(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0097582
(43) 공개일자 2014년08월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 39/395 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) *A61P 29/00* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7020074(분할)
(22) 출원일자(국제) 2006년07월18일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2013-7001594
원출원일자(국제) 2006년07월18일
심사청구일자 2013년02월20일
(85) 번역문제출일자 2014년07월17일
(86) 국제출원번호 PCT/US2006/027862
(87) 국제공개번호 WO 2007/011941
국제공개일자 2007년01월25일
(30) 우선권주장
60/700,265 2005년07월18일 미국(US)

(71) 출원인
암젠 인크
미국 캘리포니아 91320-1799, 사우전드 오크, 원 암젠 센터 드라이브
메다렉스, 인코포레이티드
미국 08540 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
(72) 발명자
시유, 제랄드
미국 캘리포니아 90403 산타 모니카 #5 캘리포니아 애비뉴 1730
쉔, 웨니앙
미국 캘리포니아 94306 팔로 알토 브리안트 스트리트 3456
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김영, 양영준

전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **인간 항-B7RP1 중화 항체**

(57) 요 약

본 발명은 인간 B7 관련 단백질-1 (B7RP1) 과 상호작용하거나 또는 결합하는 항체 및 B7RP1 에 결합함으로써 이의 기능을 중화시키는 항체를 제공한다. 본 발명은 또한 상기 항체의 약제학적 조성물, 및 약제학적 유효량의 항-B7RP1 항체를 투여함으로써, B7RP1 기능을 중화시키고, 특히 면역 장애 (예를 들어, 부적당한 면역 반응)의 치료 방법을 제공한다. 항-B7RP1 항체를 이용하여 시료 중 B7RP1 의 검량 방법 또한 제공된다.

대 표 도

```
16H-VH-G.L.   (1) EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVAY
     16H.VH   (1) EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVAY

16H-VH-G.L.  (51) IKQDGNEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG
     16H.VH  (51) IKQDGNEKYYVDSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG

16H-VH-G.L.(101) ILWFGDLPTFWGQGTLVTVSS
     16H.VH(101) ILWFGDLPTFWGQGILVTVSS
```

(72) 발명자

요시나가, 스티븐, 키요시

미국 캘리포니아 91360 사우전드 오크스 칼레 살토 1896

후앙, 하이춘

미국 캘리포니아 94539 페르몬트 수에노 웨이 2425

특허청구의 범위

청구항 1

B7RP1에 특이적으로 결합하는 약제학적 유효량의 분리된 항체를 환자에게 투여하여 자가면역 질환 또는 염증성 반응을 치료하는 방법이되, 상기 항체가 임의의 SEQ ID NO : 1-40, 44-58 또는 70-76에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하는, 상기 자가면역 질환 또는 염증성 반응을 치료하는 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 출원은 2005년 7월 18일에 출원된 U.S. 가특허 출원 일련번호 60/700,265를 우선권으로 청구하며, 그 개시 내용은 전적으로 본원에 참고문헌으로 포함된다.

[0002] 본 발명은 B7 관련 단백질-1(B7RP1)에 결합하는 인간 모노클로날 항체에 관한 것이다. 면역억제 및 면역 활성화와 관련된 질환 및 장애 치료를 위한 조성물 및 방법도 또한 기재된다.

배 경 기 술

[0003] T-세포는 면역 반응을 개시하고, 항원-특이적 효과기 기능을 중재하며, 싸이토카인 분비로 기타 백혈구의 활성을 조절한다. 적절한 T-림프구(T-세포) 면역 반응의 생성을 위해, 2 가지의 신호가 항원 제시 세포(APC)에 의해 T-세포에 제공되어야만 한다. 항원은, 특이성을 결정하는 때에 주요 조직적합 유전자 복합체(MHC)를 통해 T-세포 수용체(TCR)에 제시되어야만 한다. T 세포는 APC 상에 제시되는 항원만을 인식할 수 있다. 항원 수용체에 추가하여, 적절한 T-세포 활성화는 또한 T-세포 및 APC 모두에서 기타 세포 표면 분자의 상호작용을 필요로 한다. 보조자극 분자로 지칭되는 상기 분자들은 유도자 세포 상에 존재하는 리간드 및 응답 세포 상의 수용체로 이루어진다. 상기 항원 독립적인 보조자극 신호는 APC 상의 B7 과의 구성원들 및 T-세포 상의 이의 수용체들의 연대에 의해 전달되어야만 한다. 생산적인 면역 반응은 증식, 분화, 클론 확장 및 효과기 기능을 유도한다. 제 2 의 보조자극 신호없이는, T-세포는 면역성 결여(anergy)로 일컬어지는, 장기간 지속되는 항원-특이적 비반응의 상태에 놓이게 된다. II 상 임상 실험들은, 건선(Abrams 등의 2000, *J Exp Med.* 192:681-94; Abrams 등의 1999, *J. Clin. Invest.* 103:1243-52) 및 류마티스성 관절염(Kremer 등의 2003, *New England Journal of Medicine* 349:1907-15)의 치료에서, 한 보조자극 경로를 차단하는 것이 효능이 있음을 증명하여, 상기 일반적 전략이 면역조절 요법에 있어서 좋은 표적임을 시사한다.

[0004] 특별한 보조자극 B7 분자인, B7 관련 단백질-1 (B7RP1)은, 아미노 말단에 신호 서열 및 세포외 도메인이 있는 제 1 형 트랜스멤브레인 단백질인데, 여기서 세포외 도메인은 2 개의 Ig 루프, 트랜스멤브레인 도메인 및 카르복시 말단 세포내 도메인을 포함한다(PCT 출원 공보 WO 00/46240). B7RP1는 T-세포의 세포 표면에 발현되는 ICOS[유도성 보조자극자(Inducible costimulator)를 표시함]를 선호하여 결합한다(Yoshinga 등의 2000, *Int. Immun.* 12:1439-1447). ICOS는 활성화된 T-세포에 의한 제 1 형 및 제 2 형 싸이토카인의 생산에 중요한 역할을 한다(Coyle 등의 2000, *Immunity* 13:95-105).

[0005] B7RP1는 APC 상에서 항시적으로 발현되는 유일한 리간드이며(Yoshinaga 등의 1999, *Nature.* 402:827-32), ICOS는 활성화된 T-세포 상에서만 발현된다(McAdam 등의 2000, *Journal of Immunology* 165:5035-40). B7RP1-의존성 신호전달은 효과기(즉, 완전히 활성화된) T-세포의 활성화 뿐만 아니라 이의 가공하지 않은(naive) 전구체로부터의 성숙화에 필요하다(Dong 등의 2003, *Journal of Autoimmunity.* 21:255-60; Coyle 등의 2000, *Immunity.* 13:95-105). 결과적으로, B7RP1/ICOS 상호작용은 적절한 T-세포-의존성 호출 면역 반응에 필요하다(Dong 등의 2003, *Journal of Autoimmunity.* 21:255-60).

[0006] 보조자극 T-세포 경로를 방해하는 최근의 시도들은 원천적으로 T-세포 활성화만을 차단하는 보조자극 폴리펩티드에 관심을 두고 있으나, 활성화 및 성숙에는 관심을 두고 있지 않다. 결과적으로, 상기 요법들은 T-세포 기능의 일반적인 저해를 제공한다. 대조적으로, B7RP1/ICOS 상호작용의 차단은 오직 성숙한 효과기 T-세포에 의해 영향을 받는 T-세포 기능의 더욱 특이적인 저해를 제공한다. 이에 따라, 임상 설정에서의 B7RP1/ICOS 상호작용의 차단은, 자연적 T-세포 활성화만을 차단하는 보조자극 요법에 비해 더욱 제한적인 부작용 프로필을 제공

하므로 더욱더 바람직하다.

발명의 내용

[0007] **발명의 요약**

[0008] 본 발명은 B7 관련 단백질-1(B7RP1)에 결합하는 모노클로날 항체를 제공한다. 한 구현예에서, 모노클로날 항체는 B7RP1의 생물학적 활성을 중화하며, B7RP1 의 면역 보조자극 활성을 특별히 또는 완전하게 저해하기 위해 특히 유용한 인간 모노클로날 항체이다. 본 발명은 또한 본 발명의 모노클로날 항체를 생산하는 세포, 특히 하이브리도마 세포를 제공한다. 특별한 국면에서, 본 발명의 항체는 본원에 기재된 바와 같은 B7RP1 의 H 또는 D 영역에 특이적으로 결합한다.

[0009] 본 발명은 추가로 항체 Fc 영역의 서열 및 SEQ ID NO : 1 내지 SEQ ID NO : 40 으로 식별되는 하나 이상의 서열을 포함하는 융합 단백질을 제공한다. 상기 분자들은, 예를 들어 본원에 참고문헌으로 포함되는 국제 특허 출원, 공보 WO 00/24782 에 기재된 방법으로 이용하여 제조될 수 있다. 상기 분자들은, 예를 들어 포유류 세포(예를 들어, 중국 햄스터 난소 세포) 또는 박테리아 세포[예를 들어, 에셰리키아 콜라이 (*E. coli*) 세포]에서 발현될 수 있다.

[0010] 특정 국면에서, 본 발명은 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체로서, 중쇄는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA 및 IgE 중쇄 불변 영역으로부터 선택되는 중쇄 불변 영역 또는 이의 임의의 대립유전자 변이체를 포함하며(본원에 참고문헌으로 포함되는 Kabat 등의 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 에 논의된 바와 같음), 중쇄의 가변 영역은 임의의 SEQ ID NO : 7 내지 SEQ ID NO : 14 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하는 항체를 제공한다. 본 발명의 항체는 SEQ ID NO : 41 에 제시되는 IgG2 임의의 중쇄 불변 영역 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편의 아미노산을 포함하거나, 또는 SEQ ID NO : 42 에 제시되는 IgG1 중쇄 불변 영역 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 모노클로날 항체, 인간 항체이거나, 또는 바람직하게는 인간 모노클로날 항체이다.

[0011] 특정 국면에서, 본 발명은 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체를 제공하는데, 여기서 경쇄는 SEQ ID NO : 43 에 제시되는 아미노산 서열 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 갖는 불변 영역을 포함하며, 경쇄 가변 영역은 임의의 SEQ ID NO : 1 내지 SEQ ID NO : 6 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 항체는 모노클로날 항체, 인간 항체이거나, 또는 바람직하게는 인간 모노클로날 항체이다.

[0012] 특정 국면에서, 본 발명의 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하는데, 여기서 중쇄의 가변 영역은 SEQ ID NO : 7 또는 SEQ ID NO : 8 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함한다. 기타 국면에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO : 1 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함한다.

[0013] 기타 국면에서, 본 발명의 항체는 중쇄 및 경쇄를 포함하는데, 여기서 중쇄의 가변 영역은 SEQ ID NO : 9 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함한다. 기타 국면에서, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO : 2 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함한다.

[0014] 추가 국면에서, 중쇄는 임의의 SEQ ID NO : 27 내지 SEQ ID NO : 40 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 갖는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 추가 국면에서, 경쇄는 임의의 SEQ ID NO : 15 내지 SEQ ID NO : 26 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 갖는 적어도 하나의 CDR 을 포함한다.

[0015] 본 발명은 또한 B7RP1 에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는데, 여기서 중쇄는 SEQ ID NO : 7 또는 SEQ ID NO : 8 로 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하는 가변 영역을 포함하며, 경쇄는 SEQ ID NO : 1 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하는 가변 영역을 포함한다.

[0016] 추가로, 본 발명은 B7RP1 에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는데, 여기서 중쇄는 SEQ ID NO : 9 에 제시되

는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하는 가변 영역을 포함하며, 경쇄는 SEQ ID NO : 2 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함한다.

[0017] 특정 국면에서, 본 발명은 또한 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체를 제공하는데, 여기서 중쇄는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 중쇄 가변 영역은 임의의 SEQ ID NO : 7 내지 SEQ ID NO : 14 에 제시되는 바와 같은 아미노산 서열에 대한 동일성이 적어도 약 75 % 이상, 적어도 약 80 % 이상, 적어도 약 85 % 이상, 적어도 약 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % 이상, 또는 적어도 약 99 % 이상인 서열을 포함하며, 여기서 경쇄는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 여기서 경쇄 가변 영역은 임의의 SEQ ID NO : 1 내지 SEQ ID NO : 6 에 제시되는 바와 같은 아미노산에 대한 동일성이 적어도 약 80 % 이상, 적어도 약 85 % 이상, 적어도 약 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % 이상, 또는 적어도 약 99 % 이상인 서열을 포함하며, 여기서, 항체는 B7RP1 에 특이적으로 결합한다.

[0018] 본 발명은 또한 B7RP1 에 특이적으로 결합하는 항체로서, 중쇄가 SEQ ID NO : 44 또는 SEQ ID NO : 46 에 제시되는 바와 같은 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하며, 경쇄가 SEQ ID NO : 45 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하는 항체를 제공한다.

[0019] 본 발명은 또한 B7RP1 에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하는데, 여기서 중쇄는 SEQ ID NO : 47 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하며, 경쇄는 SEQ ID NO : 48 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함한다.

[0020] 특정 국면에서, 본 발명은 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체를 제공하는데, 여기서 중쇄는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 중쇄 가변 영역은 임의의 SEQ ID NO : 27 내지 SEQ ID NO : 40 에 제시되는 아미노산 서열과 적어도 약 75 % 이상, 적어도 약 80 % 이상, 적어도 약 85 % 이상, 적어도 약 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % 이상, 또는 적어도 약 99 % 이상의 동일성을 가진 적어도 하나의 CDR 서열을 포함하고, 경쇄는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 경쇄 가변 영역은 SEQ ID NO : 15 내지 SEQ ID NO : 26 에 제시되는 아미노산 서열과 적어도 약 80 % 이상, 적어도 약 85 % 이상, 적어도 약 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % 이상, 또는 적어도 약 99 % 이상의 동일성을 가진 아미노산 서열을 가진 적어도 하나의 CDR 을 포함하고, 여기서, 항체는 B7RP1 에 특이적으로 결합한다.

[0021] 본 발명은 또한 단쇄 항체, 단쇄 Fv 항체, F(ab) 항체, F(ab) 항체 및 $(Fab')_2$ 항체를 제공한다.

[0022] 특별한 국면에서, 본 발명은 SEQ ID NO : 15 내지 SEQ ID NO : 26 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하는 경쇄를 제공한다.

[0023] 추가로, 본 발명은 임의의 SEQ ID NO : 27 내지 SEQ ID NO : 40 에 제시되는 아미노산 서열, 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 포함하는 중쇄를 제공한다.

[0024] 본 발명은 또한 B7RP1 에 특이적으로 결합하는 분리된 인간 항체에 관한 것으로, 하기를 포함한다 : (a) 인간 중쇄 프레임워크 영역, 인간 중쇄 CDR1 영역, 인간 중쇄 CDR2 영역, 및 인간 중쇄 CDR3 영역 ; 및 (b) 인간 경쇄 프레임워크 영역, 인간 경쇄 CDR1 영역, 인간 경쇄 CDR2 영역, 및 인간 경쇄 CDR3 영역. 특정 국면에서, 인간 중쇄 CDR1 영역은 임의의 SEQ ID NO : 27, 30 또는 35 에 나타낸 중쇄 CDR1 영역일 수 있고, 인간 경쇄 CDR1 영역은 임의의 SEQ ID NO : 15, 18 또는 24 에 나타낸 경쇄 CDR1 영역일 수 있다. 기타 국면에서, 인간 중쇄 CDR2 영역은 임의의 SEQ ID NO : 28, 31, 33, 36 또는 39 에 나타낸 중쇄 CDR2 영역일 수 있고, 인간 경쇄 CDR2 영역은 임의의 SEQ ID NO : 16, 19 또는 21 에 나타낸 경쇄 CDR2 일 수 있다. 또다른 국면에서, 인간 중쇄 CDR3 영역은 임의의 SEQ ID NO : 29, 32, 34, 37, 38 또는 40 에 나타낸 중쇄 CDR3 영역이고, 인간 경쇄 CDR3 영역은 임의의 SEQ ID NO : 17, 20, 22, 23, 25 또는 26 에 나타낸 경쇄 CDR3 영역이다.

[0025] 본 발명의 항체는 B7RP1 에 특이적으로 결합하는 능력을 특징으로 한다. 더욱이, 본 발명의 항체는 B7RP1 폴리펩티드와 관련된 시험관내(또는 생체외) 및/또는 생체내 활성 중 적어도 하나를 길항하는 역량을 갖는다. 본 발명은 B7RP1 폴리펩티드와 결합하는 높은 친화성을 가진 분리된 항-인간 B7RP1 인간 항체를 제공하는데, 여기서 항체는 인간 B7RP1 폴리펩티드에 결합하며, KinExA 를 이용하여 결정되는 약 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M 정도의 해리 상수(K_D)로 인간 B7RP1 폴리펩티드로부터 해리되거나, 또는 약 10^{-6} M, 10^{-}

^{7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M 정도의 EC_{50} 로 시험관내 중화 검정에서 B7RP1 유도성 생존을 저해한다.

[0026] 본 발명은 또한 B7RP1 에 특이적으로 결합하는 분리된 인간 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 제공하는데, 여기서 항체 또는 단편은 중쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하며, 하기와 같다:

[0027] a) 중쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 27 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 중쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 28에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 중쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 29 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고 ;

[0028] b) 중쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 30 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 중쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 31에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 중쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 32 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고 ;

[0029] c) 중쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 27 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 중쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 33에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 중쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 34 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고 ;

[0030] d) 중쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 35 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 중쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 36에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 중쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 37 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고 ;

[0031] e) 중쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 27 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 중쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 33에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 중쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 38 에 제시되는 아미노산 서열을 가지며 ; 또는

[0032] f) 중쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 35 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 중쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 39에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 중쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 40 에 제시되는 아미노산 서열을 갖는다.

[0033] 본 발명은 또한 B7RP1에 특이적으로 결합하는 인간 항체 또는 분리된 인간 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 제공하는데, 여기서 항체 또는 단편은 경쇄 CDR1, CDR2 및 CDR3 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하며, 하기와 같다 :

[0034] a) 경쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 15에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 16에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 경쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 17 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고 ;

[0035] b) 경쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 18에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 19에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 경쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 20 에 제시되는 아미노산 서열을 갖고 ;

[0036] c) 경쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 15에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 21에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 경쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 22에 제시되는 아미노산 서열을 갖고 ;

[0037] d) 경쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 18에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 19에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 경쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 23에 제시되는 아미노산 서열을 갖고 ;

[0038] e) 경쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 24에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 16에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 경쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 25에 제시되는 아미노산 서열을 가지며 ; 또는

[0039] f) 경쇄 CDR1은 SEQ ID NO : 24에 제시되는 아미노산 서열을 갖고, 경쇄 CDR2는 SEQ ID NO : 16에 제시되는 아미노산 서열을 가지며, 경쇄 CDR3은 SEQ ID NO : 26에 제시되는 아미노산 서열을 갖는다.

[0040] 본 발명은 또한 B7RP1 에 대한 본원에 기재된 항체와 경쟁하는 항체를 제공한다. 특정 국면에서, 본 발명의 경쟁 항체는 임의의 SEQ ID NO : 1 내지 40을 포함하는 항체의 인간 B7RP1 에 대한 결합과 경쟁한다.

[0041] 또한, 본 발명의 일부는 항-인간 B7RP1 인간 항체를 코드하는 폴리뉴클레오티드 서열, 항-인간 B7RP1 인간 항체를 코드하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터, 항-인간 B7RP1 인간 항체를 코드하는 폴리뉴클레오티드를 혼입시킨 벡터로 형질전환된 숙주 세포, 항-인간 B7RP1 인간 항체를 포함하는 제형 및 이의 제조 및 사용 방법이다.

[0042] 본 발명은 또한, 시료를 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 접촉시키는 단계를 포함하는, 생물학적 시료에서의 B7RP1 검출 방법을 제공한다. 본 발명의 항-B7RP1 항체는 경쟁적 결합 검정, 직접 및 간접 샌드위치 검정, 면역침전 검정 및 효소-결합 면역흡수 검정(ELISA)과 같은, B7RP1 검출 및 검량을 위한 임의의 공지된 검정법에 이용될 수 있다(참고문헌은, Sola, 1987, Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques, pp. 147-158, CRC Press, Inc.). 항체는 이용되는 검정법에 적합한 친화성으로 B7RP1 에 결합할 수 있다.

[0043] 추가로, 본 발명은 본 발명의 적어도 하나의 항체 또는 이의 항원 결합 단편 또는 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편을 함유하는 유효량의 약제학적 조성물을 치료가 필요한 개인에게 투여하는 단계를 포함하는, B7RP1 의 증산, B7RP1 에 대한 증가된 감응성과 연관된 질환 및/또는 T-세포 반응 조절과 연관된 질환의 치료 방법을 제공한다.

[0044] 본 발명의 구현예들은 하기 상세한 설명 및 청구의 범위에서 분명해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0045] 도 1a는 16H 항체 가변 영역 서열(SEQ ID NO : 7) 및 상응하는 16H 가변 영역 생식계열(16Hg) 서열(SEQ ID NO : 8)을 도시한다.

도 1b는 16Hg 가 16H 에 필적하는 이의 생물학적 활성을 보유한다는 것을 증명하는 항-CD3 및 hB7RP1-Fc 융합 단백질을 이용하는 공동자극 검정 결과를 도시한다.

도 2는 16H, 16Hg, 및 5D 항체를 이용한 Biacore® 결합 검정 결과를 보여준다.

도 3은 5D 항체를 이용한 KinExA 결합 검정 결과를 보여준다.

도 4는 2H 항체를 이용한 KinExA 결합 검정 결과를 보여준다.

도 5는 2H 생식계열(2Hg) 항체를 이용한 KinExA 결합 검정 결과를 보여준다.

도 6은 유세포측정으로 분석한, 16H 항체가 B7RP-1 에 대한 ICOS-Fc 의 결합과 경쟁한다는 것을 보여주는 결합-경쟁 검정 결과를 도시한다.

도 7은 B7RP-1 단일 뉴클레오티드 다형현상(SNP) 분석의 개요를 도시한다.

도 8은 ELISA 경쟁 검정에서의 항-인간 B7RP-1 모노클로날 항체 세트의 분석 개요를 도시한다. 나타낸 값은 ICOS-Fc 융합 단백질의 결합 저해에 대한 IC_{50} 이다.

도 9a는 표지된 16H, 5D 및 ICOS 항체를 이용한 B7RP1 세포외 도메인(ECD)의 형광 염색을 보여준다.

도 9b는 B7RP1 SNP 변이체에 대한 16H 및 5D 항체의 유사한 결합 효능을 보여준다.

도 9c는 16H 또는 5D 항체 및 SNP 변이체를 이용한 공동자극 검정 결과를 도시한다.

도 10a는 다수의 상이한 항-쥐과동물 B7RP-1 모노클로날 항체와 비교한 1B7v2 모노클로날 항체를 이용한 플레이트 공동자극 검정 결과를 보여준다.

도 10b, 10c 및 10d는 항원-특이적 혈청 IgM(도 10b), IgG2a(도 10c) 및 IgG1(도 10d) 에 대해 분석한, 항원 유발 실험 결과를 보여준다.

도 11은 혈청 IL-5 수준이 1B7v2 항체로 억제된다는 것을 증명하는 ELISA 결과를 도시한다.

도 12a는 16H 항체가 사이노몰구스 원숭이(cynomolgus monkey) B7RP1(우측 패널) 및 인간 B7RP1(좌측 패널)에 결합할 수 있다는 것을 보여준다.

도 12b는 16H, 16Hg 및 5D 항체가 사이노몰구스 원숭이 B7RP1/ICOS-의존성 T 세포 활성화를 저해할 수 있다는 것을 보여준다.

도 13a는 16H 항체로 처리한 동물에서 제 42 일째에 파상풍 톡소이드로 2 차 항원투여 후 제 53 일 및 제 57 일째의 개별적인 사이노몰구스 원숭이 및 군 평균 역가를 도시한다.

도 13b은 5D 항체로 처리한 동물에서 제 42 일째에 파상풍 톡소이드로 2 차 항원투여 후 제 53 일 및 제 57 일째의 개별적인 사이노몰구스 원숭이 및 군 평균 역가를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0046] 여기에 사용되는 섹션 표제는 오직 정리의 목적인 것이며, 기재된 대상 제재를 한정하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본 출원에 인용된 모든 참고문헌들은 임의의 목적을 위해 본원에 참고문헌으로 명시적으로 포함된다.

[0047] **정의**

[0048] 통상적인 기술(예를 들어, 전기영동, 리포펙션)들이 재조합 DNA, 올리고뉴클레오티드 합성 및 조직 배양 및 형질전환에 이용될 수 있다. 효소 반응 및 정제 기술은 제조사의 설명에 따라 수행되거나 또는 당업계 또는 본원에 기재된 바와 같이 일반적으로 수행된다. 상기 기술 및 과정들은 당업계에 널리 공지된 방법에 따라, 각종의 일반적이며, 본 명세서에 인용 및 논의되는 더욱 구체적인 참고문헌에 기재된 바와 같이 일반적으로 수행될 수 있다. 참고문헌으로, 예를 들어, Sambrook 등의 2001, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 3d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. 는, 임의의 목적으로 참고문헌으로 본원에 포함된다. 특별한 정의가 제공되지 않는 한, 본원에 기재된 분석 화학, 유기 합성 화학 및 의약학 화학과 관련되어 사용되는 명명법 및 실험실 과정 및 기술은 당업계에서 널리 공지되고 통용되어 사용되는 것들이다. 유사하게, 통상적인 기술이 화학 합성, 화학 분석, 약제학적 제조, 제형 및 전달, 및 환자 치료에 이용될 수 있다.

[0049] 본 개시에 따라 사용되는 바와 같이, 하기의 용어들은, 달리 표기되지 않는 한 하기의 의미를 갖는 것으로 이해될 것이다. 본 발명의 항체에 관련된 어구 "생물학적 특성", "생물학적 특징" 및 용어 "활성"은 본원에서 호환되어 사용되며, 이에 제한되지 않으나 에피토프 친화성 및 특이성(예를 들어, 인간 B7RP1 에 대한 항-인간 B7RP1 인간 항체 결합), 표적화 폴리펩티드의 활성 길항 능력(예를 들어, B7RP1 활성), 항체의 생체내 안정성 및 항체의 면역원적 특성을 포함한다. 당업계에서 인식되는 항체의 기타 식별가능한 생물학적 특성 또는 특징에는, 예를 들어 상호 반응성(예를 들어, B7RP1 의 비-인간 상동체와의, 또는 일반적으로는 기타 단백질 또는 조직과의), 및 포유류 세포에서의 단백질의 높은 발현 수준을 유지하는 능력이 포함된다. 상기 언급된 특성 또는 특징들은, 이에 제한되지 않으나, ELISA, 경쟁적 ELISA, 표면 플라즈몬 공명, 시험관내 및 생체내 중화 검정(예를 들어, 실시예 2), 및 인간, 영장류 또는 임의의 기타 적당한 공급원 유래의 조직 섹션에 대한 면역염색을 포함하는 당업계에서 인식되는 기술을 이용하여 관찰 또는 측정될 수 있다. 항-인간 B7RP1 인간 항체의 특별한 활성 및 생물학적 특성은 하기의 실시예에서 더욱 상세하게 기재된다.

[0050] 본원에 사용된 용어 "분리된 폴리뉴클레오티드"는 게놈 DNA, cDNA, RNA, 또는 합성 기원 또는 이들의 소정 조합의 폴리뉴클레오티드를 의미하며, 이의 기원에 따라, 분리된 폴리뉴클레오티드는 (1) 분리된 폴리뉴클레오티드가 자연에서 발견되는 것이면, 폴리뉴클레오티드의 전부 또는 일부와 관련되어있지 않거나, (2) 자연에서는 결합되지 않는 폴리뉴클레오티드에 결합되거나, 또는 (3) 자연에서 더 큰 서열의 일부로서는 발생하지 않는다.

[0051] 본원에 사용된 용어 "폴리뉴클레오티드"는 길이가 10 개 이상인 뉴클레오티드의 단일 가닥 또는 이중 가닥 핵산 중합체를 의미한다. 특정 구현예에서, 폴리뉴클레오티드를 포함하는 뉴클레오티드는 리보뉴클레오티드 또는 데옥시리보뉴클레오티드이거나 또는 이들 중 임의의 유형의 뉴클레오티드의 변형된 형태일 수 있다. 상기 변형에는 염기 변형, 예컨대 브로뮤리딘, 리보오스 변형, 예컨대 아라비노사이드 및 2,3-디데옥시리보오스 및 뉴클레오티드간 결합 변형, 예컨대 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로셀레노에이트, 포스포로디셀레노에이트, 포스포로아닐로티오에이트, 포스포라닐라데이트 및 포스포로아미데이트가 포함된다. 용어 "폴리뉴클레오티드" 에는 구체적으로 DNA 또는 RNA 의 단일 및 이중 가닥 형태가 포함된다.

[0052] 본원에서 용어 "올리고뉴클레오티드" 에는 자연 발생 올리고뉴클레오티드 및 자연 발생에 의해 서로 결합된 변형 뉴클레오티드 및/또는 비-자연 발생 올리고뉴클레오티드 결합이 포함된다. 올리고뉴클레오티드는, 일반적으로 단일가닥이며 200 뉴클레오티드 정도의 길이를 가진 구성원들을 포함하는 폴리뉴클레오티드 아형이다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 10 내지 60 개의 뉴클레오티드 길이이다. 특정 구현예에서, 올리고뉴클레오티드는 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20 내지 40 뉴클레오티드의 길이이다. 올리고뉴클레오티드, 예를 들어, 유전자 돌연변이의 구축에 이용되는 단일가닥 또는 이중가닥일 수 있다. 본 발명의 올리고뉴클레오티드는 단백질 코딩 서열에 대해 센스 또는 안티센스 올리고뉴클레오티드일 수 있다.

[0053] 용어 "자연 발생 뉴클레오티드"에는 데옥시리보뉴클레오티드 및 리보뉴클레오티드가 포함된다. 용어 "변형 뉴클레오티드"에는 변형 또는 치환된 당 기를 가진 뉴클레오티드 등이 포함된다. 용어 "올리고뉴클레오티드 결합"에는 올리고뉴클레오티드 결합, 예컨대 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로셀레노에이트, 포스포로디셀레노에이트, 포스포로아닐로티오에이트, 포스포라닐라데이트, 포스포로아미데이트 등이 포함된다. 참고문헌으로는, 예를 들어, LaPlanche 등의 1986, *Nucl. Acids Res.*, 14:9081; Stec 등의 1984, *J. Am. Chem. Soc.*, 106:6077; Stein 등의 1988, *Nucl. Acids Res.*, 16:3209; Zon 등의 1991, *Anti-Cancer Drug Design*, 6:539; Zon 등의 1991, OLIGONUCLEOTIDE AND ANALOGUES: A PRACTICAL APPROACH, pp. 87-108 (F. Eckstein, Ed.), Oxford University Press, Oxford England; Stec 등의 U.S. 특허 No. 5,151,510; Uhlmann and Peyman, 1990, *Chemical Reviews*, 90:543 이 있으며, 이들 개시내용은 본원에 임의 목적을 위한 참고문헌으로 포함된다. 올리고뉴클레오티드는 올리고뉴클레오티드 또는 이의 하이브리디제이션의

검출을 가능하게 하는 검출가능한 표지를 포함할 수 있다.

