(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0032185
(43) 공개일자 2020년03월25일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 35/00* (2015.01)
A61K 39/395 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2803 (2013.01)
A61K 35/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7005574
(22) 출원일자(국제) 2018년07월26일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2020년02월26일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2018/028047
(87) 국제공개번호 WO 2019/022187
국제공개일자 2019년01월31일
(30) 우선권주장
JP-P-2017-145701 2017년07월27일 일본(JP)

(71) 출원인
다이이찌 산쿄 가부시키가이샤
일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1
(72) 발명자
후쿠치 게이스케
일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌 산쿄 가부시키가이샤 나이
나나이 가요코
일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌 산쿄 가부시키가이샤 나이
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
특허법인코리아나

전체 청구항 수 : 총 71 항

(54) 발명의 명칭 **항 CD147 항체**

(57) 요 약

본 발명의 과제는, 우수한 항종양 활성을 나타내고 또한 안전성이 우수한 신규 항 CD147 항체를 제공하는 것이다. 다른 본 발명의 과제는, 이와 같은 항체를 포함하는 의약품을 제공하는 것이다. 다른 본 발명의 과제는, 당해 항체 또는 의약품을 사용한 종양의 치료 방법 등을 제공하는 것이다. 본 발명에 의해, CD147을 활성화하고, 높은 항종양 효과를 나타내는 CD147 특이적 항체가 제공된다. 본 발명에 의해, 이펙터 기능에 의존하지 않고 높은 항종양 효과를 나타내는 항 CD147 항체가 제공된다. 본 발명에 의해 이와 같은 항 CD147 항체를 포함하는 의약 조성물이 제공된다. 본 발명에 의해 이와 같은 항 CD147 항체 및/또는 의약 조성물을 사용한 종양의 치료 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류
A61K 39/395 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/54 (2013.01)
C07K 2317/622 (2013.01)
(72) 발명자
아마노 마사토
일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌 산쿄 가부시키가이샤 나이
요네다 고조
일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌 산쿄 가부시키가이샤 나이
도토키 유스케
일본 도쿄도 에도가와쿠 기타카사이 1쵸메 16방 13고 다이이찌 산쿄 알디 노바레 가부시키가이샤 나이
야마모토 쇼지
일본 도쿄도 츄오쿠 니혼바시 혼쵸 3-5-1 다이이찌 산쿄 가부시키가이샤 나이

명 세 서

청구범위

청구항 1

이하의 (A) ~ (F) 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 어느 1 개의 항체와, 인간 CD147 로의 결합에 대해 경합하고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

(A) 서열 번호 71 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 69 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

(B) 서열 번호 51 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 49 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

(C) 서열 번호 61 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 59 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

(D) 서열 번호 81 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 79 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

(E) 서열 번호 10 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 8 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체, 및

(F) 서열 번호 20 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체.

청구항 2

이하의 (A) ~ (F) 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 어느 1 개의 항체가 결합하는 에피토프에 결합하고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

(A) 서열 번호 71 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 69 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

(B) 서열 번호 51 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 49 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

(C) 서열 번호 61 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 59 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

(D) 서열 번호 81 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 79 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

(E) 서열 번호 10 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 8 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체, 및

(F) 서열 번호 20 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체.

청구항 3

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서,

ADCC 활성이 저하 또는 결실된, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 4

제 1 항 내지 제 3 항 중 어느 한 항에 있어서,

CDC 활성이 저하 또는 결실된, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 5

제 1 항 내지 제 4 항 중 어느 한 항에 있어서,

ADCP 활성이 저하 또는 결실된, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 6

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

서열 번호 3 의 106 번째의 아르기닌 (Arg) 으로부터 165 번째의 글리신 (Gly) 의 잔기를 포함하는 에피토프에 결합하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 7

제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항에 있어서,

서열 번호 3 에 기재된 아미노산 서열 중의, 106 번째의 아르기닌 (Arg), 108 번째의 리신 (Lys), 109 번째의 알라닌 (Ala), 110 번째의 발린 (Val), 127 번째의 리신 (Lys), 128 번째의 세린 (Ser), 129 번째의 글루타민산 (Glu), 130 번째의 세린 (Ser), 131 번째의 발린 (Val), 132 번째의 프롤린 (Pro), 133 번째의 프롤린 (Pro), 134 번째의 발린 (Val), 164 번째의 글루타민 (Gln) 및 165 번째의 글리신 (Gly) 의 각 잔기를 포함하는 에피토프에 결합하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 8

제 1 항 내지 제 7 항 중 어느 한 항에 있어서,

중쇄 서열이, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1 은 서열 번호 75 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH2 는 서열 번호 76 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH3 은, 서열 번호 77 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ; 및

경쇄 서열이 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRL1 은 서열 번호 72 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL2 는 서열 번호 73 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL3 은, 서열 번호 74 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ;

을 특징으로 하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 9

제 1 항 내지 제 5 항 중 어느 한 항에 있어서,

서열 번호 143 에 기재된 아미노산 서열, 또는, 서열 번호 143 의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에 결합하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 10

제 1 항 내지 제 5 항 또는 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

중쇄 서열이, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1 은 서열 번호 55 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH2 는 서열 번호 56 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH3 은, 서열 번호 57 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ; 및

경쇄 서열이 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRL1 은 서열 번호 52 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL2 는 서열 번호 53 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL3 은, 서열 번호 54 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ;

을 특징으로 하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 11

제 1 항 내지 제 5 항 또는 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

중쇄 서열이, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1 은 서열 번호 65 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH2 는 서열 번호 66 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH3 은, 서열 번호 67 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ; 및

경쇄 서열이 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRL1 은 서열 번호 62 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL2 는 서열 번호 63 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL3 은, 서열 번호 64 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ;

을 특징으로 하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 12

제 1 항 내지 제 5 항 또는 제 9 항 중 어느 한 항에 있어서,

중쇄 서열이, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1 은 서열 번호 85 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH2 는 서열 번호 86 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH3 은, 서열 번호 87 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ; 및

경쇄 서열이 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRL1 은 서열 번호 82 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL2 는 서열 번호 83 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL3 은, 서열 번호 84 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ;

을 특징으로 하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 13

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

Fab, F(ab')2, Fab' 및 Fv 로 이루어지는 군에서 선택되는, 항체의 항원 결합 단편.

청구항 14

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

scFv 인 것을 특징으로 하는, 항체.

청구항 15

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

키메라 항체인 것을 특징으로 하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 16

제 1 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항에 있어서,

인간화되어 있는 것을 특징으로 하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 17

제 1 항 내지 제 16 항 중 어느 한 항에 있어서,

중쇄가 인간 면역 글로불린 G1 중쇄, 인간 면역 글로불린 G2 중쇄 또는 인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역을 포함하고, 경쇄가 인간 면역 글로불린 κ 경쇄의 정상 영역을 포함하는, 항체.

청구항 18

제 17 항에 있어서,

중쇄가 인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역을 포함하는, 항체.

청구항 19

제 18 항에 있어서,

인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역에 있어서, EU 인덱스에 의해 나타내는 228 번째의 세린 (Ser) 이 프롤린 (Pro) 에 의해 치환된, 항체.

청구항 20

제 18 항에 있어서,

인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역에 있어서, EU 인덱스에 의해 나타내는 234 번째의 페닐알라닌 (Phe) 이 알라닌 (Ala) 으로 치환되고, 235 번째의 류신 (Leu) 이 알라닌 (Ala) 으로 치환되어 있는, 항체.

청구항 21

제 18 항에 있어서,

인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역에 있어서, EU 인덱스에 의해 나타내는 228 번째의 세린 (Ser) 이 프롤린 (Pro) 에 의해 치환되고, 234 번째의 페닐알라닌 (Phe) 이 알라닌 (Ala) 으로 치환되고, 235 번째의 류신 (Leu) 이 알라닌 (Ala) 으로 치환되어 있는, 항체.

청구항 22

제 17 항에 있어서,

중쇄가 인간 면역 글로불린 G2 중쇄의 정상 영역을 포함하는, 항체.

청구항 23

이하의 (c) 및 (d) 를 갖고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

(c) 이하의 (c1) ~ (c4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

(c1) 서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

(c2) 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

(c3) (c1) 또는 (c2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

(c4) (c1) ~ (c3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

(d) 이하의 (d1) ~ (d5) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

(d1) 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

(d2) 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

(d3) 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

(d4) (d1) ~ (d3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

(d5) (d1) ~ (d4) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

청구항 24

제 23 항에 있어서,

서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 25

제 23 항에 있어서,

서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 26

제 23 항에 있어서,

서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 27

제 23 항에 있어서,

서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 28

제 23 항에 있어서,

서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 29

제 23 항에 있어서,

서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 30

이하의 (a) 및 (b) 를 갖고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

(a) 이하의 (a1) ~ (a4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

(a1) 서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

(a2) 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

(a3) (a1) 또는 (a2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

(a4) (a1) ~ (a3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

(b) 이하의 (b1) ~ (b3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

(b1) 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

(b2) (b1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

(b3) (b1) 또는 (b2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

청구항 31

제 30 항에 있어서,

서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 또는 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 32

제 30 항에 있어서,

서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 466 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 또는 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 467 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 33

이하의 (e) 및 (f) 를 갖고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

(e) 이하의 (e1) ~ (e4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

(e1) 서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

(e2) 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

(e3) (e1) 또는 (e2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

(e4) (e1) ~ (e3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

(f) 이하의 (f1) ~ (f3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

(f1) 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

(f2) (f1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

(f3) (f1) 또는 (f2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

청구항 34

제 33 항에 있어서,

서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 또는 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 35

제 33 항에 있어서,

서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 또는 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 36

이하의 (g) 및 (h) 를 갖고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

(g) 이하의 (g1) ~ (g3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

(g1) 서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 138 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

(g2) (g1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

(g3) (g1) 또는 (g2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

(h) 이하의 (h1) ~ (h3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

(h1) 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

(h2) (h1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

(h3) (h1) 또는 (h2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

청구항 37

제 36 항에 있어서,

서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 138 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 38

제 36 항에 있어서,

서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 39

제 23 항 내지 제 38 항 중 어느 한 항에 있어서,

ADCC 활성이 저하 또는 결실된, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 40

제 23 항 내지 제 39 항 중 어느 한 항에 있어서,

CDC 활성이 저하 또는 결실된, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 41

제 23 항 내지 제 40 항 중 어느 한 항에 있어서,

ADCP 활성이 저하 또는 결실된, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

청구항 42

제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편의 적어도 어느 하나를 함유하는 것을 특징으로 하는, 의약 조성물.

청구항 43

제 42 항에 있어서,

항종양제인, 의약 조성물.

청구항 44

제 43 항에 있어서,

종양이, CD147 을 발현하는 종양인, 의약 조성물.

청구항 45

제 43 항 또는 제 44 항에 있어서,

종양이, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 유방암, 자궁암, 난소암, 폐암, 림프종, 갑상선암, 피부암, 두경부암, 육종, 전립선암, 방광암, 뇌종양, 소화관 간질 종양 (GIST), 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 인, 의약 조성물.

청구항 46

제 43 항 내지 제 45 항 중 어느 한 항에 있어서,

종양이, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 인, 의약 조성물.

청구항 47

제 43 항 내지 제 46 항 중 어느 한 항에 있어서,

종양이 SMAD4 양성의 종양 또는 KLF5 의 발현이 저하 또는 결실된 종양인, 의약 조성물.

청구항 48

제 42 항 내지 제 47 항 중 어느 한 항에 있어서,

추가로 다른 항종양제를 함유하는, 의약 조성물.

청구항 49

제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 그 항체의 항원 결합 단편 또는 제 42 항 내지 제 48 항 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물을 환자에게 투여하는 것을 특징으로 하는 종양의 치료 방법.

청구항 50

제 49 항에 있어서,

종양이, CD147 을 발현하는 종양인, 치료 방법.

청구항 51

제 49 항 또는 제 50 항에 있어서,

종양이, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 유방암, 자궁암, 난소암, 폐암, 림프종, 갑상선암, 피부암, 두경부암, 육종, 전립선암, 방광암, 뇌종양, 소화관 간질 종양 (GIST), 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 인, 치료 방법.

청구항 52

제 49 항 내지 제 51 항 중 어느 한 항에 있어서,

종양이, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 인, 치료 방법.

청구항 53

제 49 항 내지 제 52 항 중 어느 한 항에 있어서,

종양이 SMAD4 양성의 종양 또는 KLF5 의 발현이 저하 또는 결실된 종양인, 치료 방법.

청구항 54

제 49 항 내지 제 53 항 중 어느 한 항에 있어서,

다른 항종양제와 조합하여 투여되는, 치료 방법.

청구항 55

제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 기능성 단편을 코드하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 56

제 55 항에 있어서,

이하의 (j1) ~ (j3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 :

(j1) 서열 번호 75 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 76 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2 및 서열 번호 77 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드, 그리고, 서열 번호 72 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 73 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2 및 서열 번호 74 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드,

(j2) (j1) 에 기재된 뉴클레오티드 서열과 적어도 95 % 의 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 ; 및

(j3) (j1) 또는 (j2) 에 기재된 폴리뉴클레오티드에 있어서 1 ~ 수 개의 뉴클레오티드가 치환, 결실 또는 부가된 폴리뉴클레오티드.

청구항 57

제 55 항에 있어서,

이하의 (i1) ~ (i3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 :

(i1) 서열 번호 55 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 56 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2 및 서열 번호 57 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드, 그리고, 서열 번호 52 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 53 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2 및 서열 번호 54 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드 ;

(i2) (i1) 에 기재된 뉴클레오티드 서열과 적어도 95 % 의 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 ; 및

(i3) (i1) 또는 (i2) 에 기재된 폴리뉴클레오티드에 있어서 1 ~ 수 개의 뉴클레오티드가 치환, 결실 또는 부가된 폴리뉴클레오티드.

청구항 58

제 55 항에 있어서,

이하의 (k1) ~ (k3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 :

(k1) 서열 번호 65 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 66 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2 및 서열 번호 67 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드, 그리고, 서열 번호 62 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 63 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2 및 서열 번호 64 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드,

(k2) (k1) 에 기재된 뉴클레오티드 서열과 적어도 95 % 의 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 ; 및

(k3) (k1) 또는 (k2) 에 기재된 폴리뉴클레오티드에 있어서 1 ~ 수 개의 뉴클레오티드가 치환, 결실 또는 부가된 폴리뉴클레오티드.

청구항 59

제 53 항에 있어서,

이하의 (m1) ~ (m3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드 :

(m1) 서열 번호 85 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 86 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2 및 서열 번호 87 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드, 그리고, 서열 번호 82 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 83 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2 및 서열 번호 84 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드,

(m2) (m1) 에 기재된 뉴클레오티드 서열과 적어도 95 % 의 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 ; 및

(m3) (m1) 또는 (m2) 에 기재된 폴리뉴클레오티드에 있어서 1 ~ 수 개의 뉴클레오티드가 치환, 결실 또는 부가된 폴리뉴클레오티드.

청구항 60

제 55 항 내지 제 59 항 중 어느 한 항에 기재된 폴리뉴클레오티드를 함유하는 발현 벡터.

청구항 61

제 60 항에 기재된 발현 벡터에 의해 형질 전환된 숙주 세포.

청구항 62

제 61 항에 기재된 숙주 세포를 배양하고, 배양 산물로부터 목적으로 하는 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편을 채취하는 공정을 포함하는, 제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편의 제조 방법.

청구항 63

CD147 을 개재한 시그널 전달의 활성화가, p38MAPK 의 활성화 및/또는 SMAD4 의 활성화인, 제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편.

청구항 64

제 63 항에 있어서,

p38MAPK 의 활성화 및/또는 SMAD4 의 활성화가, p38MAPK 의 발현량의 증가, p38MAPK 의 인산화, HSP27 의 인산화, CXCL8 발현량의 증가, rhoB 발현량의 증가, KLF5 mRNA 의 저하 또는 KLF5 단백질 발현량의 저하인, 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편.

청구항 65

제 63 항 또는 제 64 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편을 투여하는 것을 특징으로 하는 종양의 치료 방법.

청구항 66

암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 포함되는 SMAD4 의 발현 또는 KLF5 의 발현을 검출하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자를, 제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 제 42 항 내지 제 48 항 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물에 의한 암의 치료에 대한 응답성이 있다고 판정하는 것을 포함하는, 암의 치료에 대한 응답성을 예측하는 방법.

청구항 67

암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 있어서의 SMAD4 의 발현의 유무 또는 KLF5 의 발현을 검출하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자를, 제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 제 42 항 내지 제 48 항 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물에 의한 암 치료 대상자로서 선별하는 것을 포함하는, 암의 치료 대상을 선별하는 방법.

청구항 68

암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 포함되는 SMAD4 의 발현의 유무 또는 KLF5 의 발현을 검출하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자에 대하여, 제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 제 42 항 내지 제 48 항 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 방법.

청구항 69

제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 제 42 항 내지 제 48 항 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물에 의한 암의 치료에 대한 응답성을 판정하기 위한 키트로서, 암환자 유래의 생물학적 시료 중의 SMAD4 의 발현 또는 KLF5 의 발현을 검출하는 수단을 적어도 포함하는, 키트.

청구항 70

제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편과 다른 약물이 콘쥬게이트된, 항체 약물 복합체.

청구항 71

제 1 항 내지 제 41 항 중 어느 한 항에 기재된 항체의 항원 결합 단편과, CD147 이외의 항원에 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는, 바이스페시픽 항체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은, 우수한 항종양 효과를 나타내는 항 CD147 항체, 그 항 CD147 항체의 제조 방법 및 그 항 CD147 항체를 포함하는 항종양제 등에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 암 치료법, 치료약의 진전에 의해, 불치의 병으로 여겨져 온 암이 치료 가능하고, 근치하는 것을 알게 되었다. 특히 우수한 약물 안정성과 특이성을 나타내는 항체 의약으로서 개발된 CTLA4 항체, PD1 항체는, T 세포를 비롯한 면역 세포의 활성화에 의해, 멜라노마나 일부의 고형암에 높은 주공율 (奏功率), 경우에 따라서는 치유를 가져와, 암환자에게 있어서의 희소식이 되고 있다. 이들 치료약이, 난치의 고형암 대부분을 대상으로 한 치료가 시도되고 있지만, 췌장암이나 간장암 등에서는, 대부분의 암이 약제에 감수성을 나타내지 않고, 수술에 의한 적출이나 종래의 항암제를 기본으로 한 치료에서도 고율로 재발이 확인되어, 간절히 근치를 가져오는 치료법, 치료약이 요구되고 있다.

[0003] CD147 은, 이뮤노글로불린형 도메인을 2 ~ 3 갖는 1 회 막관통 단백질이며, CD147 끼리의 상호 작용, CD44, 인테그린 (Integrin) 패밀리 분자, CD98, VEGFR, CypA/B, MCT1/3/4 와 같은 증식, 침윤, 염증에 관여하는 세포외나 세포막 표면의 분자와 상호 작용함으로써, 하류 시그널 관련 분자, FAK, MEK, Erk, JAK/STAT, AKT, MAPK 패밀리 분자를 활성화시켜, MMP 를 비롯한 프로테아제 산생, 암의 증식, 전이, 침윤을 촉진하는 것이 알려져 있다. 또 전술한 간장암이나 췌장암의 환자에 있어서, CD147 의 발현이 높으면 생존 기간이 짧고 예후 불량해지는 것이 보고되어 있고, 암의 치료 표적 분자의 하나로서 생각되고 있다.

[0004] CD147 을 표적으로 한 항체로는, ABX-CBL, 리카르틴 (Licartin) 이 임상에서 실제로 인간에게 투여되었다. ABX-CBL 은, CD147 과 시클로피린 A 의 결합을 저해하고, T 세포의 활성을 억제할 뿐만 아니라, 혈중의 보체 의존적으로 CD147 양성의 T 세포를 비롯한 정상 세포에 대하여 살세포 활성을 나타낸다. GVHD 를 대상 질환으로 하여 임상 시험이 진행되었지만, 약효가 불충분하고, 심각한 근육의 통증이 관찰되어, 약으로서의 승인에는 이르지 않았다 (특허문헌 1, 비특허문헌 1).

[0005] 리카르틴은, HAb18 항체의 Fab'2 부분에 방사성 동위 원소 아이오딘 I 131 (iodine I 131) 을 부가한 생물 제제이고, 중국에서 간장암을 적응 암종으로 하여, 승인되어 있다 (비특허문헌 2, 비특허문헌 3). 리카르틴은, 면역 세포나 보체를 활성화시키는 항체의 Fc 부분이 결여되어 있고, 면역 개재성의 독성은 보고가 없지만, 임상에서의 간장암을 근치하였다는 보고는 없다.

[0006] 또, 다른 CD147 을 표적으로 한 항체로는, 혈관 신생, VEGF 산생 매트릭스 메탈로프로테아제 등의 CD147 에 관련하는 생물 활성을 차단하는, 항 CD147 모노클로날 항체 (특허문헌 2), T 세포의 활성화를 저해하는 항 CD147 모노클로날 항체 (비특허문헌 4), 및 ADCC 활성 및 CDC 활성을 갖는 것을 특징으로 하는 CD147 분자에 특이적으로 결합하는 항체 (특허문헌 3) 가 알려져 있다. 그러나, 이펙터 기능을 갖지 않고 또한 항종양 효과를 나타내는 CD147 항체는 알려져 있지 않다. 또, CD147 을 개재한 세포 시그널 전달계의 활성화와 항종양 효과의 관련에 대해서는 알려져 있지 않다.

선행기술문헌

특허문헌

[0007] (특허문헌 0001) WO1999/045031

(특허문헌 0002) WO2010/036460

(특허문헌 0003) WO2017/061602

비특허문헌

[0008] (비특허문헌 0001) Deeg H, et al., J. Blood., 2052-2058, 2001

(비특허문헌 0002) Chen Z, et al., Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 435-444, 2006

(비특허문헌 0003) Xu J, et al., Hepatology, 269-276, 2007

(비특허문헌 0004) Koch C, et al., International Immunology, 777-786, 1999

발명의 내용

해결하려는 과제

[0009] 본 발명의 과제는, 신규 약리 작용을 갖고, 안전성이 우수하고, 또한, 높은 항종양 효과를 갖는 신규 항 CD147 항체, 그 항체를 포함하는 의약품, 및, 당해 항체 또는 의약품을 사용한 종양의 치료 방법 등을 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0010] 본 발명자들은, 상기 과제를 달성하기 위해서 예의 검토하고, CD147 을 개재한 관련 시그널 분자의 활성화가 항종양 효과에 관련하는 것을 처음으로 알아냈다. 그리고, 본 발명자들은, CD147 을 활성화하고, 높은 항종양 효과를 나타내는 CD147 특이적 항체의 취득에 성공하였다. 본 발명의 항체는, 이펙터 기능에 의존하지 않고 높은 항종양 효과를 나타낸다는 특징을 갖는다. 또, 지금까지 이펙터 기능에 의존하여 항종양 효과를 나타내는 항체는 보고되어 있지만, 본 발명의 항체는, T 세포 및 PBMC 에 대하여 작용하지 않고, 또한, 이펙터 기능에도 의존하지 않고 높은 항종양 효과를 나타낸다는 특징을 가져, 의약품으로서의 안전성이 기대되는 우수한 항체이다. 본 발명의 항체는, 간장암 세포에 있어서, 간장암의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 솔라페닙보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다. 본 발명의 항체는, 췌장암 세포에 있어서, 췌장암의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 겜시타빈보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다. 또, 본 발명의 항체는, 만성 골수성 백혈병 세포에 있어서, 만성 골수성 백혈병의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 이마티닙보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다. 본 발명들은, 본 발명의 CD147 항체가, 암 세포에 대하여 p38MAPK 및 SMAD 시그널 전달계를 활성화하는 것을 알아냈다. 또, 본 발명자들은, 본 발명의 CD147 항체가, SMAD4 양성 세포에 있어서 우수한 항종양 효과를 나타내는 것을 알아냈다.

[0011] 본원 발명은 이하의 발명을 포함한다.

[0012] [1]

[0013] 이하의 (A) ~ (F) 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 어느 1 개의 항체와, 인간 CD147 로의 결합에 대해 경합하고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

[0014] (A) 서열 번호 71 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 69 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

[0015] (B) 서열 번호 51 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 49 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

[0016] (C) 서열 번호 61 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 59 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

[0017] (D) 서열 번호 81 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 79 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

[0018] (E) 서열 번호 10 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 8 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체, 및

[0019] (F) 서열 번호 20 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18 에 나타내는 아미

노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체.

[0020] [2]

[0021] 이하의 (A) ~ (F) 로 이루어지는 군에서 선택되는 적어도 어느 1 개의 항체가 결합하는 에피토프에 결합하고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

[0022] (A) 서열 번호 71 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 69 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

[0023] (B) 서열 번호 51 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 49 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

[0024] (C) 서열 번호 61 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 59 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

[0025] (D) 서열 번호 81 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 79 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체,

[0026] (E) 서열 번호 10 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 8 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체, 및

[0027] (F) 서열 번호 20 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및 서열 번호 18 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체.

[0028] [3]

[0029] ADCC 활성이 저하 또는 결실된, [1] 또는 [2] 에 기재된 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0030] [4]

[0031] CDC 활성이 저하 또는 결실된, [1] ~ [3] 중 어느 한 항에 기재된 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0032] [5]

[0033] ADCP 활성이 저하 또는 결실된, [1] ~ [4] 중 어느 한 항에 기재된 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0034] [6]

[0035] 서열 번호 3 의 106 번째의 아르기닌 (Arg) 으로부터 165 번째의 글리신 (Gly) 의 잔기를 포함하는 에피토프에 결합하는, [1] ~ [5] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0036] [7]

[0037] 서열 번호 3 에 기재된 아미노산 서열 중의, 106 번째의 아르기닌 (Arg), 108 번째의 리신 (Lys), 109 번째의 알라닌 (Ala), 110 번째의 발린 (Val), 127 번째의 리신 (Lys), 128 번째의 세린 (Ser), 129 번째의 글루타민산 (Glu), 130 번째의 세린 (Ser), 131 번째의 발린 (Val), 132 번째의 프롤린 (Pro), 133 번째의 프롤린 (Pro), 134 번째의 발린 (Val), 164 번째의 글루타민 (Gln) 및 165 번째의 글리신 (Gly) 의 각 잔기를 포함하는 에피토프에 결합하는, [1] ~ [6] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0038] [8]

[0039] 중쇄 서열이, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1 은 서열 번호 75 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH2 는 서열 번호 76 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH3 은, 서열 번호 77 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ; 및

[0040] 경쇄 서열이 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRL1 은 서열 번호 72 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL2 는 서열 번호 73 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL3 은, 서열 번호 74 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ;

[0041] 을 특징으로 하는, [1] ~ [7] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0042] [9]

[0043] 서열 번호 143 에 기재된 아미노산 서열, 또는, 서열 번호 143 의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열을 포함하는 에피토프에 결합하는, [1] ~ [5] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0044] [10]

[0045] 중쇄 서열이, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1 은 서열 번호 55 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH2 는 서열 번호 56 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH3 은, 서열 번호 57 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ; 및

[0046] 경쇄 서열이 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRL1 은 서열 번호 52 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL2 는 서열 번호 53 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL3 은, 서열 번호 54 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ;

[0047] 을 특징으로 하는, [1] ~ [5] 또는 [9] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0048] [11]

[0049] 중쇄 서열이, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1 은 서열 번호 65 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH2 는 서열 번호 66 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH3 은, 서열 번호 67 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ; 및

[0050] 경쇄 서열이 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRL1 은 서열 번호 62 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL2 는 서열 번호 63 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL3 은, 서열 번호 64 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ;

[0051] 을 특징으로 하는, [1] ~ [5] 또는 [9] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0052] [12]

[0053] 중쇄 서열이, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1 은 서열 번호 85 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH2 는 서열 번호 86 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRH3 은, 서열 번호 87 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ; 및

[0054] 경쇄 서열이 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을 갖는 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRL1 은 서열 번호 82 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL2 는 서열 번호 83 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지고, 상기 CDRL3 은, 서열 번호 84 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 것 ;

[0055] 을 특징으로 하는, [1] ~ [5] 또는 [9] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0056] [13]

[0057] Fab, F(ab')2, Fab' 및 Fv 로 이루어지는 군에서 선택되는, [1] ~ [12] 중 어느 한 항에 기재된 항체의 항원 결합 단편.

