNRAFDIWGQGLTVTVSS

>559B-R0048-A05 (559B-X0004-B05) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 45)
QDIQMTQSPDSLAVSLGERATINCSSQSVLYSSNNKYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISL
QAEDVAVYYCQYYSTPLGFGGQTKLEIK

>559B-R0048-E11 (559B-M0048-D12) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 46)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYQMTVVRQAPGKGLEWVSSIGSSGGFTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCARLPANFYMMYDVWGQGLTVTVSS

>559B-R0048-E11 (559B-M0048-D12) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 47)
QDIQMTQSPSSLSASVGRVITICRASQNIYSFLAWYQQKPGKAPKLLIYATSSSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFA
SYICQQNYNIPWTFGGGQTKVEIK

>559B-R0048-G11 (559B-M0053-G01) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 48)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYMMYVVRQAPGKGLEWVSSIVPSGGWITYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCATEGNLWFGEGRAFDIWGQGLTVTVSS

>559B-R0048-G11 (559B-M0053-G01) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 49)
QDIQMTQSPGTLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF
AVYYCQQRSNWPPSFGQGLRLDIK

>559B-R0049-C05 (559B-M0038-H03) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 50)
EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSKYDMHIVVRQAPGKGLEWVSRISSSGGKTEYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS

[0195]

LRAEDTAVYYCAREYRYCTANTCSLYGMDVWGRGTTVTVSS

>559B-R0049-C05 (559B-M0038-H03) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 51)

QDIQMTQSPSSLSASVGDRVAITCRTSQGVRSDFAWYQQKPGKAPRLIYAAFILDNGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFA
TYYCQQSYSTPLTFGGGTKVEMK

>559B-R0048-E03 (559B-M0017-H08) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 52)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPYWMHWVRQAPGKGLEWVSVISPSGGGTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCARESRSGSGSHEDYWGQGLTVTVSS

>559B-R0048-E03 (559B-M0017-H08) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 53)

QDIQMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLIYGASNRGTGIPARFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFA
VYFCQQYKNWPLTFGGGTKVDIK

>559B-R0049-E03 (559B-M0036-F05) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 54)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYPMWVRQAPGKGLEWVSGIVSSGGRTVYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCARDPYDFWSEGAFDIWGQGTMTVTSS

>559B-R0049-E03 (559B-M0036-F05) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 55)

QSVLTQPPASGTPGQRTISCSGSSSNIGNNFYVYHQVPTGAPKLLIYKNNQRPSGVPDFSGSKSAASASLAISGLRSEDEA
DIYCAAWDNSLSGFIYVFGAGTKVTVL

>559B-R0049-G03 (559B-M0036-H09) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 56)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYGMHWVRQAPGKGLEWVSRIGPSGGPTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCARGYYGTGRYFQHWGQGLTVTVSS

>559B-R0049-G03 (559B-M0036-H09) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 57)

QDIQMTQSPDSLSPGDRATLSCRASQSVGSDYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLSEPDF
AVYYCQQRSNWPPTFGGGTKVEIK

>559B-R0048-A07 (559B-M0043-C06) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 58)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYAMRWVRQAPGKGLEWVSYISSSGGETMYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCANGYGRIDYWGQGLTVTVSS

>559B-R0048-A07 (559B-M0043-C06) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 59)

QSVLTQPASVSGSPGQSITISCTIGTSSDIGGNYVSYWYQQHFGKAPKLLMIYEVSNRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDE
ADYYCSSYTSSGSTRVFGTGTRVTVL

>559B-R0048-G01 (559B-M0003-A08) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 60)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSAYVMRWVRQAPGKGLEWVSSIGSSGGPTTYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCARRGSGSGSHAFDIWGQGTMTVTSS

>559B-R0048-G01 (559B-M0003-A08) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 61)

QDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDSG
TYYCQQYNSFPLTFGGGTKVEIK

[0196]

>550B-R0048-G09 (550B-M0054-B11) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 62)
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSY**YGMWVRQAPGKGLEWVSVISPSGGLTVYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAMVYCAT**GAFAVQHGGGAFDI**WGQGTMTVTVSS

>550B-R0048-G09 (550B-M0054-B11) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 63)
 QDIQMTQSPATLSMPGERATLSC**RASQSVITTLAWYQQKPGQAPRLLIYDASIRATGVPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFA**
 VYYC**QQRITIWPLTF**GGGKVEIK

>550B-R0048-E07 (550B-M0067-G11) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 64)
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**PYEMWVRQAPGKGLEWVSSIIVPSGGWTVYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVVYCAS**PSGRGLAFDI**WGQGTMTVTVSS

>550B-R0048-E07 (550B-M0067-G11) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 65)
 QDIQMTQSPGTLSPGERATLSC**RASQSISSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS**SLQPEDF
 ATYYC**LQKSYPTTF**GGGKVEIK

>550B-R0048-C07 (550B-M0065-B10) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 66)
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**KYFMTWVRQAPGKGLEWVSWISSSGGYTNYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVVYCARG**AYYYDAFDI**WGQGTMTVTVSS

>550B-R0048-C07 (550B-M0065-B10) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 67)
 QDIQMTQSPSSLSASVGRVTIT**CRASQSIATFLN**WYQQKPGKPPKLLI**YGASTLQSGVPSRFS**SGSGSGADFTLTISNLQLEDFT
 TY**YCCQSYSTLYTF**GGGKLEIK

>550B-R0049-C03 (550B-M0037-E08) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 68)
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**RYSMWVRQAPGKGLEWVSVISSSGMTYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAMVYCARD**YVGNMDVW**GKGTITVTVSS

>550B-R0049-C03 (550B-M0037-E08) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 69)
 QDIQMTQSPSSLSASVGRVTIT**CRTSQDISGALA**WYQQKPGKAPRLI**IFGASSLES**GVPSTRFSGSGSGTDFTLTIS**SLQPEDFA**
 TY**YCCQFNKYPLTF**GGGKVEIK

>550B-R0049-E01 (550B-M0035-A01) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 70)
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**WYTMGWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITMYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVVYCAN**PYSSGGYWGQ**TLTVTVSS

>550B-R0049-E01 (550B-M0035-A01) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 71)
 QDIQMTQSPSLSPVTPGEPASIS**CRSSQSLDSNGYNYLDWFLQKPGQSPQLLIYLGFNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVE**
 AEDVGVY**YCMQALQTPYTF**GGGKLEIT

>550B-R0048-G03 (550B-M0003-E08) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 72)
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**AYLMTWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGITKYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVVYCARD**IPNWIYGMVW**GQGTITVTVSS

>550B-R0048-G03 (550B-M0003-E08) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 73)
 QSALTQPPSVSVSPGQTASITC**SGDKLGKAYASWYQQKPGQSPVLVIYQDRRRP**SGIPERFSGNSGNTATLTISGTQAMDEADY
 YC**QAWDSGVVFGG**GKLTVL

>550B-R0048-G07 (550B-M0052-E02) 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 74)
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**NYLMLWVRQAPGKGLEWVSGISPSGGTAYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNS
 LRAEDMAVYCA**KVAYSGSY**YYYYYMDVWGKGTITVTVSS

>550B-R0048-G07 (550B-M0052-E02) 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 75)
 QDIQMTQSPSSLSASVGRVTIT**CRASQSISSYLN**WYQQKPGKAPKLLI**YAASSLQSGVPSRFS**SGSGSGTDFTLTIS**SLQPEDFA**
 TY**YCCQSYSTHSITF**GGGTRLEIK

>550B-M0064-H02 중쇄 아미노산 서열 (서열 번호 76)
 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**QYIMGWVRQAPGKGLEWVSSIIGSSGTVYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNSL
 RAEDTAVVYCAR**GGGVTVLHAFDI**WGQGTMTVTVSSASTKGFSVFLLAPSSKS

>550B-M0064-H02 경쇄 아미노산 서열 (서열 번호 77)
 QSALTQPA**SVSGSPGQ**SITISCT**GTSSSDVGGYNYVSWYQQHPGKVPKLIIEGNKRPS**GVPDRFSGSKAGNTASLTVSGLQAEDE
 ADVYCT**AYGGHSR**FYVFGTGKTVTLGQPKANP

[0197]

[0198]

[0199]

상기 기재된 임의의 예시적인 항체의 기능상 균등물은 또한 본 개시내용의 범위 내에 있다. 이러한 기능상 균등물은 상기 기재된 예시적인 항체 중 하나와 절단된 HMWK 및/또는 온전한 HMWK의 동일한 에피토프 또는 LMWK의 샘플 에피토프에 결합할 수 있다. 몇몇 실시형태에서, 기능상 균등물은 표적 항원에 대한 결합에 대해 상기 기재된 예시적인 항체 중 하나에 대항하여 경쟁한다.

- [0200] 몇몇 실시형태에서, 기능상 균등물은 상기 기재된 예시적인 항체 중 하나에서 상응하는 V_H CDR과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 V_H CDR1, V_H CDR2 및/또는 V_H CDR3을 포함하는 V_H 사슬을 포함한다. 대안적으로 또는 게다가, 기능상 균등물은 상기 기재된 바와 같은 예시적인 항체와 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 V_L CDR1, V_L CDR2 및/또는 V_L CDR3을 포함한다. 몇몇 실시형태에서, 기능상 균등물은 상기 기재된 예시적인 항체 중 하나와 동일한 중쇄 및/또는 경쇄 상보성 결정 영역(CDR)을 가진다.
- [0201] 대안적으로 또는 게다가, 기능상 균등물은 예시적인 항체의 V_H 사슬과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 V_H 사슬 및/또는 예시적인 항체의 V_L 사슬과 적어도 75%(예를 들어, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%) 동일한 V_L 사슬을 포함한다.
- [0202] 몇몇 경우에, 기능상 균등물은, 예를 들어 잔기가 표적 항원과의 상호작용에 관여하지 않을 것 같은 위치에서, 예시적인 항체에서 하나 이상의 중쇄 CDR 또는 하나 이상의 경쇄 CDR에서 1개 이상(예를 들어, 5개 이하, 3개 이하 또는 1개 이하)의 보존적 돌연변이를 함유할 수 있다.
- [0203] 추가 노력 없이, 당해 분야의 숙련자가, 상기 설명에 기초하여, 본 개시내용을 이의 가장 완전한 정도로 이용할 수 있다고 생각된다. 따라서, 하기 구체적인 실시형태는 단지 예시적이고, 무엇이든 어떤 방식으로든 본 개시내용의 나머지를 제한하지 않는 것으로 해석되어야 한다. 본 명세서에서 인용된 모든 공보는 본 명세서에 언급된 목적 또는 대상을 위해 참고로 포함된다.
- [0204] **실시예**
- [0205] 실시예 1: 절단된 HMWK의 특이적 검출에 대한 면역검정법의 개발
- [0206] 절단된 또는 온전한 HMWK에 결합하는 파지 디스플레이 라이브러리에서 Fab 단편을 확인하도록 ELISA 기반 면역검정 스크린을 초기에 개발하였다. 일반적으로, 검정 조건은, 소 혈청 알부민(BSA) 차단 완충제를 차단하면서, 스트렙타비딘 코팅된 384웰 검정 플레이트에서 부동화된 바이오티닐화된 온전한 또는 절단된 HMWK에 의존하고, 부동화된 HMWK와 Fab의 접촉은 (항-M13-HRP 항체에 의해 검출된) 이. 콜라이에서의 밤샘 배양으로부터 파지를 나타냈다.
- [0207] 도 12, 패널 a에 도시된 바대로, 처음에 스트렙타비딘 코팅된 자기 비드(Dynabeads M280, Thermo Fisher)에 부동화된 바이오티닐화된 1-사슬 HMWK에 대해 대략 1×10^{12} 개의 파지의 유입에 의해 라이브러리의 음성 선택을 수행함으로써 2-사슬 HMWK 특이적 항체를 얻는 것에 대해 선택을 지시하였다. 이후, 고갈된 라이브러리를 스트렙타비딘 코팅된 자기 비드에 부동화된 바이오티닐화된 2-사슬 HMWK와 접촉시켰다. 비드를 PBS 완충제에 의해 광범위하게 세척하고, 선택의 회차를 완료하기 위해 파지 유출 증폭을 위해 이. 콜라이를 감염시키도록 사용하였다. 스트렙타비딘 코팅된 플레이트에서 부동화된 바이오티닐화된 1-사슬 및 2-사슬에 의한 ELISA에 의한 개별 파지 콜로니의 스크리닝, 이어서 겨자무 과산화효소(HRP) 접합된 항-M13 항체에 의한 검출 및 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)에 대한 기질 가수분해로 인한 흡광 검출 전에 선택의 3회차를 수행하였다. 재조합 Fab 단편을 이. 콜라이에서 발현시키고, 단백질 A 세파로스 크로마토그래피에 의해 정제하였다(Wassaf et al. *Anal. Biochem.* (2006) 351: 241-253). 384웰 플레이트를 코팅하고, 바이오티닐화된 1-사슬 HMWK, 바이오티닐화된 2-사슬 HMWK 또는 바이오티닐화된 LMWK에 대한 결합을 측정된 후, HRP에 접합된 스트렙타비딘에 의한 검출 및 TMB 검출을 하여서, 각각의 정제된 Fab의 특이성을 결정하였다. 이 검정 조건은 559B-M004-B04 단리물을 확인하고, 이 단리물은 온전한 HMWK에 비해 절단된 HMWK에 특이적으로 결합한다(도 1).
- [0208] 부동화된 HMWK를 이. 콜라이에서의 밤샘 배양으로부터의 미정제 (비정제된) 559B-M004-B04 Fab 제제와 또한 접촉시켰다. HMWK에 결합한 Fab를 항-인간 Fab-HRP 항체를 사용하여 검출하였지만, 절단된 HMWK에 대한 특이적 결합을 발생시키지 않았다(도 1).
- [0209] 폴리스타이렌 384웰 검정 플레이트에서 559B-M004-B04의 정제된 Fab 단편을 수동적으로 부동화함으로써 면역검정법의 구성을 역전시켰다. Fab를 바이오티닐화된 HMWK와 접촉시키고, 결합한 HMWK를 스트렙타비딘-HRP에 의해 검출하였다(도 1).
- [0210] 예상치 못하게, 초기 스크리닝 분석 동안 BSA 차단 완충제를 Candor Biosciences로부터의 LowCross Blocking Solution인 상업적으로 구입 가능한 차단 완충제에 의해 대체함으로써, 절단된 HMWK에 대한 559B-M004-B04 Fab

의 특이성은 증대되었다(도 1). 추가로, 384웰 플레이트보다는 96웰 검정 플레이트를 사용한 면역검정법의 수행은 절단된 HMWK에 대한 559B-M004-B04의 관찰된 특이성을 추가로 증가시켰다(도 1).

[0211] 559B-M004-B04 단리물을 사용하여 얻은 결과는 샘플에서의 2-HMWK의 검출을 위한 면역검정법(ELISA)의 개발을 발생시켰다(도 12, 패널 b). 이 검정은 다른 Fab 단편 및 항체의 결합 특징을 추가로 평가하기 위해 또한 사용될 수 있다. 간단히 말하면, Fab를 밤새 다중웰 플레이트에 코팅하였다. 다음날, 플레이트를 세척한 후, BSA 완충제에 의해 차단하였다. 세척 후, LowCross 완충제 중에 희석된 샘플, 표준품 및 QC를 플레이트에 첨가하고, 후속하는 항온처리 및 이후 세척 후, HRP 표지된 양 항-HMWK 다중클론 검출 항체를 첨가함으로써 임의의 결합한 2-사슬 HMWK를 검출하였다. 검출 항체와 항온처리 후, 플레이트를 세척하고, TMB 기질을 플레이트에 첨가하였다. 짧은 항온처리 후, 인산에 의해 반응을 중지시켰다. 이후, 450nm 내지 630nm에서 광학 밀도를 측정하였다.