[0054] 본원에 사용된 용어 "분리된 단백질"은 대상 단백질이 (1) 자연에서 발견되는 적어도 소정의 기타 단백질들과 유리되어 있거나, (2) 동일 공급원, 예를 들어 동일 종 유래의 기타 단백질들과 본질적으로 유리되어 있거나, (3) 상이한 종 유래의 세포에 의해 발현되거나, (4) 자연에서는 관련되어 있는 폴리뉴클레오티드, 지질, 탄수화물 또는 기타 재료들의 적어도 약 50 % 이상이 분리되었거나, (5) "분리된 단백질" 이 자연에서 관련되어 있는 단백질의 일부와 관련(공유 또는 비공유 상호작용에 의해)되어 있지 않거나, (6) 자연에서 관련되어 있지 않은 폴리펩티드와(공유 또는 비공유 상호작용에 의해) 작동적으로 관련되거나, 또는 (7) 자연에서는 발생하지 않음을 의미한다. 상기 분리된 단백질은 게놈 DNA, cDNA, mRNA 또는 기타 RNA, 합성 기원 또는 임의의 이들 조합에 의해 코딩될 수 있다. 한 구현예에서, 분리된 단백질은 이의 용도(치료, 진단, 예방, 연구 또는 기타)를 방해하는, 이의 자연 환경에서 발견되는 단백질 또는 폴리펩티드 또는 기타 오염물질들과 실질적으로 유리되어 있다.

[0055] "분리된" 항체는 이의 자연 환경의 구성원들로부터 동정 및 분리 및/또는 회수된 것이다. 이의 자연 환경의 오염 구성원들은 항체의 진단 또는 치료 용도를 방해하는 물질이며, 효소, 호르몬 및 기타 단백질성 또는 비단백질성 물질을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 항체는 (1) Lowry 법에 의해 측정되는 항체 중량의 95 % 이상 또는 99 % 이상, (2) 스피닝 컵 서열분석기(spinning cup sequenator)를 이용하여 N-말단 또는 내부 아미노산 서열을 15 개 이상의 잔기로 수득하기에 충분한 정도로, 또는 (3) 쿠마씨(Coomassie) 블루 또는 실버 염색을 이용하여 환원 또는 비환원 조건 하에 SDS-PAGE 로 균질하게 되도록 정제된다. 분리된 항체에는 재조합 세포 내의 그대로의 항체가 포함되는데, 이는 항체의 자연 환경의 적어도 하나의 구성원들이 존재하지 않기 때문이다.

[0056] 용어 "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 자연 단백질의 서열을 가진 분자, 즉 자연 발생 및 특이적 비-재조합 세포, 또는 유전자 조작되거나 또는 재조합 세포에 의해 제조된 단백질을 의미하며, 자연 단백질의 아미노산 서열을 가진 분자 또는 자연 서열의 하나 이상의 아미노산이 결실, 부가 및/또는 치환된 분자를 포함한다. 용어 "폴리펩티드" 및 "단백질"은 구체적으로는 항-B7RP1 항체 또는 항-B7RP1 항체의 하나 이상의 아미노산이 결실, 부가 및/또는 치환된 서열을 포함한다.

[0057] 용어 "폴리펩티드 단편"은 아미노 말단 결실, 카르복실 말단 결실 및/또는 내부 결실이 있는 폴리펩티드를 의미한다. 특정 구현예에서, 단편은 적어도 5 내지 약 500 아미노산 길이이다. 특정 구현예에서, 단편은 적어도 5, 6, 8, 10, 14, 20, 50, 70, 100, 110, 150, 200, 250, 300, 350, 400 또는 450의 아미노산 길이이다. 특히 유용한 폴리펩티드 단편에는 결합 도메인, 특히 항원 결합 도메인을 포함하여 기능성 도메인이 포함되는데, 특별히 여기서 항원은 인간 B7RP1 의 에피토프이다. 항-B7RP1 항체의 경우, 유용한 단편에는, 이에 제한되지 않으나, CDR 영역, 중쇄 또는 경쇄의 가변 도메인, 항원 사슬의 일부 또는 2 개의 CDR 을 포함하는 이의 가변 영역 등이 포함된다.

[0058] 용어 "특이적 결합제"는 표적에 특이적으로 결합하는 자연 발생 또는 비-자연 발생 분자를 의미한다. 특이적 결합제의 예시에는, 이에 제한되지 않으나, 단백질, 펩티드, 핵산, 탄수화물 및 지질이 포함된다. 특정 구현예에서, 특이적 결합제는 항체이다.

[0059] "B7RP1 에 대한 특이적 결합제"는 B7RP1 의 임의의 부분에 특이적으로 결합하는 특이적 결합제를 지칭한다. 특정 구현예에서, B7RP1 에 대한 특이적 결합제는 B7RP1 에 특이적으로 결합하는 항체이다.

[0060] 예시로서, 항체가 표지되는 경우, 상응하는 비표지화 항원에 의해 이의 표적에 대해 경쟁할 수 있는 경우 항체가 표적에 "특이적으로 결합" 한다.

[0061] 본원에 사용된 용어 "면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편"은 적어도 면역글로불린 중쇄 및 경쇄의 CDR 을 포함하는 폴리펩티드 단편을 의미한다. 본 발명의 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편은 항원에 결합할 수 있다. 특정 구현예에서, 항원은 수용체에 특이적으로 결합하는 리간드이다. 상기 구현예에서, 본 발명의 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편의 결합은 이의 수용체에 대한 리간드의 결합을 막아, 수용체에 대한 리간드의 결합으로 인한 생물학적 반응을 차단한다. 한 구현예에서, 본 발명의 면역학적으로 기능성인 면역글로불린 단편은 B7RP1 에 특이적으로 결합한다. 바람직하게는, 단편은 인간 B7RP1 에 특이적으로 결합한다.

[0062] 본원에 사용되고 대상체에 적용되는 용어 "자연 발생" 또는 "자연적"은 대상체를 자연에서 발견할 수 있음을 의미한다. 예를 들어, 자연에서 공급원으로부터 분리될 수 있고, 인간에 의해 의도적으로 변형되지 않은 유기체(바이러스 포함)에 존재하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 자연 발생인 것이다. 본원에 사용된 용어 "비-자연 발생" 또는 "비-자연적"은 자연에서 발견되지 않거나 또는 인간에 의해 구조적으로 변형되거나 또

는 합성된 물질을 의미한다. 예를 들어, "비-자연 발생"은 변이체, 예컨대 당업계의 공지된 돌연변이발생 기술을 이용하여 제조될 수 있는 폴리뉴클레오티드 변이체 또는 상기 폴리뉴클레오티드 변이체에 의해 생산되는 폴리펩티드 변이체를 의미할 수 있다. 상기 변이체에는, 예를 들어 하나 이상의 뉴클레오티드가 수반될 수 있는 뉴클레오티드 치환, 결실 또는 부가에 의해 제조된 것이 포함된다. 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩 또는 비코딩 영역 또는 이들 두가지 모두에서 변경될 수 있다. 코딩 영역에서의 변경은 보존성 또는 비보존성 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 제공할 수 있다. 이들 중 특별하게는, 침묵 치환, 부가, 결실, 및 보존성 치환이 있는데, 이들은 본 발명의 B7RP1 항체의 특성 및 활성을 변경시키지 않는다. 당업자는 당업계에 널리 공지된 방법을 이용하여 상기 변이체를 생성하는 방법을 쉽게 결정할 수 있다.

[0063] 용어 "작동적으로 결합된"은 용어가 적용되는 구성원들이 적합한 조건 하에 그들이 이의 고유의 기능을 수행할 수 있도록 하는 관계에 있음을 의미한다. 예를 들어, 단백질 코딩 서열에 "작동적으로 결합된" 조절 서열은 단백질 코딩 서열의 발현이 조절 서열의 전사적 활성과 양립할 수 있는 조건 하에 수행될 수 있도록 그곳에 결합된다.

[0064] 본원에 사용된 용어 "조절 서열"은 작동적으로 결합된 코딩 서열의 발현, 프로세싱 또는 세포내 위치결정에 영향을 미칠 수 있는 폴리뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 상기 조절 서열의 특징은 숙주 유기체에 좌우된다. 특별한 구현예에서, 원핵생물의 조절 서열에는 프로모터, 리보좀 결합 부위 및 전사 종결 서열이 포함될 수 있다. 기타 특별한 구현예에서, 진핵생물의 조절 서열에는 전사 인자에 대한 하나 또는 여러개의 인식 부위를 포함하는 프로모터, 전사 인핸서 서열, 전사 종결 서열 및 폴리아데닐화 서열이 포함될 수 있다. 특정 구현예에서, "조절 서열"에는 리더 서열 및/또는 융합 파트너 서열이 포함될 수 있다.

[0065] 용어 "벡터"에는 세포에 그것이 결합될 또다른 핵산을 운반할 수 있는 핵산 분자가 포함된다. 벡터의 한 유형은 "플라스미드" 인데, 이는 추가적인 DNA 절편이 결합될 수 있는 환형 이중 나선 DNA 루프를 지칭한다. 또다른 유형의 벡터는 바이러스 벡터로, 여기서 추가적 DNA 절편은 바이러스 게놈에 결합될 수 있다. 특정 벡터는 이들이 도입되는 숙주 세포에서 자가복제할 수 있다(예를 들어, 박테리아성 복제 기원을 가진 박테리아 벡터 및 에피좀 포유류 벡터). 기타 벡터(예를 들어, 비-에피좀 포유류 벡터)는 숙주 세포에 도입시 숙주 세포의 게놈에 통합될 수 있으며, 그로써 숙주 게놈과 함께 복제된다. 더욱이, 특정 벡터는 이들이 작동적으로 결합되는 유전자의 발현을 지령할 수 있다. 상기 벡터는 본원에서 "재조합 발현 벡터"(또는 간단하게, "발현 벡터")로 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술의 실제에서 유용한 발현 벡터는 종종 플라스미드의 형태이다. 본 명세서에서, "플라스미드" 및 "벡터" 는, 플라스미드가 가장 널리 사용되는 벡터 형태이므로, 호환하여 사용될 수 있다. 그러나, 본 발명은 상기 기타 형태의 발현 벡터, 예컨대 바이러스 벡터(예를 들어, 복제 결함 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-관련 바이러스)로서 동일한 기능을 제공하는 것을 포함하는 것으로 의도한다.

[0066] 어구 "재조합 숙주 세포"(또는 간단히 "숙주 세포")에는 재조합 발현 벡터가 도입된 세포가 포함된다. 당업자는 상기 용어가 특별한 대상체 세포 뿐만 아니라 상기 세포의 자손까지도 의미하도록 의도한다는 것을 이해할 것이다. 특정 변형이 돌연변이 또는 환경적 영향에 의해 후속 세대에 발생할 수 있기 때문에, 사실 상기 후손은 모 세포와 동일하지 않을 수 있으나, 본원에 사용된 용어 "숙주 세포" 의 범위에는 여전히 포함된다. 박테리아, 효모, 바큘로바이러스 및 포유류 발현 시스템(뿐만 아니라 파지 디스플레이 발현 시스템)을 포함하여, 광범위한 각종 숙주 발현 시스템이 본 발명의 항체 발현에 이용될 수 있다. 적합한 박테리아 발현 벡터의 예시는 pUC19 이다. 항체를 재조합적으로 발현하기 위해, 숙주 세포는 항체의 면역글로불린 경쇄 및 중쇄를 코드하는 DNA 단편을 보유하는 하나 이상의 재조합 발현 벡터로 트랜스펙션되어, 경쇄 및 중쇄가 숙주 세포에서 발현되어 숙주 세포가 배양되는 배지에 분비될 수 있으며, 상기 배지에서 항체를 회수할 수 있게 된다. Sambrook 등의 2001, MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratories, Ausubel, F.M. 등의 (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates, (1989) 및 Boss 등의 에 허여된 U.S. 특허 4,816,397 에 기재된 바와 같은 표준 재조합 DNA 방법론이 사용되어, 항체 중쇄 및 경쇄 유전자를 수득하고, 상기 유전자를 재조합 발현 벡터로 혼입시키고, 벡터를 숙주 세포에 도입한다.

[0067] 용어 "형질도입"은 한 박테리아에서 다른 박테리아로, 일반적으로는 파지를 이용하여 유전자를 전달하는 것을 의미한다. "형질도입"은 또한 레트로바이러스에 의한 진핵생물 세포 서열의 획득 및 전달을 의미한다.

[0068] 용어 "트랜스펙션"은 세포에 의한 외래 또는 외인성 DNA 의 흡수를 의미하며, 외인성 DNA 가 세포막 내부에 도입되는 경우 세포가 "트랜스펙션" 된다. 다수의 트랜스펙션 기술이 당업계에 널리 공지되어 있고, 본원에 개시되어 있다. 참고문헌은, 예를 들어, Graham 등의 1973, *Virology* 52: 456; Sambrook 등의 2001, MOLECULAR

CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratories; Davis 등의 1986, BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, Elsevier; and Chu 등의 1981, *Gene* 13: 197 이 있다. 상기 기술은 하나 이상의 외인성 DNA 부분을 적합한 숙주 세포에 도입하기 위해 이용될 수 있다.

[0069] 본원에 사용된 용어 "형질전환"은 세포에서의 유전자 특징 변화를 지칭하며, 신규한 DNA 를 포함하도록 변형된 경우 세포는 형질전환된다. 예를 들어, 이의 자연적 상태에서 유전자적으로 변형되는 경우 세포는 형질전환된다. 트랜스펙션 또는 형질도입 후, 형질전환 DNA는 세포의 염색체에 대한 물리적 통합에 의해 세포 유래의 DNA 와 재조합될 수 있거나, 또는 치환없이 에피좀 구성원으로서 일시적으로 유지될 수 있거나, 또는 플라스미드와 같이 독립적으로 복제할 수 있다. DNA 가 세포 분열과 함께 복제되는 경우, 세포는 안정하게 형질전환된 것으로 간주된다.

[0070] 용어 "항원"은 선택적 결합제, 예컨대 항체에 의해 결합될 수 있고, 추가적으로는 상기 항원의 에피토프에 결합할 수 있는 항체를 동물에서 생산하도록 사용될 수 있는 분자 또는 분자의 일부를 지칭한다. 항원은 하나 이상의 에피토프를 가질 수 있다.

[0071] 특정 구현예에서, 항체 변이체에는 모 폴리펩티드의 아미노산 서열에 비해 글리코실화 부위의 개수 및/또는 유형이 변경된 글리코실화 변이체가 포함된다. 특정 구현예에서, 단백질 변이체는 자연적 단백질에 비해 더 많거나 또는 더 적은 개수의 N-결합 글리코실화 부위를 포함한다. N-결합 글리코실화 부위는 하기의 서열을 특징으로 한다 : Asn-Xaa-Ser 또는 Asn-Xaa-Thr, 여기서, Xaa 로 나타내는 아미노산 잔기는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산 잔기일 수 있다. 상기 서열을 창출하기 위한 아미노산 잔기의 치환은 N-결합 탄수화물 사슬의 추가를 위한 잠재적인 신규한 부위를 제공한다. 대안적으로, 상기 서열을 제거하는 치환은 기존의 N-결합 탄수화물 사슬을 제거할 것이다. 하나 이상의 N-결합 글리코실화 부위(전형적으로는, 자연발생적인 것들)가 제거되고 하나 이상의 신규한 N-결합 부위가 창출되는 N-결합 탄수화물 사슬의 재배열이 또한 제공된다. 추가적인 항체 변이체에는 모 아미노산 서열에 비해, 하나 이상의 시스테인 잔기가 결실되거나 또는 또다른 아미노산(예를 들어, 세린)으로 치환된 시스테인 변이체가 포함된다. 시스테인 변이체는, 항체가 생물학적 활성 배치로 다시 폴딩되어야 할 때, 예컨대 불용성 봉입체 분리 후 유용할 수 있다. 시스테인 변이체는 일반적으로 자연적 단백질보다 더 적은 시스테인 잔기를 가지며, 전형적으로는 쌍을 이루지 않는 시스테인으로 인한 상호작용을 최소화하기 위해 짝수의 개수를 갖는다.

[0072] 추가 구현예에서, 항체 변이체에는 변형된 Fc 단편 또는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체가 포함될 수 있다. "결정화되는 단편(fragment that crystallizes)" 을 의미하는 Fc 단편, 또는 중쇄 불변 영역이, 항체에 변경된 결합 특징을 부여하기 위한 돌연변이에 의해 변형될 수 있다. 참고문헌은, 예를 들어 Burton and Woof, 1992, *Advances in Immunology* 51: 1-84; Ravetch and Bolland, 2001, *Annu. Rev. Immunol.* 19: 275-90; Shields 등의 2001, *Journal of Biol. Chem* 276: 6591-6604; Telleman and Junghans, 2000, *Immunology* 100: 245-251; Medesan 등의 1998, *Eur. J. Immunol.* 28: 2092-2100 ; 이들은 전부 본원에 참고문헌으로 포함됨). 상기 돌연변이에는 치환, 부가, 결실 또는 이들의 임의의 조합이 포함되며, 전형적으로는 본원에 기재된 방법뿐만 아니라 당업계에 공지된 방법에 따라 하나 이상의 돌연변이생성 올리고뉴클레오티드(들)을 이용하는 부위지정 돌연변이로 제공된다(참고문헌은, 예를 들어 Sambrook 등의 MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, 3rd Ed., 2001, Cold Spring Harbor, N.Y.and Berger and Kimmel, METHODS IN ENZYMOLOGY, Volume 152, Guide to Molecular Cloning Techniques, 1987, Academic Press, Inc., San Diego, CA., 이들은 본원에 참고문헌으로 포함된다).

[0073] 특정 구현예에 따르면, 아미노산 치환은 (1) 단백질 가수분해에 대한 적응성 감소, (2) 산화에 대한 적응성 감소, (3) 결합 친화성 변경, 및/또는 (4) 상기 폴리펩티드에 대한 기타 물리화학적 또는 기능적 특성을 부여 또는 변형시킬 수 있다. 특정 구현예에 따르면, 단일 또는 다중 아미노산 치환(특정 구현예에서, 보존성 아미노산 치환) 이 자연 발생 서열에서 만들어질 수 있다(특정 구현예에서, 분자간 상호작용을 형성하는 도메인(들) 밖의 폴리펩티드의 일부에서). 특정 구현예에서, 보존성 아미노산 치환은 전형적으로는 모 서열의 구조적 특징들을 실질적으로 변화시키지 않는다(예를 들어, 치환 아미노산은 모 서열을 특징짓는 2 차 구조, 예컨대 나선을 붕괴하거나 또는 붕괴하려는 경향이 있다). 당업계에서 인지된 폴리펩티드 2 차 및 3 차 구조의 예시는, PROTEINS, STRUCTURES AND MOLECULAR PRINCIPLES, (Creighton, Ed.), 1984, W. H. Freeman and Company, New York; INTRODUCTION TO PROTEIN STRUCTURE (C. Branden and J. Tooze, eds.), 1991, Garland Publishing, New York, N.Y.; and Thornton 등의 1991, *Nature* 354:105 에 기재되어 있으며, 이들은 각각 본원에 참고문헌으로 포함된다.

[0074] "항체" 또는 "항체 펩티드(들)"은 온전한 항체 또는 특이적 결합에 대한 온전한 항체와 경쟁하는 이의 결합 단편을 지칭한다. 특정 구현예에서, 결합 단편은 재조합 DNA 기술에 의해 제공된다. 추가 구현예에서, 결합 단편은 온전한 항체의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 제공된다. 결합 단편에는, 이에 제한되지 않으나, F(ab), F(ab'), $F(ab')_2$, Fv 및 단일쇄 항체가 포함된다.

[0075] 본 발명은 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체를 제공하며, 여기서 중쇄 및 경쇄는 함께 B7RP1 에 특이적으로 결합할 수 있는 항원 결합 구조를 형성한다. 전장 중쇄에는, 가변 영역 도메인, VH, 및 3 개의 불변 영역 도메인, C_H1, C_H2 및 C_H3 이 포함된다. VH 도메인은 폴리펩티드의 아미노 말단에 있고, C_H3 도메인은 카르복실 말단에 있다. 본원에 사용된 용어 "중쇄"에는 전장 중쇄 및 이의 단편이 포함된다. 전장 경쇄에는 가변 영역 도메인, V_L 및 불변 영역 도메인, C_L 이 포함된다. 중쇄와 마찬가지로, 경쇄의 가변 영역 도메인은 폴리펩티드의 아미노 말단에 있다. 본원에 사용된 용어 "경쇄" 는, 전장 경쇄 및 이의 단편이 포함된다. F(ab) 단편은 1 개의 경쇄 및 C_H1 및 중쇄의 가변 영역을 포함하여 이루어진다. F(ab) 분자의 중쇄는 또다른 중쇄 분자와는 디설파이드 결합을 형성하지 않는다. F(ab') 단편은 1 개의 경쇄 및 C_H1 및 C_H2 도메인 사이에 더 많은 불변 영역을 포함하는 1 개의 중쇄를 포함하여, 사슬간 디설파이드 결합이 2 개의 중쇄 사이에서 형성될 수 있어 $F(ab')_2$ 분자를 형성한다. Fv 영역은 중쇄 및 경쇄 모두에서의 가변 영역은 포함하나, 불변 영역은 없다. 단일쇄 항체는 중쇄 및 경쇄 가변 영역이 유연한 링커에 의해 결합되어 단일한 폴리펩티드 사슬을 형성하는 Fv 분자인데, 이는 항원 결합 영역을 형성한다. 단일쇄 항체는 국제 특허 출원 공보 WO 88/01649 및 U.S. 특허 4,946,778 및 5,260,203 에서 보다 상세하게 논의된다.

[0076] "다중특이적" 또는 "다관능성" 항체 이외의 2 가 항체는, 특정 구현예에서, 상동인 항원 특이성을 가진 결합 부위를 포함하는 것으로 이해된다.

[0077] 본 발명에 따른 항체 결합 및 특이성 평가에서, 과량의 항체가 수용체에 결합된 리간드의 양이 적어도 약 20 %, 40 %, 60 %, 80 %, 85 % 또는 그 이상 감소시키는 경우 (특히, 시험관내 경쟁 결합 검정을 이용한 측정에서), 수용체에 대한 리간들의 결합을 실질적으로 저해한다.

[0078] "중화 항체"는 그것이 결합하는 표적의 효과기 기능을 차단하거나 또는 실질적으로 감소시킬 수 있는 항체 분자를 의미한다. 따라서, "중화" 항-B7RP1 항체는 B7RP1 의 수용체 결합 및/또는 세포 반응 도출과 같은 효과기 기능을 차단하거나 또는 실질적으로 감소시킬 수 있다. "실질적으로 감소"는 표적 항원(예를 들어, 인간 B7RP1) 의 효과기 기능의 적어도 약 60 % 이상, 적어도 약 70 % 이상, 적어도 약 75 % 이상, 적어도 약 80 % 이상, 적어도 약 85 % 이상, 또는 적어도 약 90 % 이상 감소를 의미한다.

[0079] 용어 "에피토프"는 면역글로불린 또는 T-세포 수용체에 대해 특이적으로 결합할 수 있는 항원 상의 임의의 부위를 포함한다. 특정 구현예에서, 에피토프 결정소에는 분자의 화학적 활성 표면 기들, 예컨대 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴기, 또는 술포닐기가 포함되며, 특정 구현예에서, 특이적 3 차원적 구조 특징 및/또는 특이적 전하 특징을 가질 수 있다. 에피토프는 항체에 의해 결합되는 항원의 한 영역이다. 특정 구현예에서, 항체는 단백질 및/또는 고분자의 복합 혼합물에서 이의 표적 항원을 우선하여 인식하는 경우 항원에 특이적으로 결합한다고 일컬어진다. 특정 구현예에서, 항체는 평형 해리 상수가 약 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 10^{-12} M 또는 약 10^{-12} M 미만인 경우 항원에 특이적으로 결합한다고 일컬어진다.

[0080] 2 개의 항체가 상동이거나 또는 공간적 배치에 대해 중첩되는 에피토프를 인식하는 경우, 기준 항체와 "실질적으로 동일한 에피토프" 에 결합한다. 2 개의 항체가 상동이거나 또는 공간적 배치에 대해 중첩되는 에피토프에 결합하는지 여부를 결정하기 위한 가장 널리 사용되며 신속한 방법은 경쟁 검정인데, 이는 표지된 항원 또는 표지된 항체를 이용하여, 상이한 모든 포맷으로 배치될 수 있다. 일반적으로, 항원은 기판에 고정되며, 표지된 항체를 차단하는 비표지 항원의 능력은 방사성 동위원소 또는 효소 표지를 이용하여 측정된다.

[0081] 용어 "약제"는 본원에서 화학 화합물, 화학 화합물의 혼합물, 생물학적 고분자 또는 생물학적 재료로 제조된 추출물을 나타내기 위해 사용된다.

[0082] 본원에 사용되는 경우, 용어 "표지" 또는 "표지된"은 예를 들어, 방사물질로 표지된 아미노산의 혼입 또는 표지된 아비딘에 의해 검출될 수 있는 바이오틴 부분의 폴리펩티드에 대한 결합에 의해 검출가능한 마커 (예를 들어, 형광 마커와 같은 검출가능한 마커를 포함하는 스트렙타비딘, 화학발광 마커 또는 광학적 방법 또는 비색법으로 검출될 수 있는 효소 활성) 의 혼입을 지칭한다. 특정 구현예에서, 표지는 또한 치료용일 수 있다. 폴

리펩티드 및 당단백질의 각종 표지 방법이 당업계에 공지되어 있으며, 본원에 개시된 방법에서 유리하게 이용될 수 있다. 폴리펩티드에 대한 표지의 예시에는, 이에 제한되지 않으나, 방사성 동위원소 또는 방사성 핵종, 예컨대 ^{3}H, ^{14}C, ^{15}N, ^{35}S, ^{90}Y, ^{99m}Tc, ^{111}In, ^{125}I 및 ^{131}I, 형광 표지(예를 들어, 플루오레신 이소티오시아네이트 또는 FITC, 로다민 또는 란탄족 인광물질), 효소 표지(예를 들어, 고추냉이 퍼옥시다아제, β-갈락토시다아제, 루시퍼라아제, 알칼리성 포스파타아제), 화학발광 표지, 합텐 표지, 예컨대 비오티닐기, 및 2 차 리포터에 의해 인식되는 예비측정 폴리펩티드 에피토프[예를 들어, 류신 지퍼 페어 서열(leucine zipper pair sequences], 2 차 항체에 대한 결합 부위, 금속 결합 도메인, 또는 에피토프 태그) 가 포함된다. 특정 구현예에서, 표지는 잠재적인 공간 배치 입체장애를 감소시킬 여러가지 길이의 스페이서 암[예컨대, $(CH_2)_n$, 여기서 n < 약 20]에 의해 결합되어 있다.

[0083] 본원에 사용된 용어 "생물학적 시료" 에는, 이에 제한되지 않으나, 살아있는 개체로부터 또는 이전에 살아있었던 개체로부터의 임의의 양의 물질이 포함된다. 상기 살아있는 개체에는, 이에 제한되지 않으나, 인간, 마우스, 원숭이, 랫, 토끼 및 기타 동물이 포함된다. 상기 물질에는, 이에 제한되지 않으나, 혈액, 혈청, 소변, 세포, 장기, 조직, 뼈, 골수, 림프절 및 피부가 포함된다.

[0084] 본원에 사용된 용어 "약제학적 약제 또는 약물"은 환자에게 적절히 투여되는 경우 원하는 치료 효과를 유도할 수 있는 화학 화합물 또는 조성물을 지칭한다. 본 발명의 항체를 하나 또는 여럿 포함하는 약제학적 조성물과 연관된 표현 "약제학적 유효량"은, 본 발명에 따라 환자에서 건강한 대상체에서 관찰되는 것에 필적할 수준으로 민감도를 회복시키도록 민감도 역치 감소를 되돌려 외부 자극에 대한 민감도 역치에서의 감소를 없앨 수 있는 상기 약제학적 조성물의 양을 의미하는 것으로 이해된다.

[0085] "장애"는 본 발명에 따른 치료가 이익이 되는 임의의 상태이다. "장애" 및 "증상"은 본원에서 호환되어 사용되며, 만성 및 급성 면역계 장애 또는 포유류에서 문제가 되는 장애의 소인이 되도록 하는 병리학적 상태를 포함하는 부적절한 면역 반응과 연관된 면역계 질환을 포함한다. 본 발명에 따른 치료가 이익이 되는 다수의 증상 및 장애가, 예를 들어 국제 특허 출원 PCT/US00/01871(공보 번호 WO 00/46240) 에 기재되어 있으며, 이는 본원에 참고문헌으로 포함된다.

[0086] 용어 "면역계 질환" 및 "면역계 증상"은 B7RP1 수준의 증가, B7RP1 에 대한 감응성 증가와 연관된 임의의 의학적 증상 또는 장애, 또는 이에 제한되지 않으나 자가면역 질환, 이식편 생존 (graft survival), 골수 및 장기 이식, 혈액 상호융합으로 인한 동종감작, 독소 충격 증후군, T-세포 의존성 B-세포 중재 질환, 만성 면역 세포 부전과 연관된 만성 염증 질환, 림프세포증식질환 (예컨대, 다발성 골수종, 발데스톰스 마크로글로불리네미아 (Waldenstoms macroglobulinemia) 및 한랭글로불린혈증 (crioglobulinemias)) 및 암을 포함하는 T-세포 중재 질환을 포함한다. 자가면역 질환의 비제한적 예시에는, 전신성 홍반성 루푸스, 류마티스성 관절염, 면역 혈소판 감소성 자반증 (ITP), 다발성 경화증, 당뇨병 및 건선이 포함된다. 만성 염증성 질환의 비제한적 예시에는 염증성 장질환(예컨대, 크론씨 병 및 궤양대장염), 그라베스 질환 (Graves disease), 하시모토 갑상선염 및 당뇨병이 포함된다.

