



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년11월26일
(11) 등록번호 10-2332303
(24) 등록일자 2021년11월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/00 (2006.01) C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/32 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/00 (2013.01)
C07K 16/2887 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2015-7036704
- (22) 출원일자(국제) 2014년05월30일
심사청구일자 2019년05월22일
- (85) 번역문제출일자 2015년12월28일
- (65) 공개번호 10-2016-0023721
- (43) 공개일자 2016년03월03일
- (86) 국제출원번호 PCT/CA2014/050507
- (87) 국제공개번호 WO 2014/190441
국제공개일자 2014년12월04일
- (30) 우선권주장
61/829,973 2013년05월31일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌
WO2013002362 A1*
WO2013063702 A1
WO2012058768 A1
US20080131435 A1
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

- (73) 특허권자
자임워크스 인코포레이티드
캐나다 브리티시 콜롬비아 브이6에이치 3브이9 밴
쿠버 웨스트 8번 애비뉴 540-1385
- (72) 발명자
에스코바-카브레라, 에릭
캐나다 브이5에이 4비3 브리티쉬 콜롬비아 버나비
우드릿지 플레이스 8562
- (74) 대리인
양영준, 이상영

전체 청구항 수 : 총 36 항

심사관 : 정지혜

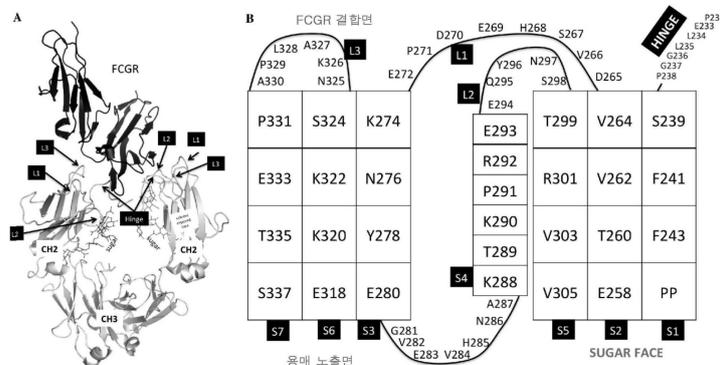
(54) 발명의 명칭 감소되거나 침묵화된 효과기 기능을 갖는 이종다량체

(57) 요약

감소되거나 침묵화된 효과기 기능을 갖는 이종다량체 작제물이 본원에서 제공된다. 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체 작제물이 제공되며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 하부 힌지 영역을 포함하고, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 적어도 하나의 아

(뒷면에 계속)

대표도



미노산 변형을 포함하고, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다. 또한 그와 같은 이종다량체 작제물의 제조 방법, 및 효과기 기능을 감소시킴으로써 항체 작제물에 대한 ADCC를 감소시키는 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류

C07K 16/32 (2013.01)

C07K 2317/526 (2013.01)

C07K 2317/71 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

C07K 2317/94 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체에 있어서,

IgG Fc 작제물은 인간 IgG1, IgG3 또는 IgG4 Fc 작제물이고, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 인간 IgG1, IgG3 또는 IgG4 힌지 및 Fc 영역의 아미노산 서열을 가지며, 변형된 하부 힌지 영역을 포함하고,

a. 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 위치 L234에서의 아미노산 변형 및 위치 L235에서의 아미노산 변형을 포함하고, 아미노산 변형 중 적어도 하나는 생리적 pH 조건 근처에서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역에서의 순 양전하를 증가시키고,

b. 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 위치 L234 및/또는 위치 L235에서의 아미노산 변형을 포함하고, 적어도 하나의 아미노산 변형은 제1 Fc 폴리펩타이드의 아미노산 변형과 상이하고,

c. IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 Fc γ RIa, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb 및 Fc γ RIIIa 수용체에 대해 감소된 결합을 나타내며,

아미노산의 넘버링은 Kabat에서의 EU 인덱스에 따르는 것인 이종다량체.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역에서의 적어도 하나의 아미노산 변형이 제2 Fc 폴리펩타이드에서의 음전하의 총 수를 증가시키거나 전하가 중성인 이종다량체.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역에서의 적어도 하나의 아미노산 변형과 조합된 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역에서의 아미노산 변형이 모 IgG Fc 작제물에 비해 IgG Fc 작제물의 전체 양전하를 증가시키는 것인 이종다량체.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 2 이상의 아미노산 변형을 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 5

청구항 1에 있어서, IgG Fc 작제물이 Fc γ RIIaH에 대해 10 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIaR에 대해 10 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIb에 대해 10 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIIaF에 대해 6 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIIaV에 대해 6 μ M 초과 K_D, 및 Fc γ RIa에 대해 6.5 nM 초과 K_D를 갖는 것인 이종다량체.

청구항 6

청구항 1에 있어서, IgG Fc 작제물이 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 감소된 효과기 기능을 매개하고, 여기서 효과기 기능은 ADCC, ADCP, CDC 또는 이들의 임의 조합인 이종다량체.

청구항 7

청구항 1에 있어서, IgG Fc 작제물이 추가로 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타내는 것인 이종다량체.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 위치 L234에서의 아미노산 변형 및 위치

L235에서의 아미노산 변형을 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 제2 Fc 폴리펩타이드의 위치 L234 및/또는 위치 L235에서의 아미노산 변형이 L234K, L234R, L234A, L234D, L234E, L235K, L235R, L235D, L235E 및 L235A로부터 선택되는 것인 이종다량체.

청구항 10

청구항 1에 있어서, 제1 Fc 폴리펩타이드 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나의 변형된 하부 힌지 영역이 E233A, E233D, E233K 및 E233R로부터 선택되는 위치 E233에서의 아미노산 변형을 추가로 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 11

청구항 1에 있어서, 제1 Fc 폴리펩타이드의 위치 L234에서의 아미노산 변형이 L234A, L234K 및 L234R로부터 선택되고, 제1 Fc 폴리펩타이드의 위치 L235에서의 아미노산 변형이 L235K, L235R 및 L235A로부터 선택되는 것인 이종다량체.

청구항 12

청구항 11에 있어서, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 L234K, L234R, L234A, L234D, L234E, L235K, L235R, L235D, L235E 및 L235A로부터 선택되는 위치 L234 및/또는 위치 L235에서의 아미노산 변형을 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 제1 Fc 폴리펩타이드 및/또는 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 E233A, E233D, E233K 및 E233R로부터 선택되는 위치 E233에서의 아미노산 변형을 추가로 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 14

청구항 1에 있어서, 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 L234K/L235K, E233A/L234R/L235R, E233K/L234R/L235R, E233K/L234A/L235K 및 E233A/L234K/L235A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산 변형을 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 15

청구항 1에 있어서, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 L234K/L235K, E233A/L234R/L235R, E233K/L234R/L235R, E233K/L234A/L235K, L234A/L235A, L234D/L235E, E233A/L234D/L235E 및 E233A/L234K/L235A로 이루어진 군으로부터 독립적으로 선택되는 아미노산 변형을 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 16

청구항 14에 있어서, 제1 Fc 폴리펩타이드 및/또는 제2 Fc 폴리펩타이드가 D265S, E269K, K322A, K322E, P329W 및 E333K로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 변형을 추가로 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 17

청구항 1에 있어서,

- a. 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 L234A/L235A를 포함하거나; 또는
- b. 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하거나; 또는
- c. 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 E233A/L234R/L235R을 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 E233A/L234D/L235E를 포함하거나; 또는
- d. 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R을 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하거나; 또는

- e. 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 E233K/L234A/L235K를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역이 아미노산 변형 E233A/L234K/L235A를 포함하거나; 또는
- f. 제1 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/D265S를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 L234D/L235E/D265S를 포함하거나; 또는
- g. 제1 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K를 포함하거나; 또는
- h. 제1 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/K322A를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 L234D/L235E/K322A를 포함하거나; 또는
- i. 제1 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/P329W를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 L234D/L235E/P329W를 포함하거나; 또는
- j. 제1 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322A를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322A를 포함하거나; 또는
- k. 제1 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 18

제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체에 있어서,

IgG Fc 작제물은 인간 IgG1, IgG3 또는 IgG4 Fc 작제물이고, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 인간 IgG1, IgG3 또는 IgG4 힌지 및 Fc 영역의 아미노산 서열을 갖고,

- a. 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E269Q/D270N을 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E269K/D270R을 포함하거나; 또는
- b. 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L235K/A327K를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드는 힌지 또는 하부 힌지 영역에서 변형을 포함하지 않으며;

아미노산의 넘버링은 Kabat에서의 EU 인덱스에 따르고,

IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 Fc γ RIa, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb 및 Fc γ RIIIa 수용체에 대해 감소된 결합을 나타내는 것인 이종다량체.

청구항 19

청구항 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, IgG Fc 작제물이 비당화 또는 탈글리코실화된 것인 이종다량체.

청구항 20

청구항 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, IgG Fc 작제물이 동종이량체 Fc 영역에 비해 이종이량체 Fc 영역의 형성을 촉진하는 아미노산 변형을 포함하는 변이체 CH3 영역을 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 21

청구항 20에 있어서,

- a. 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 T366L/N390R/K392M/T394W를 포함하고, 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 L351Y/S400E/F405A/Y407V를 포함하거나; 또는
- b. 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 L351Y/F405A/Y407V를 포함하고, 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 T366L/K392M/T394W를 포함하거나; 또는
- c. 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 L351Y/F405A/Y407V를 포함하고, 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 T366L/K392L/T394W를 포함하거나; 또는
- d. 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 T350V/L351Y/F405A/Y407V를 포함하고, 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 T350V/T366L/K392L/T394W를 포함하거나; 또는

e. 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 T350V/L351Y/F405A/Y407V를 포함하고, 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 T350V/T366L/K392M/T394W를 포함하거나; 또는

f. 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 T350V/L351Y/S400E/F405A/Y407V를 포함하고, 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 T350V/T366L/N390R/K392M/T394W를 포함하는 것인 이종다량체.

청구항 22

청구항 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 이종다량체가 IgG Fc 작제물에 융합된 적어도 하나의 항원-결합 작제물을 추가로 포함하고, 여기서 적어도 하나의 항원-결합 작제물은 Fab 단편, scFv, sdAb, 항원 결합 펩타이드, Fc 융합 단백질, 또는 항원에 결합할 수 있는 이들의 단편인 이종다량체.

청구항 23

청구항 22에 있어서, 하나 또는 둘의 항원-결합 작제물을 포함하는 이종다량체.

청구항 24

청구항 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, 각각의 Fc 폴리펩타이드가 IgG1 힌지 및 Fc 영역의 아미노산 서열을 갖는 것인 이종다량체.

청구항 25

청구항 24에 있어서, 이종다량체가 IgG Fc 작제물에 융합된 적어도 하나의 항원-결합 작제물을 추가로 포함하고, 여기서 적어도 하나의 항원-결합 작제물은 Fab 단편, scFv, sdAb, 항원 결합 펩타이드, Fc 융합 단백질, 또는 항원에 결합할 수 있는 이들의 단편인 이종다량체.

청구항 26

청구항 1 내지 18 중 어느 하나에 있어서, IgG Fc 작제물이 하나 이상의 독성 약물 분자 또는 하나 이상의 이중성 폴리펩타이드에 연결되는 것인 이종다량체.

청구항 27

청구항 1 내지 18 중 어느 하나에 따른 이종다량체의 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드.

청구항 28

청구항 22에 따른 이종다량체의 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드.

청구항 29

청구항 28에 따른 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주 세포.

청구항 30

(a) 청구항 1 내지 18 중 어느 하나에 따른 이종다량체의 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 인코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 (b) 숙주 세포 배양물로부터 이종다량체를 회수하는 단계를 포함하는, 청구항 1 내지 18 중 어느 하나에 따른 이종다량체의 제조 방법.

청구항 31

청구항 30에 있어서, 전하-기반 정제 방법을 이용하여 이종다량체를 분리하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 32

(a) 청구항 22에 따른 이종다량체의 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 인코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 (b) 숙주 세포 배양물로부터 이종다량체를 회수하는 단계를 포함하는, 청구항 22에 따른 이종다량체의 제조 방법.

청구항 33

청구항 32에 있어서, 전하-기반 정제 방법을 이용하여 이종다량체를 단리하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 34

청구항 22에 따른 이종다량체 및 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 신경적 장애, 알츠하이머병, 신경병성 통증, 피부과 질환, 대사성 질환, 골관절염, 심혈관 장애, 심근경색증, 울혈성 심장기능상실, 뇌졸중, 허혈성 뇌졸중, 출혈, 류마티스성 질환, 건선 또는 경피증을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 35

청구항 22에 따른 이종다량체 및 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함하는, 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 36

제1 Fc 폴리펩타이드 및 제2 Fc 폴리펩타이드의 하부 힌지 영역을 변형시키는 것을 포함하는, 제1 Fc 폴리펩타이드 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 항체 작제물의 효과기 기능을 감소시키는 방법에 있어서,

항체 작제물은 인간 IgG1, IgG3 또는 IgG4 항체 작제물이고, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 인간 IgG1, IgG3 또는 IgG4 힌지 및 Fc 영역의 아미노산 서열을 갖고,

제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 위치 L234에서의 아미노산 변형 및 위치 L235에서의 아미노산 변형을 포함하고, 아미노산 변형 중 적어도 하나는 생리적 pH 조건 근처에서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역에서의 순 양전하를 증가시키고,

제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 위치 L234 및/또는 위치 L235에서의 아미노산 변형을 포함하고, 적어도 하나의 아미노산 변형은 제1 Fc 폴리펩타이드의 아미노산 변형과 상이하고,

IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 Fc γ RIa, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb 및 Fc γ RIIIa 수용체에 대해 감소된 결합을 나타내고,

아미노산의 넘버링은 Kabat에서의 EU 인덱스에 따르는 것인 방법.

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

교차-참조

[0002]

본원은 그 출원이 모든 목적을 위해 본원에 그 전체가 참고로 편입된, 2013. 5. 31.에 출원된 미국 가출원 번호 61/829,973의 이익을 청구한다.

[0003]

도입

[0004]

2.1 발명의 분야

[0005]

본 발명은 치료적 항체 설계 분야, 구체적으로 Fc 영역에 의해 매개된 효과기 기능을 침묵화하기 위해 변형된 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드에 관한 것이다.

[0006]

2.2 발명의 배경

[0007]

많은 질환 징후의 치료를 위해 치료적 항체가 개발되었다. 일부 이들 사례에서, 치료적 항체의 효능은 적어도 부분적으로 하나 이상의 효과기 기능을 매개하는 항체의 Fc 영역의 능력에서 야기된다. 이들 효과기 기능은 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC) 및 보체 의존적 세포독성(CDC)을 포함하는 다양한 반응을 자극하기 위한 면역계 세포와 항체 및 항체-항원 복합체의 상호작용에서 야기된다(Daeron,

[0008]

Annu. Rev. Immunol. 15:203-234(1997); Ward and Ghetie, Therapeutic Immunol. 2:77-94(1995); 및 Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492(1991)에서 검토됨). 몇 개의 항체 효과기 기능은 항체의 Fc 영역에 결합하는 Fc 수용체(FcRs)에 의해 매개된다. FcRs은 면역글로불린 아이소타입에 대한 이들의 특이성에 의해 정의된다; IgG 항체에 대한 Fc 수용체는 Fc γ R로, IgE 항체에 대한 것은 Fc ϵ R로, IgA 항체에 대한 것은 Fc α R로 등과 같이 불린다. 항체의 Fc 영역은 또한 기능, 예컨대 항원 결합과 독립적으로 작동하며 순환 중 지속성과 세포 통과배출에 의해 세포 배리어를 통해 이동되는 능력을 부여하는 FcRn으로의 결합을 매개한다(Ward and Ghetie, Therapeutic Immunology 2:77-94(1995)).

[0009]

그러나 특정 질환 징후에 있어서, 항체의 Fc 영역에 의해 매개된 효과기 기능은 바람직하지 않은 역효과를 유도할 수 있고, 따라서 감소되거나 침묵화된 효과기 기능을 갖는 항체를 조작하기 위한 노력을 수행하였다.

[0010]

최근 문헌에서는 감소되거나 침묵화된 효과기 활성을 갖는 항체를 조작하기 위해 사용된 전략을 설명한다 (Strohl, WR(2009), Curr Opin Biotech 20:685-691, 및 Strohl, WR and Strohl LM, "Antibody Fc engineering for optimal antibody performance" In Therapeutic Antibody Engineering, Cambridge: Woodhead Publishing(2012), pp 225-249 참고). 이들 전략에는 당화의 변형, IgG2/IgG4 스캐폴드의 이용, 또는 항체의 Fc 영역의 힌지 또는 CH2 영역에서의 돌연변이 도입을 통한 효과기 기능의 감소가 포함된다.

[0011]

또한, US 특허 공개 번호 2011/0212087(Strohl)에서는 Fc γ Rs(Fc 감마 수용체)에 대한 결합 및 생성 활성을 감소시키는 Fc 영역 내 변화를 갖는 항체 및 다른 Fc-함유 분자를 기재하며, 다양한 질환 및 장애의 치료에 사용될 수 있다.

[0012]

국제 특허 공개 번호 WO 2006/105338(Xencor)에서는 최적화된 특성을 갖는 Fc 변이체, 그것의 생성 방법, 최적화된 특성을 갖는 Fc 변이체를 포함하는 Fc 폴리펩타이드, 및 최적화된 특성을 갖는 Fc 변이체의 사용 방법을 기재한다.

[0013]

US 특허 공개 번호 2012/0225058(Xencor)에서는 모 IgG Fc 작제물의 Fc 변이체를 기재하며, 여기서 상기 Fc 변이체는 하나 이상의 Fc γ Rs에 대해 변경된 결합을 나타내고, 상기 Fc 변이체는 상기 모 IgG Fc 작제물의 Fc 영

역에 적어도 하나의 아미노산 삽입을 포함한다.

- [0014] US 특허 공개 번호 2012/0251531(Genentech)에서는 Fc 변이체를 포함하는 조작된 폴리펩타이드 및 그것의 용도, 더 구체적으로 감소된 효과기 기능을 나타내는 Fc 변이체를 기재한다. 이들 변이체는 또한 항체에 의해 유발된 효과기 기능을 감소시키는 것이 바람직한, 항체로 치료받을 수 있는 질환을 겪는 환자에게 이점을 유도하는 것으로 기재된다.
- [0015] Strop 등((2012) J. Mol. Biol. 420: 204-219)은 이중특이적 항체 형성을 개선하기 위한 인간 IgG1 및 IgG2의 코어 힌지 영역 및 CH3 영역 내 하전된 돌연변이의 도입을 기재한다.
- [0016] **발명의 요약**
- [0017] 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체가 본원에서 제공되며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 하부 힌지 영역을 포함하고, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하며, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다.
- [0018] 특정 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역에서 상기 적어도 하나의 아미노산 변형은 변형된 하부 힌지 영역에서 순 양전하를 증가시키며, 제2 Fc 폴리펩타이드에서 적어도 하나의 아미노산 변형은 음전하의 총 수를 증가시키거나 야생형 힌지 영역에 비해 전하가 중성이거나; 또는 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역에서 적어도 하나의 아미노산 변형은 변형된 하부 힌지 영역에서 순 음전하를 증가시키고, 제2 Fc 폴리펩타이드에서 적어도 하나의 아미노산 변형은 양전하의 총 수를 증가시킨다.
- [0019] 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 상기 변형된 하부 힌지 영역은 2 이상의 아미노산 변형을 포함한다.
- [0020] 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체가 본원에 제공되며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 힌지 영역을 포함하고, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 생리적 pH 조건 근처에서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 순전하를 증가시키는 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하며, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다.
- [0021] 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 순전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 순 양전하의 증가이다. 일부 구현예에서, 순 양전하의 상기 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 양으로 하전된 아미노산의 총 수의 증가, 또는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 음으로 하전된 아미노산의 총 수의 감소이다. 특정 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 적어도 하나의 아미노산 변형은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드에서 양으로 하전된 아미노산의 총 수의 증가를 증가시키고, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 적어도 하나의 아미노산 변형은 상기 제2 Fc 폴리펩타이드에서 음전하의 총 수를 증가시키거나 전하가 중성이다.
- [0022] 구현예에서, 순전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 순 음전하의 증가이다. 특정 구현예에서, 순 음전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 음으로 하전된 아미노산의 총 수 증가 또는 양으로 하전된 아미노산의 총 수 감소이다. 특정 구현예에서, 순 음전하가 음으로 하전된 아미노산의 총 수 증가인 경우, 제2 Fc 폴리펩타이드에서 적어도 하나의 아미노산 변형은 양전하의 총 수를 증가시킨다.
- [0023] 일부 구현예에서, 본원에 기재된 이종다량체가 제공되며, 여기서 제2 Fc 폴리펩타이드에서 적어도 하나의 아미노산 변형과 조합된 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서의 적어도 하나의 아미노산 변형은 힌지 영역 변형을 포함하지 않는 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 IgG Fc 작제물의 전체 양전하를 증가시킨다.
- [0024] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이종다량체가 제공되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 2 이상의 아미노산 변형을 포함한다.
- [0025] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이종다량체가 제공되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 2 이상의 아미노산 변형을 포함한다.

- [0026] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 적어도 하나의 아미노산 변형은 하부 힌지 영역에 있다.
- [0027] 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 Fc γ RIIaH에 대해 10 μ M 초과와 K_D, Fc γ RIIaR에 대해 10 μ M 초과와 K_D, Fc γ RIIb에 대해 10 μ M 초과와 K_D, Fc γ RIIIaF에 대해 6 μ M 초과와 K_D, Fc γ RIIIaV에 대해 6 μ M 초과와 K_D, 및 Fc γ RIa에 대해 6.5 nM 초과와 K_D를 갖는다.
- [0028] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 아미노산 변형을 포함하지 않는 상응하는 IgG Fc 작제물에 비해 감소된 효과기 기능을 매개한다. 일부 구현예에서, IgG Fc 작제물은 EC₅₀으로 측정되는 효과기 기능의 70% 미만, 50% 미만, 30% 미만 또는 10% 미만을 매개한다. 일부 구현예에서, IgG Fc 작제물은 세포의 최대 용해로 측정되는 효과기 기능의 10% 미만, 5% 미만, 2% 미만 또는 1% 미만을 매개한다. 구현예에서, 효과기 기능은 ADCC, ADCP, CDC 또는 이들의 임의 조합으로부터 선택된다.
- [0029] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 L234 및/또는 L235에서 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 L234K, L234R, L234A, L235K, L235R, 및 L235A로부터 선택된 아미노산 변형을 포함한다. 추가 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 E233에서 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, E233에서의 상기 변형은 E233A, E233K, 및 E233R로부터 선택된다.
- [0030] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 둘 다의 상기 변형된 힌지 영역은 L234 및/또는 L235에서 아미노산 변형을 포함한다. 일부 구현예에서, L234 및/또는 L235에서의 변형은 L234A, L234K, L234R, L234D, L234E, L235K, L235R, L235E, L235A, 및 L235D로부터 선택된다. 추가 구현예에서, 제1 및/또는 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 E233에서 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 하나 또는 둘 모두의 아미노산 변형은 독립적으로 E233A 또는 E233D이다.
- [0031] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234K/L235K, E233A/L234R/L235R, E233K/L234R/L235R, 또는 E233K/L234A/L235K를 포함한다.
- [0032] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드의 상기 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235A, L234D/L235E, E233A/L234D/L235E, 또는 E233A/L234K/L235A를 포함한다.
- [0033] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235A를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234R/L235R을 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234D/L235E를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R을 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하거나; 또는 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233K/L234A/L235K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234K/L235A를 포함한다.
- [0034] 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이중다량체가 제공되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/E233K를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/D265S를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/D265S를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/K322A를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/K322A를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/P329W를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/P329W를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322A를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322A를 포함하거나; 또는 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형

L234D/L235E/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함한다.

- [0035] 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E269Q/D270N을 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E269K/D270R을 포함하거나; 또는 상기 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L235K/A327K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 힌지 또는 하부 힌지 영역에서 변형을 포함하지 않고; IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다.
- [0036] 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 IgG Fc 작제물은 비당화된다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 탈글리코실화된다.
- [0037] 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 온도기록도에서 IgG Fc 작제물의 용융 개시는 68°C 이상이다.
- [0038] 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 IgG Fc 작제물은 힌지 영역 변형을 포함하지 않는 상응하는 모 CH2 영역의 용융 온도 이상인 용융 온도를 갖는 CH2 영역을 갖는다.
- [0039] 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 영역의 용융 온도보다 약 1 내지 2°C 더 큰 용융 온도를 갖는 CH2 영역을 갖는다.
- [0040] 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 영역의 용융 온도보다 약 2 내지 3°C 더 큰 용융 온도를 갖는 CH2 영역을 갖는다.
- [0041] 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 상기 이종다량체가 발현되는 경우 동종이량체 Fc 영역에 비해 이종이량체 Fc 영역의 형성을 촉진하는 아미노산 변형을 포함하는 변이체 CH3 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 T366L/N390R/K392M/T394W를 포함하며, 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 L351Y/S400E/F405A/Y407V를 포함한다. 일부 구현예에서, 제1 및/또는 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 T350V를 포함한다. 추가 구현예에서, 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 이종다량체는 전하-기반 정제 방법을 이용해서 동종이량체 Fc 영역을 포함하는 발현 생성물과 분해된다.
- [0042] 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 이종다량체는 IgG Fc 작제물에 융합된 적어도 하나의 항원-결합 작제물을 추가로 포함한다.
- [0043] 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 적어도 하나의 항원-결합 작제물은 Fab 단편, scFv, sdAb, 항원 결합 펩타이드, Fc 융합 단백질, 또는 항원에 결합할 수 있는 단백질 또는 이들의 단편으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 하나의 항원-결합 작제물을 포함하는 이종다량체가 본원에 기재된다. 구현예에서, 두 항원-결합 작제물을 포함하는 이종다량체가 본원에 기재된다.
- [0044] 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 하나 이상의 독성 약물 분자에 연결된다.
- [0045] 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 하나 이상의 이종성 폴리펩타이드에 연결된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 이종성 폴리펩타이드는 효소 및 독소로부터 선택된다.
- [0046] 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG는 IgG1이다.
- [0047] 본원에 기재된 이종다량체의 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산이 본원에 제공된다. 본원에 기재된 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 본원에 기재된 이종다량체의 제조 방법이 제공되며, 상기 방법은 하기 단계를 포함한다: (a) 본원에 기재된 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 (b) 숙주 세포 배양으로부터 이종다량체를 회수하는 단계. 특정 구현예는 이종다량체의 제조 방법이며, 전하-기반 정제 방법을 이용하여 이종다량체를 단리하는 단계를 추가로 포함한다. 일부 구현예는 본원에 기재된 이종다량체의 제조 방법이며, 여기서 전하-기반 정제 방법은 이온 교환 크로마토그래피이다.
- [0048] 본원에 기재된 이종다량체 및 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함하는 약제학적 조성물이 제공된다. 본원에 기재된 약제학적 조성물의 효과적인 양을 필요로 하는 환자에게 제공하는 단계를 포함하는 질환의 치료 방법이 제공된다. 일부 구현예는 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 본원에 기재된 이종다량체의 용도이다.
- [0049] 일부 구현예는 필요로 하는 환자에서 질환 치료를 위한 본원에 기재된 이종다량체의 용도이다.

[0050]

하기를 포함하는, 항체 작제물의 효과기 기능을 감소시키는 방법이 본원에 제공된다: 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드의 하부 힌지 영역을 변형하는 단계(여기서, 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하며, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 또는 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다. 일부 구현예에서, 변형은 Fc 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 일으킨다.

도면의 간단한 설명

[0051]

본 발명의 이들 및 다른 특징은 첨부된 도면을 참조하는 하기 상세한 설명에서 보다 분명해질 것이다.

도 1은 Fc γ R 결합에 관여되는 Fc 영역의 영역들을 도시한다. (A) Fc γ R 결합(검은색으로 나타냄)에 관여되는 Fc의 CH2 도메인(회색으로 나타냄)의 루프 및 하부 힌지를 도시하는 3b/Fc 결정 구조(PDB:1E4K). (B) CH2 도메인의 위상기하학. 가닥을 S1, S2, S3, S4, S5, S6, 및 S7로 도시하고; 루프를 L1, L2, 및 L3으로 도시한다.

도 2는 야생형 항체(WT)에 비해 예시적인 비대칭 항체 작제물의 온도기록도를 도시한다. 도 2A는 WT, 및 AAC2 - AAC6에 대한 온도기록도를 도시한다. 도 2B는 WT에서 두 전이의 정체를 도시한다. 제1 전이는 CH2 도메인의 언폴딩에 대응하며, 제2 전이는 CH3+Fab의 언폴딩에 대응한다. 도 2C는 변이체의 CH2 전이가 어떻게 더 높은 Tm 값으로 이동되어 더 높은 안정성을 나타내는지 보여주는 여러 샘플의 오버레이를 도시한다.

도 3A는 예시적인 비대칭 항체 작제물이 정제되는 경우 생산된 성분의 이온 교환 크로마토그래피에 의한 분해를 나타내는 예시적인 결과를 도시한다. 도 3B는 예시적인 비대칭 변이체 AAC4를 사용하여 pH 구배(상부 패널), 또는 염 구배(하부 패널)를 이용한 성분 분리를 도시한다.

도 4는 ADCC를 매개하는 대조군 변이체(v1051) 및 본 발명의 예시적인 이중다량체(AAC6)의 능력을 도시한다.

도 5는 인간 IgG1 Fc 영역의 아미노산 서열(서열식별번호:1); 트라스투주맙 중쇄의 아미노산 서열(서열식별번호:2), 트라스투주맙 경쇄의 아미노산 서열(서열식별번호:3), 리툽시맙 중쇄의 아미노산 서열(서열식별번호:4), 리툽시맙 경쇄의 아미노산 서열(서열식별번호:5)을 도시한다.

도 6은 Daudi 세포에서 ADCC를 매개하는 변이체 AAC9 - AAC12, AAC14, 및 AAC15의 능력을 도시한다. 도 6A는 상업적으로 이용가능한 리툽시맙을 포함하는 대조군 대비 AAC10 및 AAC11에 대한 결과를 도시한다; 도 6B는 상업적으로 이용가능한 리툽시맙을 포함하는 대조군 대비 AAC12 및 AAC14에 대한 결과를 도시한다; 도 6C는 상업적으로 이용가능한 리툽시맙을 포함하는 대조군 대비 AAC9 및 AAC15에 대한 결과를 도시한다.

도 7은 Daudi 세포에서 CDC를 매개하는 변이체 AAC9 - AAC12, AAC14, 및 AAC15의 능력을 도시한다.

도 8은 본원과 함께 제출한 서열식별번호:6-69에 대한 서열을 도시한다.

상세한 설명

본 발명은 IgG Fc 작제물을 포함하는 이중다량체를 제공한다. IgG Fc 작제물은 두 Fc 폴리펩타이드를 포함하며, 각각은 변형된 힌지 영역을 갖고, 여기서 변형된 힌지 영역은 Fc γ RIIaH, Fc γ RIIaR, Fc γ RIIb Fc γ RIIIaF, Fc γ RIIIaV, 및 Fc γ RIa 수용체 및 보체 인자 C1q 단백질에 대한 IgG Fc 작제물의 결합을 감소시키거나 제거하는 비대칭 아미노산 변형을 포함한다. 상기 결합의 그와 같은 감소 또는 제거는 야생형 IgG Fc 영역에 의해 전형적으로 매개된 효과기 기능의 감소 또는 침묵화를 야기한다. 주지된 바와 같이, 변형된 힌지 영역은 비대칭 아미노산 변형을 포함하며, 그에 따라 IgG Fc 작제물의 한 폴리펩타이드의 힌지 영역에서 아미노산 변형은 다른 폴리펩타이드의 힌지 영역에서의 것과 상이하다. 일부 구현예에서, 단리된 항체 작제물은 안정하고 FcRn에 결합할 수 있다.

특정 구현예에서, IgG Fc 작제물의 각각의 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 IgG Fc 작제물의 다른 폴리펩타이드에 비해 IgG Fc 작제물의 하나의 폴리펩타이드에서 양전하를 증가시키기 위해 선택된 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 특정 구현예에서, IgG Fc 작제물의 각각의 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 IgG Fc 작제물의 다른 폴리펩타이드에 비해 IgG Fc 작제물의 하나의 폴리펩타이드에서 음전하를 증가시키기 위해 선택된 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다.

본 발명에 따른 이중다량체는 그 효과기 기능이 생성 부작용, 예컨대 세포독성으로 인해 바람직하지 않은 치료적 항체의 개발에 유용할 수 있다. 일부 구현예에서, 이중다량체는 또한 전하-기반 방법을 이용한 이들의 정제

를 촉진하는 특성을 나타낸다.

감소되거나 침묵화된 효과기 기능을 갖는 이종다량체 작제물이 본원에 제공된다. 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체 작제물이 제공되며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 하부 힌지 영역을 포함하고, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하며, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다. 특정 구현예에서, 이종다량체 작제물은 본원에 기재된 변형을 갖지 않는 상응하는 모 IgG Fc 작제물 작제물에 비해 Fc γ 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 일부 구현예에서, 이종다량체 작제물은 모든 Fc γ 수용체에 대해 감소된 결합 및 적어도 하나의 Fc γ 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이종다량체 작제물은 Fc γ 수용체에 대해 감소된 결합 및 C1q 단백질에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 특정 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나는 하부 힌지 영역에 있지 않은 적어도 하나의 아미노산의 추가 변형을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나는 하부 힌지 영역에 있는 적어도 하나의 아미노산의 변형을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나는 CH2 또는 CH3 영역에 있는 적어도 하나의 아미노산의 변형을 추가로 포함한다.

제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체가 본원에 제공되며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 힌지 영역을 포함하며, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 생리적 pH 조건 근처에서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 순전하를 증가시키는 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다. 일부 구현예에서, 순전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 순 양전하의 증가이다. 구현예에서, 순 양전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 양으로 하전된 아미노산의 총 수의 증가이다. 특정 구현예에서, 상기 순전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 순 음전하의 증가이다. 특정 구현예에서, 순 음전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 음으로 하전된 아미노산의 총 수의 증가이다. 일부 구현예에서, 이종다량체 작제물은 본원에 기재된 변형을 갖지 않는 상응하는 모 IgG Fc 작제물 작제물에 비해 Fc γ 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 특정 구현예에서, 이종다량체 작제물은 모든 Fc γ 수용체에 대해 감소된 결합 및 적어도 하나의 Fc γ 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 구현예에서, 본원에 기재된 이종다량체 작제물은 Fc γ 수용체에 대해 감소된 결합 및 C1q 단백질에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 특정 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나는 하부 힌지 영역에 있는 적어도 하나의 아미노산의 변형을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나는 CH2 또는 CH3 영역에 있는 적어도 하나의 아미노산의 변형을 추가로 포함한다.