[0212] 실시예 2: 본 명세서에서 기재된 면역검정법을 이용한 Fab 클론의 결합 특이성의 평가

[0213] 실시예 1에 기재된 면역검정법을 이용하여 절단된 HMWK, 온전한 HMWK 및 LMWK에 대한 결합에 대해 36개의 정제된 Fab 클론(하기 표 2 참조)을 평가하였다. 구체적으로, 각각의 정제된 Fab 클론을 PBS 중의 100 μ l의 전체 용적으로 1 μ g/l의 농도로 96웰 검정 플레이트에서 부동화하고, 2 내지 8 $^{\circ}$ C에서 밤새 항온처리하였다. LowCross 차단 완충제를 사용하여 검정 플레이트를 차단하였다. 바이오티닐화된 온전한 HMWK, 바이오티닐화된 절단된 HMWK 또는 바이오티닐화된 LMWK(각각 1 μ g/l)를 100 μ l의 전체 용적으로 각각의 웰에 첨가하고, 2시간 동안 항온 처리한 후, 세척 완충제에 의해 세척하였다. HRP 표지된 스트렙타비딘을 100ng/ml의 농도로 각각의 웰에 첨가하고, Ultra TMB Substrate를 사용하여 신호를 전개시켰다. 비코팅된 웰에 대한 바이오티닐화된 단백질의 첨가 시 관찰된 신호를 사용하여 신호 대 노이즈 비율을 계산하였다(도 2, 패널 a 및 b). ELISA 결과에 기초하여, 5개의 카테고리 중에 항체를 분할할 수 있다(표 2).

표 2

Fab 단편의 결합 특징

ELISA 결합	Fab 단편
저친화도 결합제	559B-M0035-A01, 559B-M0052-E02, 559B-M0003-E08
LMWK 가 아니라 절단된 및 온전한 HMWK 에 결합	559B-M0067-E02, 559B-M0039-G07, 559B-M0044-E09, 559B-M0003-C08, 559B-M0039-H06, 559B-M0039-D08, 559B-M0068-C07, 559B-M0021-G11, 559B-M0061-G06, 559B-M0036-G12, 559B-M0042-E06, 559B-M0070-H10, 559B-M0068-D01, 559B-M0004-E08
절단된 및 온전한 HMWK 및 LMWK 에 결합	559B-M0069-C09, 559B-M0038-F04, 559B-M0044-C05, 559B-M0047-H01, 559B-M0019-E12, 559B-X0004-B05, 559B-M0048-D12, 559B-M0053-G01, 559B-M0038-H03, 559B-M0017-H08, 559B-M0035-F05, 559B-M0035-H09, 559B-M0043-C06, 559B-M0003-A08, 559B-M0054-B11, 559B-M0067-G11, 559B-M0065-B10, 559B-M0064-H02
주로 LMWK 에 결합	559B-M0037-E08
절단된 HMWK 에 특이적으로 결합	559B-M0004-B04

[0214]

[0215] 559B-M0064-H02와 같은 1-사슬, 2-사슬 HMWK 및 LMWK 둘 다에 결합하는 몇몇 항체를 얻었다. 이 항체는 도메인 1 내지 4에서 에피토프에 결합할 것이고, 이들은 HMWK와 LMWK 사이에 공유된다. M070-H10은 LMWK에서가 아니라 1-사슬과 2-사슬 사이에 공유된 에피토프에 결합하는 것으로 추정된 항체의 예이다. LMWK는, 도메인 1 내지 4 및 도메인 5의 일부로 이루어진 절두된 단백질을 생성시키는, 키니노겐 스플라이스 변이체이다(Colman et al. Blood (1997) 90: 3819-3843). 결과적으로, M070-H10과 같은 항체는 도메인 5 또는 도메인 6에 결합할 것이다.

[0216] 도 14, 패널 a에 도시된 바대로, 559B-M0004-B04는 1-사슬 HMWK 및 LMWK 둘 다에 비해 2-사슬에 대한 선택도를 나타냈고, 추가의 검정 최적화에 대해 선택되었다. 559B-M0004-B04(2 μ g/ml의 100 μ l)가 96웰 플레이트(Nunc Maxisorp 플레이트)에서 수동적으로 부동화된 인간 혈장 샘플에서 절단된 HMWK를 검출하기 위해 샌드위치 ELISA를 개발하였다(도 12, 패널 b). 다음날, 플레이트를 세척한 후, PBS 완충제 중의 2% BSA(프로테아제/IgG 비함유)에 의해 차단하였다. 세척 후, 샘플은 0.05% Tween-20과 함께 PBS 중의 0.1% BSA 완충제 중의 절단된 HMWK(2-사슬 HMWK 검정 완충제)를 함유한다. 정제된 단백질 표준품(예를 들어, 2-사슬 HMWK, 온전한 HMWK 또는

LMWK)을 HNKW HMWK 결핍 혈장으로 스파이킹하고, 2-사슬 HMWK 검정 완충제 중에 1:320 희석하였다. PBST에 의한 플레이트 세척 후, 2-사슬 HMWK 검정 완충제 중의 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 2개의 마우스 단일클론 항체(11H05 및 13B12)의 혼합물을 실온에서 1시간 동안 첨가하였다. 비결합한 검출 항체를 세척하고, 겨자무 과산화효소(HRP)에 접합된 염소 항-마우스 2차 항체의 1:2000 희석액을 첨가하였다. 2차 항체를 함유하는 검정을 실온에서 1시간 동안 항온 처리하고, 2-사슬 HMWK 검정 완충제에 의한 세척에 의한 비결합한 2차 항체를 제거하였다. HRP 기질인, 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘(TMB)의 첨가에 의해 신호를 검출하였다. 인산에 의해 반응을 중지시켰다. 450nm 내지 630nm에서의 마이크로플레이트 판독기를 사용하여 TMB 기질의 가수분해를 검출하였다(도 3). 추가로, HMWK 결핍 혈장 또는 2-사슬 HMWK 검정 완충제 중의 절단된 HMWK를 함유하는 샘플을 사용하여 ELISA 검정을 수행하고, 유사한 결합을 발생시키는 2.5% 또는 10% 혈장의 존재 하에 분석하였다(도 4). 이 면역검정 조건을 이용하여, 구체적으로 절단된 HMWK에 대한 결합을 검출하였다. HMWK가 2-사슬 HMWK 검정 완충제 또는 HMWK 결핍 혈장으로 제공될 때 검정은 필적하는 성능을 발생시켰다(도 3 및 도 4). 게다가, LMWK에 대한 559B-M0004-B04의 결합이 없었다.

[0217] 인간 혈장에서 접촉 활성화 시 생성된 절단된 HMWK의 검출에 대해 ELISA 검정을 평가하였다(도 5a 및 도 5b). FXIIa, pKaI 또는 엘라그산의 촉매량의 부재 또는 존재 하에 정상 인간 혈장에서의 절단된 HMWK의 양을 측정하고, 이는 FXIIa로의 FXII 자가 활성화 및 결과적으로 절단된 HMWK의 생성을 발생시킨다(도 5, 패널 a 및 b). 2-사슬 HMWK의 생성에 필요한 1차 혈장 효소로서의 혈장 칼리크레인의 역할과 일치하게, 엘라그산 첨가도 FXIIa 첨가도 프리칼리크레인 결핍 혈장에서 절단된 HMWK를 생성시키지 않았다. FXI 결핍 혈장에서의 접촉 시스템은 FXIIa, pKaI 또는 엘라그산을 사용하여 동등하게 활성화되었고, 이는 FXIa가 FXIIa에 의해 생성되고, 2-사슬 HMWK를 생성하지 않는다는 이해와 일치하는 결과이다.

[0218] 11H05인 마우스 단일클론 항체를 사용한 웨스턴 블롯 분석에 의해 인간 혈장에서 접촉 활성화 시 생성된 절단된 HMWK를 검출함으로써 2-사슬 HMWK ELISA로부터의 결과가 확정되었다(도 10). 11H05 항체는 HMWK의 경쇄에 특이적으로 결합하고, 56kDa의 경쇄 및 추가의 단백질분해된 46kDa의 경쇄 둘 다를 명확하게 하고, 이는 후속하여 HMWK 경쇄의 N 말단의 근처의 부위에서 혈장 칼리크레인의 단백질분해 활성을 통해 생성되었다(Colman et al. *Blood* (1997) 90: 3819-3843).

[0219] 12명의 정상 공여자로부터의 혈장에서 생성된 절단된 HMWK를 검출하는 능력에 대해 ELISA 검정을 또한 평가하였다(도 6). 접촉 활성화 시스템의 엘라그산 활성화 후, 각각의 12개의 샘플에서 절단된 HMWK를 검출하였다. 접촉 활성화 시스템을 다양한 농도의 라나텔루맵(DX-2930; 혈장 칼리크레인의 특이적 저해제) 또는 세르핀 C1-INH의 저해제를 사용하여 정상 혈장에서 저해한 후 엘라그산에 의해 활성화한 후에, 절단된 HMWK의 양을 또한 측정하였다(도 7, 패널 a 및 b). 라나텔루맵(DX-2930)은 파지를 사용하여 발견된 혈장 칼리크레인의 완전 인간 항체의 강력하고($K_i = 0.12\text{nM}$) 특이적인 저해제이고, HAE-C1INH 발작의 예방적 치료를 위한 임상 개발 중에 있다 (Chyung et al. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* (2014) 113: 460-466; Kenniston et al. *J. Biol. Chem.* (1994) 289: 23596-23608). 라나텔루맵이 상이한 농도로 시트르화 혈장으로 스파이킹될 때, 이것은 웨스턴 블롯 및 샌드위치 ELISA에 의해 보이는 것처럼 FXIIa에 의해 유도된 2-사슬 HMWK의 생성을 효과적으로 저해하였다(도 7b). 2-사슬 HMWK 생성의 라나텔루맵 저해에 대한 IC_{50} 은 $212 \pm 28\text{nM}$ 이었고, 이는 니트 혈장에서의 모든 프리칼리크레인의 활성화에 대해 예상된 값(대략 500nM)과 일치한다. 접촉 시스템 활성화에 의해 처리된 혈장에서의 라나텔루맵에 의한 신호의 완전한 저해는 M004-B04가 혈장 칼리크레인에 의해 생성된 2-사슬 HMWK에 특이적이라는 것을 확인시켜준다.

[0220] 키니노젠 결핍 혈장에서의 접촉 시스템의 활성화는 포획 항체로서의 M004-B04 및 검출 항체로서의 HRP 접합된 양 다중클론 항-키니노젠을 사용한 이 예비 검정에서 ELISA 신호를 증가시키지 않았다(데이터 비도시).

[0221] 도 10으로부터, 응고방지제로서 EDTA를 사용하여 건강한 대상체로부터 수집된 혈장이 시트르화 혈장과 유사하게 활성화된다는 것이 또한 명확하여서, 금속 이온이 접촉 시스템 활성화에 필요하지 않다는 발견을 지지한다 (Colman et al. *Blood* (1997) 90: 3819-3843). 그러나, 2-사슬 HMWK는 EDTA 혈장에서 ELISA에 의해 검출되지 않고(도 5b), 이는 2-사슬 HMWK에 대한 M004-B04 항체 결합이 금속 이온에 의존적이라는 것을 제안한다. 경쇄의 도메인 5(479번 내지 498번 아미노산)에서의 HMWK에 대한 아연 결합 부위는 이전에 확인되었고, 내피 세포 표면 수용체 gC1qR, 사이토케라틴 1 및 유로키나제 플라스미노젠 활성화 수용체와의 키니노젠 상호작용을 매개하고 이로써 접촉 시스템 활성화를 증대시키는 것으로 나타났다(Kaplan et al. *Adv. Immunol.* (2014) 121: 41-89; Bjorkqvist et al. *Biol. Chem.* (2013) 394: 1195-1204). 검정 완충제에 대한 ZnCl_2 의 첨가는 다양한 농도에서 시험되었고, 절단된 HMWK에 대한 항체의 결합을 증대시키는 것으로 발견되었다(도 11). 엘라그산 활성화된 시트

르화 및 EDTA 혈장에 의해 관찰된 ELISA 신호에서 $ZnCl_2$ 의 농도의 증가를 조사하였다. EDTA 혈장에서의 ELISA 신호는 (웰 농도에서) $400\ \mu M$ 초과와 $ZnCl_2$ 농도에서 겉보기 최대로 증가하였다.

[0222] 더 압축적이고 구형인 4차 구조를 촉진하도록 전자 현미경검사를 이용하여 아연에 대한 1-사슬 HMWK의 결합이 이전에 나타났다(Herwald et al. *Eur. J. Biochem.* (2001) 268: 396-404). 전자 현미경검사에 의해 2-사슬 HMWK가 EDTA를 함유하는 완충제 중의 1-사슬 HMWK보다 더 신장되고 덜 구형인 4차 구조를 채택한다는 것이 또한 나타났다(Herwald et al. *Eur. J. Biochem.* (2001) 268: 396-404). 2-사슬 HMWK의 구조에 대한 아연의 효과가 이전에 보고되지 않았지만, 본 명세서에 기재된 M004-B04의 명쾌한 아연 의존적 결합은 2-사슬 HMWK가 아연의 존재 하에 고유한 구성으로 존재한다는 것을 제안한다.

[0223] 상업적으로 구입 가능한 스프레이 코팅된 K_2EDTA 관에서 수집된 혈장에서의 EDTA 농도는 대략 $4mM$ 이고, 이는 1:20 희석 후 대략 $200\ \mu M$ 의 웰 내 농도로 전환하고, EDTA의 킬레이트화 역량을 압도하기에 충분한 $ZnCl_2$ 의 첨가 시 아연 의존적 결합의 복원과 일치한다. 반대로, 엘라그산을 사용하여 활성화된 ELISA 신호 시트르화 혈장은 25 또는 $50\ \mu M$ $ZnCl_2$ (웰 내 농도)의 존재 하에 증가하지 않지만, $100\ \mu M$ 초과와 $ZnCl_2$ 의 농도에서 ELISA 신호는 $200\ \mu M$ $ZnCl_2$ 초과와 최대로 증가했다. (도 11) 건강한 지원자로부터의 혈장에서의 아연에 대한 일반 농도는 $10-17\ \mu M$ 이다(Wessells et al. *J. Nutr.* (2014) 144: 1204-1210). 활성화된 시트르화 혈장에서 관찰된 ELISA 신호가 $50\ \mu M$ 초과와 웰 내 $ZnCl_2$ 농도에 의해 오직 증가하였고, 이는 $1mM$ 초과와 혈장 내 농도일 것이고, ELISA가 혈장에서의 아연의 농도의 생리학적 변동에 민감하지 않는 것으로 보인다. 결과적으로, 후속하는 실험은 검정 완충제에 $ZnCl_2$ 를 첨가하지 않았다.

[0224] 상기 기재된 바대로, 2-사슬 HMWK에 대한 559B-M004-B04의 결합은 $ZnCl_2$ 의 초생리학적 농도에 의해 증대되었고, 높은 농도의 EDTA에 의한 금속 킬레이트화에 의해 저해되었다. 아연 결합 부위는 2-사슬 HMWK의 도메인에 기재되어 있고, 이 부위를 포함하는 합성 펩타이드(HKH20, HKHGHGHGKHKNKGKNGKH(서열 번호 83))는 세포 표면 회합의 감쇠를 통해 접착 시스템 활성화를 저해하는 것으로 나타났다(Nakazawa et al. *Int. Immunopharmacol.* (2002) 2: 1875-1885). 결과적으로, ELISA에 의해 559B-M004-B04에 대한 2-사슬 HMWK 결합을 저해하는 능력에 대해 HKH20 펩타이드, 및 도메인 3에서의 서열에 상응하는 GCP28 펩타이드를 시험하였다. 도 15에 도시된 바대로, GCP28 펩타이드가 아니라 HKH20 펩타이드는 M004-B04에 대한 2-사슬 HMWK 결합을 저해하고, 이는 M004-B04에 피토프가 아연 결합 부위의 근처에서 도메인 5 내에 있다는 것을 제안한다. 검정을 수행하기 위해, 키니노젠 펩타이드를 $250\ \mu g/ml$ 로 희석하고, 검정 플레이트에서 예비 항온처리되게 하였다. 이후, 결핍 인간 혈장에서의 정제된 2-사슬 HMWK를 160 희석하고, 이후 플레이트에 첨가하였다.

[0225] 엘라그산 또는 FXIIa에 의한 접착 활성화 시스템의 활성화 후 다양한 시점에 정상 시트르화 인간 혈장에서의 절단된 HMWK의 생성의 시간 의존성을 평가하였다(도 8). 마지막으로, (HAE가 없는) 정상 환자로부터의 시트르화 혈장 샘플과 비교하여 유전성 혈관부종(HAE)을 갖는 환자로부터의 혈장 샘플에서의 절단된 HMWK의 존재 및 분량을 평가하도록 ELISA 검정을 이용하였다. HAE를 갖는 환자로부터의 샘플은 정상 공여자로부터의 샘플($432.4 \pm 186ng/ml$)에 비해 증가한 수치의 2-사슬 HMWK($1423 \pm 603ng/ml$)를 함유하는 것으로 발견되었고(도 9), 이는 1방향 ANOVA 분석에 의해 통계학적으로 상이하다($P = 0.017$).