[0087] 용어 "면역계 질환" 및 "면역계 증상"은 또한 항체 생성 저해에 의해 경감되는 임의의 임상적 증상, 예컨대 과민반응성을 포함할 수 있다. 과민반응성은, 예를 들어 건초열, 알러지, 천식, 아토피 및 급성 부종에 의해 야기될 수 있다. 항체 매개성 과민반응성을 야기하는 질환의 비제한적 예시에는 전신성 홍반성 루푸스, 관절염(예컨대, 류마티스성 관절염, 반성 관절염, 건선성 관절염), 신장병[예컨대, 사구체신염, 멤브라노스(membranous), 사구체간질모세관사구체신염, 국소 분절, 국소 괴사, 반월상, 및 증식성 신장병, 예컨대 근위세뇨관손상], 피부 장애(예컨대, 천포창 및 유사천포창, 결절 홍반), 내분비병증[예컨대, 갑상샘염, 그라베스 질환(Graves disease), 하시모토 질환, 인슐린 의존성 당뇨병], 각종 폐병(예컨대, 외인성 폐포염), 각종 혈관병증, 복강 질환, IgA 의 비정상적 생산에 의한 질환, 다수의 빈혈 및 저혈소판혈증, 길레인 바레 증후군(Guillain-Barre Syndrome) 및 중증 근무력증이 포함된다.

[0088] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "유효량" 및 "치료 유효량"은 비히클 또는 하나 이상의 항-인간 B7RP1 인간 항체를 함유하는 약제학적 조성물과 관련하여 사용되는 경우, 원하는 결과(즉, 예를 들어, 비히클 또는 본 발명의 항-인간 B7RP1 인간 항체를 사용한 요법에 대해 원하는 결과는 T-세포 반응의 원하는 조절이다)를 제공하거나 또는 B7RP1 의 하나 이상의 생물학적 활성의 수준에서 관찰가능한 감소를 지지해주기에 충분한 양 또는 투여량을 지칭한다. 더 구체적으로는, 치료학적 유효량은 소정 기간 동안 약제를 이용하여 생체내 처리한 대상체에서 문제가 되는 증상, 예를 들어 면역 장애 및 질환과 연관된 임상적으로 규정된 하나 이상의 병리학적 과정을 저해하기에 충분한 항-인간 B7RP1 인간 항체(들)의 양이다. 본 발명에서, 항-B7RP1 항체의 "유효량"은 환자에서

T-세포 반응을 조절할 수 있다. 본 발명의 방법에서, 용어 "조절" 및 이의 문법적 변형어는 바람직하지 않은 경우, 예를 들어 면역 반응의 방지, 부분적 또는 완전한 저해, 감소, 지연 또는 서행화를 지칭한다. 유효량은 선택한 특이적 비히클- 또는 항-인간 B7RP1 인간 항체(들)에 따라 가변적일 수 있으며, 또한 치료할 환자와 관계된 요인들 및 증상 및 장애의 심각성에 좌우된다. 예를 들어, 비히클- 또는 항-인간 B7RP1 인간 항체(들)이 생체내 투여되는 경우, 환자의 연령, 체중 및 건강과 같은 요인들 뿐만 아니라 전임상 동물 실험에서 수득된 투여량 응답선 곡선 및 독성 데이터가 고려될 것이다. 약제가 시험관내 세포와 접촉되는 경우, 흡수, 반감기, 투여량, 독성 등과 같은 파라미터를 평가하기 위한 다양한 전임상적인 시험관내 연구를 고안할 것이다. 주어진 약제에 대한 유효량 또는 치료학적 유효량의 결정은 당업자의 재량이다.

[0089] 본원에 사용되는 경우, 용어 "B7 관련 단백질-1" 및 "B7RP1"은 자연 서열 B7RP1 의 모든 포유류 종으로서 정의되며, 이는 본원에 참고문헌으로 포함되는 국제 특허 출원 공보 WO 00/46240 에 기재되어 있다.

[0090] 본원에 사용되는 경우, "실질적으로 순수한" 또는 "실질적으로 정제된"은 존재하는 우세한 종들(즉, 몰 기준으로, 조성물 중에 임의의 기타 개별종들보다도 더욱 풍부함)인 화합물 또는 종을 의미한다. 특정 구현예에서, 실질적으로 정제된 분획은 해당 종이 존재하는 모든 고분자 종들의 적어도 약 50 % 이상(몰 기준)을 점유하는 조성물이다. 특정 구현예에서, 실질적으로 정제된 조성물은 조성물 중에 존재하는 모든 고분자 종들의 약 80 %, 85 %, 90 %, 95 % 또는 99 % 를 초과하여 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 종들은 본질적 동종성 (오염물 종들은 통상적인 검출법으로 조성물 중에서 검출되지 않음) 에 이르기까지 정제되며, 여기서 조성물은 본질적으로 단일한 고분자 종으로 이루어진다.

[0091] 용어 "환자"는 인간 및 동물 대상체를 포함한다.

[0092] "치료" 또는 "치료하다"는 치료적인 처치 및 예방 또는 방지 측면을 모두 지칭한다. 치료가 필요한 것에는, 이미 장애를 가진 것 뿐만 아니라 장애에 걸리기 쉽거나 또는 방지되어야 할 장애를 가진 것이 포함된다.

[0093] 문맥에 별다른 표기가 없는 한, 단수 용어는 복수를 포함할 것이며, 복수 용어는 단수를 포함할 것이다.

[0094] 본 발명의 특정 구현예에 따르면, B7RP1 에 대한 항체는, 이에 제한되지 않으나 상기 언급된 것들을 포함하여 면역계 장애 및 면역계 질환 치료에 이용될 수 있다.

[0095] 본 발명의 한 국면에서는 인간 B7RP1 에 대한 결합에 대해 생물학적 및 면역학적 특이성을 가진 완전 인간 모노클로날 항체가 제공된다. 본 발명의 또다른 국면에서는, 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 분자에 대한 아미노산 서열, 특히 이의 가변 영역에 해당하는 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 본 발명의 본 국면의 특별한 구현예는, 본 발명에 의해 제공되는 중쇄 및 경쇄의 상보성 결정 영역(CDRs), 특히 CDR1 내지 CDR3 에 해당하는 서열이다. 또다른 국면에서, 본 발명은 면역글로불린 분자 및 항체, 예컨대 모노클로날인 본 발명의 항체를 발현하는 하이브리도마 세포 및 세포주를 제공한다. 본 발명은 또한 항체, 예컨대 인간 B7RP1 에 대한 결합에 대해 생물학적 및 면역학적 특이성을 가진 모노클로날 항체의 생물학적으로 및 면역학적으로 정제된 제제를 제공한다.

[0096] 효모 인공 염색체 (YAC) 에 메가베이스 크기의 인간 유전자좌를 클로닝 및 재구축하고, 이들을 마우스 생식계열에 도입하는 능력은, 매우 크거나 또는 대략적으로만 매핑된 유전자좌의 기능성 구성원을 해명할 뿐만 아니라 인간 질환의 유용한 모델을 제공하기 위한 유리한 접근법을 제공한다. 더욱이, 마우스 유전자좌를 인간의 등가물로 치환하기 위한 상기 기술의 이용은 발생 동안 인간 유전자 생성물의 발현 및 조절, 다른 계와의 소통 및 질환 유도 및 진행에서의 이의 관련성에 대한 독특한 통찰을 제공한다.

[0097] 상기 전략의 중요한 실용적 적용은 마우스 체액성 면역 시스템의 "인간화" 이다. 내인성 Ig 유전자가 불활성화된 인간 면역글로불린 (Ig) 유전자좌의 마우스로의 도입은 항체의 정해진 발현 및 어셈블리를 근원으로 하는 메카니즘 연구 뿐 아니라 B-세포 발생에서의 이의 역할을 연구할 기회를 제공한다. 더욱이, 상기 전략은 완전 인간 모노클로날 항체 (MAb) 의 생산을 위한 공급원을 제공한다.

[0098] 용어 "인간 항체"에는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 실질적으로 해당하는 가변 및 불변 영역을 가진 항체가 포함된다. 특정 구현예에서, 인간 항체는, 이에 제한되지 않으나, 설치류, 예컨대 마우스 및 랫 및 토끼목, 예컨대 토끼를 포함하는 비인간 포유동물에서 생산된다. 특정 구현예에서, 인간 항체는 하이브리도마 세포에서 생산된다. 특정 구현예에서, 인간 항체는 재조합적으로 생산된다.

[0099] 항체와 관련된 용어 "재조합체"에는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 창출 또는 분리된 항체가 포함된다. 대표적인 예시에는, 숙주 세포에 트랜스펙션된 재조합 발현 벡터를 이용하여 발현된 항체, 재조합체로부터 분리된

항체, 조합된 인간 항체 라이브러리, 인간 면역글로불린 유전자에 대한 트랜스제닉인 동물 (예를 들어, 마우스) 유래의 분리된 항체 (참고문헌은, 예를 들어, Taylor, 등의 1992, *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295); 또는 인간 면역글로불린 유전자 서열을 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 것을 수반하는 임의의 수단에 의해 제조, 발현, 창출 또는 분리된 항체가 포함된다. 상기 재조합 인간 항체는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유도된 가변 및 불변 영역을 갖는다.

[0100] 인간 항체는 인간 요법에서 사용하기 위한 비인간 및 키메라 항체에 비해 3 가지 이상의 장점을 갖는다 :

[0101] 1) 항체의 효과기 부분이 인간의 것이므로, 인간 면역계의 다른 부분들과 더욱 상호작용할 수 있다 (예를 들어, 상보성 의존 세포독성 (CDC) 또는 항체 의존성 세포 독성 (ADCC) 에 의해 표적 세포를 더욱 효율적으로 파괴함);

[0102] 2) 인간 면역계는 인간 항체를 외래물로 인식하지 않으므로, 상기 주입된 항체에 대한 항체 반응이 완전히 외래성인 비인간 항체 또는 부분적 외래성인 키메라 항체에 대한 것보다는 덜하다;

[0103] 3) 주입된 비인간 항체는 인간 순환계에서 인간 항체의 반감기보다 훨씬 더 짧은 반감기를 갖는 것으로 보고되었다. 주입된 인간 항체는 자연 발생 인간 항체와 본질적으로 동일한 반감기를 가져, 더 적고 덜 빈번하게 투여량을 제공하도록 한다.

[0104] 이에 따라, 완전 인간 항체는 마우스 또는 마우스 유도성 MAb 에 내재하는 면역원성 및 알러지성 반응을 최소화하고, 이에 따라 투여되는 항체의 효능 및 안전성을 증가시킬 것으로 예상된다. 따라서, 본 발명의 완전 인간 항체는 부적합한 면역 반응과 연관된 질환 및 장애의 치료, 반복되는 항체 투여가 필요한 이의 치료에 이용될 수 있다. 이에 따라, 본 발명의 항-B7RP1 항체의 한가지 특별한 장점은 항체가 완전 인간 항체이며, 환자에게 비급성(non-acute)으로 투여될 수 있으면서 인간 항-마우스 항체 또는 비인간종 유래의 기타 상기 기재된 비-완전 인간 항체와 일반적으로 관련되는 부작용을 최소화한다.

[0105] 당업자는 인간 Ig 유전자좌의 큰 단편으로 마우스 항체 제조에서 결핍되는 마우스 계통을 조작하여, 상기 마우스가 마우스 항체 부재 하에 인간 항체를 생산하도록 할 수 있다. 큰 인간 Ig 단편은 큰 가변 유전자 다양성 뿐만 아니라 항체 생산 및 발현의 적절한 조절을 유지할 수 있다. 항체 다양화 및 선택을 위한 마우스 세포 기관의 활용 및 인간 단백질에 대한 면역학적 용인성의 결핍으로 인해, 상기 마우스 계열에서의 생산된 인간 항체 레퍼토리는 인간 항원을 포함하여 임의의 관심대상의 항원에 대해 높은 친화성을 제공한다. 하이브리도마 기술을 이용하여, 원하는 특이성을 가진 항원-특이적 인간 MAb 가 생산 및 선별될 수 있다.

[0106] 트랜스제닉 동물(예를 들어, 마우스)은 또한 내재 면역글로불린 생산 부재 하에 인간 항체 제조에 이용될 수 있다. 예를 들어, 인간 생식세포 면역글로불린 유전자 어레이를 상기 생식세포 돌연변이 마우스에 이동시키면 항원 유발시 인간 항체 생성을 제공하게 된다(참고문헌은, 예를 들어, Jakobovits 등의 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:2551-2555; Jakobovits 등의 1993, *Nature* 362:255-258; Bruggemann 등의 1993, *Year in Immun.* 7:33, 1994, *Nature* 148:1547-1553) 및, 1996, *Nature Biotechnology* 14:826; Gross 등의 2000, *Nature* 404:995-999; 및 U.S. 특허 5,877,397, 5,874,299, 5,814,318, 5,789,650, 5,770,429, 5,661,016, 5,633,425, 5,625,126, 5,569,825, 및 5,545,806,(이들 각각은 모든 목적을 위해 전부 본원에 참고문헌으로 포함된다)). 인간 항체는 또한 파지 디스플레이 라이브러리에서 생산될 수 있다(Hoogenboom and Winter, 1992, *J. Mol. Biol* 227:381; Marks 등의 1991, *J. Mol. Biol.* 222:581). Cole 등의 및 Boerner 등의 기술이 또한 인간 모노클로날 항체 제조에 이용가능하다(Cole 등의 1985, MONOCLONAL ANTIBODIES AND CANCER THERAPY Alan R. Liss, p. 77; 및 Boerner 등의 1991, *J. Immunol.* 147:86-95).

[0107] 재조합 인간 항체는 또한 시험관내 돌연변이유발(또는, 인간 Ig 서열에 대한 동물 트랜스제닉이 이용되는 경우, 생체내 체세포 돌연변이유발)에 적용될 수 있으며, 이에 따라, 재조합 항체의 V_H 및 V_L 영역의 아미노산 서열은 인간 생식계열 V_H 및 V_L 서열에 관련된 것들로부터 유래하면서도, 자연에서는 생체내 인간 항체 생식계열 레퍼토리에는 존재하지 않을 수 있다.

[0108] 특정 구현예에서, 당업자는 키메라 항체 제조를 위해, 상기 마우스에서 인간 가변 영역(들)을 이용하여 인간 이외의 종 유래의 불변 영역을 이용할 수 있다.

[0109] 이중특이적 또는 이관능성 항체는 일반적으로 2 개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍 및 2 개의 상이한 결합 부위를 갖는 인공적인 하이브리드 항체이다. 이중특이적 항체는, 이에 제한되지 않으나 하이브리도마의 융합 또는 F(ab') 단편의 결합을 포함하는 각종 방법에 의해 제공될 수 있다. 참고문헌은, 예를 들어, Songsivilai & Lachmann,

1990, *Clin. Exp Immunol.* 79: 315-321; Kostelny 등의 1992, *J. Immunol.* 148:1547-1553.

[0110] 본 발명은 인간 B7RP1 에 결합하는 항체를 제공한다. 상기 항체들은 전장 B7RP1 또는 이의 단편을 이용한 면역화로 제공될 수 있다. 본 발명의 항체는 폴리클로날 또는 모노클로날일 수 있고/있거나 재조합 항체일 수 있다. 바람직한 구현예에서, 본 발명의 항체는 예를 들어 인간 항체를 생산할 수 있는 트랜스제닉 동물의 면역화에 의해 제조된 인간 항체이다(참고문헌은, 예를 들어, 국제 특허 출원 공보 WO 93/12227).

[0111] 본 발명의 항-B7RP1 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 상보성 결정 영역(CDR)은 동일 또는 또다른 종 유래의 프레임워크 영역(FR)으로 이식될 수 있다. 특정 구현예에서, 항-B7RP1 항체의 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 CDR은 콘센서스 인간 FR 에 이식될 수 있다. 콘센서스 인간 FR 을 창출하기 위해, 각종 인간 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열 유래의 FR 을 정렬하여 콘센서스 아미노산 서열을 식별한다. 항-B7RP1 항체 중쇄 또는 경쇄의 FR은 상이한 중쇄 또는 경쇄 유래의 FR 로 교체될 수 있다. 항-B7RP1 항체의 중쇄 및 경쇄의 FR 에서 드문 아미노산은 일반적으로 교체되지 않으며, FR 아미노산의 나머지는 교체될 수 있다. 드문 아미노산은 이들이 일반적으로 FR 에서 발견되지 않는 위치에 있는 특이적인 아미노산이다. 본 발명의 항-B7RP1 항체로부터 이식된 가변 영역은 항-B7RP1 항체의 불변 영역과 상이한 불변 영역에 사용될 수 있다. 대안적으로, 이식된 가변 영역은 단일 사슬 Fv 항체의 일부이다. CDR 이식은 예를 들어, U.S. 특허 6,180,370, 5,693,762, 5,693,761, 5,585,089, 및 5,530,101 에 기재되어 있으며, 이들은 본원에 임의의 목적으로 참고문헌으로 포함된다.

[0112] 본 발명의 항체는 마우스의 항체 생산 세포에 삽입된 유전자좌를 생산하는 인간 항체의 실질적인 부분을 가지며, 내인성 쥐과동물 항체 제조시 결핍되도록 추가로 조작된 트랜스제닉 마우스를 이용하여 제조될 수 있다. 상기 마우스는 인간 면역글로불린 분자 및 항체를 제공할 수 있으며, 쥐과동물 면역글로불린 분자 및 항체를 생산하지 않거나 또는 실질적으로 감량하여 생산한다. 상기 결과 달성을 위해 이용되는 기술은 본원 명세서에 개시된 특허, 출원 및 참고문헌에 개시되어 있다. 특정 구현예에서, 당업자는 국제 특허 출원 공보 98/24893 에 개시된 방법을 이용할 수 있고, 이는 임의의 목적을 위해 본원에 참고문헌으로 포함된다. 참고문헌은 또한, Mendez 등의 1997, *Nature Genetics* 15:146-156 이며, 이는 임의의 목적을 위해 본원에 참고문헌으로 포함된다.

[0113] 본 발명의 모노클로날 항체(mAb)는 통상적인 모노클로날 방법론, 예를 들어 Kohler and Milstein(1975, *Nature* 256:495)의 표준 체세포 하이브리디제이션 기술을 포함하는 각종 기술로 생산될 수 있다. 모노클로날 항체를 생산하는 기타 기술, 예를 들어 B-림프구의 바이러스성 또는 암세포성 형질전환이 이용될 수 있다.

[0114] 하이브리도마 제조를 위한 예시 동물 시스템은 마우스이다. 마우스에서의 하이브리도마 제조는 당업계에 공지되어 있으며, 면역화 프로토콜 및 융합을 위한 면역화된 비세포의 분리 기술이 또한 당업계에 공지되어 있다. 융합 파트너(예를 들어, 쥐과동물 골수 세포) 및 융합 과정도 또한 공지되어 있다.

[0115] 특정 구현예에서, B7RP1 에 대한 인간 모노클로날 항체는 마우스계보다는 인간 면역계의 일부를 보유한 트랜스제닉 마우스를 이용하여 제공될 수 있다. 본원에서 "HuMab" 마우스로 지칭되는 상기 트랜스제닉 마우스는 비재정렬(unrearranged) 인간 중쇄(μ 및 γ) 및 κ 경쇄 면역글로불린 서열을 내인성 μ 및 γ 사슬 유전자좌를 불활성화시킬 표적화된 돌연변이와 함께 코드하는 인간 면역글로불린 유전자 미니로커스(minilocus)를 포함한다(Lonberg 등의 1994, *Nature* 368:856-859). 따라서, 마우스는 면역화에 응답하여 마우스 IgM 또는 κ 의 감소된 발현을 나타내며, 도입된 인간 중쇄 및 경쇄 트랜스유전자는 고친화성 인간 IgG κ 모노클로날 항체를 생성하기 위한 클래스 변경 및 체세포 돌연변이를 겪는다(Lonberg 등의 상기문헌; Lonberg and Huszar, 1995, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93; Harding and Lonberg, 1995, *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 764:536-546). HuMab 마우스의 제조는 Taylor 등의 1992, *Nucleic Acids Res.* 20:6287-6295; Chen 등의 1993, *International Immunology* 5:647-656; Tuaillon 등의 1994, *J. Immunol.* 152:2912-2920; Lonberg 등의 1994, *Nature* 368:856-859; Lonberg, 1994, *Handbook of Exp. Pharmacology* 113:49-101; Taylor 등의 1994, *International Immunology* 6:579-591; Lonberg & Huszar, 1995, *Intern. Rev. Immunol.* 13:65-93; Harding & Lonberg, 1995, *Ann. N.Y. Acad. Sci* 764:536-546; Fishwild 등의 1996, *Nature Biotechnology* 14:845-851 에 상세하게 기재되어 있으며, 이들 내용은 전부 본원에 참고문헌으로 포함된다. 추가 참고문헌은, U.S. 특허 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,789,650; 5,877,397; 5,661,016; 5,814,318; 5,874,299; 및 5,770,429 이며 ; 이들 전부는 Lonberg 및 Kay 에 허여되었고, 또한 Surani 등의에 허여된 U.S. 특허 No. 5,545,807 ; 1993 년 6 월 24 일 공개된 국제 특허 출원 공보 WO 93/1227 ; 1992 년 12 월 23 일 공개된 WO 92/22646 ; 및 1992 년 3 월 19 일 공개된 WO 92/03918, 이들 개시는 전부 본원에 참고문헌으로 포함된다. 대안적으로, 하기 실시예에 기재된 트랜스제닉 마우스 계열이 인간 항-B7RP1 항체 생성을 위해 이용될 수 있다.

[0116] 본 발명은 생물활성 인간 B7RP1 폴리펩티드에 특이적이며, 그것을 중화시키는 인간 모노클로날 항체를 제공한다. 또한, B7RP1 폴리펩티드에 매우 특이적이며 이에 결합되는 경우 이를 중화하는 항체 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열이 제공된다. 상기 높은 특이성은 항-인간 B7RP1 인간 항체, 및 비슷한 특이성을 가진 인간 모노클로날 항체가 B7RP1 관련 질환에 대한 유효한 면역요법을 가능하게 한다.

[0117] 한 국면에서, 본 발명은 본원에 제공된 16H 항체와 동일하거나 또는 본질적으로 동일한 에피토프에 결합하는 분리된 인간 항체를 제공한다.

[0118] 한 국면에서, 본 발명은 B7RP1 폴리펩티드 에피토프에 높은 친화성으로 결합하며 B7RP1 폴리펩티드 활성을 길항하는 역량을 가진 SEQ ID NO : 1-40 또는 44-58 에 나타낸 아미노산 서열 중 하나 이상을 포함하는 분리된 인간 항체를 제공한다. 상기 항체는 본원의 실시예에 나타낸 항-B7RP1 항체와 동일하거나 또는 실질적으로 동일한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0119] 특정 구현예에서, 분리된 항체는 약 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M 또는 그 미만의 해리 상수(K_D)로 B7RP1 폴리펩티드에 결합하며, 약 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M 또는 그 미만의 EC_{50} 로 시험관내 중화 검정에서 B7RP1 유도성 생존을 저해한다. 상기 언급된 결합 및 중화 기준을 충족시키는 항-인간 B7RP1 인간 항체의 예시는 본원에 제공된다.

[0120] 특정 구현예에서, 본 발명의 항-인간 B7RP1는 본원에서 16H, 16Hg(생식계열), 5D, 2H, 2Hg(생식계열), 15H, 41H 및 43H 으로 지칭된다. 항체 16H는 각각 SEQ ID NO : 7 및 SEQ ID NO : 1 에 나타낸 바와 같은 V_L 및 V_H 폴리펩티드 서열을 포함한다. 항체 16Hg는 각각 SEQ ID NO : 1 및 SEQ ID NO : 8 에 나타낸 바와 같은 가변 경쇄(V_L) 및 가변 중쇄(V_H)를 포함한다. 항체 5D는 각각 SEQ ID NO : 2 및 SEQ ID NO : 9 에 나타낸 바와 같은 V_L 및 V_H 폴리펩티드 서열을 포함한다. 항체 2H는 각각 SEQ ID NO : 3 및 SEQ ID NO : 10 에 나타낸 바와 같은 V_L 및 V_H 폴리펩티드 서열을 포함한다. 항체 2Hg는 각각 SEQ ID NO : 3 및 SEQ ID NO : 11 에 나타낸 바와 같은 V_L 및 V_H 폴리펩티드 서열을 포함한다. 항체 15H는 각각 SEQ ID NO : 4 및 SEQ ID NO : 12 에 나타낸 바와 같은 V_L 및 V_H 폴리펩티드 서열을 포함한다. 항체 41H는 각각 SEQ ID NO : 5 및 SEQ ID NO : 13 에 나타낸 바와 같은 V_L 및 V_H 폴리펩티드 서열을 포함한다. 항체 43H은 각각 SEQ ID NO : 6 및 SEQ ID NO : 14 에 나타낸 바와 같은 V_L 및 V_H 폴리펩티드 서열을 포함한다. 본 발명의 항-인간 B7RP1 인간 항체의 특징은 실시예에 구체적으로 개시된다. 특히 주목할 것은, B7RP1 폴리펩티드에 대한 높은 친화성 및 본원에서 증명된 B7RP1 폴리펩티드 활성을 길항하는 높은 역량이다.

[0121] 항-인간 B7RP1 인간 항체의 해리 상수(K_D)는 하기 실시예에 일반적으로 기재된 표면 플라즈몬 공명으로 결정될 수 있다. 일반적으로, 표면 플라즈몬 공명 분석은 리간드(바이오센서 매트릭스 상에 고정된 재조합 B7RP1 폴리펩티드) 및 분석물(용액 중 항체) 사이의 실시간 상호작용을 BIAcore® 시스템(Pharmacia Biosensor, Piscataway, NJ)을 이용한 표면 플라즈몬 공명(SPR)으로 측정한다. 표면 플라즈몬 분석은 또한 분석물 고정(바이오센서 매트릭스 상에 항체) 및 리간드 제시(용액 중 재조합 V)에 의해 수행될 수 있다. 항-인간 B7RP1 인간 항체의 해리 상수(K_D)는 또한 KinExA 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 항체는 약 10^{-5} M, 10^{-6} M, 10^{-7} M, 10^{-8} M, 10^{-9} M, 10^{-10} M, 10^{-11} M, 또는 10^{-12} M 의 K_D 로 B7RP1 에 결합한다. 용어 "K_D"는 본원에 사용되는 경우, 특정 항체-항원 상호작용의 해리 상수를 지칭한다. 본 발명의 목적상, K_D는 하기 실시예에 나타낸 바와 같이 결정했다.

[0122] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소타입의 것이다. 항체는 IgG2 또는 IgG1 이소타입의 것일 수 있다. 다른 구현예에서, 본 발명의 항체는 IgM, IgA, IgE 또는 IgD 이소타입의 것일 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 항체는 인간 카파 경쇄 및 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 중쇄를 포함한다. IgG1 또는 IgG2 중쇄 불변 영역을 포함하는 본 발명의 항체의 발현은 하기 실시예에 기재되어 있다. 특별한 구현예에서, 항체의 가변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소타입에 대한 불변 영역 이외의 불변 영역에 결합되어 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 포유류 세포에서의 발현을 위해 클로닝되었다.

[0123] 특정 구현예에서, 항-B7RP1 항체의 중쇄 및 경쇄에 대한 보존성의 변형(및 코딩 뉴클레오티드에 대한 상응하는 변형)이 본원에 개시된 항-B7RP1 항체의 것과 유사한 기능 및 화학적 특징을 가진 항-B7RP1 항체를 제공할 것이

다. 대조적으로, 항-B7RP1 항체의 기능 및/또는 화학적 특징에 있어서의 실질적인 변형은, (a) 치환 영역에서의 분자 골격의 구조, 예를 들어 시트 또는 나선 공간배치, (b) 표적 부위에서의 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 벌크 유지에 있어서 이의 영향력이 현저히 상이한 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열에서의 치환을 선택함으로써 달성될 수 있을 것이다.

[0124] 예를 들어, "보존성 아미노산 치환"은 아미노산 잔기의, 그 위치에서 아미노산 잔기의 극성 또는 전하에 대해 영향이 거의 없거나 또는 아예 없도록 하는 비자연성 잔기로의 치환을 수반할 수 있다. 더욱이, 폴리펩티드 내의 임의의 자연적 잔기는 또한 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발" 로서 상기 기재된 바와 같이 알라닌으로 치환될 수 있다.

[0125] 아미노산 치환(보존성이든 또는 비보존성이든)은 상기 아미노산 치환이 필요할 시에 당업자에 의해 결정될 수 있다. 특정 구현예에서, 아미노산 치환은 B7RP1 에 대한 항체의 결합 특이성 및/또는 친화성에 관련된 항-B7RP1 항체의 아미노산 잔기(예를 들어, 특정 에피토프에 대한 항체의 결합에 관련된 잔기), 예컨대 본원에 기재된 바와 같은 경쇄 또는 중쇄의 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 영역에서의 아미노산 잔기를 동정하기 위해 사용될 수 있다. 상기 아미노산 치환은 본원에 기재된 항-B7RP1 항체의 친화성을 증가 또는 감소시킬 수 있다.

[0126] 아미노산 서열에서의 미미한 변화, 예컨대 1 개, 몇 개 또는 여러개 아미노산의 결실, 부가 또는 치환이 실질적으로 동일한 특징을 가진 원래 단백질의 대립유전자 형태를 유도할 수 있다. 따라서, 본원에 구체적으로 기재된 항체에 추가하여, 기타 "실질적으로 상동인" 항체는 당업자에게 널리 공지된 각종 재조합 DNA 기술을 이용하여 쉽게 고안 및 제조될 수 있다. 일반적으로, 유전자의 변형은 각종 널리 공지된 기술, 예컨대 부위 지정 돌연변이유발에 의해 쉽게 달성될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본원에 개시된 항-B7RP1 인간 항체와 실질적으로 같은 특징을 가진 "변이체" 또는 "돌연변이체" 항-B7RP1 인간 항체도 고려한다(참고문헌은, 예를 들어 WO 00/56772, 이들 전부는 본원에 참고문헌으로 포함된다). 이에 따라, 항-B7RP1 인간 항체와 관련된 용어 "변이체" 또는 "돌연변이체"는 임의의 결합 분자(분자 X)로서, (i) 중쇄의 고도 가변 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3 또는 경쇄의 고도가변 영역 CDR1, CDR2 및 CDR3은 통틀어서, 각각 SEQ ID NO : 15 내지 SEQ ID NO : 26 또는 SEQ ID NO : 27 내지 SEQ ID NO : 40 에 나타낸 바와 같은 고도 가변 영역에 대해 적어도 약 80 % 이상의 상동성, 적어도 약 90 % 이상의 상동성 또는 적어도 약 95% 이상의 상동성이 있고, (ii) 변이체 또는 돌연변이체는 분자 X의 것과 동일한 프레임워크 영역을 가진 기준 항-B7RP1 인간 항체와 동일한 정도로 인간 B7RP1 의 활성을 저해할 수 있는 임의의 결합 분자(분자 X)를 의미한다. 상기 항체는 인간 B7RP1 또는 마우스 B7RP1 또는 이들 두가지 모두에 결합할 수 있다. 마우스 B7RP1 서열은 WO 00/46240 에 기재되어 있고, 이는 본원에 참고문헌으로 포함된다.