일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 하나 이상의 아미노산 변형은 힌지 영역에서 음전하 또는 양전하의 수를 변형하거나, 또는 야생형 힌지 영역에 비해 전하가 중성이다. 특정 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 2 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 구현예에서 본원에 기재된 이종다량체가 제공되며, 여기서 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 2 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 특정 구현예에서, 이종다량체 작제물이 본원에 기재되며, 여기서 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 하나 이상의 아미노산 변형은 하부 힌지 영역에 있다(서열식별번호:1의 아미노산 16-23, 도 5 참고).

구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 Fc γ RIIaH에 대해 적어도 약 10 μ M의 KD, Fc γ RIIaR에 대해 적어도 약 10 μ M의 KD, Fc γ RIIb에 대해 적어도 약 10 μ M의 KD, Fc γ RIIIaF에 대해 적어도 약 6 μ M의 KD, Fc γ RIIIaV에 대해 적어도 약 6 μ M의 KD, 및 Fc γ RIa에 대해 적어도 약 6.5 nM의 KD를 갖는다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 Fc γ RIIaH에 대해 10 μ M 초과 KD, Fc γ RIIaR에 대해 10 μ M 초과 KD, Fc γ RIIb에 대해 10 μ M 초과 KD, Fc γ RIIIaF에 대해 6 μ M 초과 KD, Fc γ RIIIaV에 대해 6 μ M 초과 KD, 및 Fc γ RIa에 대해 6.5 nM 초과 KD를 갖는다.

일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 L234 및 L235 중 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 상기 변형된 힌지 영역은 L234K, L234R, L234A, L235K, L235R, 및 L235A로부터 선택된 아미노산 변형을 포함한다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 E233에서 아미노산 변형을 포함한다. 구현예에서,

이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 E233에서의 상기 변형은 E233A, E233K, 및 E233R로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 상기 변형된 힌지 영역은 L234 및 L235 중 적어도 하나에서 아미노산 변형을 포함한다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 L234 및 L235 중 적어도 하나에서의 상기 변형은 L234A, L234K, L234R, L234D, L234E, L235K, L235R, L235E, L235A, 및 L235D로부터 선택된다. 일 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제2 Fc 폴리펩타이드의 상기 변형된 힌지 영역은 E233에서의 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 구현예에서, 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드는 E233A 또는 E233D로부터 선택된 아미노산 변형을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나는 D265S, E269K, K322A, P329W, 및 E333K로부터 선택된 적어도 하나의 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드는 D265S, E269K, K322A, P329W, 및 E333K로부터 선택된 적어도 하나의 아미노산 변형을 추가로 포함한다.

본원에 기재된 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235K, E233A/L234R/L235R, E233K/L234R/L235R, 또는 E233K/L234A/L235K를 포함한다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235A, L234D/L235E, E233A/L234D/L235E, 또는 E233A/L234K/L235A를 포함한다.

본원에 기재된 바와 같은 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235K를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234R/L235R을 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234D/L235E를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R을 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하거나; 또는 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233K/L234A/L235K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234K/L235A를 포함한다.

일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 상기 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나는 D265S, E269K, K322A, P329W, 및 E333K로부터 선택된 적어도 하나의 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 예를 들면, 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/E233K를 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/D265S를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/D265S를 포함한다. 추가 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K를 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/K322A를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/K322A를 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/P329W를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/P329W를 포함한다. 추가적 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322A를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322A를 포함한다. 추가 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함한다.

본원에 기재된 이종다량체가 제공되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/E233K를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/D265S를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/D265S를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/K322A를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/K322A를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/P329W를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/P329W를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322A를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322A를 포함하거나; 또는 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산

변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함한다.

제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체가 제공되며, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E269Q/D270N을 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E269K/D270R을 포함하거나; 또는 상기 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L235K/A327K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 힌지 또는 하부 힌지 영역에서 변형을 포함하지 않고; 상기 IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다.

일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 비당화된다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 탈글리코실화된다.

일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 온도기록도에서 IgG Fc 작제물의 용융 개시는 68°C 이상이다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 영역의 용융 온도에 필적하는 용융 온도를 갖는 CH2 영역을 갖는다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 영역의 용융 온도 이상의 용융 온도를 갖는 CH2 영역을 갖는다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 영역의 용융 온도보다 약 1 내지 2°C 높은 용융 온도를 갖는 CH2 영역을 갖는다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 영역의 용융 온도보다 약 2 내지 3°C 높은 용융 온도를 갖는 CH2 영역을 갖는다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 영역의 용융 온도보다 약 5°C 높은 용융 온도를 갖는 CH2 영역을 갖는다.

이종다량체 작제물이 본원에 제공되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 이종이량체 Fc 영역의 형성을 촉진하는 아미노산 변형을 포함하는 변이체 CH3 영역을 포함한다.

일부 구현예에서, 이종다량체 작제물이 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 T366L/N390R/K392M/T394W를 포함하며, 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 L351Y/S400E/F405A/Y407V를 포함한다.

구현예에서, 이종다량체 작제물이 본원에 기재되며, 여기서 IgG Fc 작제물은 CH3 영역의 안정성을 증가시키는 아미노산 변형을 포함한다. 일 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 T350V를 포함한다. 특정 구현예에서, 동종이량체 Fc 작제물을 이용한 임의의 항체 작제물은 전하-기반 정제 방법을 이용하여 상기 이종다량체로부터 명확히 분해된다.

본원에 기재된 이종다량체가 제공되며, 여기서 이종다량체는 IgG Fc 작제물에 융합된 적어도 하나의 항원-결합 작제물을 추가로 포함한다. 특정 구현예에서, 적어도 하나의 항원-결합 작제물은 Fab 단편, scFv, sdAb, 항원 결합 펩타이드, Fc 융합 단백질, 또는 항원에 결합할 수 있는 단백질 또는 그것의 단편으로부터 선택된다. 일부 구현예는 하나의 항원-결합 작제물을 포함하는 이종다량체이다. 일부 구현예는 두 항원-결합 작제물을 포함하는 이종다량체이다. 구현예는 이종다량체이며, 여기서 상기 IgG Fc 작제물은 하나 이상의 독성 약물 분자에 연결된다. 특정 구현예에서, IgG Fc 작제물은 하나 이상의 이종성 폴리펩타이드에 연결된다. 일부 구현예에서, 하나 이상의 이종성 폴리펩타이드는 효소 및 독소로부터 선택된다.

본원에 기재된 이종다량체가 제공되며, 여기서 IgG는 IgG1이다.

본원에 기재된 이종다량체의 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드를 인코딩하는 핵산이 본원에 제공된다. 일부 구현예는 본원에 기재된 핵산을 포함하는 숙주 세포이다. 특정 구현예는 본원에 기재된 이종다량체의 제조 방법이며, 방법은 하기 단계를 포함한다: (a) 본원에 기재된 숙주 세포를 배양하는 단계; 및 (b) 숙주 세포 배양으로부터 이종다량체를 회수하는 단계.

본원에 기재된 이종다량체 및 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함하는 약제학적 조성물이 본원에 제공된다. 특정 구현예는 본원에 기재된 약제학적 조성물의 효과적인 양을 필요로 하는 환자에게 제공하는 단계를 포함하는 질환의 치료 방법이다. 일부 구현예는 질환의 치료를 위한 약제의 제조에서 본원에 기재된 이종다량체의 용도이다. 일부 구현예는 필요로 하는 환자에서 질환의 치료를 위한 본원에 기재된 이종다량체의 치료량의 용도이다.

하기를 포함하는, 항체 작제물의 ADCC를 감소시키는 방법이 본원에 제공된다: 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드의 하부 힌지 영역을 변형하는 단계(여기서, 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 적어도 하나의 아

미노산 변형을 포함하며, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 또는 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다). 특정 구현에는 ADCC를 감소시키는 방법이며, 여기서 상기 변형은 Fc 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 야기한다.

정의

다르게 정의되지 않으면, 본원에서 사용된 모든 기술 및 과학 용어들은 청구된 요지가 속하는 당해기술의 숙련가가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다. 본원에서 용어들에 대해 복수의 정의가 존재하는 경우, 본 섹션의 정의가 우선이 된다. URL 또는 기타 그와 같은 식별자 또는 어드레스를 참조하는 경우, 그와 같은 식별자가 변할 수 있고 인터넷 상의 특정 정보가 오갈 수 있지만, 인터넷을 검색함으로써 균등한 정보가 확인될 수 있음이 이해된다. 이에 대한 참조는 그와 같은 정보의 이용가능성 및 공공 전파를 입증한다.

전술된 일반적인 설명 및 하기 상세한 설명은 단지 예시적이고 설명적이며, 청구된 임의 요지를 제한하는 것이 아님이 이해되어야 한다. 본 출원에서 다르게 구체적으로 언급되지 않으면, 단수의 이용에는 복수가 포함된다.

"모 CH2 도메인"은 본원에 개시된 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드의 힌지 영역에 하나 이상의 아미노산 변형이 없지만, 디설파이드 힌지 변형, 부가된 CH2 디설파이드, 당화 변형 또는 상이한 CH3 도메인 안정성 중 하나 이상이 포함될 수 있고, 본 발명의 이종다량체의 CH2 도메인과 효과기 기능이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 Fc 영역의 CH2 도메인 폴리펩타이드를 나타낸다. 모 CH2 도메인은 천연 서열 Fc 영역 또는 기존의 아미노산 서열 변형(예컨대 부가, 결실 및/또는 치환)을 갖는 Fc 영역을 포함할 수 있다.

"비당화된 항체"는 발현 동안 당화되지 않은 항체 또는 이종다량체를 나타낸다. 비당화된 항체는 포유동물 당화 경로가 없는 시스템, 예컨대 E. 콜라이에서의 발현 또는 하나 이상의 당화 부위, 예컨대 N297의 돌연변이에 의해 제조될 수 있다.

"탈글리코실화된 항체"는 발현 동안 초기에 당화되지만 차후에 생화학적 반응, 예컨대 글리칸을 제거하는 PNGase F 처리를 거치는 항체 또는 이종다량체를 나타낸다.

"중성 측쇄를 갖는 아미노산"은 중성 pH에서 전하가 없는 측쇄를 함유하는 아미노산을 나타낸다. 라이신, 아르기닌, 아스파르테이트, 글루타메이트, 및 히스티딘 이외의 모든 아미노산은 중성으로 간주된다. 일부 구현예에서, 이것이 발견되는 구조적 환경에 따라, 라이신, 아르기닌, 아스파르테이트, 글루타메이트 및 히스티딘도 중성으로 간주된다. 일 구현예에서, "중성 측쇄를 갖는 아미노산"은 생리적 pH에서 전반적 전하가 없는 측쇄를 함유하는 아미노산을 나타낸다.

"양으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산"은 중성 pH에서 양성자화되고 그에 따라 양으로 하전되는 측쇄를 함유하는 극성 아미노산을 나타낸다. 이들 아미노산은 종종 염기성으로 불린다. 양으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산의 예에는 라이신, 아르기닌이 포함된다. 일부 구현예에서, 이것이 발견되는 구조적 환경에 따라, 히스티딘은 또한 양성자화될 수 있고 양으로 하전된 측쇄를 가질 수 있다. 일 구현예에서, "양으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산"은 생리적 pH에서 양으로 하전된 측쇄를 함유하는 아미노산을 나타낸다.

"음으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산"은 그 측쇄가 중성 pH에서 탈양성자화되고, 이에 따라 음으로 하전되는 극성 아미노산이다. 이들 아미노산은 종종 산성으로 불린다. 음으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산의 예에는 아스파르트산 및 글루탐산이 포함된다. 일 구현예에서, "음으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산"은 생리적 pH에서 음으로 하전된 측쇄를 함유하는 아미노산을 나타낸다.

"결합 친화도" 일반적으로 분자(예를 들면, 항체)의 단일 결합 부위 및 그것의 결합 파트너(예를 들면, 항원 또는 Fc γ R) 간의 비공유 상호작용의 총합의 강도를 나타낸다. 분자 X의 그 파트너 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수(Kd 또는 K_D)로 나타낼 수 있다. 친화도는 본원에 기재된 것을 포함하는 당해기술에 공지된 일반적 방법에 의해 측정될 수 있다. 저-친화도 항체는 항원(또는 Fc γ R)에 약하게 결합하며 쉽게 해리되는 경향이 있는 반면, 고-친화도 항체는 항원(또는 Fc γ R)에 더 단단히 결합하고 더 길게 결합된 채 유지된다.

용어 "Fc 영역"(또는 단편 결정화 가능 영역)은 항체의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. Fc 영역은 항체의 두 중쇄: 사슬 A 및 사슬 B의 제2 및 제3 불변 도메인에서 유도된 두 동일한 단백질 단편으로 이루어진다. 제2 및 제3 불변 도메인은 각각 CH2 도메인 및 CH3 도메인으로 공지되어 있다. CH2 도메인은 사슬 A의 CH2 도메인 서열 및 사슬 B의 CH2 도메인 서열을 포함한다. CH3 도메인은 사슬 A의 CH3 도메인 서열 및 사슬 B의 CH3 도메인 서열을 포함한다. 본원에서 사용된 Fc 영역에는 아래에서 정의된 힌지 영역이 포함된다.

용어 "Fc 영역 서열"은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하기 위해 사용된다. "Fc 영역 서열"은 천연 Fc 영역 서열 또는 변이체 Fc 영역 서열일 수 있다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역 서열의 경계는 변할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역 서열은 보통 위치 Cys226 또는 Pro230의 아미노산 잔기로부터 이들의 카복실 말단까지 연장되는 것으로 정의된다.

인간 IgG Fc 영역 서열의 "CH2 도메인 서열"(또한 일명 "Cy2" 도메인 서열)은 보통 대략 아미노산 231 내지 대략 아미노산 340까지 연장된다. CH2 도메인 서열은 또 하나의 도메인 서열과 밀접하게 페어링하지 않는다는 점에서 독특하다. 오히려, 두 N-연결된 분지형 탄수화물 사슬이 온전한 천연 IgG 분자의 두 CH2 도메인 서열 간에 끼어든다. 탄수화물은 도메인-도메인 페어링을 대체하고 CH2 도메인을 안정화하는 것을 도울 수 있는 것으로 추측되었다[Burton, Molec. Immunol.22: 161-206(1985)].

"CH3 도메인 서열"은 Fc 영역 서열에서 CH2 도메인 서열까지 C-말단 잔기의 연장부(즉 IgG의 대략 아미노산 잔기 341 내지 대략 아미노산 잔기 447)를 포함한다.

"기능적 Fc 영역"은 천연 Fc 영역의 "효과기 기능"을 보유한다. 예시적인 "효과기 기능"에는 C1q 결합; 보체의 존적 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC); 식균작용; 세포 표면 수용체(예를 들면 B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절 등이 포함된다. 그와 같은 효과기 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인(예를 들면 항체 가변 도메인)과 조합되는 것을 필요로 하며, 예를 들면 본원에 개시된 다양한 분석을 이용해서 평가될 수 있다.

"천연 Fc 영역 서열"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연 서열 인간 Fc 영역에는 천연 서열 인간 IgG1 Fc 영역(비-A 및 A 동중이형); 천연 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연 서열 인간 IgG4 Fc 영역 뿐만 아니라 이들의 천연 발생 변이체가 포함된다.

"변이체 Fc 영역 서열"은 본원에서 정의된 "하나 이상의 아미노산 변형"에 의해 천연 Fc 영역 서열과 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 변이체 Fc 영역 서열은 천연 Fc 영역 서열 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역 서열에 비해 적어도 하나의 아미노산 치환, 예를 들면 천연 Fc 영역 서열 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역 서열에 약 1 내지 약 10개 아미노산 치환, 바람직하게는 약 1 내지 약 5개 아미노산 치환을 갖는다. 특정 구현예에서, 본원의 변이체 Fc 영역 서열은 천연 Fc 영역 서열 또는 모 폴리펩타이드의 Fc 영역 서열과 적어도 약 80% 동일성을, 가장 바람직하게는 그와 적어도 약 90% 동일성을, 더 바람직하게는 그와 적어도 약 95% 동일성을 보유한다.

용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 설명하기 위해 사용된다. 바람직한 FcR은 천연 인간 FcR이다. 게다가, 특정 구현예에서, FcR은 IgG 항체에 결합하는 것(감마 수용체, Fc γ R)이며, 이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이스된 형태를 포함하는 Fc γ RI(CD64), Fc γ RII(CD32), 및 Fc γ RIII(CD16) 서브클래스의 수용체가 포함된다. Fc γ RII 수용체에는 Fc γ RIIA("활성화 수용체") 및 Fc γ RIIB("저해 수용체")가 포함되며, 이는 이들의 세포질 도메인이 주로 상이한 유사한 아미노산 서열을 갖는다. 활성화 수용체 Fc γ RIIA는 그 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기반 활성화 모티프(ITAM)를 함유한다. 저해 수용체 Fc γ RIIB는 그 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기반 억제 모티프(ITIM)를 함유한다(리뷰 M. in Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234(1997) 참고). FcRs은 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92(1991); Capel 등, Immunomethods 4:25-34(1994); 및 de Haas 등, J. Lab. Clin. Med. 126:330-41(1995)]에서 검토된다. 향후 확인될 것들을 포함하는 다른 FcRs이 본원에서 용어 "FcR"에 포괄된다. 용어 "FcR"에는 또한 신생아 수용체, FcRn이 포함되며, 이는 모계 IgGs의 태아로의 전달에 관여한다(Guyer 등, J. Immunol. 117:587(1976) 및 Kim 등, J. Immunol. 24:249(1994)). 용어 "Fc γ R"에는 FcRn이 포함되지 않는다.

"항체-의존적 세포-매개 세포독성" 및 "ADCC"는 표적 세포 상에 결합된 항체를 인식하고 차후에 표적 세포의 용해를 유도하는 FcRs을 발현하는 비특이적 세포독성 세포(예를 들면 자연 살해(NK) 세포, 중성구, 및 대식구)에서 세포-매개된 반응을 나타낸다. ADCC를 매개하는 주요 세포인, NK 세포는 Fc γ RIII 및 낮은 수준의 Fc γ RIIc를 발현하는 반면, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII을 발현한다. 조혈 세포 상의 FcR 발현은 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92(1991)]의 464페이지의 표 3에 요약된다.

"인간 효과기 세포"는 하나 이상의 FcRs을 발현하고 효과기 기능을 수행하는 백혈구이다. 바람직하게는, 세포는 적어도 Fc γ RIII을 발현하며 ADCC 효과기 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 인간 백혈구의 예에는 말초 혈액 단핵구(PBMC), 자연 살해(NK) 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포 및 중성구가 포함되며; PBMCs 및 NK 세포가 바람직하다. 효과기 세포는 이들의 천연 공급원, 예를 들면 본원에 기재된 바와 같이 혈액 또는 PBMCs로부터 단리될 수 있다.

"크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" Fc γ R 결합 친화도 및 C1q 결합 친화도를 갖는 이종다량체는 모 폴리펩타이드 또는 천연 Fc 영역 서열을 포함하는 폴리펩타이드에 비해 줄어든 Fc γ R 결합 활성 및 C1q 결합 활성을 갖는 것이다. 일부 구현예에서, "크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" Fc γ R 결합 친화도 및 C1q 결합 친화도를 갖는 이종다량체는 또한 모 폴리펩타이드 또는 천연 Fc 영역 서열을 포함하는 폴리펩타이드에 비해 "크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" ADCC, ADCP 및 CDC 활성을 갖는 이종다량체이다. Fc γ R에 대해 "감소된 또는 검출불가능한 결합을 나타내는" 이종다량체는 모 폴리펩타이드보다 낮은 친화도로 모든 Fc γ Rs에 결합한다. Fc γ R에 대해 감소된 결합을 나타내는 그와 같은 변이체는 Fc γ R에 대해 인식할 만한 결합을 거의 또는 전혀 보유하지 않을 수 있다. 일 구현예에서, 변이체는, 예를 들어 본원에서 실시예에서 결정된 또는 평형 상수의 변화로 측정된 바와 같이, 천연 IgG Fc 영역에 비해 Fc γ R에 대해 0-20% 결합을 나타낸다. 일 구현예에서, 변이체는 천연 IgG Fc 영역에 비해 Fc γ R에 대해 0-10% 결합을 나타낸다. 일 구현예에서, 변이체는 천연 IgG Fc 영역에 비해 Fc γ R에 대해 0-5% 결합을 나타낸다. 일 구현예에서, 변이체는 천연 IgG Fc 영역에 비해 Fc γ R에 대해 0-1% 결합을 나타낸다.

또 하나의 구현예에서, Fc γ RIIaH에 대해 "크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" 결합을 갖는 이종다량체는 SPR(표면 플라즈몬 공명)에 의해 측정되는 5 μ M 초과 Fc γ RIIaH에 대한 K_D를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, Fc γ RIIaR에 대해 "크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" 결합을 갖는 이종다량체는 SPR(표면 플라즈몬 공명)에 의해 측정되는 10 μ M 초과 Fc γ RIIaR에 대한 K_D를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, Fc γ RIIb에 대해 "크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" 결합을 갖는 이종다량체는 SPR(표면 플라즈몬 공명)에 의해 측정되는 30 μ M 초과 Fc γ RIIb에 대한 K_D를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, Fc γ RIIIaF에 대해 "크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" 결합을 갖는 이종다량체는 SPR(표면 플라즈몬 공명)에 의해 측정되는 20 μ M 초과 Fc γ RIIIaF에 대한 K_D를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, Fc γ RIIIaV에 대해 "크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" 결합을 갖는 이종다량체는 SPR(표면 플라즈몬 공명)에 의해 측정되는 6 μ M 초과 Fc γ RIIIaV에 대한 K_D를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, Fc γ RIa에 대해 "크게 감소된", "침묵화된", "무시해도 좋은" 또는 "제거된" 결합을 갖는 이종다량체는 SPR(표면 플라즈몬 공명)에 의해 측정되는 6.5 nM 초과 Fc γ RIa에 대한 K_D를 갖는다.

모 항체에 비해 "인간 효과기 세포의 존재 하에 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC)을 더 효과적으로 매개하는" 이종다량체는 분석에서 사용된 이종다량체 및 모 항체의 양이 본질적으로 동일한 경우, 시험관내 또는 생체 내에서 ADCC의 매개에 있어서 실질적으로 더 효과적인 것이다. 일반적으로, 그와 같은 폴리펩타이드는 본원에 개시된 시험관내 ADCC 분석을 이용하여 확인될 것이지만, ADCC 활성을 결정하기 위한, 예를 들면 동물 모델 등에서의 다른 분석 또는 방법이 고려된다. 바람직한 폴리펩타이드는 모 폴리펩타이드에 비해, 예를 들면 본원에 개시된 시험관내 분석에서 ADCC의 매개에 약 1.5배 내지 약 100배, 예를 들면 약 2배 내지 약 50배 더 효과적이다.

"모 항체", "모 폴리펩타이드" 또는 "천연 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드"는 힌지 영역에 대해 아미노산 변형을 포함하지 않는 작제물을 나타낸다. 일 구현예에서, 모 항체는 힌지 영역에 대한 아미노산 변형을 포함하지 않고 이종다량체 Fc 영역의 형성을 촉진하는 CH3 도메인에 대한 변형을 포함하는 것이다.

"아미노산 변형"은 예정된 아미노산 서열의 아미노산 서열 내 변화를 나타낸다. 예시적인 변형에는 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실이 포함된다. 특정 구현예에서, 본원의 아미노산 변형은 치환이다. 예를 들면 Fc 영역의 명시된 위치"에서의 아미노산 변형"은 명시된 잔기의 치환 또는 결실, 또는 명시된 잔기에 인접한 적어도 하나의 아미노산 잔기의 삽입을 나타낸다. 명시된 잔기에 "인접한" 삽입이란 이들의 하나 또는 두 잔기 내의 삽입을 의미한다. 특정 구현예에서, 삽입은 명시된 잔기에 대해 N-말단 또는 C-말단이다.

"아미노산 치환"은 예정된 아미노산 서열에서 적어도 하나의 기존 아미노산 잔기의 또 하나의 상이한 "대체" 아미노산 잔기를 이용한 대체를 나타낸다. 대체 잔기 또는 잔기들은 "천연 발생 아미노산 잔기"(즉 유전자 암호에 의해 인코딩된 것)일 수 있고, 하기로 구성된 그룹으로부터 선택될 수 있다: 알라닌(Ala); 아르기닌(Arg); 아스파라긴(Asn); 아스파르트산(Asp); 시스테인(Cys); 글루타민(Gln); 글루탐산(Glu); 글리신(Gly); 히스티딘(His); 이소류신(Ile); 류신(Leu); 라이신(Lys); 메티오닌(Met); 페닐알라닌(Phe); 프롤린(Pro); 세린(Ser); 트레오닌(Thr); 트립토판(Trp); 티로신(Tyr); 및 발린(Val). 바람직하게는, 대체 잔기는 시스테인이 아니다. 하나 이상의 비-천연 발생 아미노산 잔기를 이용한 치환이 또한 본원에서 아미노산 치환의 정의에 포함된다. "비-천연 발생 아미노산 잔기"는 상기 열거된 천연 발생 아미노산 잔기와 다른 잔기를 나타내며, 이는 폴리펩타이드

사슬에서 인접한 아미노산 잔기(들)에 공유 결합할 수 있다. 비-천연 발생 아미노산 잔기의 예에는 노르류신, 오르니틴, 노르발린, 호모세린 및 다른 아미노산 잔기 유사체, 예컨대 [Ellman 등 Meth. Enzym. 202:301-336(1991)]에 기재된 것들이 포함된다. 그와 같은 비-천연 발생 아미노산 잔기를 생성하기 위해, [Noren 등, Science 244: 182(1989) 및 Ellman 등, 상기와 동일]의 절차가 사용될 수 있다. 간단히, 이들 절차에는 비-천연 발생 아미노산 잔기를 이용한 서프래서 tRNA의 화학적 활성화에 이어 RNA의 시험관내 전사 및 번역이 관여한다.

"아미노산 삽입"은 적어도 하나의 아미노산의 예정된 아미노산 서열 내로의 도입을 나타낸다. 특정 구현예에서, 삽입은 1 또는 2개 아미노산 잔기의 삽입으로 구성된다. 특정한 다른 구현예는 더 큰 "펩타이드 삽입", 예를 들면 약 3 내지 약 5개 또는 심지어 최대 약 10개 아미노산 잔기의 삽입이다. 이들 구현예에서, 삽입된 잔기(들)는 상기 개시된 바와 같은 천연 발생 또는 비-천연 발생의 것이다.

"아미노산 결실"은 예정된 아미노산 서열로부터 적어도 하나의 아미노산 잔기의 제거를 나타낸다.

"힌지 영역"은 일반적으로 인간 IgG1의 Glu216부터 Pro238까지로 정의되며, 그 중 Cys226 내지 Pro230은 '코어' 힌지 영역을 형성하는 반면(Burton, Molec. Immunol.22: 161-206(1985)), Ala231 내지 Pro238은 '하부' 힌지 영역을 형성한다. Glu216 내지 Thr225는 "상부" 힌지 영역을 형성한다. 다른 IgG 아이소타입의 힌지 영역은 중쇄-간 S-S 결합을 형성하는 제1 및 마지막 시스테인 잔기를 동일한 위치에 배치함으로써, IgG 1 서열과 정렬될 수 있다.

"C1q"는 면역글로불린의 Fc 영역에 대한 결합 부위를 포함하는 폴리펩타이드의 다량체이다. C1q는 두 세린 프로테아제, C1r 및 C1s와 함께, 보체 의존적 세포독성(CDC) 경로의 제1 성분인 복합체 C1을 형성한다. 인간 C1q는, 예를 들면 Quidel, San Diego, Calif.에서 상업적으로 구매할 수 있다.

용어 "결합 도메인"은 또 하나의 분자에 결합하는 폴리펩타이드 영역을 나타낸다. FcR의 경우, 결합 도메인은 Fc 영역의 결합에 관여되는 이들의 폴리펩타이드 사슬 부분(예를 들면 이들의 α 사슬)을 포함할 수 있다. 하나의 유용한 결합 도메인은 FcR α 사슬의 세포외 도메인이다.

용어 "항체"는 가장 광의의 개념으로 사용되며, 구체적으로 이들이 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 단클론성 항체(전장 단클론성 항체 포함), 다클론성 항체, 다중-특이적 항체(예를 들면, 이중특이적 항체), 및 항체 단편을 포괄한다.

본원에서 정의된 "항체 단편"은 일반적으로 온전한 항체의 적어도 하나의 항원 결합 또는 가변 영역 또는 항체의 Fc 영역을 포함하는 온전한 항체 부분을 포함한다. 항체 단편의 예에는 선형 항체; 단일-사슬 항체 분자; 및 항체 단편으로부터 형성된 다중-특이적 항체가 포함된다. 특정 구현예에서, 항체 단편은 힌지의 적어도 일부 및 임의로 IgG 중쇄의 CH1 영역을 보유한다. 일부 구현예에서, 항체 단편은 IgG 중쇄의 전체 불변 영역을 보유하며, IgG 경쇄가 포함된다.

본원에서 사용된 용어 "단클론성 항체"는 실질적으로 균질 항체 집단으로부터 획득된 항체를 나타낸다, 즉 집단을 이루는 개별 항체는 소량 존재할 수 있는 가능한 천연 발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단클론성 항체는 고도로 특이적이며, 단일 항원 부위에 대해 유도된다. 더욱이, 전형적으로 상이한 결정인자(에피토프)에 대해 유도된 상이한 항체를 포함하는 종래의 (다클론성) 항체 작제물과는 달리, 각각의 단클론성 항체는 항원 상의 단일 결정인자에 대해 유도된다. 수식어 "단클론성"은 항체의 실질적으로 균질한 집단으로부터 획득되는 항체의 특징을 시사하며, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 특정 구현예에서, 본 개시내용에 따라 사용될 단클론성 항체는 [Kohler 등, Nature 256:495(1975)]에 의해 최초 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조되거나, 또는 재조합 DNA 방법(예를 들면, 미국 특허 번호 4,816,567 참고)에 의해 제조될 수 있다. 일부 구현예에서 "단클론성 항체"는, 예를 들면 [Clackson 등, Nature 352:624-628(1991) 및 Marks 등, J. Mol. Biol. 222:581-597(1991)]에 기재된 기술을 이용하여 파아지 항체 라이브러리로부터 제조된다.

본원에서 단클론성 항체에는 특히 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정한 종으로부터 유도된 항체에서 상응하는 또는 특정한 항체 클래스 또는 서브클래스에 속하는 서열과 동일하거나 상동성인 "키메라성" 항체(면역글로불린)가 포함되는 반면, 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한, 사슬(들)의 나머지는 다른 종으로부터 유도된 항체에서 상응하는 또는 다른 항체 클래스 또는 서브클래스뿐만 아니라 그와 같은 항체의 단편에 속하는 서열과 동일하거나 상동성이다(미국 특허 번호 4,816,567; 및 Morrison 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855(1984)).

"장애"는 폴리펩타이드 변이체를 이용한 치료로부터 이득을 얻을 임의 상태이다. 여기에는 포유동물이 문체 장애를 갖기 쉽게 만드는 병리적 상태를 포함하는 만성 및 급성 장애 또는 질환이 포함된다. 일 구현예에서, 장애는 암이다.

본원에서 사용되는 단어 "라벨"은 폴리펩타이드에 직접적으로 또는 간접적으로 접합되는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 나타낸다. 특정 구현예에서, 라벨은 자체 검출가능하다(예를 들면, 방사선동위원소 라벨 또는 형광 라벨). 일부 다른 구현예에서, 라벨은 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변형을 촉매한다. 예시적인 구현예는 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변형을 촉매하는 효소 라벨을 포함한다.

"단리된" 핵산 분자는 이것이 폴리펩타이드 핵산의 천연 공급원에서 대개 연관되는 적어도 하나의 오염물질 핵산 분자로부터 확인되고 분리된 핵산 분자이다. 단리된 핵산 분자는 자연에서 발견되는 형태 또는 설정과 다른 것이다. 따라서 단리된 핵산 분자는 이것이 천연 세포에 존재하는 핵산 분자와 구별된다. 그러나 단리된 핵산 분자에는, 예를 들면 핵산 분자가 천연 세포와 상이한 염색체 위치에 있는, 폴리펩타이드를 대개 발현하는 세포 내에 함유된 핵산 분자가 포함된다.

표현 "조절 서열"은 특정한 숙주 유기체에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 나타낸다. 원핵생물에 적합한 조절 서열에는, 예를 들면 프로모터, 임의로 오퍼레이터 서열, 및 리보솜 결합 부위가 포함된다. 진핵생물 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호, 및 인핸서를 이용하는 것으로 공지되어 있다.

핵산은 이것이 또 하나의 핵산 서열과 기능적 관계로 놓이는 경우, "작동가능하게 연결된" 것이다. 예를 들면, 프리서열 또는 분비 리더에 대한 DNA가 폴리펩타이드의 분비에 참여하는 프리단백질로 발현되는 경우, 폴리펩타이드에 대한 DNA에 작동가능하게 연결되거나; 프로모터 또는 인핸서가 서열의 전사에 영향을 미치는 경우, 코딩 서열에 작동가능하게 연결되거나; 또는 리보솜 결합 부위가 번역을 촉진하도록 배치되는 경우, 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 일반적으로, "작동가능하게 연결된"은 연결된 DNA 서열이 인접하고, 분비 리더의 경우 인접하며 해독 상에 있음을 의미한다. 그러나 인핸서는 인접할 필요가 없다. 연결은 편리한 제한 부위에서의 절찰에 의해 달성된다. 그와 같은 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오타이드 어댑터 또는 링커가 종래 관습에 따라 사용된다.