[0226] M004-B04가 1-사슬 HMWK 또는 LMWK에 존재하지 않는 2-사슬 HMWK에서의 네오-에피토프에 특이적으로 결합한다는 것을 결정하고, 항체 결합이 혈장 칼리크레인 활성화에 의존적이라는 것을 입증하면서, 검출에 대해 한 쌍의 마우스 단일클론 항체(11H05 및 13B12)를 사용하여 검정을 또한 시험하였다(도 16). 항체 13B12는 HMWK의 중쇄에 결합하는 것으로 보이고, 11H05는 HMWK의 경쇄에 결합하는 것으로 보이고, 검출에 대한 항체 둘 다의 조합은, 가능하게는 항원에서의 이의 비중첩하는 결합 에피토프로 인해, 신호 부스트를 발생시켰다.

[0227] 접착 시스템의 평가에 대한 혈장 수집의 중요성은 이전에 기재되어 있다(Suffritti et al. *Clin. Exp. Allergy* (2014) 44: 1503-1514). 혈장과 유리 또는 다른 극성 표면의 접착이 내인성 접착 시스템 활성화의 정확한 결정을 마스킹할 수 있는 광범위한 생체의 접착 시스템 활성화를 발생시킨다는 것(Colman et al. *Blood* (1997) 90: 3819-3843)이 널리 공지되어 있다. SCAT169(HTI(버몬트주 에섹스))라 칭하는 배기된 플라스틱 채혈관에서 산 시트레이트 텍스트로스 중의 프로테아제 저해제의 혼합물을 함유하는 맞춤형 혈장을 포함하는 상이한 혈장 유형에서 2-사슬 HMWK를 검출하기 위한 최적화된 샌드위치 ELISA의 능력을 비교하였다. 도 6에 도시된 바대로, SCAT169 혈장에서 제조된 표준 곡선은, 아마도 수집된 혈장에서의 $2mM$ EDTA의 포함으로, 시트르화 혈장에서 제조된 곡선보다 덜 민감하다. 이 검정에서 이용된 혈장 희석(1:320)에서, EDTA의 이 농도($3.1\ \mu M$)는 2-사슬 HMWK

를 상당히 방해하지 않고, 금속단백분효해소로 인해 단백질분해성 분해로부터 혈장을 안정화시키는 것을 도울 수 있다.

[0228] 건강한 지원자로부터의 시트르화 및 SCAT169 혈장을 웨스턴 블롯 및 샌드위치 ELISA 검정에 의해 HAE 환자로부터의 샘플과 비교하였다. 도 17, 패널 a-c에서, 시트르화 혈장에서 2-사슬 HMWK(즉, 절단된 키니노겐)를 검출하기 위한 웨스턴 블롯 방법은, 기저 대 HV의 비교에 대해 0.977 또는 발작 대 HV의 비교에 대해 1.0의 곡선 하 면적(AUC) 값으로 수신자 조작 특성(ROC) 분석에 의해 보이는 것처럼, 건강한 지원자(HV)로부터 HAE 환자로부터의 샘플을 구별할 수 있었다. 휴지(기저) 동안 HAE 환자로부터의 시트르화 혈장 샘플은 0.625의 AUC로 발작 샘플로부터 구별되었다(도 17, 패널 d).

[0229] 도 18, 패널 a-c에 도시된 바대로, SCAT169 혈장에서 2-사슬 HMWK를 검출하기 위한 웨스턴 블롯 방법은, 기저 대 HV의 비교에 대해 0.915 또는 발작 대 HV의 비교에 대해 0.967의 AUC 값으로 ROC 분석에 의해 보이는 것처럼, 건강한 지원자(HV)로부터의 샘플로부터 HAE 환자로부터의 샘플을 구별할 수 있었다. 휴지(기저) 동안 HAE 환자로부터의 SCAT169 샘플은 0.597의 AUC로 발작 샘플로부터 구별되었다(도 18, 패널 d).

[0230] 도 19, 패널 a-c에서, 시트르화 혈장에서 2-사슬 HMWK를 검출하기 위한 2-사슬 ELISA 방법은, 기저 대 HV의 비교에 대해 0.915 또는 발작 대 HV의 비교에 대해 0.866의 AUC 값으로 ROC 분석에 의해 보이는 것처럼, 건강한 지원자로부터 HAE 환자로부터의 샘플을 구별할 수 있었다. 휴지(기저) 동안 HAE 환자로부터의 시트르화 혈장 샘플은 0.709의 AUC로 발작 샘플로부터 구별되었다(도 19, 패널 d).

[0231] 도 20, 패널 a-c에 도시된 바와 같이, SCAT169 샘플에서 2-사슬 HMWK를 검출하기 위한 2-사슬 ELISA 방법은, HV에 대한 기저의 비교를 위해 0.999, 또는 HV에 대한 발작의 비교를 위해 1.0의 AUC 값을 갖는 ROC 분석에 의해 표시된 바대로, 건강한 지원자로부터의 HAE 환자로부터의 샘플을 구별할 수 있다. 휴지 동안에(기저) HAE 환자로부터의 시트르화 혈장 샘플은 0.8176의 AUC로 발작 샘플과 구별된다(도 20, 패널 d).

[0232] 상기 ROC 분석에 대해, 본 명세서에서 입증된 2-사슬 HMWK 웨스턴 블롯 및 2-사슬 HMWK ELISA 둘 다는 건강한 지원자와 비교하여 혈장에서의 절단된 키니노겐의 수치에 기초하여 HAE를 갖거나 이의 위험이 있는 환자를 구별하는 데 있어서 유용할 수 있다. SCAT169 혈장에서의 프로테아제 저해제의 존재는 혈액 수집 동안 생체의 혈장 활성화를 감소시켰다.

[0233] 다른 실시형태

[0234] 본 명세서에 개시된 모든 특징은 임의의 조합으로 조합될 수 있다. 본 명세서에 개시된 각각의 특징은 대안적인 특징에 의해 대체되어 동일한, 동등한 또는 유사한 목적을 제공할 수 있다. 따라서, 달리 명확히 기재되지 않은 한, 개시된 각각의 특징은 오직 동등한 또는 유사한 특징의 총체적 시리즈의 예이다.

[0235] 상기 설명으로부터, 당해 분야의 당업자는 본 개시내용의 필수적인 특징을 쉽게 확인할 수 있고, 이의 정신 및 범위를 벗어남이 없이, 본 개시내용의 다양한 변화 및 변형을 다양한 용법 및 조건에 적응시키도록 이것을 만들 수 있다. 따라서, 다른 실시형태가 또한 청구범위 내에 있다.

[0236] 균등물 및 범위

[0237] 당해 분야의 당업자는 단지 일상적인 것에 지나지 않는 실험을 사용하여 본 명세서에 기재된 본 개시내용의 구체적인 실시형태에 대한 많은 균등물을 인식하거나 확인할 수 있을 것이다. 본 개시내용의 범위는 상기 설명을 제한하는 것으로 의도되지 않고, 오히려 첨부된 청구범위에 기재되어 있다.

[0238] 청구항에서 "일", "하나" 및 "이것"과 같은 관사는, 반대를 표시되지 않는 한 또는 그렇지 않으면 문맥으로부터 명확하지 않은 한, 하나 또는 하나 초과를 의미할 수 있다. 그룹의 하나 이상의 구성원 사이의 "또는"을 포함하는 청구항 또는 설명은, 반대를 표시되지 않는 한 또는 그렇지 않으면 문맥으로부터 명확하지 않은 한, 그룹 구성원 중 하나, 하나 초과 또는 모두가 소정의 생성물 또는 방법에 존재하거나, 이들에서 사용되거나, 그렇지 않으면 이들과 관련되는 경우 충족되는 것으로 생각된다. 본 개시내용은 정확하게 그룹 구성원 중 하나가 소정의 생성물 또는 방법에 존재하거나, 이들에서 사용되거나, 그렇지 않으면 이들과 관련되는 실시형태를 포함한다. 본 개시내용은 그룹 구성원 중 하나 초과 또는 모두가 소정의 생성물 또는 방법에 존재하거나, 이들에서 사용되거나, 그렇지 않으면 이들과 관련되는 실시형태를 포함한다.

[0239] 더욱이, 본 개시내용은 하나 이상의 기재된 청구항으로부터의 하나 이상의 제한, 부재, 조항 및 설명적 용어가 또 다른 청구항으로 도입되는 모든 변형, 조합 및 순열을 포함한다. 예를 들어, 또 다른 청구항에 종속하는 임의의 청구항은 동일한 기본 청구항에 종속하는 임의의 다른 청구항에서 발견되는 하나 이상의 제한을 포함하도

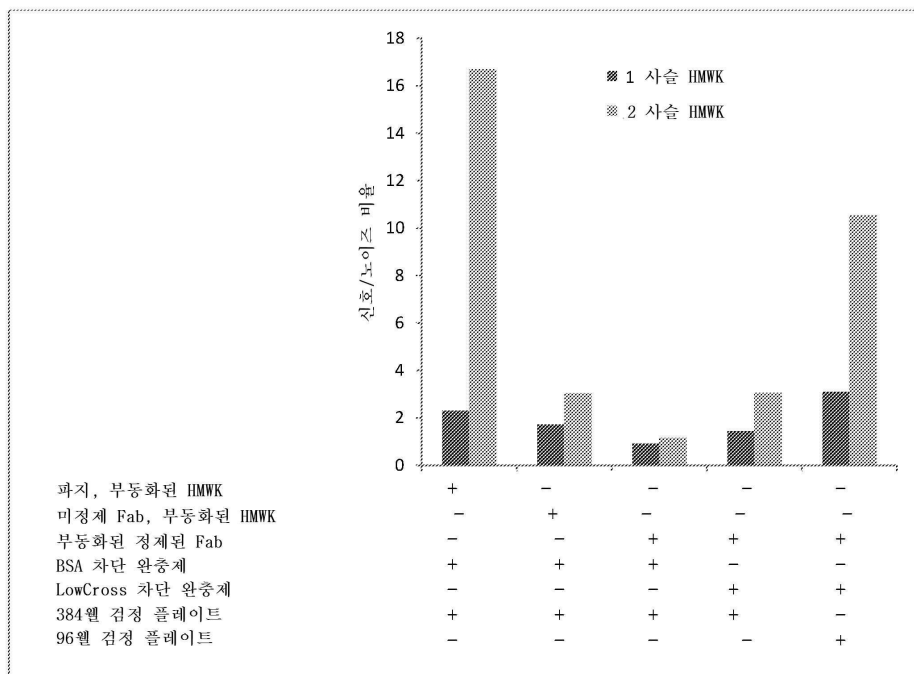
록 변형될 수 있다. 부재가 예를 들어 마쿠쉬 그룹 포맷으로 목록으로 제시되는 경우, 부재의 각각의 하위그룹이 또한 개시되고, 임의의 부재(들)는 그룹으로부터 제거될 수 있다. 일반적으로, 본 개시내용 또는 본 개시내용의 양상이 특정한 부재 및/또는 특징을 포함하는 것으로 언급되는 경우, 본 개시내용의 소정의 실시형태 또는 본 개시내용의 양상이 이러한 부재 및/또는 특징으로 이루어지거나, 본질적으로 이루어지는 것으로 이해되어야 한다. 단순함의 목적을 위해, 이 실시형태는 본 명세서에 다른 말로 구체적으로 기재되어 있지 않다. 용어 "포함하는" 및 "함유하는"은 개방적이고 부가적인 부재 또는 단계의 포함을 허용하는 것으로 의도된다는 것에 또한 주목한다. 범위가 제공되는 경우, 종점이 포함된다. 더욱이, 달리 표시되지 않는 한 또는 그렇지 않으면 문맥 및 당해 분야의 당업자의 이해로부터 명확하지 않은 한, 범위로서 표시된 값은, 문맥이 명확히 달리 기술하지 않는 한, 범위의 하한의 단위의 10/1까지, 본 개시내용의 상이한 실시형태에서 기술된 범위 내의 임의의 특정한 값 또는 하위범위를 취할 수 있다.

[0240] 본원은 다양한 등록 특허, 공개 특허 출원, 저널 논문 및 다른 공보(이들 모두 본 명세서에 참조문헌으로 포함됨)에 관한 것이다. 임의의 도입된 참조와 본 명세서 사이에 상충이 있는 경우, 명세서가 우세해야 한다. 또한, 선행 기술 내에 해당하는 본 개시내용의 임의의 특정한 실시형태는 임의의 하나 이상의 청구항으로부터 명백히 배제될 수 있다. 이러한 실시형태가 당해 분야의 당업자에게 공지된 것으로 생각되므로, 이들은 본 명세서에 배제가 명백히 기재되지 않더라도 배제될 수 있다. 본 개시내용의 임의의 특정한 실시형태는 선행 기술의 존재와 관련되든 또는 관련되지 않든, 임의의 이유로, 임의의 청구항으로부터 배제될 수 있다.

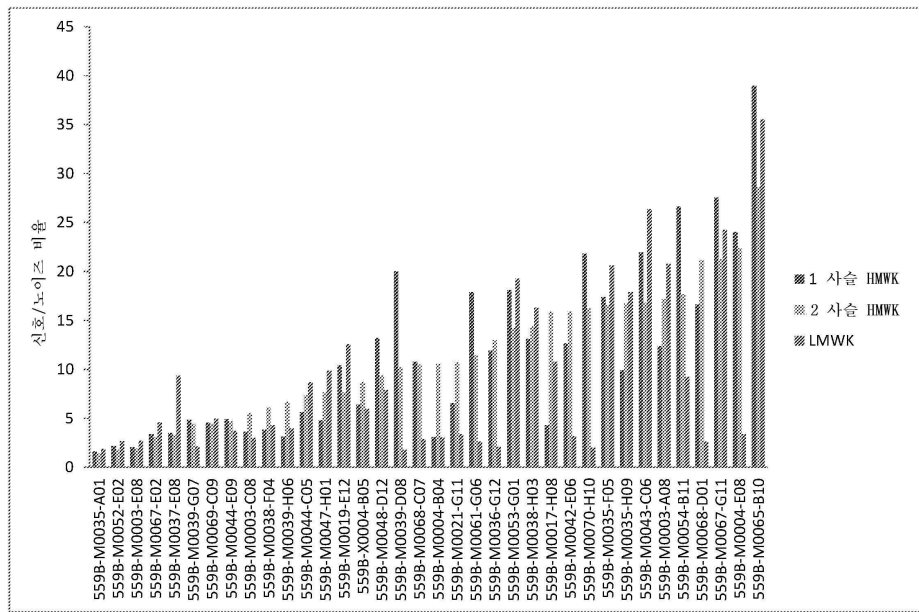
[0241] 당해 분야의 당업자는 단지 일상적인 것에 지나지 않는 실험을 사용하여 본 명세서에 기재된 특정한 실시형태에 대한 많은 균등물을 인식하거나 확신할 수 있을 것이다. 본 명세서에 기재된 본 실시형태의 범위는 상기 설명을 제한하는 것으로 의도되지 않고, 오히려 첨부된 청구범위에 기재되어 있다. 당해 분야의 당업자는 이 설명에 대한 다양한 변경 및 변형이 하기 청구항에 정의된 바대로 본 개시내용의 사상 또는 정신으로부터 벗어나지 않으면서 만들어질 수 있다는 것을 이해할 것이다.