[0058] [14]

[0059] scFv 인 것을 특징으로 하는, [1] ~ [12] 중 어느 한 항에 기재된 항체.

[0060] [15]

[0061] 키메라 항체인 것을 특징으로 하는, [1] ~ [12] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0062] [16]

[0063] 인간화 되어 있는 것을 특징으로 하는, [1] ~ [12] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0064] [17]

[0065] 중쇄가 인간 면역 글로불린 G1 중쇄, 인간 면역 글로불린 G2 중쇄 또는 인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영

역을 포함하고, 경쇄가 인간 면역 글로불린 κ 경쇄의 정상 영역을 포함하는, [1] ~ [16] 중 어느 한 항에 기재된 항체.

[0066] [18]

[0067] 중쇄가 인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역을 포함하는, [17] 에 기재된 항체.

[0068] [19]

[0069] 인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역에 있어서, EU 인덱스에 의해 나타내는 228 번째의 세린 (Ser) 이 프롤린 (Pro) 에 의해 치환된, [18] 에 기재된 항체.

[0070] [20]

[0071] 인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역에 있어서, EU 인덱스에 의해 나타내는 234 번째의 페닐알라닌 (Phe) 이 알라닌 (Ala) 으로 치환되고, 235 번째의 류신 (Leu) 이 알라닌 (Ala) 으로 치환되어 있는, [18] 의 항체.

[0072] [21]

[0073] 인간 면역 글로불린 G4 중쇄의 정상 영역에 있어서, EU 인덱스에 의해 나타내는 228 번째의 세린 (Ser) 이 프롤린 (Pro) 에 의해 치환되고, 234 번째의 페닐알라닌 (Phe) 이 알라닌 (Ala) 으로 치환되고, 235 번째의 류신 (Leu) 이 알라닌 (Ala) 으로 치환되어 있는, [18] 의 항체.

[0074] [22]

[0075] 중쇄가 인간 면역 글로불린 G2 중쇄의 정상 영역을 포함하는, [17] 에 기재된 항체.

[0076] [23]

[0077] 이하의 (c) 및 (d) 를 갖고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

[0078] (c) 이하의 (c1) ~ (c4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

[0079] (c1) 서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0080] (c2) 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0081] (c3) (c1) 또는 (c2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0082] (c4) (c1) ~ (c3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

[0083] (d) 이하의 (d1) ~ (d5) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

[0084] (d1) 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0085] (d2) 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0086] (d3) 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0087] (d4) (d1) ~ (d3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0088] (d5) (d1) ~ (d4) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

[0089] [24]

[0090] 서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, [23] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0091] [25]

[0092] 서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, [23] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0093] [26]

[0094] 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, [23] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0095] [27]

[0096] 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, [23] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0097] [28]

[0098] 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, [23] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0099] [29]

[0100] 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, [23] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0101] [30]

[0102] 이하의 (a) 및 (b) 를 갖고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

[0103] (a) 이하의 (a1) ~ (a4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

[0104] (a1) 서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0105] (a2) 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0106] (a3) (a1) 또는 (a2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0107] (a4) (a1) ~ (a3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

[0108] (b) 이하의 (b1) ~ (b3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

[0109] (b1) 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0110] (b2) (b1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0111] (b3) (b1) 또는 (b2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

[0112] [31]

[0113] 서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 또는 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, [30] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0114] [32]

[0115] 서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 466 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 또는 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 467 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, [30] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0116] [33]

[0117] 이하의 (e) 및 (f) 를 갖고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

[0118] (e) 이하의 (e1) ~ (e4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

[0119] (e1) 서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0120] (e2) 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0121] (e3) (e1) 또는 (e2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0122] (e4) (e1) ~ (e3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

[0123] (f) 이하의 (f1) ~ (f3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

[0124] (f1) 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0125] (f2) (f1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0126] (f3) (f1) 또는 (f2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

[0127] [34]

[0128] 서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 또는 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, [33] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0129] [35]

[0130] 서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 또는 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, [33] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0131] [36]

[0132] 이하의 (g) 및 (h) 를 갖고, 또한, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것을 특징으로 하는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 :

[0133] (g) 이하의 (g1) ~ (g3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

[0134] (g1) 서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 138 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0135] (g2) (g1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0136] (g3) (g1) 또는 (g2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

[0137] (h) 이하의 (h1) ~ (h3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

[0138] (h1) 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0139] (h2) (h1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0140] (h3) (h1) 또는 (h2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

[0141] [37]

[0142] 서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 138 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역, 및, 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는, [36] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0143] [38]

[0144] 서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는, [36] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0145] [39]

[0146] ADCC 활성이 저하 또는 결실된, [23] ~ [38] 중 어느 한 항에 기재된 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0147] [40]

[0148] CDC 활성이 저하 또는 결실된, [23] ~ [39] 중 어느 한 항에 기재된 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0149] [41]

[0150] ADCP 활성이 저하 또는 결실된, [23] ~ [40] 중 어느 한 항에 기재된 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편.

[0151] [42]

[0152] [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편 의 적어도 어느 하나를 함유하는 것을 특징으로 하는, 의약 조성물.

[0153] [43]

[0154] 항종양제인, [42] 에 기재된 의약 조성물.

[0155] [44]

[0156] 종양이, CD147 을 발현하는 종양인, [43] 에 기재된 의약 조성물.

[0157] [45]

[0158] 종양이, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 유방암, 자궁암, 난소암, 폐암, 림프종, 갑상선암, 피부암, 두경부

암, 육종, 전립선암, 방광암, 뇌종양, 소화관 간질 종양 (GIST), 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 인, [43] 또는 [44] 에 기재된 의약 조성물.

[0159] [46]

[0160] 종양이, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 인, [43] ~ [45] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0161] [47]

[0162] 종양이 SMAD4 양성의 종양 또는 KLF5 의 발현이 저하 또는 결실된 종양인, [43] ~ [46] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0163] [48]

[0164] 추가로 다른 항종양제를 함유하는, [42] ~ [47] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물.

[0165] [49]

[0166] [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 그 항체의 항원 결합 단편 또는 [42] ~ [48] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물을 환자에게 투여하는 것을 특징으로 하는 종양의 치료 방법.

[0167] [50]

[0168] 종양이, CD147 을 발현하는 종양인, [49] 에 기재된 치료 방법.

[0169] [51]

[0170] 종양이, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 유방암, 자궁암, 난소암, 폐암, 림프종, 갑상선암, 피부암, 두경부암, 육종, 전립선암, 방광암, 뇌종양, 소화관 간질 종양 (GIST), 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 인, [49] 또는 [50] 중 어느 한 항에 기재된 치료 방법.

[0171] [52]

[0172] 종양이, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 인, [49] ~ [51] 에 기재된 치료 방법.

[0173] [53]

[0174] 종양이 SMAD4 양성의 종양 또는 KLF5 의 발현이 저하 또는 결실된 종양인, [49] ~ [52] 중 어느 한 항에 기재된 치료 방법.

[0175] [54]

[0176] 다른 항종양제와 조합하여 투여되는, [49] ~ [53] 중 어느 한 항에 기재된 치료 방법.

[0177] [55]

[0178] [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편을 코드하는 폴리뉴클레오티드.

[0179] [56]

[0180] 이하의 (j1) ~ (j3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 [55] 에 기재된 폴리뉴클레오티드 :

[0181] (j1) 서열 번호 75 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 76 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2 및 서열 번호 77 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드, 그리고, 서열 번호 72 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 73 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2 및 서열 번호 74 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 코드하는

폴리뉴클레오티드,

[0182] (j2) (j1) 에 기재된 뉴클레오티드 서열과 적어도 95 % 의 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 ; 및

[0183] (j3) (j1) 또는 (j2) 에 기재된 폴리뉴클레오티드에 있어서 1 ~ 수 개의 뉴클레오티드가 치환, 결실 또는 부가된 폴리뉴클레오티드.

[0184] [57]

[0185] 이하의 (i1) ~ (i3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 [55] 에 기재된 폴리뉴클레오티드 :

[0186] (i1) 서열 번호 55 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 56 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2 및 서열 번호 57 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드, 그리고, 서열 번호 52 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 53 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2 및 서열 번호 54 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드 ;

[0187] (i2) (i1) 에 기재된 뉴클레오티드 서열과 적어도 95 % 의 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 ; 및

[0188] (i3) (i1) 또는 (i2) 에 기재된 폴리뉴클레오티드에 있어서 1 ~ 수 개의 뉴클레오티드가 치환, 결실 또는 부가된 폴리뉴클레오티드.

[0189] [58]

[0190] 이하의 (k1) ~ (k3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 [55] 에 기재된 폴리뉴클레오티드 :

[0191] (k1) 서열 번호 65 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 66 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2 및 서열 번호 67 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드, 그리고, 서열 번호 62 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 63 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2 및 서열 번호 64 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드,

[0192] (k2) (k1) 에 기재된 뉴클레오티드 서열과 적어도 95 % 의 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 ; 및

[0193] (k3) (k1) 또는 (k2) 에 기재된 폴리뉴클레오티드에 있어서 1 ~ 수 개의 뉴클레오티드가 치환, 결실 또는 부가된 폴리뉴클레오티드.

[0194] [59]

[0195] 이하의 (m1) ~ (m3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 [55] 에 기재된 폴리뉴클레오티드 :

[0196] (m1) 서열 번호 85 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 86 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2 및 서열 번호 87 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드, 그리고, 서열 번호 82 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 83 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2 및 서열 번호 84 에 기재된 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 코드하는 폴리뉴클레오티드,

[0197] (m2) (m1) 에 기재된 뉴클레오티드 서열과 적어도 95 % 의 서열 동일성을 갖는 폴리뉴클레오티드 ; 및

[0198] (m3) (m1) 또는 (m2) 에 기재된 폴리뉴클레오티드에 있어서 1 ~ 수 개의 뉴클레오티드가 치환, 결실 또는 부가된 폴리뉴클레오티드.

[0199] [60]

[0200] [55] ~ [59] 중 어느 한 항에 기재된 폴리뉴클레오티드를 함유하는 발현 벡터.

[0201] [61]

[0202] [60] 에 기재된 발현 벡터에 의해 형질 전환된 숙주 세포.

[0203] [62]

[0204] [61] 에 기재된 숙주 세포를 배양하고, 배양 산물로부터 목적으로 하는 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편을 채취하는 공정을 포함하는, [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편의 제조 방법.

[0205] [63]

[0206] CD147 을 개재한 시그널 전달의 활성화가, p38 의 활성화 및/또는 SMAD4 의 활성화인, [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편.

[0207] [64]

[0208] p38MAPK 의 활성화 및/또는 SMAD4 의 활성화가, p38MAPK 의 발현량의 증가, p38MAPK 의 인산화, HSP27 의 인산화, CXCL8 발현량의 증가, rhoB 발현량의 증가, KLF5 mRNA 의 저하 또는 KLF5 단백질 발현량의 저하인, [63] 에 기재된 항체 또는 당해 항체의 기능성 단편.

[0209] [65]

[0210] [63] 또는 [64] 에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편을 투여하는 것을 특징으로 하는 종양의 치료 방법.

[0211] [66]

[0212] 암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 포함되는 SMAD4 의 발현 또는 KLF5 의 발현을 검출하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자를, [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 [42] ~ [48] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물에 의한 암의 치료에 대한 응답성이 있다고 판정하는 것을 포함하는, 암의 치료에 대한 응답성을 예측하는 방법.

[0213] [67]

[0214] 암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 있어서의 SMAD4 의 발현의 유무 또는 KLF5 의 발현을 검출하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자를, [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 [42] ~ [48] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물에 의한 암 치료 대상자로서 선별하는 것을 포함하는, 암의 치료 대상을 선별하는 방법.

[0215] [68]

[0216] 암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 포함되는 SMAD4 의 발현의 유무 또는 KLF5 의 발현을 검출하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자에 대하여, [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 [42] ~ [48] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 방법.

[0217] [69]

[0218] [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 [42] ~ [48] 중 어느 한 항에 기재된 의약 조성물에 의한 암의 치료에 대한 응답성을 판정하기 위한 키트로서, 암환자 유래의 생물학적 시료 중의 SMAD4 의 발현 또는 KLF5 의 발현을 검출하는 수단을 적어도 포함하는, 키트.

[0219] [70]

[0220] [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편과 다른 약물이 콘쥬게이트 된, 항체 약물 복합체.

[0221] [71]

[0222] [1] ~ [41] 중 어느 한 항에 기재된 항체의 항원 결합 단편과, CD147 이외의 항원에 결합하는 항원 결합 단편을 포함하는, 바이스페시픽 항체.

발명의 효과

[0223] 본 발명의 항체는, CD147 을 특이적으로 인식하는 항체로서, CD147 을 개재한 관련 시그널 분자를 활성화하고,

높은 항종양 활성을 갖는 것을 특징으로 한다. CD147 은 종양 세포 뿐만 아니라 혈액 세포에도 발현하고 있지만, 본 발명의 항체는, T 세포 및 PBMC 에 대해 작용하지 않고 또한 이펙터 기능에도 의존하지 않기 때문에, 항종양제로서의 개발에 있어서, 안전성의 염려가 적다는 이점을 갖는다. 또, 본 발명의 항체는, 매우 높은 항종양 활성을 나타낸다. 본 발명의 항체는, 간장암 세포에 있어서, 간장암의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 솔라페닙보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다. 본 발명의 항체는, 췌장암 세포에 있어서, 췌장암의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 겜시타빈보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다. 또, 본 발명의 항체는, 만성 골수성 백혈병 세포에 있어서, 만성 골수성 백혈병의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 이마티닙보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다.

도면의 간단한 설명

[0224] 도 1 은, (a) ~ (c) : PANC-1 이종 이식 (xenograft) 모델에 있어서의 종양 체적의 변화.

도 2a 는, 인간 CD147 또는 원숭이 CD147 에 대한 결합성.

도 2b 는, 인간 CD147 또는 원숭이 CD147 에 대한 결합성.

도 2c 는, 인간 CD147 또는 원숭이 CD147 에 대한 결합성.

도 3 은, 인간 CD147 과 게잡이 원숭이 CD147 의 아미노산 서열의 서열 비교 및 mu1 ~ mu9 의 위치.

도 4a 는, LN22R8 의 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, LN22R8 경쇄의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 의 아미노산 서열.

도 4b 는, LN22R8 의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, LN22R8 중쇄의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 의 아미노산 서열.

도 5a 는, 2P10F2 의 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 2P10F2 경쇄의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 의 아미노산 서열.

도 5b 는, 2P10F2 의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 2P10F2 중쇄의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 의 아미노산 서열.

도 6 은, 인간 키메라 항체의 ADCC 활성.

도 7 은, 인간 키메라 항체의 CDC 활성.

도 8 은, 인간 키메라 항체의 ADCP 활성.

도 9a 는, (a) ~ (d) : NOD-scid 마우스를 사용한 MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 각 항체의 항종양 효과.

도 9b 는, (e) ~ (g) : NOD-scid 마우스를 사용한 MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 각 항체의 항종양 효과.

도 10 은, NOG 마우스를 사용한 MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 LN22R8chIgG4P 의 항종양 효과.

도 11 은, (a) ~ (d) : NOD-scid 마우스를 사용한 MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 r#84, r#101, r#110 또는 r#131 의 항종양 효과.

도 12 는, 2P10F2 와 r#84, r#101, r#110 또는 r#131 의 경합 어세이.

도 13a 는, (a) ~ (d) : MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 각 키메라 항체의 항종양 효과.

도 13b 는, (e) ~ (h) : MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 각 키메라 항체의 항종양 효과.

도 13c 는, (i) ~ (l) : MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 각 키메라 항체의 항종양 효과.

도 13d 는, (m) 및 (n) : MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 각 키메라 항체의 항종양 효과.

도 14 는, (a) 인간화 항체 중쇄 #84H1h 및 (b) 인간화 항체 경쇄 #84L2h 의 각 가변 영역의 설계.

도 15 는, (a) 인간화 항체 중쇄 #101H1h 및 (b) 인간화 항체 경쇄 #101L2h 의 각 가변 영역의 설계.

도 16 은, (a) 인간화 항체 중쇄 #110H1h, (b) 인간화 항체 중쇄 #110H13h, (c) 인간화 항체 경쇄 #110L4h,

(d) 인간화 항체 경쇄 #110L2h 및 (e) 인간화 항체 경쇄 #110L12h 의 각 가변 영역의 설계.

도 17 은, (a) 인간화 항체 중쇄 #131H2h 및 (b) 인간화 항체 경쇄 #131L2h 의 각 가변 영역의 설계.

도 18 은, (a) ~ (d) : MIA PaCa-2 피하 이식 모델에 있어서의 각 인간화 항체의 항종양 효과

도 19 는, 항인간 CD147 인간 키메라 항체에 의한 p38MAPK 인산화.

도 20 은, (a) 및 (b) : 항인간 CD147 인간 키메라 항체에 의한 HSP27 의 인산화.

도 21 은, (a) ~ (c) : 항인간 CD147 인간 키메라 항체에 의한 종양 내 p38MAPK 인산화.

도 22 는, (a) ~ (c) : 항인간 CD147 인간 키메라 항체에 의한 cxc18 및 rhoB 의 발현.

도 23 은, (a) ~ (c) : 항인간 CD147 래트 항체와 그 인간 키메라 항체화에 의한 cxc18 및 rhoB 의 발현.

도 24 는, SMAD4 음성 췌장암 세포 BxPC-3 을 사용하여 항 CD147 항체 및 겜시타빈의 항종양 효과를 평가한 결과.

도 25 는, (a) ~ (c) : SMAD4 를 안정 발현한 BxPC-3 을 사용하여 항 CD147 인간 키메라 항체의 항종양 효과를 평가한 결과.

도 26 은, (a) 및 (b) : SMAD4 를 발현시킨 췌장암 세포 BxPC-3 에 항 CD147 인간 키메라 항체를 투여했을 경우의 p38MAPK 의 인산화를 평가하였다.

도 27 은, 겜시타빈 내성 췌장암 종양 모델에 있어서의 항 CD147 인간 키메라 항체의 항종양 효과.

도 28 은, (a) Hep G2 세포에 있어서의 CD147 의 플로우 사이토미터에 의한 발현 확인. (b) 간장암 세포에 있어서의 인간화 CD147 항체에 의한 p38MAPK 활성화.

도 29 는, (a) ~ (d) : 간장암에 있어서의 CD147 항체의 솔라페닙과의 항종양 효과의 비교.

도 30 은, CD3, CD4 양성의 세포 및 CD3, CD8 양성의 세포에 있어서의 CD147-APC 의 결합.

도 31 은, 인간 말초혈 단핵구의 증식을 유도했을 때의, 항인간 CD147 항체의 영향의 평가.

도 32 는, 인간 말초혈 림프구의 사이토카인 산생에 대한, 항인간 CD147 항체의 영향의 평가.

도 33a 는, 래트__CD147__#84 의 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 래트__CD147__#84 의 경쇄의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 의 아미노산 서열.

도 33b 는, 래트__CD147__#84 의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 래트__CD147__#84 의 중쇄의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 의 아미노산 서열.

도 34a 는, 래트__CD147__#101 의 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 래트__CD147__#101 의 경쇄의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 의 아미노산 서열.

도 34b 는, 래트__CD147__#101 의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 래트__CD147__#101 의 중쇄의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 의 아미노산 서열.

도 35a 는, 래트__CD147__#110 의 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 래트__CD147__#110 의 경쇄의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 의 아미노산 서열.

도 35b 는, 래트__CD147__#110 의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 래트__CD147__#110 의 중쇄의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 의 아미노산 서열.

도 36a 는, 래트__CD147__#131 의 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 래트__CD147__#131 의 경쇄의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 의 아미노산 서열.

도 36b 는, 래트__CD147__#131 의 중쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열, 그리고, 래트__CD147__#131 의 중쇄의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 의 아미노산 서열.

도 37a 는, #84H1hIgG2 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 37b 는, #84H1hIgG4P 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 37c 는, #84L2h 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 38a 는, #101H1hIgG2 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 38b 는, #101H1hIgG4P 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 38c 는, #101L2h 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 39a 는, #110H1hIgG4P 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 39b 는, #110H13hIgG4P 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 39c 는, #110L4h 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 39d 는, #110L2h 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 39e 는, #110L12h 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 40a 는, #131H2hIgG2 의 아미노산 서열과 뉴클레오티드 서열.

도 40b 는, #131L2h 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열.

도 41 은, 비대칭 단위에 포함되는 2 개의 복합체를 나타낸 리본도. CD147 은 흑색으로, 항체의 중쇄 (H CHAIN) 및 경쇄 (L CHAIN) 는 회색으로 도시되어 있다.

도 42 는, CD147 과 항체의 상호 작용면. 항체 근방의 CD147 의 아미노산은 스틱 모델로 도시되고, 문자로 표지되어 있다. CD147 의 이것 이외의 부위는 흑색 리본 모델로 도시되어 있다. 한편, CD147 근방의 항체의 아미노산은 가는 라인 모델로 도시되어 있고, 그것 이외의 부위는 회색 리본 모델로 도시되어 있다.

도 43 은, 위암 모델에 있어서의 키메라 및 인간화 CD147 항체의 항종양 효과.

도 44 는, 만성 골수성 백혈병 (CML) 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과.

도 45 는, 대장암 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과.

도 46 은, 신장암 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과.

도 47 은, 급성 골수성 백혈병 (AML) 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과.

도 48 은, 췌장암 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과.

도 49 는, 경합 ELISA 의 결과.

도 50 은, (a) MIA PaCa-2 세포 및 (b) KLF5 를 발현시킨 MIA PaCa-2 세포를 사용한, 인간화 CD147 항체의 항종양 효과의 비교.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0225] 이하, 본 발명을 실시하기 위한 적합한 형태에 대해서 도면을 참조하면서 설명한다. 또한, 이하에 설명하는 실시형태는, 본 발명의 대표적인 실시형태의 일례를 나타낸 것이고, 이에 따라 본 발명의 범위가 좁게 해석되는 경우는 없다.

[0226] (정의) 본 명세서 중, 「암」 과「종양」 은 동일한 의미로 사용되며, 각각, 특별히 한정되지 않는 한, 고형암, 비고형암 또는 그들 양방을 의도하는 경우에 사용된다.

[0227] 본 명세서 중, 「유전자」 라고 하는 말에는, DNA 뿐만 아니라 그 mRNA, cDNA 및 그 cRNA 도 포함된다.

[0228] 본 명세서 중, 「폴리뉴클레오티드」 또는 「뉴클레오티드」 는, 핵산과 동일한 의미로 사용하고 있고, DNA, RNA, 프로브, 올리고 뉴클레오티드, 및 프라이머도 포함된다.

[0229] 본 명세서 중, 「폴리펩티드」 와「단백질」 은 구별하지 않고 사용하고 있다.

[0230] 본 명세서 중, 「세포」 에는, 동물 개체 내의 세포, 배양 세포도 포함하고 있다.

[0231] 본 명세서 중, 「CD147」 은, CD147 단백질과 동일한 의미로 사용하고 있다.

[0232] 본 명세서 중, 「항체의 기능성 단편」 이란, 「항체의 항원 결합 단편」 이라고도 불리며, 항원과의 결합 활성

을 갖는 항체의 부분 단편을 의미하고 있고, Fab, F(ab')2, Fv, scFv, 디아바디 (diabody), 선상 (線狀) 항체 및 항체 단편으로 형성된 다특이성 항체 등을 포함한다. 또, F(ab')2 를 환원 조건하에서 처리한 항체의 가변 영역의 1 가의 단편인 Fab' 도 항체의 항원 결합 단편에 포함된다. 단, 항원과의 결합능을 갖고 있는 한 이들 분자에 한정되지 않는다. 또, 이들 항원 결합 단편에는, 항체 단백질의 전체 길이 분자를 적당한 효소로 처리한 것 뿐만 아니라, 유전자 공학적으로 개편된 항체 유전자를 사용하여 적당한 숙주 세포에 있어서 산생된 단백질도 포함된다.

[0233] 본 명세서 중, 「이펙터 활성」 이란, 항체 의존성 세포 상해 (Antibody-Dependent-Cellular-Cytotoxicity, 이하, ADCC) 활성, 보체 의존성 세포 상해 (Complement-dependent cytotoxicity, 이하, CDC) 활성, 또는 항체 의존성 세포 탐식 (Antibody-dependent cellular phagocytosis, 이하, ADCP) 활성 중 어느 하나 이상을 말한다.

[0234] 본 명세서 중, 「이펙터 기능」 이란, 각 「이펙터 활성」 이 발휘되는 것을 말한다.

[0235] 항체 의존성 세포 상해 (ADCC) 활성은, 이펙터 활성을 갖는 면역 세포, 항체 및 ^{51}Cr 표지한 표적 세포를 접촉시킨 경우에 생기는 세포사를 측정하는 ^{51}Cr 릴리스 어세이 방법으로 측정할 수 있다. 본 발명의 인간 CD147 항체의 ADCC 활성은, 다음과 같이 측정된다. 평가하는 인간 CD147 항체의 ADCC 활성에 대해, 이펙터 세포로서 인간의 말초혈 단핵구 (PBMC), ADCC 표적 세포로서 CD147 양성의 인간 암 세포주 (예를 들어, 췌장암주 MIA PaCa-2) 를 사용한다. 방사선 동위체 ^{51}Cr 로 표지한 암 세포와 평가 대상의 항체를 0.5 또는, 5 ㎍/㎖ 의 농도로 4 ℃, 30 분간 처리한 후, 인간의 말초혈로부터 분리한 PBMC 를 암 세포의 20 배의 비율로 첨가하고, 4 시간, 37 도, 5 % CO2 존재하에서 배양한다. 상청 중에 방출된 ^{51}Cr 을 TopCount NXT v2.53 을 사용하여 측정하고 총 방출 (Total release) 값을 얻는다. ^{51}Cr 로 표지한 암 세포를 트리톤-100 으로 처리하여 방출된 ^{51}Cr 의 측정값을 최대 방출 (Maximum release) 값, PBMC 를 첨가하지 않는 항체 처리 세포로부터 처리하여 방출된 ^{51}Cr 의 측정값을 자연 방출 (Spontaneous release) 값으로 하여, 하기의 식으로부터, % 특이적 방출 (% specific release) 을 산출한다. 음성 대조 샘플로서, 인간 IgG (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories 사, Cat. 009-000-003) 를 사용한다. 측정은 삼중으로 실시하고, 평균값, 표준 편차를 산출한다.

[0236] % 특이적 방출 = (총 방출 − 자연 방출) / 최대 방출

[0237] 보체 의존성 세포 상해 (CDC) 활성은, 혈액에 포함되는 보체, 항체 및 표적 세포를 접촉시켰을 경우에 생기는 세포사를 측정함으로써 평가를 할 수 있다. 본 발명의 인간 CD147 항체의 CDC 활성은, 다음과 같이 측정된다. 평가하는 인간 CD147 항체에 의한 보체 의존적인 살세포 활성 (CDC 활성) 을 표적 세포로 하여 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 사용하여 평가한다. 보체로서 시판되는 토끼 보체 (Low Tox-M Rabbit Complement, CEDARLANE LABORATORIES LIMITED, Cat. CL3051) 를 사용한다. CDC 활성 음성의 대조 항체로서 인간 IgG (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories 사, Cat. 009-000-003) 를 사용한다. 평가하는 항체 및 음성의 대상 항체를, 각각, 0, 0.1, 1 또는, 10 ㎍/㎖ 의 농도로 1 시간, 4 ℃ 에서 처리한 후, 토끼 보체를 종농도 7.5 % 가 되도록 첨가하고, 37 ℃, 5 % CO2 존재하에서, 3 시간 가온 후, 생 세포에 포함되는 세포내 ATP 를 트리톤-100Titer-Glo Lumimescent 트리톤-100 Viability Assay (Promega 사, Cat. G7572) 를 사용하여 측정하였다. 트리톤-100Titer-Glo Lumimescent 트리톤-100 Viability Assay 를 사용하여 얻어지는 발광 시그널에 대해, EnVision 2104 Multilabel Reader (Perkin Elmer 사) 를 사용하여 정량한다.
측정은 삼중으로 실시하고, 평균값과 표준 편차를 산출한다. 무처리의 세포로부터 얻어진 발광 시그널을 100 % 로 하여, 항체와 보체 의존적으로 감소한 발광 시그널을 CDC 활성으로 한다.