본원에서 사용된 표현 "세포", "세포주" 및 "세포 배양"은 상호교환적으로 사용되며, 모든 그와 같은 지정에는 자손이 포함된다. 따라서, 단어 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"에는 일차 대상체 세포 및 전달 횟수와 무관하게 이로부터 유도된 배양이 포함된다. 또한 모든 자손은 유도 또는 우연한 돌연변이로 인해 DNA 함량이 정확히 동일하지 않을 수 있음이 이해된다. 본래 형질전환된 세포에서 스크리닝된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이체 자손이 포함된다. 뚜렷이 다른 지정이 의도되는 경우, 맥락에서 명확해질 것이다.

어구 "저친화도 수용체"는 관심 리간드에 대해 약한 결합 친화도를 갖는, 예를 들면 약 50 nM의 해리 상수 또는 더 나쁜 친화도를 갖는 수용체를 나타낸다. 예시적인 저친화도 수용체에는 Fc γ RII 및 Fc γ RIII이 포함된다.

본원에서 사용된 "Fc-융합"은 하나 이상의 폴리펩타이드가 Fc 영역 또는 이들의 유도체에 작동가능하게 연결되는 단백질을 의미한다. 본원에서 Fc 융합은 당해기술에서 사용되는 용어 "면역부착소", "Ig 융합", "Ig 키메라", 및 "수용체 글로불린"(때때로 대시선 포함)과의 동의어를 의미한다(Chamow 등, 1996, Trends Biotechnol 14:52-60; Ashkenazi 등, 1997, Curr Opin Immunol 9:195-200). Fc 융합은 면역글로불린의 Fc 영역과 일반적으로 임의의 단백질 또는 소분자일 수 있는 융합 파트너를 조합한다. Fc 융합의 비-Fc 부분, 즉 융합 파트너의 역할은 표적 결합을 매개하는 것이며, 따라서 항체의 가변 영역과 기능적으로 유사하다. 사실상 임의의 단백질 또는 소분자가 Fc에 연결되어 Fc 융합을 생성할 수 있다. 단백질 융합 파트너에는 비제한적으로 수용체의 표적-결합 영역, 접합 부착, 리간드, 효소, 사이토카인, 케모카인, 또는 일부 다른 단백질 또는 단백질 도메인이 포함될 수 있다. 소분자 융합 파트너에는 치료 표적에 대한 Fc 융합을 유도하는 임의의 치료제가 포함될 수 있다. 그와 같은 표적은 임의의 분자, 바람직하게는 질환에 관여되는 세포의 수용체일 수 있다. 수많은 승인된 소분자 약물의 표적인 표면 수용체의 두 패밀리는 G-단백질 커플링된 수용체(GPCRs), 및 +, Na+, Ca+ 채널을 포함하는 이온 채널이다. 현재 전세계적으로 시판되는 모든 약물의 거의 70%가 GPCRs을 표적으로 한다. 따라서 본원에 기재된 Fc 단백질은, 예를 들면 하나 이상의 GABA 수용체, 퓨린성 수용체, 아드레날린성 수용체, 히스타민성 수용체, 오피오이드 수용체, 케모카인 수용체, 글루타메이트 수용체, 니코틴 수용체, 5HT(세로토닌) 수용체, 및 에스트로겐 수용체를 표적으로 하는 소분자에 융합될 수 있다. 융합 파트너는 치료적으로 유용한 표적을 표적으로 하는 단백질의 소분자 모방체일 수 있다. Fc 융합 파트너로 작용할 수 있는 특정 약물의 구체적인 예는 [L. S. Goodman 등, Eds., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics(McGraw-Hill, New York, ed. 9, 1996)]에서 찾아볼 수 있다. 융합 파트너에는 기존 약물에 대해 공지된 표적에 결합하는 소분자

및 단백질뿐만 아니라 아직 약물 표적으로 존재하지 않는 고아 수용체가 포함된다. 게놈 및 프로테오믹스 프로젝트의 완료는 약물 발견에 추진력이 될 것으로 입증되고 있고, 이들 프로젝트는 고아 수용체의 보고를 산출하였다. 약물 표적으로서 이들 새로운 분자를 검증하고, 이들을 표적으로 하는 단백질 및 소분자 치료제를 개발할 큰 가능성이 존재한다. 그와 같은 단백질 및 소분자 치료제는 본원에 기재된 IgG Fc 작제물을 채용하는 Fc 융합 파트너로 고려된다. 하기 정의되고 기재된 다양한 링커가 Fc 융합을 생성하기 위해 융합 파트너에 Fc를 공유 연결하기 위해 사용될 수 있다.

본원에서 사용된 "표적 항원"은 주어진 항체의 가변 영역에 의해 특이적으로 결합되는 분자를 의미한다. 표적 항원은 단백질, 탄수화물, 지질, 또는 다른 화합물일 수 있다.

본원에서 사용된 "표적 세포"는 표적 항원을 발현하는 세포를 의미한다.

본 명세서 및 청구범위에 걸쳐, 면역글로불린 중쇄에서 잔기의 넘버링은 명시적으로 본원에 참고로 편입된 [Kabat 등, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. 공중 보건 서비스, 미국 국립 보건원, Bethesda, Md.(19 1)]에서의 EU 인덱스이다. "Kabat에서의 EU 인덱스"는 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 넘버링을 나타낸다.

1. IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체

감소되거나 침묵화된 효과기 기능을 갖는 이종다량체 작제물이 본원에 제공된다. 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체 작제물이 제공되며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 힌지 영역을 포함하며, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다.

감소되거나 침묵화된 효과기 기능을 갖는 이종다량체 작제물이 본원에 제공된다. 구현예에서, 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체 작제물이 제공되며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 하부 힌지 영역을 포함하고, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하며, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 하부 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다. 특정 구현예에서, 이종다량체 작제물은 본원에 기재된 변형을 갖지 않는 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 Fc γ 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 일부 구현예에서, 이종다량체 작제물은 모든 Fc γ 수용체에 대해 감소된 결합 및 적어도 하나의 Fc γ 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 특정 구현예에서, 본원에 기재된 이종다량체 작제물은 Fc γ 수용체에 대해 감소된 결합 및 C1q 단백질에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다.

제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체가 본원에 제공되며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 힌지 영역을 포함하고, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 생리적 pH 조건 근처에서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 순전하를 증가시키는 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다. 일부 구현예에서, 순전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 순 양전하의 증가이다. 구현예에서, 순 양전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 양으로 하전된 아미노산의 총 수의 증가이다. 특정 구현예에서, 순전하의 상기 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 순 음전하의 증가이다. 특정 구현예에서, 순 음전하의 증가는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 음으로 하전된 아미노산의 총 수의 증가이다. 일부 구현예에서, 이종다량체 작제물은 본원에 기재된 변형을 갖지 않는 상응하는 모 IgG Fc 작제물 작제물에 비해 Fc γ 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 특정 구현예에서, 이종다량체 작제물은 모든 Fc γ 수용체에 대해 감소된 결합 및 적어도 하나의 Fc γ 수용체에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다. 구현예에서, 본원에 기재된 이종다량체 작제물은 Fc γ 수용체에 대해 감소된 결합 및 C1q 단백질에 대해 무시해도 좋은 결합을 나타낸다.

IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체가 제공되며, 상기 IgG Fc 작제물은 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖고, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 힌지 영역을 포함하며, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역에서 양전하의 수를 증가시키는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함

하고, 여기서 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 하나 이상의 아미노산 변형과 상이한 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하고, IgG Fc 작제물은 Fc γ 수용체 또는 C1q 단백질에 결합하지 않는다.

1.1 Fc 영역 및 힌지 영역

이종다량체는 힌지 영역을 포함하는 IgG Fc 작제물(Fc 영역)을 포함한다. 항체의 Fc 영역은 전형적으로 두 폴리펩타이드 사슬을 포함하며, 각각 IgG 중쇄 폴리펩타이드의 C-말단 단편을 포함한다. 따라서, IgG Fc 작제물은 두 Fc 폴리펩타이드를 가지며, 각각 IgG 중쇄 폴리펩타이드에서 유도되고 Fc γ Rs, 보체, 및 FcRn에 대한 결합을 매개하는 영역 뿐만 아니라 힌지 영역을 포함한다.

일 구현예에서, 이종다량체는 인간 IgG 중쇄 폴리펩타이드로부터 유도된 IgG Fc 작제물을 포함한다. 몇 개의 인간 IgG 중쇄 폴리펩타이드 아형이 당해기술에 공지되어 있고 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4가 포함된다. 이들 인간 IgG 아형 중에, IgG1, IgG2, 및 IgG3은 보체를 활성화하는 것으로 공지되어 있으며, IgG1 및 IgG3은 IgG2 및 IgG4에 비해 효과기 기능 ADCC(항체-의존적 세포-매개 세포독성)를 더 효과적으로 매개한다. 일 구현예에서, 이종다량체는 인간 IgG1 중쇄 폴리펩타이드로부터 유도된 IgG Fc 작제물을 포함한다. 인간 IgG1 중쇄의 아미노산 서열은 당해기술에 공지되어 있다(예를 들면 IMGT 수납 번호 J00228 참고). 일 구현예에서, 이종다량체는 인간 IgG3 중쇄 폴리펩타이드로부터 유도된 IgG Fc 작제물을 포함한다. 인간 IgG3의 중쇄 서열은 당해기술에 공지되어 있다(예를 들면 IMGT 수납 번호 X03604 참고). 일 구현예에서, 이종다량체는 인간 IgG4 중쇄 폴리펩타이드로부터 유도된 IgG Fc 작제물을 포함한다. 인간 IgG4의 중쇄 서열은 당해기술에 공지되어 있다(예를 들면 IMGT 수납 번호 K01316 참고). 힌지 영역을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역의 아미노산 서열을 도 5에 나타낸다(서열식별 번호:1).

추가 구현예에서, 이종다량체는 IgG의 동종이형으로부터 유도된 IgG Fc 영역을 포함할 수 있다. IgG 동종이형은 당해기술에 공지되어 있다(예를 들면, Jefferies 등(2009) Mabs 1(4):332-338 참고).

일 구현예에서, IgG Fc 영역은 하기로부터 선택된, 치료 잠재성을 갖는 인간화된 단클론성 항체로부터 유도된다: 알렘투주맵, 아폴리주맵, 아셀리주맵, 아틀리주맵, 바피뉴주맵, 베바시주맵, 비바투주맵, 칸투주맵, 세텔리주맵, 세르톨리주맵 페골, 시드푸시투주맵, 시드투주맵, 다클리주맵, 에쿨리주맵, 에팔리주맵, 에프라투주맵, 에를리주맵, 펠비주맵, 폰톨리주맵, 쟈투주맵 오조가마이신, 이노투주맵 오조가마이신, 이펠리무맵, 라베투주맵, 린투주맵, 마투주맵, 메폴리주맵, 모타비주맵, 모토비주맵, 나탈리주맵, 니모투주맵, 놀로비주맵, 누마비주맵, 오크렐리주맵, 오말리주맵, 팔리바주맵, 파스콜리주맵, 펙푸시투주맵, 펙투주맵, 페르투주맵, 펙셀리주맵, 랄리비주맵, 라니바이주맵, 레슬리비주맵, 레슬리주맵, 레시비주맵, 로벨리주맵, 루폴리주맵, 시브로투주맵, 시플리주맵, 손투주맵, 타카투주맵 테트라세탄, 타도시주맵, 탈리주맵, 테피바주맵, 토실리주맵, 토랄리주맵, 트라스투주맵, 투코투주맵 셀모류킨, 투쿠시투주맵, 우마비주맵, 우르톡사주맵, 및 비실리주맵.

또 하나의 구현예에서, IgG Fc 영역은 치료적 항체, 예컨대 리톡시맵으로부터 유도된다.

IgG Fc 작제물의 각각의 Fc 폴리펩타이드는 힌지 영역을 포함하는 IgG 중쇄 폴리펩타이드 Fc 영역의 적어도 일부를 포함한다. IgG 폴리펩타이드의 Fc 영역에는 Fc 영역의 효과기 기능을 매개하는 다중 수용체에 대한 결합 부위가 포함된다. 그와 같은 수용체의 예에는 Fc γ RIa, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb, Fc γ RIIIa가 포함된다. Fc 영역은 보체 인자 C1q 단백질에 결합하는 영역을 추가로 포함한다.

인간 IgG1 중쇄 폴리펩타이드의 Fc 영역은 IgG1 중쇄의 아미노산 216-447을 포함한다(서열식별번호:2, 도 5 참고). 인간 IgG 힌지 영역의 길이 및 서열은 아래 표 1에 나타낸 IgG 아이소타입에 따라 변한다.

표 1: 인간 IgG 힌지 영역 아미노산 서열의 비교

IgG	길이	CH1	'상부' 힌지	'코어' 힌지	'하부' 힌지(CH2)
IgG1	15	VDKRV	EPKSCDKTHT	CPPCP	APELLGGP
IgG2	12	VDKTV	ELK CCVE	CPPCP	APPVAGP
IgG3	62	VDKRV	ELKTPLDGTTHT	CPRCP (EPKSCDTPPPCPRCP) _{x3}	APELLGGP
IgG4	12	VDKRV	ESKYGPP	CPSCP	APELLGGP

IgG1 폴리펩타이드의 힌지 영역은 아미노산 잔기 216 내지 238을 포함하는 반면, 인간 IgG1 폴리펩타이드의 하

부 힌지 영역은 아미노산 잔기 231 내지 238을 포함한다.

따라서 일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 각각의 Fc 폴리펩타이드는 인간 IgG1 중쇄의 아미노산 216 내지 447을 포함하며, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드에는 아미노산 잔기 216 내지 238을 포함하는 힌지 영역에서 적어도 하나의 변형이 포함되고, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 힌지 영역에서의 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, IgG Fc 작제물의 각각의 Fc 폴리펩타이드는 인간 IgG1 중쇄의 아미노산 231 내지 447을 포함하며, 여기서 상기 제1 Fc 폴리펩타이드에는 아미노산 잔기 231 내지 238을 포함하는 하부 힌지 영역에서 적어도 하나의 변형이 포함되고, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드는 제1 Fc 폴리펩타이드에서 적어도 하나의 아미노산 변형과 상이한 하부 힌지 영역에서의 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다.

1.1.2 변형된 힌지 영역에서의 아미노산 변형

IgG Fc 작제물의 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드는 크게 감소된 또는 제거된 효과기 기능을 갖는 이종다량체를 생성하기 위해 비대칭으로 변형된, 변형된 힌지 영역을 포함한다. Fc 폴리펩타이드에 대한 용어들 "제1" 및 "제2"는 각각의 IgG Fc 작제물이 하나의 제1 Fc 폴리펩타이드 및 하나의 제2 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 한, 상호 교환적으로 사용될 수 있다. 아미노산 변형은 이하에서 더 상세히 기재된 비대칭 방식으로 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드의 힌지 영역 내에 도입된다.

이종다량체는 하기 단락에 기재된 코어 아미노산 변형을 포함하는 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 포함한다.

일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 L234 및 L235의 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함한다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 L234K, L234R, L234A, L235K, L235R, 및 L235A로부터 선택된 아미노산 변형을 포함한다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 E233에서의 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 E233에서의 상기 변형은 E233A, E233K, 및 E233R으로부터 선택된다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 L234 및 L235 중 적어도 하나에서 아미노산 변형을 포함한다. 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 L234 및 L235 중 적어도 하나에서의 상기 변형은 L234A, L234K, L234R, L234D, L234E, L235K, L235R, L235E, L235A, 및 L235D로부터 선택된다. 일 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 E233에서의 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 구현예에서, 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드는 E233A 또는 E233D로부터 선택된 아미노산 변형을 포함한다.

본원에 기재된 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235K, L234K/L235K, E233A/L234R/L235R, E233K/L234R/L235R, 또는 E233K/L234A/L235K를 포함한다. 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235A, L234D/L235E, E233A/L234D/L235E, 또는 E233A/L234K/L235A를 포함한다.

본원에 기재된 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하고, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235K를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하고 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235A를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234K/L235K를 포함하고 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234R/L235R을 포함하고 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234D/L235E를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R을 포함하고 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하거나; 또는 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233K/L234A/L235K를 포함하고 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 E233A/L234K/L235A를 포함한다.

일부 구현예에서, 이종다량체는 코어 아미노산 변형을 포함하는 제1 및 제2 폴리펩타이드를 포함하고, 하기의 추가 아미노산 변형을 포함한다. 따라서 일부 구현예에서, 이종다량체가 본원에 제공되며, 여기서 상기 제1 또는 제2 Fc 폴리펩타이드 중 적어도 하나하는 D265S, E269K, K322A, P329W, 및 E333K로부터 선택된 적어도 하나

의 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 예를 들면, 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/E233K를 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/D265S를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/D265S를 포함한다. 추가 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K를 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/K322A를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/K322A를 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/P329W를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/P329W를 포함한다. 추가 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322A를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322A를 포함한다. 추가 구현예에서, 이종다량체가 본원에 기재되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함한다.

본원에 기재된 이종다량체가 제공되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/E233K를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/D265S를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234R/L235R/D265S를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/K322A를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/K322A를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/P329W를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/P329W를 포함하거나; 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322A를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322A를 포함하거나; 또는 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234D/L235E/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E233K/L234R/L235R/E269K/D265S/K322E/E333K를 포함한다.

제1 Fc 폴리펩타이드

IgG Fc 작제물의 각각의 두 Fc 폴리펩타이드는 변형된 힌지 영역을 포함한다. 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 그 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. "변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는"이란 하나 이상의 아미노산 변형을 갖는 변형된 힌지 영역이 야생형의 변형되지 않은 힌지 영역에 비해 더 큰 전체 양전하를 갖는다는 것을 의미한다. 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 다른 Fc 폴리펩타이드의 하나 이상의 아미노산 변형과 상이한 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 본원에서 사용되는 비대칭 아미노산 변형은 하나의 폴리펩타이드(예를 들면, "제1 폴리펩타이드") 상의 특정 위치에서의 아미노산이 동일한 위치에서 제2 폴리펩타이드(예를 들면, "제2 폴리펩타이드") 상의 아미노산과 상이한 임의의 변형이다. 이것은 IgG Fc 작제물의 제1 또는 제2 폴리펩타이드와 상이한 두 아미노산으로의 두 아미노산 중 단 하나의 변형 또는 두 아미노산 모두의 변형 결과일 수 있다.

예를 들면, 제1 Fc 폴리펩타이드가 아미노산 변형 L235K를 포함하는 경우, 상이한 아미노산 변형에는 힌지 영역에서 다른 아미노산, 예컨대 L234 또는 E233의 변형, 또는 L235K가 아닌 L235의 변형, 예컨대 L235A 또는 L235D가 포함될 것이다. 따라서 일 구현예에서, 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하며, 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 2 이상의 아미노산 변형과 상이한 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 2 이상의 아미노산 변형을 포함하며, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 하나 이상의 아미노산 변형과 상이한 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. 대안적 구현예에서, 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 2 이상의 아미노산 변형을 포함하며, 상기 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 상기 제1 Fc 폴리펩타이드의 2 이상의 아미노산 변형과 상이한 2 이상의 아미노산 변형을 포함한다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역이 하나의 아미노산 변형을 포함하는

경우, 중성 또는 음으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산을 양으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환하는 아미노산 변형이 수행된다. 예를 들면, 힌지 영역의 L234 또는 L235는 Lys(K), Orn(O) 또는 Arg(R)로 치환될 수 있다. 따라서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역이 하나의 아미노산 변형을 포함하는 구현예에서, 인간 IgG1의 하부 힌지 영역의 하기 아미노산 잔기가 Lys, Orn, 또는 Arg으로 치환될 수 있다: A231, P232, E233, L234, L235, G236, G237, 또는 P238.

제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역이 2 이상의 아미노산 변형을 포함하는 구현예에서, 변형의 조합의 전체적 결과는 변형된 힌지 영역에서 양전하의 증가이다. 양전하의 상기 전체적 증가는 음으로 하전된 또는 중성 측쇄를 갖는 아미노산을 양으로 하전된 측쇄 또는 중성 측쇄를 갖는 아미노산으로 치환하는 아미노산 변형의 조합에서 생성될 수 있다. 예를 들면, 일 구현예에서, IgG1 IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 하부 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 2 이상의 아미노산 변형은 2 이상의 아미노산 변형의 조합이 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 한, E233K, E233R, E233A, L234K, L234R, L234A, L235K, L235R, 및 L235A로부터 선택될 수 있다. 유사하게, 힌지 영역 내의 다른 아미노산 변형은 이들이 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 한 수행될 수 있다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 L234 또는 L235에서의 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 L234 및 L235에서의 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 L234, L235 또는 E233에서의 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 L234 및 E233에서의 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 L235 및 E233에서의 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 변형된 힌지 영역의 양전하를 증가시키는 L234, L235 및 E233에서의 아미노산 변형을 포함한다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L234A/L235K, E233A/L234R/L235R, E233K/L234R/L235R, 또는 E233K/L234A/L235K를 포함하는 변형된 힌지 영역을 포함한다.

제2 Fc 폴리펩타이드

일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 제1 Fc 폴리펩타이드의 아미노산 변형과 상이하며, 변형된 힌지 영역의 음전하를 증가시키거나 야생형 힌지 영역에 비해 전하가 중성인 하나 이상의 아미노산 변형을 포함한다. "변형된 힌지 영역의 음전하를 증가시키는"이란 하나 이상의 아미노산 변형을 갖는 IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역이 야생형, 변형되지 않은 힌지 영역보다 큰 전체적 음전하를 갖는다는 것을 의미한다. "전하가 중성인"이란 하나 이상의 아미노산 변형이 야생형 힌지 영역에 비해 IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역의 전체적 전하의 변화를 야기하지 않음을 의미한다. 따라서, IgG Fc 작제물의 제2 폴리펩타이드의 아미노산 변형에는 중성 측쇄를 갖는 아미노산을 음으로 하전된 측쇄, 양으로 하전된 측쇄 또는 상이한 중성 측쇄를 갖는 아미노산으로 대체하는 아미노산 변형, 및/또는 음으로 하전된 측쇄를 갖는 아미노산을 중성 측쇄를 갖는 아미노산으로 대체하는 아미노산 변형의 조합이 포함된다. 이들 아미노산 변형의 조합은 이들이 변형된 힌지 영역의 음전하를 증가시키거나 또는 야생형 힌지 영역에 비해 전하가 중성인 한 적합하다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드는 L234 또는 L235에서 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드는 L234 및 L235에서 아미노산 변형을 포함한다. 일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드는 L234A, L234K, L234R, L234D, L234E, L235K, L235R, L235E, L235A, 및 L235D로부터 선택된 아미노산 변형을 포함한다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드는 L234 및/또는 L235, 및 E233에서 아미노산 변형을 포함한다. 일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드 L234A, L234K, L234R, L234D, L234E, L235K, L235R, L235E, L235A, L235D, E233A 및 E233D로부터 선택된 아미노산 변형을 포함한다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물의 제2 Fc 폴리펩타이드의 변형된 힌지 영역은 아미노산 변형 L234A/L235A, L234D/L235E, E233A/L234D/L235E, 또는 E233A/L234K/L235A를 포함한다.

2. IgG Fc 작제물에 대한 다른 변형

일부 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 아래에 기재된 추가 변형을 포함한다.

본 발명의 일 구현예에서, 이종다량체는 이종이량체 Fc 영역의 형성을 촉진하도록 추가 변형된, 변형된 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 IgG Fc 작제물을 포함한다. 그와 같은 추가 변형된 Fc 폴리펩타이드는 이종특이적 항체의 맥락에서 이종다량체의 생산에 유용하다. 일 구현예에서, Fc 폴리펩타이드는 이종이량체 Fc 영역의 형성을 촉진하는 아미노산 변형을 갖는 변이체 CH3 도메인을 포함한다. 적합한 변이체 CH3 도메인은 당해기술에 공지되어 있고, 예를 들면 국제 특허 공개 번호 WO 2012/058768, 및 U.S. 특허 번호 5,821,333, 7,695,936에 기재된 것들이 포함된다. 일 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 상기 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드 중 하나는 CH3 아미노산 변형 T366L/N390R/K392M/T394W를 포함하며 다른 Fc 폴리펩타이드는 CH3 아미노산 변형 L351Y/S400E/F405A/Y407V를 포함한다.

이종이량체 Fc 형성을 촉진하기 위해 Fc 폴리펩타이드를 변형하는 추가 방법은 [국제 특허 공개 번호 WO 96/027011(knobs into holes), Gunasekaran 등(Gunasekaran K. 등(2010) J Biol Chem. 285, 19637-46, electrostatic design to achieve selective heterodimerization), Davis 등(Davis, JH. 등(2010) Prot Eng Des Sel;23(4): 195-202, Strand exchange engineered domain(SEED) 기술), 및 Moore 등(2011) Mabs 3:6, 546-557]에 기재된다.

일 구현예에서, 이종다량체는 이종이량체 Fc 영역의 형성을 촉진하는 아미노산 변형을 추가로 포함하는 IgG Fc 작제물을 포함한다. 일 구현예에서, 이종다량체는 이종이량체 Fc 영역의 형성을 촉진하는 각각의 Fc 폴리펩타이드의 CH3 영역에서 아미노산 변형을 추가로 포함하는 IgG Fc 작제물을 포함한다.

일부 구현예에서, 이종다량체는 CH2 도메인의 용융 온도로 결정되는, IgG Fc 작제물의 안정성을 증가시키는 아미노산 변형을 추가로 포함하는 IgG Fc 작제물을 포함한다. 적합한 아미노산 변형은 당해기술에 공지되어 있고, 예를 들면 국제 특허 출원 번호 PCT/CA2012/050780에 기재된 것들이 포함된다. 구체적으로 일 구현예에서, 이종다량체는 제1 Fc 폴리펩타이드 및 제2 Fc 폴리펩타이드 모두에서 아미노산 변형 T350V를 포함하는 IgG Fc 작제물을 포함한다.

제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체가 제공되며, 여기서 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E269Q/D270N을 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 E269K/D270R을 포함하거나; 또는 상기 제1 Fc 폴리펩타이드는 아미노산 변형 L235K/A327K를 포함하며 제2 Fc 폴리펩타이드는 힌지 또는 하부 힌지 영역에서 변형을 포함하지 않고; 여기서 IgG Fc 작제물은 상응하는 모 IgG Fc 작제물에 비해 모든 Fc γ 수용체 및 C1q 단백질에 대해 감소된 결합을 나타낸다.

일 구현예에서, Fc는 IgG1 Fc 작제물, 및 IgG2 Fc 작제물, IgG3 Fc 작제물, 또는 IgG4 Fc 작제물이다.

일부 구현예에서, IgG Fc 작제물은 야생형 동종이량체 Fc에 필적하는 안정성을 갖는 이종이량체 Fc의 형성을 촉진하는 적어도 하나의 아미노산 변형을 갖는 적어도 하나의 CH3 도메인을 포함한다. 예시적인 변형이 아래에 기재된다. 일부 구현예에서, 이종이량체 Fc의 이량체화된 CH3 도메인은 약 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 77.5, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 또는 85°C 또는 그 초과인 시차주사열량계(DSC)로 측정된 용융 온도(T_m)를 갖는다. 일부 구현예에서, 이량체 Fc는 생산된 경우 약 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 초과 순도로 형성되는 이종이량체이거나; 또는 Fc는 발현된 경우 또는 단일 세포를 통해 발현된 경우 약 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 초과 순도로 형성된 이종이량체이다.

일부 측면에서, Fc는 C_{H3} 서열의 적어도 하나에서 하나 이상의 변형을 포함한다. 일부 측면에서, Fc는 C_{H2} 서열의 적어도 하나에서 하나 이상의 변형을 포함한다.

일부 측면에서, Fc는 이들 각각의 전체 개시내용이 모든 목적을 위해 그 전문이 참고로 본원에 편입되는 2011. 11. 4.에 출원된 특허 출원 PCT/CA2011/001238, 또는 2012. 11. 2.에 출원된 PCT/CA2012/050780에 기재된 Fc이다.

일부 측면에서, 본원에 기재된 Fc 작제물은 비대칭으로 변형된, 변형된 CH3 도메인을 포함하는 이종이량체 Fc를 포함한다. 이종이량체 Fc는 Fc가 하나의 제1 중쇄 폴리펩타이드 및 하나의 제2 중쇄 폴리펩타이드를 포함하는 한, 상호교환적으로 사용될 수 있는 두 중쇄 불변 도메인 폴리펩타이드: 제1 중쇄 폴리펩타이드 및 제2 중쇄 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 일반적으로, 제1 중쇄 폴리펩타이드는 제1 CH3 서열을 포함하며, 제2 중쇄 폴리펩타이드는 제2 CH3 서열을 포함한다.

비대칭 방식으로 도입된 하나 이상의 아미노산 변형을 포함하는 두 CH3 서열은 두 CH3 서열이 이량체화되는 경우 일반적으로 동종이량체보다는 이종이량체 Fc를 생성한다. 본원에서 사용되는 "비대칭 아미노산 변형"은 제1 CH3 서열 상의 특정 위치에서의 아미노산이 동일한 위치에서 제2 CH3 서열 상의 아미노산과 상이한 임의 변형을 나타내며, 제1 및 제2 CH3 서열은 우선적으로 페어링하여 동종이량체보다는 이종이량체를 형성한다. 상기 이종이량체화는 각각의 서열 상의 동일한 각 아미노산 위치에서 두 아미노산 중 단 하나의 변형; 또는 제1 및 제2 CH3 서열 각각에서 동일한 각 위치에서 각각의 서열 상의 두 아미노산 모두의 변형 결과일 수 있다. 이종이량체 Fc의 제1 및 제2 CH3 서열은 하나 또는 둘 이상의 비대칭 아미노산 변형을 포함할 수 있다.

표 X는 전장 인간 IgG1 중쇄의 아미노산 231 내지 447에 상응하는 인간 IgG1 Fc 서열의 아미노산 서열을 제공한다. CH3 서열은 전장 인간 IgG1 중쇄의 아미노산 341-447을 포함한다. 전형적으로 Fc에는 이량체화할 수 있는 두 인접 중쇄 서열(A 및 B)이 포함될 수 있다. 일부 측면에서, Fc의 하나 또는 두 서열 모두에는 하기 위치에서 하나 이상의 돌연변이 또는 변형이 포함된다: EU 넘버링을 이용하여, L351, F405, Y407, T366, K392, T394, T350, S400, 및/또는 N390. 일부 측면에서, Fc에는 표 X에 나타난 돌연변이체 서열이 포함된다. 일부 측면에서, Fc에는 변이체 1 A-B의 돌연변이가 포함된다. 일부 측면에서, Fc에는 변이체 2 A-B의 돌연변이가 포함된다. 일부 측면에서, Fc에는 변이체 3 A-B의 돌연변이가 포함된다. 일부 측면에서, Fc에는 변이체 4 A-B의 돌연변이가 포함된다. 일부 측면에서, Fc에는 변이체 5 A-B의 돌연변이가 포함된다.

표 X: 예시적인 Fc 서열 및 CH3 변형

인간 IgG1 Fc 서열 231-447(EU-넘버링)	APELLGGPSVFLFPPKPKDILMI SRTP EVT C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K (서열식별번호:70)	
변이체 IgG1 Fc 서열(231-447)	사슬	돌연변이
1	A	L351Y_F405A_Y407V
1	B	T366L_K392M_T394W
2	A	L351Y_F405A_Y407V
2	B	T366L_K392L_T394W
3	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
3	B	T350V_T366L_K392L_T394W
4	A	T350V_L351Y_F405A_Y407V
4	B	T350V_T366L_K392M_T394W
5	A	T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V
5	B	T350V_T366L_N390R_K392M_T394W

제1 및 제2 CH3 서열은 전장 인간 IgG1 중쇄의 아미노산 231 내지 447에 대해 본원에 기재된 아미노산 돌연변이를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 이종이량체 Fc는 위치 F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 갖는 제1 CH3 서열 및 위치 T394에서 아미노산 변형을 갖는 제2 CH3 서열을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 이종이량체 Fc는 L351Y, F405A, 및 Y407V로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 변형을 갖는 제1 CH3 서열, 및 T366L, T366I, K392L, K392M, 및 T394W로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 변형을 갖는 제2 CH3 서열을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함한다.

일 구현예에서, Fc 작제물은 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 갖는 제1 CH3 서열, 및 위치 T366, K392, 및 T394에서 아미노산 변형을 갖는 제2 CH3 서열을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함하는 이종이량체 Fc를 포함하며, 제1 또는 제2 CH3 서열 중 하나는 위치 Q347에서 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 다른 CH3 서열은 위치 K360에서 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종이량체 Fc는 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 갖는 제1 CH3 서열, 및 위치 T366, K392, 및 T394에서 아미노산 변형을 갖는 제2 CH3 서열을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함하며, 제1 또는 제2 CH3 서열 중 하나는 위치 Q347에서 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 다른 CH3 서열은 위치 K360에서 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 상기 CH3 서열 중 하나 또는 둘 다는 아미노산 변형 T350V를 추가로 포함한다.

일 구현예에서, 본원에 제공된 Fc 작제물은 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 갖는 제1 CH3 서열, 및 위치 T366, K392, 및 T394에서 아미노산 변형을 갖는 제2 CH3 서열을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함하

는 이종이량체 Fc를 포함하며, 상기 제1 및 제2 CH3 서열 중 하나는 아미노산 변형 D399R 또는 D399K를 추가로 포함하고, 다른 CH3 서열은 T411E, T411D, K409E, K409D, K392E 및 K392D 중 하나 이상을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종이량체 Fc는 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 갖는 제1 CH3 서열, 및 위치 T366, K392, 및 T394에서 아미노산 변형을 갖는 제2 CH3 서열을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함하며, 상기 제1 및 제2 CH3 서열 중 하나는 아미노산 변형 D399R 또는 D399K를 추가로 포함하고, 다른 CH3 서열은 T411E, T411D, K409E, K409D, K392E 및 K392D 중 하나 이상을 포함하며, 상기 CH3 서열 중 하나 또는 둘 다는 아미노산 변형 T350V를 추가로 포함한다.

일 구현예에서, 이종이량체 Fc는 위치 L351, F405 및 Y407에서 아미노산 변형을 갖는 제1 CH3 서열, 및 위치 T366, K392, 및 T394에서 아미노산 변형을 갖는 제2 CH3 서열을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함하며, 상기 CH3 서열 중 하나 또는 둘 다는 아미노산 변형 T350V를 추가로 포함한다.