도면

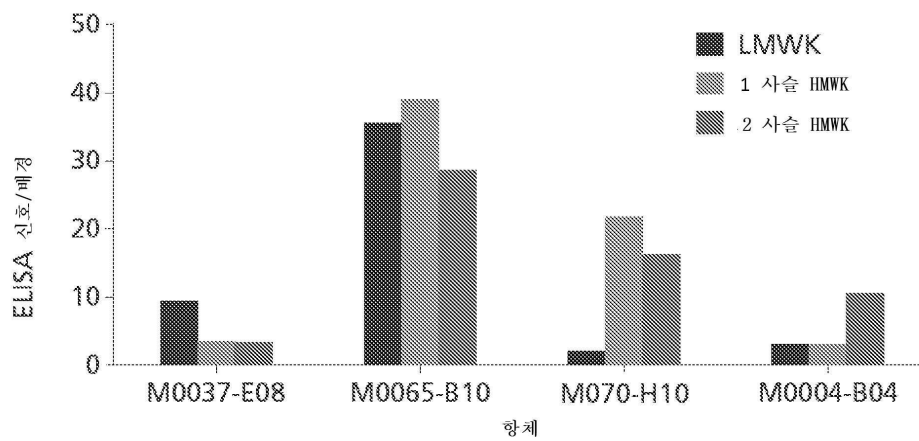
도면1



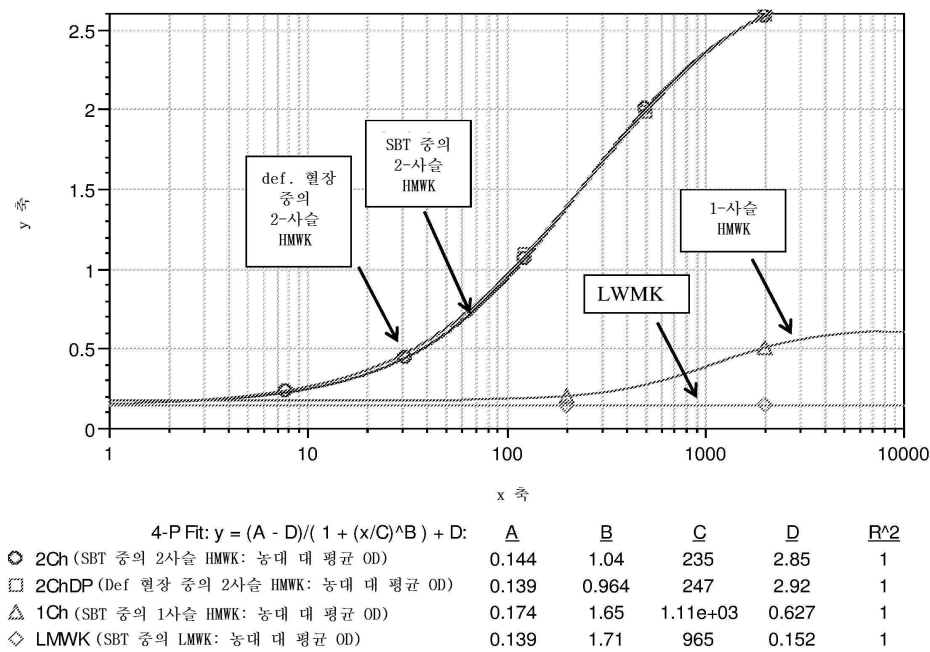
도면2a



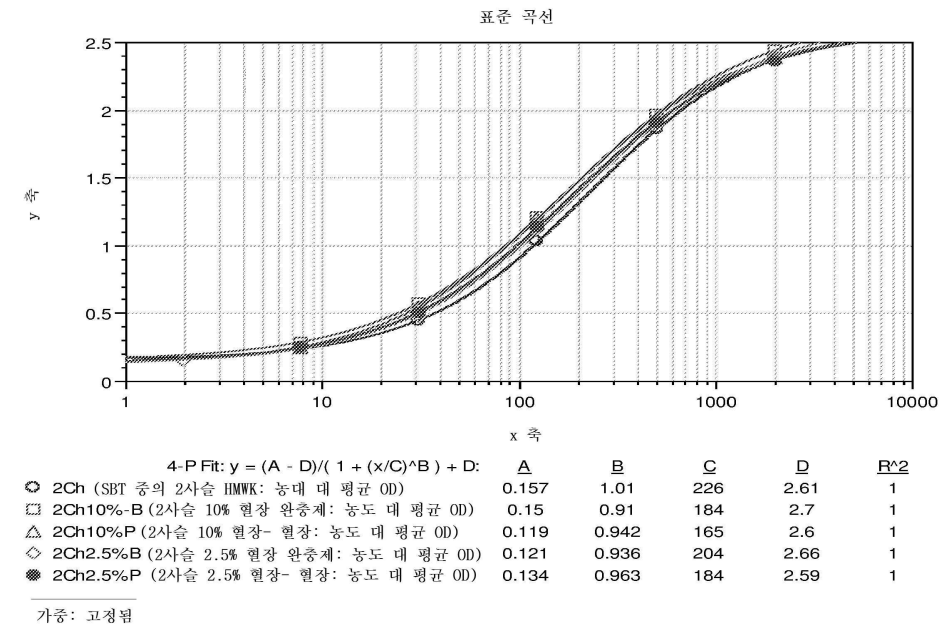
도면2b



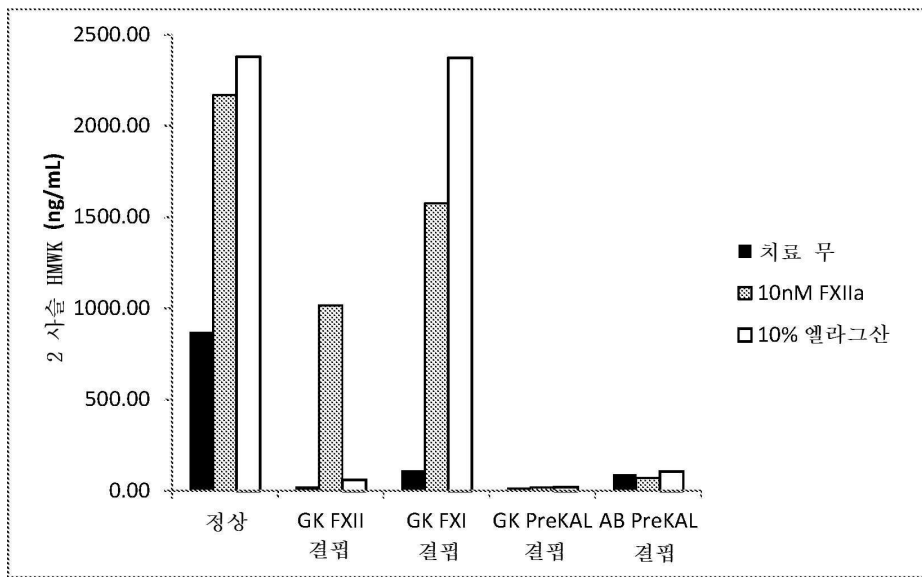
도면3



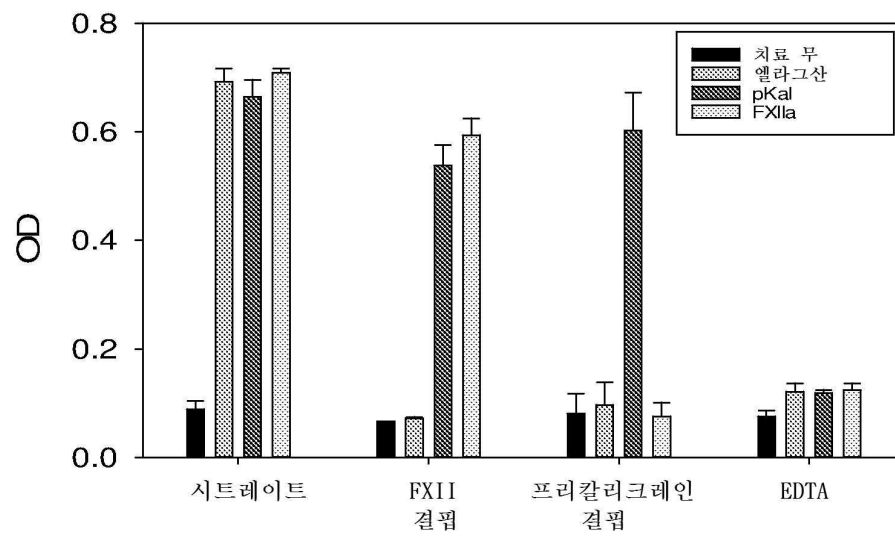
도면4



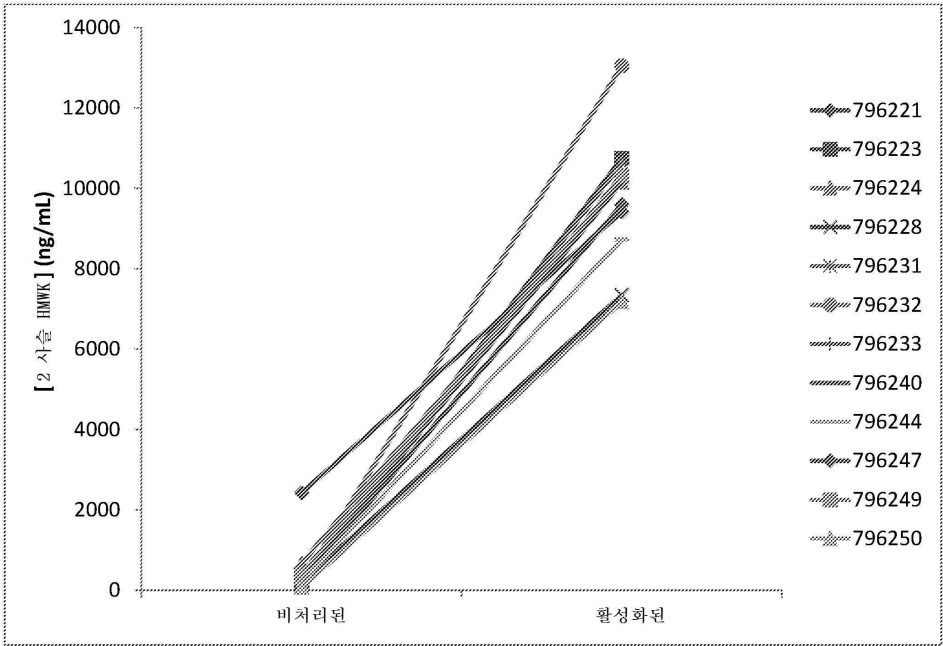
도면5a



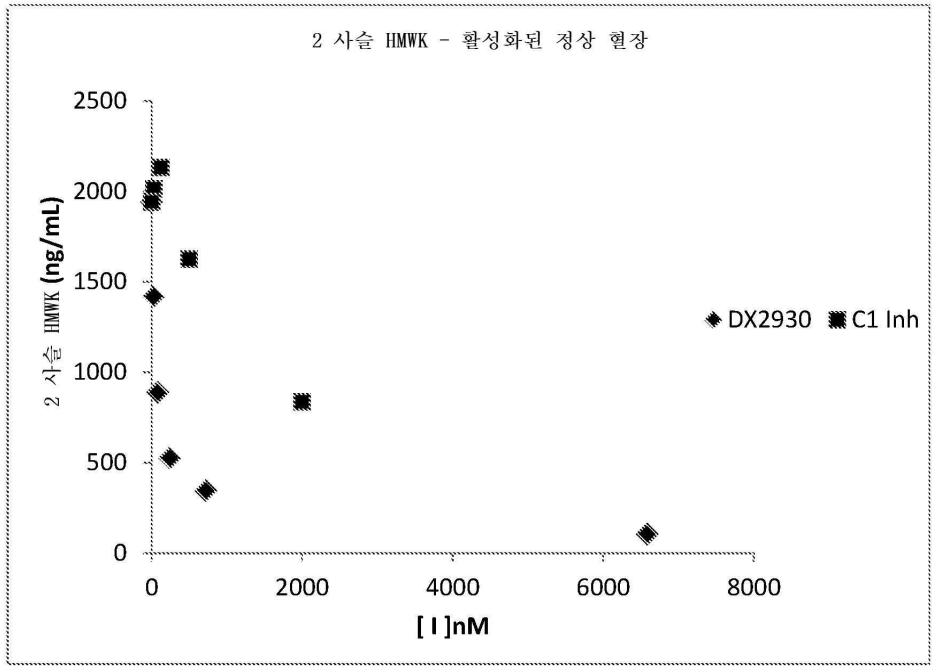
도면5b



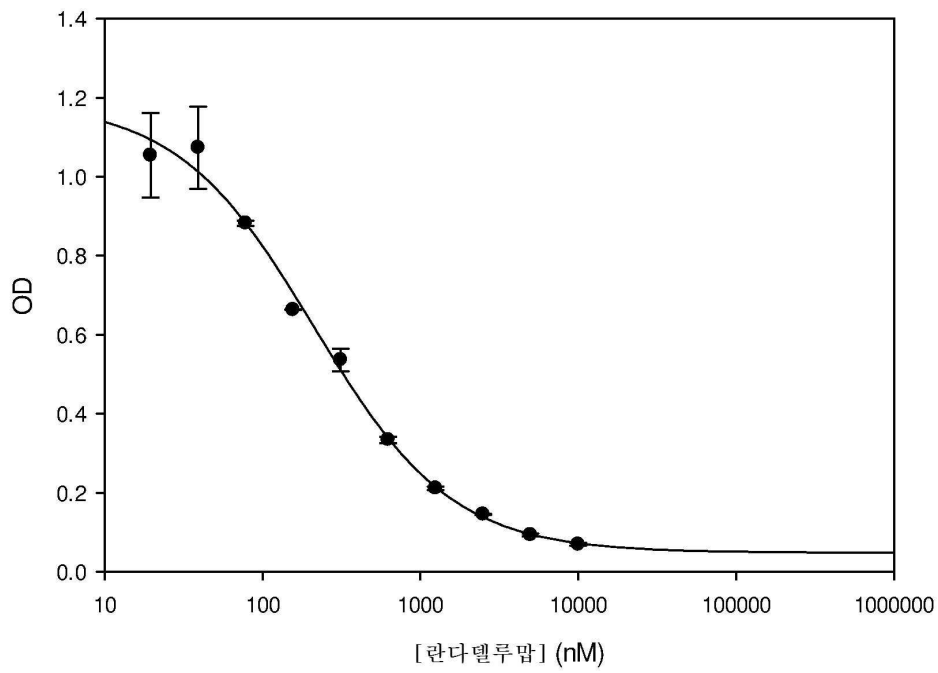
도면6



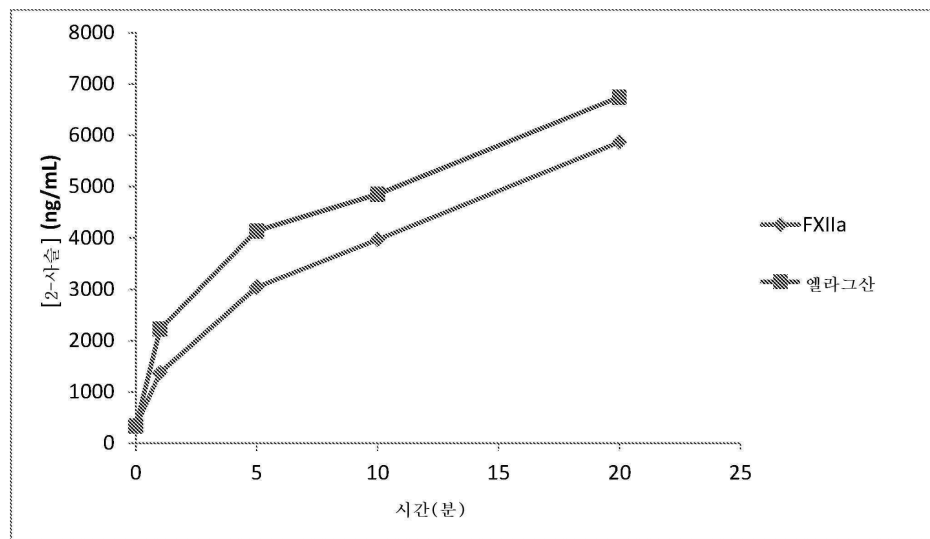
도면7a



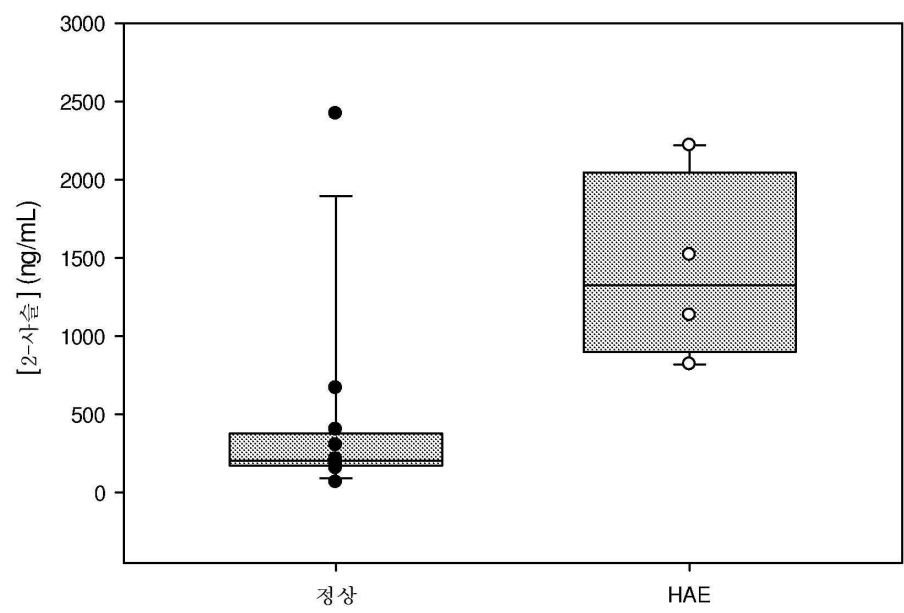
도면7b



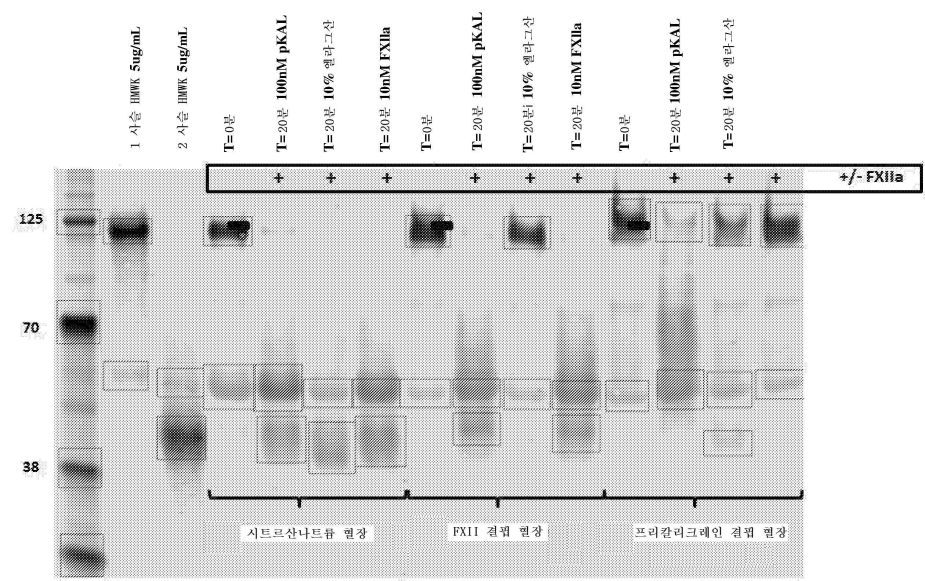
도면8