[0238] 항체 의존성 세포 탐식 (ADCP) 활성은, 탐식 작용을 갖는 면역 세포, 항체 및 표적 세포를 접촉시킴으로써 일어나는 탐식을 2 중 형광 표지법으로 측정할 수 있다.

[0239] 본 발명의 인간 CD147 항체의 ADCP 활성은, 다음과 같이 측정된다. 인간 IgG 항체는 마우스의 Fcγ 수용체와의 상호 작용을 통해서, 항체 의존적인 단구, 매크로파지에 의한 탐식 작용 (ADCP) 을 유도함으로써, 암 세포에 대한 살세포 활성을 나타내는 것이 보고되어 있다 (Overdijk et al., Journal of Immunology, 1-9, 2012).
본 발명의 인간 키메라 항체의 ADCP 활성에 대해, 이펙터 세포로서 RAW264.7 (ATCC, TIB-71), ADCP 표적 세포로서 인간 췌장주 PANC-1 또는 MIA PaCa-2 를 사용하여 평가한다. PKH67 Green Fluorescent Cell Linker Mini Kit for General Cell Membrane Labeling (SIGMA, Cat. MINI67-1KIT) 으로 표지한 ADCP 표적 세포라고 평

가하는 항체와, 20 ㎍/㎖ 의 농도의 평가하는 항체로 4 ℃, 1 시간 처리한 후, PKH26 Red Fluorescent Cell Linker Kit for General Cell Membrane Labeling (SIGMA, Cat. PKH26GL-1KT) 으로 표지한 RAW264.7 세포를 ADCP 표적 세포의 5 배 첨가하고, 3 시간, 37 ℃, 5 % CO2 존재하에서 가온한다. 플로우 사이토미터 (BD 사, CantoII) 를 사용하여, 탐식 작용에 의해 PKH67 시그널 양성으로 이행한 PKH26 양성 세포의 비율을 측정한다. 음성 대조 샘플로서, 인간 IgG (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories 사, Cat. 009-000-003) 를 처리한 샘플에 대해 동일하게 측정을 실시한다. 측정은 삼중으로 실시하고, 평균값, 표준 편차를 산출한다.

[0240] 본 명세서 중, 「이펙터 활성을 실질적으로 갖지 않는다」 또는 「이펙터 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 당해 항체가, ADCC 활성, CDC 활성 또는 ADCP 활성 중의 적어도 1 개가, 활성을 나타내지 않거나, 혹은, 그들의 기능이 충분하게는 발휘되지 않을 정도로 낮은 정도의 활성인 것을 말한다. 「이펙터 활성을 실질적으로 갖지 않는다」 또는 「이펙터 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 예를 들어, 상기의 활성 평가 방법에 있어서, 평가하는 항체의 활성이 네거티브 컨트롤과 동일한 정도의 활성인 것을 말한다.

[0241] 본 명세서 중, 「ADCC 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 평가하는 항체가, ADCC 활성을 나타내지 않거나, 혹은, 그들의 기능이 충분하게는 발휘되지 않을 정도로 낮은 정도의 활성인 것을 말한다. 「ADCC 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 예를 들어, 상기의 활성 평가 방법에 있어서, 평가하는 항체의 활성이 네거티브 컨트롤과 동일한 정도의 활성인 것을 말한다.

[0242] 본 명세서 중, 「CDC 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 평가하는 항체가, CDC 활성을 나타내지 않거나, 혹은, 그들의 기능이 충분하게는 발휘되지 않을 정도로 낮은 정도의 활성인 것을 말한다. 「CDC 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 예를 들어, 상기의 활성 평가 방법에 있어서, 평가하는 항체의 활성이 네거티브 컨트롤과 동일한 정도의 활성인 것을 말한다.

[0243] 본 명세서 중, 「ADCP 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 평가하는 항체가, ADCP 활성을 나타내지 않거나, 혹은, 그들의 기능이 충분하게는 발휘되지 않을 정도로 낮은 정도의 활성인 것을 말한다. 「ADCP 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 예를 들어, 상기의 활성 평가 방법에 있어서, 평가하는 항체의 활성이 네거티브 컨트롤과 동일한 정도의 활성인 것을 말한다.

[0244] 「ADCC 활성이 저하 또는 결실하였다」, 「CDC 활성이 저하 또는 결실하였다」 또는 「ADCP 활성이 저하 또는 결실하였다」 라는 것은, 예를 들어, 각각, 상기의 활성 평가 방법에 있어서, 평가하는 항체의 활성이 네거티브 컨트롤과 동일한 정도의 활성인 것을 말한다.

[0245] 본 명세서 중, 「CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화한다」, 「CD147 을 개재한 관련 시그널 분자의 활성화」, 「CD147 의 활성화」 또는 「CD147 을 활성화」 란, CD147 을 개재한 세포 시그널 전달계의 활성화를 말하며, CD147 의 하류의 관련 시그널 분자 중의 적어도 어느 것을 활성화시키는 것을 말한다. CD147 을 개재한 시그널 전달의 활성화란, CD147 시그널의 하류에 있는 유전자의 발현이 항진 또는 저하되거나, 단백질의 발현이 항진 또는 저하되거나, 혹은, 단백질의 인산화가 항진 또는 저하되거나 하는 것을 말한다. CD147 의 하류의 관련 시그널 분자로는, 예를 들어, FAK, MEK, Erk, JAK/STAT, AKT 또는 MAP 키나아제 (MAPK), 혹은 이들의 더 하류의 시그널 분자의 활성화를 들 수 있다. MAPK 로는, 예를 들어, ERK1/2, JNK 또는 p38MAPK 를 들 수 있고, 보다 바람직하게는 p38MAPK 이다. MAPK 의 더 하류의 시그널 분자로는, 예를 들어, HSP27, cxcl8 또는 SMAD (예를 들어, SMAD2, SMAD3 및/또는 SMAD4) 를 들 수 있다. 「CD147 의 활성화」 로는, 예를 들어, p38MAPK 의 mRNA 발현량의 증가, p38MAPK 의 단백질 발현량의 증가, p38MAPK 의 인산화, HSP27 의 인산화 (예를 들어, HSP27 의 Ser82 의 인산화 또는 HSP27 의 Ser15 의 인산화), cxcl8 mRNA 발현량의 증가, cxcl8 단백질 발현량의 증가, SMAD 시그널 활성화를 개재한 rhoB mRNA 발현량의 증가 또는 rhoB 단백질 발현량의 증가, 혹은, KLF5 mRNA 의 저하 또는 KLF5 단백질 발현량의 저하를 들 수 있다.

[0246] 본 명세서 중, 「에피토프」 란, 특정한 항 CD147 항체가 결합하는 CD147 의 부분 펩티드 또는 부분 입체 구조를 의미한다. 상기의 CD147 의 부분 펩티드인 에피토프는 면역 어세이법 등 당업자에게는 잘 알려져 있는 방법에 의해 결정할 수 있다. 먼저, 항원의 다양한 부분 구조를 제조한다. 부분 구조의 제조에 있어서는, 공지된 올리고 뉴클레오티드 합성 기술을 사용할 수 있다. 예를 들어, CD147 의 C 말단 또는 N 말단으로부터 적당한 길이로 순차 짧게 한 일련의 폴리펩티드를 당업자에게 주지의 유전자 조작 기술을 사용하여 제조한 후, 그것들에 대한 항체의 반응성을 검토하고, 대략적인 인식 부위를 결정한 후에, 더욱 짧은 펩티드를 합성하여 그들의 펩티드와의 반응성을 검토함으로써, 에피토프를 결정할 수 있다. 또, 복수의 세포외 도메인으로 이루어지는 막 단백질에 결합하는 항체가, 복수의 도메인으로 이루어지는 입체 구조를 에피토프로 하고 있는

경우에는, 특정한 세포외 도메인의 아미노산 서열을 개변함으로써, 입체 구조를 개변함으로써 어느 도메인과 결합할지를 결정할 수 있다. 특정한 항체가 결합하는 항원의 부분 입체 구조인 에피토프는, X 선 구조 해석에 의해 상기의 항체와 인접하는 항원의 아미노산 잔기를 특정함으로써도 결정할 수 있다.

[0247] 제 1 항체가 결합하는 부분 펩티드 또는 부분 입체 구조에 제 2 항체가 결합하면, 제 1 항체와 제 2 항체가 공통의 에피토프를 갖는 것으로 판정할 수 있다. 또, 제 1 항체의 항원에 대한 결합에 제 2 항체가 교차 경합하는 (즉, 제 2 항체가 제 1 항체와 항원의 결합을 방해한다) 것을 확인함으로써, 구체적인 에피토프의 서열 또는 구조가 결정되어 있지 않아도, 제 1 항체와 제 2 항체의 동일한 에피토프에 결합하는 것으로 판정할 수 있다. 제 1 항체와 제 2 항체가 동일한 에피토프에 결합하고, 또한 제 1 항체가 항종양 활성 등의 특수한 효과를 갖는 경우, 제 2 항체도 동일한 활성을 갖는 것을 기대할 수 있다.

[0248] 항체 분자의 중쇄 및 경쇄에는 각각 3 개 지점의 상보성 결정 영역 (CDR : Complementarity determining region) 이 있는 것이 알려져 있다. 상보성 결정 영역은, 초가변 영역 (hypervariable domain) 이라고도 불리며, 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 내에 있어, 1 차 구조의 변이성이 특히 높은 부위이며, 중쇄 및 경쇄의 폴리펩티드 사슬의 1 차 구조 상에 있어서, 각각 3 개 지점으로 분리되어 있다. 본 명세서 중에 있어서는, 항체의 상보성 결정 영역에 대해, 중쇄의 상보성 결정 영역을 중쇄 아미노산 서열의 아미노 말단측으로부터 CDRH1, CDRH2, CDRH3 이라고 표기하고, 경쇄의 상보성 결정 영역을 경쇄 아미노산 서열의 아미노 말단측으로부터 CDRL1, CDRL2, CDRL3 이라고 표기한다. 이들 부위는 입체 구조 상에서 상호 근접하고, 결합하는 항원에 대한 특이성을 결정하고 있다.

[0249] 본 명세서에 있어서, 「1 내지 수 개」 및 「1 혹은 수 개」 라는 기재가 있는 경우의 「수 개」 란, 2 내지 10 개를 나타내고 있다. 바람직하게는 10 개 이하, 보다 바람직하게는 5 혹은 6 개 이하, 보다 더 바람직하게는 2 혹은 3 개이다.

[0250] (CD147)

[0251] CD147 은, 이뮤노글로불린형 도메인을 2 ~ 3 갖는 1 회 막관통 단백질이며, CD147 끼리의 상호 작용, CD44, 인테그린 패밀리 분자, CD98, VEGFR, CypA/B, MCT1/3/4 와 같은 증식, 침윤, 염증에 관여하는 세포외나 세포막 표면의 분자와 상호 작용함으로써, 하류 시그널 관련 분자, FAK, MEK, Erk, JAK/STAT, AKT, MAPK 패밀리 분자를 활성화시키고, MMP 를 비롯한 프로테아제 산생, 암의 증식, 전이, 침윤을 촉진하는 것이 알려져 있다.

[0252] 인간 CD147 은, 3 개의 베어리언트가 알려져 있다. 베어리언트 1 은, 망막 특이적으로 발현하고 3 개의 이뮤노글로불린형 도메인 (각각, 본 명세서 중, D0, D1 및 D2 라고 하는 경우가 있다.) 을 갖는 1 회 막관통 단백질이고, 베어리언트 2 는, T 세포나 다양한 정상 세포에서 발현하고, 또한, 다양한 암 조직에서 발현 증가가 보고되어 있는 2 개의 이뮤노글로불린형 도메인 (D1, D2) 을 갖는 1 회 막관통 단백질이며, 베어리언트 3 은, 1 개의 이뮤노글로불린형 도메인을 갖는 1 회 막관통 단백질이다.

[0253] 인간 CD147 의 베어리언트 1 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열은, GenBank 액세션 번호 NP__001719.2, NM__001728.3 을 참조함으로써 입수 가능하고, 본 명세서 중, 아미노산 서열은 서열 번호 1, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 2 로서도 개시되어 있다. 베어리언트 1 의 3 개의 이뮤노글로불린형 도메인은, 서열 번호 1 로 말하면, 각각, 아미노산 번호 22 ~ 138 (D0), 아미노산 번호 140 ~ 218 (D1) 및 아미노산 번호 223 ~ 323 (D2) 이다 (Redzic, J., J. Mol. Biol., 2011, 68-82) (Grass et al., Biosol. Rep, 2016, 1-16). 또, 베어리언트 1 의 막관통 영역은, 서열 번호 1 로 말하면, 아미노산 번호 324 ~ 344 이다.

[0254] 인간 CD147 의 베어리언트 2 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열은, GenBank 액세션 번호 NP__940991.1, NM__198589.2 를 참조함으로써 입수 가능하고, 본 명세서 중, 아미노산 서열은 서열 번호 3, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호 4 로서도 개시되어 있다. 베어리언트 2 의 2 개의 이뮤노글로불린형 도메인 (D1, D2) 은, 서열 번호 3 으로 말하면, 각각, 아미노산 번호 24 ~ 102 (D1) 및 아미노산 번호 107 ~ 207 (D2) 이다. 또, 베어리언트 2 의 막관통 영역은, 서열 번호 3 으로 말하면, 아미노산 번호 208 ~ 228 이다 (Grass et al., Biosol. Rep, 2016, 1-16).

[0255] 인간 CD147 의 베어리언트 3 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열은, GenBank 액세션번호 NP__940992.1, NM__198590.2 를 참조함으로써 입수 가능하다. 또, 인간 CD147 유전자는, 시판원으로부터 입수하는 것도 가능하다.

[0256] 게잡이 원숭이 CD147 (본 명세서 중, 원숭이 CD147 이라고 기재하는 경우도 있다.) 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열은, GenBank 액세션 번호 XP__005587354.1, XM__005587297.1 을 참조함으로써 입수 가능하다.

또, 원숭이 CD147 유전자는, 시판원으로부터 입수하는 것도 가능하다. 마우스 CD147 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열은, GenBank 액세션 번호 NP__001070652.1, NM__001077184.1 을 참조함으로써 입수 가능하다. 또, 마우스 CD147 유전자는, 시판원으로부터 입수하는 것도 가능하다.

[0257] 본 발명에서 사용하는 CD147 은, in vitro 에서 합성하거나, 혹은 유전자 조작에 의해 숙주 세포에 산생시킴으로써 얻을 수 있다. 구체적으로는, CD147 cDNA 를 발현 가능한 벡터에 짜넣은 후, 전사와 번역에 필요한 효소, 기질 및 에너지 물질을 포함하는 용액 중에서 합성하거나, 혹은 다른 원핵 생물, 또는 진핵 생물의 숙주 세포를 형질 전환시킴으로써 CD147 을 발현시킴으로써, 그 단백질을 얻을 수 있다.

[0258] CD147 의 cDNA 는, 예를 들어, CD147 의 cDNA 를 발현하고 있는 cDNA 라이브러리를 주형 (鑄型) 으로 하여, CD147 의 cDNA 를 특이적으로 증폭하는 프라이머를 사용하여 폴리머라아제 연쇄 반응 (이하 「PCR」 이라고 한다) (Saiki, R. K., et al., Science, (1988) 239, 487-49) 을 실시하는, 이른바 PCR 법에 의해 취득할 수 있다.

[0259] 또한, 인간, 원숭이 또는 마우스의 CD147 을 코드하는 뉴클레오티드 서열과 상보적인 뉴클레오티드 서열로 이루어지는 폴리뉴클레오티드와 스트린젠트한 조건으로 하이브리다이즈 하고, 또한, CD147 과 동등한 생물 활성을 갖는 단백질을 코드하는 폴리뉴클레오티드도 CD147 의 cDNA 에 포함된다. 또한, 인간, 원숭이 혹은 마우스 CD147 유전자좌로부터 전사되는 스플라이싱 베어리언트 또는 이것에 스트린젠트한 조건으로 하이브리다이즈 하는 폴리뉴클레오티드로서, 또한, CD147 과 동등한 생물 활성을 갖는 단백질을 코드하는 폴리뉴클레오티드도 CD147 의 cDNA 에 포함된다.

[0260] 또, 인간, 원숭이 또는 마우스의 CD147 의 아미노산 서열, 또는 이들 서열로부터 시그널 서열이 제외된 아미노산 서열에 있어서, 1 혹은 수 개의 아미노산이 치환, 결실, 또는 부가된 아미노산 서열로 이루어지고, CD147 과 동등한 생물 활성을 갖는 단백질도 CD147 에 포함된다. 또한, 인간, 원숭이 혹은 마우스 CD147 유전자좌로부터 전사되는 스플라이싱 베어리언트에 코드되는 아미노산 서열 또는 그 아미노산 서열에 있어서, 1 혹은 수 개의 아미노산이 치환, 결실, 또는 부가된 아미노산 서열로 이루어지고, 또한, CD147 과 동등한 생물 활성을 갖는 단백질도 CD147 에 포함된다.

[0261] (항 CD147 항체의 제조)

[0262] 본 발명의 CD147 에 대한 항체는, 비인간 동물을 목적 항원으로 면역하고, 면역 성립 후의 동물로부터 림프액, 림프 조직, 혈구 시료 또는 골수 유래의 세포를 채취하고, 공지된 방법 (예를 들어, Kohler and Milstein, Nature (1975) 256, p. 495-497, Kennet, R. ed., Monoclonal Antibodies, p. 365-367, Plenum Press, N. Y. (1980)) 에 따라서, CD147 에 대한 항체를 산생하는 항체 산생 세포와 미엘로마 세포를 융합시킴으로써 하이브리도마를 수립하고, 모노클로날 항체를 얻을 수 있다. 이와 같은 방법의 구체적인 예는, WO2009/48072 (2009년 4월 16 일 공개) 및 WO2010/117011 (2010년 10월 14 일 공개) 에 기재되어 있다. 이와 같이 하여 얻어진 모노클로날 항체의 예로는, 예를 들어, LN22R8, 2P10F2, 래트__CD147__#84, 래트__CD147__#101, 래트__CD147__#110 또는 래트__CD147__#131 을 들 수 있다. 그러나, 모노클로날 항체를 취득하는 방법은, 이미 확립된 분야에 해당하고, 상기의 구체예에 한정되는 것은 아니다.

[0263] 본 발명의 항체에는, 상기 CD147 에 대한 모노클로날 항체에 더하여, 인간에 대한 이종 항원성을 저하시키는 것 등을 목적으로 하여 인위적으로 개변한 유전자 조작형 항체, 예를 들어, 키메라 (Chimeric) 항체, 인간화 (Humanized) 항체, 인간 항체 등도 포함된다. 이들 항체는, 이미 알려진 방법을 사용하여 제조할 수 있다.

[0264] 키메라 항체로는, 항체의 가변 영역과 정상 영역이 서로 이종인 항체, 예를 들어 마우스 또는 래트 유래 항체의 가변 영역을 인간 유래의 정상 영역에 접합한 키메라 항체를 들 수 있다 (Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 81, 6851-6855, (1984) 참조). LN22R8 유래의 키메라 항체의 일례로서, 서열표의 서열 번호 33 의 20 내지 471 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 서열 번호 35 의 20 내지 467 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 혹은 서열 번호 37 의 20 내지 468 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열 번호 31 의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어지는 항체를 들 수 있다. 2P10F2 유래의 키메라 항체의 일례로서, 서열표의 서열 번호 43 의 20 내지 466 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 서열표의 서열 번호 45 의 20 내지 462 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 혹은 서열 번호 47 의 20 내지 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열 번호 41 의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어지는 항체를 들 수 있다.

[0265] 래트_CD147_#84 유래의 키메라 항체의 일례로서, 서열표의 서열 번호 92 의 20 내지 470 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 서열표의 서열 번호 94 의 20 내지 466 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 서열 번호 96 의 20 내지 467 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 서열 번호 98 의 20 내지 470 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 혹은 서열 번호 100 의 20 내지 467 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 및, 서열 번호 90 의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어지는 항체를 들 수 있다.

[0266] 래트_CD147_#101 유래의 키메라 항체의 일례로서, 서열표의 서열 번호 104 의 20 내지 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 서열표의 서열 번호 106 의 20 내지 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 혹은 서열 번호 108 의 20 내지 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 및, 서열 번호 102 의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어지는 항체를 들 수 있다.

[0267] 래트_CD147_#110 유래의 키메라 항체의 일례로서, 서열표의 서열 번호 112 의 20 내지 462 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 서열표의 서열 번호 114 의 20 내지 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 혹은 서열 번호 116 의 20 내지 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 및, 서열 번호 110 의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어지는 항체를 들 수 있다.

[0268] 래트_CD147_#131 유래의 키메라 항체의 일례로서, 서열표의 서열 번호 120 의 20 내지 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄 혹은 서열 번호 122 의 20 내지 465 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 중쇄, 및, 서열 번호 118 의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 아미노산 서열을 갖는 경쇄로 이루어지는 항체를 들 수 있다.

[0269] 인간화 항체로는, CDR 만을 인간 유래의 항체에 짜넣은 항체 (Nature (1986) 321, p. 522-525 참조), CDR 이식법에 의해, CDR 의 서열에 더하여 일부의 프레임 워크의 아미노산 잔기도 인간 항체에 이식한 항체 (국제 공개 제WO90/07861호 팸플릿) 를 들 수 있다.

[0270] 래트_CD147_#84 항체 유래의 인간화 항체로는, 래트_CD147_#84 의 6 종 모두의 CDR 서열을 유지하고, CD147 에 대한 결합 활성을 갖고, 또한, CD147 을 활성화하는 항체인 한, 본 발명의 항체에 포함된다. 또한, 래트_CD147_#84 항체의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 55 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 56 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2, 및 서열 번호 57 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 보유하고 있다. 또, 래트_CD147_#84 항체의 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 52 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 53 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2, 및 서열 번호 54 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 보유하고 있다. 래트_CD147_#84 항체의 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열, CDR 의 아미노산 서열은, 도 33a 및 도 33b 에도 기재되어 있다.

[0271] 래트_CD147_#101 항체 유래의 인간화 항체로는, 래트_CD147_#101 의 6 종 모두의 CDR 서열을 유지하고, CD147 에 대한 결합 활성을 갖고, 또한, CD147 을 활성화하는 항체인 한, 본 발명의 항체에 포함된다. 또한, 래트_CD147_#101 항체의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 65 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 66 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2, 및 서열 번호 67 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 보유하고 있다. 또, 래트_CD147_#101 항체의 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 62 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 63 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2, 및 서열 번호 64 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 보유하고 있다. 래트_CD147_#101 항체의 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열, CDR 의 아미노산 서열은, 도 34a 및 도 34b 에도 기재되어 있다.

[0272] 래트_CD147_#110 항체 유래의 인간화 항체로는, 래트_CD147_#110 의 6 종 모두의 CDR 서열을 유지하고, CD147 에 대한 결합 활성을 갖고, 또한, CD147 을 활성화하는 항체인 한, 본 발명의 항체에 포함된다. 또한, 래트_CD147_#110 항체의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 75 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 76 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2, 및 서열 번호 77 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 보유하고 있다. 또, 래트_CD147_#110 항체의 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 72 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 73 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는

CDRL2, 및 서열 번호 74 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 보유하고 있다. 래트_CD147_#110 항체의 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열, CDR 의 아미노산 서열은, 도 35a 및 도 35b 에도 기재되어 있다.

[0273] 래트_CD147_#131 항체 유래의 인간화 항체로는, 래트_CD147_#131 의 6 종 모두의 CDR 서열을 유지하고, CD147 에 대한 결합 활성을 갖고, 또한, CD147 을 활성화하는 항체인 한, 본 발명의 항체에 포함된다. 또한, 래트_CD147_#131 항체의 중쇄 가변 영역은, 서열 번호 85 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH1, 서열 번호 86 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH2, 및 서열 번호 87 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRH3 을 보유하고 있다. 또, 래트_CD147_#131 항체의 경쇄 가변 영역은, 서열 번호 82 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL1, 서열 번호 83 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL2, 및 서열 번호 84 에 나타내는 아미노산 서열로 이루어지는 CDRL3 을 보유하고 있다. 래트_CD147_#131 항체의 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열, CDR 의 아미노산 서열은, 도 36a 및 도 36b 에도 기재된다.

[0274] 또, 또한 각 CDR 중의 1 내지 3 개의 아미노산 잔기를 다른 아미노산 잔기로 치환한 CDR 개변 인간화 항체도, CD147 에 대한 결합 활성을 갖고, 또한, CD147 을 활성화하는 항체인 한, 본 발명의 항체에 포함된다.

[0275] 래트_CD147_#84 항체 유래의 인간화 항체로는, 이하의 (a) 및 (b) 를 갖는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편을 들 수 있다 :

[0276] (a) 이하의 (a1) 내지 (a4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

[0277] (a1) 서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0278] (a2) 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0279] (a3) (a1) 또는 (a2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0280] (a4) (a1) 내지 (a3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

[0281] (b) 이하의 (b1) 내지 (b3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

[0282] (b1) 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0283] (b2) (b1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0284] (b3) (b1) 또는 (b2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

[0285] 래트_CD147_#84 항체 유래의 인간화 항체의 바람직한 예로는, 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체, 또는, 서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 140 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 들 수 있다.

[0286] 래트_CD147_#84 항체 유래의 인간화 항체의 보다 바람직한 예로는, 서열 번호 125 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 467 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 및 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는 항체, 또는, 서열 번호 123 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 466 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 및 서열 번호 127 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는 항체를 들 수 있다.

[0287] 래트_CD147_#101 항체 유래의 인간화 항체로는, 이하의 (e) 및 (f) 를 갖는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체

의 항원 결합 단편을 들 수 있다 :

[0288] (e) 이하의 (e1) 내지 (e4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

[0289] (e1) 서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0290] (e2) 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0291] (e3) (e1) 또는 (e2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0292] (e4) (e1) 내지 (e3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

[0293] (f) 이하의 (f1) 내지 (f3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

[0294] (f1) 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0295] (f2) (f1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0296] (f3) (f1) 또는 (f2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

[0297] 래트_CD147_#101 항체 유래의 인간화 항체의 바람직한 예로는, 서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체, 또는, 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 137 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 들 수 있다.

[0298] 래트_CD147_#101 항체 유래의 인간화 항체의 보다 바람직한 예로는, 서열 번호 129 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 및 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는 항체, 또는, 서열 번호 131 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 및 서열 번호 133 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는 항체를 들 수 있다.

[0299] 래트_CD147_#110 항체 유래의 인간화 항체로는, 이하의 (c) 및 (d) 를 갖는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편을 들 수 있다 :

[0300] (c) 이하의 (c1) ~ (c4) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

[0301] (c1) 서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0302] (c2) 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0303] (c3) (c1) 또는 (c2) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0304] (c4) (c1) ~ (c3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

[0305] (d) 이하의 (d1) ~ (d5) 로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

[0306] (d1) 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0307] (d2) 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0308] (d3) 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0309] (d4) (d1) ~ (d3) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0310] (d5) (d1) ~ (d4) 중 어느 하나에 기재된 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

[0311] 래트__CD147__#110 항체 유래의 인간화 항체의 바람직한 예로는, 서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 ; 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체 ; 또는, 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 136 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 들 수 있다.