일 구현예에서, 이종이량체 Fc는 하기 아미노산 변형을 포함하는 변형된 CH3 도메인을 포함하며, 여기서 "A"는 제1 CH3 서열에 대한 아미노산 변형을 나타내며, "B"는 제2 CH3 서열에 대한 아미노산 변형을 나타낸다:
A:L351Y_F405A_Y407V, **B:**T366L_K392M_T394W, **A:**L351Y_F405A_Y407V, **B:**T366L_K392L_T394W,
A:T350V_L351Y_F405A_Y407V, **B:**T350V_T366L_K392L_T394W, **A:**T350V_L351Y_F405A_Y407V,
B:T350V_T366L_K392M_T394W, **A:**T350V_L351Y_S400E_F405A_Y407V, 및/또는 **B:**T350V_T366L_N390R_K392M_T394W.

하나 이상의 비대칭 아미노산 변형은 이종이량체 Fc의 형성을 촉진할 수 있으며, 여기서 이종이량체 CH3 도메인은 야생형 동종이량체 CH3 도메인에 필적하는 안정성을 갖는다. 구현예에서, 하나 이상의 비대칭 아미노산 변형은 이종이량체 Fc 도메인의 형성을 촉진하며, 여기서 이종이량체 Fc 도메인은 야생형 동종이량체 Fc 도메인에 필적하는 안정성을 갖는다. 구현예에서, 하나 이상의 비대칭 아미노산 변형은 이종이량체 Fc 도메인의 형성을 촉진하며, 여기서 이종이량체 Fc 도메인은 시차주사열량계 연구에서 용융 온도(Tm)를 통해 관찰된 안정성을 갖고, 용융 온도는 상응하는 대칭 야생형 동종이량체 Fc 도메인에 대해 관찰된 것의 4°C 이내이다. 일부 측면에서, Fc는 야생형 동종이량체 Fc에 필적하는 안정성을 갖는 이종이량체 Fc의 형성을 촉진하는 C₄₃ 서열의 적어도 하나에서의 하나 이상의 변형을 포함한다.

일 구현예에서, CH3 도메인의 안정성은, 예를 들면 시차주사열량계(DSC)에 의해 CH3 도메인의 용융 온도를 측정하여 평가될 수 있다. 따라서, 추가 구현예에서, CH3 도메인은 약 68°C 이상의 용융 온도를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, CH3 도메인은 약 70°C 이상의 용융 온도를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, CH3 도메인은 약 72°C 이상의 용융 온도를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, CH3 도메인은 약 73°C 이상의 용융 온도를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, CH3 도메인은 약 75°C 이상의 용융 온도를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, CH3 도메인은 약 78°C 이상의 용융 온도를 갖는다. 일부 측면에서, 이량체화된 C₄₃ 서열은 약 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 77.5, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 또는 85°C 이상의 용융 온도(Tm)를 갖는다.

일부 구현예에서, 변형된 CH3 서열을 추가로 포함하는 이종이량체 Fc를 포함하는 Fc 작제물은 발현된 생성물에서 동종이량체 Fc에 비해 적어도 약 75%의 순도로 형성될 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 이종이량체 Fc는 약 80% 초과 순도로 형성된다. 또 하나의 구현예에서, 이종이량체 Fc는 약 85% 초과 순도로 형성된다. 또 하나의 구현예에서, 이종이량체 Fc는 약 90% 초과 순도로 형성된다. 또 하나의 구현예에서, 이종이량체 Fc는 약 95% 초과 순도로 형성된다. 또 하나의 구현예에서, 이종이량체 Fc는 약 97% 초과 순도로 형성된다. 일부 측면에서, Fc는 발현된 경우 약 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 초과 순도로 형성된 이종이량체이다. 일부 측면에서, Fc는 단일 세포를 통해 발현된 경우 약 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 또는 99% 초과 순도로 형성된 이종이량체이다.

이종이량체 Fc 형성을 촉진하기 위해 단량체 Fc 폴리펩타이드를 변형하는 추가 방법은 [국제 특허 공개 번호 WO 96/027011(knobs into holes), Gunasekaran 등(Gunasekaran K. 등(2010) J Biol Chem. 285, 19637-46, electrostatic design to achieve selective heterodimerization), Davis 등(Davis, JH. 등(2010) Prot Eng Des Sel; 23(4): 195-202, strand exchange engineered domain(SEED) 기술), 및 Labrijn 등[Efficient generation of stable bi-specific IgG1 by controlled Fab-arm exchange. Labrijn AF, Meesters JI, de Goeij BE, van den Bremer ET, Neijssen J, van Kampen MD, Strumane K, Verploegen S, Kundu A, Gramer MJ, van Berkel PH, van de Winkel JG, Schuurman J, Parren PW. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Mar 26;110(13):5145-50]에 기재된다.

3. 이종다량체의 기능적 특성

본 발명에 따른 이종다량체는 Fc γ Rs 및 C1q에 대해 크게 감소된/제거된 결합을 나타낸다. 또한, 특정 구현예에서, 이종다량체는 또한 추가의 바람직한 특성, 예컨대 안정성, FcRn에 결합하는 능력, 및 원하지 않는 생성물 또는 불순물로부터 원하는 발현 생성물의 정제를 촉진하는 특성을 나타낸다.

일 구현예에서, 본 발명은 Fc γ R 수용체에 측정가능하게 결합하지 않지만 FcRn에 결합하는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체를 고려하며, 이는 생체내 항체의 반감기는 중요하지만 효과기 기능(예컨대 CDC, ADCP 및 ADCC)은 불필요하거나 유해한 적용에 대해 바람직한 후보가 되게 한다.

Fc γ Rs 또는 C1q에 결합하는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체의 능력을 결정하는 방법은 당해기술에 공지되어 있고 본원에서 다른 곳에 기재된다.

3a. Fc γ R 및 보체에 대해 감소된/제거된 결합

본 발명에 따른 이종다량체는 모 폴리펩타이드에 비해 Fc γ R 및 C1q에 대해 감소된/제거된 결합을 나타낸다. 일 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 모 폴리펩타이드의 K_D보다 적어도 5배 높은 Fc γ Rs 및 C1q에 대한 K_Ds를 나타낸다. 또 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 당해기술에 공지된 결합 분석에 의해 측정된, 모 폴리펩타이드보다 적어도 10배 높은 Fc γ Rs 및 C1q에 대한 K_Ds를 나타낸다. 비제한적으로 FRET(형광 공명 에너지 전달) 및 BRET(생물발광 공명 에너지 전달)-기반 분석, AlphaScreen™(증폭된 발광 근접 균질 분석), 섬광 근접 분석, ELISA(효소-결합 면역흡착 분석), SPR(표면 플라즈몬 공명, Biacore™로도 공지됨), 등은 적정 열량측정, 시차주사열량측정, 겔 전기영동, 및 겔 여과를 포함하는 크로마토그래피를 포함하는 결합 분석이 당해기술에 공지되어 있다. 이들 및 다른 방법은 항체의 일부 용해 파트너 또는 라벨의 이점을 취할 수 있다. 분석은 비제한적으로 발색, 형광, 발광, 또는 동위원소 라벨을 포함하는 다양한 검출 방법을 채용할 수 있다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체는 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 측정된, Fc γ RIIaH에 대해 5 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIaR에 대해 10 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIb에 대해 30 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIIaF에 대해 20 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIIaV에 대해 6 μ M 초과 K_D, 및 Fc γ RIa에 대해 6.5 nM 초과 K_D를 갖는다. 또 하나의 구현예에서, IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체는 표면 플라즈몬 공명(SPR)으로 측정된, Fc γ RIIaH에 대해 10 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIaR에 대해 10 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIb에 대해 10 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIIaF에 대해 6 μ M 초과 K_D, Fc γ RIIIaV에 대해 6 μ M 초과 K_D, Fc γ RIa에 대해 30 nM 초과 K_D를 가지며, C1q에 결합하지 않는다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체는 표준 분석에 의해 측정된, 검출가능한 수준의 ADCC, ADCP, 및 CDC를 나타내지 않는다. 효과기 기능을 평가하기 위한 표준 분석의 비-제한적인 예에는 본원에 제공된 실시예에 기재된 것들이 포함된다.

3b. 안정성

예를 들면 안정성을 포함하는 이종다량체의 생체물리학적 특성은 당해기술에서 공지된 다양한 방법을 이용해서 평가된다. 단백질 안정성은 폴딩된 및 언폴딩된 상태 간에 열역학적 평형을 측정하여 결정될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 이종다량체는 화학적 변성제, 열 또는 pH를 이용하여 언폴딩될 수 있고, 상기 전이는 비제한적으로 원형 2색성 분광학, 형광 분광학, 흡광도 분광학, NMR 분광학, 열량측정, 및 단백질분해를 포함하는 방법을 이용해서 모니터링될 수 있다. 당해기술의 숙련가에 의해 인지될 바와 같이, 폴딩 및 언폴딩 전이의 동력학 파라미터도 이들 및 다른 기술을 이용해서 모니터링될 수 있다. 이종다량체의 용해도 및 전체적 구조 완전성은 당해기술에 공지되어 있는 광범위한 방법을 이용해서 정량적으로 또는 정성적으로 결정될 수 있다.

이종다량체의 생체물리학적 특성을 분석하기 위해 사용될 수 있는 방법에는 겔 전기영동, 등전점 전기영동, 모세관 전기영동, 크로마토그래피, 예컨대 크기 배제 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 및 역상 고성능 액체 크로마토그래피, 펩타이드 맵핑, 올리고당 맵핑, 질량 분광분석, 자외선 흡광도 분광학, 형광 분광분석, 원형 2색성 분광학, 등은 적정 열량측정, 시차주사열량측정, 분석적 초원심분리, 역학적 광 산란, 단백질분해, 및 가교결합, 탁도 측정, 필터 지연 분석, 면역학적 분석, 형광 염료 결합 분석, 단백질-염색 분석, 현미경검사, 및 ELISA 또는 다른 결합 분석을 통한 응집물 검출이 포함된다. X-선 결정 기술 및 NMR 분광분석을 채용하는 구조적 분석도 용도를 찾을 수 있다. 일 구현예에서, 안정성 및/또는 용해도는 일부 정의된 기간 후

단백질 용액의 양을 결정하여 측정될 수 있다. 이 분석에서, 단백질은 일부 극단적인 조건, 예를 들면 고온, 낮은 pH 또는 변성제의 존재에 노출되거나 노출되지 않을 수 있다. 기능은 전형적으로 안정한, 가용성인, 및/또는 잘 폴딩된/구조화된 단백질을 필요로 하며, 상기 언급된 기능적 및 결합 분석은 또한 그와 같은 측정을 수행하기 위한 방식을 제공한다. 예를 들면, 이종다량체를 포함하는 용액은 표적 항원에 결합하는 능력에 대해 분석된 후 하나 이상의 정의된 기간 동안 승온에 노출되고 이어서 항원 결합에 대해 다시 분석될 수 있다. 언폴딩된 및 응집된 단백질은 항원에 결합할 수 있을 것으로 기대되지 않으므로, 잔여 활성의 양은 항체의 안정성 및 용해도의 척도를 제공한다.

일 구현예에서, IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체의 하나 이상의 도메인의 용융 온도에 의해 측정되어 안정하다. 이종다량체의 용융 온도는 당해기술에서 공지된 방법 및 본원에서 다른 곳에 더 상세히 기재된 방법에 따라 결정될 수 있다. 예를 들면, 이종다량체의 용융 온도는 생성된 이종다량체의 시차 주사 열량측정(DSC), 및 온도기록도에 의해 결정될 수 있다. 일 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 온도기록도에서 IgG Fc 작제물의 용융 개시는 65°C 이상이다. 일 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 온도기록도에서 IgG Fc 작제물의 용융 개시는 66°C 이상이다. 일 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 온도기록도에서 IgG Fc 작제물의 용융 개시는 68°C 이상이다. 일 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 온도기록도에서 IgG Fc 작제물의 용융 개시는 70°C 이상이다.

또 하나의 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 폴리펩타이드 또는 항체의 CH2 도메인의 용융 온도 이상인 용융 온도를 갖는 CH2 도메인을 갖는다. 일 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 도메인의 용융 온도보다 약 1 내지 2°C 높은 용융 온도를 갖는 CH2 도메인을 갖는다. 일 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 도메인의 용융 온도보다 약 2 내지 3°C 높은 용융 온도를 갖는 CH2 도메인을 갖는다. 일 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 도메인의 용융 온도보다 약 1 내지 2°C 높은 용융 온도를 갖는 CH2 도메인을 가지며, 여기서 이종다량체는 AAC4 및 AAC5로 예시된 아미노산 변형을 포함한다. 일 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 도메인의 용융 온도보다 약 2 내지 3°C 높은 용융 온도를 갖는 CH2 도메인을 가지며, 여기서 이종다량체는 AAC2, AAC9, AAC10, AAC11, AAC12, AAC13, AAC14, 및 AAC15로 예시된 아미노산 변형을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 이종다량체는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 IgG Fc 작제물은 모 CH2 도메인의 용융 온도보다 약 4°C 높은 용융 온도를 갖는 CH2 도메인을 가지며, 여기서 이종다량체는 AAC6으로 예시된 아미노산 변형을 포함한다.

3c. FcRn 결합

당해기술에 공지된 바와 같이, FcRn에 대한 결합은 세포내 이입된 항체를 엔도솜으로부터 혈류로 다시 재순환시킨다(Raghavan 등, 1996, Annu Rev Cell Dev Biol 12:181-220; Ghetie 등, 2000, Annu Rev Immunol 18:739-766). 상기 절차는 전장 분자의 큰 크기로 인한 신장 여과의 배제와 함께, 1 내지 3주 범위의 우호적인 항체 혈청 반감기를 일으킨다. Fc의 FcRn에 대한 결합은 또한 항체 수송에서 중요한 역할을 담당한다. 따라서 일 구현예에서, 본 발명의 이종다량체는 FcRn에 결합할 수 있다.

4. 이종다량체의 형식

4a. 항원-결합 도메인

일 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물로만 구성된다. 다른 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물 및 하나 이상의 항원 결합 도메인을 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물 및 하나의 항원-결합 도메인을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물 및 두 항원 결합 도메인을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물 및 3 항원 결합 도메인을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물 및 4 항원 결합 도메인을 포함한다. 또 하나의 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물 및 최대 6 항원 결합 도메인을 포함한다.

항원-결합 도메인은 당해기술에 공지된 방법에 따라 IgG Fc 작제물에 융합될 수 있다.

일 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 적어도 하나의 항원-결합 도메인을 포함하는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 적어도 하나의 항원-결합 도메인은 Fab 단편, scFv, sdAb, 항원 결합 펩타이드, Fc 융합 단백질, 또는 항원에 결합할 수 있는 단백질 도메인으로부터 선택된다.

일 구현예에서, 이종다량체는 적어도 하나의 항원-결합 도메인을 포함하는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 여기서 적어도 하나의 항원-결합 도메인은 IL-2R의 α -사슬(CD25), 아밀로이드 베타, EpCAM, CD3, BlyS(또는 BAFF), CD11a, CD20, CD22, CD23, CD3, CD4, CD52, CD80, CTLA-4, EGFR, RSV의 F 단백질, G250, 당단백질 I1b/IIIa R, HER2, HER2/neu 수용체, Hsp90, IgE 항체, IL-12/IL-23, IL-1 β , IL-5, IL-6 수용체, 인테그린 알파-4/베타-1, 뮤신 16/CA-125, RAN L, TNF 알파, VEGF-A, 및 다른 치료적으로 유리한 표적으로부터 선택된 표적 항원에 결합한다.

일 구현예에서, 이종다량체는 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 갖는 IgG Fc 작제물을 포함하며, 각각의 Fc 폴리펩타이드는 변형된 힌지 영역을 포함하고, 여기서 이종다량체는 하기로부터 선택된 치료 잠재성을 갖는 인간화된 단클론성 항체로부터 유도된다: 알렘투주맙, 아폴리주맙, 아셀리주맙, 아틀리주맙, 바피뉴주맙, 베바시주맙, 비바투주맙 메르탄신, 칸투주맙 메르탄신, 세델리주맙, 세르톨리주맙 페골, 시드푸시투주맙, 시드투주맙, 다클리주맙, 에컬리주맙, 에팔리주맙, 에프라투주맙, 에를리주맙, 펠비주맙, 폰톨리주맙, 쟈투주맙 오조가마이신, 이노투주맙 오조가마이신, 이필리무맙, 라베투주맙, 린투주맙, 마투주맙, 메폴리주맙, 모타비주맙, 모토비주맙, 나탈리주맙, 니모투주맙, 놀로비주맙, 누마비주맙, 오크렐리주맙, 오말리주맙, 팔리바주맙, 파스폴리주맙, 펙푸시투주맙, 펙투주맙, 페르트주맙, 펙셀리주맙, 말리비주맙, 라니바이주맙, 레슬리비주맙, 레슬리주맙, 레시비주맙, 로벨리주맙, 루폴리주맙, 시브로투주맙, 시폴리주맙, 손투주맙, 타카투주맙 테트라세탄, 타도시주맙, 탈리주맙, 테피바주맙, 토실리주맙, 토랄리주맙, 트라스투주맙, 투코투주맙 셀모류킨, 투쿠시투주맙, 우마비주맙, 우르톡사주맙, 및 비실리주맙.

또 하나의 구현예에서, 이종다량체는 치료적 항체, 예컨대 리톡시맙 또는 트라스투주맙으로부터 유도된 IgG Fc 작제물을 포함한다.

4b. 항체-약물 콘주게이트

본 발명에 따른 이종다량체는 IgG Fc 작제물 및/또는 이종다량체의 다른 도메인에 연결된 하나 이상의 독성 약물 분자를 포함할 수 있음이 추가로 고려된다. 독성 약물 분자에는 세포의 기능을 저해하거나 예방하고/하거나 세포 파괴를 유도하는 물질이 포함된다. 일 구현예에서, 하나 이상의 독성 약물 분자는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체에 연결될 수 있다. 또 하나의 구현예에서, 하나 이상의 독성 약물 분자는 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체 및 적어도 하나의 항원-결합 도메인에 연결될 수 있다. IgG Fc 작제물에 연결될 수 있는 적합한 독성 약물 분자는 방사성 동위원소(예를 들면 At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} 및 Lu의 방사성 동위원소), 화학치료제, 및 독소, 예컨대 소분자 독소 또는 이들의 단편 및/또는 변이체를 포함하는 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성 독소로부터 선택된다.

IgG Fc 작제물에 연결될 수 있는 적합한 화학치료제는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 CYTOXAN® 사이클로포스파미드; 알킬 설포네이트, 예컨대 부셀판, 임프로셀판 및 피포셀판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카보쿠온, 메투레도파, 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아멜라민, 예컨대 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸올로멜라민; 아세토게닌(특히 불라타신 및 불라타시논); 델타-9-테트라하이드로칸나비놀(드로나비놀, MARINOL®); 베타-라파론; 라파골; 콜히친; 베툴린산; 캄프토테신(합성 유사체 토포테인(HYCAMTIN®), CPT-11(이리노테칸, CAMPTOSAR®), 아세틸캄프토테신, 스크폴렉틴, 및 9-아미노캄프토테신 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(그 아도젤레신, 카르젤레신 및 바이젤레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포사이드; 크립토파이신(특히 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신(합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘류테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕티인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로르암부실, 클로르나파진, 콜로포스파마이드, 에스트라무스틴, 이포스파마이드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 하이드로클로라이드, 멜팔란, 노뱌비친, 펜에스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 나이트로스우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라님누스틴; 항생제, 예컨대 엔디인 항생제(예를 들면, 칼리키아마이신, 특히 칼리키아마이신 감마I1 및 칼리키아마이신 오메가I1(예를 들면, Agnew, Chem Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186(1994) 참고); 다이네마이신, 다이네마이신 A 포함; 에스페라마이신뿐만 아니라 네오키르지노스타틴 발색단 및 관련된 색소단백질 엔디인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 오프라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 각티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신(ADRIAMYCIN®, 모폴리노-독소루비신, 시아노모폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신, 독소루비신 HCl 리포솜 주사(DOXIL®) 및 테옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 예소루비신, 아이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 울

리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물질, 예컨대 메토트렉세이트, 젬시타빈(GEMZAR®), 테가푸르(UFTORAL®), 카페시타빈(XELODA®), 에포틸론, 및 5-플루오로우라실(5-FU); 엽산 유사체, 예컨대 테노프테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카모푸르, 사이타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 예노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스탄올, 메피티오스탄, 테스토라톤; 항-부신물질, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 엽산 보충물, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코사이드; 아미노레블린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비스안트렌; 에다트락세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미틴; 엘립티늄 아세테이트; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 하이드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSK® 다당류 복합체(JHS Natural Products, Eugene, Oreg.); 라죽산; 라이죽신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아진산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센(특히 T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신(ELDISINE®, FILDESIN®); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토라톨; 피포브로만; 가시토신; 아라바이노사이드("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들면, 파클리탁셀(TAXOL®), 파클리탁셀의 알부민-조작된 나노입자 제형(ABRAXANE™), 및 독세탁셀(TAXOTERE®); 클로란부실; 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토트렉세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카보플라틴; 빈블라스틴(VELBAN®); 백금; 에토포사이드(VP-16); 이포스파마이드; 미톡산트론; 빈크리스틴(ONCOVIN®); 옥살리플라틴; 류코보빈; 비노렐빈(NAVELBINE®); 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴(DMFO); 레티노이드, 예컨대 레티노산; 임의의 상기의 약제학적으로 허용가능한 염, 산 또는 유도체뿐만 아니라 상기의 2 이상의 조합, 예컨대 CHOP(사이클로포스파마이드, 독소루비신, 빈크리스틴, 및 프레드니솔론의 병용 요법에 대한 약어), 및 FOLFOX(5-FU 및 류코보빈과 조합된 옥살리플라틴(ELOXATIN™)을 이용한 치료 레지멘에 대한 약어)로부터 선택된다.

4c. 이중성 펩타이드 또는 폴리펩타이드

본 발명에 따른 이중다량체가 하나 이상의 이중성 펩타이드 또는 폴리펩타이드에 연결된 IgG Fc 작제물을 포함하는 것이 추가로 고려된다. 하나 이상의 이중성 펩타이드 또는 폴리펩타이드는, 예를 들면 검출가능한 마커, 리간드-수용체 페어의 멤버, 효소-기질 페어의 멤버 및 형광 공명 에너지 전달 페어의 멤버로부터 선택된다.

5. 이중다량체의 제조 및 정제 방법

상기에서 기재된 바와 같이, 본 발명에 따른 이중다량체는 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드를 포함하는 IgG Fc 작제물을 포함한다. 두 Fc 폴리펩타이드는 모두 이중다량체가 IgG Fc 영역만을 포함하는 구현예에서건 또는 이중다량체가 하나 이상의 항원-결합 도메인 또는 이중성 단백질을 추가로 포함하는 구현예에서건, 당해기술에서 공지된 재조합 DNA 기술을 이용해서 쉽게 제조될 수 있다. 그와 같은 분자를 인코딩하는 핵산의 설계는 당해기술에서 숙련된 작업자의 일반 지식 내에 잘 포함된다. 표준 기술, 예컨대 [Sambrook and Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual(Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 3rd ed., 2001); Sambrook 등, Molecular Cloning: A Laboratory Manual(Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2nd ed., 1989); Short Protocols in Molecular Biology(Ausubel 등, John Wiley and Sons, New York, 4th ed., 1999); 및 Glick and Pasternak, Molecular Biotechnology: Principles and Applications of Recombinant DNA(ASM Press, Washington, D.C., 2nd ed., 1998)]에 기재된 방법이 재조합 핵산 방법, 핵산 합성, 세포 배양, 이식유전자 도입, 및 재조합 단백질 발현을 위해 사용될 수 있다.

본원에서 다른 곳에 명시된 바와 같이, IgG 중쇄로부터 유도된 Fc 폴리펩타이드의 핵산 및 아미노산 서열은 당해기술에 공지되어 있거나 핵산 및/또는 단백질 서열분석 방법을 이용해서 쉽게 결정될 수 있다. Fc 폴리펩타이드에 대해 본원에 기재된 이중성 단백질 또는 독성 약물 분자를 유전적으로 융합하는 방법은 당해기술에 공지되어 있고, 일부는 아래 및 실시예에 기재된다.

Fc 폴리펩타이드의 발현에 적합한 발현 벡터 및 숙주 세포, 그리고 필요한 경우 항원-결합 도메인을 인코딩하는 폴리펩타이드도 아래에서 기재된 바와 같이 당해기술에서 잘 알려져 있다.

5.1 벡터 및 숙주 세포

이종다량체의 폴리펩타이드의 재조합 발현은 필요한 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 발현 벡터의 구축을 필요로 한다. 폴리펩타이드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드가 수득되면, 폴리펩타이드의 생산을 위한 벡터는 당해기술에서 잘 알려진 기술을 이용해서 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 수 있다. 따라서, 뉴클레오타이드 서열을 인코딩하는 폴리펩타이드를 함유하는 폴리뉴클레오타이드를 발현하여 단백질을 제조하는 방법이 본원에 기재된다. 당해기술의 숙련자에게 잘 알려진 방법이 폴리펩타이드 코딩 서열 및 적절한 전사 및 번역 조절 신호를 함유하는 발현 벡터를 구축하기 위해 사용될 수 있다. 이들 방법에는, 예를 들면 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기술, 및 생체내 유전적 재조합이 포함된다. 따라서 본 발명은 프로모터에 작동가능하게 연결된 이종다량체의 폴리펩타이드를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 복제가능 벡터를 제공한다.

발현 벡터는 종래의 기술에 의해 숙주 세포로 전달된 후 형질감염된 세포가 종래의 기술에 의해 배양되어 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 폴리펩타이드를 제조한다. 특정한 구현예에서, 방법에서 사용하기 위한 폴리펩타이드는 아래 상세히 나타낸 바와 같이, 전체 면역글로불린 분자의 발현을 위해 숙주 세포에서 공동-발현된다.

다양한 숙주-발현 벡터 시스템을 이용하여 폴리펩타이드를 발현할 수 있다. 그와 같은 숙주-발현 시스템은 관심 코딩 서열이 생산된 후 정제될 수 있는 비히클을 나타낼 뿐만 아니라 적절한 뉴클레오타이드 코딩 서열로 형질 전환되거나 형질감염된 경우, 원 위치에서 폴리펩타이드를 발현할 수 있는 세포를 나타낸다. 이들에는 비제한적으로 폴리펩타이드 코딩 서열을 함유하는 재조합 박테리오파아지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 미생물, 예컨대 박테리아(예를 들면, E. 콜라이 및 B. 서브틸리스); 변형된 중쇄 및 경쇄 코딩 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 효모(예를 들면, 사카로마이세스 피치아); 폴리펩타이드 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들면, 배칼로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 폴리펩타이드 코딩 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들면, 꽃양배추 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들면, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템; 또는 포유동물 세포 계층에서 유도된(예를 들면, 메탈로티오네인 프로모터) 또는 포유동물 바이러스에서 유도된(예를 들면, 아데노바이러스 후기 프로모터; 우두 바이러스 7.5K 프로모터) 프로모터를 함유하는 재조합 발현 작제물을 보유하는 포유동물 세포 시스템(예를 들면, COS, CHO, BHK, HEK-293, NSO, 및 3T3 세포)이 포함된다. 특정 구현예에서, 박테리아 세포, 예컨대 에스케리치아 콜리, 또는 진핵 세포가 폴리펩타이드의 발현을 위해 사용되며, 이는 재조합 항체 또는 융합 단백질 분자이다. 예를 들면, 포유동물 세포, 예컨대 차이니스 햄스터 난소 세포(CHO)는 벡터, 예컨대 인간 사이토메갈로바이러스로부터의 주요 중간 조기 유전자 프로모터 요소와 함께 항체에 대해 효과적인 발현 시스템이다(Foecking 등, 1986, Gene 45:101; 및 Cockett 등, 1990, Bio/Technology 8:2). 특정한 구현예에서, 각각의 이종다량체의 면역글로불린 중쇄 및 경쇄를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열의 발현은 항상성 프로모터, 유도성 프로모터 또는 조직 특이적 프로모터에 의해 조절된다.

포유동물 숙주 세포에서, 수많은 바이러스-기반 발현 시스템이 이용될 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로 사용되는 경우, 관심 서열을 코딩하는 변형된 중쇄 및 경쇄가 아데노바이러스 전사/번역 조절 복합체, 예를 들면 후기 프로모터 및 3분체 선도 서열에 결합될 수 있다. 이어서 상기 키메라성 유전자가 시험관내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 계층에 삽입될 수 있다. 바이러스 계층의 비필수 영역(예를 들면, 영역 E1 또는 E3) 내 삽입은 감염된 숙주에서 폴리펩타이드를 발현할 수 있고 생존가능한 재조합 바이러스를 생성할 것이다(예를 들면, Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359 참고). 특이적인 개시 신호가 또한 삽입된 항체 코딩 서열의 효율적인 번역을 위해 필요할 수 있다. 이들 신호에는 ATG 개시 코돈 및 인접한 서열이 포함된다. 더욱이, 개시 코돈은 전체 삽입물의 번역을 보장하기 위해 원하는 코딩 서열의 해독틀과 같은 상에 있어야 한다. 이들 외인성 번역 조절 신호 및 개시 코돈은 천연 및 합성의 다양한 기원의 것일 수 있다. 발현 효율은 적절한 전사 인핸서 요소, 전사 종결자 등의 도입에 의해 증대될 수 있다(예를 들면, Bittner 등, 1987, Methods in Enzymol. 153:516-544 참고).

이종다량체의 폴리펩타이드의 발현은 당해기술에 공지된 임의의 프로모터 또는 인핸서 요소에 의해 조절될 수 있다. 폴리펩타이드를 인코딩하는 유전자 발현을 조절하기 위해 사용될 수 있는 프로모터에는 비제한적으로 SV40 조기 프로모터 영역(Bernoist and Chambon, 1981, Nature 290:304-310), 라우스 육종 바이러스의 3' 긴 말단 반복에 함유된 프로모터(Yamamoto, 등, 1980, Cell 22:787-797), 헤르페스 티미딘 키나아제 프로모터(Wagner 등, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78.1441-1445), 메탈로티오네인 유전자의 조절 서열(Brinster 등, 1982, Nature 296:39-42), 테트라사이클린(Tet) 프로모터(Gossen 등, 1995, Proc. Nat. Acad. Sci. USA 89:5547-5551); 원핵생물 발현 벡터, 예컨대 β-락타마제 프로모터(Villa-Kamaroff 등, 1978, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 75:3727-3731), 또는 tac 프로모터(DeBoer 등, 1983, Proc. Natl. Acad. Sci.

U.S.A. 80:21-25; 또한 "Useful proteins from recombinant bacteria" in Scientific American, 1980, 242:74-94 참고); 노팔라인 합성효소 프로모터 영역을 포함하는 식물 발현 벡터(Herrera-Estrella 등, Nature 303:209-213) 또는 꽃양배추 모자이크 바이러스 35S RNA 프로모터(Gardner 등, 1981, Nucl. Acid Res. 9:2871), 및 광합성 효소 리불로스 바이포스페이트 카복실라제의 프로모터(Herera-Estrella 등, 1984, Nature 310:115-120); 효모 또는 다른 진균의 프로모터 요소, 예컨대 Gal 4 프로모터, ADC(알코올 탈수소효소) 프로모터, PGK(포스포글리세롤 키나아제) 프로모터, 알칼리성 포스파타제 프로모터, 및 조직 특이성을 나타내며 유전자 삽입 동물에서 이용된 하기 동물 전사 조절 영역: 췌장 샘파리 세포에서 활성이 있는 엘라스타제 I 유전자 조절 영역(Swift 등, 1984, Cell 38:639-646; Ornitz 등, 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50:399-409; MacDonald, 1987, Hepatology 7:425-515); 췌장 베타 세포에서 활성이 있는 인슐린 유전자 조절 영역(Hanahan, 1985, Nature 315:115-122), 림프모양 세포에서 활성이 있는 면역글로불린 유전자 조절 영역(Grosschedl 등, 1984, Cell 38:647-658; Adames 등, 1985, Nature 318:533-538; Alexander 등, 1987, Mol. Cell. Biol. 7:1436-1444), 고환, 유방, 림프모양 및 비만 세포에서 활성이 있는 마우스 유선 종양 바이러스 조절 영역(Leder 등, 1986, Cell 45:485-495), 간에서 활성이 있는 알부민 유전자 조절 영역(Pinkert 등, 1987, Genes and Devel. 1 :268-276), 간에서 활성이 있는 알파-태아단백 유전자 조절 영역(Krumlauf 등, 1985, Mol. Cell. Biol. 5:1639-1648; Hammer 등, 1987, Science 235:53-58; 간에서 활성이 있는 알파 1-항트립신 유전자 조절 영역(Kelsey 등, 1987, Genes and Devel. 1:161-171), 골수 세포에서 활성이 있는 베타-글로빈 유전자 조절 영역(Mogram 등, 1985, Nature 315:338-340; Kollias 등, 1986, Cell 46:89-94; 뇌의 회소돌기교세포에서 활성이 있는 수초 염기성 단백질 유전자 조절 영역(Readhead 등, 1987, Cell 48:703-712); 골격 근육에서 활성이 있는 미오신 경쇄-2 유전자 조절 영역(Sani, 1985, Nature 314:283-286); 신경 세포에서 활성이 있는 뉴런-특이적 에놀라제(NSE)(Morelli 등, 1999, Gen. Virol. 80:571-83); 신경 세포에서 활성이 있는 뇌-유도된 신경 친화성 인자(BDNF) 유전자 조절 영역(Tabuchi 등, 1998, Biochem. Biophysic. Res. Com. 253:818-823); 별아교 세포에서 활성이 있는 교세포 미소섬유 산성 단백질(GFAP) 프로모터(Gomes 등, 1999, Braz J Med Biol Res 32(5): 619-631; Morelli 등, 1999, Gen. Virol. 80:571-83) 및 시상하부에서 활성이 있는 생식선자극성 방출 호르몬 유전자 조절 영역(Mason 등, 1986, Science 234:1372-1378)이 포함된다.