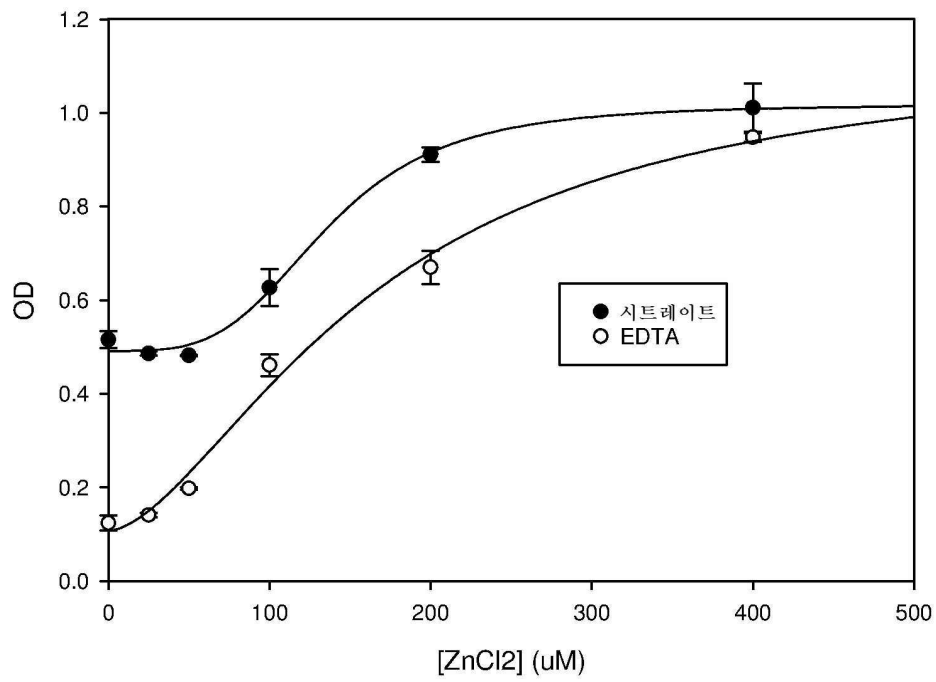
도면9



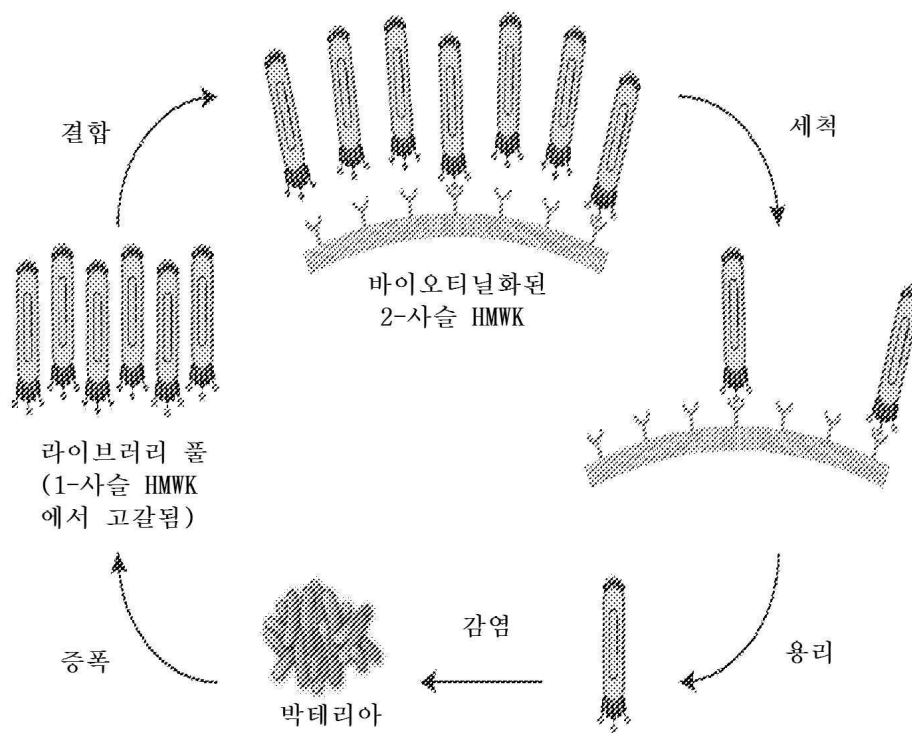
도면10



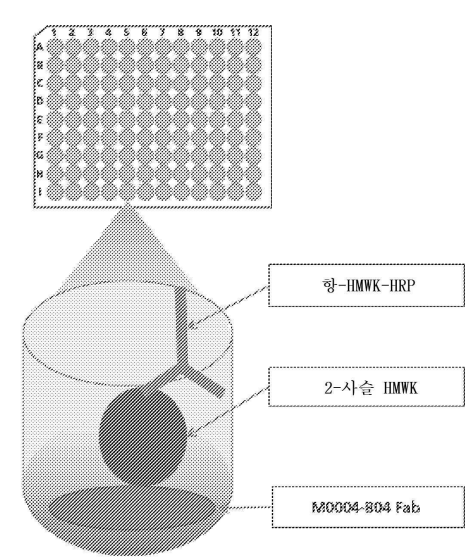
도면11



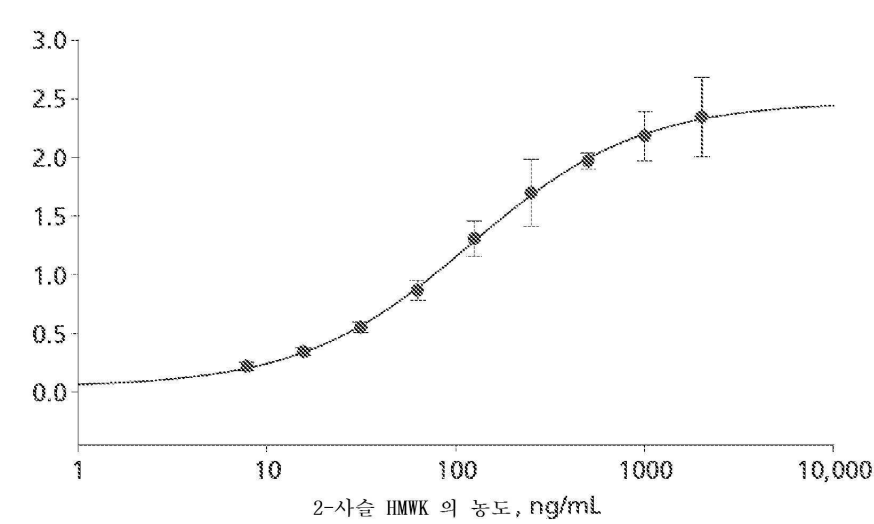
도면12a



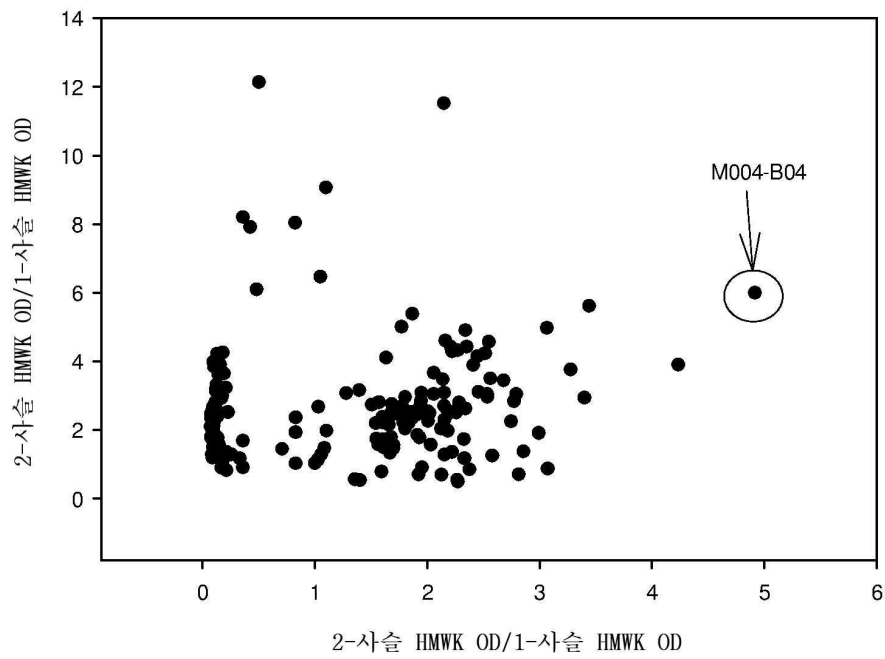
도면12b



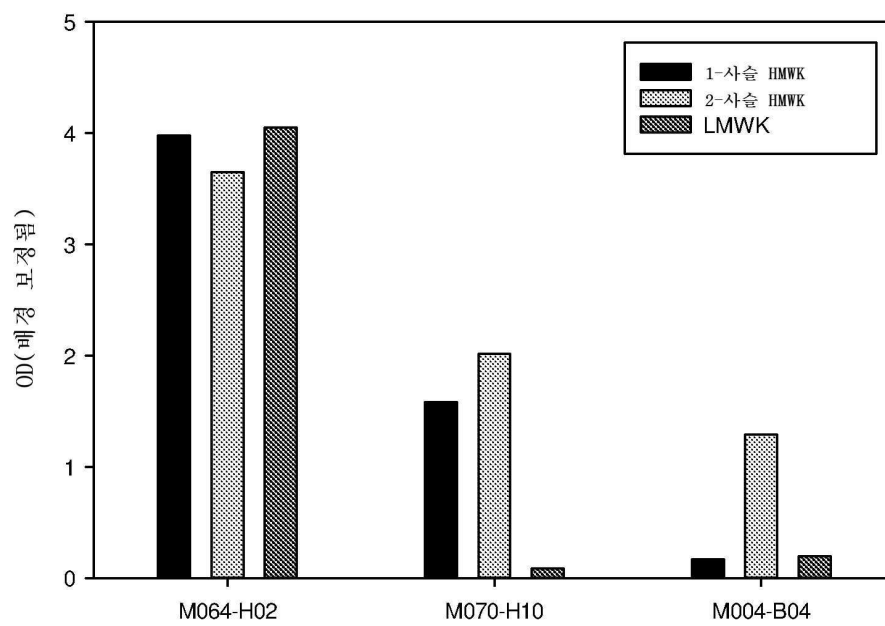
도면13



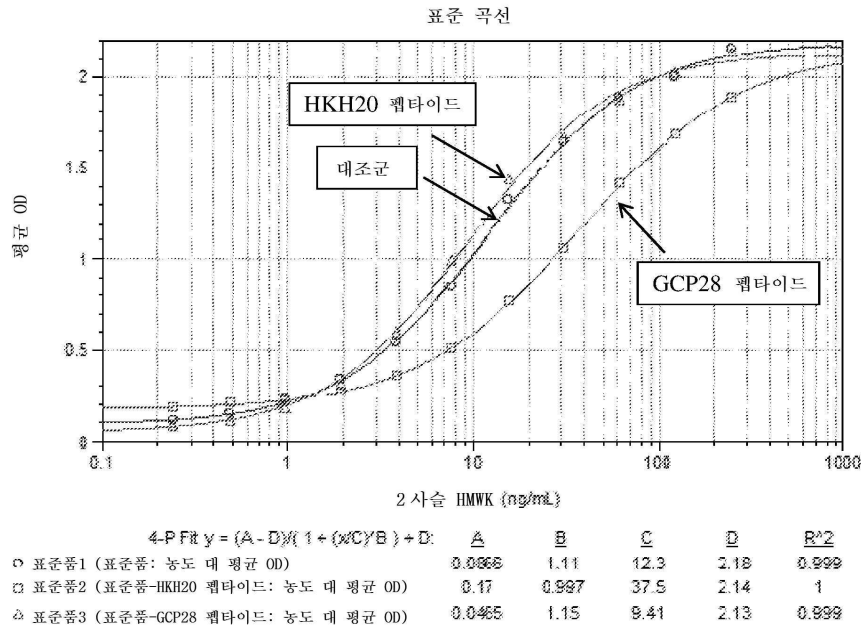
도면14a



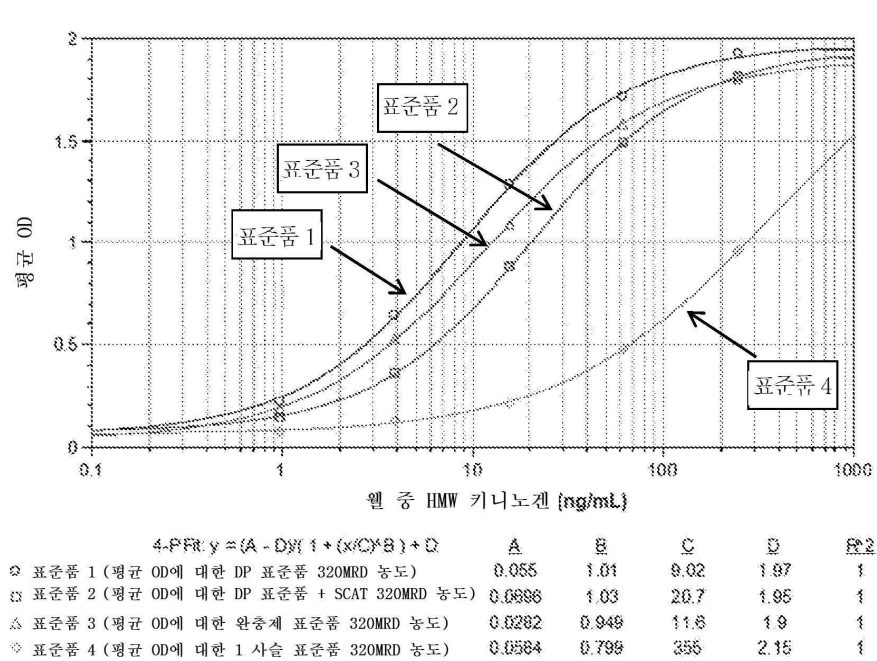
도면14b



도면15



도면16



표준품 1 - 0.313% 혈장 중의 2 사슬 HMWK

표준품 2 - 0.313% 혈장 + SCAT169 중의 2 사슬 HMWK

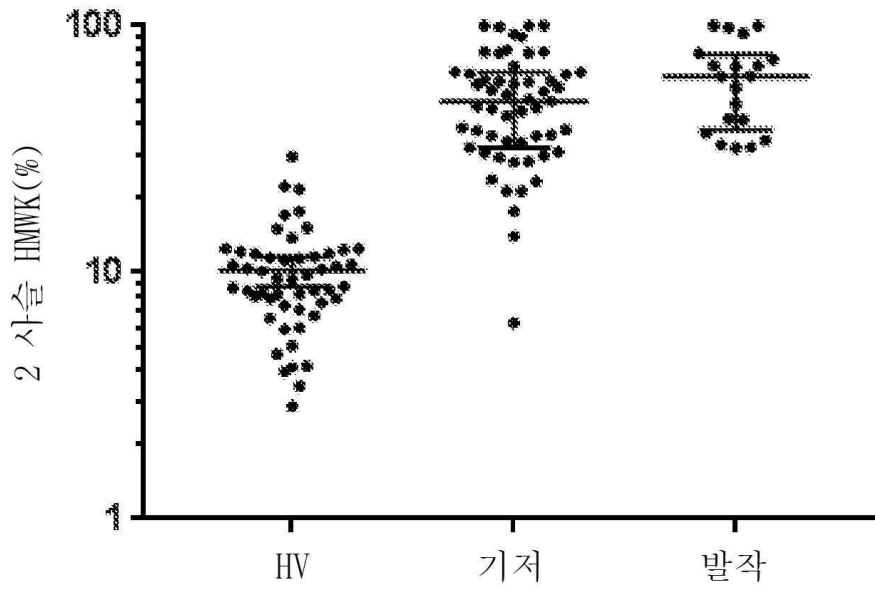
표준품 3 - 완충제 중의 2 사슬 HMWK (1:320 희석됨)