[0127] 일반적으로, 항-B7RP1 인간 항체 변이체는, 각각 SEQ ID NO : 15 내지 SEQ ID NO : 26 및/또는 SEQ ID NO : 27 내지 SEQ ID NO : 40 로 나타내는 아미노산 서열에 대해 모두 통틀어 적어도 약 80 % 이상의 아미노산 서열 동일성, 적어도 약 85 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 90 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 91 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 92 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 93 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 94 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 95 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 96 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 97 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 98 % 이상의 서열 동일성, 또는 적어도 약 99 % 이상의 아미노산 서열 동일성이 있는 경쇄 및/또는 중쇄 CDR 을 갖는다. 상기 항체는 인간 B7RP1 또는 마우스 B7RP1 또는 이들 두가지 모두에 결합할 수 있다.

[0128] 항-B7RP1 인간 항체 변이체는 모두 통틀어서, SEQ ID NO : 1 내지 SEQ ID NO : 6 에 나타낸 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80 % 이상의 아미노산 서열 동일성, 적어도 약 81 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 82 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 83 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 84 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 85 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 86 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 87 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 88 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 89 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 90 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 91 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 92 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 93 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 94 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 95 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 96 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 97 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 98 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 99 % 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 영역, 및/또는 모두 통틀어 SEQ ID NO : 7 내지 SEQ ID NO : 14 에 나타낸 아미노산 서열에 대해 적어도 약 70 % 이상의 아미노산 서열 동일성, 적어도 약 75 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 80 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 81 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 82 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 83 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 84 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 85 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 86 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 87 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 88 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 89 % 이상의 서열

동일성, 적어도 약 90 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 91 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 92 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 93 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 94 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 95 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 96 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 97 % 이상의 서열 동일성, 적어도 약 98 % 이상의 서열 동일성, 또는 적어도 약 99 % 이상의 아미노산 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 영역을 갖는다. 상기 항체는 인간 B7RP1 또는 마우스 B7RP1 또는 이들 두가지 모두에 결합할 수 있다.

[0129] 당업자에 의해 인정되는 바와 같이, 다수의 잠재적인 CDR-불변 잔기들이 기타 아미노산에 의한 치환에 적용될 수 있고, 항체로 하여금 항원에 대한 실질적인 친화성을 여전히 유지하도록 한다. 마찬가지로, 중쇄 및 경쇄 중의 CDR 과 접하지 않는 다수의 프레임워크 잔기들은, 인간 항체의 친화성 또는 비면역원성의 실질적인 손실없이도 인간 콘센서스 아미노산에 의해 기타 인간 항체로부터 또는 기타 마우스 항체로부터 상응하는 위치에서의 아미노산의 치환을 수용할 수 있다. 각종 대체 아미노산의 선택은 친화성, 특이성, 비면역원성, 취급의 용이함 및 기타 원하는 특징의 여러가지 조합이 있는 개시된 항-B7RP1 항체 및 이의 단편의 버젼들을 제공하기 위해 이용될 수 있다.

[0130] 폴리뉴클레오티드와 관련된 "변이체"는 본 발명의 폴리뉴클레오티드 서열과 적어도 약 75 % 이상의 핵산 서열 동일성을 가진 핵산 분자를 지칭한다. 일반적으로, 폴리뉴클레오티드 변이체는 본원에 개시된 신규한 핵산 서열과 적어도 약 75 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 80 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 81 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 82 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 83 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 84 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 85 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 86 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 87 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 88 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 89 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 90 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 91 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 92 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 93 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 94 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 95 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 96 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 97 % 이상의 핵산 서열 동일성, 적어도 약 98 % 이상의 핵산 서열 동일성, 또는 적어도 약 99 % 이상의 핵산 서열 동일성을 갖는다.

[0131] 대안적인 구현예에서, 본 발명의 항체는 하이브리도마 세포주 이외의 세포에서 발현될 수 있다. 상기 구현예에서, 특정 항체를 코드하는 서열은 적합한 포유류 숙주 세포의 형질전환에 이용될 수 있다. 상기 구현예에 따르면, 형질전환은, 예를 들어 폴리뉴클레오티드를 바이러스(또는 바이러스 벡터)에 포장하여 바이러스(또는 벡터)를 이용하여 또는 U.S. 특허 4,399,216, 4,912,040, 4,740,461 및 4,959,455(이들 전부는 임의의 목적으로 본원에 참고문헌으로 포함된다)로 예시되는 바와 같이 당업계에 공지된 트랜스펙션 과정으로 숙주 세포를 형질유도하는 것을 포함하여, 임의의 공지된 폴리뉴클레오티드의 숙주 세포로의 도입 방법을 이용하여 달성될 수 있다. 일반적으로, 이용되는 형질전환 과정은 형질전환될 숙주에 좌우될 수 있다. 이종성 폴리뉴클레오티드의 포유류 세포에 대한 도입 방법은 당업계에 널리 공지되어 있고, 이에 제한되지 않으나, 덱스트란 중재 트랜스펙션, 칼슘 포스페이트 침전, 폴리브렌 중재 트랜스펙션, 원생동물 융합, 전기영동, 폴리뉴클레오티드(들)의 리포좀으로의 캡슐화 및 DNA 의 핵에 대한 직접적인 마이크로인젝션을 포함한다.

[0132] 본 발명의 항-B7RP1 항체의 중쇄 불변 영역, 중쇄 가변 영역, 경쇄 불변 영역 또는 경쇄 가변 영역의 아미노산 서열을 코드하는 핵산 분자는 표준 결합 기술을 이용해 적당한 발현 벡터로 삽입된다. 한 구현예에서, 항-B7RP1 항체 중쇄 또는 경쇄 불변 영역은 적당한 가변 영역의 C-말단에 덧붙여지며, 발현 벡터에 결합된다. 벡터는 일반적으로 이용되는 특정 숙주 세포에서 기능성인 것으로 선택된다(즉, 벡터는 유전자의 증폭 및/또는 유전자의 발현이 발생할 수 있도록 숙주 세포 기관과 상용적이다. 발현 벡터의 개요에 대해서는, 참고문헌으로 METHODS IN ENZYMOLOGY 185(Goeddel, ed.), 1990, Academic Press 가 있다.

[0133] 일반적으로, 임의의 숙주 세포에서 사용되는 발현 벡터는 플라스미드 유지 및 외인성 뉴클레오티드 서열의 클로닝 및 발현을 위한 서열을 포함한다. 상기 서열은 특정 구현예에서 집합적으로 "측면 서열(flanking sequence)" 로 지칭되는데, 일반적으로 하나 이상의 하기 뉴클레오티드 서열을 포함한다 : 프로모터, 하나 이상의 인핸서 서열, 복제의 기원, 전사 종결 서열, 공여자 및 수여자 스플라이스 부위를 포함하는 완전한 인트론 서열, 폴리펩티드 분비를 위한 리더 서열을 코드하는 서열, 리보좀 결합 부위, 폴리아데닐화 부위, 발현될 폴리펩티드를 코드하는 핵산 삽입을 위한 폴리링커 영역 및 선별가능한 마커 구성원, 이들 각각의 서열은 하기에 논의된다.

[0134] 임의로는, 벡터는 "태그" 코딩 서열, 즉 항-B7RP1 항체 폴리펩티드 코딩 서열의 5' 또는 3' 말단에 위치한 올리고뉴클레오티드 분자 ; polyHis(예컨대 hexaHis)를 코드하는 올리고뉴클레오티드 서열, 또는 또다른 "태그", 예

컨대 시판되어 입수가능한 항체가 존재하는 FLAG, HA (hemaglutinin influenza virus), 또는 *myc* 를 포함할 수 있다. 상기 태그는 일반적으로 폴리펩티드의 발현시 폴리펩티드에 융합되어, 숙주 세포 유래의 항-B7RP1 항체의 친화성 정제 또는 검출을 위한 수단으로서 제공될 수 있다. 친화성 정제는, 예를 들어 친화성 매트릭스로서 태그에 대한 항체를 이용한 컬럼 크로마토그래피로 수행될 수 있다. 임의로는, 태그는 각종 방법, 예컨대 절단을 위한 특정 펩티다아제로서 정제된 항-B7RP1 항체 폴리펩티드로부터 실질적으로 제거될 수 있다.

[0135] 측면 서열은 동종성(즉, 숙주 세포와 동일한 종 및/또는 계통), 이종성(즉, 숙주 세포 종 또는 계통 이외의 종), 하이브리드(즉, 한가지 이상의 공급원 유래의 측면 서열의 조합), 합성 또는 자연일 수 있다. 상기와 같이, 측면 서열의 공급원은 임의의 원핵성 또는 진핵성 유기체, 임의의 척추동물 또는 무척추동물인 유기체, 또는 임의의 식물일 수 있는데, 단 측면 서열은 숙주 세포 기관에서 기능성이며 그에 의해 활성화될 수 있어야 한다.

[0136] 본 발명의 벡터에 유용한 측면 서열은 당업계에 널리 공지된 임의의 방법에 의해 수득될 수 있다. 일반적으로, 본원에서 유용한 측면 서열은 맵핑 및/또는 제한효소 절단에 의해 동정되었으며, 이에 따라 적당한 제한효소를 이용하여 적절한 조직 공급원으로부터 분리될 수 있다. 일부 경우에서, 측면 서열의 전장 뉴클레오티드 서열이 공지되어 있다. 본원에서, 측면 서열은 핵산 합성 또는 클로닝을 위해 본원에 기재된 방법을 이용하여 합성될 수 있다.

[0137] 측면 서열의 전부 또는 오직 일부가 공지되었는지 여부와 상관없이, 적합한 프로브, 예컨대 동일한 또는 또다른 종 유래의 올리고뉴클레오티드 및/또는 측면 서열 단편을 이용하는 폴리머라아제 연쇄 반응(PCR) 및/또는 게놈 라이브러리 스크리닝을 이용하여 수득될 수 있다. 측면 서열이 공지되지 않은 경우, 측면 서열을 포함하는 DNA의 단편은 포함할 수 있는 더 큰 조각의 DNA, 예를 들어 코딩 서열 또는 또다른 유전자 또는 유전자들로부터 분리될 수 있다. 분리는 적당한 DNA 단편 제공을 위한 제한효소 절단에 이어 아가로스 겔 정제, Qiagen® 컬럼 크로마토그래피(Chatsworth, CA), 또는 기타 당업자에게 공지된 방법을 이용하여 분리함으로써 달성될 수 있다. 상기 목적 달성에 적합한 효소의 선택은 당업자에게 자명하여 용이할 것이다.

[0138] 복제의 기원은 일반적으로 시판되는 원핵성 발현 벡터의 일부이며, 상기 기원은 숙주 세포에서의 벡터의 증폭에 도움이 된다. 선택한 벡터가 복제의 기원 부위를 포함하지 않는 경우, 공지된 서열을 기준으로 화학적으로 합성하여 벡터에 결합할 수 있다. 예를 들어, 플라스미드 pBR322(New England Biolabs, Beverly, MA) 유래의 복제의 기원은 대부분의 그람-음성 박테리아에 적합하며, 각종 바이러스 기원[예를 들어, SV40, 폴리오마, 아데노바이러스, 수포성구내염 바이러스(VSV), 또는 파필로마바이러스, 예컨대 HPV 또는 BPV]이 포유동물 세포에서의 벡터 클로닝에 유용하다. 일반적으로, 복제의 기원 구성요소는 포유동물 발현 벡터에 필요하지 않다(예를 들어, SV40 기원은 바이러스 조기 프로모터(virus early promoter)를 포함한다는 이유만으로 종종 이용된다).

[0139] 전사 종결 서열은 일반적으로 폴리펩티드 코딩 영역의 말단에 대하여 3' 에 위치하며, 전사 종결을 위해 제공된다. 일반적으로, 원핵 세포 내의 전사 종결 서열에는 G-C 풍부 단편에 이어 폴리-T 서열이 있다. 서열이 라이브러리로부터 용이하게 클로닝되거나 또는 벡터의 일부로서 시판되며, 이는 또한 핵산 합성을 위한 방법, 예컨대 본원에 기재된 것과 같이 쉽게 합성될 수 있다.

[0140] 선별가능한 마커 유전자는 선별 배양 배지에서 성장하는 숙주 세포의 생존 및 성장을 위해 필요한 단백질을 코드한다. 전형적인 선별 마커 유전자는 (a) 원핵 숙주 세포에 대해 항생제 또는 기타 독소, 예를 들어 앰피실린, 테트라싸이클린 또는 카나마이신에 대한 내성을 부여하거나 ; (b) 세포의 영양요구성 결핍을 보완하거나 ; 또는 (c) 복합체 또는 규정 배지에서 입수되지 않는 중요 영양소를 공급하는 단백질을 코드한다. 예시적인 선별가능 마커는 카나마이신 내성 유전자, 앰피실린 내성 유전자 및 테트라싸이클린 내성 유전자이다. 유리하게는, 네오마이신 내성 유전자가 또한 원핵성 및 진핵성 숙주 세포 모두에서의 선별을 위해 이용될 수 있다.

[0141] 기타 선별가능한 유전자는 발현시킬 유전자의 증폭에 이용될 수 있다. 증폭은 재조합 세포의 후세의 염색체 내에 나란하게 성장 또는 세포 생존에 중요한 단백질의 생산에 필요한 유전자가 되풀이되는 과정이다. 포유류 세포에 대한 적합한 선별가능한 마커의 예시에는 디히드로폴레이트 리덕타아제(DHFR) 및 프로모터가 없는 티미딘 키나아제 유전자가 포함된다. 형질전환된 포유류 세포는, 벡터에 존재하는 선별가능한 유전자로 인해 오직 형질전환체만이 독특하게 적응되는 선택압(selection pressure) 하에 위치한다. 선택압은, 배지 중에 선별제의 농도가 연속하여 증가하는 조건 하에 형질전환된 세포를 배양함으로써 부과되어, 선별가능한 유전자 및 또다른 유전자를 코드하는 DNA, 예컨대 B7RP1 폴리펩티드에 결합하는 항체의 증폭을 유도한다. 그 결과, 증량된 폴리펩티드, 예컨대 항-B7RP1 항체가 증폭된 DNA로부터 합성된다.

[0142] 리보좀 결합 부위는 일반적으로 mRNA 의 번역 개시에 필요하며, 샤인-달가노 서열(Shine-Dalgarno sequence)(원핵생물) 또는 코작 서열(Kozak sequence)(진핵생물)을 특징으로 한다. 구성원은 일반적으로 발현될 폴리펩티드의 프로모터에 대해 3' 에, 코딩 서열에 대해 5' 에 위치한다.

[0143] 일부의 경우, 예컨대 진핵성 숙주 세포 발현계에서 글리코실레이션이 필요한 경우, 글리코실레이션 또는 수율 개선을 위해 각종 프리-(pre-) 또는 프로(pro-) 서열을 취급할 수 있다. 예를 들어, 특정 단일 펩티드의 펩티다아제 절단 부위를 변경하거나 또는 프로-서열을 추가할 수 있으며, 이는 또한 글리코실레이션에 영향을 줄 수 있다. 최종 단백질 산물은, -1 위치에(성숙 단백질의 첫 번째 아미노산을 기준으로), 발현되기 쉬운 하나 이상의 추가적인 아미노산 삽입이 있을 수 있고, 이는 완전히 제거되지 않을 수도 있다. 예를 들어, 최종 단백질 산물은 아미노 말단에 결합된, 펩티다아제 절단 부위에서 발견되는 1 또는 2 개의 아미노산 잔기를 가질 수 있다. 대안적으로, 소정의 효소 절단 부위의 이용은, 효소가 성숙 폴리펩티드 내에서 그와 같이 절단하는 경우에, 원하는 폴리펩티드의 약간 절단된 형태를 제공할 수 있다.

[0144] 본 발명의 발현 및 클로닝 벡터는 일반적으로 숙주 유기체에 의해 인식되며 항-B7RP1 항체를 코드하는 분자에 작동적으로 결합된 프로모터를 포함한다. 프로모터는 구조 유전자의 전사를 조절하는 구조 유전자의 개시 코돈(일반적으로 약 100 내지 1000 bp)에 대해 상류(즉, 5')에 위치한다. 프로모터는 통상적으로 2 개의 클래스 중 하나로 분류된다: 유도성(inducible) 프로모터 및 항시성(constitutive) 프로모터. 유도성 프로모터는 배양 조건의 소정의 변화, 예컨대 영양소의 존재 또는 부재 또는 온도 변화에 대응하는 이의 조절 하에 DNA 로부터의 전사 수준 증가를 개시한다. 한편, 항시성 프로모터는 그들이 작동적으로 결합된 유전자를 일정하게 전사하며, 즉 유전자 발현에 있어서 조절이 거의 없거나 또는 아예 없다. 각종 잠재적인 숙주 세포에 의해 인식되는 다수의 프로모터가 널리 공지되어 있다. 적합한 프로모터는 제한 효소 절단에 의한 공급원 DNA 로부터의 프로모터 제거 및 원하는 프로모터 서열의 삽입에 의해 본 발명의 항-B7RP1 항체를 포함하는 중쇄 또는 경쇄를 코드하는 DNA 에 작동적으로 결합되어 있다.

[0145] 효모 숙주에 이용하기에 적합한 프로모터는 당업계에 널리 공지되어 있다. 효모 인핸서는 유리하게는 효모 프로모터와 사용된다. 포유동물 숙주 세포에 이용되는 적합한 프로모터는 널리 공지되어 있으며, 이에 제한되지 않으나, 바이러스, 예컨대 폴리오마 바이러스, 계두 바이러스, 아데노바이러스(예컨대 아데노바이러스 2), 소 파필로마 바이러스, 닭 육종 바이러스, 싸이토메갈로바이러스, 레트로바이러스, B 형 간염 바이러스 및 유인원 바이러스 40(SV40) 이 포함된다. 기타 적합한 포유동물 프로모터에는 이종성 포유동물 프로모터, 예를 들어 열충격 프로모터 및 액틴 프로모터가 포함된다.

[0146] 관심대상이 될 수 있는 추가적인 프로모터에는, 이에 제한되지 않으나 하기의 것이 포함된다 : SV40 조기 프로모터(early promoter)(Bernoist and Chambon, 1981, *Nature* 290:304-10) ; CMV 프로모터(Thomsen 등의 1984, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:659-663) ; 라우스 육종 바이러스의 3' 긴 말단 반복에 포함된 프로모터(Yamamoto, 등의 1980, *Cell* 22:787-97) ; 헤르페스 티미딘 키나아제 프로모터(Wagner 등의 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78:1444-45) ; 메탈로티오닌 유전자 유래의 프로모터 및 조절 서열(Brinster 등의 1982, *Nature* 296:39-42) ; 및 원핵생물의 프로모터, 예컨대 베타-락타마아제 프로모터(Villa-Kamaroff 등의 1978, *Proc. Natl. Acad. Sci U.S.A.*, 75:3727-31) ; 또는 택 (tac) 프로모터(DeBoer 등의 1983, *Proc. Natl. Acad Sci. U.S.A.*, 80:21-25). 관심대상이 되는 것은 또한 하기의 동물 전사 조절 영역으로, 이들은 조직 특이성을 나타내며 트랜스제닉 동물에서 이용되고 있다 : 췌장 선포 세포에서 활성인 엘라스타아제 I 유전자 조절 영역(Swift 등의 1984, *Cell* 38:639-46; Ornitz 등의 1986, *Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol.* 50:399-409 (1986); MacDonald, 1987, *Hepatology* 7:425-515) ; 췌장 베타 세포에서 활성인 인슐린 유전자 조절 영역(Hanahan, 1985, *Nature* 315:115-22) ; 림프구 세포에서 활성인 면역글로불린 유전자 조절 영역(Grosschedl 등의 1984, *Cell* 38:647-58; Adames 등의 1985, *Nature* 318:533-38; Alexander 등의 1987, *Mol. Cell. Biol.*, 7:1436-44) ; 정소, 유방, 림프구 및 비만 세포에서 활성인 마우스 유암 바이러스 조절 영역(Leder 등의 1986, *Cell* 45:485-95) ; 간에서 활성인 알부민 유전자 조절 영역(Pinkert 등의 1987, *Genes and Devel.* 1:268-76) ; 간에서 활성인 알파-페토-단백질 유전자 조절 영역(Krumlauf 등의 1985, *Mol. Cell. Biol.*, 5:1639-48; Hammer 등의 1987, *Science* 235:53-58) ; 간에서 활성인 알파 1-안티트립신 유전자 조절 영역(Kelsey 등의 1987, *Genes and Devel.* 1:161-71) ; 골수 세포에서 활성인 베타-글로빈 유전자 조절 영역(Mogram 등의 1985, *Nature* 315:338-40; Kollias 등의 1986, *Cell* 46:89-94) ; 뇌내 희돌기교세포에서 활성인 미엘린 베이직 단백질 유전자 조절 영역(Readhead 등의 1987, *Cell* 48:703-12) ; 골격 근육에서 활성인 미오신 경쇄-2 유전자 조절 영역(Sani, 1985, *Nature* 314:283-86) ; 및 시상하부에서 활성인 생식선 분비 호르몬 유전자 조절 영역 고나도트로핀(Mason 등의 1986, *Science* 234:1372-78).

[0147] 인핸서 서열은 더욱 고등인 진핵생물에 의해 본 발명의 항-B7RP1 항체를 포함하는 경쇄 또는 중쇄를 코드하는 DNA 의 전사를 증가시키기 위해 벡터에 삽입될 수 있다. 인핸서는 길이가 약 10 내지 300 bp 인, DNA 의 시스-작용(*cis*-acting) 구성원이며, 이는 프로모터에 작용하여 전사를 증가시킨다. 인핸서는 전사 단위체에 대해 5' 및 3' 의 두 위치에서 모두 발견되는, 비교적 배치 및 위치에 독립적이다. 포유동물 유전자에서 입수가능한 몇 가지 인핸서 서열이 공지되어 있다(예를 들어, 글로빈, 엘라스타아제, 알부민, 알파-페토-단백질 및 인슐린). 그러나, 일반적으로는 바이러스 유래의 인핸서가 사용된다. 당업계에 공지된 SV40 인핸서, 싸이토메갈로바이러스 조기 프로모터 인핸서, 폴리오마 인핸서 및 아데노바이러스 인핸서가 진핵생물 프로모터의 활성화를 위한 예시적인 인핸싱(enhancing) 구성원이다. 인핸서는 벡터에서 코딩 서열의 5' 또는 3' 에 위치할 수 있지만, 일반적으로는 프로모터의 5' 부위에 위치한다.

[0148] 본 발명의 발현 벡터는 시판되어 입수가능한 벡터와 같은 벡터로 출발하여 구축될 수 있다. 상기 벡터는 모든 원하는 측면 서열들을 가질 수도, 그렇지 않을 수도 있다. 본원에 기재된 하나 이상의 측면 서열이 벡터에 아직 존재하지 않는 경우, 이들은 개별적으로 수득되거나 또는 벡터에 결합될 수 있다. 각각의 측면 서열을 수득하기 위해 이용되는 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있다.

[0149] 벡터를 구축하고, 항-B7RP1 항체를 포함하는 경쇄, 중쇄 또는 경쇄 및 중쇄를 코드하는 핵산 분자를 벡터의 적당한 부위에 삽입한 후, 완성된 벡터는 증폭 및/또는 폴리펩티드 발현을 위해 적합한 숙주 세포에 삽입할 수 있다. 항-B7RP1 항체를 위한 발현 벡터의 선택된 숙주 세포로의 형질전환은, 트랜스펙션, 감염, 칼슘 포스페이트 공침, 전기영동, 마이크로인젝션, 리포펙션, DEAE-덱스트란 매개 트랜스펙션 또는 기타 공지된 기술을 포함하는 널리 공지된 기술로 달성될 수 있다. 선택된 방법은 사용될 숙주 세포 유형의 기능의 일부일 것이다. 상기 방법 및 기타 적합한 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 상기한 Sambrook 등의 문헌에서 제시되었다.

[0150] 숙주 세포는, 적당한 조건 하에 배양되는 경우, 항-B7RP1 항체를 합성하여, 후속적으로는 배양 배지에서 수집되거나(숙주 세포가 그것을 배지에 분비하는 경우) 또는 직접 그것을 생산하는 숙주 세포로부터 수집될 수 있다(그것이 분비되지 않는 경우). 적당한 숙주 세포의 선택은 각종 인자들, 예컨대 원하는 발현 수준, 활성에 바람직하거나 또는 필요한 폴리펩티드 변형(예컨대, 글리코실레이션 또는 포스포릴레이션) 및 생물학적 활성 분자로의 폴딩의 용이성에 좌우될 것이다.

[0151] 발현을 위한 숙주로서 이용가능한 포유류 세포주는 당업계에 널리 공지되어 있으며, 이에 제한되지 않으나 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HeLa 세포, 유아 햄스터 신장(BHK) 세포, 원숭이 신장 세포(COS), 인간 간세포 암종 세포(예를 들어, Hep G2), 및 다수의 기타 세포주를 포함하는 American Type Culture Collection (ATCC)로부터 입수가능한 불멸화 세포주가 포함된다. 특정 구현예에서, 세포주는 어떤 세포주가 높은 발현 수준을 갖고 B7RP1 결합 특성을 가진 항체를 실제로 생산하는지 결정하여 선택될 수 있다. 또다른 구현예에서, 그 자신의 항체를 만들지 않으나, 이종성 항체를 만들고 분비하는 역량을 가진 B 세포 계통 유래의 세포주가 선택될 수 있다.

[0152] 본 발명의 항체는 생물학적 시료에서 B7RP1 검출 및 B7RP1 단백질을 생산하는 세포 또는 조직의 동정에 유용하다. B7RP1 에 특이적으로 결합하는 본 발명의 항체는 B7RP1 매개 질환의 치료에 유용할 수 있다. 상기 항체는 결합을 검정하여 B7RP1 을 검출하고, B7RP1 가 B7RP1 수용체와 복합체를 형성하지 않도록 저해하기 위해 이용될 수 있다. B7RP1 에 결합하고, 기타 결합 화합물들과의 상호작용을 차단하는 상기 항체는 B7RP1 매개 질환의 조절에서 치료 용도를 가질 수 있다. 특정 구현예에서, B7RP1 에 대한 항체는 이의 수용체에 대한 B7RP1 결합을 차단하여, B7RP1 유도성 신호전달 캐스캐이드의 붕괴를 초래할 수 있다.

[0153] 본 발명은 또한 환자에서의 B7RP1 의 발현 증가 또는 B7RP1 에 대한 감응성 증가로 인해 야기되는 장애 또는 증상, 예컨대 본원에 기재된 장애 또는 증상의 치료를 위한 의약 제조에서의 본 발명의 하나 이상의 항체의 용도에 관한 것이다.

[0154] 특정 구현예에서, 본 발명은 약제학적으로 용인가능한 희석제, 담체, 가용화제, 에멀젼화제, 보존제 및/또는 아쥬반트와 함께 치료학적 유효량의 하나 또는 복수의 본 발명의 항체를 함유하는 약제학적 조성물을 제공한다. 용인가능한 제형의 재료는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용체에게 무독성이다. 바람직한 구현예에서, 치료학적 유효량의 항-B7RP1 항체를 함유하는 약제학적 조성물이 제공된다.

[0155] 특정 구현예에서, 용인가능한 제형의 재료는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용체에게 무독성이다.

[0156] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물은 예를 들어 조성물의 pH, 삼투압, 점도, 명도, 색상, 등장성, 냄새,

불모성, 안정성, 용해 또는 방출, 흡수 또는 침투 속도를 변경, 유지 또는 보존하기 위한 제형의 재료를 포함할 수 있다. 상기 구현예에서, 적합한 제형의 재료에는, 이에 제한되지 않으나, 아미노산(예컨대, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 라이신) ; 항미생물제 ; 항산화제(예컨대, 아스코르브산, 아황산나트륨 또는 아황산수소나트륨) ; 완충제(예컨대, 보레이트, 비카르보네이트, 트리스-HCl, 시트레이트, 포스페이트 또는 기타 유기산) ; 벌크제(bulking agents)(예컨대, 만니톨 또는 글리신) ; 킬레이트제(예컨대, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA)) ; 균염제 (예컨대, 카페인, 폴리비닐피롤리돈, 베타-시클로덱스트린 또는 히드록시프로필-베타-시클로덱스트린) ; 필러 ; 단당류 ; 이당류 ; 및 기타 탄수화물(예컨대, 글루코오스, 만노오스 또는 덱스트린) ; 단백질(예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린) ; 착색, 풍미 및 희석제 ; 에멀젼화제 ; 친수성 중합체(예컨대, 폴리비닐피롤리돈) ; 저분자량 폴리펩티드 ; 염형성 카운터이온(예컨대, 나트륨) ; 보존제(예컨대, 벤즈알코늄 클로라이드, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸 알콜, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로로헥시딘, 소르브산 또는 과산화수소) ; 용매(예컨대, 글리세린, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜) ; 당 알콜(예컨대, 만니톨 또는 소르비톨) ; 현탁화제 ; 계면활성제 또는 습윤제(예컨대, 플루로닉스, PEG, 소르비탄 에스테르, 폴리소르베이트, 예컨대 폴리소르베이트 20, 폴리소르베이트 80, 트리톤, 트로메타민, 레시틴, 콜레스테롤, 틸록사팔) ; 안정성 증진제(예컨대, 수크로오스 또는 소르비톨) ; 등장성 증진제(예컨대, 알칼리 금속 할라이드, 예를 들어 나트륨 또는 칼륨 클로라이드, 만니톨 소르비톨) ; 전달 비히클 ; 희석제 ; 부형제 및/또는 약제학적 아쥬반트. 참고문헌으로는, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 18th Edition, (A.R. Gennaro, ed.), 1990, Mack Publishing Company.

[0157] 특정 구현예에서, 최적의 약제학적 조성물은, 예를 들어 의도하는 투여 경로, 전달 방식 및 바람직한 투여량에 따라 당업자에 의해 결정될 것이다. 참고문헌은, 예를 들어 상기한 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES. 특정 구현예에서, 상기 조성물은 본 발명의 항체의 물리적 상태, 안정성, 생체내 방출 속도 및 생체내 청소율에 영향을 줄 수 있다.

[0158] 특정 구현예에서, 약제학적 조성물 중의 1 차적인 비히클 또는 담체는 자연에서 수성 또는 비수성일 수 있다. 예를 들어, 적합한 비히클 또는 담체는 주사용수, 생리학적 식염수 용액 또는 인공 뇌척수액으로서, 비경구 투여용 조성물에서 일반적인 기타 재료로 보충될 수도 있는 것들일 수 있다. 중성 완충화 식염수 또는 혈청 알부민과 혼합된 식염수는 추가적인 예시 비히클이다. 특정 구현예에서, 본 발명의 약제학적 조성물은 약 pH 7.0 내지 8.5 의 Tris 완충액, 또는 약 pH 4.0 내지 5.5 의 아세테이트 완충액을 포함하며, 추가로 소르비톨, 수크로오스, Tween-20 및/또는 이의 적합한 대체물을 포함할 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 항-B7RP1 항체 조성물은 원하는 순도를 가진 선택된 조성물을 동결건조된 케이크 또는 수용액의 형태인 임의적인 제형화제(상기된 REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES 참조)와 혼합하여 저장용으로 제조할 수 있다. 추가로, 특정 구현예에서, 항-B7RP1 항체 생성물은 적당한 부형제, 예컨대 수크로오스를 이용하여 동결건조물로서 제형화될 수 있다.