[0312] 래트__CD147__#110 항체 유래의 인간화 항체의 보다 바람직한 예로는, 서열 번호 135 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 및 서열 번호 137 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는 항체 ; 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 149 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는 항체 ; 또는, 서열 번호 147 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 463 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄, 및, 서열 번호 151 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는 항체를 들 수 있다.

[0313] 래트__CD147__#131 항체 유래의 인간화 항체로는, 이하의 (g) 및 (h) 를 갖는, 인간 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편을 들 수 있다 :

[0314] (g) 이하의 (g1) ~ (g3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 중쇄 가변 영역 :

[0315] (g1) 서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 ~ 138 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 ;

[0316] (g2) (g1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0317] (g3) (g1) 또는 (g2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열, 그리고,

[0318] (h) 이하의 (h1) ~ (h3) 으로 이루어지는 군에서 선택되는 어느 하나에 기재된 경쇄 가변 영역 :

[0319] (h1) 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21 ~ 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역 ;

[0320] (h2) (h1) 의 서열에 있어서 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 대하여 적어도 95 % 이상의 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열 ; 및

[0321] (h3) (h1) 또는 (h2) 의 서열에 있어서의 각 CDR 서열 이외의 프레임 워크 영역의 서열에 있어서 1 또는 수 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열.

[0322] 래트__CD147__#131 항체 유래의 인간화 항체의 바람직한 예로는, 서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 138 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21 내지 128 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체를 들 수 있다.

[0323] 래트__CD147__#131 항체 유래의 인간화 항체의 보다 바람직한 예로는, 서열 번호 139 에 나타내는 아미노산 서열의 20 내지 464 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 중쇄 및 서열 번호 141 에 나타내는 아미노산 서열의 21

내지 234 번째의 아미노산 잔기로 이루어지는 경쇄를 포함하는 항체를 들 수 있다.

[0324] 상기의 래트__CD147__#84 항체 유래의 인간화 항체, 래트__CD147__#101 항체 유래의 인간화 항체, 래트__CD147__#110 항체 유래의 인간화 항체 또는 래트__CD147__#131 항체 유래의 인간화 항체는, 바람직하게는, CD147 을 개재한 p38MAPK 시그널 전달 및/또는 SMAD4 의 시그널 전달을 활성화한다.

[0325] 본 발명의 항체로는, 또한, 인간 항체를 들 수 있다. 항 CD147 인간 항체란, 인간 염색체 유래의 항체의 유전자 서열만을 갖는 인간 항체를 의미한다. 항 CD147 인간 항체는, 예를 들어, 인간 항체의 중쇄와 경쇄의 유전자를 포함하는 인간 염색체 단편을 갖는 인간 항체 산생 마우스를 사용한 방법 (Tomizuka, K. et al., Nature Genetics (1997) 16, p. 133-143 ; Kuroiwa, Y. et. al., Nucl. Acids Res. (1998) 26, p. 3447-3448 ; Yoshida, H. et. al., Animal Cell Technology : Basic and Applied Aspects vol. 10, p. 69-73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999 ; Tomizuka, K. et. al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 97, p. 722-727 등을 참조.) 에 의해 취득할 수 있다.

[0326] 이와 같은 인간 항체 산생 마우스는, 구체적으로는, 내재성 면역 글로불린 중쇄 및 경쇄의 유전자좌가 파괴되고, 대신에 인간 인공 염색체 (Human artificial chromosome, HAC) 벡터나 마우스 인공 염색체 (Mouse artificial chromosome, MAC) 벡터 등의 벡터를 개재하여 인간 면역 글로불린 중쇄 및 경쇄의 유전자좌가 도입된 유전자 조작 동물을, 녹아웃 동물 및 트랜스제닉 동물의 제조, 및 이들 동물끼리를 교배시킴으로써 만들어 낼 수 있다.

[0327] 또, 유전자 조작 기술에 의해, 그러한 인간 항체의 중쇄 및 경쇄의 각각을 코드하는 cDNA, 바람직하게는 그 cDNA 를 포함하는 벡터에 의해 진핵 세포를 형질 전환하고, 유전자 조작 인간 모노클로날 항체를 산생하는 형질 전환 세포를 배양함으로써, 이 항체를 배양 상청 중으로부터 얻을 수도 있다. 여기서, 숙주로는 예를 들어 진핵 세포, 바람직하게는 CHO 세포, 림프구나 미엘로마 등의 포유 동물 세포를 사용할 수 있다.

[0328] 또, 인간 항체 라이브러리에서 선별한 파지 디스플레이 유래의 인간 항체를 취득하는 방법 (Wormstone, I. M. et. al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002) 43 (7), p. 2301-2308 ; Carmen, S. et. al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1 (2), p. 189-203 ; Siriwardena, D. et. al., Ophthalmology (2002) 109 (3), p. 427-431 등 참조.) 도 알려져 있다.

[0329] 예를 들어, 인간 항체의 가변 영역을 1 본쇄 항체 (scFv) 로서 파지 표면에 발현시켜, 항원에 결합하는 파지를 선택하는 파지 디스플레이법 (Nature Biotechnology (2005), 23, (9), p. 1105-1116) 을 사용할 수 있다. 항원에 결합함으로써 선택된 파지의 유전자를 해석함으로써, 항원에 결합하는 인간 항체의 가변 영역을 코드하는 DNA 서열을 결정할 수 있다. 항원에 결합하는 scFv 의 DNA 서열이 밝혀지면, 당해 서열을 갖는 발현 벡터를 제조하고, 적당한 숙주에 도입하여 발현시킴으로써 인간 항체를 취득할 수 있다 (WO92/01047, WO92/20791, WO93/06213, WO93/11236, WO93/19172, WO95/01438, WO95/15388, Annu. Rev. Immunol (1994) 12, p. 433-455, Nature Biotechnology (2005) 23 (9), p. 1105-1116).

[0330] 본 발명이 제공하는 항체와 동일한 에피토프를 갖는 항체도 본 발명의 항체에 포함된다. 예를 들어, LN22R8, 2P10F2, 래트__CD147__#84, 래트__CD147__#101, 래트__CD147__#110 또는 래트__CD147__#131 중의 적어도 어느 1 개와 동일한 에피토프를 갖는 항체를 들 수 있다.

[0331] 본 발명의 LN22R8 및 2P10F2 는, 도 3 의 mu3 으로 나타내는 에피토프 (인간 CD147V1 : DALPGQKTEFKVDSDDQ (서열 번호 143), 원숭이 CD147 : DTLPGQKTDFEVDSDDL (서열 번호 144)) 를 인식하였다. 본 발명의 항체에는, 서열 번호 143 또는 서열 번호 144, 혹은 서열 번호 143 또는 서열 번호 144 의 서열에 있어서 1 또는 수 개, 바람직하게는 1 ~ 3 개, 보다 바람직하게는 1 또는 2 개의 아미노산이 결실, 치환 또는 부가된 아미노산 서열을 포함하는 서열을 인식 또는 결합하는 항체도, 그 범위에 포함된다. 이 항체는, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것이 바람직하다.

[0332] 또, 본 발명의 항체에는, 래트__CD147__#110, 바람직하게는, 인간화 #110H1L4 와 동일한 에피토프를 인식하는 항체를 포함한다. 이 항체는, CD147 을 개재한 시그널 전달을 활성화하는 것이 바람직하다. 인간화 #110H1L4 의 에피토프 해석의 결과는, 실시예 17 에 나타난다.

[0333] 적합한 항체는, 당업자에게 주지인 항원에 대한 결합성을 평가함으로써 선발할 수 있다. 항체와 항원 (CD147) 의 해리 정수 (定數) 는 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 을 검출 원리로 하는 비아코어 T200 (GE Healthcare Bioscience 사) 를 사용하여 측정할 수 있다. 예를 들어, 리간드로서 고상화한 항원에 대하여, 적당한 농도로 설정한 항체를 아날라이트와 반응시키고, 그 결합 및 해리를 측정함으로써, 결합 속도 정수 ka1,

해리 속도 정수 kd1 및 해리 정수 (KD ; KD = kd1/ka1) 를 얻을 수 있다.

[0334] CD147 에 대한 결합성 평가는, 비아코어 T200 의 사용에 한정되지 않고, 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 을 검출 원리로 하는 기기, 결합 평형 제외법 (Kinetic Exclusion Assay) 을 검출 원리로 하는 KinExA (Sapidyne Instruments 사), 바이오레이어 간섭법 (Bio-Layer Interferometry) 을 검출 원리로 하는 BLItz 시스템 (Pall 사) 혹은 ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) 법 등에 의해서도 가능하다.

[0335] 항체의 성질을 비교할 때의 다른 지표의 일례로는, 항체의 안정성을 들 수 있다. 시차 주사 칼로리메트리 (DSC) 는, 단백의 상대적 구조 안정성이 좋은 지표가 되는 열 변성 중점 (Tm) 을 재빠르게, 또 정확하게 측정할 수 있는 방법이다. DSC 를 사용하여 Tm 값을 측정하고, 그 값을 비교함으로써, 열안정성의 차이를 비교할 수 있다. 항체의 보존 안정성은, 항체의 열안정성과 어느 정도의 상관을 나타내는 것이 알려져 있으며 (Lori Burton, et. al., Pharmaceutical Development and Technology (2007) 12, p. 265-273), 열안정성을 지표로 적합한 항체를 선발할 수 있다. 항체를 선발하기 위한 다른 지표로는, 적절한 숙주 세포에 있어서의 수량 (收量) 이 높은 것, 및 수용액 중에서의 응집성이 낮은 것을 들 수 있다. 예를 들어 수량이 가장 높은 항체가 가장 높은 열안정성을 나타낸다고는 할 수 없기 때문에, 이상에 서술한 지표에 기초하여 종합적으로 판단하여, 인간에 대한 투여에 가장 적합한 항체를 선발할 필요가 있다.

[0336] 또, 항체의 중쇄 및 경쇄의 전체 길이 서열을 적절한 링커를 사용하여 연결하고, 1 본쇄 이뮤노글로불린 (single chain immunoglobulin) 을 취득하는 방법도 알려져 있다 (Lee, H-S, et. al., Molecular Immunology (1999) 36, p. 61-71 ; Shirrmann, T. et. al., mAbs (2010), 2, (1) p. 1-4). 이와 같은 1 본쇄 이뮤노글로불린은 2량체화 함으로써, 본래는 4량체인 항체와 유사한 구조와 활성을 유지하는 것이 가능하다. 또, 본 발명의 항체는, 단일의 중쇄 가변 영역을 갖고, 경쇄 서열을 갖지 않는 항체여도 된다. 이와 같은 항체는, 단일 도메인 항체 (single domain antibody : sdAb) 또는 나노보디 (nanobody) 라고 불리고 있으며, 실제로 낙타 또는 라마에서 관찰되고, 항원 결합능이 유지되고 있는 것이 보고되어 있다 (Muyldemans S. et. al., Protein Eng. (1994) 7 (9), 1129-35, Hamers-Casterman C. et. al., Nature (1993) 363 (6428) 446-8). 상기의 항체는, 본 발명에 있어서의 항체의 항원 결합 단편의 1 종이라고 해석하는 것도 가능하다.

[0337] 또, 본 발명의 항체에 결합하고 있는 당사슬 수식을 조절함으로써, 항체 의존성 세포 장애 활성을 증강하는 것이 가능하다. 항체의 당사슬 수식의 조절 기술로는, WO99/54342, WO2000/61739, WO2002/31140 등이 알려져 있지만, 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0338] 항체 유전자를 일단 단리한 후, 적당한 숙주에 도입하여 항체를 제조하는 경우에는, 적당한 숙주와 발현 벡터의 조합을 사용할 수 있다.

[0339] 항체 유전자의 구체예로는, 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄 서열을 코드하는 유전자, 및 경쇄 서열을 코드하는 유전자를 조합한 것을 들 수 있다. 숙주 세포를 형질 전환할 때에는, 중쇄 서열 유전자와 경쇄 서열 유전자는, 동일한 발현 벡터에 삽입되어 있는 것이 가능하고, 또 별개의 발현 벡터에 삽입되어 있는 것도 가능하다.
진핵 세포를 숙주로서 사용하는 경우, 동물 세포, 식물 세포, 진핵 미생물을 사용할 수 있다. 동물 세포로는, 포유류 세포, 예를 들어, 원숭이의 세포인 COS 세포 (Gluzman, Y. Cell (1981) 23, p. 175-182, ATCC CRL-1650), 마우스 선유아세포 NIH3T3 (ATCC No. CRL-1658) 이나 차이니즈·햄스터 난소 세포 (CHO 세포, ATCC CCL-61) 의 디하이드로 엽산 환원 효소 결손주 (Urlaub, G. and Chasin, L. A. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1980) 77, p. 4126-4220) 를 들 수 있다. 또, 원핵 세포를 사용하는 경우에는, 예를 들어, 대장균, 고초균을 들 수 있다. 이들 세포에 목적으로 하는 항체 유전자를 형질 전환에 의해 도입하고, 형질 전환된 세포를 in vitro 에서 배양함으로써 항체가 얻어진다. 이상의 배양법에 있어서는 항체의 서열에 의해 수량이 상이한 경우가 있고, 동등한 결합 활성을 갖는 항체 중에서 수량을 지표로 의약으로서의 생산이 용이한 것을 선별하는 것이 가능하다.

[0340] 본 발명의 항체의 아이소타입으로서의 제한은 없고, 예를 들어 IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), IgM, IgA (IgA1, IgA2), IgD 혹은 IgE 등을 들 수 있지만, 바람직하게는 IgG 또는 IgM, 더욱 바람직하게는 IgG 를 들 수 있다.

[0341] 인간 IgG1 이란, 5 종 존재하는 인간 IgG 서브 클래스 중에서, 보체 결합을 통한 CDC 활성, 항체 의존적인 세포 장애 활성과 같은 이펙터 기능이 매우 강하고 (Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1351-1361, 1987), 치료용 항체로 암에 고발현하는 분자를 표적으로 하는 경우에, 이펙터 기능을 통한 세포 장애에 의한 암 세포의 세포사 유도를 촉진함으로써 치료 효과를 나타내는 IgG 포맷으로서 이용된다 (트라스투주맙, 리툭시맙 등). HLA-DR

을 표적으로 한 인간 IgG1 항체에서는, 인간 IgG1 에 구비된 항체의 CDC 활성에 의존하고, 투여 후의 게잡이 원숭이가 사망한 것이 보고되어 있어, 정상 장기에서도 발현하고 있는 분자를 표적으로 하는 항체 의약에서는, 이펙터 기능이 심각한 부작용을 일으킬 염려가 있다 (Tawara, T., J. Immunology, 2008, 2294-2298). 본 발명의 항체의 아이소타입으로서 IgG1 을 사용하는 경우에는, IgG1 항체는 변이를 갖고 있어도 되고, 정상 영역의 아미노산 잔기의 일부를 치환함으로써, 이펙터 기능을 조정하는 것이 가능하다 (WO88/007089, WO94/28027, WO94/29351 참조). 이펙터 기능을 감약시킨 IgG1 의 변이체로는, IgG1 LALA (IgG1-L234A, L235A), 1gG1 LAGA (IgG1-L235A, G237A) 등을 들 수 있다.

[0342] 인간 IgG2 란, 5 종 존재하는 인간 IgG 서브 클래스 중에서, 보체 결합을 통한 CDC 활성, 항체 의존적인 세포 장애 활성과 같은 이펙터 기능이 매우 약하고 (Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1351-1361, 1987), 치료용 항체로 정상 장기에 발현하는 분자를 표적으로 하는 경우에 이펙터 기능을 통한 세포 장애에 의한 독성을 회피하기 위한 IgG 포맷의 하나로서 이용된다 (데노스맙, 에볼로쿠맙, 브로달루맙).

[0343] 인간 IgG4 란, 5 종 존재하는 인간 IgG 서브 클래스 중에서, 보체 결합을 통한 CDC 활성, 항체 의존적인 세포 장애 활성과 같은 이펙터 기능이 매우 약하고 (Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1351-1361, 1987), 치료용 항체로 정상 장기에 발현하는 분자를 표적으로 하는 경우에 이펙터 기능을 통한 세포 장애에 의한 독성을 회피하기 위한 IgG 포맷의 하나로서 이용된다 (옵디보). 본 발명의 항체의 아이소타입으로서 IgG4 를 사용하는 경우에는, 정상 영역의 아미노산 잔기의 일부를 치환함으로써, IgG4 특유의 분할이 억제되고, 반감기를 연장하는 것이 가능하다 (Molecular Immunology, 30, 1 105-108 (1993) 참조).

[0344] 본 발명의 항체의 아이소타입으로서 IgG4 를 사용하는 경우, IgG4 항체는 변이를 갖고 있어도 된다. IgG4 의 변이체로는, EU 인덱스 (Proc Natl Acad Sci US A. 1969, 63 (1), 78-85 ; Kabat et. al., Sequences of proteins of immunological interest, 1991 Fifth edition) 에 의해 나타내는 234 위치의 페닐알라닌의 알라닌으로의 치환 (F234A) 및 235 위치의 류신의 알라닌으로의 치환 (L235A) 을 들 수 있다 (Parekh et al., mAbs, 310-318, 2012). 이와 같은 항체의 변이를 FALA 변이라고 부른다. IgG4PFALA 는, CH2 도메인에 존재하는 FcγRs (예를 들어, FcγRI, FcγRII 또는 FcγRIII 등) 와의 상호 작용에 필요한 아미노산 잔기 2 개를 알라닌으로 치환함으로써, 더욱 이펙터 기능을 감약시키고 있다. 또, IgG4 는 항체 중쇄간의 SS 결합의 형성이 안정되어 있지 않기 때문에, 안정성을 높이기 위해서, 항체 중쇄간의 SS 결합의 형성을 촉진시키는 변이를 도입한다. 이와 같은 변이로서, EU 인덱스에 의해 나타내는 228 위치의 세린의 프롤린으로의 치환 (S228P) 을 들 수 있다 (ANGAL et. al., Molecular Immunology, 105-108, 1993). 이 항체의 변이를 Pro 변이라고 부른다. 본 발명의 항체의 정상 영역에는, 상기의 FALA 변이 및 Pro 변이가 동시에 도입되어 있어도 된다 (Vafa et. al., Methods, 65, 114-126, 2014). FALA 변이를 갖는 IgG4 중쇄를 「IgG4FALA」 타입 중쇄라고 부르고, Pro 변이를 갖는 IgG4 중쇄를 「IgG4P」 타입 중쇄라고 부르고, FALA 변이 및 Pro 변이의 양방의 변이를 갖는 IgG4 중쇄를 「IgG4PFALA」 타입 중쇄라고 부른다.

[0345] 항체 중쇄 정상 영역은 CH1, 힌지, CH2 및 CH3 영역으로 이루어지고, CH1 은, EU 인덱스 118 내지 215, 힌지는 EU 인덱스 216 내지 230, CH2 는 EU 인덱스 231 내지 340, CH3 은 EU 인덱스 341 내지 446 으로 정의된다. EU 인덱스에 의해 나타내는, 228 위치의 세린으로부터 치환된 프롤린, 234 위치의 페닐알라닌으로부터 치환된 알라닌 및 235 위치의 류신으로부터 치환된 알라닌은, 각각, 인간 키메라 래트__CD147__#84 중쇄 IgG4PFALA 의 아미노산 서열을 나타내는 서열 번호 100 에 있어서 제 248 번째의 프롤린, 제 254 번째의 알라닌 및 제 255 번째의 알라닌, 인간 키메라 래트__CD147__#101 중쇄 IgG4PFALA 의 아미노산 서열을 나타내는 서열 번호 108 에 있어서 제 245 번째의 프롤린, 제 251 번째의 알라닌 및 제 252 번째의 알라닌, 인간 키메라 래트__CD147__#110 중쇄 IgG4PFALA 의 아미노산 서열을 나타내는 서열 번호 108 에 있어서 제 244 번째의 프롤린, 제 250 번째의 알라닌 및 제 251 번째의 알라닌에 상당한다.

[0346] 본 발명의 항체의 바람직한 아이소타입으로는, IgG1, IgG2, IgG4, IgG4P 또는, IgG4PFALA 를 들 수 있고, 특히 바람직하게는, IgG2, IgG4P 또는, IgG4PFALA 를 들 수 있고, 보다 더 바람직하게는, IgG2 또는 IgG4P 를 들 수 있다.

[0347] 또 본 발명의 항체는, 항체의 항원 결합부를 갖는 항체의 항원 결합 단편 또는 그 수식물이어도 된다. 항체를 파파인, 펩신 등의 단백질 분해 효소로 처리하거나, 혹은 항체 유전자를 유전자 공학적 수법에 의해 개변하여 적당한 배양 세포에 있어서 발현시킴으로써, 그 항체의 단편을 얻을 수 있다. 이와 같은 항체 단편 중에서, 항체 전체 길이 분자가 갖는 기능의 전부 또는 일부를 유지하고 있는 단편을 항체의 항원 결합 단편이라고 부를 수 있다. 항체의 기능으로는, 항원에 관련하는 시그널 전달의 활성화를 들 수 있다.

[0348] CD147 은, 적혈구를 비롯한 혈액 세포나 생존에 필수적인 정상 장기에서도 발현하고 있기 때문에 (Spring, et al., Eur. J. Immunol., 1997, 891-897), 항체에 부수하는 이펙터 기능을 이용한 항종양 효과는 부작용의 리스크가 높은 것으로 생각된다. 실제로 적혈구는, 항체 결합에 의해 생기는 이펙터 기능 (ADCC, CDC, ADCP) 에 감수성이 있는 것이 보고되어 있고 (Flegel, W., Transfusion, 2015, S47-S58), 적혈구에 대한 항체가 체내에서 증가함으로써 자기 면역성 용혈성 빈혈이 되는 것이 알려져 있다 (Gibson, J., Aust. N. Z. J. Med., 1988. 625-637). 본 발명의 항체는, 정상 세포에도 발현하는 CD147 을 표적으로 한 치료용 항체에 있어서, 심각한 부작용의 원인이 되는 ADCC 활성, ADCP 활성 또는 CDC 활성 중 어느 것, 혹은, 전부가 낮거나 또는 거의 검출되지 않는 것을 특징으로 한다.

[0349] 본 발명자들은, 항체의 이펙터 기능에 따르지 않고, CD147 의 세포 시그널 전달을 활성화함으로써 항종양 활성을 나타내는 인간 CD147 항체를 처음으로 알아냈다. 본 발명에 있어서의 항체가 유지하는 기능은, CD147 에 대한 결합 활성 및/또는 CD147 을 활성화하는 기능이다. 본 발명의 항체는, 바람직하게는 CD147 을 개재하는 하류의 관련 시그널 분자, 예를 들어, FAK, MEK, Erk, JAK/STAT, AKT 또는 MAP 키나아제 (MAPK) 혹은 이들의 더 하류의 관련 시그널 분자를 활성화한다. 본 발명의 항체는, 보다 바람직하게는, MAPK 또는 MAPK 의 하류의 분자를 활성화한다. MAPK 로서, 바람직하게는 p38MAPK 를 들 수 있다. MAPK 의 더 하류의 시그널 분자로는, 예를 들어, HSP27, cxcl8 또는 SMAD (예를 들어, SMAD2, SMAD3 또는 SMAD4, 바람직하게는, SMAD4) 를 들 수 있다. 「CD147 의 활성화」 로는, 예를 들어, p38MAPK 의 mRNA 발현량의 증가, p38MAPK 의 단백질 발현량의 증가, p38MAPK 의 인산화, HSP27 의 인산화 (예를 들어, HSP27 의 Ser82 의 인산화 또는 HSP27 의 Ser15 의 인산화), cxcl8 mRNA 발현량의 증가, cxcl8 단백질 발현량의 증가 또는 SMAD 시그널 활성화를 개재한 rhoB mRNA 발현량의 증가 또는 rhoB 단백질 발현량의 증가를 들 수 있다. 「CD147 의 활성화」 로서 바람직하게는, p38MAPK 의 단백질 발현량의 증가, p38MAPK 의 인산화, HSP27 의 인산화 (예를 들어, HSP27 의 Ser82 의 인산화 또는 HSP27 의 Ser15 의 인산화), cxcl8 mRNA 발현량의 증가 또는 SMAD 시그널 활성화를 개재한 rhoB mRNA 발현량의 증가를 들 수 있다.

[0350] SMAD2 또는 SMAD3 은, TGFβ 가 TGFβ 수용체 (TGFBR1/2) 에 결합했을 때에, TGFβ 수용체에 의해 인산화되고, SMAD4 와 헤테로 3량체를 형성하여, 핵내로 이행하고, 염색체 상의 SMAD DNA 결합 서열 (Smad binding element : SBE) 을 갖는 전사 조절 영역에 결합하고, 하류 유전자의 mRNA 발현을 정 (正) 혹은 부 (負) 로 제어하는 것이 알려져 있다 (미야조노, 일본 노년 의약회 잡지, 1999, 162-166). 따라서, SMAD4 의 활성화에는, SMAD2 또는 SMAD3 의 존재가 필요한 것으로 생각된다. SMAD2, SMAD3 및 SMAD4 는, TGFb 의존적으로 KLF5 의 발현량을 부로 제어하고 있다 (David et al., Cell, 2016, 164 (5), 1015-1030). SMAD4 가 손실되어 있는 췌장암 세포에서는, KLF5 유전자의 SMAD2, SMAD3 및 SMAD4 에 의한 억제 시그널이 해제되고, KLF5 단백질이 발현한다. SMAD4 가 손실되고, KLF5 가 발현하고 있으면 TGFb 의존적인 세포사의 시그널 (SOX4 의존적) 이 억제되는 것이 알려져 있다 (전술, David et al, Cell).

[0351] 본 발명자들은, 본 발명의 인간 CD147 항체가, p38MAPK 를 인산화하고 (도 21), HSP27 을 인산화하고 (도 20), cxcl8 의 발현을 증가시키는 것을 알아냈다 (도 22(b) 및 도 23(b)). 따라서, 본 발명의 항체 투여 전후로, 이들 분자 중의 적어도 어느 1 개의 유전자 발현 혹은 단백질 발현, 또는 인산화 상태가 변화하는지를 확인함으로써, 본 발명의 항체가, CD147 의 활성화를 개재하고 있는지 여부를 확인할 수 있다.

[0352] 또, 본 발명자들은, 본 발명의 인간 CD147 항체는, SMAD4 의 단백질이 발현하고 있는 췌장암 모델에 대해 약효를 나타내는 것 (도 25) ; 본 발명의 인간 CD147 항체는, SMAD4 에 유전자 변이가 있고, SMAD4 를 발현하고 있지 않는 BxPC-3 등의 췌장암 모델에서는, 항종양 효과는 부분적 (~ 30 % 정도) 인 것 (도 24) ; 그리고, 본 발명의 인간 CD147 항체를 투여한 후의 종양에서는, SMAD2, SMAD3 및 SMAD4 의 하류의 분자 (rhoB, 도 22(c) 및 도 23(c)) 가 유도되는 것을 알아냈다. 따라서, 본 발명의 항체 투여 전후로, rhoB 의 유전자 발현 또는 단백질 발현이 변화하는지 여부를 확인함으로써, 본 발명의 항체가, CD147 의 활성화를 개재하고 있는지 여부를 확인할 수 있다. 또, 환자 샘플에 있어서의 SMAD4 의 게놈 서열, 유전자 발현 또는 단백질 발현을 당업자에게 주지의 방법을 사용하여 측정하고, SMAD4 를 발현하고 있는 환자를 본 발명의 항체를 투여하는 대상 환자로서 선택하고, 본 발명의 항체를 투여할 수 있다.