또한, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나 원하는 특정 방식으로 유전자 생성물을 변형하고 가공하는 숙주 세포주가 선택될 수 있다. 특정 프로모터로부터의 발현은 특정 유발제의 존재 하에 상승될 수 있다; 따라서, 유전적으로 조작된 융합 단백질의 발현이 조절될 수 있다. 더욱이, 상이한 숙주 세포는 번역 및 번역후 가공 및 변형을 위해 특징적이고 특이적인 기전을 갖는다(예를 들면, 단백질의 당화, 인산화). 발현된 외래 단백질의 원하는 변형 및 가공을 보장하기 위해 적절한 세포주 또는 숙주 시스템이 선택될 수 있다. 예를 들면, 박테리아 시스템에서의 발현은 비당화된 생성물을 생산할 것이며, 효모에서의 발현은 당화된 생성물을 생산할 것이다. 유전자 생성물의 일차 전사체의 적절한 가공을 위한 세포 기구(예를 들면, 당화, 및 인산화)를 보유하는 진핵생물 숙주 세포가 사용될 수 있다. 그와 같은 포유동물 숙주 세포에는 비제한적으로 CHO, VERY, BHK, HeLa, COS, MDCK, HEK-293, 3T3, WI38, NSO, 특히, 신경 세포주, 예컨대 SK-N-AS, SK-N-FI, SK-N-DZ 인간 신경교세포종(Sugimoto 등, 1984, J. Natl. Cancer Inst. 73: 51-57), SK-N-SH 인간 신경교세포종(Biochim. Biophys. Acta, 1982, 704: 450-460), Daoy 인간 소뇌 수모세포종(He 등, 1992, Cancer Res. 52: 1144-1148) DBTRG-05MG 교모세포종 세포(Kruse 등, 1992, In Vitro Cell. Dev. Biol. 28A: 609-614), IMR-32 인간 신경교세포종(Cancer Res., 1970, 30: 2110-2118), 1321 N1 인간 별아교세포종(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1977, 74: 4816), MOG-G-CCM 인간 별아교세포종(Br. J. Cancer, 1984, 49: 269), U87MG 인간 교모세포종-별아교세포종(Acta Pathol. Microbiol. Scand., 1968, 74: 465-486), A172 인간 교모세포종(Olopade 등, 1992, Cancer Res. 52: 2523-2529), C6 래트 신경아교종 세포(Benda 등, 1968, Science 161 : 370-371), 신경-2a 마우스 신경교세포종(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1970, 65: 129-136), NB41A3 마우스 신경교세포종(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1962, 48: 1184-1190), SCP 양 맥락막종(Bolin 등, 1994, J. Virol. Methods 48: 211-221), G355-5, PG-4 고양이 정상 별아교세포(Haapala 등, 1985, J. Virol. 53: 827-833), Mpf 흰담비 뇌(Trowbridge 등, 1982, In Vitro 18: 952-960), 및 정상 세포주, 예컨대 CTX TNA2 래트 정상 피질 뇌(Radany 등, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 6467-6471), 예컨대 CRL7030 및 Hs578Bst가 포함된다. 더욱이, 상이한 벡터/숙주 발현 시스템은 상이한 정도로 가공 반응에 영향을 미칠 수 있다.

장기간 동안, 재조합 단백질의 고수율 생산, 안정한 발현이 종종 바람직하다. 예를 들면, 본 발명의 폴리펩타이드(예를 들면, 항체 또는 융합 단백질)를 안정적으로 발현하는 세포주가 조작될 수 있다. 바이러스 복제의 기원을 함유하는 발현 벡터를 이용하기보다, 숙주 세포는 적절한 발현 조절 요소(예를 들면, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 등), 및 선별 마커에 의해 조절된 DNA로 형질전환될 수 있다. 외래 DNA의

도입에 이어, 조작된 세포가 농축된 배지 중에 1-2일 동안 자라도록 둔 다음 선택적 배지로 전환한다. 재조합 플라스미드 내 선별 마커는 선택에 대해 내성을 부여하며, 세포가 이들의 염색체 내로 플라스미드를 안정적으로 통합하고 발생 부위로 자라도록 하여 다시 클로닝되고 세포주로 증식될 수 있다.

수많은 선택 시스템이 사용될 수 있고, 비제한적으로 단순 포진 바이러스 티미딘 키나아제(Wigler 등, 1977, Cell 11:223), 하이포잔틴-구아닌 포스포리보실전달효소(Szybalska & Szybalski, 1962, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 48:2026), 및 아데닌 포스포리보실전달효소(Lowy 등, 1980, Cell 22:817) 유전자가 tk-, hgprt- 또는 aprt-세포에서 각각 사용될 수 있다. 또한, 항-대사물질 내성이 메토틱세이트에 대한 내성을 부여하는 dhfr(Wigler 등, 1980, Natl. Acad. Sci. USA 77:3567; O'Hare 등, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527); 마이코페놀산에 대한 내성을 부여하는 gpt(Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072); 아미노글리코사이드 G-418에 대한 내성을 부여하는 neo(Colberre-Garapin 등, 1981, J. Mol. Biol. 150:1); 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 hygro(Santerre 등, 1984, Gene 30:147) 유전자에 대한 선택의 기준으로 사용될 수 있다.

항체-약물 콘주게이트의 제조 방법은 당해기술에 공지되어 있고, 그 설명은 US 특허 공개 번호 2011/0200596에서 확인된다.

5.2 이종다량체의 정제

재조합 기술을 이용하는 경우, 이종다량체는 세포내로 생산되거나, 배지 내로 직접 분비될 수 있다. 이종다량체가 세포내로 생산되는 경우, 제1 단계로 숙주 세포 또는 용해된 단편인 미립자 잔해가, 예를 들면 원심분리 또는 한외여과에 의해 제거된다. 이종다량체가 배지 내로 분비되는 경우, 그와 같은 발현 시스템의 상층액은 일반적으로 먼저 상업적으로 이용가능한 단백질 농축 필터, 예를 들면 Amicon 또는 Millipore Pellicon 한외여과 단위를 이용해서 농축된다. 프로테아제 억제제, 예컨대 PMSF가 단백질분해를 저해하기 위해 임의의 전술된 단계에 포함될 수 있고, 항생제가 우발적인 오염물질의 성장을 예방하기 위해 포함될 수 있다.

세포로부터 제조된 이종다량체 조성물은, 예를 들면 하이드록실인회석 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, 및 친화성 크로마토그래피를 이용해서 정제될 수 있고, 친화성 크로마토그래피가 바람직한 정제 기술이다. 친화성 리간드로서 단백질 A의 적합성은 이종다량체에 존재하는 임의의 면역글로불린 Fc 영역의 중 및 아이소타입에 의존한다. 단백질 A는 인간 $\gamma 1$, $\gamma 2$, 또는 $\gamma 4$ 중쇄에 기반하는 항체를 정제하기 위해 사용될 수 있다(Lindmark 등, J. Immunol. Meth. 62:1-13(1983)). 단백질 G는 모든 마우스 아이소타입 및 인간 $\gamma 3$ 에 대해 권장된다(Guss 등, EMBO J. 5:15671575(1986)). 친화성 리간드가 부착되는 매트릭스는 매우 종종 아가로스이지만, 다른 매트릭스가 이용가능하다. 기계적으로 안정한 매트릭스, 예컨대 조절된 기공 유리 또는 폴리(스티렌디비닐)벤젠은 아가로스로 달성될 수 있는 것보다 더 빠른 유속 및 더 짧은 가공 시간을 허용한다. 이종다량체가 CH3 도메인을 포함하는 경우, Bakerbond ABX™ 수지(J. T. Baker, Phillipsburg, N.J.)가 정제를 위해 유용하다. 단백질 정제를 위한 다른 기술, 예컨대 이온교환 칼럼 상 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 상 크로마토그래피, 헤파린 상 크로마토그래피 음이온 또는 양이온 교환수지(예컨대 폴리아스파르트산 칼럼) 상 SEPHAROSE™ 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE, 및 암모늄 설페이트 침전도 회수될 이종다량체에 따라 이용가능하다.

임의의 예비 정제 단계(들)에 이어, 관심 이종다량체 및 오염물질을 포함하는 혼합물은 바람직하게는 낮은 염 농도(예를 들면, 약 0-0.25M 염)에서 수행되는, 약 2.5-4.5 pH에서 용출 완충제를 이용하여 저 pH의 소수성 상호작용 크로마토그래피를 거칠 수 있다.

본 발명의 이종다량체는 IgG Fc 작제물의 제1 및 제2 Fc 폴리펩타이드에 비대칭 아미노산 변형을 포함한다. 따라서, Fc 폴리펩타이드의 고유한 특성으로 인해, Fc 폴리펩타이드가 함께 발현되는 경우, 생성되는 생성물에는 제1 Fc 폴리펩타이드의 동종이량체, 제2 Fc 폴리펩타이드의 동종이량체, 및 제1 및 제2 폴리펩타이드의 이종이량체가 포함될 것이다.

일 구현예에서, 이종다량체는 발현 후 정제되거나 단리된다. 발현 방법은 본원에서 다른 곳에 기재된다. 단백질은 당해기술의 숙련자에게 공지된 다양한 방식으로 단리되거나 정제될 수 있다. 표준 정제 방법에는 시스템, 예컨대 FPLC 및 HPLC를 이용하여 대기압에서 또는 고압에서 수행되는, 이온 교환, 소수성 상호작용, 친화도, 크기 분류 또는 겔 여과, 및 역상을 포함하는 크로마토그래피 기술이 포함된다. 정제 방법에는 또한 전기영동, 면역학적, 침전, 투석, 및 크로마토포커싱 기술이 포함된다. 한외여과 및 정용여과 기술도 단백질 농축과 함께 유용하다. 당해기술에 널리 공지되어 있는 바와 같이, 다양한 천연 단백질이 Fc 및 항체에 결합하며, 이들 단백질이 이종다량체의 정제를 위해 본 발명에서 용도를 찾을 수 있다. 예를 들면, 박테리아 단백질 A 및 G는 Fc 영역에

결합한다. 마찬가지로, 박테리아 단백질 L은 물론 항체의 표적 항원이 하는 것과 마찬가지로 일부 항체의 Fab 영역에 결합한다. 정제는 종종 특정한 용합 파트너에 의해 구현될 수 있다. 예를 들면, 항체는 GST 용합이 이용되는 경우 글루타티온 수지를 이용해서, His-태그가 이용되는 경우 Ni²⁺ 친화도 크로마토그래피를 이용해서, 플래그-태그가 이용되는 경우 고정된 항-플래그 항체를 이용해서 정제될 수 있다. 적합한 정제 기술의 일반적인 안내는, 예를 들면 본원에 그 전문이 참고로 편입된 [Protein Purification: Principles and Practice, 3rd Ed., Scopes, Springer-Verlag, NY, 1994]를 참고하라. 필요한 정제 정도는 항체의 스크리닝 또는 용도에 따라 변할 것이다. 일부 예에서는, 정제가 필요하지 않다. 예를 들면 일 구현예에서, 항체가 분비되는 경우, 배지로부터 스크리닝이 직접 수행될 수 있다. 당해기술에 널리 공지된 바와 같이, 일부 선택 방법에는 단백질의 정제가 관여되지 않는다. 따라서, 예를 들면, 항체 라이브러리가 파아지 디스플레이 라이브러리 내로 제조되는 경우, 단백질 정제가 수행되지 않을 수 있다.

따라서 일 구현예에서, IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체는, 상기 IgG Fc 작제물의 발현이 동종이량체 Fc 영역을 포함하는 IgG Fc 작제물 및 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 IgG Fc 작제물의 혼합물을 생성하는 경우, 동종이량체 Fc 영역을 포함하는 IgG Fc 작제물이 전하-기반 정제 방법, 예컨대 이온 교환 크로마토그래피를 이용해서 이종이량체 Fc 영역을 포함하는 IgG Fc 작제물로부터 확실히 분해된다.

추가 구현예에서, 본원에 기재된 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체는 또한 동종이량체 Fc 영역의 형성보다 이종이량체 Fc 영역의 형성을 촉진하는 아미노산 변형을 포함하는 변이체 CH3 영역을 포함할 수 있다. 이들 이종다량체의 발현은 동종이량체 Fc 영역 및 이종이량체 Fc 영역을 갖는 이종다량체의 혼합물을 생성할 수 있다. 그와 같은 혼합물은 또한 상기에서 명시된 바와 같이 전하-기반 정제 방법을 이용하여 분해될 수 있다. 이런 방식으로 정제될 수 있는 예시적인 변이체에는 AAC3, AAC4, 및 AAC5가 포함된다.

6. 이종다량체의 평가

6.1 Fc γ R, FcRn 및 C1q 결합

특정 구현예에서, 원하는 특성만 유지되도록 하기 위해 생산된 면역글로불린의 Fc 활성이 측정된다. 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 분석을 수행하여 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인할 수 있다. 효과기 기능을 평가하는 방법은 [Jiang 등(2011) Nature Reviews Drug Discovery 10:101-111]에 기재된다. 예를 들면, Fc 수용체(FcR) 결합 분석을 수행하여 이종다량체에 Fc γ R 결합이 없지만(따라서 ADCC 활성이 없을 수 있지만) FcRn 결합 능력을 보유함을 확인할 수 있다. ADCC를 매개하기 위한 주요 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈 세포 상의 FcR 발현은 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92(1991)]의 464 페이지 표 3에 요약된다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 시험관내 분석의 한 예는 미국 특허 번호 5,500,362 또는 5,821,337에 기재된다. 그와 같은 분석을 위해 유용한 효과기 세포에는 말초 혈액 단핵구(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포가 포함된다. 대안적으로 또는 추가로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내, 예를 들면 [Clynes 등 PNAS(USA) 95:652-656(1998)]에 개시된 것과 같은 동물 모델에서 평가될 수 있다. C1q 결합 분석을 또한 수행하여 이종다량체가 C1q에 결합할 수 없고 이에 따라 CDC 활성이 없음을 확인할 수 있다. 보체 활성화를 평가하기 위해, 예를 들면 [Gazzano-Santoro 등, J. Immunol. Methods 202:163(1996)]에 기재된 CDC 분석을 수행할 수 있다. FcRn 결합 및 생체내 청소능/반감기 결정을 또한 당해기술에 공지된 방법을 이용해서 수행할 수 있다.

Fc γ R 및 C1q 결합은 또한 표면 플라즈몬 공명(SPR), 또는 ELISA-기반 방법에 의해 측정할 수 있다. Fc γ R 결합은 또한 FACS(형광 활성화된 세포 분류)에 의해 측정할 수 있다. 상업적으로 이용가능한 것도 Fc γ R 또는 C1q에 대해 결합하는 이종다량체의 능력을 측정하기 위해 사용할 수 있다.

6.2 안정성

이종다량체의 열적 안정성은 당해기술에 공지된 방법에 따라 결정될 수 있다. IgG Fc 작제물의 용융 온도는 그 열적 안정성을 시사한다. IgG Fc 작제물의 용융점은 기술, 예컨대 시차주사열량측정(Chen 등(2003) Pharm Res 20:1952-60; Ghirlando 등(1999) Immunol Lett 68:47-52)을 이용해서 측정될 수 있다. 대안적으로, IgG Fc 작제물의 열적 안정성은 원형 2색성(Murray 등(2002) J. Chromatogr Sci 40:343-9)을 이용해서 측정될 수 있다.

모 CH2 도메인의 T_m을 결정하기 위한 방법론은 당해기술에 널리 기재되어 있다(예를 들면 Ionescu 등(2008) J Pharm Sci 97(4):1414-26 참고). 요약하면, IGG1의 Fc 영역의 용융은 두 전이를 생산한다: 하나는 CH2 도메인의 용융에 대한 것이며, 또 하나는 CH3 도메인에 대한 것이다. 이들 전이는 존재하는 Fab와 무관하지만, Fab 전이에 의해 차단될 수 있다. 전형적으로, IGG1 Fc의 용융은 CH2 도메인에 대해 71°C의 T_m을 갖는 전이 및 CH3 도

메인에 대해 82°C의 T_m을 갖는 전이를 제공한다. CH₂ 도메인의 T_m은 그 당화 상태, 힌지 영역의 성질, 및 CH₃ 도메인의 고유 안정성에 의해 영향을 받는다. 비당화 및 탈당화는 CH₂ 도메인의 T_m을 10°C만큼 감소시키는 것으로 알려져 있다. 힌지 디설파이드의 제거는 CH₂ 도메인의 T_m을 10°C 초과만큼 감소시키는 것으로 알려져 있다. 그 안정성을 CH₂ 도메인에 비해 감소시키는 CH₃ 도메인에 대한 변화는 CH₂ 도메인의 T_m에 변화를 일으킬 수 있지만, 그 효과는 예측하기 더 어렵다.

7. 약제학적 조성물

본 발명은 또한, 본 발명에 따른 이종다량체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 그와 같은 조성물은 치료적으로 효과적인 양의 이종다량체 및 약제학적으로 허용가능한 캐리어를 포함한다. 특정한 구현예에서, 용어 "약제학적으로 허용가능한"은 연방 또는 주 정부의 규제 기관에 의해 승인되거나 U.S. 약전 또는 동물, 더 상세하게는 인간에서 사용을 위해 일반적으로 인식된 다른 약전에 기재됨을 의미한다. 용어 "캐리어"는 치료제가 함께 투여되는 희석제, 아췌반트, 부형제, 또는 비히클을 나타낸다. 그와 같은 약제학적 캐리어는 멸균된 액체, 예컨대 물 및 오일, 예컨대 석유, 동물, 식물성 또는 합성 기원의 오일, 예컨대 땅콩 오일, 대두 오일, 미네랄 오일, 참깨 오일 등일 수 있다. 약제학적 조성물이 정맥내로 투여되는 경우, 물이 바람직한 캐리어이다. 염수 용액 및 수성 텍스트로오스 및 글리세롤 용액도 액체 캐리어로서, 특히 주사 용액을 위해 사용될 수 있다. 적합한 약제학적 부형제에는 전분, 글루코오스, 락토오스, 수크로오스, 젤라틴, 맥아, 쌀, 밀가루, 백악, 실리카 겔, 나트륨 스테아레이트, 글리세롤 모노스테아레이트, 탈크, 염화 나트륨, 탈지분유, 글리세롤, 프로필렌, 글리콜, 물, 에탄올 등이 포함된다. 원하는 경우, 조성물은 또한 소량의 수화제 또는 유화제, 또는 pH 완충제를 함유할 수 있다. 이들 조성물은 용액, 서스펜션, 에멀전, 정제, 알약, 캡슐, 분말, 지속 방출 제형 등의 형태를 취할 수 있다. 조성물은 전통적 결합제 및 캐리어, 예컨대 트리글리세라이드와 함께, 좌약으로 제형화될 수 있다. 경구 제형에는 표준 캐리어, 예컨대 약품 등급의 만니톨, 락토오스, 전분, 마그네슘 스테아레이트, 나트륨 사카린, 셀룰로오스, 마그네슘 카보네이트 등이 포함될 수 있다. 적합한 약제학적 캐리어의 예는 ["Remington's Pharmaceutical Sciences" by E. W. Martin]에 기재되어 있다. 그와 같은 조성물은 환자에게 적당한 투여 형태를 제공하기 위해, 치료적으로 효과적인 양의 화합물을, 바람직하게는 정제된 형태로, 적합한 양의 캐리어와 함께 함유할 것이다. 제형은 투여 방식에 적합해야 한다.

특정 구현예에서, 이종다량체를 포함하는 조성물은 인간에 대한 정맥내 투여를 위해 채용된 약제학적 조성물로서 일상적인 절차에 따라 제형화된다. 전형적으로, 정맥내 투여를 위한 조성물은 멸균된 등장의 수성 완충제 중 용액이다. 필요한 경우, 조성물에는 또한 주사 부위에서의 통증을 완화하기 위한 국소 마취약, 예컨대 리그노카인 및 가용화제가 포함될 수 있다. 일반적으로, 성분은 단위 투여 형태, 예를 들면 동결건조된 건조 분말로 또는 무수 농축물로, 무수 밀봉 용기, 예컨대 활성제의 양을 나타내는 앰플 또는 샷세트 중에 별도로 또는 함께 혼합하여 공급된다. 조성물이 주입에 의해 투여될 경우, 멸균 약품 등급 물 또는 염수를 함유하는 주입 병으로 분배될 수 있다. 조성물이 주사로 투여되는 경우, 성분이 투여 전에 혼합될 수 있도록 주사용 멸균수 또는 염수 앰플이 제공될 수 있다.

특정 구현예에서, 본원에 기재된 조성물은 중성 또는 염 형태로 제형화된다. 약제학적으로 허용가능한 염에는 음이온으로 형성된 것들, 예컨대 염산, 인산, 아세트산, 옥살산, 타르타르산 등으로부터 유도된 것들, 및 양이온으로 형성된 것들, 예컨대 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 제이철 하이드록사이드 이소프로필아민, 트리에틸아민, 2-에틸아미노 에탄올, 히스티딘, 프로카인 등으로부터 유도된 것들이 포함된다.

치료적 단백질의 비정상적인 발현 및/또는 활성과 연관된 질환 또는 장애의 치료, 억제 및 예방에서 효과적인 본원에 기재된 조성물의 양은 표준 임상 기술에 의해 결정될 수 있다. 또한, 최적의 투여량 범위의 확인을 돕기 위해 시험관내 분석이 임의로 이용될 수 있다. 제형에서 이용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 및 질환 또는 장애의 심각성에 근거할 것이며, 의사의 판단 및 각 환자의 상황에 따라 결정되어야 한다. 효과적인 용량은 시험관내 또는 동물 모델 평가 시스템으로부터 유도된 용량-반응 곡선으로부터 외삽된다.

8. 치료 방법/용도

임의의 상기 기재된 방법에 의해 생성된 이종다량체는 세포, 조직, 기관, 유체, 또는 일반적으로 숙주에서 인간 질환 또는 특정 병태를 진단하거나, 치료하거나, 검출하거나, 조정하기 위해 사용될 수 있다. 본원에서 교시된 바와 같이, Fc 감마 수용체 결합 및 명시된 효과기 기능을 감소시키거나 제거하기 위한, 그러나 이종다량체가 원래 표적 특성을 보유하는 항체, Fc-융합 단백질, 또는 Fc 단편의 Fc 영역의 변형은 더 우수한 활성 스펙트럼, 생체물리학적 특성, 안정성 및 숙주 신체에서 지속되는 능력을 갖는 항체 및 IgG Fc 작제물을 제공한다.

본 발명에 의해 제공된 조성물을 이용하여 치료에 잘 받아들여질 수 있는 질환 또는 병태에는 비제한적으로 하기가 포함된다: 신경적 장애, 예컨대 비제한적으로 알츠하이머병 및 신경병성 통증; 피부과 질환; 대사성 질환; 골관절염; 및 화상 또는 부상으로 일어나는 상태; 심혈관 장애, 예컨대 비제한적으로 심근경색증, 울혈성 심장 기능상실, 뇌졸중, 허혈성 뇌졸중, 및 출혈뿐만 아니라 일반적인 면역 매개 장애, 예컨대 류마티스성 질환, 건선, 및 경피증.

일 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 Fc γ R 매개된 효과기 기능으로 일어나는 이들 분자의 고갈이 유해 효과를 갖는 세포 표면 분자를 표적화하기 위해 항체가 사용되는 질환의 치료에서 사용된다.

일 구현예에서, 본 발명에 따른 이종다량체는 그것의 표적과 면역 복합체를 형성하는 항체에 대해 안전성 지수를 개선하기 위해 사용된다.

[Strohl, WR and Strohl LM, "Antibody Fc engineering for optimal antibody performance" In Therapeutic Antibody Engineering, Cambridge: Woodhead Publishing(2012), pp 225-249]는 질환 치료를 위해 Fc γ R- 및 보체-매개된 효과기 기능이 없는 항체 사용의 이점의 설명을 제공한다. 본 발명에 따른 IgG Fc 작제물을 포함하는 이종다량체는 질환 치료를 위해 Fc γ R- 및 보체-매개된 효과기 기능이 없는 항체의 제조에 유용함이 고려된다.

9. 키트

본 발명은 추가로 하나 이상의 이종다량체를 포함하는 키트를 제공한다. 키트의 개별 성분은 별도 용기에 포장되고 그와 같은 용기와 연관될 것이고, 제조, 사용 또는 판매 당국에 의한 승인을 반영하는 고지인 의약품 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 당국에 의해 규정된 형태의 고지일 수 있다. 키트는 임의로 이종다량체 페어에 대한 사용 방법 또는 투여 레지멘을 개요하는 설명서 또는 지침을 함유할 수 있다.

키트의 하나 이상의 성분이 용액, 예를 들면 수용액, 또는 멸균 수용액으로 제공되는 경우, 용기 수단은 자체가 그로부터 용액이 대상체에 투여되거나 적용될 수 있고 키트의 다른 성분과 혼합될 수 있는 흡입제, 주사기, 피펫, 점안기, 또는 다른 그와 같은 유사 장치일 수 있다.

키트의 성분은 또한 건조된 또는 동결건조된 형태로 제공될 수 있고, 키트는 동결건조된 성분의 재구성성을 위해 적합한 용매를 추가로 함유할 수 있다. 용기의 수 또는 유형과 무관하게, 본 발명의 키트는 또한 환자에 대한 조성물의 투여를 보조하기 위한 기기를 포함할 수 있다. 그와 같은 기기는 흡입제, 비강 스프레이 디바이스, 주사기, 피펫, 검자, 계측 스폰, 점안기 또는 유사한 의료적으로 승인된 전달 비히클일 수 있다.

본원에 기재된 실시예 및 구현예는 단지 예시적 목적을 위한 것이고, 이들의 견지에서 다양한 변형 또는 변화가 당해기술의 숙련자에게 제시될 것이며, 본 출원의 사상 및 범위 그리고 첨부된 청구범위의 범위 내에 포함될 것이 이해된다.

실시예

아래의 실시예는 본 발명의 실시를 예시하기 위해 주어진다. 이들은 본 발명의 전체 범위를 제한하거나 한정하기 위한 것이 아니다.

실시예 1: 항체 작제물(이종다량체)의 제조 및 발현

하기 항체 작제물을 제조하였다. 모든 항체 작제물은 아미노산 돌연변이를 포함하지 않는 CH3 도메인에 비해 증가된 안정성을 가지는 이종다량체 Fc 도메인의 형성을 촉진하기 위해 도입된 중쇄 CH3 도메인 내 하기 부가된 변형을 포함하는 야생형 항-Her2 항체 트라스투주맙의 서열에 기반하였다(도 5, 야생형 트라스투주맙 중쇄 아미노산 서열에 대해 서열식별번호:2, 야생형 트라스투주맙 경쇄 서열에 대해 서열식별번호:3 참고).

사슬 A: T350V/L351Y/S400E/F405A/Y407V, 및

사슬 B: T350V/T366L/N390R/K392M/T394W

상기 변형을 포함하는 상기 작제물은 v791로 불린다. 본원에 기재된 모든 서열은 EU 넘버링 시스템을 이용해서 넘버링된다.

표 A1에 나타난 중쇄의 CH2 도메인 및 힌지 영역 내에 아미노산 변형을 포함하는 추가 변이체를, v791에 기반하여 구축하였다. 모든 변이체는 서열식별번호: 67(아미노산) 및/또는 서열식별번호:34(DNA)에 나타난 트라스투주맙 경쇄 서열을 포함하였다.

표 A1: 트라스투주맵에 기반한 비대칭 항체 작제물

변이체	중쇄 A	서열식별 번호:(아 미노산/DN A)	중쇄 B	서열식별번 호:(아미노 산/DNA)
1051/대 조균	L234A/L235A	6/7	L234A/L235A	8/9
AAC1	L234A/L235A	6/7	--	20/21
AAC2	L234A/L235A	6/7	L234K/L235K	22/23
AAC3	L234D/L235E	10/11	L234K/L235K	22/23
AAC4	E233A/L234D/L235E	12/13	E233A/L234R/L235R	24/25
AAC5	L234D/L235E	10/11	E233K/L234R/L235R	26/27
AAC6	E233A/L234K/L235A	14/15	E233K/L234A/L235K	28/29
AAC7	E269Q/D270N	16/17	E269K/D270R	30/31
AAC8	--	18/19	L235K/A327K	32/33

1051은 [Strohl(2009) Current Opinion in Biotechnology 20:685-691]에 기재된 대조균 변이체이다.

AAC1은 1051의 비대칭 버전인 또 하나의 대조균 변이체이며, 여기서 하나의 중쇄만 L234/L235 이중 돌연변이를 갖는다.

AAC2-AAC8은 비대칭 설계이다.

항체 및 대조균을 하기와 같이 클로닝하고 발현하였다. v791은 표준 방법을 이용한 부위 지향적 돌연변이유발에 의해 제조하였다. 최종 DNA를 벡터 pTT5(국제 특허 공개 번호 WO 2009/137911 참고) 내로 서브-클로닝하였다. 발현은 2mL 또는 50mL 또는 500mL CHO 3E7 세포에서 수행하였다. CHO 세포를 2.5:1의 PEI:DNA 비로(Raymond C. 등 A Simplified polyethylenimine-mediated transfection process for large-scale and high-throughput applications. Methods. 55(1):44-51(2011)) 수성 1mg/mL 25kDa 폴리에틸렌이민(PEI, Polysciences)을 이용해서 지수 성장상(1.5 내지 2 백만 개 세포/mL)에서 형질감염시켰다. 이중이량체를 형성하기 위한 최적 농도 범위를 결정하기 위해, DNA를 이중이량체 형성을 허용하는 중쇄 A(HC-A), 경쇄(LC), 및 중쇄 B의 최적 DNA 비(예를 들면 HC-A/HC-B/LC 비 = 25:25:50%)로 형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 4000rpm에서 원심분리하고 0.45µm 필터를 이용해서 정화한 후 배양 배지 수집과 더불어 5-6일 후 수확하였다.

정제 프로토콜: 정화된 배양 배지를 MabSelect SuRe(GE Healthcare) 단백질-A 칼럼 상에 로딩하고 pH 7.2에서 10 칼럼 용적의 PBS 완충제로 세정하였다. 항체를 pH 3.6에서 10 칼럼 용적의 시트레이트 완충제로 용출하고, 항체를 함유하는 풀링된 분획을 pH 11에서 TRIS로 중화하였다. 단백질-A 정제된 항체를 겔 여과(SEC)에 의해 추가 정제하였다. 겔 여과를 위해, 3.5mg의 항체 혼합물을 1.5mL로 농축하고, 1mL/분의 유속으로 AKTA Express FPLC를 통해 Sephadex 200 HiLoad 16/600 200 µg 칼럼(GE Healthcare) 상에 로딩하였다. pH 7.4에서 PBS 완충제를 1mL/분의 유속으로 사용하였다. 정제된 항체에 상응하는 분획을 수집하고, ~1mg/mL로 농축하여 -80°C에서 보관하였다.

표 A2는 다양한 샘플에 대한 발현 수율을 요약한다.

변이체	50 mL 발현 단백질-A 수율[mg/L]	50 mL 발현 SEC 수율[mg/L]	500 mL 발현 단백질-A 수율[mg/L]	500 mL 발현 SEC 수율[mg/L]
WT	30	n/d*	n/d	n/d
1051/대조군	48	20	48	23
AAC1	n/d	n/d	n/d	n/d
AAC2	63	24	n/d	n/d
AAC3	39	20	n/d	n/d
AAC4	42	26	n/d	n/d
AAC5	44	16	n/d	n/d
AAC6	31	13	15	10
AAC7	n/d	n/d	n/d	n/d
AAC8	n/d	n/d	n/d	n/d

*n/d = 결정되지 않음

대다수의 샘플은 WT 또는 대조군과 유사한 발현 수준을 나타내었다.

실시예 2: 트라스투주맵에 기반한 비대칭 항체 작제물은 Fc γ R에 결합하지 않음

Fc γ RIIaH, Fc γ RIIaR, Fc γ RIIb Fc γ RIIIaF, Fc γ RIIIaV, 및 Fc γ RIa에 결합하는 비대칭 항체 작제물의 능력을 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 평가하였다.

항체 Fc에 대한 Fc γ Rs의 친화도를 pH 7.4에서 0.05% Tween 20 및 10mM HEPES, 150mM NaCl, 3.4mM EDTA를 이용해서 25°C에서 ProteOn XPR36을 이용하여 SPR에 의해 측정하였다. 켄칭된 잔여 활성기로 대략 3000 공명 단위 (RUs)가 고정될 때까지 25 μ l/분으로 10mM NaOAc(pH 4.5) 중 4.0 μ g/mL을 주입하여 제조함 HER-2를 활성화된 GLM 센서칩 상에 포획하였다. 안정한 기준선을 구축하기 위해 완충제 주입 후 240s동안 25 μ l/분으로 주입한 경우(대략 500RUs 생성) 40 μ g/mL의 정제된 HER-2/neu-기반 항체가 간접적으로 포획되었다. Fc γ Rs를 180s 해리상과 더불어 120s 동안 60 μ l/분으로 주입하여 결합 센소그램 세트를 취득하였다. 생성 kd 값을 2 또는 3회 독립 수행의 평균으로 보고된 값을 이용해서 평형 피 모델을 이용한 결합 등온선으로부터 결정하였다.

SPR에 의해 결정되는, 각각의 변이체에 있어서의 WT에 대한 시험관내 결합 Ka 비를 표 B에 나타낸다.

표 B: 야생형 트라스투주맵에 대한 Fc γ 수용체로의 결합을 위한 SPR Ka 비

변이체	2aH ¹	2aR ²	2b ³	3aF ⁴	3aV ⁵	1a ⁶
WT	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
대조군 /1051	0.06	0.18	0.52	0.29	0.10	0.01
AAC1	n/d*	n/d	n/d	0.87	0.71	0.48
AAC2	NB	NB	NB	LOW	LOW	LOW
AAC3	NB	NB	NB	LOW	LOW	LOW
AAC4	NB	NB	NB	LOW	LOW	LOW
AAC5	NB	NB	NB	LOW	LOW	LOW
AAC6	NB	NB	NB	NB	LOW	LOW
AAC7	n/d	n/d	n/d	LOW	LOW	0.15
AAC8	n/d	n/d	n/d	0.19	0.10	0.13

*n/d = 결정되지 않음

1. 2ah의 Kd는 0.48 μ M이었다. 수용체를 10 μ M에서 분석하였다. LOW는 Kd >>10 μ M임을 의미하며, NB는 Kd>>100 μ M을 의미하고, 여기서 >>는 "보다 훨씬 더 큰" 것을 의미한다.

2. 2ar의 Kd는 0.87 μ M이었다. 수용체를 10 μ M에서 분석하였다. LOW는 Kd >>10 μ M임을 의미하며, NB는 Kd>>100

μM을 의미한다.