[0159] 본 발명의 약제학적 조성물은 비경구 전달을 위해 선택될 수 있다. 대안적으로, 조성물은 흡입 또는 소화관을 통한 전달, 예컨대 경구용으로 선택될 수 있다. 상기 약제학적으로 용인가능한 조성물의 제조는 당업자의 재량이다.

[0160] 제형의 구성원들은 투여 부위에 용인가능한 농도로 존재한다. 특정 구현예에서, 완충제는 일반적으로는 약 5 내지 약 8 의 pH 범위인, 생리학적 pH 또는 약간 더 낮은 pH 로 조성물을 유지하도록 사용된다.

[0161] 비경구 투여를 고려하는 경우, 본 발명에 사용하기 위한 치료 조성물은 열발생물질이 없는(pyrogen-free), 약제학적으로 용인가능한 비히클 중에 원하는 항-B7RP1 항체를 함유하는 비경구적으로 용인가능한 수용액의 형태로 제공될 수 있다. 비경구 주입을 위한 특히 적합한 비히클은 항-B7RP1 항체가 멸균의, 적절히 유지되는 등장성 용액으로 제형화되는 멸균 증류수이다. 특정 구현예에서, 제제는 약제, 예컨대 주사가능한 마이크로스피어, 생물침식가능한 입자, 중합체성 화합물(예컨대 폴리락트산 또는 폴리글리콜산), 비드 또는 리포좀을 이용한 원하는 분자의 제형을 수반할 수 있는데, 이는 데포 주사(depot injection)를 통해 전달될 수 있는 생성물의 제어 방출 또는 지속 방출을 제공할 수 있다. 특정 구현예에서, 히알루론산이 또한 사용될 수 있는데, 이는 순환에서 기간 지속 촉진의 효과를 갖는다. 특정 구현예에서, 원하는 항체 분자 도입을 위해 이식가능한 약물 전달 장치가 이용될 수 있다.

[0162] 본 발명의 약제학적 조성물은 흡입을 위해 제형화될 수 있다. 상기 구현예에서, 항-B7RP1 항체는 유리하게는 건조한, 흡입가능한 분말로서 제형화된다. 특정 구현예에서, 항-B7RP1 항체 흡입 용액은 또한 에어로졸 전달을 위해 추진체를 이용하여 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 용액은 분무될 수 있다. 폐 투여 및 이의 제형

화 방법이 또한 국제 특허 출원 PCT/US94/001875 에 기재되어 있는데, 이는 참고문헌으로 포함되고, 화학적으로 변형된 단백질의 폐 전달을 기재한다.

[0163] 제형을 경구투여할 수 있다는 것 또한 고려된다. 상기 방식으로 투여되는 항-B7RP1 항체는 정제 및 캡슐과 같은 고체 투여 형태의 배합에 상용적으로 이용되는 담체의 존재 또는 부재 하에 제형화될 수 있다. 특정 구현예에서, 캡슐은 생물이용능이 최대화되고 예비-전신 분해가 최소화되는 시점에 제형의 활성 부분을 방출하도록 고안될 수 있다. 추가적인 약제가 항-B7RP1 항체의 흡수를 촉진하기 위해 포함될 수 있다. 희석제, 풍미제, 저융점 왁스, 식물성 오일, 윤활제, 현탁제, 정제 붕해제 및 결합체가 또한 이용될 수 있다.

[0164] 본 발명의 약제학적 조성물은 정제 제조에 적합한 무독성 부형제가 있는 혼합물에서 유효량의 하나 또는 다수의 항-B7RP1 항체를 포함하도록 제공된다. 정제를 멸균수 또는 기타 적당한 비히클에 용해시킴으로써, 용액은 단위 투여량 형태로 제조될 수 있다. 적합한 부형제에는, 이에 제한되지 않으나 불활성 희석제, 예컨대 칼슘 카르보네이트, 나트륨 카르보네이트 또는 비카르보네이트, 락토오스, 또는 칼슘 포스페이트 ; 또는 결합제, 예컨대 전분, 젤라틴 또는 아카시아 ; 또는 윤활제, 예컨대 마그네슘 스테아레이트, 스테아르산 또는 탈크 등이 포함된다.

[0165] 서방성- 또는 제어-전달 제형 중에 항-B7RP1 항체를 수반하는 제형을 포함하여, 추가적인 약제학적 조성물은 당업자에게 자명할 것이다. 각종 기타 서방성- 또는 제어-전달 수단, 예컨대 리포좀 담체, 생분해성 미립자 또는 다공성 미드 및 데포 주사 제형화 기술은 또한 당업자에게 공지되어 있다. 참고문헌은, 예를 들어 국제 특허 출원 PCT/US93/00829 이며, 이는 참고문헌으로 포함되며, 약제학적 조성물의 전달을 위한 다공성 중합체 미립자의 제어 방출을 기재한다. 서방성 제제에는 성형된 물품의 형태, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐인 반투성 중합체 매트릭스가 포함될 수 있다. 서방성 매트릭스에는, 폴리에스테르, 히드로겔, 폴리락타이드(U.S. 특허 3,773,919 및 유럽 특허 출원 공보 EP 058481 에 기재되어 있고, 이들 각각은 참고문헌으로 포함된다), L-글루탐산 및 감마 에틸-L-글루타메이트의 공중합체(Sidman 등의 1983, *Biopolymers* 22:547-556), 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트)(Langer 등의 1981, *J. Biomed. Mater. Res.* 15:167-277 and Langer, 1982, *Chem. Tech.* 12:98-105), 에틸렌 비닐 아세테이트(Langer 등의 상기문헌) 또는 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산(유럽 특허 출원 공보 EP 133,988)가 포함된다. 서방성 조성물에는 또한 당업자에게 공지된 여러가지 방법으로 제조될 수 있는 리포좀이 포함될 수 있다. 참고문헌은, 예를 들어, Eppstein 등의 1985, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:3688-3692 ; 유럽 특허 출원 공보 EP 036,676 ; EP 088,046 및 EP 143,949, 이들은 모두 참고문헌으로 포함된다.

[0166] 생체내 투여를 위한 약제학적 조성물은 일반적으로 멸균 제제로서 제공된다. 멸균은 멸균 여과 멤브레인을 통한 여과로 달성될 수 있다. 조성물이 동결건조되는 경우, 상기 방법을 이용한 멸균이 동결건조 및 재건 이전에 또는 이후에 수행될 수 있다. 비경구 투여용 조성물은 동결건조된 형태 또는 용액 중에 저장될 수 있다. 비경구용 조성물은 일반적으로 멸균 접근 포트(sterile access port)를 가진 용기, 예를 들어 정맥내 용액 백을 가진 저장고 또는 피하주사바늘로 뚫릴 수 있는 스토퍼가 있는 바이알에 위치된다.

[0167] 일단 약제학적 조성물이 제형화되면, 이는 용액, 현탁액, 겔, 에멀젼, 고체로서 또는 탈수 또는 동결건조된 분말로서 저장될 수 있다. 상기 제형은 즉석에서 사용되는 형태 또는 투여 전에 재건되는 형태(예를 들어, 동결건조) 로 저장될 수 있다.

[0168] 본 발명은 또한 단일 투여량 투여 단위체 제조를 위한 키트를 제공한다. 본 발명의 키트는 각각 건조된 단백질이 있는 제 1 용기 및 수성 제형이 있는 제 2 용기를 모두 포함할 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 단일 및 다중-공간 예비-충전 주사기(예를 들어, 액체 주사 및 분산주사(lyosyringe))를 포함하는 키트가 제공된다.

[0169] 항-B7RP1 항체-포함 약제학적 조성물의 치료에 이용하기 위한 유효량은, 예를 들어 치료 흐름 및 대상체에 좌우된다. 당업자는 치료를 위한 적당한 투여량 수준이, 부분적으로는 전달될 분자, 항-B7RP1 항체가 사용되는 것에 대한 표시, 투여 경로 및 환자의 수치크기(체중, 체표면적 또는 장기 크기) 및/또는 상태(연령 및 일반적인 건강)에 좌우된다는 것을 감안할 것이다. 특정 구현예에서, 임상의는 최적의 치료 효과를 수득하기 위해 투여량을 적정하고 투여 경로를 변경할 수 있다. 전형적인 투여량은 상기 언급된 인자에 따라서, 약 0.1 ㎍/kg 내지 최대 약 30 ㎍/kg 또는 그 이상일 수 있다. 특정 구현예에서, 투여량은 0.1 ㎍/kg 내지 약 30 ㎍/kg ; 1 ㎍/kg 내지 약 30 ㎍/kg ; 또는 5 ㎍/kg 내지 약 30 ㎍/kg 일 수 있다.

[0170] 투여 빈도는 사용되는 제형 내의 특정 항-B7RP1 항체의 약동학적 파라미터에 좌우될 것이다. 전형적으로는, 임상의는 투여량이 원하는 효과를 달성할 때까지 조성물을 투여한다. 따라서, 조성물은 단일 투여량 또는 2 회

이상의 투여량(원하는 분자를 동량 포함하거나 또는 그렇지 않을 수 있다)으로 경시적으로 투여되거나 또는 이식 장치 또는 카테터를 통해 연속 주입으로 투여될 수 있다. 적당한 투여량의 추가적인 재규정화는 당업자에 의해 일상적으로 행해지며, 이들에 의해 일상적으로 수행되는 업무 영역이다. 적당한 투여량은 적당한 투여량-응답 데이터의 이용으로 확정될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 연장되는 기간에 걸쳐 환자에게 투여될 수 있다. 본 발명의 항체의 만성적인 투여는 비인간 동물, 예를 들어 비인간 종에서 제조된 비-완전 인간 항체에서의 인간 항체에 대해 발생하는 항체 관련한 일반적인 불리한 면역 또는 알러지 반응을 최소화한다.

[0171] 약제학적 조성물의 투여 경로는, 예를 들어 경구, 정맥내, 복막내, 뇌막내(내막내), 뇌실내, 근육내, 안내, 동맥내, 문맥내 또는 병변내 경로에 의한 주사 ; 서방성 계 또는 이식 장치를 통해 공지된 방법에 따른다. 특정 구현예에서, 조성물은 볼루스 주사로 또는 연속 주입으로 또는 이식 장치로 투여될 수 있다.

[0172] 조성물은 또한 원하는 분자가 흡수 또는 캡슐화되는 멤브레인, 스폰지 또는 또다른 적당한 재료의 이식을 통해 국소적으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 이식 장치가 사용되는 경우, 장치는 임의의 적합한 조직 또는 장기에 이식될 수 있으며, 원하는 분자의 전달은 확산, 타임-릴리스 볼루스 또는 연속 투여를 통한 것일 수 있다.

[0173] 본 발명에 따른 항-B7RP1 항체 약제학적 조성물을 생체외 투여하는 것도 바람직할 수 있다. 상기의 경우, 환자로부터 떼어낸 세포, 조직 또는 장기는 항-B7RP1 항체 약제학적 조성물에 노출시키고, 그 후 후속하여 세포, 조직 및/또는 장기를 환자에게 다시 이식한다.

[0174] 특히, 항-B7RP1 항체는 폴리펩티드를 발현 및 분비하기 위해, 본원에 기재된 것과 같은 방법을 이용하여 유전자 조작된 특정 세포를 이식함으로써 전달될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 세포는 동물 또는 인간 세포이며, 자가조직, 이질조직 또는 이종개체조직일 수 있다. 특정 구현예에서, 세포는 불멸화될 수 있다. 다른 구현예에서, 면역학적 반응의 기회를 줄이기 위해 세포는 캡슐화시켜 주변 조직의 침투를 피할 수 있다. 추가 구현예에서, 캡슐화 재료는 일반적으로 단백질 생성물(들)의 방출은 허용하나 환자의 면역계 또는 주변 조직으로의 기타 해로운 인자에 의한 세포의 파괴는 막는 생물상용성, 반투성 중합체 포위막 또는 멤브레인이다.

[0175] 수행된 실험 및 달성된 결과를 포함하여 하기의 실시예는 오직 설명의 목적으로만 제공되는 것이며, 본 발명을 제한하고자 하는 의도가 아니다.

[0176] [실시예 1]

[0177] **B7 관련 단백질-1 (B7RP1)에 대한 인간 모노클로날 항체의 제조**

[0178] 항원

[0179] 본원에 참고문헌으로 포함되는 국제 특허 출원 공보 WO 00/46240 에 기재된 바와 같이 제조된 정제된 재조합 인간 B7RP-1(hB7RP-1), 또는 hB7RP-1 을 발현하도록 트랜스펙션된 CHO 세포(ECACC 제 85050302 호)가 항원으로서 사용되었다. 성숙 인간 B7RP-1은 WO 00/46240 에서 SEQ ID NO : 17 로 나타낸 서열에서 잔기 X 내지 302(여기서, X는 19, 20, 21, 22, 24 또는 28 일 수 있다)의 아미노산 서열을 갖는다.

[0180] 트랜스제닉 HuMab 마우스

[0181] B7RP-1 에 대한 완전 인간 모노클로날 항체는 인간 항체 유전자를 발현하는 HuMab 트랜스제닉 마우스의 HCo7 및 HCo12 계통을 이용하여 제조했다. 상기 두 마우스에서, 내인성 마우스 카파 경쇄 유전자는 Chen 등의(1993) *EMBO J.* 12:811-820 에 기재된 바와 같이 동질접합적으로 (homozygously) 파괴되었고, 내인성 마우스 중쇄 유전자는 PCT 공보 WO 01/09187 의 실시예 1 에 기재된 바와 같이 동질접합적으로 파괴되었다. 각각의 상기 마우스 계통은 Fishwild 등의(1996) *Nature Biotechnology* 14:845-851 에 기재된 바와 같이 인간 카파경쇄 트랜스유전자, KCo5 를 보유한다. HCo7 계통은 U.S. 특허 5,545,806; 5,625,825 ; 및 5,545,807 에 기재된 바와 같이 HCo7 인간 중쇄 트랜스유전자를 보유한다. HCo12 계통은 PCT 공보 WO 01/09187 의 실시예 2 에 기재된 바와 같이 HCo12 인간 중쇄 트랜스유전자를 보유한다.

[0182] HuMab 면역화:

[0183] B7RP-1 에 대한 완전 인간 모노클로날 항체를 제공하기 위해, HCo7 또는 HCo12 계통의 HuMab 마우스를 정제된 재조합 B7RP-1 또는 B7RP-1 를 발현하도록 트랜스펙션시킨 CHO 세포로 면역화시켰다. HuMab 마우스에 대한 일반적인 면역화 계획은 Lonberg 등의(1994) *Nature* 368(6474) : 856-859 ; Fishwild 등의(1996) *Nature Biotechnology* 14 : 845-851 및 PCT 공보 WO 98/24884 에 기재되어 있다. 마우스는 항원의 첫번째 주입시 6

내지 16 주령이었다. B7RP-1 항원의 정제된 재조합 제제(50 ㎍) 또는 트랜스펙션된 CHO 세포의 제제(3.5×10^6 내지 1×10^7 세포)가 HuMab 마우스를 복강내로 면역화하기 위해 사용되었다.

[0184] 트랜스제닉 마우스를 완전 Freund's 아쥬반트 중의 정제된 항원을 이용해 복강내로 2 회 면역화한 후, 불완전 Freund's 아쥬반트 중의 정제된 항원을 이용하여 2 내지 4 주의 IP 면역화(총 8 회까지의 면역화)를 후속했다. B7RP-1 을 발현하도록 트랜스펙션된 CHO 세포를 이용한 면역화는 세포에 완전 Freund's 아쥬반트 및 불완전 Freund's 아쥬반트가 사용되지 않았다는 점을 제외하고 동일했다. 면역 반응은 안와후방 채혈로 모니터링했다. 혈장은 ELISA(하기 기재된 바와 같이)로 스크리닝하고, 충분한 역가의 항-B7RP-1 인간 면역글로불린이 있는 마우스를 융합에 이용했다. 마우스는 희생 3 일 및 2 일 전에 항원을 사용해 정맥내로 추가면역(boosting)시키고, 비장을 제거했다. 일반적으로, 각 항원에 대해 10 내지 20 번의 융합을 수행했다. 여러 마리의 마우스를 각 항원에 대해 면역화시켰다. HCo7 및 HCo12 마우스 계열의 총 28 마리가 B7RP-1 로 면역화되었다.

[0185] 항-B7RP-1 항체를 생산하는 HuMab 마우스의 선별:

[0186] B7RP-1 에 결합된 항체를 생산하는 HuMab 를 선별하기 위해, 면역화된 마우스 유래의 혈청을 Fishwild 등의 (1996)에 의해 기재된 바와 같이 ELISA 로 시험했다. 간단하게, 미세역가 플레이트를 정제된 재조합 B7RP-1 로 PBS 중 1 내지 2 ㎍/ml 로 하여 50 ㎕/웰로 코팅하고, 4 ℃ 에서 밤새 항온시킨 후, PBS/Tween (0.05 %) 중의 5 % 닭 혈청을 200 ㎕/웰로 하여 블로킹했다. B7RP-1-면역화 마우스 유래의 혈청의 희석물을 각 웰에 첨가하고, 주변 온도에서 1 내지 2 시간 동안 항온시켰다. 플레이트를 PBS/Tween 으로 세척한 후, 실온에서 고추냉이 퍼옥시다아제(HRP)로 1 시간 동안 콘쥬게이션한 염소-항-인간 IgG Fc 폴리클로날 항체로 처리했다. 세척 후, 플레이트를 ABTS 기질(Sigma, A-1888, 0.22 mg/ml)로 현상하고, OD 415-495 에서 분광계로 분석했다. 최고 역가의 항-B7RP-1 항체로 현상된 마우스를 융합에 이용했다. 융합은 하기에 기재된 바와 같이 수행했고, 하이브리도마 상청액은 ELISA 에 의해 항-B7RP-1 활성에 대해 시험했다.

[0187] B7RP-1 에 대한 인간 모노클로날 항체를 생산하는 하이브리도마의 생성:

[0188] HuMab 마우스에서 분리해 낸 마우스 비장세포는 표준 프로토콜을 기준으로 PEG 를 사용해 마우스 골수 세포주에 융합시켰다. 이어서, 수득한 하이브리도마는 항원-특이적 항체의 생성에 대해 스크리닝했다. 면역화된 마우스 유래의 비장 림프구의 단일 세포 현탁액을 50 % PEG(Sigma)와 함께 SP2/0 미분비 마우스 골수 세포(ATCC 제 CRL 1581 호) 개체수의 4 분의 1 에 융합시켰다. 세포는 평판 바닥 미세역가 플레이트에서 약 $1x10^5$/웰로 플레이팅하였고, 이어서 10 % 우태아 혈청, 10 % P388D1(ATCC, CRL TIB-63) 조건화 배지, DMEM 중의 3-5 % 오리겐(IGEN)(Mediatech, CRL 10013, 다량의 글루코오스, L-글루타민 및 나트륨 피루베이트) 및 5 mM HEPES, 0.055 mM 2-메르캅토에탄올, 50 mg/ml 젠타마이신 및 1x HAT(Sigma, CRL P-7185)을 함유하는 선별 배지에서 약 2 주간 항온시켰다. 1 내지 2 주 후, 세포는 HAT 를 HT 로 치환한 배지에서 배양했다. 이어서, 개별 웰을 인간 항-B7RP-1 모노클로날 IgG 항체에 대해 ELISA(상기 기재된 바와 같음)로 스크리닝했다. 일단 집중적인 하이브리도마 성장이 발생하면, 배지는 10 내지 14 일 후 모니터링했다. 항체 분비 하이브리도마를 다시 플레이팅하고, 다시 스크리닝하고, 인간 IgG 에 대해 여전히 양성이라면, 희석을 제한하여 항-B7RP-1 모노클로날 항체를 2 회 이상 서브클로닝했다. 이어서, 안정한 서브클론을 시험관내 배양하여 추가 특징분석을 위해 조직 배양 배지 중에 소량의 항체를 제공했다.

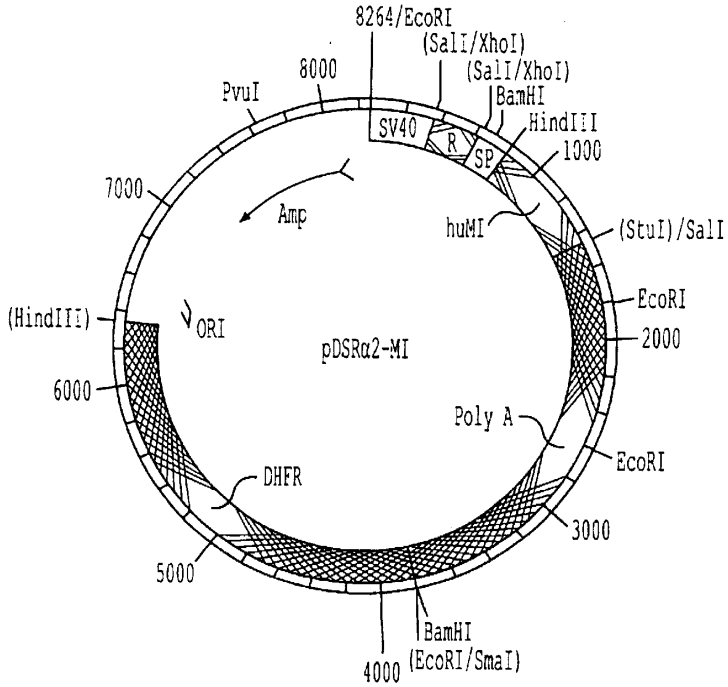
[0189] [실시예 2]

[0190] **항-B7RP1 항체 중쇄 및 경쇄의 클로닝**

[0191] B7RP1 결합 모노클로날 항체 16H 를 발현하는 하이브리도마는 TRIzol® 시약(Invitrogen)을 이용하여 전체 RNA 를 분리하기 위한 공급원으로서 이용했다. 5' RACE(cDNA 말단의 신속한 증폭) 올리고뉴클레오티드(5'-CGA CUG GAG CAC GAG GAC ACU GAC AUG GAC UGA AGG AGU AGA AA-3' ; SEQ ID NO : 69)를 GeneRacer™ Kit (Invitrogen) 구성원들 및 프로토콜을 이용하여 RNA 에 결합시켰다. 첫번째 가닥 cDNA는 신장 어댑터(5'-GGC CGG ATA GGC CTC CAN NNN NNT-3') (SEQ ID NO : 59)을 사용한 랜덤 프라이머를 이용하여 합성하고, 5' RACE(cDNA 말단의 신속한 증폭) 예비 검정을 제조사의 지시사항에 따라 GeneRacer™ Kit(Invitrogen)을 이용하여 수행했다. 완전한 경쇄를 코드하는 cDNA 제작을 위해, 전방향 프라이머는 GeneRacer™ 에 있는 프라이머였고, 역방향 프라이머는 (5'-GGG GTC AGG CTG GAA CTG AGG-3'(SEQ ID NO : 60)였다. 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 제조를 위해,

전방향 프라이머는 GeneRacer™ 에 있는 프라이머였고, 역방향 프라이머는 (5'-TGA GGA CGC TGA CCA CAC G-3') (SEQ ID NO : 61)였다. RACE 생성물은 pCR4-TOPO(Invitrogen Corporation)에 클로닝하고, 서열을 결정했다. 콘센서스 서열은 전장 항체 사슬 PCR 증폭을 위한 프라이머 고안에 이용했다.

[0192] 항-B7RP1 16H kapp 경쇄를 코드하는 cDNA 제조를 위해, 5' PCR 프라이머는 신호 서열의 아미노 말단, *Xba*I 제한효소 부위, 및 최적화된 Kozak 서열(5'-CAG CAG AAG CTT CTA GAC CAC CAT GGA CAT GAG GGT CCT CGC TCA GCT CCT GGG-3') (SEQ ID NO : 62)을 코드했다. 3' 프라이머는 카르복실 말단 및 종결 코돈 뿐만 아니라 *Sal*I 제한효소 부위(5'-CTT GTC GAC TCA ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT C-3') (SEQ ID NO : 63)를 코드했다. 수득되는 PCR 생성물 단편을 정제하고, *Xba*I 및 *Sal*I 로 절단 후 겔 분리하고, 포유동물 발현 벡터 pDSRα20 에 결합시켰다(참고문헌은, 국제 출원 공보 WO 90/14363 로, 이는 본원에 임의의 목적으로 참고문헌으로 포함된다. pDSRα20은 부위 지정 돌연변이유발에 의해 "구아노신" 에서 "아데노신" 으로 pDSRα19 에서 뉴클레오티드 2563 을 변경하여 제조했다). 상기 pDSRα19는 하기의 구조를 갖는 pDSRα2 를 다음의 방법으로 변형시켜 제조한 것이다 : 소의 뇌하수체 당단백질 호르몬 알파-FSH(여포 자극 호르몬)의 알파 서브유닛으로부터의 전사 종결/폴리아데닐화 신호를 함유하는 서열을 변형시킨 후에 NdeI 부위의 말단에서 885 염기쌍까지 대략 1400 염기쌍 길이가 되도록 짧게하였고 ; 209 염기쌍을 함유하는 디히드로엽산 환원효소(DHFR) 프로모터는 5' 말단에서 대략 1 킬로베이스의 길이만큼 짧게하였으며 ; DHFR 폴리A 서열로부터 대략 550 염기쌍 BglⅡ 단편을 결실시켰다.



[0193]

[0194] 항-B7RP1 16H 중쇄를 코드하는 cDNA 를 제조하기 위해, 5' PCR 프라이머는 신호 서열의 아미노 말단, *Xba*I 제한효소 부위, 최적화된 Kozak 서열(5'-ACA ACA AAG CTT CTA GAC CAC CAT GGA GTT GGG GCT GAA CTG G-3') (SEQ ID NO : 64)을 코드했다. 3' 프라이머는 자연 발생 센스 가닥 *BsmB*I 부위(5'-GTG GAG GCA CTA GAG ACG GTG ACC AGG ATT CC-3' ; SEQ ID NO : 65)를 포함하는 가변 영역의 카르복실 말단을 코드했다. 수득한 생성물을 정제하고, *Xba*I 및 *BsmB*I 로 절단하고, 겔 분리하고, 인간 IgG1 불변 영역을 포함하는 pDSRα20 벡터 및 인간 IgG2 불변 영역을 포함하는 pDSRα20 벡터에 결합시켰다. 자연 불변 영역인지 여부와 상관없이 모든 하이브리도마 유도성 항-B7RP1 중쇄 가변 영역은 인간 IgG1 및 인간 IgG2 불변 영역을 포함하는 pDSRα20 벡터에 상기 기재된 바와 같이 클로닝했다.

[0195] [실시예 3]

[0196] **중국 햄스터 난소 (CHO) 세포에서의 항-B7RP1 항체의 발현**

[0197] 16H 항-B7RP1 mAb 의 안정한 발현은, 칼슘 포스페이트 방법 (전장 16H 중쇄는 SEQ ID NO : 44 에 나타냈고 ; 16H kappa 사슬 서열은 SEQ ID NO : 45 에 나타냈다)을 이용하여 16H-중쇄/pDSRα19 IgG2 B7RP1-kappa/pDSRα

19 플라스미드의 디히드로폴레이트 리덕타아제 결핍 ($DHFR^-$) 무혈청 적응 중국 햄스터 난소(CHO) 세포로의 공동 트랜스펙션(cotransfection)에 의해 달성되었다. 트랜스펙션된 세포는 투석된 혈청을 함유하나, DHFR 효소를 발현하는 세포의 성장을 보장하기 위해 하이포크산틴-티미딘은 함유하지 않는 배지에서 선별했다. 트랜스펙션된 클론은 조건화된 배지 중의 16H 항-B7RP1 mAb 의 발현을 검출하기 위해, ELISA 와 같은 검정을 이용하여 스크리닝했다. 최고의 발현 클론은 DHFR 증폭을 위해 메토트렉세이트(MTX)의 농도 증가에 적용했다. MTX 증폭 클론은 조건화된 배지에서의 16H 항-B7RP1 mAb 의 더 높은 발현을 검출하기 위해 ELISA 와 같은 검정을 이용하여 스크리닝했다. 최고 발현 클론은 균일한 집단 수득 및 세포 은행 창출을 위해 서브클로닝에 적용했다.

[0198] 본 발명의 기타 재조합 항-B7RP1 항체는 항-B7RP1 모노클로날 항체에 대해 상기 기재된 바와 같은 프로토콜을 이용하여 DHFR 결핍 중국 햄스터 난소 세포에서 생성될 수 있다. 본 발명의 각각의 항-B7RP1 항체의 완전한 중쇄 또는 경쇄를 코드하는 DNA 서열은 발현 벡터에 클로닝한다. CHOd-세포(ATCC 제 CRL-9096 호 또는 ECACC 제 94060607 호)는 완전한 중쇄를 발현할 수 있는 발현 벡터 및 적당한 항-B7RP1 항체의 완전한 경쇄를 발현하는 발현 벡터로 공동트랜스펙션시켰다. 예를 들어, 5D 항-B7RP1 항체 생성을 위해, 세포는 SEQ ID NO : 47 에 제시되는 아미노산 서열을 포함하는 완전한 중쇄를 발현할 수 있는 벡터 및 SEQ ID NO : 48 에 제시되는 아미노산 서열을 포함하는 완전한 경쇄를 발현할 수 있는 벡터로 공동트랜스펙션시켰다. 표 2는 인간 IgG 중쇄 불변 영역을 가진 항-B7RP1 항체에 대한 예시적인 완전한 경쇄 및 예시적인 완전한 중쇄를 요약한다. 당업자는 IgG1 또는 IgG2 가 서로 치환될 수도 있다는 것을 인지할 것이다(즉, IgG1 가 표에 열거된 곳에는, IgG2 가 존재할 수도 있고, 그 반대도 가능하다). 대안적으로, 임의의 기타 면역글로불린(예를 들어, IgM, IgA, IgE 또는 IgH)이 본 발명의 항체 생성에 이용될 수 있다.