[0353] 또, BxPC-3 등의 SMAD4 음성의 모델에서는, KLF5 의 발현이 높은 것이 알려져 있다 (David et al., Cell, 2016, 164 (5), 1015-1030). 본 발명의 인간 CD147 항체는, KLF5 를 발현시킨 MIA PaCa-2 의 모델에서, 감수성이 91 % 에서 20 % 로 저하되었다 (실시예 26). 이로부터, KLF5 가 발현함으로써, CD147 항체에 의해 유도되는 SMAD2, SMAD3 및 SMAD4 의존적인 세포사의 시그널이 억제되는 것으로 본 발명자들은 생각한다. 간암, ALL, 림프종, 소화관 간질 종양 (GIST), 피부암, 육종, AML 또는, 신장암은 KLF5 의 발현량이 낮고, 본 발

명의 인간 CD147 항체가 효과가 있는 환자가 많은 것이 예상된다. 또, 환자 샘플에 있어서의 KLF5 의 유전자 발현 또는 단백질 발현을 당업자에게 주지의 방법을 사용하여 측정하고, KLF5 의 발현이 저하 또는 결실되어 있는 환자를 본 발명의 항체를 투여하는 대상 환자로서 선택하여, 본 발명의 항체를 투여할 수 있다. 이 경우의 KLF5 발현의 저하의 정도는, 당업자에 의해 주지의 방법 및 적절한 임상 시험의 실시에 의해 결정될 수 있으며, 예를 들어, 효과가 얻어진 환자와 효과가 얻어지지 않은 환자에 있어서의 KLF5 의 발현량을 비교하여 적절한 임계값이 설정된다.

[0354] 예를 들어, 항체의 단편으로는, Fab, $F(ab')_2$, Fv, 또는 중쇄 및 경쇄의 Fv 를 적당한 링커로 연결시킨 싱글 체인 Fv (scFv), diabody (diabodies), 선상 항체, 및 항체 단편으로 형성된 다특이성 항체 등을 들 수 있다. 또, $F(ab')_2$ 를 환원 조건하에서 처리한 항체의 가변 영역의 1 가의 단편인 Fab' 도 항체의 단편에 포함된다.

[0355] 또한, 본 발명의 항체는 적어도 2 종류의 상이한 항원에 대하여 특이성을 갖는 다특이성 항체여도 된다. 통상적으로 이와 같은 분자는 2 종류의 항원에 결합하는 것이지만 (즉, 이중 특이성 항체 (bispecific antibody)), 본 발명에 있어서의 「다특이성 항체」 는, 그 이상 (예를 들어, 3 종류) 의 항원에 대하여 특이성을 갖는 항체를 포함하는 것이다.

[0356] 본 발명의 다특이성 항체는, 전체 길이로 이루어지는 항체, 또는 그러한 항체의 단편 (예를 들어, $F(ab')_2$ 이중 특이성 항체) 이어도 된다. 이중 특이성 항체는 2 종류의 항체의 중쇄와 경쇄 (HL 쌍) 를 결합시켜 제조할 수도 있고, 상이한 모노클로날 항체를 산생하는 하이브리도마를 융합시켜, 이중 특이성 항체 산생 융합 세포를 제조하는 것에 의해서도, 제조할 수 있다 (Millstein et al., Nature (1983) 305, p. 537-539).

[0357] 본 발명의 항체는 1 본쇄 항체 (scFv 라고도 기재한다) 여도 된다. 1 본쇄 항체는, 항체의 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역을 폴리펩티드의 링커로 연결함으로써 얻어진다 (Pluckthun, The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 113 (Rosenberg 및 Moore 편, Springer Verlag, New York, p. 269-315 (1994), Nature Biotechnology (2005), 23, p. 1126-1136). 또, 2 개의 scFv 를 폴리펩티드 링커로 결합시켜 제조되는 BiscFv 단편을 이중 특이성 항체로서 사용할 수도 있다.

[0358] 1 본쇄 항체를 제조하는 방법은 당 기술 분야에 있어서 주지이다 (예를 들어, 미국 특허 제4,946,778호, 미국 특허 제5,260,203호, 미국 특허 제5,091,513호, 미국 특허 제5,455,030호 등을 참조). 이 scFv 에 있어서, 중쇄 가변 영역과 경쇄 가변 영역은, 콘쥬게이트를 만들지 않는 링커, 바람직하게는 폴리펩티드 링커를 개재하여 연결된다 (Huston, J. S. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (1988), 85, p. 5879-5883). scFv 에 있어서의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은, 동일한 항체에서 유래해도 되고, 별개의 항체에서 유래해도 된다. 가변 영역을 연결하는 폴리펩티드 링커로는, 예를 들어 12 ~ 19 잔기로 이루어지는 임의의 1 본쇄 펩티드가 사용된다.

[0359] scFv 를 코드하는 DNA 는, 상기 항체의 중쇄 또는 중쇄 가변 영역을 코드하는 DNA, 및 경쇄 또는 경쇄 가변 영역을 코드하는 DNA 중, 그들의 서열 중 전부 또는 원하는 아미노산 서열을 코드하는 DNA 부분을 주형으로 하고, 그 양단을 규정하는 프라이머쌍을 사용하여 PCR 법에 의해 증폭하고, 이어서, 또한 폴리펩티드 링커 부분을 코드하는 DNA, 및 그 양단이 각각 중쇄, 경쇄와 연결되도록 규정하는 프라이머쌍을 조합하여 증폭함으로써 얻어진다.

[0360] 또, 일단 scFv 를 코드하는 DNA 가 제조되면, 그것들을 함유하는 발현 벡터, 및 그 발현 벡터에 의해 형질 전환된 숙주를 통상적인 방법에 따라서 얻을 수 있고, 또, 그 숙주를 사용함으로써, 통상적인 방법에 따라서 scFv 를 얻을 수 있다. 이들의 항체 단편은, 상기와 동일하게 하여 유전자를 취득하여 발현시키고, 숙주에 의해 산생시킬 수 있다.

[0361] 본 발명의 항체는, 다량화하여 항원에 대한 친화성을 높인 것이어도 된다. 다량화하는 항체로는, 1 종류의 항체여도 되고, 동일한 항원의 복수의 에피토프를 인식하는 복수의 항체여도 된다. 항체를 다량화하는 방법으로는, IgG CH3 도메인과 2 개의 scFv 의 결합, 스트렙토아비딘과의 결합, 헬릭스 턴-헬릭스 모티프의 도입 등을 들 수 있다.

[0362] 본 발명의 항체는, 아미노산 서열이 상이한 복수 종류의 항 CD147 항체의 혼합물인, 폴리클로날 항체여도 된다. 폴리클로날 항체의 일례로는, CDR 이 상이한 복수 종류의 항체의 혼합물을 들 수 있다. 그러한 폴리클로날 항체로는, 상이한 항체를 산생하는 세포의 혼합물을 배양하고, 그 배양물로부터 정제된 항체를 사용할 수 있다 (WO2004/061104 참조).

[0363] 본 발명의 항체는, 상기의 항체의 중쇄 및/또는 경쇄와 비교하여 80 % 내지 99 % 라는 동일성 (또는 상동성) 을 갖는 항체여도 된다. 상기의 중쇄 아미노산 서열 및 경쇄 아미노산 서열과 높은 상동성을 나타내는 서열을 조합함으로써, 상기의 각 항체와 동등한 항원 결합능, CD147 의 활성화, 바람직하게는, MAPK 의 활성화, MAPK의 하류 시그널 분자의 활성화를 갖는 항체를 선택하는 것이 가능하다. 이와 같은 상동성은, 일반적으로는 80 % 이상의 상동성이고, 바람직하게는 90 % 이상의 상동성이고, 보다 바람직하게는 95 % 이상의 상동성이며, 가장 바람직하게는 99 % 이상의 상동성이다. 또, 중쇄 및/또는 경쇄의 아미노산 서열에 1 내지 수 개의 아미노산 잔기가 치환, 결실 및/또는 부가된 아미노산 서열을 조합함으로써도, 상기의 각 항체와 동등한 각종 작용을 갖는 항체를 선택하는 것이 가능하다. 치환, 결실 및/또는 부가되는 아미노산 잔기수는, 일반적으로는 10 아미노산 잔기 이하이고, 바람직하게는 5 내지 6 아미노산 잔기 이하이고, 보다 바람직하게는 2 내지 3 아미노산 잔기 이하이고, 가장 바람직하게는 1 아미노산 잔기이다. 또한, 포유류 배양 세포에서 생산되는 항체의 중쇄의 카르복실 말단의 리신 잔기가 결실하는 것이 알려져 있음 (Tsubaki et. al., Int. J. Biol. Macromol, 139-147, 2013). 그러나, 이들 중쇄 서열의 결실 및 수식은, 항체의 항원 결합능 및 이펙터 기능 (보체의 활성화나 항체 의존성 세포 장애 작용 등) 에는 영향을 미치지 않는다. 따라서, 본 발명에는 당해 수식을 받은 항체도 포함되고, 중쇄 카르복실 말단에 있어서 1 또는 2 개의 아미노산이 결실된 결실체, 및 아미드화 된 당해 결실체 (예를 들어, 카르복실 말단 부위의 프롤린 잔기가 아미드화 된 중쇄) 등을 들 수 있다. 단, 항원 결합능 및 CD147 의 하류의 관련 시그널 분자를 활성화하는 기능이 유지되고 있는 한, 본 발명에 관련된 항체의 중쇄의 카르복실 말단의 결실체는 상기의 종류에 한정되지 않는다. 본 발명에 관련된 항체를 구성하는 2 개의 중쇄는, 완전 길이 및 상기의 결실체로 이루어지는 군에서 선택되는 중쇄 중 어느 1 종이어도 되고, 어느 2 종을 조합한 것이어도 된다. 각 결실체의 양비 (量比) 는 본 발명에 관련된 항체를 산생하는 포유류 배양 세포의 종류 및 배양 조건에 영향을 받을 수 있지만, 본 발명에 관련된 항체의 주성분으로는 2 개의 중쇄의 쌍방에서 카르복실 말단의 하나의 아미노산 잔기가 결실하고 있는 경우를 들 수 있다.

[0364] 2 종류의 아미노산 서열간의 상동성은, Blast algorithm version 2.2.2 (Altschul, Stephen F., Thomas L. Madden, Alejandro A. Schaffer, Jinghui Zhang, Zheng Zhang, Webb Miller, and David J. Lipman (1997), 「Gapped BLAST and PSI-BLAST : a new generation of protein database search programs」, Nucleic Acids Res. 25 : 3389-3402) 의 디폴트 패러미터를 사용함으로써 결정할 수 있다. Blast algorithm 은, 인터넷에서 www. ncbi. nlm. nih. gov/blast 에 액세스 함으로써도 사용할 수 있다. 또한, 상기의 Blast algorithm 에 의해 Identity (또는 Identities) 및 Positivity (또는 Positivities) 의 2 종류의 퍼센티지의 값이 계산된다. 전자는 상동성을 요구해야 할 2 종류의 아미노산 서열 사이에서 아미노산 잔기가 일치했을 경우의 값이며, 후자는 화학 구조가 유사한 아미노산 잔기도 고려한 수치이다. 본 명세서에 있어서는, 아미노산 잔기가 일치하고 있는 경우의 Identity (동일성) 의 값을 가지고 상동성의 값으로 한다.

[0365] 항체의 수식물로서, 폴리에틸렌글리콜 (PEG) 등의 각종 분자와 결합한 항체를 사용할 수도 있다.

[0366] 본 발명의 항체는, 또한 이들 항체와 다른 약제가 콘쥬게이트를 형성하고 있는 것 (Immunoconjugate) 이어도 된다. 이와 같은 항체의 예로는, 그 항체가 방사성 물질이나 약리 작용을 갖는 화합물과 결합하고 있는 것을 들 수 있다 (Nature Biotechnology (2005) 23, p. 1137-1146).

[0367] 얻어진 항체는, 균일하게까지 정제할 수 있다. 항체의 분리, 정제는 통상적인 단백질에서 사용되고 있는 분리, 정제 방법을 사용하면 된다. 예를 들어 칼럼 크로마토그래피, 필터 여과, 한외 여과, 염석, 투석, 조제용 폴리아크릴아미드 겔 전기 영동, 등전점 전기 영동 등을 적절히 선택, 조합하면, 항체를 분리, 정제할 수 있지만 (Strategies for Protein Purification and Characterization : A Laboratory Course Manual, Daniel R. Marshak et al. eds., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1996) ; Antibodies : A Laboratory Manual. Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory (1988)), 이들에 한정되는 것은 아니다.

[0368] 크로마토그래피로는, 어피니티 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 흡착 크로마토그래피 등을 들 수 있다.

[0369] 이들 크로마토그래피는, HPLC 나 FPLC 등의 액체 크로마토그래피를 사용하여 실시할 수 있다.

[0370] 어피니티 크로마토그래피에 사용하는 칼럼으로는, 프로테인 A 칼럼, 프로테인 G 칼럼을 들 수 있다.

[0371] 예를 들어 프로테인 A 칼럼을 사용한 칼럼으로서, Hyper D, POROS, Sepharose F. F. (GE 헬스케어) 등을 들 수 있다.

[0372] 또 항원을 고정화한 담체를 사용하여, 항원에 대한 결합성을 이용하여 항체를 정제하는 것도 가능하다.

[0373] (항 CD147 항체를 함유하는 의약)

[0374] 상기 서술한 「항 CD147 항체의 제조」 의 항에 기재된 방법으로 얻어지는 항 CD147 항체 중에서, 본 발명의 항 CD147 항체를 얻을 수 있다. 이와 같이 하여 얻어진 항체는, 종양 및/또는 암의 치료 및/또는 예방제로서 사용할 수 있다. 본 발명의 항 CD147 항체는, 우수한 항종양 활성을 갖고, 종양 또는 암의 치료약으로서 유용하다. 본 발명의 항 CD147 항체는, 겜시타빈 내성 암 세포나 솔라페닙 저감수성 암 세포에 대해서도 우수한 항종양 효과를 나타내었다. 본 발명의 항 CD147 항체는, 만성 골수성 백혈병 세포에 있어서, 이마티닙보다 현저하게 강한 약효를 나타내었다.

[0375] 본 발명의 항 CD147 항체 또는 그 항체를 함유하는 의약에 의해 치료될 수 있는 종양으로는, CD147 을 발현하는 종양이면 특별히 한정되지 않지만, 바람직하게는, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 유방암, 자궁암, 난소암, 폐암, 갑상선암, 피부암, 두경부암, 육종, 전립선암, 방광암, 뇌종양, 소화관 간질 종양 (GIST), 백혈병 (예를 들어, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 또는 만성 림프성 백혈병 (CLL) 또는 급성 림프성 백혈병 (ALL)), 림프종 또는 악성 림프종 (예를 들어, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)) 을 들 수 있고, 보다 바람직하게는, 췌장암, 간암, 위암, 대장암, 신암, 백혈병, 급성 골수성 백혈병 (AML), 만성 골수성 백혈병 (CML), 만성 림프성 백혈병 (CLL), 급성 림프성 백혈병 (ALL), 악성 림프종, B 세포 림프종, 비호지킨 림프종 또는 미만성 대세포형 B 세포 림프종 (DLBCL) 을 들 수 있다.

[0376] 또, 본 발명의 항체 또는 그 항체를 함유하는 의약에 의해 치료될 수 있는 종양으로는, SMAD 양성의 CD147 을 발현하는 종양을 들 수 있고, SMAD 양성의 CD147 을 발현하는 종양으로는, 예를 들어, SMAD 양성의 CD147 을 발현하는 간암 또는 췌장암을 들 수 있다. 본 발명의 항 CD147 항체 또는 그 항체를 함유하는 의약은, 바람직하게는, CD147 및/또는 SMAD 의 발현이 확인된 환자에게 투여된다. SMAD 로는, 바람직하게는, SMAD2, SMAD3 및/또는 SMAD4 를 들 수 있고, 보다 바람직하게는 SMAD4 를 들 수 있다. 바람직하게는, SMAD4 의 발현 확인에 맞추어, SMAD2 또는 SMAD3 중의 적어도 어느 1 개가 발현하고 있는 것이 확인된다.

[0377] 혹은, 본 발명의 항체 또는 그 항체를 함유하는 의약에 의해 치료될 수 있는 종양으로는, KLF5 의 발현이 저하 또는 결실된 종양을 들 수 있고, KLF5 의 발현이 저하 또는 결실된 종양으로는, 간암, ALL, 림프종, 소화관 간질 종양 (GIST), 피부암, 육종, AML 또는 신장암을 들 수 있다. 본 발명의 항 CD147 항체 또는 그 항체를 함유하는 의약은, 바람직하게는, KLF5 의 발현이 저하 또는 결실이 확인된 환자에게 투여된다.

[0378] 본 발명의 항 CD147 항체는, 치료 목적에 따라, 2, 3 혹은 그 이상의 다른 치료제를 투여할 수도 있고, 그들의 다른 치료제는 동일한 제제 중에 봉입함으로써 동시에 투여할 수 있다. 다른 치료제와 항 CD147 항체는 동일한 제제 중에 봉입함으로써 동시에 투여할 수도 있다. 또, 항 CD147 항체와 다른 치료제를 별개의 제제에 봉입하여 동시에 투여할 수도 있다. 또한, 다른 약제와 항 CD147 항체를 잇달아 따로 따로 투여할 수도 있다. 즉, 다른 치료제를 투여한 후에 항 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편을 유효 성분으로서 함유하는 치료제를 투여하거나, 혹은 항 CD147 항체 또는 그 항체의 항원 결합 단편을 유효 성분으로서 함유하는 치료제를 투여한 후에 다른 치료제를 투여해도 된다.

[0379] 본 발명은, 치료 및/또는 예방에 유효한 양의 항 CD147 항체와 약학상 허용되는 희석제, 담체, 가용화제, 유화제, 보존제 및/또는 보조제를 포함하는 의약 조성물도 제공한다.

[0380] 본 발명은, 치료 및/또는 예방에 유효한 양의 항 CD147 항체와 치료 및/또는 예방에 유효한 양의 적어도 하나의 항종양 치료제와 약학상 허용되는 희석제, 담체, 가용화제, 유화제, 보존제 및/또는 보조제를 포함하는 의약 조성물도 제공한다.

[0381] 본 발명의 의약 조성물에 있어서 허용되는 제제에 사용하는 물질로는 바람직하게는 투여량이나 투여 농도에 있어서, 의약 조성물이 투여되는 인간에 대하여 비독성의 것이 바람직하다.

[0382] 본 발명의 의약 조성물은, pH, 삼투압, 점도, 투명도, 색, 등장성, 무균성, 안정성, 용해율, 서방율, 흡수율, 침투율을 바꾸거나, 유지하거나 하기 위한 제제용의 물질을 포함할 수 있다. 제제용의 물질로서 이하의 것을 들 수 있지만, 이들에 제한되지 않는다 : 글리신, 알라닌, 글루타민, 아스파라긴, 아르기닌 또는 리신 등의 아미노산류, 항균제, 아스코르브산, 황산나트륨 또는 아황산수소나트륨 등의 항산화제, 인산, 시트르산, 붕산 버퍼, 탄산수소나트륨, 트리스-염산 (Tris-Hcl) 용액 등의 완충제, 만니톨이나 글리신 등의 충전제, 에틸렌디아민4아세트산 (EDTA) 등의 킬레이트제, 카페인, 폴리비닐피롤리딘, β-시클로덱스트린이나 하이드록시프로필-β-시클로덱스트린 등의 착화제, 글루코오스, 만노오스 또는 덱스트린 등의 증량제, 단당류, 이당류 등의 다른 탄

수화물, 착색제, 향미제, 희석제, 유화제나 폴리비닐피롤리딘 등의 친수 폴리머, 저분자량 폴리펩티드, 염 형성 카운터 이온, 염화벤즈알코늄, 벤조산, 살리실산, 티메로살, 페네틸알코올, 메틸파라벤, 프로필파라벤, 클로렉시딘, 소르빈산 또는 과산화수소 등의 방부제, 글리세린, 프로필렌·글리콜 또는 폴리에틸렌글리콜 등의 용매, 만니톨 또는 소르비톨 등의 당 알코올, 현탁제, 소르비탄에스테르, 폴리소르베이트 20 이나 폴리소르베이트 80 등의 폴리소르베이트, 트리톤 (triton), 트로메타민 (tromethamine), 레시틴 또는 콜레스테롤 등의 계면 활성제, 수크로오스나 소르비톨 등의 안정화 증강제, 염화나트륨, 염화칼륨이나 만니톨·소르비톨 등의 탄성 증강제, 수송제, 부형제, 및/또는 약학상의 보조제. 이들 제제용 물질의 첨가량은, 항 CD147 항체의 중량에 대하여 0.01 ~ 100 배, 특히 0.1 ~ 10 배 첨가하는 것이 바람직하다. 제제 중의 적합한 의약 조성물의 조성은 당업자에 의해, 적용 질환, 적용 투여 경로 등에 따라 적절히 결정할 수 있다.

[0383] 의약 조성물 중의 부형제나 담체는 액체여도 되고 고체여도 된다. 적당한 부형제나 담체는 주사용의 물이나 생리 식염수, 인공 뇌척수액이나 비경구 투여에 통상적으로 사용되고 있는 다른 물질이어도 된다. 중성의 생리 식염수나 혈청 알부민을 포함하는 생리 식염수를 담체에 사용할 수도 있다. 의약 조성물에는 pH 7.0-8.5 의 Tris 버퍼, pH 4.0-5.5 의 아세트산 버퍼, pH 3.0-6.2 의 시트르산 버퍼를 포함할 수 있다. 또, 이들 버퍼에 소르비톨이나 다른 화합물을 포함할 수도 있다. 본 발명의 의약 조성물에는 항 CD147 항체를 포함하는 의약 조성물 그리고, 항 CD147 항체 및 적어도 하나의 항종양 치료제를 포함하는 의약 조성물을 들 수 있으며, 본 발명의 의약 조성물은 선택된 조성과 필요한 순도를 갖는 약제로서, 동결 건조품 혹은 액체로서 준비된다. 항 CD147 항체를 포함하는 의약 조성물 그리고, 항 CD147 항체 및 적어도 하나의 항암제 치료제를 포함하는 의약 조성물은 수크로오스와 같은 적당한 부형제를 사용한 동결 건조품으로서 성형될 수도 있다.

[0384] 본 발명의 의약 조성물은 비경구 투여용으로 조제할 수도 있고, 경구에 의한 소화관 흡수용으로 조제할 수도 있다. 제제의 조성 및 농도는 투여 방법에 의해 결정할 수 있다. 본 발명의 항체를 인간에 대해 투여할 때에는, 약 0.1 ~ 100 ㎎/㎏ 을 1 ~ 180 일간에 1 회 또는 복수 회 투여하면 된다. 그러나, 투여량이나 투여 횟수는, 일반적으로, 환자의 성별, 체중, 연령, 증상, 위중도, 부작용 등을 고려하여 결정되어야 할 것이므로, 상기의 용량이나 용법에는 한정되지 않는 것으로 한다.

[0385] 본 발명의 의약 조성물의 형태로는, 점적 (点滴) 을 포함하는 주사제, 좌제, 경비제, 설하제, 경피 흡수제 등을 들 수 있다. 투여 경로는, 경구 경로 또는 비경구 경로이며, 비경구 경로에는, 예를 들어, 정맥내, 동맥내, 근육내, 직장내, 경점막내, 피내 (皮內) 등의 경로를 들 수 있다.

[0386] 본 발명의 항체 혹은 당해 항체의 항원 결합 단편, 이들을 포함하는 약물 복합체, 이들을 포함하는 바이스페시픽 항체 또는 이들을 함유하는 의약 조성물은, 이들이 투여되는 환자 선별을 위한 바이오 마커와 조합하여 제공될 수 있다. 이들의 항체나 의약 조성물은, 바이오 마커를 검출하는 수단과 조합하여 키트로서 제공되고 있어도 되고, 항체나 의약 조성물의 제공과 바이오 마커의 제공은 별개여도 된다. 바이오 마커를 사용함으로써, 본 발명의 항체나 의약 조성물은, 본 발명의 항체의 효과가 보다 높게 기대되는 환자군에게 투여될 수 있다.

[0387] 본 발명은, 암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 포함되는 SMAD4 의 발현 또는 KLF5 의 발현을 측정하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자를, 본 발명의 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 본 발명의 의약 조성물에 의한 암의 치료에 대한 응답성이 있다고 판정하는 것을 포함하는, 암의 치료에 대한 응답성을 예측하는 방법 ; 암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 있어서의 SMAD4 의 발현 또는 KLF5 의 발현을 검출하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자를, 본 발명의 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 본 발명의 의약 조성물에 의한 암 치료 대상자로서 선별하는 것을 포함하는, 암의 치료 대상을 선별하는 방법 ; 암환자 유래의 생물학적 시료를 사용하고, 그 생물학적 시료 중에 포함되는 SMAD4 의 발현 또는 KLF5 의 발현을 검출하고, SMAD4 가 검출된 환자 또는 KLF5 의 발현 저하 혹은 결실이 검출된 환자에 대하여, 본 발명의 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 본 발명의 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 암의 치료 방법 ; 혹은, 본 발명의 항체 혹은 당해 항체의 기능성 단편 또는 본 발명의 의약 조성물에 의한 암의 치료에 대한 응답성을 판정하기 위한 키트로서, 암환자 유래의 생물학적 시료 중의 SMAD4 의 발현 또는 KLF5 의 발현을 검출하는 수단을 적어도 포함하는, 키트에 관한 것이다.

[0388] 본 명세서에 있어서 「생물학적 시료」 는, 개체로부터 단리된 조직, 액체, 세포, 및 그들의 혼합물을 말하며, 예를 들어 종양 생검, 수액 (髓液), 흉강내액, 복강내액, 림프액, 피부 절편, 혈액, 요 (尿), 분변, 담, 호흡기, 장관, 요 생식기관, 타액, 젖, 소화 기관, 및 이들로부터 채취된 세포를 들 수 있지만, 이들에 한정되

지 않는다. 「생물학적 시료」 는, 암 세포를 포함하는 시료인 것이 바람직하고, 보다 바람직하게는 절제나 생검에 의해 얻어진 조직이나 세포, 혹은 흉강 내액이나 복강 내액에서 유래하는 세포를 예시할 수 있다. 더욱 바람직한 생물학적 시료는, 암 세포 또는 암 조직을 포함하는 시료이다.

[0389] 「SMAD4 의 발현」 의 검출이나 측정은, SMAD4 의 게놈 서열, 유전자 발현 또는 단백질 발현을 당업자에게 주지의 방법을 사용하여 실시할 수 있고, 예를 들어, RNA 시퀀스, 마이크로 어레이, 게놈 시퀀스, 이뮤노 어세이를 들 수 있다.

[0390] 「KLF5 의 발현」 의 검출이나 측정은, KLF5 의 게놈 서열, 유전자 발현 또는 단백질 발현을 당업자에게 주지의 방법을 사용하여 검출할 수 있으며, 예를 들어, IHC, RNA 시퀀스, 마이크로 어레이, 게놈 시퀀스, 이뮤노 어세이를 들 수 있다. 「KLF5 의 발현 저하」 란, 대조 (예를 들어, 정상인이나 동일 환자의 비암 조직에 있어서의 발현 레벨) 와의 비교에 있어서, 그것보다 발현 레벨이 낮은 것을 말한다. 혹은, 본 발명의 항체 또는 의약 조성물에 의한 암의 치료에 대한 응답성이 있다고 판정할 수 있는 KLF5 발현의 저하의 정도는, 당업자에 의해 주지의 방법 및 적절한 임상 시험의 실시에 의해 결정될 수 있으며, 예를 들어, 효과가 얻어진 환자와 효과가 얻어지지 않은 환자에 있어서의 KLF5 의 발현량을 비교하여 적절한 임계값이 설정된다. 따라서, 「KLF5 의 발현 저하」 란, 예를 들어, 이와 같이 하여 설정된 임계값보다 아래인 것을 말한다.