표준품 4 - 완충제 중의 1 사슬 HMWK (1:320 희석됨)

* LMWK에 대한 교차 반응성 없음(데이터 비도시)

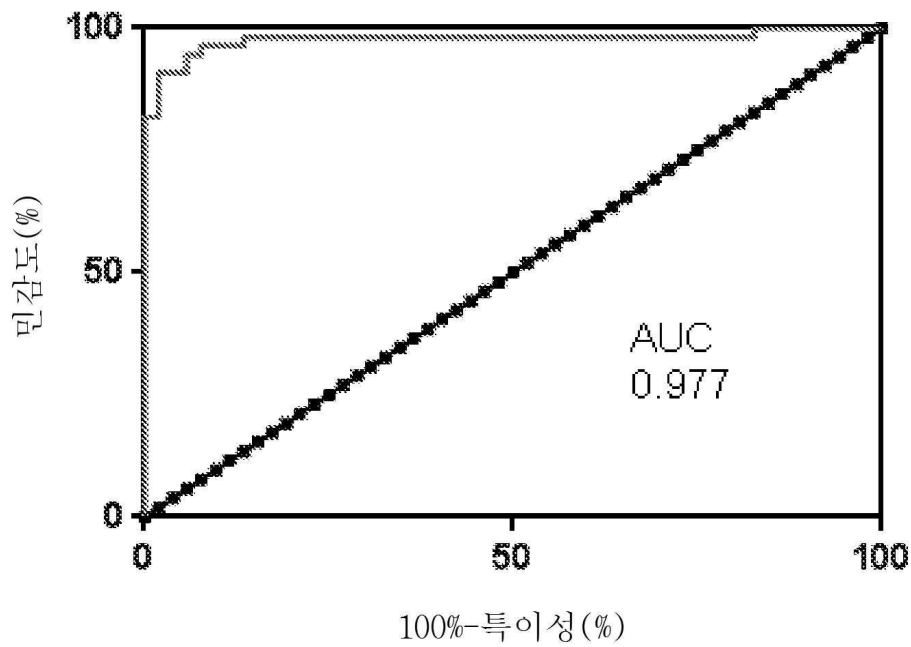
도면17a

인간 시트르산나트륨 혈장 중의 2 사슬 HMWK(%)



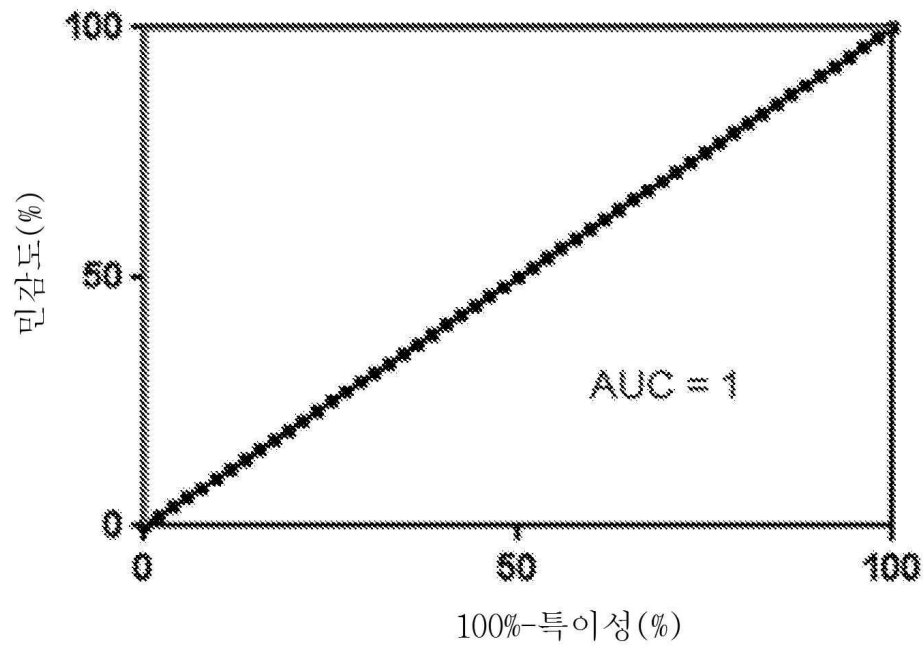
도면17b

NaCit 혈장 건강한 지원자 대 HAE 기저



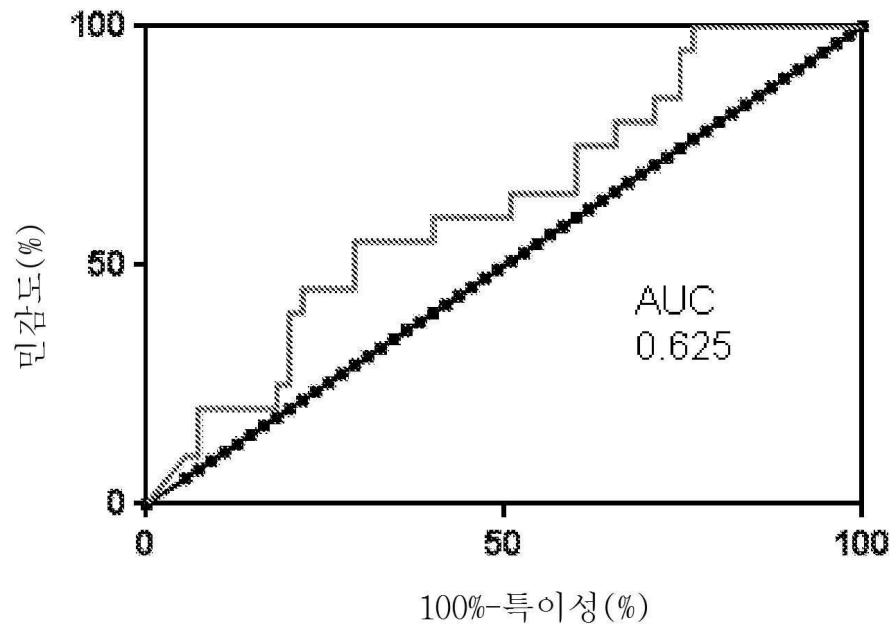
도면17c

NaCit 혈장 건강한 지원자 대 HAE 발작



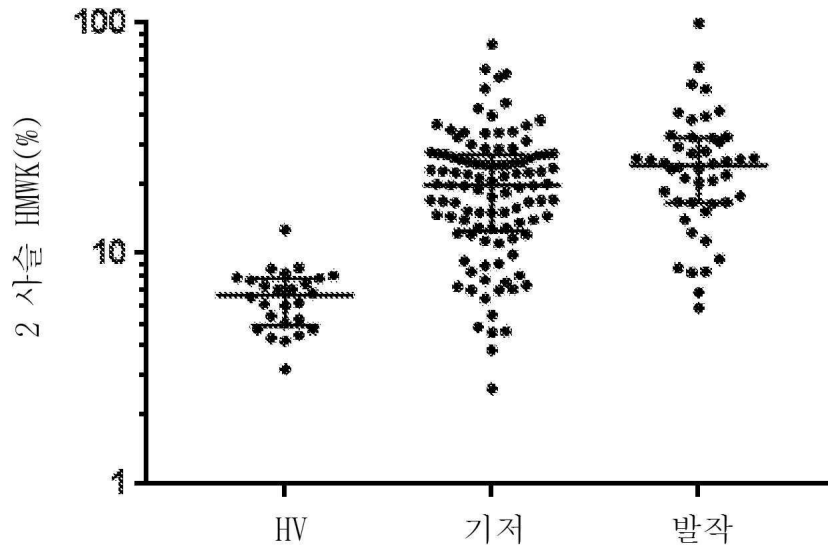
도면17d

NaCit HAE 기저 대 발작



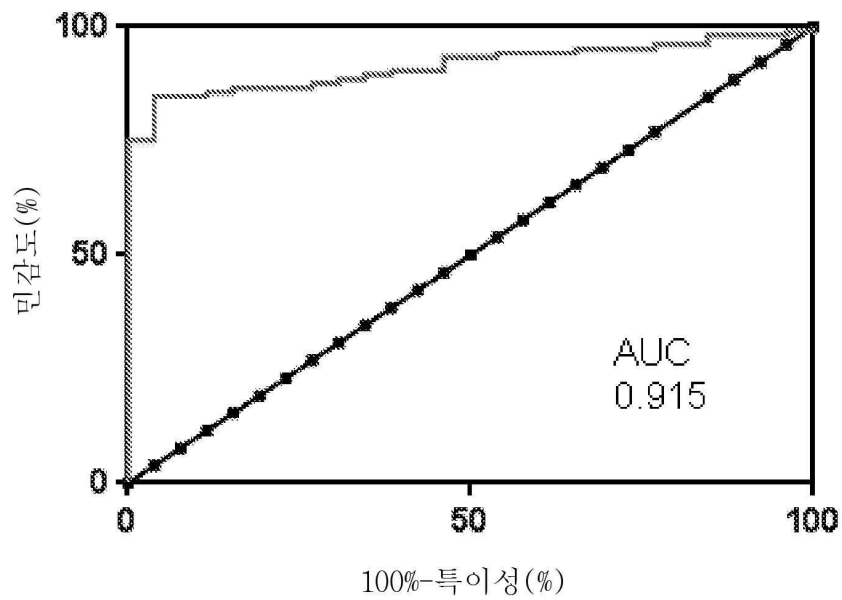
도면18a

인간 SCAT169 혈장에서의 2 사슬 HMWK(%)