표 2

항체	중쇄 가변 영역 + 중쇄 불변 영역	완전한 중쇄
16H(IgG2)	SEQ ID NO: 7 + SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 44
16H(IgG1)	SEQ ID NO: 7 + SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 70
16Hg(IgG2)	SEQ ID NO: 8 + SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 46
16Hg(IgG1)	SEQ ID NO: 8 + SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 71
5D(IgG1)	SEQ ID NO: 9 + SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 47
5D(IgG2)	SEQ ID NO: 9 + SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 72
2H(IgG2)	SEQ ID NO: 10 + SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 49
2H(IgG1)	SEQ ID NO: 10 + SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 73
2Hg(IgG2)	SEQ ID NO: 11 + SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 51
2Hg(IgG1)	SEQ ID NO: 11 + SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 74
43H(IgG2)	SEQ ID NO: 14 + SEQ ID NO: 41	SEQ ID NO: 52
43H(IgG1)	SEQ ID NO: 14 + SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 75
15H(IgG1)	SEQ ID NO: 12 + SEQ ID NO: 42	SEQ ID NO: 57

항체	경쇄 가변 영역 + 경쇄 불변 영역	완전한 경쇄
16H	SEQ ID NO: 1 + SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 45
5D	SEQ ID NO: 2 + SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 48
2H	SEQ ID NO: 3 + SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 50
43H	SEQ ID NO: 6 + SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 53
41H	SEQ ID NO: 5 + SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 55
15H	SEQ ID NO: 4 + SEQ ID NO: 43	SEQ ID NO: 58

[0199]

[0200] [실시예 4]

[0201] **항-B7RP1 항체의 생산**

[0202] 항-B7RP1 항체는 CHO 세포의 클론성 주에서의 발현에 의해 생산된다. 각각의 제조 가동시, 단일 바이알 유래의

세포를 무혈청 세포 배양 배지에 해동시킨다. 세포를 처음에는 T-플라스크에서 성장시키고 이어서 스피너 플라스크, 이어서 2000 L 바이오리액터까지 규모를 키워 스테인레스 스틸 반응기에서 키운다. 생산은 유가 배양을 이용하여 2000 L 바이오리액터에서 수행하는데, 여기서 농축된 배지 구성원들을 포함하는 영양 주입물을 첨가하여 세포 성장 및 배양 생활성(culture viability)을 유지한다. 항-B7RP1 항체가 세포에 의해 구조적으로 생산되며 세포 배양 배지에 분비될 때 약 2 주 동안 생산을 지속한다.

[0203] 생산 반응기는 미리 정해진 pH, 온도 및 용존 산소 수준으로 제어된다 : pH는 이산화탄소 기체 및 탄산나트륨 첨가로 제어되며 ; 용존 산소는 공기, 질소 및 산소 기체 유동에 의해 제어된다.

[0204] 생산 종결시, 세포 브로스는 디스크 스택 원심분리기에 주입하고, 세포 상청액을 세포로부터 분리한다. 농축물은 심층여과식 필터에 이어 0.2 ㎛ 필터를 통해 정화한다. 이어서, 정화된 조건화 배지는 접선류 방식의 한외여과로 농축한다. 조건화된 배지는 15- 내지 30- 배로 농축된다. 이어서, 수득되는 농축된 조건화 배지는 정제를 통해 가공하거나 또는 후일 정제를 위해 냉동시킨다.

[0205] [실시예 5]

[0206] **16H mAb 의 생식계열화**

[0207] 인간 생식계열 서열이 있는 16H 항체의 서열 정렬은 16H 항체의 가변 영역의 프레임워크 서열이 V_H 3-07 및 JH4 생식계열 서열과 오직 3 개의 아미노산이 상이할 뿐 거의 동일하다는 것을 보여줬다(**도 1a**). 16H 항체의 VK 영역에 대한 프레임워크 서열은 VK1-L15 생식계열 서열과 동일한 것으로 발견되었다. 체세포의 과도한 돌연변이는 환자의 면역 반응에서 외래물로 인식되는 것이 이론적으로는 가능한데 ; 이 경우, 환자는 치료를 중화하는 항-개별특이형 반응을 나타낸다. 상기 가능성을 줄이기 위해, V_H 프레임워크 영역에서의 3 개의 아미노산 변경을 V_H 3-07 및 JH4 생식계열 서열로 되돌렸다(**도 1a**). 생식계열 V_H 및 J_H 유전자 절편들이 모든 인간 게놈에 존재하므로, 16H 의 생식계열 버전은 투여된 환자의 면역 반응에 의해 외래물로서 인식되지 않는다. 플레이트 공동자극 바이오검정은 생식계열와 항체가 비-생식계열화 항체의 IC_{50} 와 유사한 IC_{50} 을 가진 T-세포 증식을 유도할 수 있는지 여부를 결정하기 위해 수행되었다. 공동자극 검정은 항-CD3 및 hB7RP-1-Fc 융합 단백질을 이용하여 하기 기재된 바와 같이 수행되었으며, 16H 생식계열 또는 16Hg 로 지칭되는 상기 생식계열화 항체가 이의 생물학적 활성을 보유한다는 것을 확인했다(**도 1b**).

[0208] [실시예 6]

[0209] **Biacore® 및 KinExA 에 의한 모노클로날 항체의 친화성 측정**

[0210] 3 가지 항체(5D 및 16H은 실시예 1 에 기재된 바와 같이 제조, 및 16H 생식계열은 실시예 5 에 기재된 바와 같이 제조)를 정제하고, 결합 친화성 분석에 적용했다. B7RP1-Fc는 표준 아민 커플링 화학을 이용하여 CM5 센서 칩 상에 높은 밀도로 고정시켰다. 이어서, mAb 의 고정된 농축물을 B7RP-1 또는 B7RP1-Fc 의 농도를 달리하여 함께 실온에서 8 시간 이상 항온시켜 이들이 평형에 도달하도록 했다. 이어서, 시료를 B7RP1-Fc 표면 상에 주입하고, 관찰된 결합 신호는 평형시 용액에 남은 유리된 항체를 나타냈다. 2 가지 상이한 항체 농도(0.2 nM 및 1 nM)를 이용하여, 특정 mAb 및 리간드 사이의 상호작용의 K_D는 이중 곡선 단일 부위 균등 결합 모델(dual-curve one-site homogeneous binding model)을 이용한 경쟁 곡선의 비선형 회귀 분석으로 계산했다(Adamczyk 등의 1999, *Bioconjugate Chem.* 10 : 1032-37 ; Adamczyk 등의 2000, *Methods* 20 : 319-28). 도 2 및 표 3 에 나타낸 바와 같이, 16H, 16Hg 및 5D mAb는 전부 가용성 B7RP-1 및 B7RP-1-Fc 단백질 모두에 높은 친화도로 결합시켰다. 추가로, 결과는 16H(비-생식계열) 및 16Hg(생식계열)가 유사하게 반응한다는 것을 시사하여, 생식계열화가 항체 및 리간드 사이의 결합에 현저하게 영향을 주지 않는다는 것을 증명한다.

표 3

[0211]

K_D값의 요약		
	B7RP-1	B7RP1-Fc
5D	37 pM	1.6 pM
16H	1.9 nM	27 pM
16H (생식계열)	2.7 nM	17 pM

[0212] 5D, 2H 및 2H 생식계열 항체의 결합은 또한 KinExA(동역학적 배재 검정) 기술을 이용하여 시험했다. 상기 검정에서, hB7RP-1은 아가로스 비드에 커플링되었다. 비드는 비드 컬럼 제공을 위해 사용되었다. 고정된 농도로 항체를 포함하는 시료는, hB7RP-1 의 농도를 달리하여 평형을 이루도록 했는데, 이어서 비드 컬럼을 지나게 했다. 리간드와 복합체를 이루지 않은 항체는 코팅된 비드에 결합된다.

[0213] 형광 태그된 항-인간 Fc 2 차 항체가 결합된 시험 항체 검출에 사용되었다. 주어진 리간드 농도에서 수득한 신호는 용액 중에서의 유리된 항체에 비례했다. 2 가지 상이한 항체 농도를 이용하여, 상호작용의 K_D 를 이중 곡선 단일 부위 균일 결합 모델을 이용한 경쟁 곡선의 비선형 회귀 분석으로부터 계산했다(Adamczyk 등의 1999, *Bioconjugate Chem.* 10 : 1032-37 ; Adamczyk 등의 2000, *Methods* 20 : 319-28). 도 3, 4 및 5는 항체 5D, 2H 및 2H(생식계열)에 대한 이중 곡선 피트를 보여준다. 상기 기법을 이용하여, 항체 5D 및 2H 에 대한 K_Ds 에서 약 10-배의 차이가 나타났다.

[0214] Biacore® 및 KinExA 검정의 결과는 항체 5D 가 2H 또는 16H 보다 hB7RP-1 에 대한 더 높은 친화성을 가졌음을 증명했다. 또한, 항체 2H 의 생식계열 버젼은 비-생식계열 구축물과 현저한 차이를 나타내지 않는다.

[0215] [실시예 7]

[0216] **항-B7RP1 항체의 기능적 특징**

[0217] 본 발명의 B7RP-1 항체의 기능적 특징은 결합 경쟁 검정, 시험관내 공동자극 검정 및 시험관내 파상풍 톡소이드 검정을 이용하여 평가했다.

[0218] 결합 경쟁 연구

[0219] 결합 경쟁 연구는 B7RP-1 에 대한 ICOS 결합에 대하여 경쟁할 수 있다는 것을 증명하기 위해 16H mAb 을 사용하여 수행했다. 전장 인간 B7RP-1 을 코드하는 유전자로 트랜스펙션시킨 CHO 세포는 먼저 감량한 비표지 16H mAb 와 항온시키고, 후속하여 형광 표지 ICOS-Fc 융합 단백질을 이용하여 염색했다. 이어서, 세포는 유세포분석을 이용하여 분석했다. 도 6 에 나타낸 바와 같이, ICOS-Fc는 B7RP-1-트랜스펙션된 CHO 세포를 염색하는데 ; 0.4 ㎍/ml 의 16H mAb는 ICOS-Fc 결합에 영향을 주지 않는다. 그러나, 6 및 25 ㎍/ml 의 16H는 ICOS-Fc 결합과 유효하게 경쟁하여, 16H mAb 가 B7RP-1 상의 ICOS 에 대해 경쟁한다는 것을 시사했다.

[0220] Co-자극 검정

[0221] 세포 배양 플레이트(Falcon, Cat No.353077, U bottom)를 1 ㎍/ml 항-인간 CD3 항체(PharMingen Cat No.555336) 및 10 ㎍/ml 항-인간 IgG(Fc 특이적 Sigma Cat No.I3391)을 이용하여 코팅했다. 포스페이트 완충화 식염수(PBS) 중의 항-CD3 항체 및 항-인간 면역글로불린을 각각의 웰에 첨가했다(100 ㎕/웰). 코팅된 플레이트는 4 ℃ 에서 밤새 또는 실온에서 2 시간 동안 항온시켰다. 이어서, 플레이트를 PBS 로 2 회 세척했다. 세척 후, 1 ㎍/ml 인간 B7-2Fc(R&D System, Cat No.141-B2) 또는 5 ㎍/ml hB7RP1Fc 를, 각각 PBS 에 희석하여, 각 웰에 첨가했다(웰 당 100 ㎕). 이어서, 플레이트는 실온에서 3 시간 동안 항온시키고, 이후 PBS 로 2 회 세척했다. 정제된 인간 T 세포를 200 ㎕ 부피의 배지(10% 우태아 혈청 (FCS), 페니실린-스트렙토마이신-L-글루타민 (PSG), β-메르캅토에탄올(2-ME), N-아세틸 아스파르테이트 (NAA) 및 나피루베이트(Napyruvate) 가 보충된 RPMI 1640)에 첨가하고(웰 당 $1x10^5$), 37 ℃, 5 % CO_2 에서 48 시간 동안 항온시켰다. ^{3-}H 티미딘(ICN Cat No.2404205)을 1 μCi/웰로 첨가하고, 세포를 밤새 37 ℃ 5 % CO_2 에서 항온시켰다. 이어서, 세포를 수합하고 계수했다.

[0222] 세포 배양 플레이트(Falcon, Cat No.353077, U 바닥)를 0.1 ㎍/ml 항-인간 CD3 으로 상기와 같이 코팅했다. hB7RP1 트랜스펙션된 CHO 세포(5000RAD 조사)를 웰 당 $2x10^4$ 로 첨가한 후, 정제된 인간 T 세포를 웰 당 $1x10^5$ 으로 200 ㎕ 의 부피로 첨가했다. 플레이트를 37 ℃, 5 % CO_2 에서 48 시간 동안 상기와 같이 항온시켰다. ^{3-}H 티미딘을 1 μCi/웰로 첨가했다. 상기와 같이 세포를 밤새 항온시키고, 수합하여 계수했다.

[0223] 파상풍 톡소이드 검정

[0224] PBMC는 하기와 같은 Ficoll-Paque(Amersham Biosciences) 구배를 이용하여 인간 혈액으로부터 정제했다. 혈액은 PBS 를 사용하여 1:2 로 희석하고, 희석된 혈액은 Ficoll(1/3 실온 Ficoll + 2/3 희석된 혈액)의 상부에 층을 이루도록 하고, 2500 rpm 에서 30 분 동안 실온에서 원심분리하고, 상층(혈청 및 혈소판)을 흡입제거하고,

단핵 세포층을 새로운 50 ml 관에 옮겼다. 분리된 PBMC는 PBS(단핵 세포층의 3 배 부피)로 희석하고, 30 분 동안 실온에서 1300 rpm 으로 원심분리하고 상기와 같이 세척했다. PBMC는 배지(RPMI 1640 + 10 % 가열 불활성화 FBS + 1X PSG + 1X NEAA + 55 μM 2-ME)에 재현탁시키고, 세포를 계수했다.

[0225] PMBC 를 96-웰 둥근바닥 플레이트의 웰에 100 ㎕ PBMC/웰($3x10^6$/ml) 로 첨가했다. 파상풍 톡소이드(20 ㎍/ml ; University of Massachusetts) 를 최종 농도 5 ㎍/ml 가 되도록 첨가했다. 세포는 3 일 동안 37 ℃ 에서 항온시키고 ; 100 ㎕ 의 상청액을 수집하고, 1 μCi/웰 ^{3}H-티미딘(MP Biomedicals)의 존재 하에 추가의 6 내지 8 시간 동안 항온시켰다. 이어서, 세포를 수합 및 계수했다.

[0226] 표 4는 상기 기재된 검정을 이용하여 결정되는 본 발명의 특정 항체의 기능적 특징을 요약한다.

표 4

	플레이트	Biacore Fc	Biacore mono	CHO	파상풍 톡소이드
2H	43	89		1445	15
15H	36				141
16H	53	27	1900	276	27
16Hg	32	17	2700	523	
41H	52				115
43H	46				35
5D	55	1.6	37	1456	15
ICOS-Fc	200-1000	1000		10,672	
α-CD86					40

[0227] *EC_{50}/KD 값은 pM 으로 나타내었다.

[0228] [실시예 8]

[0229] **에피토프 맵핑**

[0230] 16H/16Hg 및 5D 모노클로날 항체가 결합하는 B7RP-1 상의 영역을 동정하기 위해 실험을 수행했다. 이를 위해, 신규한 형광-활성화 세포 분류자(FACS) 결합 검정을 개발했다. B7RP1 의 인간 세포외 도메인(ECD)(SEQ ID NO : 66) 뿐만 아니라 Ig1(IgV-유사 ; SEQ ID NO : 67) 또는 Ig2(IgC-유사 ; SEQ ID NO : 68)을 포함하는 B7RP-1 의 절단된 형태가 닭 아비딘을 이용한 인-프레임 융합에서 N-말단으로서 발현되었다.

SEQ ID NO: 66 (ECD):

DTQEKEVRAMVGSDVELSCACPEGSRFDLNDVYVYWQTSESKTVVTYHIPQNSSLENVDSRYRNRALMS
PAGMLRGDFSLRLFNVTPQDEQKFHCLVLSQSLGFQEVLSVEVTLHVAANFSVPVVSAPHSPSQDELTF
TCTSINGYPRPNVYWINKTDNSLLDQALQNDTVFLNMRGLYDVVSVLRIARTPSVNIGCCIENVLLQQN
LTVGSQTGNDIGERDKITENP

SEQ ID NO: 67 (IgV-유사):

DTQEKEVRAMVGSDVELSCACPEGSRFDLNDVYVYWQTSESKTVVTYHIPQNSSLENVDSRYRNRALMS
PAGMLRGDFSLRLFNVTPQDEQKFHCLVLSQSLGFQEVLSVEVTLHVAANFSVPVVSAPHSPSQDELTF
T

SEQ ID NO: 68 (IgC-유사):

LGFQEVLSVEVTLHVAANFSVPVVSAPHSPSQDELTFTCTSINGYPRPNVYWINKTDNSLLDQALQNDT
[0231] VFLNMRGLYDVVSVLRIARTPSVNIGCCIENVLLQQNLTVGSQTGNDIGERDKITENP

[0232] 상기 융합 단백질을 코드하는 유전자를 포함하는 발현 벡터는 293T 세포(ATCC 제 #CRL 1573 호)에 개별적으로

임시적으로 트랜스펙션시키고, 상기 세포주 유래의 조건화된 배지를 융합 단백질의 공급원으로서 사용했다. 아비딘-태그는 바이오틴-코팅 비드를 이용하여 용액으로부터 B7RP1 융합 단백질을 포획하기 위해 사용했다. 융합 단백질은 형광-표지 16H 또는 5D mAbs 또는 형광-표지 ICOS-Fc 융합 단백질과 항온시켰고, 바이오틴-코팅된 비드와 항온시켰다. 비드를 회수하고, Becton-Dickinson Bioscience FACScan(BD, Franklin Lakes, NJ) 상에서 유세포분석을 이용하여 분석했다. **도 9a** 에 나타낸 바와 같이, B7RP-1 의 완전 ECD 가 결합되었을 때 비드의 형광 염색은 16H, 5D 및 ICOS 시약을 이용하여 검출했고, 이는 상기 세가지 시약 모두가 B7RP-1 의 ECD 에 결합할 수 있음을 시사한다. 유사하게, 세가지 시약 모두 Ig1 도메인만을 포함하는 아비딘 융합 단백질에 결합되어, ICOS 및 블로킹 항-B7RP-1 mAbs 가 상기 영역에 결합할 수 있음을 시사했다. 대조적으로, ICOS 도 항-B7RP-1 mAbs 도 멤브레인-근접 Ig2 도메인만을 포함하는 융합 단백질에 결합할 수 없었다. 이에 따라, B7RP-1 상의 ICOS, 16H 및 5D 결합 영역은 Ig1 도메인에 위치했다.

[0233] 실시예 1 에서 상기 기재된 바와 같이 생성되고 아비딘 융합 결합 검정을 이용하여 시험한 항체들은 표 5 에 나타낸 바와 같이 에피토프 클래스, H 및 D 의 두가지로 나뉠 수 있다. B7RP1 에 결합하는 이의 능력을 기준으로 초기에 선별된 100 개의 항체들 중에서도, 15 개는 아비딘 융합 결합 검정에서 결합에 실패했고, 이들 대부분은 분해 때문이었다.

표 5

[0234]

에피토프에 의한 mAbs의 분류	
클래스	#
H 에피토프	75
D 에피토프	10
신규한 에피토프, ICOS 차단제	0
신규한 에피토프, ICOS 차단제가 아님	0
결합이 검출되지 않음	15

[0235] [실시예 9]

[0236] **SNP 동정 및 기능 분석**

[0237] 주된 단일 뉴클레오티드 다형현상(SNP) 변이체는 28.4% 의 대립형질 빈도로 집단에 존재하는 B7RP-1 에서 동정했다(**도 7**). 변이체는 성숙 단백질 코딩 서열에서 동정했다. National Center for Biotechnology Information(NCBI) 데이터뱅크의 검색은 제 2 의 SNP 변이체를 밝혀냈고 ; 제 2 변이체는 1.5 개별(3 개의 염색체) 분석에서 동정했다. 제 1 의 SNP 변이체(V128I)는 제 1 IgV-유사 도메인에 위치했고, NCBI SNP 변이체(L221F)는 제 2 IgC-유사 도메인에 위치했다.

[0238] 상기 논의된 바와 같이, 16H 및 5D 모노클로날 항체 모두 제 1 IgV-유사 도메인에 결합하며, 후자인 L221F 변이체가 16H 또는 5D mAb 결합 또는 기능에 영향을 주는 것은 아닌 것 같다. 그럼에도 불구하고, 이들 SNP 변이체가 16H 또는 5D 결합 및/또는 기능에 영향을 주는지 여부를 결정하기 위해, 2 가지 상이한 실험을 수행했다. 제 1 설정의 실험에서는, 아비딘 융합 단백질은 2 개의 SNP 변이체를 이용해 구축했고, 상기 기재된 바와 같이 유세포분석 검정에서 16H 또는 5D 항체에 대한 결합에 대해 시험했다. H 및 D 에피토프 클래스 유래의 대표적인 mAb는 야생형 B7RP-1 과 비슷한 효능을 갖는 SNP 변이체에 결합했다(**도 9b**). 상기 데이터는 H 및 D 에피토프 클래스 두가지 모두 유래의 항체가 B7RP-1 SNP 변이체에 결합한다는 것을 시사한다.

[0239] 제 2 접근법에서, Fc 융합 단백질은 B7RP-1 SNP 변이체 서열을 이용하여 구축했고, 플레이트 공동자극 검정에서 T 세포를 자극하는 이들 단백질의 능력에 대해 비교했다(**도 9c**). 16H 및 5D 항체는 모두 야생형 융합 단백질과 유사한 EC_{50} 를 가진 SNP 변이체 Fc 융합 단백질에 의해 중재되는 공동자극을 저해한다. 상기 데이터를 취합하면 2 개의 잠재적인 B7RP-1 SNP 변이체가 본 발명의 항체에 의해 인식되는 것을 시사한다. 이에 따라, 본 발명의 항체는 상기 SNP 변이체를 포함하는 환자에서 표적에 결합할 수 있다.

[0240] [실시예 10]

[0241] **생체내 동물 효능 모델**

[0242] 면역 반응을 저해하는 B7RP-1 항체의 능력은 쥐과동물화된 랫 항-쥐과동물 B7RP-1 모노클로날 항체(1B7v2)를 이용하고, 키홀-림페트 헤모시아닌(keyhole-limpet hemocyanin)(KLH)을 이용해 BALB/c 마우스에 항원투여하여 분석했다.

[0243] 쥐과동물화된 랫 항-쥐과동물 B7RP-1 모노클로날 항체 1B7v2 의 생성

[0244] 전장 쥐과동물 B7RP-1 를 과발현하는 중국 햄스터 난소 세포를 랫에 1 차 면역화로서 주사하고, 후속하여 쥐과동물 B7RP-1-Fc 융합 단백질을 이용하여 면역 반응을 증가시켰다. 정맥내 추가면역시킨 후 제 3 또는 제 4 일째에 비장을 수합하고, 비장 B 세포를 Y3-Ag1.2.3 랫 골수종 세포주(ATCC 제 CRL-1631 호)와 융합시켰다. 이어서, 세포를 하이포크산틴-아미노프테린-티미딘(HAT)으로 보충된 배지에서 2 주 동안 선별했고, 후속하여 단일 세포를 희석 제한으로 서브클로닝했다. 상기 과정들은 "Practical Immunology, 2nd ed." Leslie Hudson and Frank C. Hay ; Blackwell Scientific Publications 1980 에 기재되어 있다.

[0245] 1B7 면역글로불린을 코드하는 유전자는 표준 과정(Sambrook 등의 2001, MOLECULAR CLONING : A LABORATORY MANUAL, 3d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y)을 이용하여 1B7 세포주(hB7RP-1 을 코드하는 DNA 로 형질감염시킨 CHO 세포주이다)로부터 클로닝했다. 인간 항-huB7RP1 MAbs 의 이소타입 스위치(isotype switch)는 *Xba*I 및 *Bsm*BI 제한효소 부위 결합 말단을 포함하는 가변 영역 단편을 *Xba*I 및 *Bsm*BI 말단을 역시 가진 인간 IgG1 또는 huIgG2 불변 영역이 있는 pDSRα20 벡터에 클로닝함으로써 완성했다. 1B7 랫 항-muB7RP1 에 대해서는, 3 단계 중첩 PCR 프로세스로 키메라를 형성했다. 랫 가변 영역은 쥐과동물 불변 영역의 약 25 내지 35 뉴클레오티드의 부분을 포함하는 3' 프라이머를 이용하여 PCR 증폭했다. 쥐과동물 불변 영역은 랫 가변 영역의 약 25 내지 35 뉴클레오티드의 부분을 포함하는 5' 프라이머를 이용하여 PCR 증폭했다. 이어서, 2 개의 단편을 주형으로서 사용하고, 5' 랫 가변 영역(*Xba*I 포함) 및 쥐과동물 3' 불변 영역(*Sal*I 포함) 프라이머를 완전한 경쇄 또는 중쇄 생성에 이용했다. 이어서, 경쇄 및 중쇄 PCR 생성물은 *Xba*I 및 *Sal*I 로 절단하고, pDSRa19 에 클로닝했다. 전기영동을 이용하여 총 25 ㎍ 의 선형화 DNA(12.5 ㎍ pDC323B LC + 12.5 ㎍ pDC324 HC)를 CS-9 세포에 트랜스펙션시키고, DHFR-보충 배지에서 선별했다. 상기 CS-9 세포는 혈청-유리 배지에서 성장시키고 서브-클로닝시키는 표준 기술을 통해 CHO DUX B11(콜롬비아 대학의 Lawrence Chasin 으로부터 입수)로부터 유도된 것이다.

[0246] 1B7v2 mAb 의 효능을 시험하기 위해, 상기 mAb 를 이용하여 플레이트 공동자극 검정을 수행했다. 결과는 기타 항-쥐과동물 B7RP-1 mAb(도 10a)와 비교했다. 상기 논의된 바와 같이, 1B7는 원래의 하이브리도마-생산 mAb 이고 ; 2 가지 상이한 제제(1.33 및 7.4 로 표지함)를 시험했다. 5E1 및 11G10은 상기 기재된 융합에서 생성된 기타 항-mB7RP-1 모노클로날이다. 최종적으로, HK5.3은 시판되어 입수가능한 항-mB7RP-1 이다(ebiosciences # 16-5985-85).

[0247] 1B7v2 mAb은 본 검정에서 T 세포 활성화를 임의의 다른 mAb 와 동등하거나 또는 그 이상으로 차단하며, 이에 따라 추가 연구에 대해 대용 치료로서 선택되었다.

[0248] 마우스에서의 항원투여

[0249] 키홀 림페트 헤모시아닌(KLH)은 Pierce Biotechnology(Rockford, Illinois)에서 판매한다. 투여 용액 #1(1 mg/마우스 ALUM 에서 KLH 5 mg/kg)은 동일한 부의 2x ALUM(500 mg 의 ALUM 및 50 ml PBS(인산염완충식염수)) 및 2x KLH(2.0 ml dH20 (RNAse-Free)를 20 mg 의 동결건조 KLH 와 혼합한 다음, 1x PBS 로 20 mL 를 맞춰서 제조했다)를 사용해 제조했다. 투여 용액 #2(1 mg/마우스 ALUM 에서 KLH 1 mg/kg)은 4 부의 1x 인산염완충식염수와 혼합된 1 부의 2x KLH 로 제조했다.

[0250] 암컷 BALB/c 마우스는 1 mg/kg 의 KLH/alum 를 이용하여 전처리하고 제 21 일 째에 5 mg/kg KLH 만을 사용하여 복강내 주사로 도입해 재면역화시켰다. 마우스는 1B7v.2, 이소타입 대조군 항체(항-AGP3 PB) 또는 비히클(PBS)만으로, 최종 부피 200 ㎕ 에서 제 1 일에 출발하여(KLH/alum 으로 전처리 하루 전) 매 5 일마다 복강내 주사했다.

[0251] 항원-특이적 혈청 IgM(**도 10b**), IgG2a(**도 10c**) 및 IgG1(**도 10d**)의 분석을 위해 약 50 내지 100 ㎕ 의 혈청을 수득하기 위해 마우스에서 매 7 일마다 안와후방(retro-orbitally)으로 채혈했다(약 200 ㎕). 이소타입-대조군 및 비히클 처리 마우스는 모두 현저한 1 차 및 2 차 면역 반응을 보여줬다. IgM 반응은 처리에 의해 영향을 받지 않으나, 1B7v2 를 이용한 B7RP-1-ICOS 의 차단은 통계적으로 유의한 방식으로 1 차 및 2 차 IgG2a 및 IgG1

반응을 모두 감소시킨다.

[0252] IL-5는 B 세포 분화 및 기능을 유도하는 항원 자극에 대한 응답에서 T 세포에 의해 방출되는 싸이토카인이다. B7RP-1/ICOS 상호작용이 T-세포-의존성 B 세포 기능에 중요한 것으로 여겨지기 때문에, 혈청 IL-5 수준 측정은 B7RP-1/ICOS 축의 저지가 T 세포 기능에 실제로 영향을 주는지 여부를 결정하기 위해 이용했다. 예상대로, B7RP-1 의 차단은 또한 항원 유도성 혈청 IL-5 수준을 저해했다. 혈청을 개요한 항원투여 실험에서 마우스로부터 항원투여 제 21 일째에 24 시간에 걸쳐 수합하고, 혈청 IL-5 수준은 ELISA 로 결정했다. **도 11** 에 나타낸 바와 같이, 상승된 IL-5 수준은 시도 후 9 시간이 되자마자 시험 마우스에서 검출했고 ; 수준은 48 시간에 이르자 감소하기 시작했으며, 72 시간에 이르자 기저선으로 되돌아갔다. 1B7v2 mAb 로 마우스를 처리하는 것은 24-시간 시점에서 IL-5 수준의 통계적으로 유의한 감소를 유도한다.

[0253] [실시예 11]

[0254] **사이노몰구스 원숭이 B7RP-1 에 대한 결합**

[0255] 항-hB7RP-1 mAbs 가 또한 사이노몰구스 원숭이 B7RP-1 에 결합하는지 여부를 결정하기 위해, 실험을 포함하는 유세포분석을 사이노몰구스 원숭이 및 인간으로부터 정제된 16H mAb 및 B 세포를 이용하여 수행했다. **도 12a** 에 나타낸 바와 같이, cyno B 세포에 대한 형광 표지된 16H 의 첨가는 염색을 유도하여, 16H 가 실제로 cyno B7RP-1 에 결합되어 있음을 시사한다(우측 패널). 예상대로, 16H는 또한 인간 B 세포를 염색했다(좌측 패널). 추가로, 16H, 16Hg 및 5D는 cyno T 세포, cyno B7RP-1-Fc 및 항-CD3 mAb 을 이용하는 플레이트 공동자극 검정에서 시험했다. **도 12b** 에 나타낸 바와 같이, 세 mAb는 모두 cyno B7RP-1-의존성 cyno T 세포 활성화를 저해했으며, 이는 mAb 가 cyno ICOS-B7RP-1 상호작용을 기능적으로 차단한다는 것을 시사한다.