3. 2b의 Kd는 3.4 μM이었다. 수용체를 10 μM에서 분석하였다. LOW는 Kd >>10 μM임을 의미하며, NB는 Kd>>100 μM을 의미한다.

4. 3af의 Kd는 1.9 μM이었다. 수용체를 6 μM에서 분석하였다. LOW는 Kd >>6 μM임을 의미하며, NB는 Kd>>60 μM을 의미한다.

5. 3av의 Kd는 0.60 μM이었다. 수용체를 6 μM에서 분석하였다. LOW는 Kd >>6 μM임을 의미하며, NB는 Kd>>60 μM을 의미한다.

6. 1a의 Kd는 0.65 nM이었다. 수용체를 30 nM에서 분석하였다. LOW는 Kd >>30 nM임을 의미하며, NB는 Kd>>300 nM을 의미한다.

모든 변이체는 모든 수용체에 대해 크게 감소된 결합을 나타내었다. 대개의 경우, 결합은 저친화도로 인해 검출 불가능하거나 정량불가능하였다.

실시예 3: 트라스투주맵에 기반한 비대칭 항체 작제물은 C1q에 결합하지 않음

비대칭 항체 작제물의 C1q에 결합하는 능력을 하기와 같이 평가하였다. 인간 C1q는 GenWay Biotech(San Diego, CA)에서 구매하였다. 항체의 SPR 칩 고정화는 실시예 2에 기재된 바와 같았다. 30nM C1q를 또한 실시예 2에 기재된 표준 프로토콜을 이용해서 HER2 SPR 표면 상에 포획된 mAb 변이체에 걸쳐 주입하였다. 결과를 아래 표 C에 나타낸다.

표 C: C1q 결합 분석의 결과

변이체	C1q ¹
WT	예
대조군/1051	NB
AAC1	부분
AAC2	NB
AAC3	NB
AAC4	NB
AAC5	NB
AAC6	NB
AAC7	NB
AAC8	NB

1. C1q는 6:1의 잠재적 화학양론 mAb:C1q를 갖는 이중삼량체의 헥사머이다. 결합 동력학은 매우 복잡하였고, 적절한 Kd를 결정할 수 없었다. 수용체를 30 nM에서 평가하였다. '부분'은 감소된 결합을 의미하며, 'NB'는 검출 불가능한 결합을 의미한다.

모든 변이체는 C1q에 대해 감소되었지만 검출가능한 결합을 나타낸 AAC1을 제외하고, C1q에 대해 검출불가능한 결합을 나타내었다.

실시예 4: 트라스투주맵에 기반한 비대칭 항체 작제물은 FcRn에 결합함

비대칭 항체가 FcRn에 결합하는 능력을 하기와 같이 SPR에 의해 평가하였다.

SPR 칩 포획 표면을 염소 항-hIgG 다클론성 항체로 제조하였다. 변이체를 수직선 상에서 상청액으로부터 포획하였다. 3x 희석 시리즈를 이용하여 최대 1 μM의 FcRn 흐름을 수평선 상에서 흘렸다. pH 6에서의 중복 수행은 유사한 결과를 생성하였다. pH 7.4에서 1회 수행하여 결합의 부재를 확인하였다. 결과를 아래 표 D에 나타낸다.

표 D: FcRn 결합

변이체	FcRn ¹
WT	예
대조군/1051	예
AAC1	n/d*
AAC2	예
AAC3	예
AAC4	예
AAC5	예
AAC6	예
AAC7	n/d
AAC8	n/d

*n/d = 결정되지 않음

1. FcRn 결합을 pH 6.5 및 7.4에서 측정하였다. pH 6.5에서 WT 결합을, 그리고 pH 7.4에서 검출불가능한 결합을 갖는 변이체를 '예'로 표시한다.

실시예 5: 비대칭 항체 작제물은 열적으로 안정함

비대칭 항체 작제물의 CH2 도메인의 열적 안정성을 하기와 같이 시차주사열량측정을 이용해서 결정하였다. 각각의 항체 작제물을 실시예 1에 기재된 대로 정제하고, PBS 중 0.2 mg/mL로 희석하고, 총 400 µl를 VP-모세관 DSC(GE Healthcare)를 이용한 DSC 분석을 위해 사용하였다. 각각의 DSC 분석 시작 시, 5회 완충제 블랭크 주입을 수행하여 기준선을 안정화하고, 참조를 위한 각각의 항체 작제물의 주입 전에 완충제 주입을 배치하였다. 각각의 샘플을 저 피드백, 8초 필터, 5분 preTstat 및 70 psi 질소 압력을 이용해서, 60°C/hr 속도로 20°C부터 100°C까지 스캐닝하였다. 수득한 온도기록도를 Origin 7 소프트웨어를 이용해서 참조하고 분석하였다.

평가된 이종이량체에 대한 열적 언폴딩 곡선을 도 2에 나타낸다. 평가된 이종다량체의 용융 온도를 아래의 표 E에 나타낸다.

표 E: 이종다량체의 열적 안정성

변이체	T _m 개시(WT ~66.5C) ¹	T _m (WT ~71.0C) ²
대조군/1051	66.5	71.8
AAC1	n/d	n/d*
AAC2	70.5	74
AAC3	65.8	71.5
AAC4	66.7	72.8
AAC5	67.0	72.9
AAC6	68.7	75.0
AAC7	n/d	n/d
AAC8	n/d	n/d

*n/d = 결정되지 않음

1. T_m 개시는 도 2의 온도기록도가 유의미하게 기준선을 초과하는 제1 지점으로 시각적으로 취했다.
2. T_m을 도 2에 나타난 온도기록도의 제1 전이의 비-2 상태 모델을 이용한 디콘볼루션에 의해 측정하였다.

이들 결과는 수많은 설계가 대조군 WT와 비교하는 경우, 더 높은 T_m 개시 및 CH2 도메인의 T_m을 가짐을 시사한다.

실시예 6: 트라스투주맙에 기반한 비대칭 항체 작제물의 정제

선택된 비대칭 항체 작제물을 하기와 같이 발현시키고 UPLC IEX(울트라 성능 액체 크로마토그래피 - 이온 교환 크로마토그래피)로 정제하였다.

변이체 791(WT 이종이량체), AAC3(L234D/L235E[사슬 A]||L234K/L235K[사슬 B]) 및 AAC5(L234D/L235E[사슬

A][E233K/L234K/L235K[사슬 B])의 사슬 A 및 사슬 B를 50 mL CHO 배양 중에 1:0(A), 1:1(C) 및 0:1(E)의 비로 발현하였다. 비 A 및 E는 각각 사슬 A 및 사슬 B의 동중이량체를 생산하였다. 모든 샘플을 단백질 A에 의해, 그 다음 UPLC IEX 내로의 로딩 이전에 PBS 중 Superdex 200 16/600 칼럼을 이용하여 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)에 의해 정제하였다. UPLC IEX를 하기 조건(pH 구배) 하에 수행하였다: 용매: A, 0.1 M NaH₂PO₄, pH 4.44; B, 0.1 M Na₂HPO₄, pH 9.20; C, MilliQ 물; D, 0.5 M Na 아세테이트, pH 9.13(lot# 03-Dec-12). 초기 완충제: 18% A, 2% B, 68% C, 12% D = 20 mM NaPO₄, 60 mM Na 아세테이트, pH ~5.9; 구배: 7.2 칼럼 용적 중 2% A, 18% B, 68% C, 12% D = 20 mM NaPO₄, 60 mM Na 아세테이트, pH ~7.9로. 유속: 0.3 ml/분. 온도: 30°C. 압력: ~4200 psi. 칼럼: Agilent BioMab, 4.6 x 50 mm, 1.7 μm 입자, SN USDJA01061.

결과를 도 3A에 나타낸다. 동중이량체 또는 이중이량체에 상응하는 비 A, C, 및 E의 추적곡선을 라벨링하였다. 수행 시, 반복 분석을 또한 나타낸다.

도 3A는 하부 힌지 영역 상 비대칭 전하의 도입이 더 낮은 수용체 결합(실시예 3) 및 더 높은 열적 안정성(실시예 5)을 갖는 설계를 생성할 뿐만 아니라 이온 교환 크로마토그래피에 의해 동중이량체 불순물로부터 정제될 수 있음을 나타낸다.

하나의 변이체, AAC4의 분리를 두 조건 하에 평가하였다. 이는 상술된 pH 구배 하에 또는 하기와 같은 염 구배 하에 용출되었다: 용매: A 0.1 M NaH₂PO₄, pH 4.44; B 0.1 M Na₂HPO₄, pH 9.20; C MilliQ 물; D 0.5 M NaCl. 초기 완충제: 18% A, 2% B, 68% C, 12% D = 20 mM NaPO₄, 60 mM NaCl, pH ~5.9. 염 구배 7.2 칼럼 용적 중 18% A, 2% B, 0% C, 80% D(= 20 mM NaPO₄, 400 mM NaCl, pH ~5.9로.

결과를 도 3B에 나타낸다. 도면은 염 구배를 이용한 동중이량체 및 이중이량체의 분리가 pH 구배에서와 유사했음을 나타낸다.

실시예 7: 트라스투주맵에 기반한 비대칭 항체 작제물은 SK-BR-3 세포에서 ADCC(항체-의존적 세포-매개 세포독성)를 자극하지 않음

FcγR의 측정된 결합의 부재가 ADCC로 측정되는 효과기 기능 매개에서의 무능력으로 번역되는지를 평가하기 위해 예시적인 변이체를 SK-BR-3 세포에서 ADCC를 자극하는 그 능력에 대해 평가하였다. SK-BR-3 세포는 이들의 표면 상에 HER2를 발현하며, 이에 따라 트라스투주맵에 결합하여, 트라스투주맵의 존재 하에 NK 세포 매개 ADCC를 허용한다. 상기 분석에서의 AA6의 활성을 표 A에 기재된 대조군 변이체 및 양성 대조군 트라스투주맵에 대해 비교하였다.

사용된 세포주: SK-BR-3 세포주(ATCC#HTB-30), NK92/CD16a(158V/V) 검출 디바이스: FlexStation3, Molecular Devices.

양성 대조군 항체: Herceptin™(트라스투주맵).

세포 배양. 냉동된 세포를 37°C 수조 중에 바이알을 부드럽게 돌려 해동시켰다. 1-2분 후, 바이알 중 배지가 완전히 녹았다. 바이알 외부를 70% 에탄올로 닦았다. 이어서 세포 현탁액을 15ml 원심관으로 옮긴 다음, 5ml의 예비-가온 완전 배지를 첨가하였다. 500 g에서 3-5분 동안 원심분리 후, 상청액을 흡인하였다. 10ml의 완전 배지를 첨가하고 세포를 몇 번 위 아래로 피펫팅하여 재현탁하였다. 세포 생존력을 트립판 블루 염색 방법으로 결정하였다. 그 다음, 세포 현탁액을 플라스크 중에 접종하였다. 세포를 37°C, 5% CO₂에서 밤새 인큐베이션하였다.

세포를 37°C/5% CO₂에서 유지하고 ATCC로부터의 프로토콜에 따라 10% FBS가 보강된 적합한 배지로 규칙적으로 하위-배양하였다.

항체 샘플 및 표준을 건조 운송장치로 전달하고, 평가 전까지 -20°C에서 보관하였다. 샘플 및 표준을 얼음 상에 해동 후 4°C에서 보관하였다. 샘플 및 표준을 페놀 레드 비함유 MEM 배지(1% FBS 및 1% Pen/Strep으로 보강됨)로 희석하고 평가에 적용하였다.

ADCC 분석 완충제는 98% 페놀 레드 비함유 MEM 배지, 1% Pen/Strep 및 1% FBS로 이루어졌다.

NK92/FcRγ 3a(158V/V) 세포를 통상적으로 유지하였다.

표적 세포를 3분 동안 800 rpm에서 원심분리로 수확하고, 분석 배지로 한 번 세정하고, 원심분리하였다; 펠렛 위의 배지를 완전히 제거하였다. 세포를 분석 배지로 부드럽게 현탁하여 단일 세포 용액을 제조하였다. 표적 세포 수를 4x 세포 스탁(50 μl 분석 배지 중 10,000 개 세포)으로 조정하였다. 시험품을 관심 농도로 제조하였다.

50 μ l의 4x 표적 세포 스톱을 96-웰 분석 플레이트로 집중하고 50 μ l의 4 x 샘플 희석제를 첨가했다. 플레이트를 세포 배양 인큐베이터에서 30분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 100 μ l의 효과기 세포(E/T=5:1, 즉, 50,000 개 효과기 세포/웰)을 부가하여 반응을 개시하고 교차 진탕에 의해 부드럽게 혼합하였다. Triton X-100을 효과기 세포가 없는 세포 대조군 및 최종 농도 1%의 항체에 부가하여 표적 세포를 용해시키고, 이것이 최대 용해 대조군으로 작용하였다; 분석 완충제를 효과기 세포 및 항체가 없는 세포 대조군에 부가하였고, 이것이 최소 LDH 방출 대조군으로 작용하였다. 항체 존재를 포함하지 않고 효과기 세포와 인큐베이션된 표적 세포는 두 세포가 함께 인큐베이션되는 경우, 비-특이적 LDH 방출의 배경 대조군으로 설정하였다. 플레이트를 4-6 시간 동안 37°C/5% CO₂ 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 세포 생존력을 LDH 키트로 분석하였다. OD492nm 및 OD650nm에서의 흡광도 데이터를 Flexstation 3에서 측정하였다.

OD492nm 데이터를 공제된 배경(OD650nm)을 분석하여 LDH 방출을 연구하였다. 세포 용해 백분율을 식에 따라 계산하였다:

$$\text{세포 용해\%} = 100^* (1 - (\text{샘플 데이터OD} - \text{중양 세포} + \text{효과기 세포OD}) / (\text{최대 방출OD} - \text{최소 방출OD}))$$

결과를 도 4에 나타내고, 예시적인 이중다량체 AA6이 상기 분석에서 ADCC 활성을 침묵화할 수 있음을 시사한다.

실시예 8: 항-CD20 항체, 리톡시맵(이중다량체)에 기반한 항체 작제물의 제조 및 발현

하기 항체 작제물을 제조하였다. 모든 항체 작제물은 아미노산 돌연변이를 포함하지 않는 CH3 도메인에 비해 증가된 안정성을 가지는 이중이량체 Fc 도메인의 형성을 촉진하기 위해 도입된 중쇄 CH3 도메인에 하기 부가된 변형을 포함하는 야생형 항-CD20 항체 리톡시맵의 서열에 기반하였다(도 5, 야생형 리톡시맵 중쇄 아미노산 서열에 대해 서열식별번호:4, 야생형 리톡시맵 경쇄 서열에 대해 서열식별번호:5 참고):

사슬 A: T350V/L351Y/F405A/Y407V, 및

사슬 B: T350V/T366L/K392L/T394W

상기 돌연변이를 포함하는 상기 작제물은 v1261로 불린다.

표 F에 나타난 중쇄의 CH2 도메인 및 힌지 영역에서 아미노산 변형을 갖는 v1261에 기반하여 추가 변이체를 구축하였다. 모든 변이체는 서열식별번호: 68(아미노산) 및 또는 서열식별번호:69(DNA)에 나타난 경쇄 서열을 추가로 포함한다.

표 F: 리톡시맵에 기반한 비대칭 항체 작제물

변이체	사슬 A	서열식별번호:(아미노산/DNA)	사슬 B	서열식별번호:(아미노산/DNA)
대조군 WT 리톡시 맵 1261	--	35/36	--	37/38
AAC9	L234D / L235E	39/40	E233K / L234R / L235R	41/42
AAC10	L234D / L235E+D265S	43/44	E233K / L234R / L235R+D265S	45/46
AAC11	L234D / L235E+E269K	47/48	E233K / L234R / L235R+E269K	49/50
AAC12	L234D / L235E+K322A	51/52	E233K / L234R / L235R+K322A	53/54
AAC13	L234D / L235E+P329W	55/56	E233K / L234R / L235R+P329W	57/58
AAC14	L234D / L235E+E269K+D265S+K322A	59/60	E233K / L234R / L235R+E269K+D265S+K322A	61/62
AAC15	L234D / L235E+E269K+D265S+K322E+E333K	63/64	E233K / L234R / L235R+E269K+D265S+K322E+E333K	65/66

항체 및 대조군을 하기와 같이 클로닝하고 발현하였다. V1261을 표준 방법을 이용해서 부위 지향적 돌연변이 유발에 의해 제조하였다. 최종 DNA를 벡터 pTT5(국제 특허 공개 번호 WO 2009/137911 참고) 내로 서브-클로닝하였다. 발현을 50mL 또는 250mL CHO 3E7 세포 중에 수행하였다. CHO 세포를 PEI:DNA 비 2.5:1로 지수 성장상(1.5 내지 2 백만 개 세포/mL)에 수성 1mg/mL 25kDa 폴리에틸렌이민(PEI, Polysciences)으로 형질감염시켰다 (Raymond C. 등 A simplified polyethylenimine-mediated transfection process for large-scale and high-throughput application. Methods. 55(1):44-51(2011)). DNA를 중쇄 A(HC-A), 경쇄(LC), 및 중쇄 B의 DNA 비 (HC-A/HC-B/LC 비 = 30:30:40%)로 형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 4000rpm에서 원심분리 후 수집된 배양배지로 5-6일 후 수확하고 0.45µm 필터를 이용해서 정화하였다.

정제 프로토콜: 정화된 배양 배지를 MabSelect SuRe(GE Healthcare) 단백질-A 칼럼 상에 로딩하고 pH 7.2의 PBS 완충제 10 칼럼 용적으로 세정하였다. 항체를 pH 3.6의 시트레이트 완충제 10 칼럼 용적으로 용출하고, 항체를 함유하는 풀링된 분획을 pH 11에서 TRIS로 중화하였다. 단백질-A 정제된 항체를 겔 여과(SEC)로 추가 정제하였다. 겔 여과를 위해, 3.5mg의 항체 혼합물을 1.5mL로 농축하고 1 mL/분의 유속으로 AKTA Express FPLC를 통해 Sephadex 200 HiLoad 16/600 200 pg 칼럼(GE Healthcare) 상에 로딩하였다. pH 7.4의 PBS 완충제를 1 mL/분의 유속으로 사용하였다. 정제된 항체에 상응하는 분획을 수집하고, ~1mg/mL로 농축하여 -80°C에서 보관하였다.

발현 수율은 하기와 같다:

표 G: 발현 수율

변이체	50 mL 발현 단백질-A 수율[mg/L]	50 mL 발현 SEC 수율[mg/L]	250 mL 발현 단백질-A 수율[mg/L]	250 mL 발현 SEC 수율[mg/L]
대조군 WT 리톡시맵 1261			28	15
AAC9	11	6	8	3
AAC10	12	5	24	11
AAC11	12	3	24	9
AAC12	11	4	11	9
AAC13	15	5	7	3
AAC14	10	3	13	11
AAC15	18	5	8	3

수율의 배치 별 변동성을 고려하여, 모든 샘플은 대조군 WT 리톡시맵에 필적하는 수준으로 잘 발현되었다.

실시예 9: 리톡시맵에 기반한 비대칭 항체 작제물은 FcγR 에 결합하지 않음

리톡시맵에 기반한 비대칭 항체 작제물의 FcγRIIaH, FcγRIIaR, FcγRIIb FcγRIIIaF, 및 FcγRIIIaV에 결합하는 능력을 표면 플라즈몬 공명(SPR)으로 평가하였다.

FcγR의 항체 Fc에 대한 친화도를 pH 7.4에서 0.05% Tween 20 및 3.4mM EDTA를 함유하는 PBS를 수행 완충제로 25°C에서 ProteOn XPR36을 이용한 SPR에 의해 측정하였다. 염소 다클론성 항-IgG 항체를 대략 3000 공명 단위 (RUs)에 도달할 때까지 25μl/분으로 10mM NaOAc(pH 4.5) 중 4.0 μg/mL을 주입하여 NHS/EDC 활성화된 GLC 센서 칩 상에 고정된 다음 잔여 활성기를 에탄올아민으로 켈칭하였다. 40 μg/mL의 정제된 리톡시맵-기반 항체를 리간드 방향으로 240s 동안 25μl/분으로 주입하여(대략 500RUs 포획 생성) 간접적으로 포획한 뒤 완충제를 주입하여 분석물 방향으로 안정한 기준선을 구축하였다. 이후 FcγRs를 180s 해리상과 함께 120s 동안 50 μl/분으로 주입하여 결합 센소그램 세트를 획득하였다. 생성 Kd(친화도) 값을 Proteon 매니저 소프트웨어에서 평형 핏 모델을 이용하여 이중-참조된 센소그램으로부터 결정하였다. 값을 2 또는 3회 독립 수행의 평균으로 보고하였다.

SPR로 결정된, 각각의 변이체에 있어서의 WT에 대한 시험관내 결합 Ka 비를 표 H에 나타낸다.

표 H: 야생형 트라스투주맵에 대한 Fcγ 수용체로의 결합에 대한 SPR Ka 비

변이체	CD16aF	CD16aV	CD32b	CD32aH	CD32aR
대조군 WT 리톡시맵 1261	1.36	1.34	1.85	1.87	1.47
AAC9	NB	0.08	NB	NB	NB
AAC10	NB	LOW	NB	NB	NB
AAC11	NB	LOW	NB	NB	NB
AAC12	NB	0.08	NB	NB	NB
AAC13	NB	LOW	NB	NB	NB
AAC14	NB	LOW	NB	NB	NB
AAC15	NB	LOW	NB	NB	NB

대조군 WT 리톡시맵 1261 상에 돌연변이를 유발하는 이중이량체는 동종이량체 WT 트라스투주맵에 비해 수용체에 대한 친화도를 미미하게 상승시켰다. 돌연변이를 유도하는 이중이량체를 함유하는 돌연변이체는 Fcγ 수용체에 대해 크게 감소된 또는 검출불가능한 결합을 나타내었다.

실시예 10: 리톡시맵에 기반한 비대칭 항체 작제물은 열적으로 안정함

리톡시맵에 기반한 비대칭 항체 작제물의 CH2 도메인의 열적 안정성을 하기와 같이 시차주사열량측정을 이용하여 결정하였다. 각각의 항체 작제물을 실시예 8에 기재된 바와 같이 정제하고, PBS 중 0.2 mg/mL로 희석하고,

총 400 μ l를 VP-모세관 DSC(GE Healthcare)를 이용하여 DSC 분석을 위해 사용하였다. 각각의 DSC 분석 시작 시, 5회의 완충제 블랭크 주입을 수행하여 기준선을 안정화하고, 완충제 주입을 참조를 위해 각각의 항체 작제물 주입 전에 배치하였다. 각각의 샘플을 로우 피드백, 8 초 필터, 5 분 preTstat, 및 70 psi 질소 압력을 이용해서, 60 $^{\circ}$ C/hr 속도로 20 $^{\circ}$ C부터 100 $^{\circ}$ C까지 스캐닝하였다. 수득한 온도기록도를 참조하고 Origin 7 소프트웨어를 이용해서 분석하였다.

평가된 이종다량체의 용융 온도를 아래 표 I에 나타낸다.

표 I: 이종다량체의 열적 안정성

변이체	T _m [$^{\circ}$ C] ¹
대조군 WT 리톡시맵 1261	73.0
AAC9	75.3
AAC10	75.3
AAC11	75.4
AAC12	75.4
AAC13	75.4
AAC14	75.2(노이즈 포함)
AAC15	67.5

1. 제1 전이에는 리톡시맵 FAB 및 CH2 도메인 둘 다의 언폴딩이 포함되었다. T_m을 제1 전이의 비-2 상태 모델을 이용한 디콘볼루션에 의해 측정하였다.

이들 결과는 수많은 설계가 대조군 WT에 비해 더 높은 T_m 개시 및 CH2 도메인의 T_m을 가짐을 나타낸다.

실시예 11: 리톡시맵에 기반한 비대칭 항체 작제물은 Daudi 세포에서 ADCC를 자극하지 않음

선택된 변이체를 Fc γ R의 측정된 결합의 부제가 ADCC에 의해 측정된 효과기 기능을 매개하는 무능으로 번역되는 지를 평가하기 위해 Daudi 세포에서 ADCC를 자극하는 이들의 능력에 대해 평가하였다. Daudi 세포는 이들의 표면 상에 CD20을 발현하고, 이에 따라 리톡시맵에 결합하여, NK 세포가 리톡시맵의 존재 하에 ADCC를 매개할 수 있게 한다. 상기 분석에서 선택된 변이체의 활성을 표 F에 기재된 대조군 리톡시맵 변이체 및 상업적으로 수득되는 리톡시맵과 비교하였다.

사용된 세포주: Daudi 세포주(ATCC, Cat# CCL-213), NK92/CD16a(158V/V) 검출 디바이스: FlexStation3, Molecular Devices.

양성 대조군 항체: 리톡시맵.

세포 배양. 냉동된 세포를 37 $^{\circ}$ C 수조 중에 바이알을 부드럽게 돌려 해동시켰다. 1-2분 후, 바이알 중 배지가 완전히 녹았다. 바이알 외부를 70% 에탄올로 닦았다. 이어서 세포 현탁액을 15ml 원심관으로 옮긴 다음, 5ml의 예비-가온 완전 배지를 첨가하였다. 500 g에서 3-5분 동안 원심분리 후, 상청액을 흡인하였다. 10ml의 완전 배지를 첨가하고 세포를 몇 번 위 아래로 피펫팅하여 재현탁하였다. 세포 생존력을 트립판 블루 염색 방법으로 결정하였다. 그 다음, 세포 현탁액을 플라스크 중에 접종하였다. 세포를 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂에서 밤새 인큐베이션하였다.

세포를 37 $^{\circ}$ C/5% CO₂에서 유지하고 ATCC로부터의 프로토콜에 따라 10% FBS가 보장된 적합한 배지로 규칙적으로 하위-배양하였다.

항체 샘플 및 표준(리톡시맵)을 건조 운송장치로 전달하고, 평가 전까지 -20 $^{\circ}$ C에서 보관하였다. 샘플 및 표준은 얼음 상에 해동 후 4 $^{\circ}$ C에 보관하였다. 샘플 및 표준을 페놀 레드 비함유 MEM 배지(1% FBS 및 1% Pen/Strep으로 보장됨)로 희석하고 평가에 적용하였다.

ADCC 분석 완충제는 98% 페놀 레드 비함유 MEM 배지, 1% Pen/Strep 및 1% FBS로 이루어졌다.

NK92/FcR γ 3a(158V/V) 세포를 통상적으로 유지하였다.

표적 세포를 3분 동안 800 rpm에서 원심분리로 수확하고, 분석 배지로 한 번 세정하고, 원심분리하였다; 펠렛 위의 배지를 완전히 제거하였다. 세포를 분석 배지로 부드럽게 현탁하여 단일 세포 용액을 제조하였다. 표적 세

포 수를 4x 세포 스탁(50 μl 분석 배지 중 10,000 개 세포)으로 조정하였다. 시험품을 관심 농도로 제조하였다. 50 μl의 4x 표적 세포 스탁을 96-웰 분석 플레이트로 접종하고 50 μl의 4x 샘플 희석제를 첨가했다. 플레이트를 세포 배양 인큐베이터에서 30분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 100 μl의 효과기 세포(E/T=5:1, 즉, 50,000 개 효과기 세포/웰)을 부가하여 반응을 개시하고 교차 진탕에 의해 부드럽게 혼합하였다. Triton X-100을 효과기 세포가 없는 세포 대조군 및 최종 농도 1%의 항체에 부가하여 표적 세포를 용해시키고, 이것이 최대 용해 대조군으로 작용하였다; 분석 완충제를 효과기 세포 및 항체가 없는 세포 대조군에 부가하였고, 이것이 최소 LDH 방출 대조군으로 작용하였다. 항체 존재를 포함하지 않고 효과기 세포와 인큐베이션된 표적 세포는 두 세포가 함께 인큐베이션되는 경우, 비-특이적 LDH 방출의 배경 대조군으로 설정되었다. 플레이트를 4-6 시간 동안 37°C /5% CO2 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 세포 생존력을 LDH 키트로 분석하였다. OD492nm 및 OD650nm에서의 흡광도 데이터를 Flexstation 3에서 측정하였다.

OD492nm 데이터를 공제된 배경(OD650nm)을 분석하여 LDH 방출을 연구하였다. 세포 용해 백분율을 식에 따라 계산하였다:

$$\text{세포 용해\%} = 100 \times (1 - (\text{샘플 데이터OD} - \text{종양 세포} + \text{효과기 세포OD}) / (\text{최대 방출OD} - \text{최소 방출OD}))$$

결과를 도 6에 나타내며, 모든 변이체는 크게 감소되거나 검출불가능한 ADCC 활성을 나타냈음을 시사한다.

하기 표는 결과를 요약한다:

표 J: 변이체의 ADCC 활성

변이체	EC50 [nM]	최대 용해
대조군 WT 리톡시맵 1261	0.1	66
AAC9	비용해성	비용해성
AAC10	7.4	45
AAC11	>100	낮음
AAC12	23.1	20
AAC13	n/d*	n/d*
AAC14	비용해성	비용해성
AAC15	비용해성	비용해성

*n/d = 결정되지 않음

KO 변이체는 크게 감소된 ADCC 용해 활성을 나타내었고, 많은 변이체에 있어서 활성이 전혀 검출되지 않았다.

실시에 12: 리톡시맵에 기반한 비대칭 항체 작제물은 Daudi 세포에서 CDC(보체-의존적 세포독성)를 감소시킴

C1q에 결합하는 이들의 능력은 평가되지 않았지만, 선택된 변이체를 평가하여 Daudi 세포에서 CDC를 매개할 수 있는지를 결정하였다. 상기 분석에서 선택된 변이체의 활성을 표 F에 기재된 대조군 리톡시맵 변이체 및 상업적으로 수득된 리톡시맵과 비교하였다.

사용된 세포주: Daudi 세포주(ATCC, Cat# CCL-213), NK92/CD16a(158V/V). 검출 디바이스: F PHERAstarPlus, BMG Labtech. 양성 대조군 항체: 리톡시맵.

세포 배양. Daudi 세포를 원심분리에 의해 수확하고, 펠렛을 분석 완충제로 1회 세정하였다. 생존 세포를 트립판 블루 염료로 카운트하였다. 세포 집단은 분석에 대해 >99% 생존력만을 허용하였다. 세포 농도를 조정하고, 5,000 개 세포를 20 μl CDC 완충제에 접종하였다. 10 μl의 희석된 샘플을 첨가하였다(3개씩, 600 nM부터 1:10씩 감소하는 희석율의 8개 농도). 샘플 및 리톡산 대조군을 30분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 10 μl NHS(10% 최종 농도/40 μl 반응 용적)를 각 웰에 첨가하여 CDC 분석을 개시하였다. 플레이트를 2 시간 동안 37°C/5% CO2 인큐베이터에서 인큐베이션하였다. 세포 생존력 평가를 CellTiter-Glo® 발광 세포 생존력 분석 키트로 수행하였다. 발광을 PHERAstar Plus 상에서 관독하고, 상대 광 단위 데이터를 기록하였다.

데이터 분석

세포 용해 백분율을 하기 식으로 계산하였다:

$$\text{세포 용해\%} = 100 \times (1 - (\text{샘플RLU}) / (\text{세포} + \text{NHS RLU})) \text{ (식 중, NHS는 일반 인간 혈청을 나타냄).}$$

결과를 도 7에 나타내며, 모든 샘플이 유의미하게 더 낮은 CDC 활성을 나타내었음을 시사한다.

표 K: 변이체의 CDC 활성

변이체	EC50 [nM]	최대 용해
대조군 WT 리톡시맵 1261	2.9	96
AAC9	47.9	68
AAC10	82.8	79
AAC11	51.6	63
AAC12	54.6	67
AAC13	n/d*	n/d*
AAC14	69.7	72
AAC15	~ 55.87	43

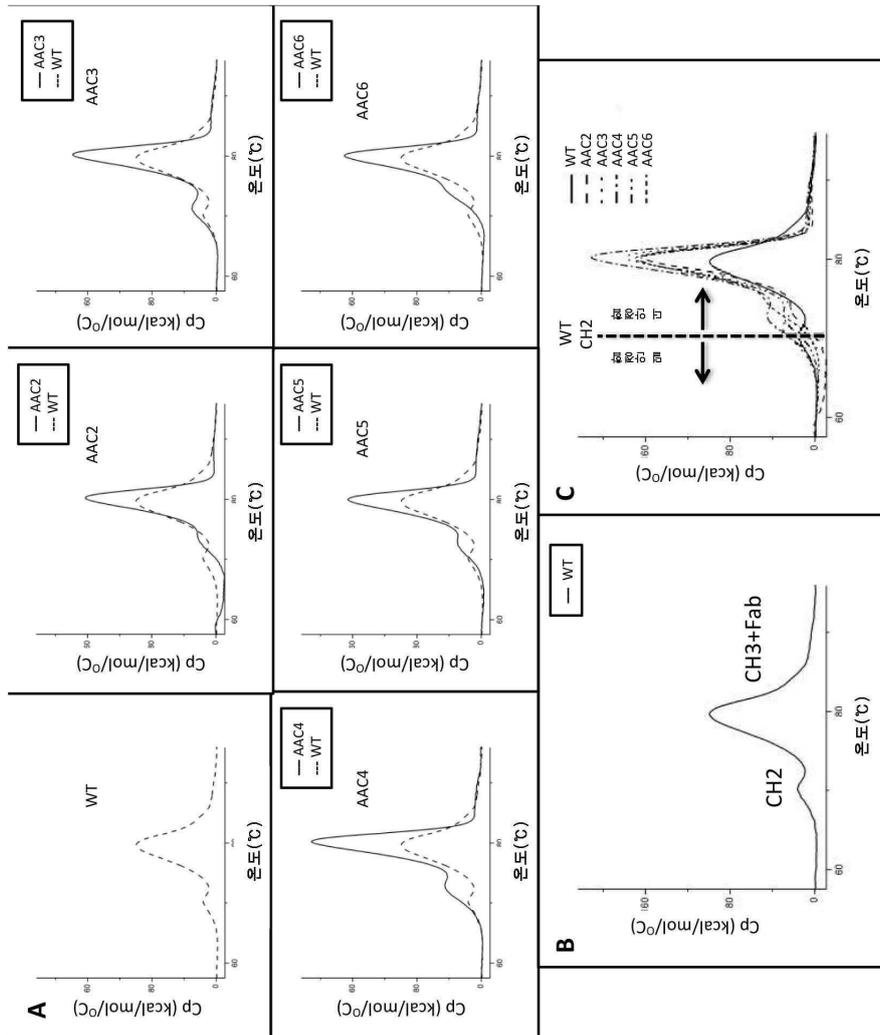
*n/d = 결정되지 않음

KO 변이체는 크게 감소된 CDC 용해 활성을 나타내었다.