[0391] 실시예

[0392] 이하에 나타내는 실시예에 의해 본 발명을 구체적으로 설명하는데, 본 발명은 이들에 한정되는 것은 아니다. 또, 이들은 어떠한 의미에 있어서도 한정적으로 해석되는 것은 아니다. 또한, 하기 실시예에 있어서 유전자 조작에 관한 각 조작은 특별히 명시가 없는 한, 「몰레큘러 클로닝 (Molecular Cloning)」 (Sambrook, J., Fritsch, E. F. 및 Maniatis, T. 저, Cold SpringHarbor Laboratory Press 에서 1989년 발간) 에 기재된 방법 및 그 밖의 당업자가 사용하는 실험서에 기재된 방법에 의해 실시하거나, 또는, 시판되는 시약이나 키트를 사용하는 경우에는 시판품의 지시서에 따라서 실시하였다. 또, 본 명세서에 있어서, 특별히 기재된 없는 시약, 용매 및 출발 재료는, 시판되는 공급원으로부터 용이하게 입수 가능하다. 본 실시예에 있어서, 인간 췌장주 MIA PaCa-2 는, ATCC, Cat. CRL-1420 을 사용하고, 인간 췌장암 세포주 PANC-1 은, ATCC, Cat. CRL-1469 를 사용하였다.

[0393] (실시예 1) 세포 면역에 의한 마우스·래트 항체의 제조

[0394] 1)-1 CD147 발현 벡터의 제조

[0395] 시판되는 인간 CD147 유전자 (BSG variant2/CD147v2) 의 클론 IOH3378 (인비트로젠사) 과 포유류 세포용 발현 벡터 pcDNA-DEST40 (인비트로젠사) 을 Gateway LR 클로나아제를 사용하여 반응시켜, 인간 CD147v2 발현 벡터 (pcDNA-DEST40-CD147v2) 를 제조하였다.

[0396] 시판되는 인간 CD147 유전자 (BSG variant1/CD147v1) 의 포유류 세포용 발현 벡터 pCMV6-XL5-hBSGv1 (Origene 사, Cat. SC303059) 을 구입하고, 인간 CD147v1 발현 벡터로 하였다.

[0397] 게잡이 원숭이 CD147 발현 벡터로서, pCMV3-cynoBSG (Sino Biological Inc., Cat. CG90636-UT) 를 구입하였다.

[0398] 마우스 CD147v2 발현 벡터로서, pCMV3-mBSGv2 (Sino Biological Inc., Cat. MG50332-UT) 를 구입하였다.

[0399] 1)-2 마우스 하이브리도마의 제조

[0400] 4 ~ 6 주령의 BALB/cAnNCrlCrlj 마우스 (닛폰 찰스·리버사) 를 사용하였다. 0 일째, 7 일째, 15 일째 및 24 일째에 베르센 (Thermo Fisher Scientific 사) 으로 벗긴 5 × 10^6 개의 LNCaP 세포 (ATCC, CRL-1740) 를 PBS 에 현탁하여 등부 피하에 투여하였다. 31 일째에 동일한 세포를 5 × 10^6 개 정맥 투여하고, 같은 날에 비장을 채취하고 하이브리도마 제조에 사용하였다. 비장 세포와 마우스 미엘로마 P3X63Ag8U.1 세포 (ATCC, CRL-1597) 를 PEG4000 (IBL 사) 을 사용하여 세포 융합하여 하이브리도마를 제조하였다. 하이브리도마의 단리, 배양에는, ClonaCell-HY Medium D (STEMCELL TECHNOLOGIES 사), ClonaCell-HY Medium E (STEMCELL TECHNOLOGIES 사) 를 사용하였다.

[0401] 1)-3 래트 하이브리도마의 제조

[0402] 7 주령의 WKY/Izm (닛폰 에스엘씨 주식회사) 을 사용하였다. 인간 췌장암 세포주 PANC-1 을 1 × 10^7 개, 둔부에 면역하고 13 일 후에 장골 림프절 세포를 채취하고 하이브리도마 제조에 사용하였다. 래트 비장 세

포와 마우스 미엘로마 SP2/0-Ag14 세포 (ATCC, CRL-1581) 를 LF301 세포 융합 장치 (주식회사 벡스) 를 사용하여 세포 융합하고 하이브리도마를 제조하였다. 하이브리도마의 단리, 배양에는, ClonaCell-HY Medium D (STEMCELL TECHNOLOGIES 사), ClonaCell-HY Medium E (STEMCELL TECHNOLOGIES 사) 를 사용하였다.

[0403] 1)-4 ELISA 에 의한 항원 동정

[0404] 인간 CD147Fc 융합 단백질 (Sino Biological 사, Cat. 10186-H02H) 과 마우스 CD147Fc 융합 단백질 (Sino Biological 사, Cat. 50332-M03H) 을 사용하였다. 인간 CD147Fc 융합 단백질과 마우스 CD147Fc 융합 단백질은, PBS 완충액을 첨가하여, 빙상 (氷上) 에서 용해하고, 1 ㎍/㎖ 로 조제하였다. 동 (同) 단백질 용해액을 96 웰 플레이트 (NUNC 사, Cat. 442404) 에 100 ㎕ 첨가하고, 4 ℃ 하룻밤 보존하고, 웰을 CD147Fc 융합 단백질로 코트하였다. 단백질 용해액을 제거하고, 1 % BSA (Research Organics 사, Cat. 1334A) 를 포함하는 PBS 완충액으로 웰을 4 ℃, 2 시간 블로킹하였다. 0.05 % 트윈20 (ATTO 사, Cat. WSE-7235) 을 포함하는 PBS 완충액으로 웰을 3 회 세정한 후, 실시예 1)-2, 1)-3 에서 조제한 하이브리도마 배양 상청을 PBS 완충액으로 20 배로 희석하고 각 웰에 첨가하고 실온에서 1 시간 가온하였다. 0.05 % 트윈20 (ATTO 사, Cat. WSE-7235) 을 포함하는 PBS 완충액으로 웰을 3 회 세정한 후, 1 % BSA 를 포함하는 PBS 완충액으로 50000 배로 희석한 항 래트-Fab2-igG-HRP (Jackson ImmunoResearch 사, Cat. 112-036-072) 를 100 ㎕ 첨가하고 30 분간, 실온에서 흔들었다. 0.05 % 트윈20 (ATTO 사, Cat. WSE-7235) 을 포함하는 PBS 완충액으로 웰을 5 회 세정한 후, 100 ㎕ 의 HRP 효소 발색 시약 (eBioscience 사, Super AquaBlue ELISA substrate, Cat. 00-4203) 을 첨가하고, 10 ~ 20 분 실온에서 가온하고, 플레이트 리더 (Envision, 퍼킨엘머사) 로 405 ㎚ 의 흡광도를 측정하였다. 2 ~ 3 웰의 흡광도의 측정값에 대해 평균값을 산출하고, 1 차 항체 없는 대조 웰에서의 측정값의 2 배 이상의 흡광도가 관찰된 항체에 대해 결합성 있음 (+), 2 배에 미치지 않는 것을 결합성 없음 (-) 으로 판정하고 표 1 에 정리하였다. LN22R8, 2P1A6, 2P3A9, 2P3G8, 2P8C12, 2P10F2, 2P2D7, 2P2D10, 2P1B7 의 배양 상청에 대해, 인간 CD147Fc 융합 단백질 코트 웰 특이적인 발색을 확인하였다. LN24R7, 2P5F5, 2P6A2, 2P3G8 에 대해서는, 인간 및 마우스 CD147Fc 융합 단백질 코트 웰 특이적인 발색을 확인하였다.

표 1

	BSA	hCD147	mCD147
LN22R8	-	+	-
LN24R7	-	+	+
2P1A6	-	+	-
2P3A7	-	-	-
2P3A9	-	+	-
2P3E12	-	-	-
2P3G5	-	-	-
2P5E2	-	-	-
2P5F5	-	+	+
2P6A2	-	+	+
2P6C9	-	-	-
2P6H2	-	-	-
2P7B8	+	+	-
2P7D6	-	-	-
2P8B12	-	-	-
2P8C12	-	+	-
2P9A12	+	+	+
2P9B10	-	-	-
2P10E6	-	-	-
2P10F2	-	+	-
2P10H2	+	+	+
2P2D7	-	+	-
2P2D10	-	+	-
2P2E6	-	-	-
2P2H8	-	-	-
2P1B7	-	+	-
2P3A9	-	-	-
2P3G8	-	+	+

[0405]

[0406] 1)-5 모노클로날 항체의 조제와 항체 아이소타입의 결정

[0407] 실시예 1)-4 에서 항인간 CD147 항체 산생이 확인된 하이브리도마에서, 안정적으로 배양 가능한 것에 대해, 시판되는 Isotyping 키트를 사용하여, 배양 상청에 포함되는 항체의 아이소타입을 결정하고 표 2 에 나타내었다.

CL-1000 플라스크 (닛폰 벡톤·디킨슨 주식회사) 를 사용하여, 이들 하이브리도마를 배양하고, 모노클로날 항체를 포함하는 하이브리도마 배양 상청을 조제하였다.

표 2

세포 면역으로부터 취득한 CD147 항체

항체	아이소타입
LN22R8	마우스 IgG3
2P1A6	래트 IgG2a/κ
2P1B7	래트 IgG2a/κ
2P2D6	래트 IgG2a/κ
2P3G8	래트 IgG2b/κ
2P2D7	래트 IgG2a/κ
2P2D10	래트 IgG2b/κ
2P8C12	래트 IgG2a/κ
2P10F2	래트 IgG2b/κ

[0408]

[0409] 1)-6 모노클로날 항체의 정제

[0410] 실시예 1)-5 에서 제조한 배양 상청으로부터 항체를 정제하였다. 항인간 CD147 마우스 모노클로날 항체에 대해서는, rProtein A 어피니티 크로마토그래피 (4 ~ 6 ℃ 하) 1 단계 공정으로 정제하였다. rProtein A 어피니티 크로마토그래피 정제 후의 버퍼 치환 공정은 4 ~ 6 ℃ 하에서 실시하였다. 최초로 배양 상청을 PBS 로 평형화한 MabSelectSuRe (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 가 충전된 칼럼에 어플라이하였다. 배양액이 칼럼에 모두 들어간 후, 칼럼 용량 2 배 이상의 PBS 로 칼럼을 세정하였다. 다음으로 2M 아르기닌 염산염 용액 (pH 4.0) 으로 용출하고, 항체가 포함되는 획분을 모았다. 그 획분을 투석 (Thermo Scientific 사, Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette) 에 의해 HBSor (25 mM Histidine/5 % Sorbitol/pH 6.0) 으로의 액 치환을 실시하였다. Centrifugal UF Filter Device VIVASPIN20 (분획 분자량 UF10K, Sartorius 사, 4 ℃ 하) 으로 농축하고, IgG 농도를 4.9 ㎎/㎖ 로 조제하였다. 마지막으로 Minisart-Plus filter (Sartorius 사) 로 여과하고, 정제 샘플로 하였다.

[0411] 항인간 CD147 래트 모노클로날 항체에 대해서는, Protein G 어피니티 크로마토그래피 (4 ~ 6 ℃ 하) 1 단계 공정으로 정제하였다. Protein G 어피니티 크로마토그래피 정제 후의 버퍼 치환 공정은 4 ~ 6 ℃ 하에서 실시하였다. 최초로, PBS 로 평형화한 ProteinG (GE Healthcare Bioscience 사) 가 충전된 칼럼에 하이브리도마의 배양 상청을 어플라이하였다. 배양 상청액이 칼럼에 모두 들어간 후, 칼럼 용량 2 배 이상의 PBS 로 칼럼을 세정하였다. 다음으로 0.1 M 글리신/염산 수용액 (pH 2.7) 으로 용출하고, 항체가 포함되는 획분을 모았다. 모은 획분에 1M Tris-HCl (pH 9.0) 을 첨가하여 pH 7.0 ~ 7.5 로 조정한 후에, Centrifugal UF Filter Device VIVASPIN20 (분획 분자량 UF30K, Sartorius 사, 4 ~ 6 ℃ 하) 으로 HBSor (25 mM Histidine/5 % Sorbitol/pH 6.0) 로의 버퍼 치환을 실시함과 함께 농축을 실시하고, 항체 농도를 1 ㎎/㎖ 이상으로 조제하였다. 마지막으로 Minisart-Plus filter (Sartorius 사) 로 여과하고, 정제 샘플로 하였다.

[0412] 1)-7 in vivo 항종양 활성 측정에 의한 항체 스크리닝

[0413] 1×10^7 개의 인간 췌장주 PANC-1 을 PBS 로 현탁하고, NOD-scid 마우스 (닛폰 찰스·리버사, NOD. CB17-Prkdc <scid>/J) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 군나누기를 하고, 이식 27, 34, 41 일 후에 마우스 항 CD147 항체 (LN22R8), 래트 항 CD147 항체 (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2) 를 10 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 6). 이식 27, 34 일 후에 래트 항 CD147 항체 (2P2D6) 를 10 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 6). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0414] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0415] 결과를 도 1(a) ~ (c) 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다. 2P2D6 항체, 2P3G8 항체 및 2P2D10 항체의 결과를 도 1(a) 에 나타내었다. 최종 측정일인

이식 48 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율은, 10 ㎎/㎏ 투여군에서, 각각, 10 %, 45 % 및 40 % 였다. LN22R8 항체, 2P1A6 항체 및 2P1B7 항체의 결과를 도 1(b) 에 나타내었다. 최종 측정일인 이식 48 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율은, 10 ㎎/㎏ 투여군에서, 각각, 50 %, 26 % 및 24 % 였다. 2P8C12 항체 및 2P10F2 항체의 결과를 도 1(c) 에 나타내었다. 최종 측정일인 이식 48 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율은, 10 ㎎/㎏ 투여군에서, 각각, −2 % 및 62 % 였다.

[0416] 1)-8 CD147 항체의 종 교차성의 해석

[0417] CHO-K1 세포 (ATCC, CCL-61) 에 Lipofectamine 2000 (Thermofishers scientific 사, Cat. 11668-019) 을 사용하여, 실시예 1)-1 에서 제조한 pcDNA-DEST40-CD147v2, 또는 pCMV3-cynoBSG 를 도입하고, 1 일 후에 마우스 항 인간 CD147 항체 (LN22R8), 또는 래트 항인간 CD147 항체 (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2, 2P2D6), 10 ㎍/㎖ 로 처리하고, 항마우스 IgG-FITC (MP Biomedical 사, Cat. 554936) 또는, 항래트 IgG-PE (BD Biosciences 사, Cat. 550767) 를 사용하여 각 항체의 CD147 발현 CHO-K1 세포에 대한 결합을 형광 검출 가능하게 하였다. CHO-K1 세포의 인간과 게잡이 원숭이 CD147 발현은, 시판되는 항 CD147 항체 (MEM-M6/1, Ab serotec 사, Cat. MCA28822) 의 결합에 의해 형광 검출 가능하게 하였다. 상기의 세포에 대하여, 플로우 사이토미터 (CantoII, BD Bioscience 사) 의 측정을 실시하고, 도 2a ~ 2c 에 결과를 정리하였다. 도면의 세로축은 세포수를 나타내고, 가로축은 형광 시그널의 강도를 나타낸다.

[0418] 시판되는 항 CD147 항체 (MEM-M6/1), 마우스 항인간 CD147 항체 (LN22R8), 래트 항 CD147 항체 (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2, 2P2D6), 어느 항 CD147 항체도 인간 CD147 발현 CHO-K1 세포에 결합성을 나타냈다 (도 2a ~ 2c).

[0419] 시판되는 항 CD147 항체 (MEM-M6/1) 는 게잡이 원숭이 CD147 발현 CHO-K1 세포에 결합성을 나타냈지만, 마우스 항인간 CD147 항체 (LN22R8), 래트 항인간 CD147 항체 (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2, 2P2D6), 어느 CD147 항체도 게잡이 원숭이 CD147 발현 CHO-K1 세포에는 결합성을 나타내지 않았다 (도 2a ~ 2c).

[0420] 또한, 어느 항 CD147 항체도 마우스 CD147 발현 CHO-K1 세포에는 결합성을 나타내지 않았다 (데이터 미기재).

[0421] 1)-9 에피토프 해석

[0422] 에피토프 해석용의 인간 CD147 변이체 발현 벡터의 제조

[0423] 게잡이 원숭이와 인간의 CD147 의 아미노산 서열은, BLAST 검색 (https : /blast. ncbi. nlm. nih. gov/Blast. cgi) 의 결과, 81 % 가 동일하고, 한정된 아미노산의 차이가, CD147 항체 결합성의 에피토프 인식에 직접 영향을 미치고 있는 것으로 상정하고, 종간에서 상이한 아미노산 서열을 부분적으로 이식한 변이체를 사용한 항종양 에피토프의 추정을 진행시키기로 하였다. hCD147v1, v2 공통으로 포함되는 아미노산 서열을 대상으로 하여, 게잡이 원숭이와 인간의 CD147 에서의 서열 비교를 실시하고, 종간에서 상이한 아미노산 영역의 9 영역으로 분류하고, mu1 ~ mu9 로 하였다 (도 3). CD147 변이체 발현 벡터 제조와 세포막 상에 대한 발현 확인용으로 N 말단에 FLAG 서열을 도입한 인간 CD147variant2 의 cDNA 서열을 인공 합성하고, pcDNA3.1 벡터에 도입한 플라스미드, Signal-N-Flag-hCD147v2__pcDNA3.1 (Genscript 사에서 제조) 을 제조하였다. 또한 동 (同) 플라스미드의 인간 CD147 유전자에 게잡이 원숭이의 CD147 아미노산 서열 mu1 ~ mu9 에 대해, DNA 치환에 의한 아미노산 치환 변이로서 도입한 인간-게잡이 원숭이 키메라 CD147 발현 벡터 9 종, hCD147-mu1__pcDNA3.1, hCD147-mu2__pcDNA3.1, hCD147-mu3__pcDNA3.1, hCD147-mu4__pcDNA3.1, hCD147-mu5__pcDNA3.1, hCD147-mu6__pcDNA3.1, hCD147-mu7__pcDNA3.1, hCD147-mu8__pcDNA3.1, hCD147-mu9__pcDNA3.1 제조하였다 (Genscript 사에서 제조).

[0424] 1)-10 변이체를 사용한 항종양 에피토프 영역의 특정

[0425] 인간 CD147, 게잡이 원숭이 CD147 또는, 인간-게잡이 원숭이 키메라 CD147 발현 벡터 9 종의 발현 벡터를 CHO-K1 세포 (ATCC, CCL-61) 에 Lipofectamine 2000 (서모 사이언티픽사, Cat. 11668-019) 을 사용하여, 도입하고, 1 일 후에 항인간 CD147 마우스 항체 (LN22R8), 래트 항인간 CD147 항체 (2P1A6, 2P1B7, 2P3G8, 2P2D10, 2P8C12, 2P10F2, 2P2D6), 10 ㎍/㎖ 로 처리하고, 항마우스 IgG-PE (DAKO사, Cat. R480), 항래트 IgG-PE (BD 사, #550767) 를 사용하여 항 CD147 항체의 CD147 발현 CHO-K1 세포에 대한 결합을 조사하였다. CD147 단백질의 발현은, 시판되는 항FLAG 항체 (항 Flag M2, SIGMA 사, Cat. F4049-.2MG) 를 사용하여 확인하였다. 플로우 사이토미터 (CantoII, BD Bioscience 사) 의 측정을 실시하고, 표 3 에 결과를 정리하였다. 1 차 항체 미처리의 대조 세포와 비교하여, 10 배 이상의 형광 시그널의 증가가 확인된 샘플에 대해, 결합 양성 (+)

으로 판정하였다. 10 배 미만의 부분적인 형광 시그널의 증가가 확인된 샘플에 대해, 결합약 양성 (±) 으로 판정하였다. 1 차 항체 미처리의 대조 세포와 비교하여, 형광 시그널의 증가가 확인되지 않은 샘플에 대해, 결합 음성 (－) 으로 판정하였다.

[0426] 실시예 1)-7 에서 40 % 이상의 항종양 효과가 관찰된 항체 2P3G8, 2P10F2, 2P2D10, LN22R8 의 항체는, 모두 mu3 의 변이를 갖는 CD147 에 대한 결합성이 소실되어 있었다. 항종양 효과에 중요한 에프토프는 m3 영역인 것이 시사되었다.

표 3

	in vivo 항종양 효과	mock	pCMV3-cynoBSG	시그널-N-Flag-hCD147v2_pcDNA3.1	hCD147-mu1_pcDNA3.1	hCD147-mu2_pcDNA3.1	hCD147-mu3_pcDNA3.1	hCD147-mu4_pcDNA3.1	hCD147-mu5_pcDNA3.1	hCD147-mu6_pcDNA3.1	hCD147-mu7_pcDNA3.1	hCD147-mu8_pcDNA3.1	hCD147-mu9_pcDNA3.1
항 Flag M2	ND	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2P1A6	26%	-	±	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2P1B7	24%	-	-	+	-	+	±	+	+	+	+	+	+
2P3G8	45%	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
2P10F2	58%	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
2P8C12	8%	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2P2D10	40%	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
LN22R8	50%	-	-	+	±	+	-	-	+	+	+	+	±
MEM-M6/1	ND	-	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+

[0427]

[0428] 1)-11 LN22R8 과 2P10F2 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 결정

[0429] 1)-11-1 LN22R8 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 결정

[0430] 1)-11-1-1 LN22R8 항체 생산 하이브리도마의 총 RNA 의 조제

[0431] LN22R8 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 증폭하기 위해서, LN22R8 항체 산생 하이브리도마로부터 TRIzol

Reagent (Ambion 사) 를 사용하여 총 RNA 를 조제하였다.

[0432] 1)-11-1-2 5'-RACE PCR 에 의한 LN22R8 항체의 경쇄 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 증폭과 서열의 결정

[0433] 경쇄 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 증폭은, 실시예 1)-11-1-1 에서 조제한 총 RNA 의 약 1 μg 과 SMARTer RACE 5'/3' Kit (Clontech 사) 를 사용하여 실시하였다. LN22R8 항체의 경쇄 유전자의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 PCR 로 증폭하기 위한 프라이머로서, UPM (Universal Primer A Mix : SMARTer RACE 5'/3' Kit 에 부속), 및 공지된 마우스 경쇄의 정상 영역의 서열로부터 설계한 프라이머를 사용하였다.

[0434] 5'-RACE PCR 로 증폭한 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 플라스미드에 클로닝하고, 다음으로 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 시퀀스 해석을 실시하였다.

[0435] 결정된 LN22R8 항체의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 7 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 8 에 나타낸다. LN22R8 항체의 경쇄 가변 영역의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을, 각각, 서열 번호 11, 12 및 13 에 나타낸다.

[0436] 1)-11-1-3 5'-RACE PCR 에 의한 LN22R8 항체의 중쇄 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 증폭과 서열의 결정

[0437] 중쇄 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 증폭은, 실시예 1)-11-1-1 에서 조제한 총 RNA 의 약 1 μg 과 SMARTer RACE 5'/3' Kit (Clontech 사) 를 사용하여 실시하였다. LN22R8 항체의 중쇄 유전자의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 PCR 로 증폭하기 위한 프라이머로서, UPM (Universal Primer A Mix : SMARTer RACE 5'/3' Kit 에 부속), 및 공지된 마우스 중쇄의 정상 영역의 서열로부터 설계한 프라이머를 사용하였다.

[0438] 5'-RACE PCR 로 증폭한 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 플라스미드에 클로닝하고, 다음으로 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 시퀀스 해석을 실시하였다.

[0439] 결정된 LN22R8 항체의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 9 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 10 에 나타낸다. LN22R8 항체의 중쇄 가변 영역의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을, 각각, 서열 번호 14, 15 및 16 에 나타낸다.

[0440] 1)-11-2 2P10F2 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 결정

[0441] 실시예 1)-11-1 과 동일한 방법으로 실시하였다. 단, 경쇄 유전자의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 PCR 로 증폭하기 위한 프라이머로서, UPM (Universal Primer A Mix : SMARTer RACE 5'/3' Kit 에 부속), 및 공지된 래트 경쇄의 정상 영역의 서열로부터 설계한 프라이머를 사용하고, 중쇄 유전자의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 PCR 로 증폭하기 위한 프라이머로서, UPM (Universal Primer A Mix : SMARTer RACE 5'/3' Kit 에 부속), 및 공지된 래트 중쇄의 정상 영역의 서열로부터 설계한 프라이머를 사용하였다.

[0442] 결정된 2P10F2 항체의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 17 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 18 에 나타낸다. 2P10F2 항체의 경쇄 가변 영역의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을, 각각, 서열 번호 21, 22 및 23 에 나타낸다. 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 19 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 20 에 나타낸다. 2P10F2 항체의 중쇄 가변 영역의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을, 각각, 서열 번호 24, 25 및 26 에 나타낸다.

[0443] 1)-12 LN22R8 의 인간 키메라 항체 발현 벡터의 제조

[0444] 1)-12-1 인간 키메라 및 인간화 경쇄 발현 벡터 pCMA-LK 의 구축

[0445] 플라스미드 pcDNA3.3-TOPO/LacZ (Invitrogen 사) 를 제한 효소 XbaI 및 PmeI로 소화하여 얻어지는 약 5.4 kb 의 프래그먼트와, 서열 번호 27 에 나타내는 인간 경쇄 시그널 서열 및 인간 κ 사슬 정상 영역을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편을 In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사) 를 사용하여 결합하여, pcDNA3.3/LK 를 제조하였다.

[0446] pcDNA3.3/LK 로부터 네오마이신 발현 유닛을 제거함으로써 pCMA-LK 를 구축하였다.

[0447] 1)-12-2 인간 키메라 및 인간화 IgG1 타입 중쇄 발현 벡터 pCMA-G1 의 구축

[0448] pCMA-LK 를 XbaI 및 PmeI 로 소화하여 경쇄 시그널 서열 및 인간 κ 사슬 정상 영역을 없앤 DNA 단편과, 서열 번호 28 로 나타내는 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG1 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편을 In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사) 를 사용하여 결합하여, pCMA-G1 을 구축하였다.

[0449] 1)-12-3 인간 키메라 및 인간화 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터 pCMA-G2 의 구축

[0450] 서열 번호 29 로 나타내는 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG2 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편을 사용하여, 실시예 1)-12-2 와 동일한 방법으로 pCMA-G2 를 구축하였다.

[0451] 1)-12-4 인간 키메라 LN22R8 의 경쇄 발현 벡터의 구축

[0452] 실시예 1)-11-1-2 에서 얻어진 LN22R8 의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로 하여, In-fusion 클로닝용으로 설계한 프라이머로 PCR 을 실시함으로써 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 포함하는 DNA 단편을 증폭하였다. pCMA-LK 를 제한 효소 BsiWI 로 절단한 지점에, In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사)를 사용하여, 증폭한 DNA 단편을 삽입함으로써 인간 키메라 LN22R8 의 경쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 LN22R8 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 경쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 30 및 서열 번호 31 에 각각 나타낸다.

[0453] 1)-12-5 인간 키메라 LN22R8 의 IgG1 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0454] 실시예 1)-11-1-3 에서 얻어진 LN22R8 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로 하여, In-fusion 클로닝용으로 설계한 프라이머로 PCR 을 실시함으로써 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 포함하는 DNA 단편을 증폭하였다. pCMA-G1 을 제한 효소 BlpI 로 절단한 지점에, In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사)를 사용하여, 증폭한 DNA 단편을 삽입함으로써 인간 키메라 LN22R8 의 IgG1 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다.
인간 키메라 LN22R8 의 IgG1 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 32 및 서열 번호 33 에 각각 나타낸다.

[0455] 1)-12-6 인간 키메라 LN22R8 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0456] 실시예 1)-11-1-3 에서 얻어진 LN22R8 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로 하여, In-fusion 클로닝용으로 설계한 프라이머로 PCR 을 실시함으로써 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 포함하는 DNA 단편을 증폭하였다. pCMA-G2 를 제한 효소 BlpI 로 절단한 지점에, In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사)를 사용하여, 증폭한 DNA 단편을 삽입함으로써 인간 키메라 LN22R8 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다.
인간 키메라 LN22R8 의 IgG2 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 34 및 서열 번호 35 에 각각 나타낸다.