[0256] [실시예 12]

[0257] **항-B7RP-1 항체의 투여 이후 사이노몰구스 원숭이에서의 T-세포 의존**성 항원 반응

[0258] 사이노몰구스 원숭이 연구는 2 가지의 항-B7RP-1 모노클로날 항체, 16H 및 5D 를 이용하여 수행하여, 상기 항체가 항원-특이적 항체의 혈청 수준으로 결정되는 바와 같은 T-세포 의존성 B 세포 항원 반응을 저해하는 능력을 평가했다. 간략하게, 항-키홀 림페트 헤모시아닌(KLH) 및 항-파상풍 톡소이드 항체 반응은 사이노몰구스 원숭이에서의 B7RP-1 항체의 존재 하에 항원투여 후 시험했다.

[0259] 시험 물질 1은 16H 이고, 시험 물질 2는 5D 였다. 대조군 물체는 B7RP-1 항체에 대한 비히클이었다(0.01 나트륨 아세테이트, pH 5.0, 5 % 소르비톨, 0.004 % Tween 20). 키홀 림페트 헤모시아닌(KLH)은 Pierce Biotechnology(Rockford, Illinois)에서 판매한다.

[0260] KLH는 멸균수로 재건하여 제조되어 10 mg/mL 원액 용액을 제공했다. 원액 용액은 멸균수를 이용하여 희석해 1 mg/mL 투여 용액을 제공했다. 상기 실험에 이용한 파상풍 톡소이드는 Intervet™ Inc. (Milsboro, Delaware)에서 판매하는 Super-Tet® Tetanous Toxoid w/Havlogen® 였다. 상기 실험을 위한 투여량 수준은 75 IU 였다(150 IU/mL 의 0.5 mL).

[0261] 표 6은 28 마리의 사이노몰구스 원숭이의 처리군 분포를 보여준다.

표 6

[0262]

그룹 번호	수컷/암컷의 수	시험 물질	투여 경로	투여 농도 (mg/kg)	투여 부피 (mL/kg)	투여 용액 농도 (mg/mL)
1	2/2	대조군	IV	0	1	0
2	2/2	B7RP-1 5D	IV	0.1	1	0.1
3	2/2	B7RP-1 5D	IV	1.0	1	1.0
4	2/2	B7RP-1 5D	IV	8.0	1	10.0
5	2/2	B7RP-1 16H	IV	0.1	1	0.1
6	2/2	B7RP-1 16H	IV	1.0	1	1.0
7	2/2	B7RP-1 16H	IV	8.0	1	10.0

[0263] 시험 물질 투여량을 제 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43 및 50 일째에 모든 동물에게 정맥내 주사를 통해 투여했다. 군 1 내지 4 에서 검시가 예정된 동물들(1 마리/성별/군)은 제 57 일째에 추가적 투여량을 수용했다. 면역 반

응의 평가는 KLH 및 파상풍 톡소이드 항원을 이용한 면역화를 통해 모든 동물에서 수행되었으며, 이어서 항원-특이적 면역글로불린(IgM 및 IgG)에 대한 혈액 시료채취를 후속했다.

[0264] 역가는 KLH 및 파상풍 항원 두가지 모두의 1 차적인 투여 후 존재했다. KLH 에 대해, 1차적인 역가는 IgM 및 IgG 모두에 대해 0 내지 900 의 범위였다. 1차적인 KLH 항원은 시험 물질 투여 전에 투여했고, B7RP-1 항체의 효과가 전혀 없다고 평가되었다. 파상풍 톡소이드에 대해, 1차적인 역가는 IgM 에 대해 0 내지 50 의 범위이며, IgG 에 대해서는 0 내지 4050 의 범위이다. B7RP-1 항체 군들 및 대조군 사이에는 파상풍 톡소이드에 대한 1 차적인 반응에서 차이가 없었다.

[0265] 예상대로, IgG 에 대한 역가는, KLH 및 파상풍 항원 모두의 2차적인 투여 후, 1 차 역가에 비해 증가했다. KLH 에 대해, 2차 역가는 IgM 에 대해서는 0 내지 300 의 범위이고, IgG 에 대해서는 0 내지 8100 의 범위였다. 그러나, B7RP-1 항체의 투여에 귀착되는 KLH 2 차 반응의 저해의 증거는 없었다.

[0266] 파상풍 톡소이드에 대해서, 2 차 역가는 IgM 에 대해서는 50 미만이었고, IgG 에 대해서는 1350 내지 36450 였다. 개별 동물 및 군 평균값의 결과는 제 42 일째의 파상풍 톡소이드를 이용한 2 차 항원투여 후에 제 53 일 및 제 57 일째에 대해 **도 13a**(16H 항체) 및 **도 13b**(5D 항체)에 나타냈다.

[0267] 제 53 일째에, 정점 반응에 도달한 동물의 개체수는, 대조군 동물에서 2/4 인 것과 비교하여, 0.1, 1 및 8 mg/kg 투여 수준의 16H 에 대해서는 각각 3/4, 1/4 및 1/4 였고, 5D 의 0.1, 1 및 8 mg/kg 투여 수준에 대해서는 각각 1/4, 1/4 및 1/4 였다. 이에 따라, 일반적으로, 제 53 일째에 높은 역가에 도달한 동물의 개체수는 B7RP-1 항체-처리군에서는 감소했다. 제 57 일째에, 역가는 대조군 동물에서 유지되었으며, B7RP-1 항체-처리 동물들의 몇몇에서는 역가가 제 53 일째 값보다 감소했다. 제 57 일째에 높은 역가를 가진 동물의 개체수는, 대조군 동물에서 2/4 인 것과 비교하여, 0.1, 1 및 8 mg/kg 투여량 수준의 16H 에서는 각각 0/4, 0/4 및 1/4 였고, 0.1, 1 및 8 mg/kg 투여량 수준의 5D 에서는 각각 0/4, 0/4, 및 0/4 였다.

[0268] 상기 결과들은 2 가지의 B7RP-1 항체 16H 및 5D 가 사이노몰구스 원숭이에서 파상풍 톡소이드-특이적 항체의 혈청 수준으로 측정한 T-세포 의존성 B 세포 항원 반응을 저해한다는 것을 증명했다. 추가로, B7RP-1 항체의 존재성은 2 차 항원투여 후 영향을 검출하기 위한 1 차 반응 동안 B7RP-1-ICOS 상호작용의 차단에 중요하다.

[0269] 상기 결과 및 실시예 10 의 결과는 대용 치료 및 치료 후보자 모두 쥐과동물 및 원숭이 모델 시스템에서 T 및 B 세포 의존성 면역 반응을 차단한다는 것을 증명하여, 상기 보조자극 축을 차단하는 것이 B-세포 매개 질환, 예컨대 전신성 홍반성 루푸스(SLE), 천식 및 류마티스성 관절염(RA)의 치료에서 효능적일 수 있음을 시사한다.

[0270] 상기 개시는 본 발명의 특정의 특이적 구현예를 강조한 것이며, 이의 모든 변형 또는 대안적 동등물이 첨부되는 청구의 범위에 제시되는 본 발명의 진의 및 범위에는 포함된다는 것이 이해되어야만 한다.

도면

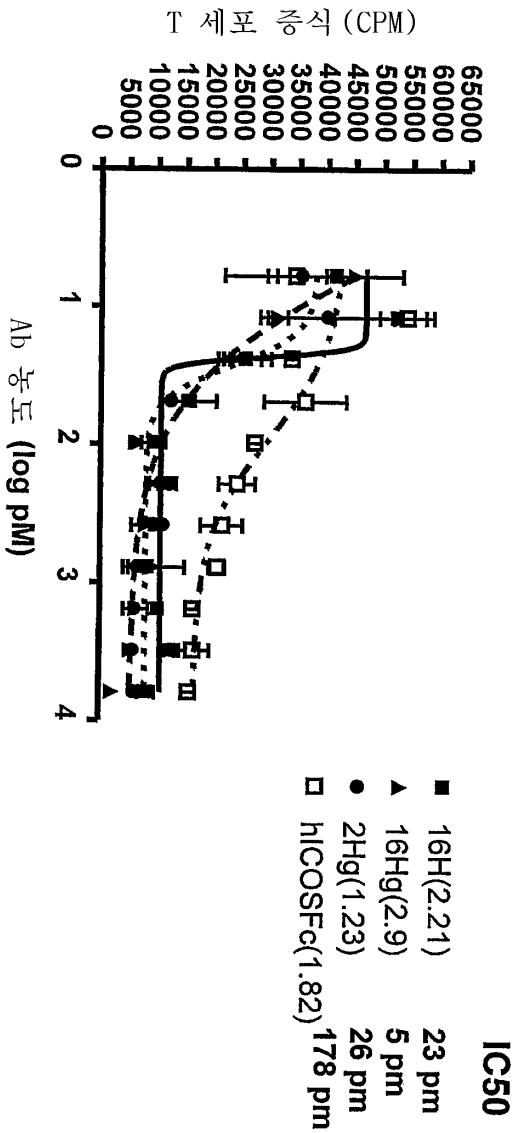
도면1a

```
16H-VH-G.L.   (1)  EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVAY
    16H.VH    (1)  EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAGSGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVAY

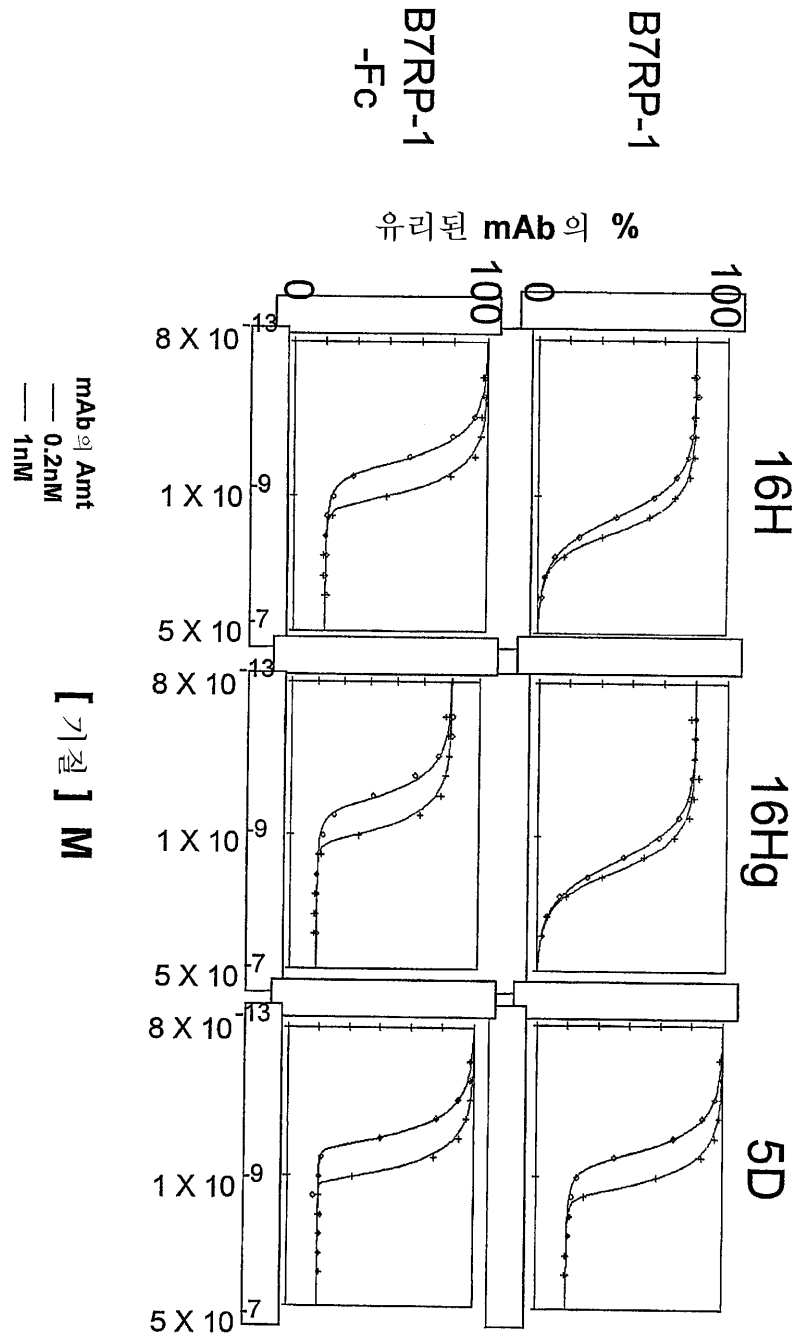
16H-VH-G.L.   (51) IKQDGNEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG
    16H.VH    (51) IKQDGNEKYYVDSVKGRFTISRDNAKKSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREG

16H-VH-G.L.(101) ILWFGDLPTFWGQGTLVTVSS
    16H.VH(101)  ILWFGDLPTFWGQGILVTVSS
```

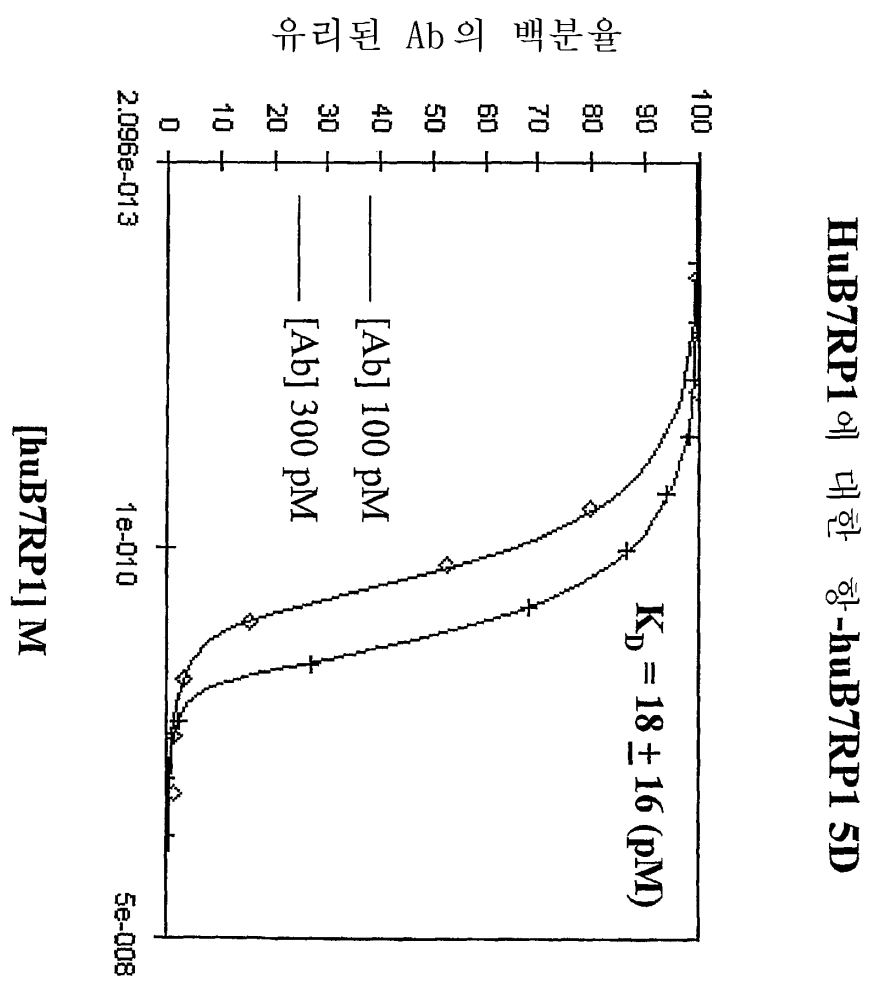
도면1b


T 세포 증식(CPM)
65000
60000
55000
50000
45000
40000
35000
30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
0
1
2
3
4
Ab 농도 (log pM)
IC50
16H(2.21) 23 pm
16Hg(2.9) 5 pm
2Hg(1.23) 26 pm
hICOSFc(1.82) 178 pm

도면2

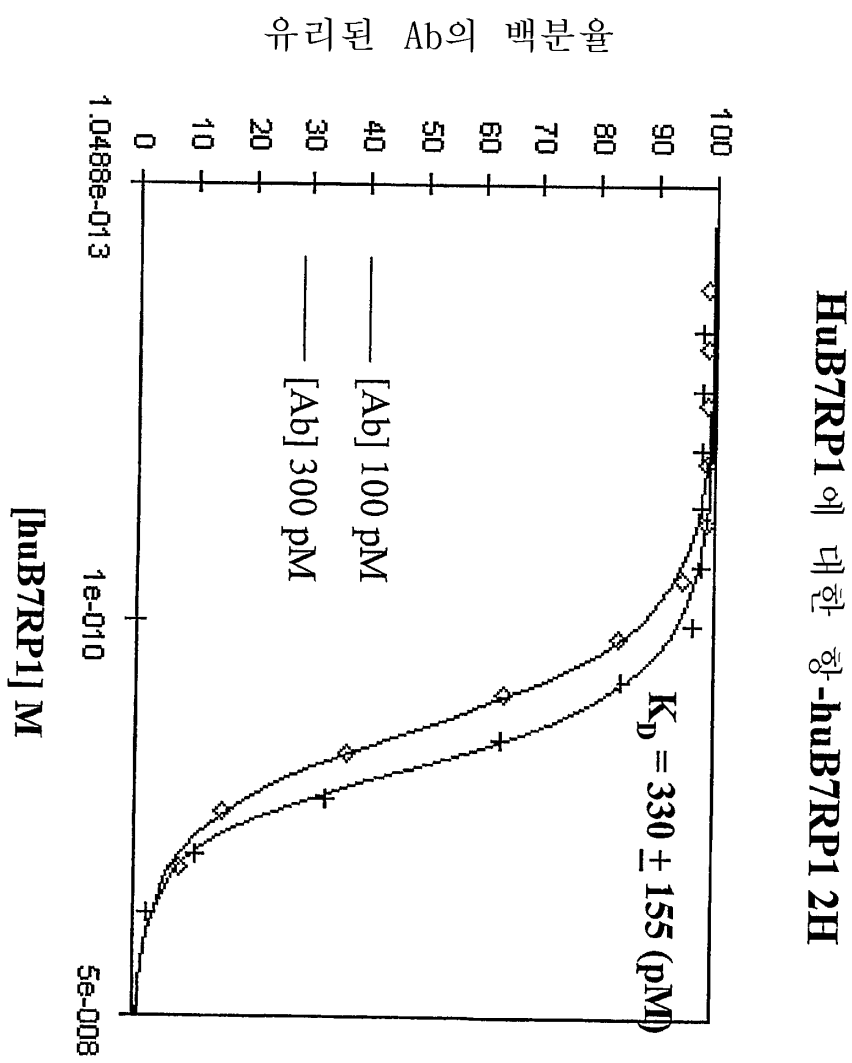

B7RP-1
-Fc
B7RP-1
유리된 mAb의 %
0
100
0
100
8 X 10-13
1 X 10-9
5 X 10-7
16H
16Hg
5D
mAb의 Amt
0.2nM
1nM
[기질] M

도면3

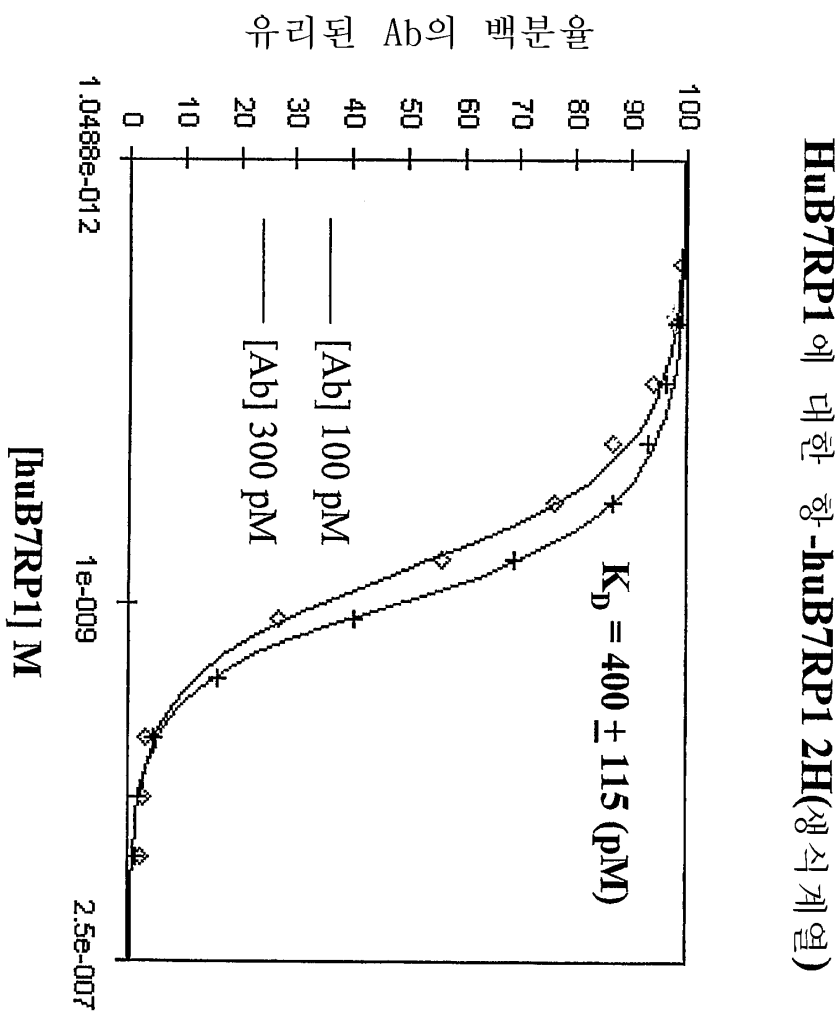


HuB7RP1에 대한 항-huB7RP1 5D

도면4

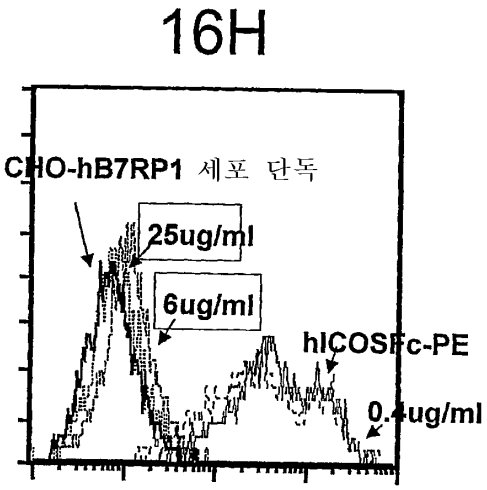

HuB7RP1 에 대한 항-huB7RP1 2H
유리된 Ab의 백분율
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
1.0488e-013
1e-010
5e-008
[huB7RP1] M
[Ab] 100 pM
[Ab] 300 pM
K_D = 330 ± 155 (pM)

도면5



HuB7RP1에 대한 항-**huB7RP1 2H**(생식계열)

도면6



도면7

서열분석된* 시료의 번호#	cDNA에서의 위치	염기 치환	동형접합체의 개수 #	이형접합체의 개수 #	대안 대립유전자 빈도	AA 치환	펩티드 서열에서의 위치
70	22	G→C	4	31	27.9%	L→V	8 (단일 펩티드)
70	31	G→T	6	48	42.9%	L→M	11 (단일 펩티드)
88	382	G→A	5	40	28.4%	V→I	128 (IgV-유사)
1.5	661	T→C	?	?	?	L→F	221 (IgC-유사)

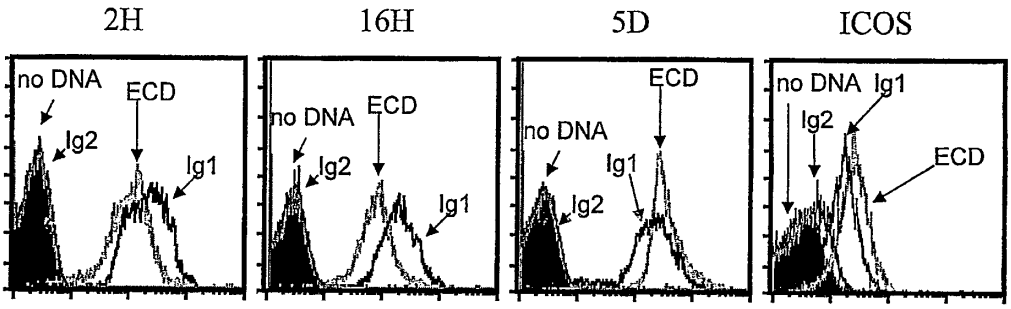
* 개체의 번호. 염색체의 수는 상기 양의 2배이다.

도면8

mAb	IC50
2H	6.6
4H	9.3
6H	11.2
8H	8.8
10H	11.1
15H	8.2
16H	6.3
18H	12.7
21H	8.7
25H	12.6
31H	10.0
32H	11.6
ICOS	9.5

mAb	IC50
33H	8.3
34H	14.4
38H	8.6
39H	12.6
41H	5.9
43H	8.0
44H	9.2
45H	10.5
2K	17.0
3K	10.0
4K	15.1
5K	18.9
ICOS	9.5

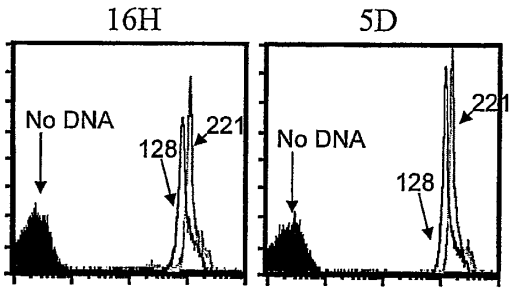
도면9a



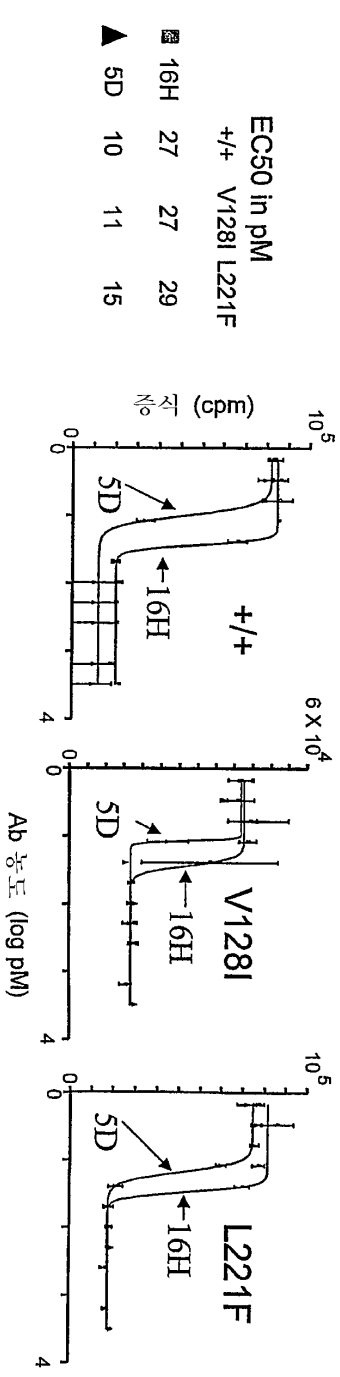
no DNA : DNA 없음

도면9b

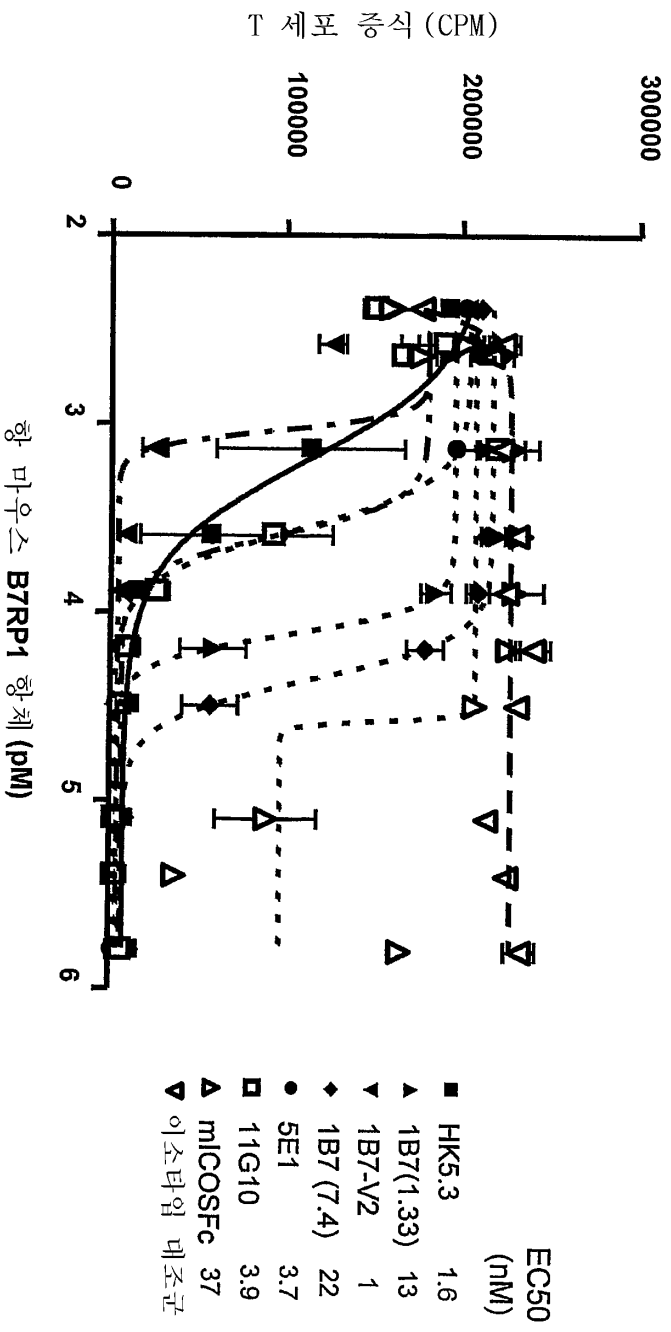
DNA 없는 대조군
huB7RP1SNP221
huB7RP1SNP128



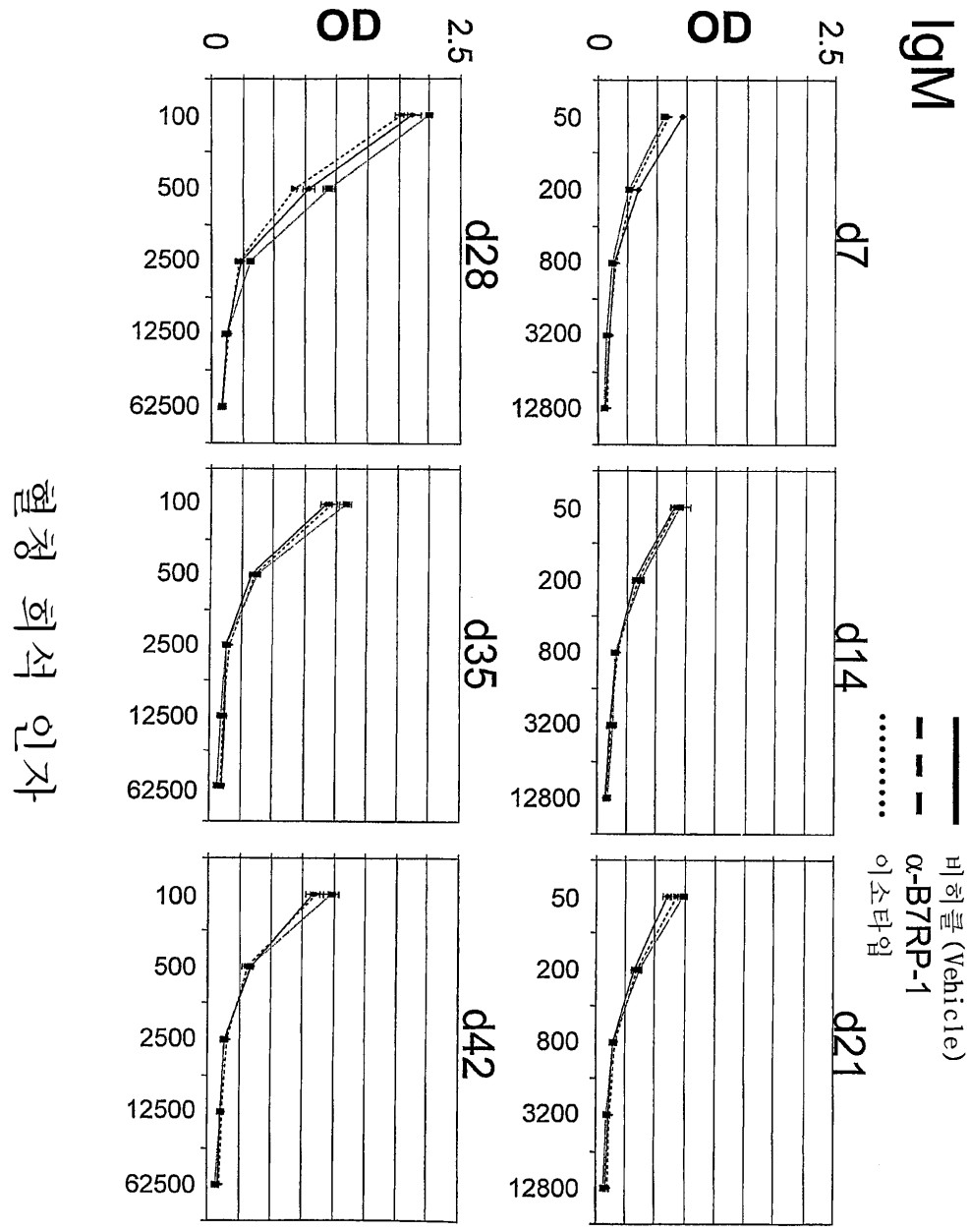
도면9c


EC50 in pM
+/+ V128I L221F
16H 27 27 29
5D 10 11 15
증식 (cpm)
Ab 농도 (log pM)
5D
16H
+/+
V128I
L221F