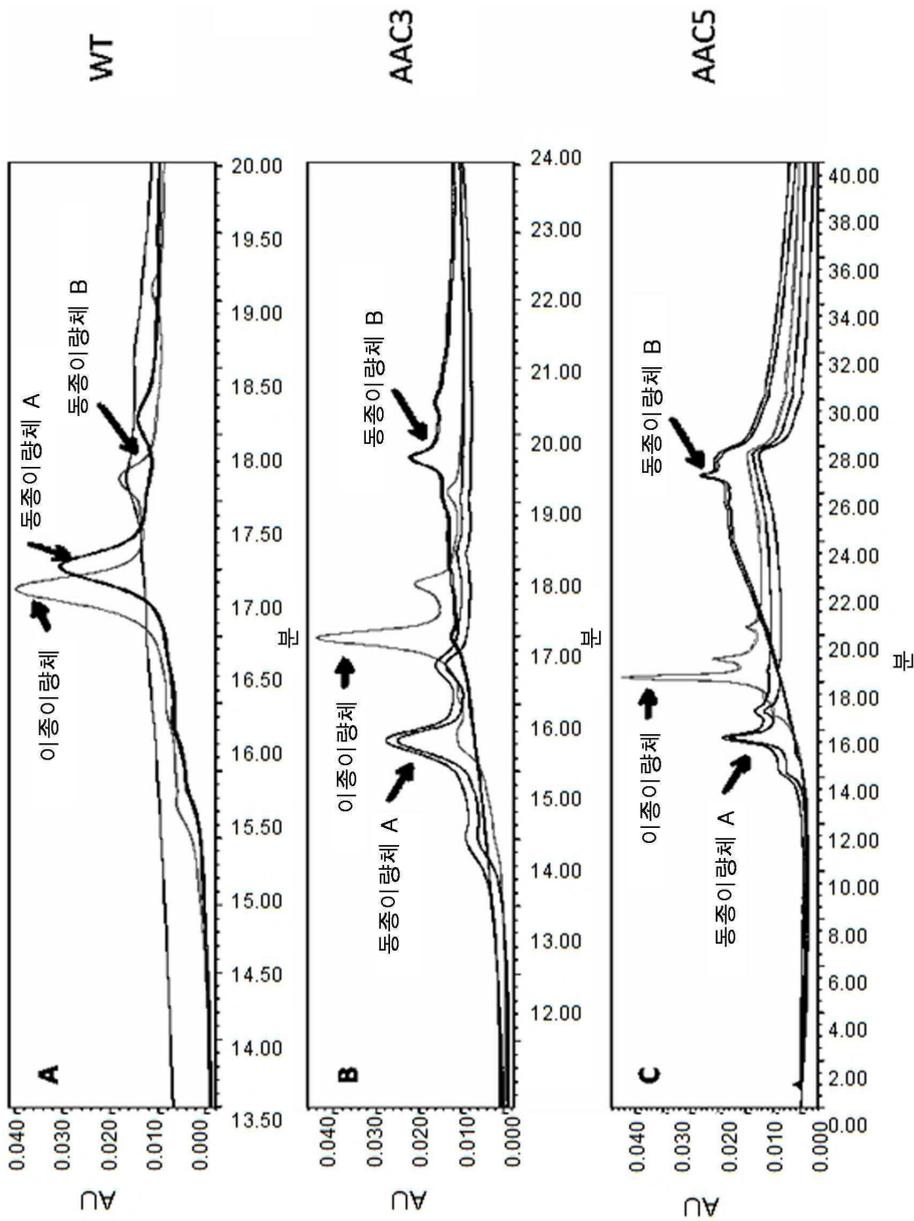
실시예에서 사용된 시약은 상업적으로 이용가능하거나 당해기술에서 공지된 상업적으로 이용가능한 기기장치, 방법, 또는 시약을 이용해서 제조할 수 있다. 전술된 실시예는 본 발명의 다양한 측면 및 본 발명의 방법의 실시를 예시한다. 실시예는 본 발명의 많은 상이한 구현예의 철저한 설명을 제공하려는 것이 아니다. 따라서 본 발명이 예시로서 그리고 이해의 명확성 목적을 위한 예로서 어느 정도 상세히 기재되었지만, 당해기술의 숙련가는 많은 변화 및 변형이 첨부된 청구범위의 요지 또는 범위에서 벗어나지 않고 수행될 수 있음을 쉽게 인식할 것이다.

본 명세서에서 언급된 모든 공보, 특허 및 특허 출원은 각각의 개별 공보, 특허 또는 특허 출원이 구체적이고 개별적으로 본원에 참고로 편입되는 것으로 명시된 것과 동일한 정도로 본원에서 명세서 내에 참고로 편입된다.

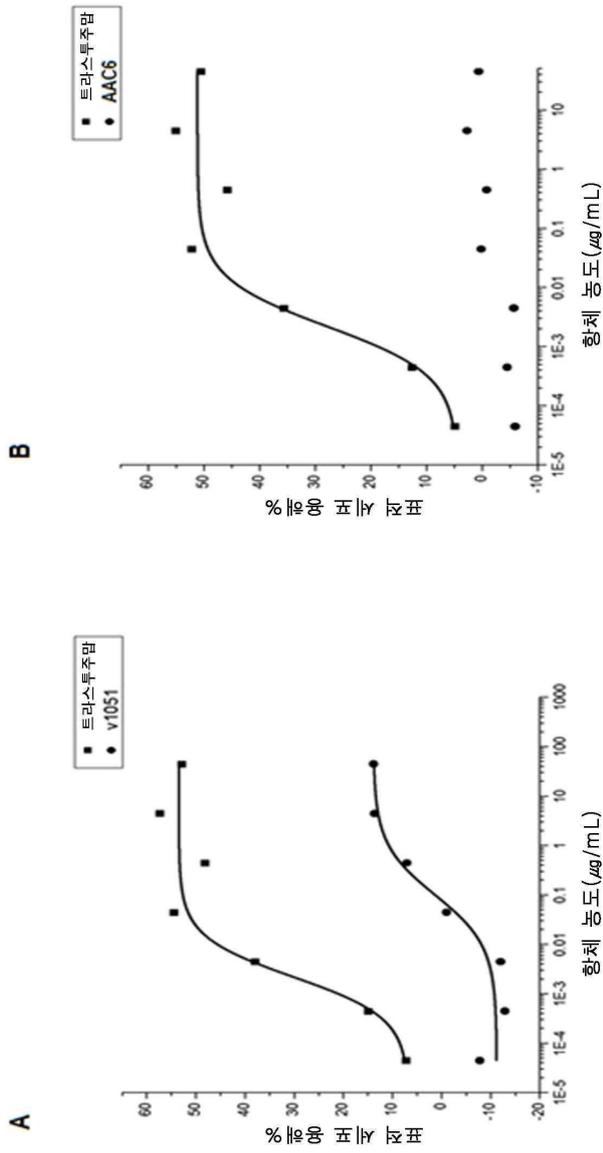
도면2



도면3a



도면4



도면5

서열식별번호:1:

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKF
NWXVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

서열식별번호:2:

>트라스투주맙_중쇄

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYTR
YADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGLTV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPA
VLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPA
PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

서열식별번호:3:

>트라스투주맙_경쇄

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP
SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPP
SDEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLST
LTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

서열식별번호:4:

>리톡시맙+중쇄

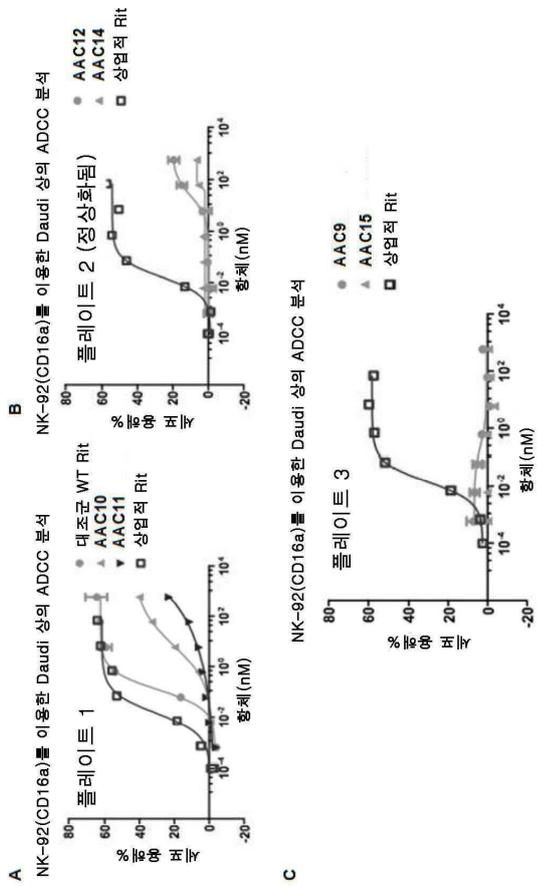
QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGD
TSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGT
TVTVAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

서열식별번호:5:

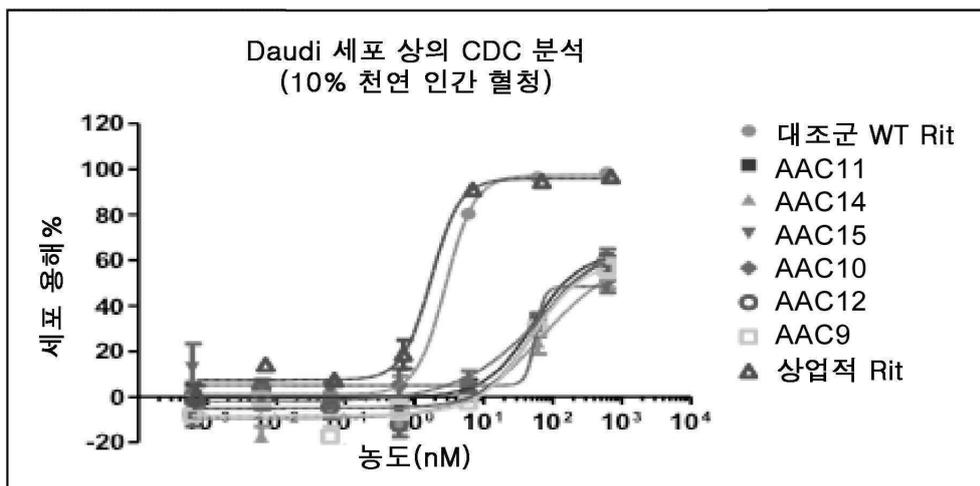
>리톡시맙+경쇄

QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWVQQKPGSSPKPWYATSNLASGVPVR
FSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSLSTL
TLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

도면6



도면7



도면8a

서열 목록 번호:	유형	
6	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP PVLDEEDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
8	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTW PPVLDSGDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
10	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDEEDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
12	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP PVLDEEDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK

도면 8b

14	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPAKAGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP PVLDEEDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
16	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHQNEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP PVLDEEDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
18	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP VLDEEDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
20	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYVLPSPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK
22	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEKGGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP

도면8c

		QVYVLPSPRDELTKNQVSLCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWP PVLDSGDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSL PGK
24	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPARRGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYVLPSPRDELTKNQVSLCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENRYMTW PVLDSGDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
26	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPKRRGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYVLPSPRDELTKNQVSLCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENRYMTW PVLDSGDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
28	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPKAKGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPRE PQVYVLPSPRDELTKNQVSLCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENRYMTW PVLDSGDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
30	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ TYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHRPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYVLPSPRDELTKNQVSLCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWP PVLDSGDGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSL PGK
32	폴리펩타이드	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVA RIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRW GGDGFYAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSKVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQ

도면8d

		TYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELKGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKCLPAPIEKTISKAKGQPREP QVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENRYMTWP PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL PGK
35	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPVLDSGDSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
37	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYL TWPPVLDSGDSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
39	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSGDSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
41	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPKRRGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY LTWPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK

도면 8e

43	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
45	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPKRRGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY LTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
47	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHKDEPKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
49	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPKRRGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHKDEPKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY LTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
51	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSTSEDSAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSS LGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKG

도면8f

		QPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
53	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPKRRGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY LTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
55	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALWAPIEKTISKAKG QPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
57	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPKRRGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALWAPIEKTISKAKG QPREPQVYVLPSPRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY LTWPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
59	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVSVSHKDEPKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVYPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
61	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGGRGLEWIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTTTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS

도면 8g

		LGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPKRRGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVSVSVSHKDPVDFNWFYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCAVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYVLPSSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY LTPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
63	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSLSLSEDAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEDEGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVSVSVSHKDPVDFNWFYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCEVSNKALPAPIKKTISKAKG QPREPQVYVLPSSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTTPVLDSDGSFALVSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQ KSLSLSPGK
65	폴리펩타이드	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYFTSYNMHWVKQTPGRGLE WIGAIYPGNGDTSYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSLSLSEDAVYYC ARSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSAASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSS LGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPKRRGGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVSVSVSHKDPVDFNWFYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCEVSNKALPAPIKKTISKAKG QPREPQVYVLPSSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY LTPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGK
67	폴리펩타이드	DIQMTQSPSSLSASVGRVITITCRASQDVNTAVAWYQQKPKGAPKLLIYS ASFLYSGVPSRFSGSRSQDFTLTISLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGT KVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC
68	폴리펩타이드	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSIHWFAQKPGSSPKPWYIATS NLASGVVPRFSGSGSSTYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGT KLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA LQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
7	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTCAGTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACTG CTTACTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGACAGTGCATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGCTGTTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC

도면 8h

		<p>CGTGAGTTGGAACCTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAAGCC GCCGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGTGACCGTGTGACCCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAAGTAAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAA GACCACACCTCCAGTGTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGT CCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTT AGTTGTTCAAGTATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAG AGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA</p>
9	DNA	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAAGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCGGATACATCCAAAAACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTGCATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAACCTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAAGCC GCCGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGTGACCGTGTGACCCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAAGTAAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAAGATACAT GACCTGGCCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTC CAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTA GTTGTTCAAGTATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGA</p>

도면8i

		GCCTGTCCTGTCTCCCGGCAAA
11	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCAAAAACACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAACCTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAAGAC GAGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCAGGAGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTCTGACCGTGTCTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAAGTAAATAAGGCCCTGCC TGCTCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAA GACCACCTCCAGTGTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGT CCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTT AGTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAG AGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAA
13	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCAAAAACACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAACCTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTC

도면8j

		<p>CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGCCGAC GAGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCTAAGCCAAAAGACACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAAGTCAAGTAAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAAGTACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAA GACCACACCTCCAGTGTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGT CCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTT AGTTGTTCAAGTATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAG AGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA</p>
<p>15</p>	<p>DNA</p>	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAAGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAAGTCAAGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGCCAAG GCCGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCTAAGCCAAAAGACACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAAGTCAAGTAAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAAGTACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAA GACCACACCTCCAGTGTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGT CCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTT AGTTGTTCAAGTATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAG AGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA</p>

도면8k

17	DNA	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAATTGGAACACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTG CTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTACCAGAACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTAAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCC TGCTCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGCCCTGACATGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAA GACCACACCTCCAGTGCTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGT CCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTT AGTTGTTCAAGTGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAG AGCCTGTCCCTGTCTCCCGCAA</p>
19	DNA	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAACACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTG CTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG</p>

도면81

		TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGTACCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACATGTCTGGTAAAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAATTACAA GACCACACCTCCAGTGCTGGACGAGGATGGCAGCTTCGCCCTGGTGT CCAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTT AGTTGTTCAAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAG AGCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA
21	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCAAAAAACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAACACTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTG CTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGCTGTCTGGTAAAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAAGATACAT GACCTGGCCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTTC CAAGTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTA GTTGTTCAAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGA GCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA
23	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCAAAAAACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG

도면 8m

		<p>GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAAGCTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAAAAG AAGGGAGGACCTAGCGTGTTCTCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAAGTAAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCTGCTGTGTCTGGTAAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACAT GACCTGGCCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTC CAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTA GTTGTTCAAGTATGATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGA GCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA</p>
25	DNA	<p>GAGGTGCAGCTGGTGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAAGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTCAGTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAAGCTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGCCAGA AGAGGAGGACCTAGCGTGTTCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAAGTAAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCTGCTGTGTCTGGTAAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACAT</p>

도면 8n

		GACCTGGCCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTC CAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTA GTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGA GCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA
27	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAECTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAAAGAGA AGAGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCTAAGCCAAAAGACACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTGTGAGCGTGTGACCGTGTGACCCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTAAAGTGCAAAGTCAAGTAAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTAGTGTCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACAT GACCTGGCCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTC CAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTA GTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGA GCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA
29	DNA	GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAECTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTC

도면80

		<p>CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAAAGGCC AAGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGCTGTGTCTGGTAAAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACAT GACCTGGCCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTC CAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTA GTTGTTCAAGTGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGA GCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA</p>
<p>31</p>	<p>DNA</p>	<p>GAGGTGCAGTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCACTAATGGATACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCCAAAAACTG CTTACTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTCTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAACCTCAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGCACACTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAACTG CTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTACAAGAGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGCATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGTGACCGTGTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGGCCCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCATCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGCTGTGTCTGGTAAAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACAT GACCTGGCCTCCAGTGTGGACAGCGATGGCAGCTTCTTCTGTATTC CAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTA GTTGTTCAAGTGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGA GCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA</p>

도면8p

33	DNA	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAAAGCGGAGGAGGACTGGTGCAGCCAGGA GGATCTCTGCGACTGAGTTGCGCCGCTTCAGGATTCAACATCAAGGAC ACCTACATTCACTGGGTGCGACAGGCTCCAGGAAAAGGACTGGAGTG GGTGGCTCGAATCTATCCACTAATGGATACACCCGGTATGCCGACTC CGTGAAGGGGAGGTTTACTATTAGCGCCGATACATCAAAAACACTG CTTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGAGCCGAAGATACCGCTGTGTACT ATTGCAGTCGATGGGGAGGAGACGGATTCTACGCTATGGATTATTGG GGACAGGGGACCTGGTGACAGTGAGCTCCGCCTTACCAAGGGCCC CAGTGTGTTTCCCTGGCTCCTTCTAGTAAATCCACCTCTGGAGGGAC AGCCGCTCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTATTTCCCGAGCCTGTGAC CGTGAGTTGGAACACTAGGCGCCCTGACAAGCGGAGTGACACTTTTC CTGCTGTGCTGCAGTCAAGCGGGCTGTACTCCCTGTCTCTGTGGTGA CAGTGCCAAGTTCAAGCCTGGGCACACAGACTTATATCTGCAACGTGA ATCATAAGCCCTCAAATACAAAAGTGGACAAGAAAGTGGAGCCCAAG AGCTGTGATAAGACCCACACCTGCCCTCCCTGTCCAGCTCCAGAAGT AAGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCCTAAGCCAAAAGACT CTGATGATTTCCAGGACTCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGT GTCTCACGAGGACCCGAAGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCG TGGAAGTGATAATGCTAAGACAAAACCAAGAGAGGAACAGTACAAC TCCACTTATCGCGTCGTGAGCGTGCTGACCGTGTGCACCAGGACTGG CTGAACGGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGTAATAAGAAGCTGCC TGCTCCAATCGAAAAACCTCTCTAAGGCCAAAGGCCAGCCAAGGG AGCCCCAGGTGTACGTGCTGCCACCCAGCAGAGACGAACTGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGCTGTCTGGTGAAGGCTTCTATCCTAGTGAT ATTGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCAGAGAACAGATACAT GACCTGGCCTCCAGTGCTGGACAGCGATGGCAGCTTCTCCTGTATTC CAAGCTGACAGTGGATAAATCTCGATGGCAGCAGGGGAACGTGTTTA GTTGTTCAGTGATGCATGAAGCCCTGCACAATCATTACACTCAGAAGA GCCTGTCCCTGTCTCCCGGCAA</p>
34	DNA	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGA GACAGAGTCAACCATCACTTGCCGGGAAGTCAGGACGTTAACACCGC TG TAGCTTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGAT CTATTCTGCATCCTTTTTGTACAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGC AGTCGATCTGGGACAGATTTCACTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCT GAAGATTTTGAACCTTACTACTGTCAACAGCATTACACTACCCACCCA CTTTCCGGCCAAGGGACCAAAGTGGAGATCAAACGAACTGTGGCTGCA CCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAA CTGCCTCTGTTGTGTCCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCA AAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAA GAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCA GCAGCACCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAAAAGTC TACGCCTGCGAAGTACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAAG AGCTTCAACAGGGGAGAGTGT</p>
36	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCACTTCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT</p>

도면8q

		<p>TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTCTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT CCCGCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCTTCCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAAACCTTCTAATACAAAGGTCGACAAGAAAGTGAACCAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGACCAGAGCT GCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCACCCAAACCCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGTGGACGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCAAGCCGACGAGCTGACTAA AAACAGGTCTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACA AGACTACCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTGCCTGGTGT CCAAAGTACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT TCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACCCAGAAG TCCCTGAGCCTGTCAACCCGCAA</p>
38	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCAGCTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACCGGCGACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTCTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT CCCGCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCTTCCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAAACCTTCTAATACAAAGGTCGACAAGAAAGTGAACCAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGACCAGAGCT GCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCACCCAAACCCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGTGGACGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG</p>

도면8r

		GAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACC TGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATT CAAAGTACCCTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT CCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGTACCCGGCAAA
40	DNA	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGAAAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGTCCATACTTT CCCCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATACAAAGGTCGACAAGAAAGTGAACCAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAGAGGA CGAGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCACCAAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGTGGACGT GAGCCACGAGGACCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACA AGACTACCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCCGCTGGTGT CCAAACTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT TCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAG TCCCTGAGCCTGTACCCGGCAAA
42	DNA	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGAAAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGTCCATACTTTT

도면 8s

		<p>CCCCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATAACAAAGGTGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGCCTGCACCAAAGAG AAGAGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCACCCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGAGCGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGCTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACC TGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGATT CAAACTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT CCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGTACCCGGCAA</p>
44	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACGCGGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTTACCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGCAGGAACACAGTACCCTGAGCGCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTGACTGGCACCAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT CCCCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATAACAAAGGTGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGCCTGCACCAGAGGA CGAGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCACCCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGAGCGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACA AGACTACCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCCCTGGTGT CCAAAGTACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT TCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAG TCCCTGAGCCTGTACCCGGCAA</p>

도면8t

46	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACGCGGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTCTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTACCCTGAGCGCCGCTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT CCCCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATACAAAGGTGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAAAGAG AAGAGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCACCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGACTCCTGAAGTCACTGCGTGGTCTGTGAGCGT GAGCCACGAGGACCCGAAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGATAATGCCAAAACAAGCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGCTGTGCTGGTGAAGGGTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACC TGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATT CAAACCTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTT CCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGTACCCGGCAA</p>
48	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACGCGGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTCTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTACCCTGAGCGCCGCTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGTCCATACTTTT CCCCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATACAAAGGTGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAGAGGA CGAGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCACCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGACTCCTGAAGTCACTGCGTGGTCTGTGGACGT GAGCCACAAGGACCCCGAAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG</p>

도면 8u

		TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGGTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACA AGACTACCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCGCCCTGGTGT CCAACTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT TCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACCCAGAAG TCCCTGAGCCTGTCAACCCGGCAAA
50	DNA	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGCGAGGAACCACAGTACCCTGAGCGCCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT CCCCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAAACCTTCTAATAACAAAGGTCGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAAGAG AAGAGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCACCCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACTGCGTGGTCTGTGGACGT GAGCCACAAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTGCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGGTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACC TGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATT CAAACCTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTT CCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGTCAACCCGGCAAA
52	DNA	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG

도면8v

		<p>GGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGCTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT CCCGTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATACAAAAGGTCGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAGAGGA CGAGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCACCCAAACCCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGTTGACGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCGCCGTGTTCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACA AGACTACCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCGCCCTGGTGT CCAACTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT TCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACCCCGAAG TCCCTGAGCCTGTCACCCGGCAA</p>
54	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGG TCGGAGCAATCTACCCTGAAACGGCGCACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTTACCCT ACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGCTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT CCCGTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATACAAAAGGTCGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAAGAG AAGAGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCACCCAAACCCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGTTGACGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCGCCGTGTTCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTGCTCCTCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGCTGTGCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACC</p>

도면 8w

		TGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATTC CAAACGTGACCGTGGATAAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTT CCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGTACCCGGCAAA
56	DNA	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTCTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCAAGTACCCTGAGCGCCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT CCCCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAAACCTTCTAATACAAAGTTCGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGCCTGCACCAGAGGA CGAGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACTGCGTGGTCTGTGGACGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAGTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAATGCAAGGTGTCACAAAGGCCCTGT GGGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCCAAGCCGCGACGAGTACTAA AAACCAGGTCTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACA AGACTACCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCCCTGGTGT CCAAACTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT TCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAG TCCCTGAGCCTGTACCCGGCAAA
58	DNA	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTCTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCAAGTACCCTGAGCGCCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTTT

도면 8x

		<p>CCCGCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATAACAAGGTCGACAAGAAAGTGGAAACCAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAAAGAG AAGAGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGGACGT GAGCCACGAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGT GGGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACC TGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATT CAAACTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT CCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGTCACCCGGCAA</p>
60	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAACCGCGCACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTTACCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGCAGGAACACAGTACCGTGAGCGCGCTTCCAAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTGACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGGTCCATACTTT CCCGCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAACCTTCTAATAACAAGGTCGACAAGAAAGTGGAAACCAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAGAGGA CGAGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGGACGT GAGCCACAAGGACCCCGAAGTCAAATTCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGTCTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACA AGACTACCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCCCTGGTGT CCAAAGTACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT TCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAG TCCCTGAGCCTGTCACCCGGCAA</p>

도면8y

62	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGAAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTCTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGCTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGTCCATACTTTT CCCGCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAAAACCTTCTAATACAAAGGTCGACAAGAAAGTGGAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAAAGAG AAGAGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGTGAGCGT GAGCCACAAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCGCCGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCGAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCAAAGTGA TATCGCTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCGAGAACAATTACC TGACTTGGCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATT CAAACTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTT CCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACCCAGAAAGT CCCTGAGCCTGTACCCGGCAA</p>
64	DNA	<p>CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCATTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGAAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTCTACCGCCT ACATGCAGCTGAGTTCAGTACAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACCACAGTCACCGTGAGCGCCGCTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTACTGGCACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTC ACCGTGTCTTGGAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGTCCATACTTTT CCCGCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAAAACCTTCTAATACAAAGGTCGACAAGAAAGTGGAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTTGTCTGCACCAGAGGA CGAGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGGACTCCTGAAGTCACCTGCGTGGTCTGTGAGCGT GAGCCACAAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG</p>

도면8z

		TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCGAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCAAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGTACCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCCGAGAACAATTACA AGACTACCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCGCCCTGGTGT CCAAACTGACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTT TCCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAG TCCCTGAGCCTGTCAACCCGGCAA
66	DNA	CAGGTCCAGCTGCAGCAGCCCCGGAGCTGAACTGGTCAAACCTGGCGC ATCCGTGAAAATGTCTTGCAAGGCTAGTGGCTACACATTCACCTCCTAT AACATGCACTGGGTGAAGCAGACACCAGGACGAGGACTGGAGTGGA TCGGAGCAATCTACCCTGGAAACGGCGACACTTCTTATAATCAGAAGT TTAAAGGCAAGGCCACCCTGACAGCTGATAAGAGCTCCTTACCCT ACATGCAGCTGAGTTCCTGACAAGTGAAGACTCAGCAGTGTACTATT GCGCCAGAAGCACCTACTATGGCGGGGATTGGTACTTCAACGTGTGG GGGGCAGGAACACAGTCACCGTGAGCGCGCTTCCACAAAAGGACC AAGCGTGTTCCTGCTGACCAAGCTCCAAGTCAACCAGCGGAGGAA CAGCAGCCCTGGGATGTCTGGTGAAGGACTACTCCCAGAGCCGTC ACCGTGTCTTGAAACAGTGGCGCCCTGACAAGCGGGTCCATACTTTT CCCCTGTGCTGCAGTCTAGTGGCCTGTACAGCCTGTCAAGCGTGGTC ACCGTCCCTTCTCTAGTCTGGGGACTCAGACCTATATCTGCAACGTG AATCACAAACCTTCTAATACAAAGGTCGACAAGAAAGTGGAAACAAA AAGTTGTGATAAGACACATACTTGCCACCTGTCTGACCAAAAGAG AAGAGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCACCAAACCAAGGACAC TCTGATGATTAGCCGACTCCTGAAGTCACTGCGTGGTCTGTGAGCGT GAGCCACAAGGACCCCGAAGTCAAATCAACTGGTACGTGGATGGCG TCGAGGTGCATAATGCCAAAACAAAGCCCCGGGAGGAACAGTACAAC TCAACATATAGAGTCGTGAGCGTCCTGACTGTGCTGCACCAGGACTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAATGCGAGGTGTCCAACAAGGCCCTGC CCGCACCTATCAAGAAGACTATTTCTAAAGCCAAGGGCCAGCCTAGG GAACCACAGGTGTACGTGCTGCCTCCAAGCCGCGACGAGCTGACTAA AAACCAGGTCTCCCTGCTGTGTCTGGTGAAGGGTTCTATCCAAGTGA TATCGTGTGGAGTGGGAATCAAATGGACAGCCCCGAGAACAATTACC TGACTTGGCCCCCTGTGCTGGACTCAGATGGGAGCTTCTTTCTGTATTC CAAAGTACCGTGGATAAGTCTCGGTGGCAGCAGGGAAATGTCTTTT CCTGTTCTGTGATGCACGAAGCACTGCACAATCACTACACCCAGAAGT CCCTGAGCCTGTCAACCCGGCAA
69	DNA	CAGATTGTCCTGTCTCAGAGTCCCGCTATCCTGTGCAAGCCCTGGG GAGAAGGTGACCATGACATGCCGAGCCAGCTCCTCTGTCAGCTACATC CACTGGTTCCAGCAGAAGCCAGGCAGTTCACCTAAACCATGGATCTAC GCCACATCTAACCTGGCTAGTGGAGTGCCCGTCCGGTTTTCCGGCTCT GGGAGTGGAAACATCATAACGCCTGACTATTTCCAGAGTGGAGGCCGA AGACGCCCTACCTACTATTGCCAGCAGTGGACCTTAATCCCCTAC ATTCGGCGGGGAACTAAGCTGGAGATCAAAGGACTGTGGCAGCC

도면8aa

		CCTTCTGTCTTCATTTTTCCACCCAGTGACGAACAGCTGAAATCAGGAA CCGCTTCCGTGGTCTGTCTGCTGAACAACCTTACCCCCGCGAGGCAA AGGTGCAGTGGAAAGTCGATAACGCCCTGCAGTCCGGCAATTCTCAG GAGAGTGTGACCGAACAGGACTCAAAGGATAGCACATATTCCTGAG CTCCACTGTACCCTGTCCAAAGCTGATTACGAAAAGCATAAAGTGTA TGCATGTGAGGTACCCACCCAGGGGCTGAGTAGTCCCGTCACAAAGA GTTTCAATAGAGGAGAGTGT
--	--	---

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> ZYMEWORKS INC.