[0457] 1)-12-7 인간 키메라 LN22R8 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0458] 서열 번호 36 에 나타내는 인간 키메라 LN22R8 의 IgG4P 타입 중쇄의 아미노산 서열을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). 합성한 DNA 단편을 사용하여, 실시예 1)-12-2 와 동일한 방법으로 인간 키메라 LN22R8 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 LN22R8 의 IgG4P 타입 중쇄의 아미노산 서열을 서열 번호 37 에 나타낸다.

[0459] 1)-13 2P10F2 의 인간 키메라 항체 발현 벡터의 제조

[0460] 1)-13-1 인간 키메라 및 인간화 IgG1LALA 타입 중쇄 발현 벡터 pCMA-G1LALA 의 구축

[0461] 서열 번호 38 로 나타내는 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG1LALA 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편을 사용하여, 실시예 1)-12-2 와 동일한 방법으로 pCMA-G1LALA 를 구축하였다.

[0462] 1)-13-2 인간 키메라 및 인간화 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터 pCMA-G4P 의 구축

[0463] 서열 번호 39 로 나타내는 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG4P 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편을 사용하여, 실시예 1)-12-2 와 동일한 방법으로 pCMA-G4P 를 구축하였다.

[0464] 1)-13-3 인간 키메라 2P10F2 의 경쇄 발현 벡터의 구축

[0465] 실시예 1)-11-2 에서 얻어진 2P10F2 의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-4 와 동일한 방법으로 인간 키메라 2P10F2 의 경쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 2P10F2 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 경쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 40 및 서열 번호 41 에 각각 나타낸다.

[0466] 1)-13-4 인간 키메라 2P10F2 의 IgG1LALA 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0467] 실시예 1)-11-2 에서 얻어진 2P10F2 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, In-fusion 클로닝용으로 설계한 프라이머로 PCR 을 실시함으로써 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 포함하는

DNA 단편을 증폭하였다. pCMA-G1LALA 를 제한 효소 BlpI 로 절단한 지점에, In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사) 를 사용하여, 증폭한 DNA 단편을 삽입함으로써 인간 키메라 2P10F2 의 IgG1LALA 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 2P10F2 의 IgG1LALA 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 42 및 서열 번호 43 에 각각 나타낸다.

[0468] 1)-13-5 인간 키메라 2P10F2 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0469] 실시예 1)-11-2 에서 얻어진 2P10F2 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 2P10F2 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 2P10F2 의 IgG2 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 44 및 서열 번호 45 에 각각 나타낸다.

[0470] 1)-13-6 인간 키메라 2P10F2 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0471] 실시예 1)-11-2 에서 얻어진 2P10F2 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, In-fusion 클로닝용으로 설계한 프라이머로 PCR 을 실시함으로써 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 포함하는 DNA 단편을 증폭하였다. pCMA-G4P 를 제한 효소 BlpI 로 절단한 지점에, In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사) 를 사용하여, 증폭한 DNA 단편을 삽입함으로써 인간 키메라 2P10F2 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 2P10F2 의 IgG4P 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 46 및 서열 번호 47 에 각각 나타낸다.

[0472] 1)-14 LN22R8, 2P10F2 의 인간 키메라 항체의 생산과 조제

[0473] 1)-14-1 LN22R8, 2P10F2 의 인간 키메라 항체의 생산

[0474] FreeStyle 293F 세포 (Invitrogen 사) 는 매뉴얼에 따라서, 계대, 배양을 실시하였다. 대수 증식기의 1.2 × 10^9 개의 FreeStyle 293F 세포 (Invitrogen 사) 를 3 L Fernbach Erlenmeyer Flask (CORNING 사) 에 파종하고, FreeStyle293 expression medium (Invitrogen 사) 으로 희석하여 2.0 × 10^6 세포/㎖ 로 조제하였다. 40 ㎖ 의 Opti-Pro SFM 배지 (Invitrogen 사) 에 0.24 ㎎ 의 중쇄 발현 벡터와 0.36 ㎎ 의 경쇄 발현 벡터와 1.8 ㎎ 의 Polyethyleneimine (Polyscience #24765) 을 첨가하여 완만하게 교반하고, 또한 5 분간 방치한 후에 FreeStyle 293F 세포에 첨가하였다. 37 ℃, 8 % CO_2 인큐베이터로 4 시간, 90 rpm 으로 진탕 배양 후에 600 ㎖ 의 EX-CELL VPRO 배지 (SAFC Biosciences 사), 18 ㎖ 의 GlutaMAX I (GIBCO 사), 및 30 ㎖ 의 Yeastolate Ultrafiltrate (GIBCO 사) 를 첨가하고, 37 ℃, 8 % CO_2 인큐베이터로 7 일간, 90 rpm 으로 진탕 배양하여 얻어진 배양 상청을 Disposable Capsule Filter (Advantec #CCS-045-E1H) 로 여과하였다.

[0475] 인간 키메라 LN22R8 의 IgG1 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 LN22R8 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 LN22R8 의 인간 키메라 항체를 「LN22R8chIgG1」 이라고 명명하였다. 인간 키메라 LN22R8 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 LN22R8 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 LN22R8 의 인간 키메라 항체를 「LN22R8chIgG2」 라고 명명하였다. 인간 키메라 LN22R8 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 LN22R8 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 LN22R8 의 인간 키메라 항체를 「LN22R8chIgG4P」 라고 명명하였다. 인간 키메라 2P10F2 의 IgG1LALA 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 2P10F2 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 L2P10F2 의 인간 키메라 항체를 「2P10F2chIgG1LALA」 라고 명명하였다. 인간 키메라 2P10F2 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 2P10F2 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 L2P10F2 의 인간 키메라 항체를 「2P10F2chIgG2」 라고 명명하였다. 인간 키메라 2P10F2 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 2P10F2 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 L2P10F2 의 인간 키메라 항체를 「2P10F2chIgG4P」 라고 명명하였다.

[0476] 1)-14-2 LN22R8, 2P10F2 의 인간 키메라 항체의 정제

[0477] 실시예 1)-14-1 에서 얻어진 배양 상청으로부터 항체를 rProtein A 어피니티 크로마토그래피의 1 단계 공정으로 정제하였다. 배양 상청을 PBS 로 평형화한 MabSelectSuRe 가 충전된 칼럼 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 에 어플라이한 후에, 칼럼 용량의 2 배 이상의 PBS 로 칼럼을 세정하였다. 다음으로 2M 아르기닌염산염 용액 (pH 4.0) 으로 용출하고, 항체가 포함되는 획분을 모았다. 그 획분을 투석 (Thermo Scientific 사, Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette) 에 의해 HBSor (25 mM 히스티딘/5 % 소르비톨, pH 6.0) 로의 버퍼 치환을 실시하였다. Centrifugal UF Filter Device VIVASPIN20 (분획 분자량 UF10K, Sartorius 사) 으로 항

체를 농축하고, IgG 농도를 1 mg/mℓ 이상으로 조제하였다. 마지막으로 Minisart-Plus filter (Sartorius 사) 로 여과하고, 정제 샘플로 하였다.

[0478] 1)-15 인간 키메라 항체의 ADCC 활성

[0479] 인간 키메라 항체의 ADCC 활성에 대해, 이펙터 세포로서 인간의 말초혈 단핵구 (PBMC), ADCC 표적 세포로서 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 사용하여 평가하였다. 방사선 동위체 ^{51}Cr 로 표지한 MIA PaCa-2 세포와 마우스 항체 (LN22R8), 래트 항체 (2P10F2), 또는, 인간 키메라 항체 (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P, 2P10F2chIgG1LALA, 2P10F2chIgG4P) 를 0.5 또는, 5 ㎍/mℓ 의 농도로 4 ℃ 30 분간 처리한 후, 인간의 말초혈로부터 분리한 PBMC 를 MIA PaCa-2 세포의 20 배의 비율로 첨가하고, 4 시간, 37 도, 5 % CO2 존재하에서 배양하였다. 상청 중에 방출된 ^{51}Cr 을 TopCount NXT v2.53 을 사용하여 측정하고 총 방출 (Total release) 값을 얻었다. ^{51}Cr 로 표지한 MIA PaCa-2 세포를 트리톤-100 으로 처리하여 방출된 ^{51}Cr 의 측정값을 최대 방출 (Maximum release) 값, PBMC 를 첨가하지 않는 항체 처리 세포로부터 처리하여 방출된 ^{51}Cr 의 측정값을 자연 방출 (Spontaneous release) 값으로서, 하기의 식으로부터, % 특이적 방출 (% specific release) 을 산출하고, 도 6 에 정리하였다. 음성 대조 샘플로서, 인간 IgG (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories 사, Cat. 009-000-003) 를 처리한 샘플에 대해 동일하게 측정을 실시하고, 아울러 나타내었다. 측정은 삼중으로 실시하고, 평균값, 표준 편차를 산출하여 아울러 나타내었다.

[0480] % 특이적 방출 = (총 방출 − 자연 방출) / 최대 방출

[0481] 인간 IgG (hIgG) 와 LN22R8 의 마우스 항체는, ADCC 활성을 나타내지 않았던 데 반해, LN22R8chIgG1 은 0.5 ㎍/mℓ 에서 17.4 %, 5 ㎍/mℓ 에서 18.1 % 로 ADCC 활성을 나타내었다. LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P 의 ADCC 활성은, LN22R8chIgG1 보다 낮고, 5 ㎍/mℓ 에서도 각각 3.0 %, 2.2 % 였다.

[0482] 2P10F2 래트 항체는, 0.5 ㎍/mℓ 에서 4.8 %, 5 ㎍/mℓ 에서 8.4 % 로 ADCC 활성을 나타내었다. 2P10F2chIgG1LALA 는, 0.5 ㎍/mℓ 에서 4.7 %, 5 ㎍/mℓ 에서 2.9 % 로 ADCC 활성을 나타내었다. 2P10F2chIgG4P 는, 0.5 ㎍/mℓ 에서 3.4 %, 5 ㎍/mℓ 에서 1.1 % 로 2P10F2 래트 항체, 2P10F2chIgG1LALA 보다 낮은 ADCC 활성을 나타내었다. 문헌 (Bruggemann et al., J. Exp. Med., 1351-1361, 1987) 보고와 같이, IgG1 서브타입을 이용한 인간 키메라 항체가 가장 높은 ADCC 활성을 나타내었다.

[0483] 1)-16 인간 키메라 항체의 CDC 활성

[0484] 항인간 CD147 항체에 의한 보체 의존적인 살세포 활성 (CDC 활성) 을 표적 세포로서 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 사용하여 평가하였다. 보체로서 시판되는 토끼 보체 (Low Tox-M Rabbit Complement, CEDARLANE LABORATORIES LIMITED, Cat. CL3051) 를 사용하였다. 항인간 CD147 항체로서, 마우스 항체 (LN22R8), 래트 항체 (2P10F2), 또는, 인간 키메라 항체 (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P, 2P10F2chIgG1LALA, 2P10F2chIgG4P) 를 사용하였다. CDC 활성 음성의 대조 항체로서 인간 IgG (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories 사, Cat. 009-000-003) 를 사용하였다. 상기 항체를 0, 0.1, 1 또는, 10 ㎍/mℓ 의 농도로 1 시간, 4 ℃ 에서 처리한 후, 토끼 보체를 종농도 7.5 % 가 되도록 첨가하고, 37 ℃, 5 % CO2 존재하에서, 3 시간 가온 후, 생 세포에 포함되는 세포내 ATP 를 CellTiter-Glo Lumimescent Cell Viability Assay (Promega 사, Cat. G7572) 를 사용하여 측정하였다. CellTiter-Glo Lumimescent Cell Viability Assay 를 사용하여 얻어지는 발광 시그널에 대해, EnVision 2104 Multilabel Reader (Perkin Elmer 사) 를 사용하여 정량하였다. 측정은 삼중으로 실시하고, 평균값과 표준 편차를 산출하였다. 무처리의 세포로부터 얻어진 발광 시그널을 100 % 로서, 항체와 보체 의존적으로 감소한 발광 시그널을 CDC 활성으로서, 도 7 에 정리하였다.

[0485] 마우스 항체 (LN22R8), 래트 항체 (2P10F2) 에서만, 음성 대조의 hIgG 에 대하여 농도 의존적인 CDC 활성이 관찰되고, LN22R8 에서는 10 ㎍/mℓ 에서 최대 41.1 % 까지 생 세포가 저하되었다. 2P10F2 에서는, 10 ㎍/mℓ 에서 최대 53.5 % 까지 생 세포가 저하되었다.

[0486] 인간 키메라 항체 (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P, 2P10F2chIgG1LALA, 2P10F2chIgG4P) 에서는, 음성 대조의 hIgG 에 대하여 명확한 CDC 활성은 관찰되지 않았다.

[0487] 1)-17 인간 키메라 항체의 ADCP 활성

[0488] 인간 IgG 항체는 마우스의 Fcγ 수용체와의 상호 작용을 통해서, 항체 의존적인 단구, 매크로파지에 의한 탐식

작용 (ADCP) 을 유도함으로써, 암 세포에 대한 살세포 활성을 나타내는 것이 보고되어 있다 (Overdijk et al., Journal of Immunology, 1-9, 2012). 인간 키메라 항체의 ADCP 활성에 대해, 이펙터 세포로서 RAW264.7 (ATCC, TIB-71), ADCP 표적 세포로서 인간 췌장주 PANC-1 또는 MIA PaCa-2 를 사용하여 평가하였다. PKH67 Green Fluorescent Cell Linker Mini Kit for General Cell Membrane Labeling (SIGMA, Cat. MINI67-1KIT) 으로 표지한 ADCP 표적 세포와 인간 키메라 항체 (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P) 를 20 ㎍/㎖ 의 농도로 4 ℃, 1 시간 처리한 후, PKH26 Red Fluorescent Cell Linker Kit for General Cell Membrane Labeling (SIGMA, Cat. PKH26GL-1KT) 로 표지한 RAW264.7 세포를 ADCP 표적 세포의 5 배 첨가하고, 3 시간, 37 ℃, 5 % CO2 존재하에서 가온하였다. 플로우 사이토미터 (BD 사, CantoII) 를 사용하여, 탐식 작용에 의해 PKH67 시그널 양성으로 이행한 PKH26 양성 세포의 비율을 측정하였다. 음성 대조 샘플로서, 인간 IgG (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories 사, Cat. 009-000-003) 를 처리한 샘플에 대해 동일하게 측정을 실시하였다. 측정은 삼중으로 실시하고, 평균값, 표준 편차를 산출하여 도 8(a) PANC-1 의 결과를, 도 8(b) MIA PaCa-2 의 결과를 각각 나타내었다.

[0489] PANC-1 세포를 ADCP 의 표적으로 한 경우, LN22R8chIgG1 은 9.2 %, LN22R8chIgG4P 는 9.0 % 로 인간 IgG (5.5 %) 에 대해, 높은 ADCP 활성을 나타내었다. LN22R8chIgG2 는, 5.9 % 이고, ADCP 활성이었다.

[0490] MIA PaCa-2 세포를 ADCP 의 표적으로 한 경우도, 동일한 경향을 나타내고, LN22R8chIgG1 은 6.6 %, LN22R8chIgG4P 는 6.1 % 로 인간 IgG (3.6 %) 에 대해, 높은 ADCP 활성을 나타내었다. LN22R8chIgG2 는, 3.6 % 이고, ADCP 활성이었다.

[0491] 1)-18 인간 키메라 항체의 in vivo 항종양 활성 측정

[0492] 5×10^6 세포의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 4 ~ 5 주령 암컷 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 찰스·리버로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 5 ~ 7 일 후에 군나누기를 실시하고, 항인간 CD147 항체 LN22R8 의 마우스 항체 (LN22R8), 인간 키메라 항체 3 종 (LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2, LN22R8chIgG4P) 을 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 항인간 CD147 항체 2P10F2 의 래트 항체 (2P10F2), 인간 키메라 항체 2 종 (2P10F2chIgG2, 2P10F2chIgG4P) 을 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5 ~ 6). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0493] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0494] 결과를 도 9a (a) ~ (d), 도 9b (e) ~ (g) 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0495] LN22R8 은, 마우스 항체, 3 종의 인간 키메라 항체도 용량 의존적인 항종양 효과를 나타내었다. 인간 키메라 항체 LN22R8chIgG4P 10 mg/kg 투여군에서는, 이식 후 18 일 후에 5 마리 중 5 마리의 마우스에서 종양의 완전 축퇴가 관찰되고, 실험 종료 시의 이식 후 41 일 후에도 종양의 재증식은 보이지 않았다. 다른 LN22R8 항체 투여군에서는, 일부 혹은 모든 마우스에서 종양의 재증식이 관찰되었다.

[0496] 2P10F2 는, 래트 항체, 2 종의 인간 키메라 항체에서 항종양 효과가 확인되었다. 2P10F2chIgG4P 10 mg/kg 투여군에서는, 이식 21 일 후에 6 마리 중 6 마리의 마우스에서 종양의 완전 축퇴가 관찰되었다.

[0497] 동일한 에피토프 부분을 인식하는 항인간 CD147 항체인 마우스 항체 LN22R8 과 래트 항체 2P10F2 는, ADCC 활성, ADCP, CDC 활성과 같은 마우스 면역계에 의존한 이펙터 기능을 갖는 인간 키메라 항체 chIgG1 이나 ADCP 활성을 갖는 인간 키메라 항체 chIgG4P 뿐만 아니라, 어느 이펙터 기능도 거의 나타내지 않는 인간 키메라 항체 chIgG2 에서도 90 % 이상의 항종양 효과가 유지되고 있기 때문에, 마우스의 면역에 의존하지 않고, CD147 에 작용하는 신규의 작용 기전에 의해 항종양 효과를 나타내고 있는 것이 시사되었다.

[0498] 1)-19 NOG 마우스에서의 CD147 인간 키메라 항체의 항종양 효과

[0499] NOG (NOD/Shi-scid, IL-2Rγnull) 마우스에서는, 마우스 T 세포, B 세포를 결실하고 있는 NOD-scid 마우스에 사이토카인 리셉터 공통 도메인인 IL-2 리셉터 γ 사슬 녹아웃을 교배시킴으로써, 마우스 T, B 세포에 더하여, NK 세포, 보체 활성을 결실하고 있고, 매크로파지나 수상 세포의 기능 저하가 보이고, 매우 중증인 면역 부전 상태에 있다 (Ito, Blood, 3175-3182, 2002). 이들 마우스 면역계의 중증인 부전 상태에서, CD147 항체의

항종양 효과가 영향을 받거나 MIA PaCa-2 의 피하 이식 모델로 검증하였다.

[0500] 5×10^6 세포의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 7 주령 암컷 NOG 마우스 (NOD/Shi-scid, IL-2Rγ KO Jic, In-Vivo Science 사부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 6 일 후에 군나누기를 실시하고, 항 CD147 인간 키메라 항체 (LN22R8chIgG4P) 를 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0501] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0502] 결과를 도 10 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0503] 도 10 에 나타낸 인간 키메라 항체 LN22R8chIgG4P 의 결과는, 이식 17 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율은, 10 mg/kg 투여군에서 99 % 이고, 5 마리 중 3 마리의 마우스에서 종양의 완전 축퇴가 관찰되었다.

[0504] 항 CD147 인간 키메라 항체 (LN22R8chIgG4P) 는, 마우스 T, B 세포에 더하여, NK 세포, 보체 활성을 결실한 NOG 마우스에 형성시킨 췌장암 종양에 대해서도, 강한 항종양 효과를 나타내었기 때문에, 마우스의 면역 세포에 의존하지 않고 항종양 효과를 나타낼 가능성이 시사되었다.

[0505] (실시예 2) CD147 단백의 면역에 의한 원숭이 교차성 래트 항체의 제조

[0506] 실시예 1 에서 얻어진 강한 항종양 효과를 나타내는 항인간 CD147 항체는, 마우스, 래트, 게잡이 원숭이의 CD147 에 교차성을 나타내지 않았다. 실시예 1 에서 얻어진 항체를 사용하여 게잡이 원숭이 CD147 교차성을 나타내는 CD147 항체의 취득을 시도하였다.

[0507] 2)-1 면역

[0508] 면역에는 WKY/Izm 래트의 암컷 (닛폰 에스엘씨사) 을 사용하였다. 리콤비넌트 인간 BSG, His tagged (CREATIVE BIOMART 사 제조) 항원 단백과 Freund's Comple te Adjuvant (와코 쥰야쿠사 제조) 를 혼합한 것을 미근부 (尾根部) 에 투여한 래트의 림프절 및 비장을 채취하고 하이브리도마 제조에 사용하였다.

[0509] 2)-2 하이브리도마의 제조

[0510] 림프절 세포 혹은 비장 세포와 마우스 미엘로마 SP2/0-ag14 세포 (ATCC, No. CRL-1581) 를 LF301 Cell Fusion Unit (BEX 사) 을 사용하여 전기 세포 융합하고, ClonaCell-HY Selection Medium D (StemCell Technologies 사) 에 희석하여 배양하였다. 출현한 하이브리도마 콜로니를 회수함으로써 모노 클론 하이브리도마를 제조하였다. 회수된 각 하이브리도마 콜로니를 배양하고, 얻어진 하이브리도마 배양 상청을 사용하여 항 CD147 항체 산생 하이브리도마의 스크리닝을 실시하였다.

[0511] 2)-3 플로우 사이토메트리법에 의한 항체 스크리닝

[0512] 인간 암 세포에 결합하고, 인간 CD147, 게잡이 원숭이 CD147 에 대한 결합성을 나타내는 항체 산생 하이브리도마를 선택하기 위해서 플로우 사이토미터를 사용한 항체 결합성 스크리닝을 실시하였다. 인간 암 세포로서, CD147 양성의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 사용하였다. 실시예 1)-8 과 마찬가지로 인간, 또는, 게잡이 원숭이의 CD147 을 발현한 CHO-K1 세포 (CHO-K1-hCD147v2, CHO-K1-cynoCD147) 를 인간, 또는 게잡이 원숭이 CD147 에 대한 결합성 확인에 사용하였다. MIA PaCa-2, CHO-K1-hCD147v2, CHO-K1-cynoCD147 의 현탁액에 하이브리도마 배양 상청을 등량 첨가하고, 4 ℃ 에서 1 시간 이상 반응시킨 후, 5 % FBS 를 포함하는 PBS 로 세포를 세정하고, 항래트 IgG-PE (BD Biosciences 사, Cat. 550767) 를 사용하여 각 항체의 세포에 대한 결합을 형광 검출 가능하게 하였다. 플로우 사이토미터 (CantoII, BD Bioscience 사) 를 사용하여 세포의 형광 시그널의 측정을 실시하고, 음성 대조 샘플 (하이브리도마 배양액을 첨가하지 않은 세포) 에 대한 형광 시그널의 비를 산출하고, 표 2 에 결과의 일부를 정리하였다.

[0513] 시판되는 래트 항체 Isotyping 키트 (Bio-Rad Laboratories 사, RMT1) 를 사용하여, 배양 상청에 포함되는 항체의 아이소타입 (Isotype) 을 결정하고 아울러 표 4 에 나타내었다.

[0514] 실시예 1 에서 취득한 2P10F2 는 MIA PaCa-2, CHO-K1-hCD147v2 에 결합성을 나타내고, CHO-K1-cynoCD147 에는 결합성을 나타내지 않았다. 래트__CD147__#84 (본 명세서 중, r#84 로 표기하는 경우도 있다), 래트__

CD147_#131 (본 명세서 중, r#131 로 표기하는 경우도 있다), 래트_CD147_#110 (본 명세서 중, r#110 으로 표기하는 경우도 있다), 래트_CD147_#101 (본 명세서 중, r#101 로 표기하는 경우도 있다) 은, MIA PaCa-2, CHO-K1-hCD147v2, CHO-K1-cynoCD147 에 결합성을 나타내고, 게잡이 원숭이 교차성을 나타내는 항인간 CD147 래트 항체를 취득할 수 있었다.

표 4

[0515]

클론 ID	아이소타입	MIA PaCa-2	CHO-K1-hCD147 v2	CHO-K1-cyno CD147
2P10F2	래트 IgG2b/κ	17.3	33.0	0.0
r#84	래트 IgG2b/κ	9.1	9.9	19.0
r#131	래트 IgG1/κ	4.3	7.8	7.3
r#110	래트 IgG1/κ	2.7	4.9	4.6
r#101	래트 IgG2a/κ	10.2	23.1	8.8

[0516] 2)-4 저(低) IgG 혈청을 사용한 래트 모노클로날 항체의 조제

[0517] 게잡이 원숭이 교차성을 나타내는 항인간 CD147 모노클로날 항체는, 하이브리도마 배양 상청으로부터 정제하였다. 먼저, 래트_CD147_#131 의 항체 산생 하이브리도마를 ClonaCell-HY Selection Medium E 에서 충분량까지 증식시킨 후, Ultra Low IgG FBS (Life Technologies 사) 를 20 % 첨가한 Hybridoma SFM (Life Technologies 사) 에 배지 교환하고, 7 일간 배양하였다. 본 배양 상청을 회수하고 0.45 ㎛ 의 필터를 통과시켜 멸균하였다.

[0518] 2)-5 고밀도 배양에 의한 래트 모노클로날 항체의 조제

[0519] CL-1000 플라스크 (닛폰 벡톤·디킨슨 주식회사) 를 사용하여, 래트_CD147_#84, 래트_CD147_#101, 래트_CD147_#110 하이브리도마를 배양하고, 모노클로날 항체를 포함하는 하이브리도마 배양 상청을 조제하였다.

[0520] 2)-6 모노클로날 항체의 정제

[0521] 실시예 2)-4 및 실시예 2)-5 에서 제조한 배양 상청으로부터 실시예 1)-6 과 동일한 방법으로 항체를 정제하였다.

[0522] 2)-7 in vivo 항종양 활성 측정에 의한 항체 스크리닝

[0523] 5×10^6 세포의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 5 주령 암컷 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 찰스·리버로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 6 ~ 8 일 후에 군나누기를 실시하고, 게잡이 원숭이 교차성 항 CD147 래트 항체 #84, #101 또는 #110 을 이식 후, 8 일 후, 15 일 후에 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 대조군의 마우스에는, PBS 를 동일하게 복강내에 투여하였다. 게잡이 원숭이 교차성 항 CD147 래트 항체 #131 을 이식 후, 6 일 후에 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0524] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0525] 결과를 도 11(a) ~ (d) 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다. r#84 는, 이식 28 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율이, 10 mg/kg 투여군에서 95 % 였다 (도 11(a)). r#101 은, 이식 15 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율이 10 mg/kg 투여군에서 37 % 였지만, 이식 28 일 후에는 종양의 재증식이 보였다 (도 11(b)). r#110 은, 이식 15 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율이 10 mg/kg 투여군에서 51 % 였지만, 이식 28 일 후에는 종양의 재증식이 보였다 (도 11(c)). r#131 은, 이식 16 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율은, 10 mg/kg 투여군에서 50 % 였다 (도 11(d)). MIA PaCa-2 의 종양 증식을 강하게 저해하는 래트 항체, r#84, 부분적인 저해를 하는 r#101, r#110, r#131 이 얻어졌다.

[0526] 결과를 도 11(a) ~ (d) 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울

러 기재하였다. r#84 는, 이식 28 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율이 10 mg/kg 투여군에서 95 % 였다 (도 11(a)). r#101 은, 이식 15 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율이 10 mg/kg 투여군에서 37 % 였지만, 이식 28 일 후에는 종양의 재증식이 보였다 (도 11(b)). r#110 은, 이식 15 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율이 10 mg/kg 투여군에서 51 % 였지만, 이식 28 일 후에는 종양의 재증식이 보였다 (도 11(c)). r#131 은, 이식 16 일 후에 있어서의 종양 증식 억제율이 10 mg/kg 투여군에서 50 % 였다 (도 11(d)).