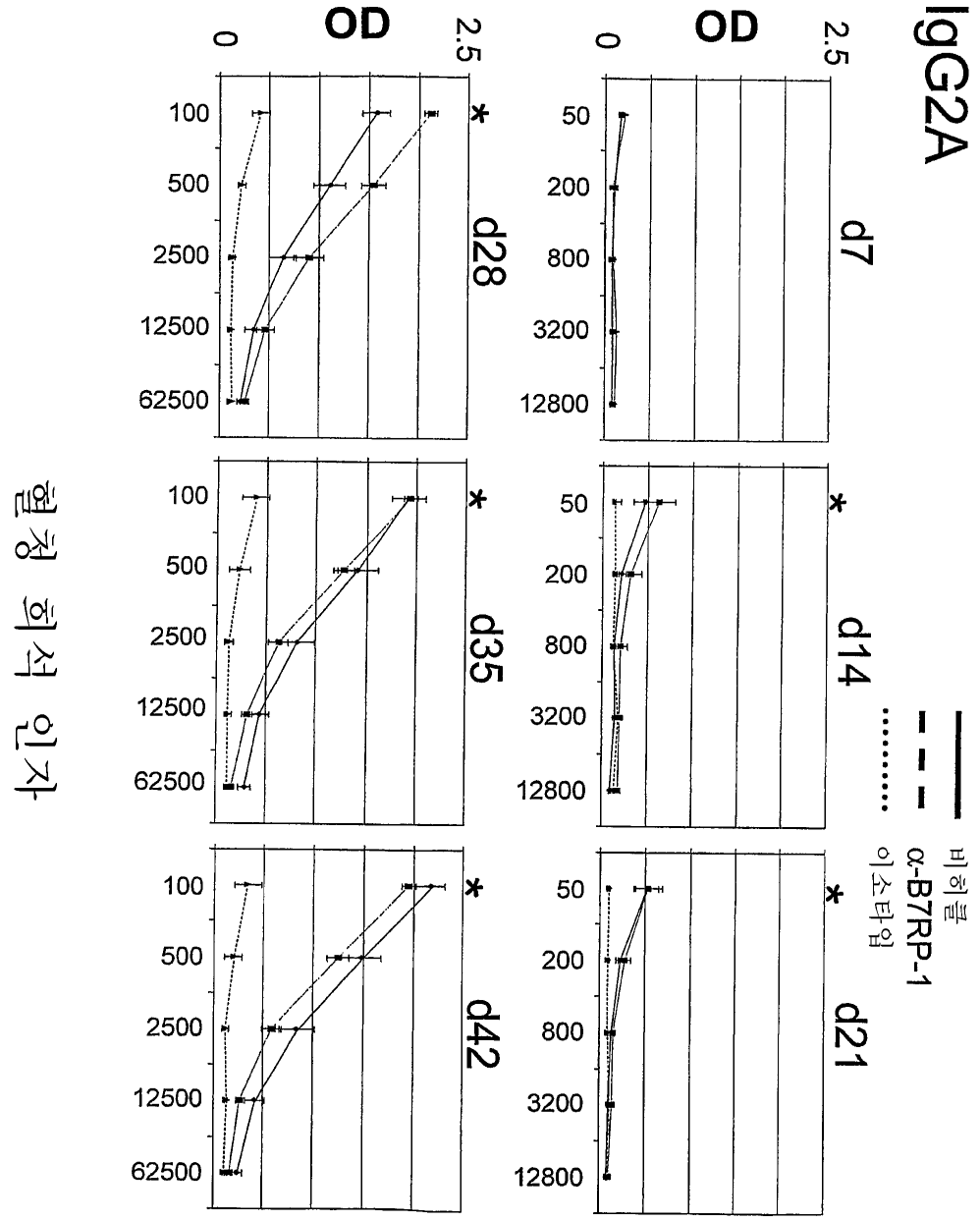
도면10a


T 세포 증식 (CPM)
0
100000
200000
300000
2
3
4
5
6
항 마우스 B7RP1 항체 (pM)
EC50 (nM)
HK5.3 1.6
1B7(1.33) 13
1B7-V2 1
1B7 (7.4) 22
5E1 3.7
11G10 3.9
mICOSFc 37
이소타입 대조군

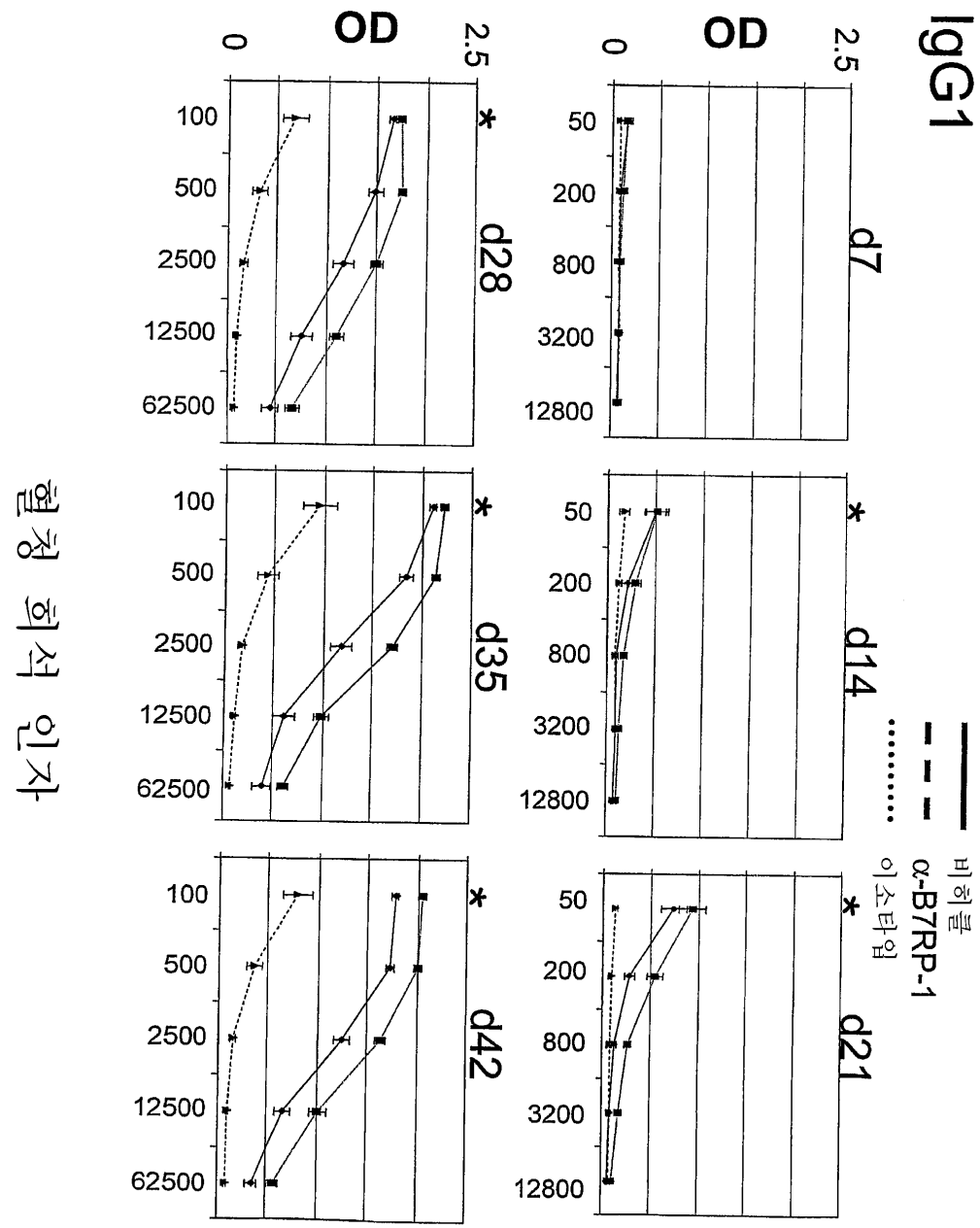
도면10b


IgM
OD
0
2.5
d7
d14
d21
d28
d35
d42
50
200
800
3200
12800
100
500
2500
12500
62500
비히클(Vehicle)
α-B7RP-1
이소타입
혈청 희석 인자

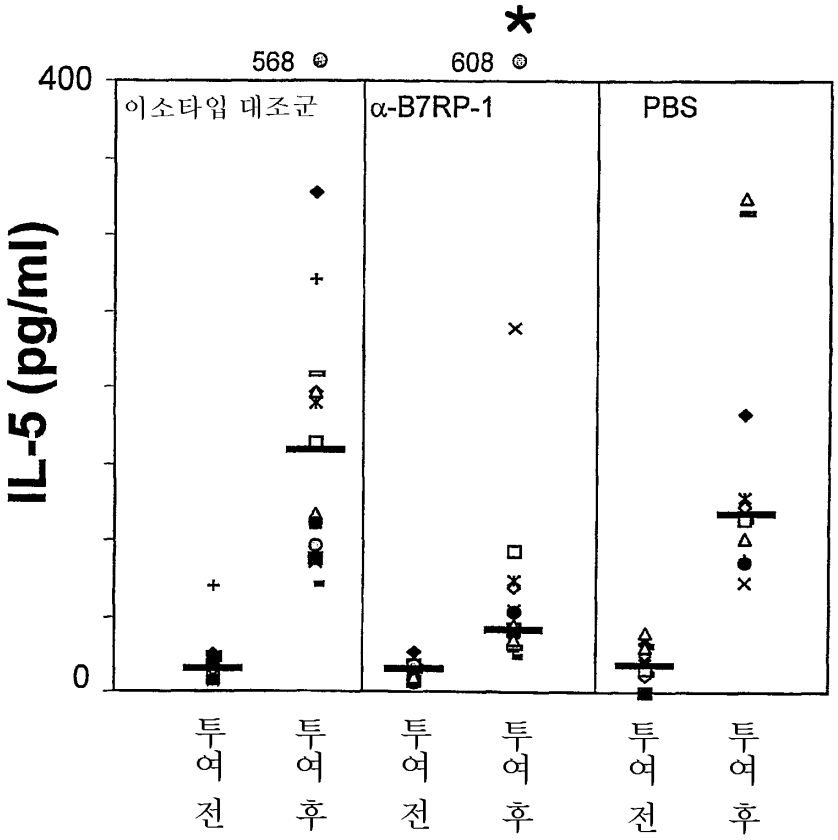
도면10c


IgG2A
OD
0
2.5
d7
d14
d21
d28
d35
d42
50
200
800
3200
12800
100
500
2500
12500
62500
*
비히클
α-B7RP-1
이소타입
혈청 희석 인자

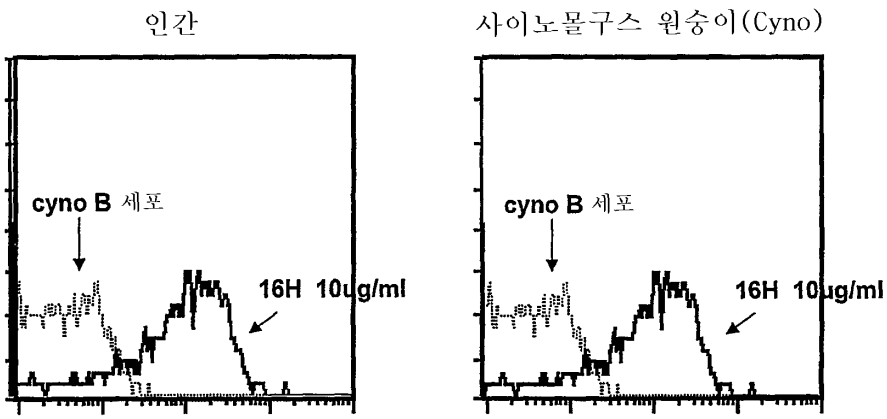
도면10d


IgG1
OD
0
2.5
d7
d14
d21
d28
d35
d42
50
200
800
3200
12800
100
500
2500
12500
62500
*
비히클
α-B7RP-1
이소타입
혈청 희석 인자

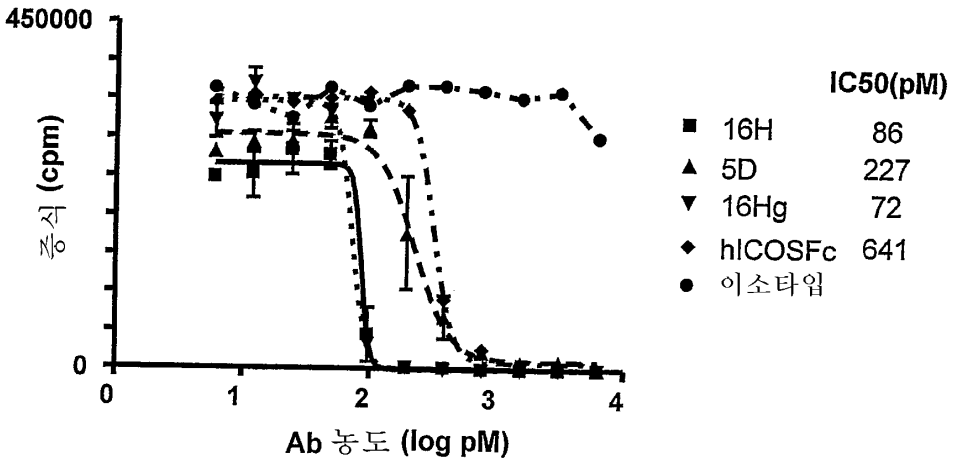
도면11


*
568
608
400
0
IL-5 (pg/ml)
이소타입 대조군
α-B7RP-1
PBS
투여전
투여후
투여전
투여후
투여전
투여후

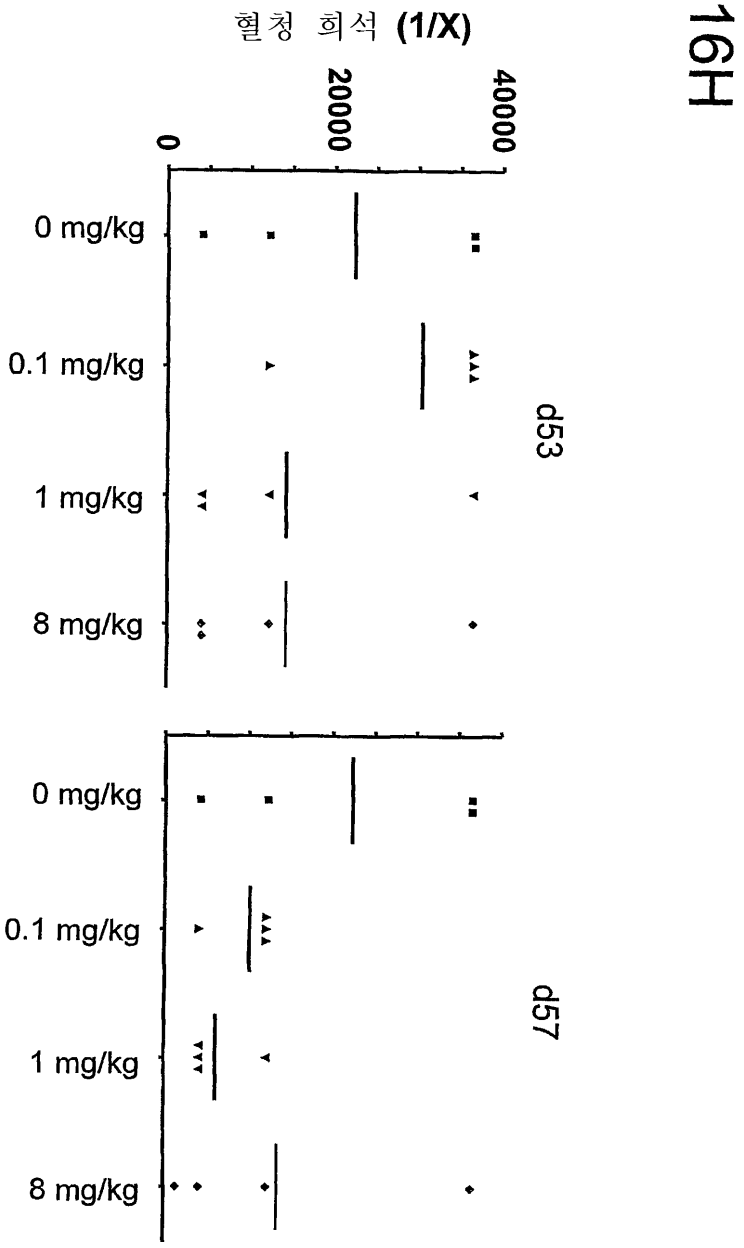
도면12a


인간
사이노몰구스 원숭이(Cyno)
cyno B 세포
16H 10ug/ml
cyno B 세포
16H 10ug/ml

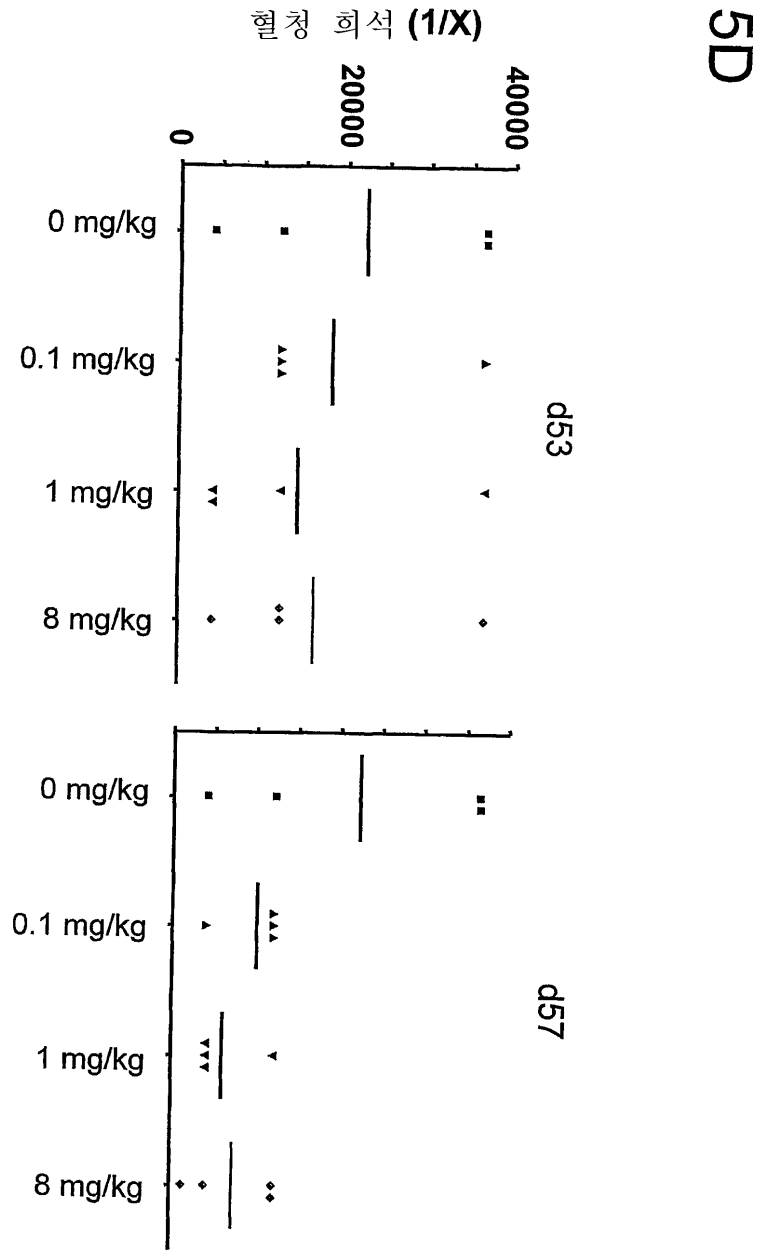
도면12b


450000
0
증식 (cpm)
0
1
2
3
4
Ab 농도 (log pM)
IC50(pM)
16H 86
5D 227
16Hg 72
hICOSFc 641
이소타입

도면13a


혈청 희석 (1/X)
16H
0
20000
40000
0 mg/kg
0.1 mg/kg
1 mg/kg
8 mg/kg
d53
0 mg/kg
0.1 mg/kg
1 mg/kg
8 mg/kg
d57

도면13b



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Siu, Jerry

Shen, David

Yoshinaga, Steve

Huang, Haichun

<120> Human anti-B7RP1 Neutralizing Antibodies

<130> 04-833

<160> 76

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

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

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

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

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

<210> 2

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 3

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 4

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

1 5 10 15

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

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

<210> 5
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 5
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 6

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

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

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

<210> 7

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 7

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser 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 Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 8
<211> 121
<212> PRT

<213> Homo sapiens
<400> 8
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

<210> 9
<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Lys Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Glu 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 Phe Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Asp Leu Asn Ile Met Val Trp Gly Ile Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 10

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

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

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

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

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

50 55 60

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

<210> 11
<211> 121
<212> PRT

<213> Homo sapiens
<400> 11
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

<210> 12
<211> 120

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

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

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

<210> 13

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

50 55 60

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

<210> 14
<211> 118
<212> PRT

<213> Homo sapiens
<400> 14
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gly Leu Val His Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Gly Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ala Ile Gly Ala Gly Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

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

<210> 15
<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400

> 15

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 17

Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 18

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 18

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 19

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Trp Thr

1 5

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

Thr Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 23

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ala Leu Thr

1 5 10

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Gln Gln Tyr Asn Thr Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Ser Tyr Trp Met Ser

1 5

<210> 28

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 29

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

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

1 5 10

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Ser Tyr Gly Met His

1 5

<210> 31

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

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

1 5 10 15

Gly

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 32

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

1 5 10

<210> 33

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 34

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Asp Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Ile Pro Thr Tyr

1 5 10

<210> 35

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 35

Ser Tyr Ala Met His

1 5

<210> 36

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 36

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

1 5 10 15

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 37

Gly Val Pro Leu Leu Trp Phe Gly Glu Phe Tyr

1 5 10

<210> 38

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 38

Asp Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Tyr

1 5 10

<210> 39

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

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

1 5 10 15

<210> 40

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

Val Val Val Val Val Gly Phe Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 41

<211> 326

<212> PRT

<213

> Homo sapiens

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 42

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 43

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 44

<211> 447

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

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

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

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

Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Asn Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

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

Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
165 170 175

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

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300

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

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

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 45

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

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

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

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile
35 40 45

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 46

<211> 447

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
180 185 190
Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
210 215 220
Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335
Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser

385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 47

<211> 451

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Glu 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 Phe Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
210 215 220
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
225 230 235 240
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445

Pro Gly Lys
450

<210> 48
<211> 214
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 48

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 49

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 49

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ala Ser Thr Lys Gly

100 105 110

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

115 120 125

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

130 135 140

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

145 150 155 160

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

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

275 280 285
Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
290 295 300
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
305 310 315 320
Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
325 330 335
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

340 345 350
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
355 360 365
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu
370 375 380
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
385 390 395 400

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

405 410 415

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

420 425 430

Lys

<210> 50

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

<210> 51

<211> 447

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<

400> 51

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

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

Ala Arg Asp Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Ile Pro Thr Tyr Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
130 135 140

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

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys
210 215 220
Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 52

<211> 444

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Val Val Val Val Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

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

245 250 255
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
260 265 270
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
275 280 285
Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr
290 295 300
Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

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

370 375 380
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser
385 390 395 400
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln

405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His

420 425 430

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

435 440

<210> 53

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

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

<210> 54
<211> 447
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 54

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

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

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

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys

210 215 220

Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

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

340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

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

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 55

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 56

<211> 446

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Ser Gly Val Pro Leu Leu Trp Phe Gly Glu Phe Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val

210 215 220

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

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

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

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

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 57

<211> 450

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Ser Gly Val Pro Leu Leu Trp Phe Gly Glu Phe Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 58
<211> 215
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 58

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ala
85 90 95
Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala
100 105 110
Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
115 120 125
Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
130 135 140
Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 59

<211> 24

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(23)

<223> n is a, c, g, or t

<400> 59

ggccggatag gcctccannn nnnt 24

<210> 60

<211> 21

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 60

ggggtcaggc tggaactgag g 21

<210> 61

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 61

tgaggacgct gaccacacg 19

<210> 62

<211> 54

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 62

cagcagaagc ttctagacca ccatggacat gagggtcctc gctcagctcc tggg 54

<210> 63

<211> 34

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 63

cttgtcgact caacactctc ccctgttgaa gctc 34

<210> 64

<211> 43

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 64

acaacaaagc ttctagacca ccatggagtt ggggctgaac tgg 43

<210> 65

<211> 32

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 65

gtggaggcac tagagacggt gaccaggatt cc 32

<210> 66

<211> 228

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu
1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val
20 25 30

Tyr Val Tyr Trp Gln Thr Ser Glu Ser Lys Thr Val Val Thr Tyr His
35 40 45

Ile Pro Gln Asn Ser Ser Leu Glu Asn Val Asp Ser Arg Tyr Arg Asn

50 55 60

Arg Ala Leu Met Ser Pro Ala Gly Met Leu Arg Gly Asp Phe Ser Leu

65 70 75 80

Arg Leu Phe Asn Val Thr Pro Gln Asp Glu Gln Lys Phe His Cys Leu

85 90 95

Val Leu Ser Gln Ser Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val

100 105 110

Thr Leu His Val Ala Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro

115 120 125

His Ser Pro Ser Gln Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn

130 135 140

Gly Tyr Pro Arg Pro Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser

145 150 155 160

Leu Leu Asp Gln Ala Leu Gln Asn Asp Thr Val Phe Leu Asn Met Arg

165 170 175

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

180 185 190

Val Asn Ile Gly Cys Cys Ile Glu Asn Val Leu Leu Gln Gln Asn Leu

195 200 205

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

210 215 220

Thr Glu Asn Pro

225

<210> 67

<211> 139

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Asp Thr Gln Glu Lys Glu Val Arg Ala Met Val Gly Ser Asp Val Glu

1 5 10 15

Leu Ser Cys Ala Cys Pro Glu Gly Ser Arg Phe Asp Leu Asn Asp Val

20 25 30

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

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

<210> 68
<211> 127

<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 68
Leu Gly Phe Gln Glu Val Leu Ser Val Glu Val Thr Leu His Val Ala
1 5 10 15
Ala Asn Phe Ser Val Pro Val Val Ser Ala Pro His Ser Pro Ser Gln
20 25 30
Asp Glu Leu Thr Phe Thr Cys Thr Ser Ile Asn Gly Tyr Pro Arg Pro
35 40 45
Asn Val Tyr Trp Ile Asn Lys Thr Asp Asn Ser Leu Leu Asp Gln Ala
50 55 60

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

100 105 110

Thr Gly Asn Asp Ile Gly Glu Arg Asp Lys Ile Thr Glu Asn Pro

115 120 125

<210> 69

<211> 39

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 69

cgacggagca cgaggacacg acaggacgaa ggagagaaa 39

<210> 70

<211> 451

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Ser 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 Gly Ile Leu Trp Phe Gly Asp Leu Pro Thr Phe Trp Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160
Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala

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

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

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

355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 71

<211> 451

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

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

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

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 72

<211> 447

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Glu 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 Phe Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

130 135 140

```
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val

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

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

        275                 280                 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
    290                 295                 300
Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305                 310                 315                 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
                325                 330                 335
Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

            340                 345                 350
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
        355                 360                 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
    370                 375                 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
```

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 73

<211> 451

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
290 295 300
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
305 310 315 320
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
325 330 335

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
340 345 350
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

<210> 74
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 74
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

385 390 395 400

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

405 410 415

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 75

<211> 448

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Val Val Val Val Gly Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

```
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
    130                 135                 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145                 150                 155                 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
                165                 170                 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
            180                 185                 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
        195                 200                 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
    210                 215                 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225                 230                 235                 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
                245                 250                 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
            260                 265                 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
        275                 280                 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
    290                 295                 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305                 310                 315                 320

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

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 76
<211> 451
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 76
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ala Tyr Ile Lys Gln Asp Gly Ser Glu Lys Tyr Tyr Val Asp Ser Val

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

115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His

195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys

210 215 220

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

435 440 445
Pro Gly Lys
450