<120> HETEROMULTIMERS WITH REDUCED OR SILENCED EFFECTOR FUNCTION

<130> TO-A1529

<150> PCT/CA2014/0096493150507

<151> 2014-05-30

<150> US 61/829,973

<151> 2013-05-31

<160> 81

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 2

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody sequence - trastuzumab heavy chain

<400> 2

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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> 3
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic monoclonal antibody sequence - trastuzumab light chain
 <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 Asp Val Asn Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro
 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> 4

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody sequence - Rituximab+Heavy chain

<400> 4

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

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

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp 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 Ala Ala 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
 Val Tyr 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 Glu Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val 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> 7

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 7

gaggtgcagc tgggtgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120

 ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata caccggtat 180
 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcggcgata catcAAAA cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctcgc agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

ggagacggat tciacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360
 gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaadc cacctctgga 420
 gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480
 tggaaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540

 gggctgtact cctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 600
 tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagaccca cacctgccct cctgtccag ctccagaagc cgccggagga 720
 cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtgggtgt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtga gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960

 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgt acccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200
 ctggacgagg atggcagctt cgcctggtg tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttg ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 8

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<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 Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

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

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
 Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Leu 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 Arg Tyr Met Thr Trp 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> 9

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 9

gaggtgcagc tggtggaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggtcga atctatcca ctaatggata cacccggtat 180

 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catcctaaaa cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctcgc agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300
 ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 420
 gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480
 tggaaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 600

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagacca cacctgcect cctgtccag ctcagaagc cgccggagga 720
 cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cagcaggacc ccgaagtga gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aaccatctct 1020

aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accagggtgc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacageca gagaacagat acatgacctg gectccagtg 1200
 ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgct tcccggcaaa 1350

<210> 10

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<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 Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50

55

60

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
 Val Tyr 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 Glu Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val 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> 11

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 11

gaggtgcagc tgggtgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgcc cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180
 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgcgata catcAAAA cactgcttac 240

 ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300
 ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctgggtac agtgagctcc 360
 gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaadc cacctctgga 420

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480
 tggaaactcag ggcacctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 gggctgtact cctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 600
 tatactgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660

aagagctgtg ataagacca cacctgccct cctgtccag ctccagaaga cgagggagga 720
 cctagcgtgt tectgtttcc ccctaageca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtga gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgt acccaccag cagagacgaa 1080

ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200
 ctggacgagg atggcagctt cgccctggtg tccaagetga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 12

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 12

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp 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 Ala Asp Glu 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
 Val Tyr 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 Glu Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val 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> 13

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 13

gaggtgcagc tgggtgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggtcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180
 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgcgata catccaaaaa cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

 ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360
 gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatic cacctctgga 420
 gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480

tggaactcag gcgcccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 gggctgtact cctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 600
 tatactgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagaccca cacctgccct cctgtccag ctccagccga cgagggagga 720

cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtgggtgt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagttaa gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgt acccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140

gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200
 ctggacgagg atggcagctt cgcctggtg tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgttag ttgttcagtg atgcatgaag cctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 14

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 14

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 Asn Ile Lys Asp Thr

 20 25 30
 Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

 35 40 45
 Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val

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

65 70 75 80

gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 600
 tataatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagaccca cacctgccct ccctgtccag ctccagccaa ggccggagga 720
 cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780

gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cagcaggacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aaccatctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgt acccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200

ctggacgagg atggcagctt cgccttgggtg tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 16

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 16

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Val Tyr 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 Glu Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val 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> 17

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 17

gaggtgcagc tggtgaaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggat 180
 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catccaaaaa cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctcgc agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300
 ggagacggat tctacgetat ggattattgg ggacagggga ccctgggtgac agtgagctcc 360
 gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 420

 gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480
 tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtccaagtt caagcctggg cacacagact 600

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagacca cacctgccct cctgtccag ctccagaact gctgggagga 720
 cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgattc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct caccagaacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840

tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgetgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaana aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgt acccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200
 ctggacgagg atggcagctt gcacctggtg tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260

cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 18

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 18

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp 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

Val Tyr 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 Glu Asp Gly Ser Phe Ala Leu Val 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> 19

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 19

gaggtgcagc tgggtgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120

ccaggaaaag gactggagtg ggtggtcga atctatccca ctaatggata caccgggtat 180

gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcggcgata catcaaaaa cactgcttac 240

ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaac cacctctgga 420

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc cggagcctgt gaccgtgagt 480

tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540

gggctgtact ccctgtcctc tgtggtgaca gtccaagtt caagcctggg cacacagact 600

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagaccca cacctgccct cctgtccag ctccagaact gctgggagga 720
 cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgattc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900

tccacttate gcgtcgtgag cgtgetgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaana aaccatctct 1020
 aaggccaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgt acccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accaggtgtc cctgacatgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacaatt acaagaccac acctccagtg 1200
 ctggacgagg atggcagctt gcacctggtg tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320

cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 20

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 20

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp 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

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
aagagctgtg ataagacca cacctgccct cctgtccag ctccagaact gctgggagga 720
cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgattc caggactccc 780
gaggtgacct gcgtggtgtt ggacgtgtct cagcaggacc ccgaagttaa gttcaactgg 840
tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960

gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaana aacctctct 1020
aaggccaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080
ctgaccaaga accaggtgtc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacagat acatgacctg gcctccagtg 1200
ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
cagcagggga acgtgttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 22

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 22

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 Asn Ile Lys Asp Thr
 20 25 30
Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp 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
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 Lys Lys Gly Gly		
225	230	235
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
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

Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Leu 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 Arg Tyr Met Thr Trp 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> 23

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 23

gaggtgcagc tggaggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180

 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catcaaaaa cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctcgc agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300
 ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctgggtgac agtgagctcc 360
 gccttaccag agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatc cacctctgga 420
 gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgacacctg gaccgtgagt 480
 tggaaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 gggctgtact cctgtcctc tgtggtgaca gtgccaagtt caagcctggg cacacagact 600

 tataatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660

aagagctgtg ataagaccca cacctgccct cctgtccag ctccagaaaa gaaggagga 720
 cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtgggtgt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtga gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaa caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aacctctct 1020

aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accagggtgc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaaatcaaa tggacagcca gagaacagat acatgacctg gcctccagtg 1200
 ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgcacctgct tcccggcaaa 1350

<210> 24

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 24

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

cctagcgtgt tcctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780
 gaggtgacct gcgtgggtgt ggacgtgtct cagcaggacc ccgaagttaa gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttata gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaaaa aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080

ctgaccaaga accaggtgtc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacagat acatgacctg gcctccagt 1200
 ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 26

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 26

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

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

Leu 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 Arg Tyr Met Thr Trp 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> 27

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 27

gaggtgcagc tgggtgaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60
 agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120
 ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatcca ctaatggata cacccggtat 180
 gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgccgata catccaaaaa cactgcttac 240
 ctgcagatga acagcctgcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

 ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360
 gcctctacca agggccccag tgtgtttecc ctggctcctt ctagtaaate cacctctgga 420
 gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480
 tggaaactcag gcgcctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540
 gggctgtact cctgtctctc tgtggtgaca gtccaagtt caagcctggg cacacagact 600
 tataatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660
 aagagctgtg ataagacca cacctgcct cctgtccag ctccaaagag aagaggagga 720

 cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780

gaggtgacct gcgtggtggt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840
 tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttate gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgtgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgacctgctc caatcgaaaa aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accagggtgc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgate 1140

gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacagat acatgacctg gcctccagtg 1200
 ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag cctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 28

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 28

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	Asn
Ile	Lys	Asp	Thr
20	25	30	
Tyr	Ile	His	Trp
Val	Arg	Gln	Ala
Pro	Gly	Lys	Gly
Leu	Glu	Trp	Val
35	40	45	
Ala	Arg	Ile	Tyr
Pro	Thr	Asn	Gly
Tyr	Thr	Arg	Tyr
Ala	Asp	Ser	Val
50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe
Thr	Ile	Ser	Ala
Asp	Thr	Ser	Lys
Asn	Thr	Ala	Tyr
65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn
Ser	Leu	Arg	Ala
Glu	Asp	Thr	Ala
Val	Tyr	Tyr	Cys
85	90	95	
Ser	Arg	Trp	Gly
Gly	Asp	Gly	Phe
Tyr	Ala	Met	Asp
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 Lys Ala Lys 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
 Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Leu 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 Arg Tyr Met Thr Trp 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> 29

<211> 1350

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 29

gaggtgcagc tggaggaaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttactgggt gcgacaggct 120

ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatccca ctaatggata cacccggtat 180

gccgactccg tgaagggag gtttactatt agcgcgata catcaaaaa cactgcttac 240

ctgcagatga acagcctcg agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctggtgac agtgagctcc 360

gccttacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaate cacctctgga 420

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgacacctg gaccgtgagt 480

tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacactttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540

gggctgtact cctgtcctc tgtggtgaca gtccaagtt caagcctggg cacacagact 600

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660

aagagctgtg ataagacca cacctgccct cctgtccag ctccaaagc caagggagga 720

cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780

gaggtgacct gcgtgggtt ggacgtgtct cacgaggacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840

tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900
 tccacttatac gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgctgctc caatcgaaaa aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accagggtgc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacagat acatgacctg gcctccagtg 1200

 ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
 cagcagggga acgtgttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgcacctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 30

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 30

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp 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

tccacttata gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960
 gagtataagt gcaaagtcag taataaggcc ctgcctgctc caatcgaana aacctctct 1020
 aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080
 ctgaccaaga accagggtgc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
 gctgtggagt gggaatcaaa tggacagcca gagaacagat acatgacctg gcctccagtg 1200
 ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260

cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320
 cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 32

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - variant

<400> 32

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 Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp 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 Lys 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 Lys 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

Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365

Leu 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 Arg Tyr Met Thr Trp 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> 33

<211> 1350

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - variant

<400> 33

gaggtgcagc tggtggaag cggaggagga ctggtgcagc caggaggatc tctgcgactg 60

agttgcgccg cttcaggatt caacatcaag gacacctaca ttcactgggt gcgacaggct 120

ccaggaaaag gactggagtg ggtggctcga atctatcca ctaatggata cacccggtat 180

gccgactccg tgaaggggag gtttactatt agcgcgata catcaaaaa cactgcttac 240

ctgcagatga acagcctcgc agccgaagat accgctgtgt actattgcag tcgatgggga 300

ggagacggat tctacgctat ggattattgg ggacagggga ccctgggtgac agtgagctcc 360

gcctctacca agggccccag tgtgtttccc ctggctcctt ctagtaaatic cacctctgga 420

gggacagccg ctctgggatg tctggtgaag gactatttcc ccgagcctgt gaccgtgagt 480

tggaactcag gcgccctgac aagcggagtg cacacttttc ctgctgtgct gcagtcaagc 540

gggctgtact cctgtcctc tgtggtgaca gtccaagtt caagcctggg cacacagact 600

tatatctgca acgtgaatca taagccctca aatacaaaag tggacaagaa agtggagccc 660

aagagctgtg ataagacca cacctgccct cctgtccag ctccagaact gaagggagga 720

cctagcgtgt tctgtttcc ccctaagcca aaagacactc tgatgatttc caggactccc 780

gaggtgacct gcgtgggtgt ggacgtgtct cagcaggacc ccgaagtgaa gttcaactgg 840

tacgtggatg gcgtggaagt gcataatgct aagacaaaac caagagagga acagtacaac 900

tccacttatic gcgtcgtgag cgtgctgacc gtgctgcacc aggactggct gaacgggaag 960

gagtataagt gcaaagtcag taataagaag ctgcctgctc caatcgaaaa aacctatctt 1020
aaggccaaag gccagccaag ggagccccag gtgtacgtgc tgccaccag cagagacgaa 1080
ctgaccaaga accagggtgc cctgctgtgt ctggtgaaag gcttctatcc tagtgatatt 1140
gctgtggagt gggaaatcaaa tggacagcca gagaacagat acatgacctg gcctccagtg 1200
ctggacagcg atggcagctt cttcctgtat tccaagctga cagtggataa atctcgatgg 1260
cagcagggga acgtgtttag ttgttcagtg atgcatgaag ccctgcacaa tcattacact 1320

cagaagagcc tgtccctgtc tcccggcaaa 1350

<210> 34

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic nucleotide sequence - variant trastuzumab light chain

<400> 34

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca ggacgttaac accgctgtag cttggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctattct gcatcctttt tgtacagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtcgac tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag cattacacta cccacccac tttcggccaa 300
gggaccaaag tggagatcaa acgaactgtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360
tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgtttgtg gcctgctgaa taacttctat 420
cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggt gataacgccc tccaatcggg taactccaa 480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gcgaagtcac ccatcagggc 600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 35

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab

variant

<400> 35

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

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

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

 Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Val Tyr 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 Ala Leu Val 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> 36

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab
 variant

<400> 36

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcatc cgtgaaaatg 60
 tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgcaactgggt gaagcagaca 120
 ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctaccctg gaaacggcga cacttcttat 180

 aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctcctc taccgcctac 240
 atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcbc cagaagcacc 300
 tactatggcg gggattggta cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc 360
 gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt ccaactggcac caagctccaa gtcaaccagc 420
 ggaggaacag cagccctggg atgtctgggt aaggactact tcccagagcc cgtcacctg 480
 tcttgaaca gtggcgccct gacaagcggg gtccatactt tccccgtgt gctgcagtct 540
 agtggcctgt acagcctgac aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag 600

 acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa 660
 ccaaaaagtt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcaccaga gctgctggga 720
 ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact 780
 cctgaagtca cctgcgtggt cgtggacgtg agccacgagg accccgaagt caaatcaac 840
 tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaacaa agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtctg gagegtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gcctgcccg cacctatcga gaagactatt 1020

 tctaaagcea agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgtaccctcc aagcccgac 1080
 gagctgacta aaaaccaggt ctccctgacc tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat 1140
 atcgctgtgg agtgggaatc aatggacag cccgagaaca attacaagac taccctcct 1200
 gtgctggact cagatgggag ctccgcccctg gtgtccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt cctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 37

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
 variant

<400> 37

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

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

variant

<400> 38

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcac cgtgaaaatg 60
 tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgcactgggt gaagcagaca 120
 ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctacctg gaaacggcga cacttcttat 180
 aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctcctc taccgcctac 240

 atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcbc cagaagcacc 300
 tactatggcg gggattggta cttcaactg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc 360
 gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt cactggcac caagctcaa gtcaaccagc 420
 ggaggaacag cagccctggg atgtctggtg aaggactact tcccagagcc cgtcacctg 480
 tcttggaaca gtggcgcctt gacaagcggg gtccataact ttcccctgt gctgcagtct 540
 agtggcctgt acagcctgac aagcgtggc accgtcctt cctctagtct ggggactcag 600
 acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgaca gaaagtggaa 660

 ccaaaaagtt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcaccaga gctgctggga 720
 ggaccatccg tgttctctgt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact 780
 cctgaagtca cctgctggt cgtggactg agccacgagg accccgaagt caaatcaac 840
 tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaaca agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gccctgccc cacctatcga gaagactatt 1020
 tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgctgcctcc aagccgcgac 1080

 gagctgacta aaaaccaggt ctccctgctg tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat 1140
 atcgtgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacctgac ttggccccct 1200
 gtgctggact cagatgggag cttctttctg tattccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt cctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 39

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab

variant

<400> 39

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

 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Asp Glu Gly
 225 230 235 240
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab
variant

<400> 40

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcac cgtgaaaatg 60
tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgcaactgggt gaagcagaca 120
ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctaccctg gaaacggcga cacttcttat 180
aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctcctc taccgcctac 240
atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcgc cagaagcacc 300

tactatggcg gggattggta cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc 360
gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt ccaactggcac caagctcaa gtcaaccagc 420
ggaggaacag cagccctggg atgtctggtg aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg 480
tcttgaaca gtggcgcct gacaagcggg gtccataact ttcccgtgt gctgcagtct 540
agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggc accgtccctt cctctagtct ggggactcag 600
acctatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgaca gaaagtggaa 660
ccaaaaagt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcaccaga ggacgagga 720

ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact 780
cctgaagtca cctcgtgtgt cgtggacgtg agccacgagg acccgaagt caaattcaac 840
tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaaca agccccgga ggaacagtac 900
aactcaacat atagagtcgt gagcgtctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gcctgcccg cacctatcga gaagactatt 1020
tctaaagca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgtaccctcc aagcccgac 1080
gagctgacta aaaaccaggt ctccctgacc tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat 1140

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacaaagac tccccccct 1200
gtgctggact cagatgggag cttcgcctg gtgtccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
accagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 41

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
variant

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Lys Arg Arg 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 Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

Leu Leu 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 Leu Thr Trp 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> 42

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab variant

<400> 42

```

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcac cgtgaaaatg      60
tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgcaactggg gaagcagaca      120
ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctacctg gaaacggcga cacttcttat      180
aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctctc taccgcctac      240
atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcg cagaagcacc      300

tactatggcg gggattggta cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc      360
gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt ccaactggcac caagctcca gtcaaccagc      420
ggaggaacag cagccctggg atgtctggtg aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg      480
tcttgaaca gtggcgcct gacaagcggg gtccatactt ttcccgtgt gctgcagtct      540
agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag      600
acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtgaa      660
ccaaaaagtt gtgataagac acatacttgc ccaccttgtc ctgcacaaa gagaagagga      720

ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact      780
cctgaagtca cctgcgtggt cgtggacgtg agccacgagg accccgaagt caaatcaac      840
tggtacgtgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaaca agccccgga ggaacagtac      900
aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc      960
aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gcctgcccg cacctatcga gaagactatt      1020
tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgctgcctcc aagcccgac      1080
gagctgacta aaaaccaggt ctccctgctg tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat      1140

atcgctgtgg agtgggaatc aatggacag cccgagaaca attacctgac ttggcccct      1200
gtgctggact cagatgggag cttctttctg tattccaaac tgaccgtgga taagtctcg      1260
tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac      1320
accagaagt cctgagcct gtcaccggc aaa      1353

```

<210> 43

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab

variant

<400> 43

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile
 35 40 45

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

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

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Asp Glu 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 Ser 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 Val Tyr 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 Ala Leu Val 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> 44
 <211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab variant

<400> 44

```

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcatc cgtgaaaatg      60
tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgactgggt gaagcagaca      120
ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctacctg gaaacggcga cacttcttat      180
aatcagaagt ttaaaggcaa ggccacctg acagctgata agagctctc taccgcctac      240
atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcbc cagaagcacc      300

tactatggcg gggattgcta cttcaactg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc      360
gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt cactggcac caagctcaa gtcaaccagc      420
ggaggaacag cagccctggg atgtctggtg aaggactact tcccagagcc cgtcacctg      480
tcttggaaca gtggcgcctt gacaagcggg gtccatactt ttcccgtgt gctgcagtct      540
agtggcctgt acagcctgac aagcgtggc accgtcctt cctctagtct ggggactcag      600
acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgaca gaaagtggaa      660
ccaaaaagt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcaccaga ggacgagga      720

ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact      780
cctgaagtca cctgcgtggt cgtgagcgtg agccacgagg acccgaagt caaatcaac      840
tggtactggt atggcgtcga ggtgcataat gcaaaaaca agccccgga ggaacagtac      900
aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc      960
aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gcctgcccg cacctatcga gaagactatt     1020
tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgtacctcc aagccgcgac     1080
gagctgacta aaaaccaggt ctccctgacc tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat     1140

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacaagac tacccccct     1200
gtgctggact cagatgggag cttcgcctt gtgtccaaac tgaccgtgga taagtctcgg     1260
tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac     1320
accagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa                                     1353

```

<210> 45

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
variant

<400> 45

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45
Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

 50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

 85 90 95
Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

 100 105 110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Lys Arg Arg 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 Ser 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 Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Leu 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 Leu Thr Trp 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> 46

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab
variant

<400> 46

```

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcac cgtgaaaatg      60
tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgcaactggg gaagcagaca      120
ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctaccctg gaaacggcga cacttcttat      180
aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctcctc taccgcctac      240
atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcgc cagaagcacc      300

tactatggcg gggattggtt cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc      360
gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt ccaactggcac caagctcaa gtcaaccagc      420
ggaggaacag cagccctggg atgtctggtg aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg      480
tcttggaaca gtggcgccct gacaagcggg gtccatactt ttcccgtgt gctgcagtct      540
agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag      600
acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa      660
ccaaaaagt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcacaaa gagaagagga      720

ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact      780
cctgaagtca cctgcgtggt cgtgagcgtg agccacgagg accccgaagt caaatcaac      840
tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaaca agccccggga ggaacagtac      900
aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg getgaacggc      960
aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gcctgcccg cacctatcga gaagactatt      1020
tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgctgctcc aagccgcgac      1080
gagctgacta aaaaccaggt ctccctgctg tctctggtga aggggttcta tccaagtgat      1140

atcgctgtgg agtgggaatc aatggacag cccgagaaca attacctgac ttggccccct      1200
gtgctggact cagatgggag cttctttctg tattccaac tgaccgtgga taagtctcgg      1260
tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac      1320
accagaagt cctgagcct gtcacccggc aaa                                1353

```

<210> 47

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
variant

<400> 47

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45
Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

 50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

 85 90 95
Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

 100 105 110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Asp Glu 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
 Lys 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 Val Tyr 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 Ala Leu Val 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> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab variant

<400> 48

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcac cgtgaaaatg 60
 tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgactgggt gaagcagaca 120
 ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctacctg gaaacggcga cacttcttat 180
 aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctctc taccgcctac 240
 atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgccc cagaagcacc 300

tactatggcg gggattgta cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc 360
 gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt ccaactggcac caagctccaa gtcaaccagc 420
 ggaggaacag cagccctggg atgtctgggt aaggactact tcccagagcc cgtcacctg 480
 tcttgaaca gtggcgcct gacaagcggg gtccatactt ttcccctgt gctgcagtct 540
 agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag 600
 acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa 660
 ccaaaaagtt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcaccaga ggacgagga 720

ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact 780
 cctgaagtca cctgcgtggt cgtggacgtg agccacaagg accccgaagt caaatcaac 840
 tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaacaa agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gccctgcccg cacctatcga gaagactatt 1020
 tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgtaccctcc aagccgcgac 1080
 gagctgacta aaaaccaggt ctccctgacc tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat 1140

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacaagac tacccccct 1200
 gtgctggact cagatgggag cttcgcctg gtgtccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt cctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 49

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
variant

<400> 49

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45
Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

 50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

 85 90 95
Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

 100 105 110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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

450

<210> 50

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab variant

<400> 50

```

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcatc cgtgaaaatg      60
tcttgaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgcactgggt gaagcagaca      120
ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctaccctg gaaacggcga cacttcttat      180
aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctcctc taccgcctac      240
atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcgc cagaagcacc      300

tactatggcg gggattggta cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc      360
gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt cactggcac caagctcaa gtcaaccagc      420
ggaggaacag cagccctggg atgtctggtg aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg      480
tcttgaaca gtggcgccct gacaagcggg gtccatactt tteccgtgtg gctgcagtct      540
agtggcctgt acagcctgac aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag      600
acctatctct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa      660
ccaaaaagtt gtgataagac acatacttgc ccacctgtgc ctgcacaaa gagaagagga      720

ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact      780
cctgaagtca cctgcgtggt cgtggacgtg agccacaagg accccgaagt caaattcaac      840
tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaaca agccccggga ggaacagtac      900
aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc      960
aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gcctgcccgc cacctatcga gaagactatt     1020
tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgctgcctcc aagccgcgac     1080
gagctgacta aaaaccaggt ctccctgctg tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat     1140

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacctgac ttggcccctt     1200
gtgctggact cagatgggag cttctttctg tattccaaac tgaccgtgga taagtctcgg     1260
tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttctt gtgatgcacg aagcactgca caatcactac     1320
accagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa                                     1353

```

<210> 51

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
variant

<400> 51

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

1 5 10 15
Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45
Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

 50 55 60
Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

 85 90 95
Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

 100 105 110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Asp Glu 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 Ala 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 Val Tyr 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 Ala Leu Val 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 Pro Gly Lys
 440
 445
 450
 <210> 52
 <211> 1353
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab
 variant
 <400> 52
 caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcac cgtgaaaatg 60
 tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgactgggt gaagcagaca 120
 ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctacctg gaaacggcga cacttcttat 180
 aatcagaagt ttaaaggcaa ggccacctg acagctgata agagctctc taccgcctac 240
 atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgccc cagaagcacc 300
 tactatggcg gggattggta cttcaactg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc 360
 gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt ccaactggcac caagctccaa gtcaaccagc 420
 ggaggaacag cagccctggg atgtctgggt aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg 480
 tcttggaaac gtggcgcct gacaagcggg gtccatactt ttcccctgt gctgcagtct 540
 agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag 600
 acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgaca gaaagtggaa 660
 ccaaaaagt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcaccaga ggacgagga 720
 ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact 780
 cctgaagtea cctgcgtggt cgtggacgtg agccacgagg accccgaagt caaattcaac 840
 tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaacaa agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtata aatgcgccgt gtccaacaag gccctgcccg cacctatcga gaagactatt 1020
 tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgtaccctcc aagccgcgac 1080
 gagctgacta aaaaccaggt ctccctgacc tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat 1140
 atcgtgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacaagac taccceccct 1200
 gtgctggact cagatgggag cttcgcctg gtgtccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260

tggcagcagg gaaatgtctt ttcctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa 1353
 <210> 53
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
 variant
 <400> 53
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

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

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

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

435 440 445

Pro Gly Lys

450

<210> 54

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab variant

<400> 54

```

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcac cgtgaaaatg      60
tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgcactgggt gaagcagaca      120
ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctaccctg gaaacggcga cacttcttat      180
aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctcctc taccgcctac      240
atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcgc cagaagcacc      300

tactatggcg gggattggta cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc      360
gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt cactggcac caagctcaa gtcaaccagc      420
ggaggaacag cagccctggg atgtctggtg aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg      480
tcttgaaca gtggcgcctt gacaagcggg gtccataactt ttcccgtgt gctgcagtct      540
agtggcctgt acagcctgac aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag      600
acctatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa      660
ccaaaaagtt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcacaaa gagaagagga      720

ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact      780
cctgaagtca cctgcgtggt cgtggacgtg agccacgagg acccgaagt caaattcaac      840
tggtactggt atggcgtcga ggtgcataat gccaaaaca agccccgga ggaacagtac      900
aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc      960
aaggagtata aatgcgcctg gtccaacaag gcctgcccg cacctatcga gaagactatt     1020
tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgctgcctcc aagcccgac     1080
gagctgacta aaaaccaggt ctccctgctg tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat     1140

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacctgac ttggcccct     1200

```

gtgctggact cagatgggag cttctttctg tattccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 55

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
 variant

<400> 55

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

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

65 70 75 80
 Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly
 100 105 110
 Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Asp Glu 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 Trp 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 Val Tyr 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 Ala Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacaagac tacccccct 1200
 gtgctggact cagatgggag cttcgccctg gtgtccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 57

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
 variant

<400> 57

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45
 Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

 85 90 95
 Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

 100 105 110
 Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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

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> 58

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab
 variant

<400> 58

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcatac cgtgaaaatg 60
 tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgactgggt gaagcagaca 120
 ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctacctg gaaacggcga cacttcttat 180
 aatcagaagt ttaaaggcaa ggccacctg acagctgata agagctctc taccgcctac 240
 atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcbc cagaagcacc 300

 tactatggcg gggattggta cttcaactg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc 360
 gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt ccaactggcac caagctccaa gtcaaccagc 420
 ggaggaacag cagccctggg atgtctgggt aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg 480
 tcttggaaca gtggcgcctt gacaagcggg gtccatactt ttcccgtgt gctgcagtct 540
 agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag 600
 acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa 660
 ccaaaaagt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcacaaa gagaagagga 720

 ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact 780
 cctgaagtca cctcgtgtgt cgtggactg agccacgagg accccgaagt caaatcaac 840
 tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaacaa agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtata aatgcaaggt gtccaacaag gccctgtggg cacctatcga gaagactatt 1020
 tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgctgcctcc aagccgcgac 1080

gagctgacta aaaaccaggt ctccctgctg tgtctgggga aggggttcta tccaagtgat 1140
 atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacctgac ttggcccct 1200
 gtgctggact cagatgggag cttctttctg tattccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttcctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt ccctgagcct gtcaccggc aaa 1353

<210> 59

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
 variant

<400> 59

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
 Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
 Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

85 90 95
 Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

100 105 110
 Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Asp Glu 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 Ser Val Ser His
 260 265 270
 Lys 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 Ala 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 Val Tyr 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 Ala Leu Val 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> 60

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab
 variant

<400> 60

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcata cgtgaaaatg 60
 tcttgcaagg ctagtggcta cacattcaact tcctataaca tgcaactgggt gaagcagaca 120
 ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctacctg gaaacggcga cacttcttat 180
 aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctctc taccgcctac 240
 atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgctc cagaagcacc 300

 tactatggcg gggattggta cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc 360
 gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt ccaactggcac caagctcca gtcaaccagc 420
 ggaggaacag cagccctggg atgtctgggt aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg 480
 tcttggaaca gtggcgcctt gacaagcggg gtccatactt ttcccgtgt gctgcagtct 540
 agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag 600
 acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa 660
 ccaaaaagt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcaccaga ggacgagga 720

 ggaccatccg tgttctctgt tccaacccaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact 780
 cctgaagtca cctgcgtggc cgtgagcgtg agccacaagg accccgaagt caaattcaac 840
 tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaacaa agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtctg gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtata aatgcccctg gtccaacaag gcctgcccg cacctatcga gaagactatt 1020

tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgtaccctcc aagcccgac 1080
gagctgacta aaaaccaggt ctccctgacc tgtctgtga aggggttcta tccaagtgat 1140

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacaagac tacccccct 1200
gtgctggact cagatgggag cttcgccctg gtgtccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcag aagcactgca caatcactac 1320
accagaagt cctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 61

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
variant

<400> 61

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

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

65	70	75	80
Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly			
	100	105	110
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Lys Arg Arg 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 Ser Val Ser His
 260 265 270

Lys 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 Ala 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 Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

Leu Leu 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 Leu Thr Trp 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> 62

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab
 variant

<400> 62

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcata cgtgaaaatg 60
 tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgactgggt gaagcagaca 120
 ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctaccctg gaaacggcga cacttcttat 180
 aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctcttc taccgcctac 240
 atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgctc cagaagcacc 300

 tactatggcg gggattggta cttcaactg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc 360
 gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt cactggcac caagctccaa gtcaaccagc 420
 ggaggaacag cagccctggg atgtctggtg aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg 480
 tcttggaaca gtggcgcct gacaagcggg gtccatactt ttcccctgt gctgcagtct 540
 agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag 600
 acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa 660
 ccaaaaagt gtgataagac acatacttgc ccacctgtc ctgcacaaa gagaagagga 720

 ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact 780
 cctgaagtca cctcgtgtgt cgtgagcgtg agccacaagg accccgaagt caaatcaac 840
 tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaacaa agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtcgt gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960

aaggagtata aatgcgccgt gtccaacaag gcctgcccg cacctatcga gaagactatt 1020
 tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgctgcctcc aagccgcgac 1080
 gagctgacta aaaaccaggt ctccctgctg tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat 1140

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacctgac ttggcccct 1200
 gtgctggact cagatgggag cttctttctg tattccaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 63

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab
 variant

<400> 63

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

 20 25 30
 Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45
 Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

 85 90 95
 Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

 100 105 110
 Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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

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 Ala Leu Val 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> 64

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody nucleotide sequence - rituximab
variant

<400> 64

```

caggtccagc tgcagcagcc cggagctgaa ctggtcaaac ctggcgcac cgtgaaaatg      60
tcttgcaagg ctagtggcta cacattcact tcctataaca tgcactgggt gaagcagaca      120
ccaggacgag gactggagtg gatcggagca atctaccctg gaaacggcga cacttcttat      180
aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agagctcctc taccgcctac      240
atgcagctga gttcactgac aagtgaagac tcagcagtgt actattgcgc cagaagcacc      300

tactatggcg gggattggta cttcaacgtg tggggggcag gaaccacagt caccgtgagc      360
gccgcttcca caaaaggacc aagcgtgttt cactggcac caagctcaa gtcaaccagc      420
ggaggaacag cagccctggg atgtctgggt aaggactact tcccagagcc cgtcaccgtg      480
tcttgaaca gtggcgcctt gacaagcggg gtccatactt ttcccgtgt gctgcagtct      540
agtggcctgt acagcctgtc aagcgtggtc accgtccctt cctctagtct ggggactcag      600
acctatatct gcaacgtgaa tcacaaacct tctaatacaa aggtcgacaa gaaagtggaa      660
ccaaaaagtt gtgataagac acatacttgc ccaccttgtc ctgcaccaga ggacgagga      720

ggaccatccg tgttctgtt tccacccaaa cccaaggaca ctctgatgat tagccggact      780
cctgaagtca cctgcgtggt cgtgagcgtg agccacaagg accccgaagt caaattcaac      840

```

tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaacaa agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtcgt gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtata aatgcgaggt gtccaacaag gccctgcccg cacctatcaa gaagactatt 1020
 tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgtaccctcc aagccgcgac 1080
 gagctgacta aaaaccaggt ctccctgacc tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat 1140

atcgctgtgg agtgggaatc aaatggacag cccgagaaca attacaagac tacccccct 1200
 gtgctggact cagatgggag cttcgccctg gtgtccaaac tgaccgtgga taagtctcgg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 65

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic monoclonal antibody polypeptide sequence - rituximab variant

<400> 65

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

1 5 10 15
 Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
 Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
 Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

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

85 90 95
 Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

100 105 110
 Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala 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 Lys Arg Arg 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 Ser Val Ser His
 260 265 270
 Lys 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 Glu Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 325 330 335
 Lys Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350
 Tyr Val Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365
 Leu Leu Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

cctgaagtca cctgcgtggt cgtgagcgtg agccacaagg accccgaagt caaatccaac 840
 tggtagctgg atggcgtcga ggtgcataat gccaaaacaa agccccggga ggaacagtac 900
 aactcaacat atagagtcgt gagcgtcctg actgtgctgc accaggactg gctgaacggc 960
 aaggagtataaatgcgaggtgtccaacaaggcctgcccgcacctatcaa gaagactatt 1020
 tctaaagcca agggccagcc tagggaacca caggtgtacg tgctgcctcc aagccgcgac 1080
 gagctgacta aaaaccaggt ctccctgctg tgtctggtga aggggttcta tccaagtgat 1140

atcgctgtgg agtgggaatc aatggacag cccgagaaca attacctgac ttggcccct 1200
 gtgctggact cagatgggag cttctttctg tattccaac tgaccgtgga taagtctcg 1260
 tggcagcagg gaaatgtctt ttctgttct gtgatgcacg aagcactgca caatcactac 1320
 acccagaagt ccctgagcct gtcacccggc aaa 1353

<210> 67

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence - variant trastuzumab light chain

<400> 67

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 Asp Val Asn Thr Ala

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro

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> 68

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic polypeptide sequence - variant rituxiumab light chain

<400> 68

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr

85 90 95

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

<210> 70

<211> 217

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

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

1 5 10 15
 Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

 20 25 30
 Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

 35 40 45
 Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

 50 55 60
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

65 70 75 80
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

 85 90 95
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

 100 105 110
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu

 115 120 125
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

 130 135 140
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

145 150 155 160
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

 165 170 175
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

 180 185 190
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

 195 200 205

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

210

215

<210> 71

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic IgG polypeptide sequence CH1 for IgG1, IgG3 and IgG4

<400> 71

Val Asp Lys Arg Val

1

5

<210> 72

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'upper' hinge IgG polypeptide sequence for IgG1

<400> 72

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

1

5

10

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'core' hinge IgG polypeptide sequence for IgG1 and IgG2

<400> 73

Cys Pro Pro Cys Pro

1

5

<210> 74

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'lower' hinge (CH2) IgG polypeptide sequence for IgG1,

IgG3 and IgG4

<400> 74

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

1 5

<210> 75

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic IgG polypeptide sequence CH1 for IgG2

<400> 75

Val Asp Lys Thr Val

1 5

<210> 76

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'upper' hinge IgG polypeptide sequence for IgG2

<400> 76

Glu Leu Lys Cys Cys Val Glu

1 5

<210> 77

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'lower' hinge (CH2) IgG polypeptide sequence for IgG2

<400> 77

Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro

1 5

<210> 78

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'upper' hinge IgG polypeptide sequence for IgG3

<400> 78

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

1 5 10

<210> 79

<211> 45

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'core' hinge IgG polypeptide sequence for IgG3

<400> 79

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

1	5	10	15
Pro Lys Ser Cys Asp Thr	Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Glu Pro		
	20	25	30
Lys Ser Cys Asp Thr	Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro		
	35	40	45

<210> 80

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'upper' hinge IgG polypeptide sequence for IgG4

<400> 80

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

1	5
---	---

<210> 81

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> synthetic 'core' hinge IgG polypeptide sequence for IgG4

<400> 81

Cys Pro Ser Cys Pro

1	5
---	---