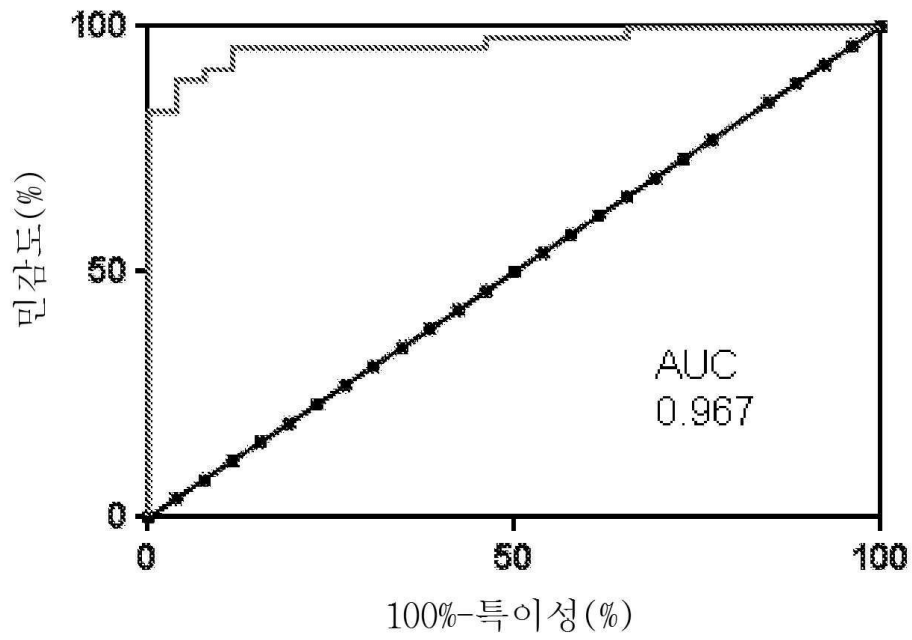
도면18b

SCAT169 혈장 건강한 지원자 대 HAE 기저



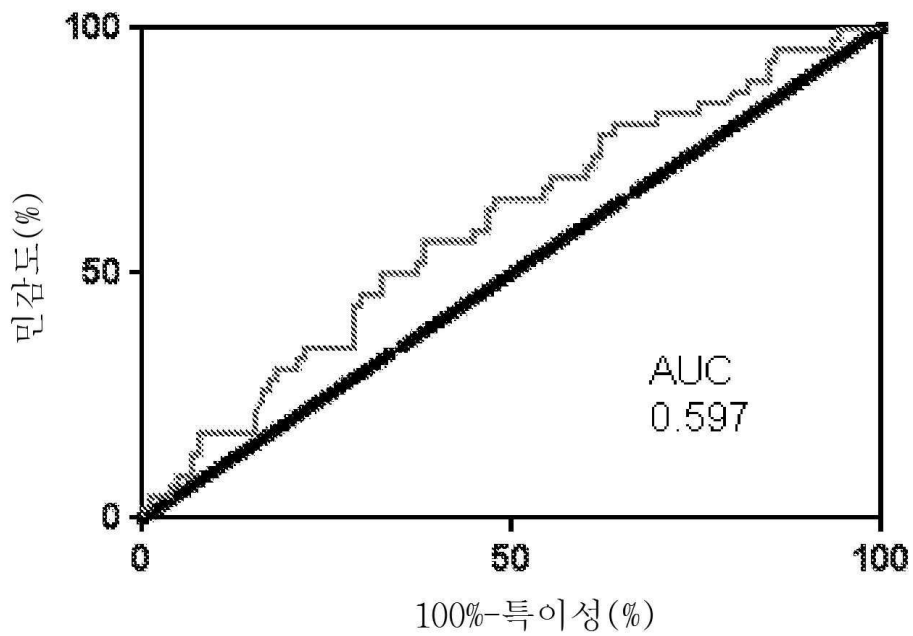
도면18c

SCAT169 혈장 건강한 지원자 대 HAE 발작

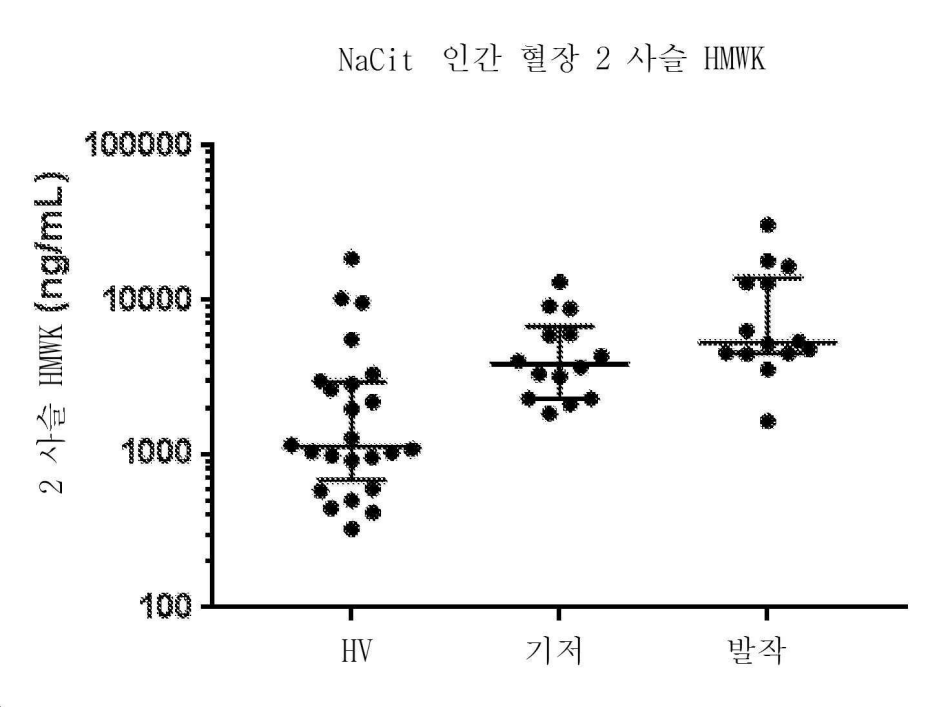


도면18d

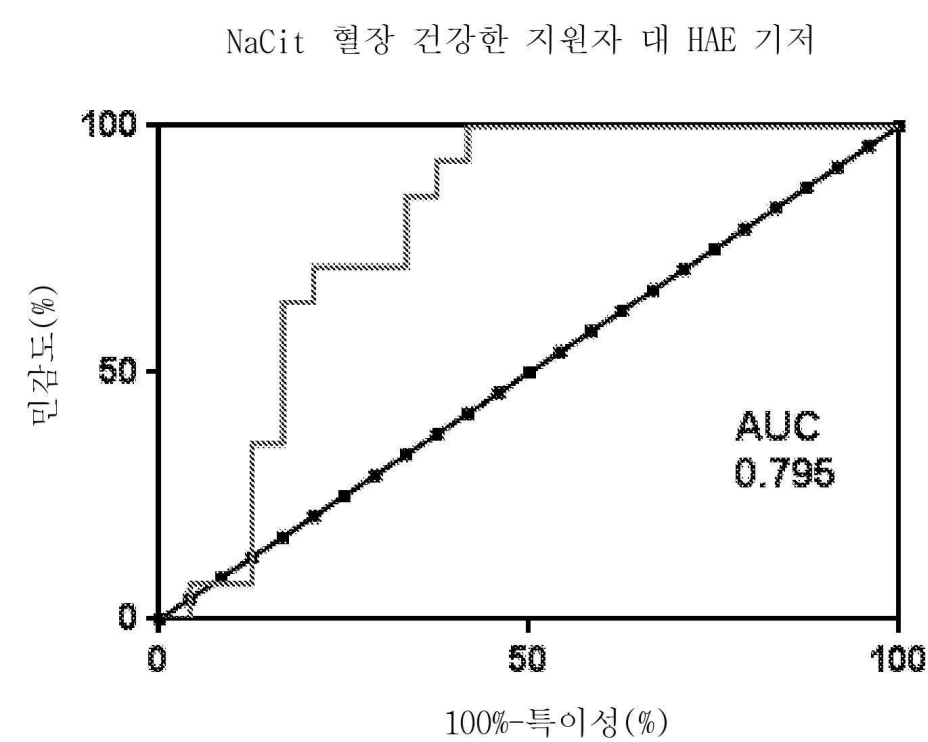
SCAT169 HAE 기저 대 발작



도면19a

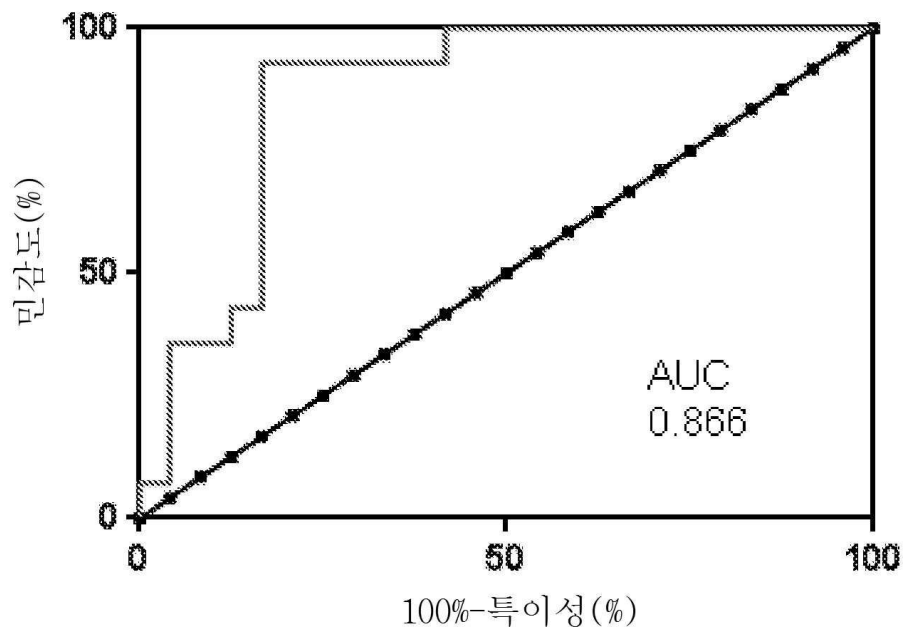


도면19b



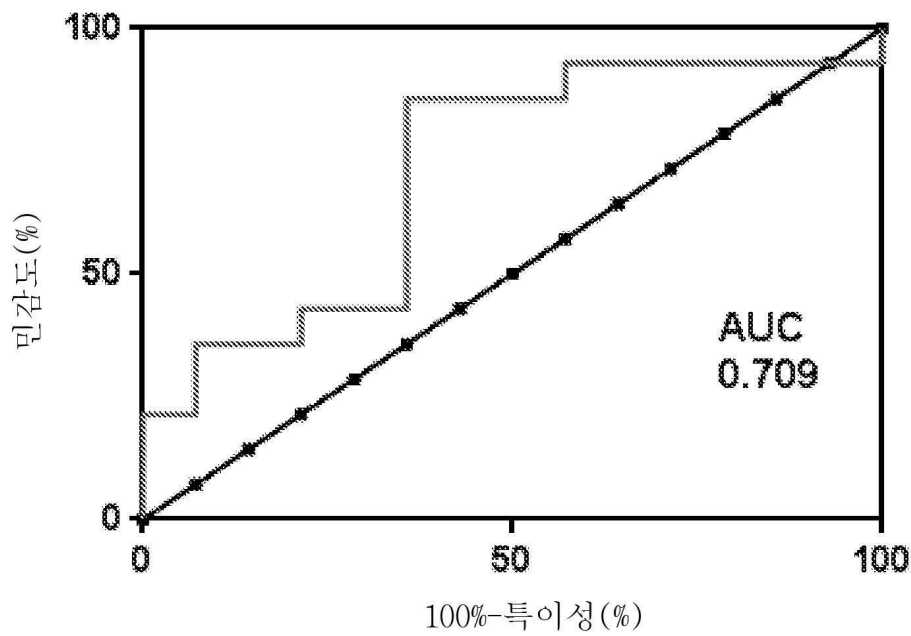
도면19c

NaCit 혈장 건강한 지원자 대 HAE 발작

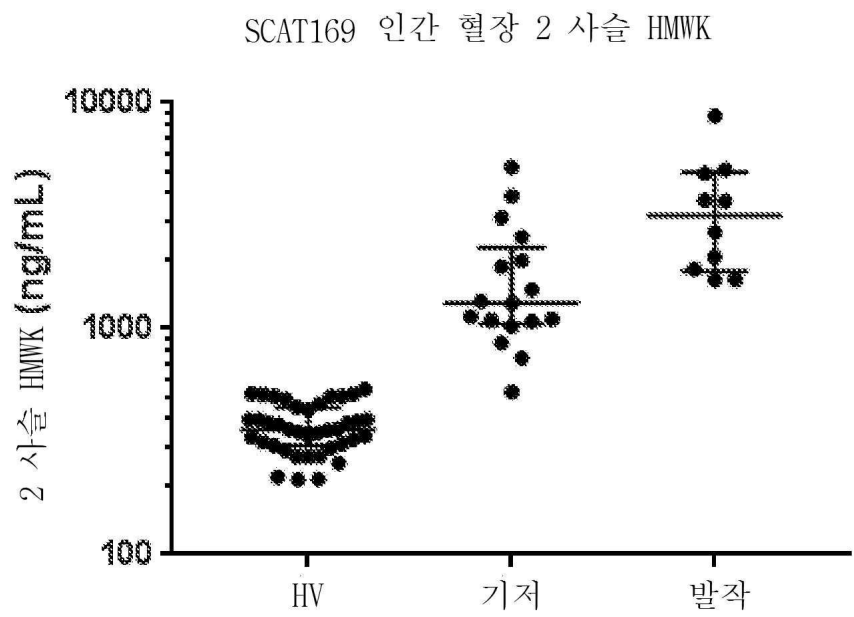


도면19d

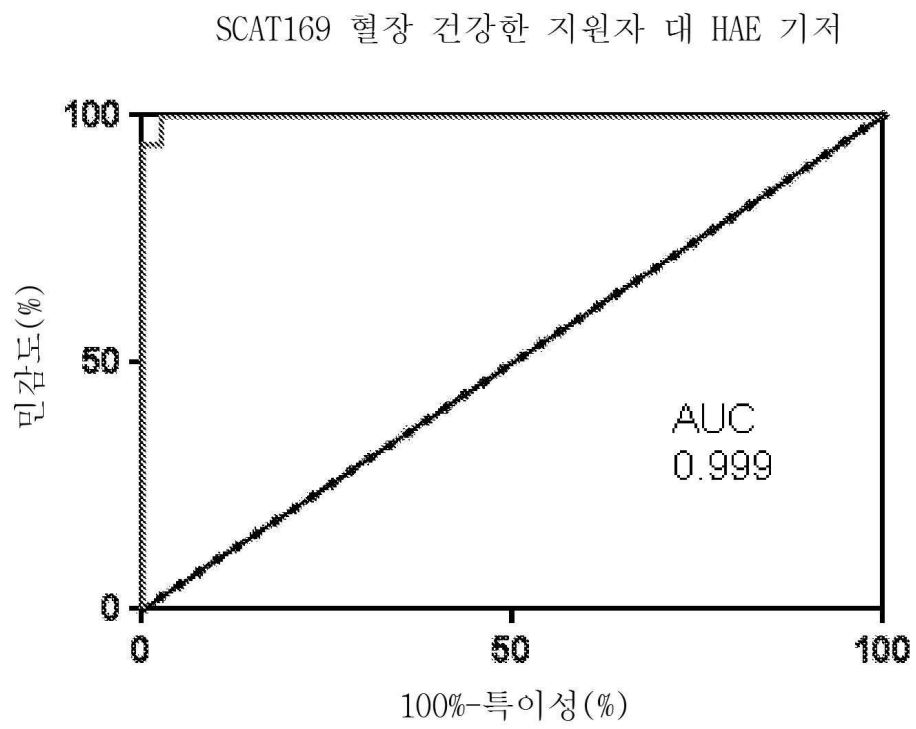
NaCit 혈장 HAE 기저 대 발작



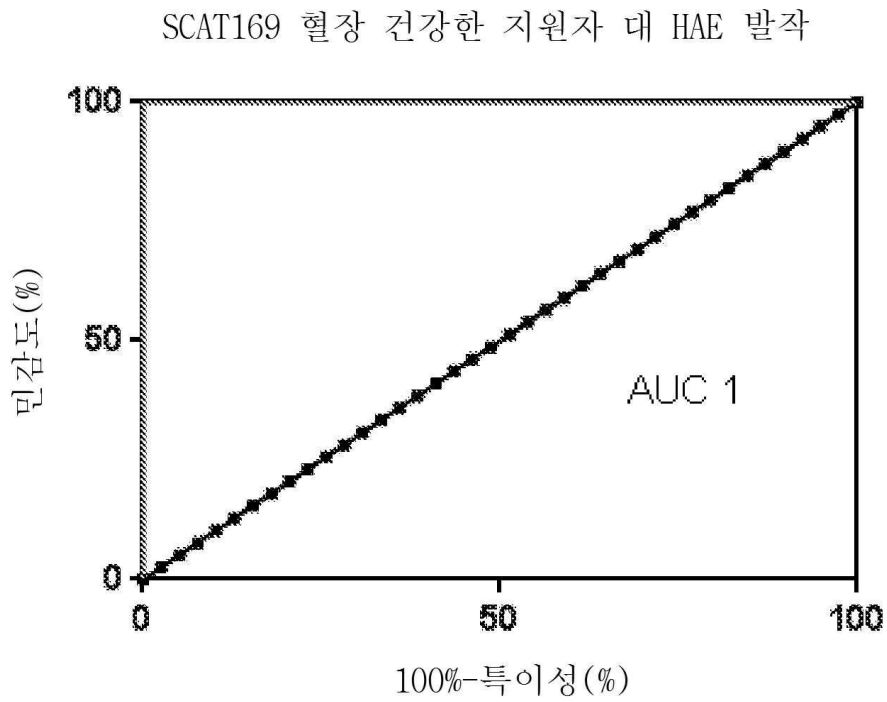
도면20a



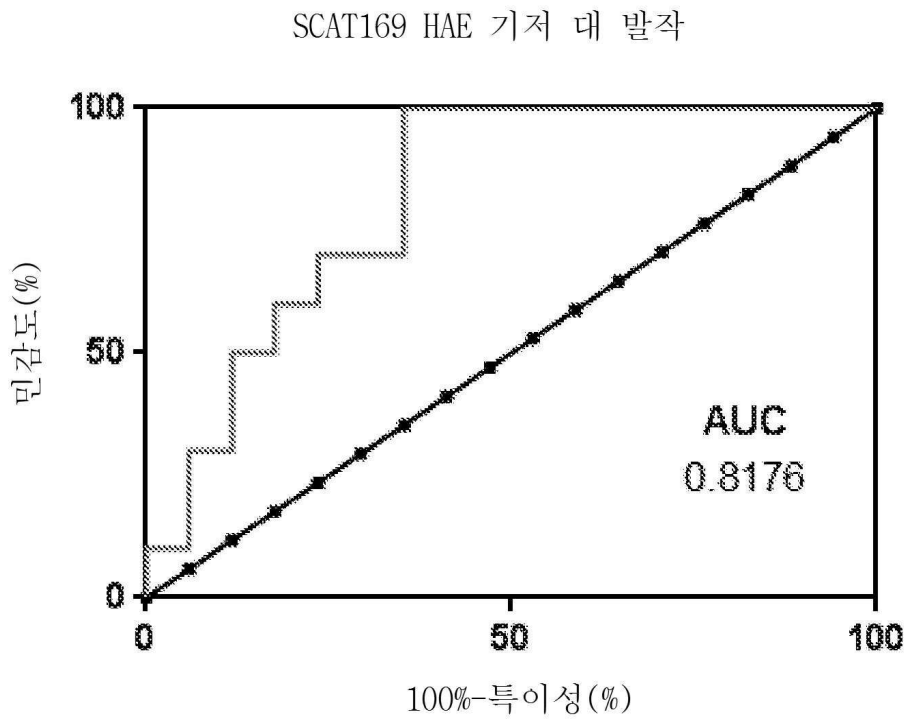
도면20b



도면20c



도면20d



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Dyax Corp.

<120> IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF CLEAVED HIGH MOLECULAR WEIGHT
KININOGEN

<130> WO2017/070170

<140> PCT/US2016/057640

<141> 2016-10-19

<150> US 62/335,311

<151> 2016-05-12

<150> US 62/243,505

<151> 2015-10-19

<160> 83

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 644

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Lys Leu Ile Thr Ile Leu Phe Leu Cys Ser Arg Leu Leu Leu Ser

1 5 10 15

Leu Thr Gln Glu Ser Gln Ser Glu Glu Ile Asp Cys Asn Asp Lys Asp

20 25 30

Leu Phe Lys Ala Val Asp Ala Ala Leu Lys Lys Tyr Asn Ser Gln Asn

35 40 45

Gln Ser Asn Asn Gln Phe Val Leu Tyr Arg Ile Thr Glu Ala Thr Lys

50 55 60

Thr Val Gly Ser Asp Thr Phe Tyr Ser Phe Lys Tyr Glu Ile Lys Glu

65 70 75 80

Gly Asp Cys Pro Val Gln Ser Gly Lys Thr Trp Gln Asp Cys Glu Tyr

85 90 95

Lys Asp Ala Ala Lys Ala Ala Thr Gly Glu Cys Thr Ala Thr Val Gly

100 105 110

Lys Arg Ser Ser Thr Lys Phe Ser Val Ala Thr Gln Thr Cys Gln Ile

115 120 125

Thr Pro Ala Glu Gly Pro Val Val Thr Ala Gln Tyr Asp Cys Leu Gly
130 135 140

Cys Val His Pro Ile Ser Thr Gln Ser Pro Asp Leu Glu Pro Ile Leu
145 150 155 160

Arg His Gly Ile Gln Tyr Phe Asn Asn Asn Thr Gln His Ser Ser Leu
165 170 175

Phe Met Leu Asn Glu Val Lys Arg Ala Gln Arg Gln Val Val Ala Gly
180 185 190

Leu Asn Phe Arg Ile Thr Tyr Ser Ile Val Gln Thr Asn Cys Ser Lys
195 200 205

Glu Asn Phe Leu Phe Leu Thr Pro Asp Cys Lys Ser Leu Trp Asn Gly
210 215 220

Asp Thr Gly Glu Cys Thr Asp Asn Ala Tyr Ile Asp Ile Gln Leu Arg
225 230 235 240

Ile Ala Ser Phe Ser Gln Asn Cys Asp Ile Tyr Pro Gly Lys Asp Phe
245 250 255

Val Gln Pro Pro Thr Lys Ile Cys Val Gly Cys Pro Arg Asp Ile Pro
260 265 270

Thr Asn Ser Pro Glu Leu Glu Glu Thr Leu Thr His Thr Ile Thr Lys
275 280 285

Leu Asn Ala Glu Asn Asn Ala Thr Phe Tyr Phe Lys Ile Asp Asn Val
290 295 300

Lys Lys Ala Arg Val Gln Val Val Ala Gly Lys Lys Tyr Phe Ile Asp
305 310 315 320

Phe Val Ala Arg Glu Thr Thr Cys Ser Lys Glu Ser Asn Glu Glu Leu
325 330 335

Thr Glu Ser Cys Glu Thr Lys Lys Leu Gly Gln Ser Leu Asp Cys Asn
340 345 350

Ala Glu Val Tyr Val Val Pro Trp Glu Lys Lys Ile Tyr Pro Thr Val
355 360 365

Asn Cys Gln Pro Leu Gly Met Ile Ser Leu Met Lys Arg Pro Pro Gly

370 375 380
 Phe Ser Pro Phe Arg Ser Ser Arg Ile Gly Glu Ile Lys Glu Glu Thr
 385 390 395 400

 Thr Val Ser Pro Pro His Thr Ser Met Ala Pro Ala Gln Asp Glu Glu
 405 410 415
 Arg Asp Ser Gly Lys Glu Gln Gly His Thr Arg Arg His Asp Trp Gly
 420 425 430
 His Glu Lys Gln Arg Lys His Asn Leu Gly His Gly His Lys His Glu
 435 440 445
 Arg Asp Gln Gly His Gly His Gln Arg Gly His Gly Leu Gly His Gly
 450 455 460

 His Glu Gln Gln His Gly Leu Gly His Gly His Lys Phe Lys Leu Asp
 465 470 475 480
 Asp Asp Leu Glu His Gln Gly Gly His Val Leu Asp His Gly His Lys
 485 490 495
 His Lys His Gly His Gly His Gly Lys His Lys Asn Lys Gly Lys Lys
 500 505 510
 Asn Gly Lys His Asn Gly Trp Lys Thr Glu His Leu Ala Ser Ser Ser
 515 520 525

 Glu Asp Ser Thr Thr Pro Ser Ala Gln Thr Gln Glu Lys Thr Glu Gly
 530 535 540
 Pro Thr Pro Ile Pro Ser Leu Ala Lys Pro Gly Val Thr Val Thr Phe
 545 550 555 560
 Ser Asp Phe Gln Asp Ser Asp Leu Ile Ala Thr Met Met Pro Pro Ile
 565 570 575
 Ser Pro Ala Pro Ile Gln Ser Asp Asp Asp Trp Ile Pro Asp Ile Gln
 580 585 590

 Ile Asp Pro Asn Gly Leu Ser Phe Asn Pro Ile Ser Asp Phe Pro Asp
 595 600 605
 Thr Thr Ser Pro Lys Cys Pro Gly Arg Pro Trp Lys Ser Val Ser Glu
 610 615 620

Ile Asn Pro Thr Thr Gln Met Lys Glu Ser Tyr Tyr Phe Asp Leu Thr
 625 630 635 640
 Asp Gly Leu Ser

<210> 2

<211> 362

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Gln Glu Ser Gln Ser Glu Glu Ile Asp Cys Asn Asp Lys Asp Leu Phe

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

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

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

180 185 190
Phe Leu Phe Leu Thr Pro Asp Cys Lys Ser Leu Trp Asn Gly Asp Thr

195 200 205
Gly Glu Cys Thr Asp Asn Ala Tyr Ile Asp Ile Gln Leu Arg Ile Ala

210 215 220
Ser Phe Ser Gln Asn Cys Asp Ile Tyr Pro Gly Lys Asp Phe Val Gln

225 230 235 240
Pro Pro Thr Lys Ile Cys Val Gly Cys Pro Arg Asp Ile Pro Thr Asn

245 250 255
Ser Pro Glu Leu Glu Glu Thr Leu Thr His Thr Ile Thr Lys Leu Asn

260 265 270
Ala Glu Asn Asn Ala Thr Phe Tyr Phe Lys Ile Asp Asn Val Lys Lys

275 280 285
Ala Arg Val Gln Val Val Ala Gly Lys Lys Tyr Phe Ile Asp Phe Val

290 295 300
Ala Arg Glu Thr Thr Cys Ser Lys Glu Ser Asn Glu Glu Leu Thr Glu

305 310 315 320
Ser Cys Glu Thr Lys Lys Leu Gly Gln Ser Leu Asp Cys Asn Ala Glu

325 330 335
Val Tyr Val Val Pro Trp Glu Lys Lys Ile Tyr Pro Thr Val Asn Cys

340 345 350
Gln Pro Leu Gly Met Ile Ser Leu Met Lys

355 360

<210> 3

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Ser Ser Arg Ile Gly Glu Ile Lys Glu Glu Thr Thr Val Ser Pro Pro
1 5 10 15

His Thr Ser Met Ala Pro Ala Gln Asp Glu Glu Arg Asp Ser Gly Lys

20 25 30
 Glu Gln Gly His Thr Arg Arg His Asp Trp Gly His Glu Lys Gln Arg
 35 40 45
 Lys His Asn Leu Gly His Gly His Lys His Glu Arg Asp Gln Gly His
 50 55 60
 Gly His Gln Arg Gly His Gly Leu Gly His Gly His Glu Gln Gln His
 65 70 75 80
 Gly Leu Gly His Gly His Lys Phe Lys Leu Asp Asp Asp Leu Glu His

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

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

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

<210> 4

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 5

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

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

<210> 6

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 6

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Ser Ser Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 7

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 7

Gln Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Met Ser Gly Thr Pro Gly Gln

1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Glu

20 25 30
Tyr Val Tyr Trp Phe Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

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

50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg

65 70 75 80
Ser Glu Asp Glu Thr Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Trp Asp Asp Thr Leu

85 90 95
Arg Thr Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100 105 110

<210> 8

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Thr Asp Asn Gly Asp Tyr Ala Leu Ala His Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 9

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 9

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

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

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

<210> 10

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Thr Arg Arg Gly Trp Phe Gly Glu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 11

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65						70						75						80	
Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Gln	His	Asn	Ser	Tyr	Pro				
85					90					95									
Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys								
100					105														
<210>	12																		
<211>	126																		
<212>	PRT																		
<213>	Artificial Sequence																		
<220><223>	Synthetic Polypeptide																		
<400>	12																		
Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly				
1	5			10			15												
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Pro	Tyr				
20					25					30									
Met	Met	Tyr	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val				
35					40					45									
Ser	Ser	Ile	Ser	Pro	Ser	Gly	Gly	Lys	Thr	Trp	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
50					55					60									
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr				
65	70				75				80										
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
85					90					95									
Ala	Arg	Leu	Gly	Gly	Ser	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly				
100					105					110									
Met	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
115					120					125									
<210>	13																		
<211>	111																		
<212>	PRT																		
<213>	Artificial Sequence																		
<220><223>	Synthetic Polypeptide																		

<400> 13

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Gly Asn
20 25 30

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

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

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

Ser Glu Asp Glu Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Asp Arg Leu
85 90 95

Asn Gly His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 14

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 14

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

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

20 25 30

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

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

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

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

85

90

95

Ala Arg Gly Asp Tyr Asp Tyr Gly Asp Phe Thr Asp Ala Phe Asp Ile

100

105

110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 15

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 15

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Met Ile Tyr Glu Gly Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser

85

90

95

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

100

105

110

<210> 16

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 16

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

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

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

115

<210> 17

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 17

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

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

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 18

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly His His Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 19

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 19

Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser
20 25 30

Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Asn Ile Ala Pro
85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 20

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 20

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Pro Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Met Val Arg Gly Val Ile Lys Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 21

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 22

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 22

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr
20 25 30

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

35 40 45
Ser Val Ile Ser Ser Ser Gly Gly Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 23

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Ile His Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Leu Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asn Ile Lys

100 105

<210> 24

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 24

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Thr Arg Arg Gly Trp Phe Gly Glu Asp Tyr Tyr Tyr Tyr Met

100 105 110

Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 25

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 25

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

1 5 10 15

Gly Glu Arg Ala Thr Val Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Gly Ser
20 25 30

Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu

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

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

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln His Phe His Thr Ser
85 90 95

Pro Pro Gly Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 26

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Met Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser

85 90 95

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

100 105 110

<210> 28

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 28

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

1 5 10 15

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

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

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

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 29

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 29

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

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

100 105 110

<210> 30

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 30

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gln Gly Arg Ala Val Arg Gly Lys Leu Tyr Tyr Tyr Gly

100 105 110

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

115 120 125

<210> 31

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 31

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

1 5 10 15

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

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

35 40 45
Ile Ser Ser His His Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60
Ala Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln

65 70 75 80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95
Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 32

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 32

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 33

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 33

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 34

<

211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 34

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
Ser Ser Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Thr Gln Tyr Ala Asp Ser Val

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

<210> 35

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 35

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

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

<210> 36

<

211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg His Arg Ser Lys Trp Asn Asp Ala Pro Phe Asp Ser Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 37

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 37

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

<210>

38

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 38

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

<210> 39

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gln Asp Thr Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Thr Gly Thr Gln Ala Met

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Thr Val Leu

100 105

<210> 40

<211> 120

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 41

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 41

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Met Ile Tyr Asp Val Asn Thr Arg Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Thr Ser

85

90

95

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

100

105

110

<210> 42

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Gly Gln Trp Met Asp Trp Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 43

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45
 Ile Tyr Asp Ala Ser Arg Met Asn Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Arg
 50 55 60
 Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ile Leu Thr Ile Tyr Lys Leu Glu
 65 70 75 80
 Pro Glu Asp Ile Gly Thr Tyr Phe Cys Gln His Thr Asp Asp Phe Ser
 85 90 95
 Val Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Leu Lys
 100 105
 <210> 44
 <
 211> 116
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Synthetic Polypeptide
 <400> 44
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe His Tyr Arg
 20 25 30
 Met Met Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
 35 40 45
 Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Thr Ala Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ala Lys Arg Asn Arg Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser
 115

<210> 45

<211> 114

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 45

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Ile Lys

<210> 46

<211> 120

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

<210> 47

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 47

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

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

<210> 48

<

211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 49

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp
85 90 95

Pro Pro Ser Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Asp Ile Lys
100 105

<210>

50

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 50

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Lys Tyr
20 25 30

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

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

50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Tyr Arg Tyr Cys Thr Ala Asn Thr Cys Ser Leu Tyr Gly
100 105 110

Met Asp Val Trp Gly Arg Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 51

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Met Lys

100 105

<210> 52

<

211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

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

100

105

110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 53

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 53

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Asn Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100

105

<210>

54

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 54

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Pro Tyr Asp Phe Trp Ser Glu Gly Ala Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 55

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

<210> 56

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 56

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

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser	
115	120

<210> 57

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 57

Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ser Leu Ser Pro

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 58

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 58

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

Thr Val Ser Ser
115

<210> 59

<211> 110

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 59

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

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

<210> 60

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 60

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Gly Ser Gly Ser Ser His Ala Phe Asp Ile Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 61

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105

<210> 62

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 62

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

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

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 63

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 63

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Thr Ile Trp Pro

85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 64

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

Thr Met Val Thr Val Ser Ser

<210> 65

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 65

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

Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

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

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gln Lys Ser Tyr
85 90 95

Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

 $\langle 210 \rangle$

66

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 66

```

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

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

```

<210> 67

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 67

```

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

Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser
           50           55           60

```

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

100 105

<210> 68

<

211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 68

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

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

115

<210

> 69

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 69

Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Thr Ser Val
1 5 10 15

Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Asp Ile Ser Gly
20 25 30

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

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

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Asn Lys Tyr Pro
85 90 95

Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 70

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 70

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Trp Tyr
20 25 30

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

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

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

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Asn Pro Tyr Ser Ser Gly Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser
115
<210> 71
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223>
Synthetic Polypeptide
<400> 71
Gln Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro
1 5 10 15
Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp
20 25 30
Ser Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Phe Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Phe Asn Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
65 70 75 80
Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
85 90 95
Ala Leu Gln Thr Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110
Thr
<210> 72
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 72

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Ile Pro Asn Trp Ile Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 73

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 73

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gln Asp Arg Arg Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

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

<210> 74

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<

400> 74

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

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

<210> 75

<

211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 75

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 76

<211> 137

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Synthetic Polypeptide

<400> 76

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser
 130 135

<210> 77

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 77

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

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

 100 105 110
 Gln Pro Lys Ala Asn Pro
 115

<210> 78

<211> 304

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Met Ile Tyr Thr Met Lys Lys Val His Ala Leu Trp Ala Ser Val Cys

1 5 10 15

Leu Leu Leu Asn Leu Ala Pro Ala Pro Leu Asn Ala Asp Ser Glu Glu

20 25 30

Asp Glu Glu His Thr Ile Ile Thr Asp Thr Glu Leu Pro Pro Leu Lys

35 40 45

Leu Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp Gly Pro Cys Lys

50 55 60

Ala Ile Met Lys Arg Phe Phe Phe Asn Ile Phe Thr Arg Gln Cys Glu

65 70 75 80

Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn Arg Phe Glu Ser

85 90 95

Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp Asn Ala Asn Arg Ile

100 105 110

Ile Lys Thr Thr Leu Gln Gln Glu Lys Pro Asp Phe Cys Phe Leu Glu

115 120 125

Glu Asp Pro Gly Ile Cys Arg Gly Tyr Ile Thr Arg Tyr Phe Tyr Asn

130 135 140

Asn Gln Thr Lys Gln Cys Glu Arg Phe Lys Tyr Gly Gly Cys Leu Gly

145 150 155 160

Asn Met Asn Asn Phe Glu Thr Leu Glu Glu Cys Lys Asn Ile Cys Glu

165 170 175

Asp Gly Pro Asn Gly Phe Gln Val Asp Asn Tyr Gly Thr Gln Leu Asn

180 185 190

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

195 200 205

Phe Glu Phe His Gly Pro Ser Trp Cys Leu Thr Pro Ala Asp Arg Gly

210 215 220

Leu Cys Arg Ala Asn Glu Asn Arg Phe Tyr Tyr Asn Ser Val Ile Gly

225 230 235 240

Lys Cys Arg Pro Phe Lys Tyr Ser Gly Cys Gly Gly Asn Glu Asn Asn

245 250 255

Phe Thr Ser Lys Gln Glu Cys Leu Arg Ala Cys Lys Lys Gly Phe Ile

260 265 270

Gln Arg Ile Ser Lys Gly Gly Leu Ile Lys Thr Lys Arg Lys Arg Lys

275 280 285

Lys Gln Arg Val Lys Ile Ala Tyr Glu Glu Ile Phe Val Lys Asn Met

290 295 300

<210> 79

<211> 58

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Arg Pro Asp Phe Cys Leu Glu Pro Pro Tyr Thr Gly Pro Cys Lys Ala

1 5 10 15

Arg Ile Ile Arg Tyr Phe Tyr Asn Ala Lys Ala Gly Leu Cys Gln Thr

20 25 30

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

35 40 45

Glu Asp Cys Met Arg Thr Cys Gly Gly Ala

50 55

<210> 80

<211> 60

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 80

Glu Ala Met His Ser Phe Cys Ala Phe Lys Ala Asp Asp Gly Pro Cys

1 5 10 15

Arg Ala Ala His Pro Arg Trp Phe Phe Asn Ile Phe Thr Arg Gln Cys

20 25 30
Glu Glu Phe Ile Tyr Gly Gly Cys Glu Gly Asn Gln Asn Arg Phe Glu

35 40 45
Ser Leu Glu Glu Cys Lys Lys Met Cys Thr Arg Asp

50 55 60

<210> 81

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Tyr Arg Arg Ile Gly Val Pro Arg Arg Asp Glu Phe Asp Ile Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 82

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Trp Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105

<210> 83

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Polypeptide

<400> 83

His Lys His Gly His Gly His Gly Lys His Lys Asn Lys Gly Lys Lys

1 5 10 15

Asn Gly Lys His

20