[0527] 2)-8 에피토프 해석 : 2P10F2-경합 ELISA (2P10F2-competitive ELISA)

[0528] 원숭이 교차성 래트 CD147 항체의 에피토프 해석을 목적으로 하여, 2P10F2chIgG4P 의 CD147 리콤비넌트 단백질에 대한 결합성을 저해하는지 경합 ELISA 에 의해 조사하였다. 인간 CD147-Fc 융합 단백질 (Sino Biological Inc., 10186-H02H) 을 PBS 로 용해하고, 20 ㎍/㎖ 로 조제하고, 96 웰 플레이트 (Thermofisher 사, Cat. 43454) 에 50 ㎕ 첨가하고 4 ℃ 에서 보관하였다. 단백 용액을 제거하고, 300 ㎕ 의 1 % BSA 함유 PBS 를 첨가하여, 실온에서 1 시간 가온하였다. 1 % BSA 함유 PBS 로 희석한 25 ㎕ 의 20 혹은 60 ㎍/㎖ 의 CD147 래트 항체 r#84, r#101, r#110, r#131 또는 2P10F2, 또는 1 % BSA 함유 PBS 를 경합 항체로서 96 웰 플레이트에 첨가하고, 실온에서 2 시간 가온하였다. 1 % BSA 함유 PBS 로 희석한 20 ng/㎖ 의 2P10F2chIgG4P 를 25 ㎕, 96 웰 플레이트에 첨가하고, 실온에서 2 시간 가온하였다. 0.05 % 트윈 20 (BIO RAD, Cat. 170-6531) 을 포함하는 PBS 로 2 회, 96 웰을 세정하였다. 1 % BSA 함유 PBS 로 2000 배로 희석한 마우스 모노클로날 HP6025 항 인간 IgG4 Fc (HRP) (abcam 사, Cat. ab99823) 를 50 ㎕, 96 웰 플레이트에 첨가하고, 실온에서 1 시간 가온하였다. 0.05 % 트윈 20 (BIO RAD, Cat. 170-6531) 을 포함하는 PBS 로 3 회, 96 웰을 세정하였다. 50 ㎕ 의 Super AquaBlue ELISA Substrate (eBioscience 사, 00-4203-58) 를 96 웰 플레이트에 첨가하고, 실온에서 20 분간 가온하였다. EnVision 2104 Multilabel Reader (Perkin Elmer 사) 로, 96 웰 플레이트의 405 ㎚ 의 흡광도를 측정하였다. 경합 항체를 포함하지 않는 웰에서의 측정값을 대조로서, 경합 항체에 의해 저하된 흡광도를 % 로 산출하고 도 12 에 나타내었다. 측정은 3 웰로 실시하고, 평균값을 나타내었다.

[0529] r#84, r#101, r#131 은, 2P10F2 래트 항체와 마찬가지로 2P10F2chIgG4P 의 결합성을 90 % 이상 저해하고, 항체 인식 부위가, 2P10F2 와 가까운 것이 시사되었다. r#110 은, 2P10F2 래트 항체의 결합을 저해하지 않았다. 항체 인식 부위는, 2P10F2 와 떨어져 있거나, 혹은 결합성이 약하기 때문에, 2P10F2 래트 항체의 결합을 저해할 수 없을 가능성이 생각되었다.

[0530] (실시예 3) 원숭이 교차성 래트 항체의 클로닝과 인간 키메라 항체의 제조

[0531] 3)-1 래트 항 CD147 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 클로닝 뉴클레오티드 서열의 결정

[0532] 3)-1-1 래트__CD147__#84 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 결정

[0533] 실시예 1)-11-2 와 동일한 방법으로 실시하였다. 결정된 래트__CD147__#84 항체의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 48 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 49 에 나타낸다.
중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 50 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 51 에 나타낸다. 래트__CD147__#84 항체의 경쇄 가변 영역의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을, 각각, 서열 번호 52, 53 및 54 에 나타낸다. 래트__CD147__#84 항체의 중쇄 가변 영역의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을, 각각, 서열 번호 55, 56 및 57 에 나타낸다.

[0534] 3)-1-2 래트__CD147__#101 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 결정

[0535] 실시예 1)-11-2 와 동일한 방법으로 실시하였다. 결정된 래트__CD147__#101 항체의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 58 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 59 에 나타낸다.
중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 60 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 61 에 나타낸다. 래트__CD147__#101 항체의 경쇄 가변 영역의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을, 각각, 서열 번호 62, 63 및 64 에 나타낸다. 래트__CD147__#101 항체의 중쇄 가변 영역의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을, 각각, 서열 번호 65, 66 및 67 에 나타낸다.

[0536] 3)-1-3 래트__CD147__#110 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 결정

[0537] 실시예 1)-11-2 와 동일한 방법으로 실시하였다. 결정된 래트__CD147__#110 항체의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 68 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 69 에 나타낸다.
중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 70 에 나타내고, 아미노산 서열을 서

열 번호 71 에 나타낸다. 래트_CD147_#110 항체의 경쇄 가변 영역의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을, 각각, 서열 번호 72, 73 및 74 에 나타낸다. 래트_CD147_#110 항체의 중쇄 가변 영역의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을, 각각, 서열 번호 75, 76 및 77 에 나타낸다.

[0538] 3)-1-4 래트_CD147_#131 항체의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열의 결정

[0539] 실시예 1)-11-2 와 동일한 방법으로 실시하였다. 결정된 래트_CD147_#131 항체의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 78 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 79 에 나타낸다.
중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 의 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 80 에 나타내고, 아미노산 서열을 서열 번호 81 에 나타낸다. 래트_CD147_#131 항체의 경쇄 가변 영역의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 을, 각각, 서열 번호 82, 83 및 84 에 나타낸다. 래트_CD147_#131 항체의 중쇄 가변 영역의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 을, 각각, 서열 번호 85, 86 및 87 에 나타낸다.

[0540] 3)-2 인간 키메라 항체 발현 벡터의 제조

[0541] 3)-2-1 래트_CD147_#84 의 인간 키메라 항체 발현 벡터의 제조

[0542] 3)-2-1-1 인간 키메라 및 인간화 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터 pCMA-G4PFALA 의 구축

[0543] 서열 번호 88 로 나타내는 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG4PFALA 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편을 사용하여, 실시예 1)-12-2 와 동일한 방법으로 pCMA-G4PFALA 를 구축하였다.

[0544] 3)-2-1-2 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 경쇄 발현 벡터의 구축

[0545] 실시예 3)-1-1 에서 얻어진 래트_CD147_#84 의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-4 와 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 경쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 경쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 89 및 서열 번호 90 에 각각 나타낸다.

[0546] 3)-2-1-3 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG1 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0547] 실시예 3)-1-1 에서 얻어진 래트_CD147_#84 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-5 와 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG1 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG1 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 91 및 서열 번호 92 에 각각 나타낸다.

[0548] 3)-2-1-4 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0549] 실시예 3)-1-1 에서 얻어진 래트_CD147_#84 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG2 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 93 및 서열 번호 94 에 각각 나타낸다.

[0550] 3)-2-1-5 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0551] 실시예 3)-1-1 에서 얻어진 래트_CD147_#84 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-13-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG4P 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 95 및 서열 번호 96 에 각각 나타낸다.

[0552] 3)-2-1-6 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG1LALA 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0553] 실시예 3)-1-1 에서 얻어진 래트_CD147_#84 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-13-4 와 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG1LALA 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG1LALA 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 97 및 서열 번호 98 에 각각 나타낸다.

[0554] 3)-2-1-7 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0555] 실시예 3)-1-1 에서 얻어진 래트_CD147_#84 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, In-fusion 클로닝용으로 설계한 프라이머로 PCR 을 실시함으로써 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA

를 포함하는 DNA 단편을 증폭하였다. pCMA-G4PFALA 를 제한 효소 BlpI 로 절단한 지점에, In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사) 를 사용하여, 증폭한 DNA 단편을 삽입함으로써 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 IgG4PFALA 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 99 및 서열 번호 100 에 각각 나타낸다.

[0556] 3)-2-2 래트_CD147_#101 의 인간 키메라 항체 발현 벡터의 제조

[0557] 3)-2-2-1 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 경쇄 발현 벡터의 구축

[0558] 실시예 3)-1-2 에서 얻어진 래트_CD147_#101 의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-4 와 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 경쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 경쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 101 및 서열 번호 102 에 각각 나타낸다.

[0559] 3)-2-2-2 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0560] 실시예 3)-1-2 에서 얻어진 래트_CD147_#101 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG2 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 103 및 서열 번호 104 에 각각 나타낸다.

[0561] 3)-2-2-3 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0562] 실시예 3)-1-2 에서 얻어진 래트_CD147_#101 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-13-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG4P 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 105 및 서열 번호 106 에 각각 나타낸다.

[0563] 3)-2-2-4 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0564] 실시예 3)-1-2 에서 얻어진 래트_CD147_#101 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 3)-2-1-7 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 IgG4PFALA 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 107 및 서열 번호 108 에 각각 나타낸다.

[0565] 3)-2-3 래트_CD147_#110 의 인간 키메라 항체 발현 벡터의 제조

[0566] 3)-2-3-1 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 경쇄 발현 벡터의 구축

[0567] 실시예 3)-1-3 에서 얻어진 래트_CD147_#110 의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-4 와 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 경쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 경쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 109 및 서열 번호 110 에 각각 나타낸다.

[0568] 3)-2-3-2 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0569] 실시예 3)-1-3 에서 얻어진 래트_CD147_#110 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 IgG2 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 111 및 서열 번호 112 에 각각 나타낸다.

[0570] 3)-2-3-3 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0571] 실시예 3)-1-3 에서 얻어진 래트_CD147_#110 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-13-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 IgG4P 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 113 및 서열 번호 114 에 각각 나타낸다.

[0572] 3)-2-3-4 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0573] 실시예 3)-1-3 에서 얻어진 래트_CD147_#110 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하

여, 실시예 3)-2-1-7 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트__CD147__#110 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#110 의 IgG4PFALA 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 115 및 서열 번호 116 에 각각 나타낸다.

[0574] 3)-2-4 래트__CD147__#131 의 인간 키메라 항체 발현 벡터의 제조

[0575] 3)-2-4-1 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 경쇄 발현 벡터의 구축

[0576] 실시예 3)-1-4 에서 얻어진 래트__CD147__#131 의 경쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-4 와 동일한 방법으로 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 경쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 경쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 117 및 서열 번호 118 에 각각 나타낸다.

[0577] 3)-2-4-2 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0578] 실시예 3)-1-4 에서 얻어진 래트__CD147__#131 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-12-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 IgG2 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 119 및 서열 번호 120 에 각각 나타낸다.

[0579] 3)-2-4-3 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터의 구축

[0580] 실시예 3)-1-4 에서 얻어진 래트__CD147__#131 의 중쇄의 가변 영역을 코드하는 cDNA 를 템플릿으로서 사용하여, 실시예 1)-13-6 과 동일한 방법으로 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터를 구축하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 IgG4P 타입 중쇄의 뉴클레오티드 서열 및 그 중쇄의 아미노산 서열을, 서열 번호 121 및 서열 번호 122 에 각각 나타낸다.

[0581] 3)-3 인간 키메라 항체의 조제

[0582] 3)-3-1 원숭이 교차성 래트 항체의 인간 키메라 항체의 생산

[0583] 실시예 1)-14-1 과 동일한 방법으로 생산하였다.

[0584] 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 IgG1 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#84 의 인간 키메라 항체를 「#84chIgG1」 이라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#84 의 인간 키메라 항체를 「#84chIgG2」 라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#84 의 인간 키메라 항체를 「#84chIgG4P」 라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 IgG1LALA 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#84 의 인간 키메라 항체를 「#84chIgG1LALA」 라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#84 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#84 의 인간 키메라 항체를 「#84chIgG4PFALA」 라고 명명하였다.

[0585] 인간 키메라 래트__CD147__#101 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#101 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#101 의 인간 키메라 항체를 「#101chIgG2」 라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#101 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#101 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#101 의 인간 키메라 항체를 「#101chIgG4P」 라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#101 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#101 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#101 의 인간 키메라 항체를 「#101chIgG4PFALA」 라고 명명하였다.

[0586] 인간 키메라 래트__CD147__#110 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#110 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#110 의 인간 키메라 항체를 「#110chIgG2」 라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#110 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#110 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#110 의 인간 키메라 항체를 「#110chIgG4P」 라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#110 의 IgG4PFALA 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#110 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#110 의 인간 키메라 항체를 「#110chIgG4PFALA」 라고 명명하였

다.

[0587] 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 IgG2 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#131 의 인간 키메라 항체를 「#131chIgG2」 라고 명명하였다. 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 IgG4P 타입 중쇄 발현 벡터와 인간 키메라 래트__CD147__#131 의 경쇄 발현 벡터의 조합으로 취득한 래트__CD147__#131 의 인간 키메라 항체를 「#131chIgG4P」 라고 명명하였다.

[0588] 3)-3-2 원숭이 교차성 래트 항체의 인간 키메라 항체의 정제

[0589] 실시예 3)-3-1 에서 얻어진 배양 상청으로부터, 실시예 1)-14-2 와 동일한 방법으로 정제하였다.

[0590] (실시예 4) 인간 키메라 항체의 in vivo 항종양 활성

[0591] 5×10^6 세포의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 5 ~ 6 주령 암컷 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 찰스·리버로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 5 ~ 6 일 후에 군나누기를 실시하고, 게잡이 원숭이 교차성 항 CD147 인간 키메라 항체 (#84chIgG1, #84chIgG1LALA, #84chIgG2, #84chIgG4P, #84chIgG4PFALA) 를 군나누기 후 당일에 1, 3, 또는 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5).

게잡이 원숭이 교차성 항 CD147 인간 키메라 항체 (#101chIgG2, #101chIgG4P, #101chIgG4PFALA, #110chIgG2, #110chIgG4P, #110chIgG4PFALA, #131chIgG2, #131chIgG4P) 를 군나누기 후 당일에 3, 또는 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0592] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0593] 결과를 도 13a (a) ~ (d), 도 13b (e) ~ (h), 도 13c (i) ~ (l), 도 13d (m) 및 (n) 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0594] 인간 키메라 항체 #84 는, 어느 IgG 서브타입도 용량 의존적인 항종양 효과를 나타내었다. 가장 강한 항종양 효과가 확인된 #84chIgG4P 10 mg/kg 투여군에서는, 이식 20 일 후에 5 예 중 5 예의 마우스에서 종양의 완전한 퇴축이 확인되었다.

[0595] 인간 키메라 항체 #101 은, 어느 IgG 서브타입도 용량 의존적인 항종양 효과를 나타내었다. 가장 강한 항종양 효과가 확인된 101chIgG4P 10 mg/kg 투여군에서는, 이식 20 일 후에 5 예 중 4 예의 마우스에서 종양의 완전한 퇴축이 확인되었다.

[0596] 인간 키메라 항체 #110 은, 어느 IgG 서브타입도 용량 의존적인 항종양 효과를 나타내었다. 가장 강한 항종양 효과가 확인된 110chIgG4P 10 mg/kg 투여군에서는, 이식 22 일 후에 5 예 중 3 예의 마우스에서 종양의 완전한 퇴축이 확인되었다.

[0597] 인간 키메라 항체 #131 은, IgG4P 서브타입에서 용량 의존적인 항종양 효과를 나타내었다. #131chIgG2 에서는, 3 mg/kg, 10 mg/kg 투여군에서 보인 항종양 효과에 차는 없었다.

[0598] 어느 인간 키메라 항체도, 항체의 인간 IgG subtype 에 의존하지 않고, 10 mg/kg 의 투여량에서는, 68 ~ 100 % 의 종양 증식 억제 효과를 나타내었다. 게잡이 원숭이 교차성 항인간 CD147 인간 키메라 항체 #084, #101, #110, #131 에 대해서도, 세포의 면역으로부터 취득된 항인간 CD147 항체, LN22R8 이나 2P10F2 와 동일하게, 마우스의 면역계에 의존하지 않고, CD147 에 작용하는 신규의 작용 기전에 의해 항종양 효과를 나타내고 있는 것이 시사되었다.

[0599] (실시예 5) 인간 키메라 항체의 CD147 결합성 평가

[0600] 실시예 3)-3-1 에서 제조한 #84chIgG1, #84chIgG2, #84chIgG4P, #84chIgG1LALA, #84chIgG4PFALA, #101chIgG4P, #110chIgG4P 의 인간 CD147 에 대한 해리 정수 측정은, Biacore T200 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 을 사용하고, Human Antibody Capture Kit (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 사용하여 고정화한 항 인간 IgG (Fc) 항체에 항체를 리간드로서 포착 (캡처) 하고, 항원을 아날라이트로서 측정하는 캡처법으로 실시하였다. 러닝 버퍼로서 HBS-EP+ (GE Healthcare Bioscience 사 제조), 센서 칩으로서 CM5 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 사용하였다. 칩 상에 1 ㎍/㎖ 또는 2 ㎍/㎖ 의 인간 키메라 항체를 10 ㎕/분으로 60 초간 첨가한 후, 항원으로서 CD147 단백질의 희석 계열 용액 (#131chIgG4P 에 대해 0.25 ~ 4 ㎍

/㎖, #84chIgG1, #84chIgG2, #84chIgG4P, #84chIgG1LALA, #84chIgG4PFALA, #101chIgG4P, #110chIgG4P 에 대해 0.5 ~ 8 ㎍/㎖) 을 유속 30 ㎕/분으로 120 초간 첨가하고, 계속해서 120 초간, 300 초간 또는 600 초간의 해리상을 모니터하였다. 여기서, CD147 단백질은, 대장균에서 발현시키고, Ni 어피니티 (Ni affinity), SEC 의 2 스텝 (steps) 정제 후, 태그 절단 정제한 것을 사용하였다. 재생 용액으로서, 3M 마그네슘클로라이드 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 유속 20 ㎕/분으로 30 초간 첨가하였다. 데이터의 해석에는 1 : 1 결합 모델을 사용하여, 결합 속도 정수 ka, 해리 속도 정수 kd 및 해리 정수 (KD ; KD = kd/ka) 를 산출하였다. 결과를 표 5 에 나타낸다.

표 5

인간 키메라 항체의 인간 CD147 과의 해리 정수

	명칭	KD (nM)
1	#84chIgG1	393
2	#84chIgG2	334
3	#84chIgG4P	381
4	#84chIgG1LALA	371
5	#84chIgG4PFALA	358
6	#101chIgG4P	10.5
7	#110chIgG4P	9.94
8	#131chIgG4P	3.45

[0601]

[0602] (실시예 6) 인간화 항체의 제조

[0603] 6)-1 인간화 항체의 설계

[0604] 6)-1-1 가변 영역의 분자 모델링

[0605] 호몰로지 모델링으로서 공지된 방법 (Methods in Enzymology, 203, 121-153, (1991)) 을 이용하였다. 시판되는 단백질 입체 구조 해석 프로그램 Discovery Studio (다쏘·시스템사 제조) 를 사용하여, 가변 영역에 대하여 높은 서열 동일성을 갖는 Protein Data Bank (Nuc. Acids Res. 35, D301-D303 (2007)) 에 등록되어 있는 구조를 검색하였다. 히트한 중쇄, 경쇄 및 중쇄 경쇄 인터페이스 구조를 주형으로 하여, 삼차원 모델이 작성되었다.

[0606] 6)-1-2 인간화 항체의 설계 방법

[0607] CDR 그래프팅 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)) 에 의해 인간화하였다. 래트_CD147_#84 의 프레임 워크 영역은, KABAT et al. (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) 에 있어서 기정 되는 인간 카파 (kappa) 사슬 서브그룹 1 의 콘센서스 서열과, 인간 감마 (gamma) 사슬 서브그룹 3 의 콘센서스 서열에 높은 상동성을 갖는다는 점에서, 그것들이 래트_CD147_#84 의 경쇄와 중쇄의 억셉터로서 각각 선택되었다. 래트_CD147_#101 의 프레임 워크 영역은, KABAT et al. 에 있어서 기정되는 인간 카파 (kappa) 사슬 서브그룹 1 의 콘센서스 서열과, 인간 감마 (gamma) 사슬 서브그룹 3 및 IMGT (THE INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM (등록상표)) 에 있어서 규정되는 인간 감마 (gamma) 사슬의 IGHV3-30*05 와 IGHJ3*01 에, 높은 상동성을 갖는다는 점에서, 그것들이 래트_CD147_#101 의 경쇄와 중쇄의 억셉터로서 각각 선택되었다.

래트_CD147_#110 의 프레임 워크 영역은, IMGT 에 있어서 규정되는 인간 카파 (kappa) 사슬의 IGKV1-39*01 과 IGKJ4*01 과, 인간 감마 (gamma) 사슬의 IGHV1-2*02 와 IGHJ6*01 에, 높은 상동성을 갖는다는 점에서, 그것들이 래트_CD147_#110 의 경쇄와 중쇄의 억셉터로서 각각 선택되었다. 래트_CD147_#131 의 프레임 워크 영역은, IMGT 에 있어서 규정되는 인간 카파 (kappa) 사슬의 IGKV1-39*01 과 IGKJ2*01 과, 인간 감마 (gamma) 사슬의 IGHV3-30*05 와 IGHJ6*01 에, 높은 상동성을 갖는다는 점에서, 래트_CD147_#131 의 경쇄와 중쇄의 억셉터로서 각각 선택되었다. 억셉터 상에 이입해야 할 도너 잔기는, Queen et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 10029-10033 (1989)) 에 의해 부여되는 기준 등을 참고로, 삼차원 모델을 분석함으로써 선택되었다.

[0608] 6)-1-3 래트_CD147_#84 중쇄의 인간화

[0609] 래트_CD147_#84 중쇄의 가변 영역에 대해, 도 14(a) 에 나타내는 억셉터의 아미노산 잔기를 이입함으로써, 인간화 항체 중쇄 #84H1h 의 가변 영역이 설계되었다.

[0610] 설계된 가변 영역에, 인간의 IgG2 및 IgG4P 의 감마 (gamma) 사슬 정상 영역을 접속시킨 인간화 항체 중쇄가 설계되고, 각각 #84H1hIgG2, #84H1hIgG4P 라고 명명하였다. #84H1hIgG2 의 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 123 에 기재한다. 서열 번호 123 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 124 에 기재한다. #84H1hIgG4P 의 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 125 에 기재한다. 서열 번호 125 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 126 에 기재한다.

[0611] 6)-1-4 래트_CD147_#84 경쇄의 인간화

[0612] 래트_CD147_#84 경쇄의 가변 영역에 대해, 도 14(b) 에 나타내는 억셉터의 아미노산 잔기를 이입함으로써, 인간화 항체 경쇄 #84L2h 의 가변 영역이 설계되었다.

[0613] 설계된 가변 영역에, 인간의 κ 사슬 정상 영역을 접속시킨 인간화 항체 경쇄가 설계되고, #84L2h 라고 명명하였다. #84L2h 의 경쇄 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 127 에 기재한다. 서열 번호 127 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 128 에 기재한다.

[0614] 6)-1-5 #84 인간화 항체

[0615] 상기로부터 설계된 중쇄 #84H1hIgG2 와 경쇄 #84L2h 를 조합하고, 인간화 항체 #84H1L2hIgG2 를 설계하였다. 또, 중쇄 #84H1hIgG4P 와 경쇄 #84L2h 를 조합하고, 인간화 항체 #84H1L2hIgG4P 를 설계하였다.

[0616] 6)-1-6 래트_CD147_#101 중쇄의 인간화

[0617] 래트_CD147_#101 중쇄의 가변 영역에 대해, 도 15(a) 에 나타내는 억셉터의 아미노산 잔기를 이입함으로써, 인간화 항체 중쇄 #101H1h 의 가변 영역이 설계되었다.

[0618] 설계된 가변 영역에, 인간의 IgG2 및 IgG4P 의 감마 (gamma) 사슬 정상 영역을 접속시킨 인간화 항체 중쇄가 설계되고, 각각 #101H1hIgG2, #101H1hIgG4P 라고 명명하였다. #101H1hIgG2 의 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 129 에 기재한다. 서열 번호 129 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 130 에 기재한다. #101H1hIgG4P 의 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 131 에 기재한다. 서열 번호 131 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 132 에 기재한다.

[0619] 6)-1-7 래트_CD147_#101 경쇄의 인간화

[0620] 래트_CD147_#101 경쇄의 가변 영역에 대해, 도 15(b) 에 나타내는 억셉터의 아미노산 잔기를 이입함으로써, 인간화 항체 경쇄 #101L2h 의 가변 영역이 설계되었다.

[0621] 설계된 가변 영역에, 인간의 κ 사슬 정상 영역을 접속시킨 인간화 항체 경쇄가 설계되고, #101L2h 라고 명명하였다. #101L2h 의 경쇄 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 133 에 기재한다. 서열 번호 133 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 134 에 기재한다.

[0622] 6)-1-8 #101 인간화 항체

[0623] 상기로부터 설계된 중쇄 #101H1hIgG2 와 경쇄 #101L2h 를 조합하고, 인간화 항체 #101H1L2hIgG2 를 설계하였다. 또, 중쇄 #101H1hIgG4P 와 경쇄 #101L2h 를 조합하고, 인간화 항체 #101H1L2hIgG4P 를 설계하였다.

[0624] 6)-1-9 래트_CD147_#110 중쇄의 인간화

[0625] 래트_CD147_#110 중쇄의 가변 영역에 대해, 도 16(a), (b) 에 나타내는 억셉터의 아미노산 잔기를 이입함으로써, 인간화 항체 중쇄 #110H1h, #110H13h 의 가변 영역이 설계되었다.

[0626] 설계된 가변 영역에, IgG4P 의 감마 (gamma) 사슬 정상 영역을 접속시킨 인간화 항체 중쇄가 설계되고, 각각 #110H1hIgG4P, #110H13hIgG4P 라고 명명하였다. #110H1hIgG4P 의 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 135, #110H13hIgG4P 의 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 147 에 기재한다. 서열 번호 135 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 136, 서열 번호 147 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 148 에 기재한다.

[0627] 6)-1-10 래트_CD147_#110 경쇄의 인간화

[0628] 래트_CD147_#110 경쇄의 가변 영역에 대해, 도 16(c), (d), (e) 에 나타내는 억셉터의 아미노산 잔기를 이입함으로써, 인간화 항체 경쇄 #110L4h, #110L2h, #110L12h 의 가변 영역이 설계되었다.

[0629] 설계된 가변 영역에, 인간의 κ 사슬 정상 영역을 접속시킨 인간화 항체 경쇄가 설계되고, 각각 #110L4h, #110L2h, #110L12h 라고 명명하였다. #110L4h 의 경쇄 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 137, #110L2h 의 경쇄 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 149, #110L12h 의 경쇄 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 151 에 기재한다. 서열 번호 137 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 138, 서열 번호 149 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 150, 서열 번호 151 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 152 에 기재한다.

[0630] 6)-1-11 #110 인간화 항체

[0631] 상기로부터 설계된 중쇄 #110H1hIgG4P 와 경쇄 #110L4h 를 조합하고, 인간화 항체 #110H1L4hIgG4P 를 설계하였다. 또, 중쇄 #110H13hIgG4P 와 경쇄 #110L2h 를 조합하고, 인간화 항체 #110H13L2hIgG4P 를 설계하고, 중쇄 #110H13hIgG4P 와 경쇄 #110L12h 를 조합하고, 인간화 항체 #110H13L12hIgG4P 를 설계하였다.

[0632] 6)-1-12 래트_CD147_#131 중쇄의 인간화

[0633] 래트_CD147_#131 중쇄의 가변 영역에 대해, 도 17(a) 에 나타내는 억셉터의 아미노산 잔기를 이입함으로써, 인간화 항체 중쇄 #131H2h 의 가변 영역이 설계되었다.

[0634] 설계된 가변 영역에, 인간의 IgG2 의 감마 (gamma) 사슬 정상 영역을 접속시킨 인간화 항체 중쇄가 설계되고, #131H2hIgG2 라고 명명하였다. #131H2hIgG2 의 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 139 에 기재한다. 서열 번호 139 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 140 에 기재한다.

[0635] 6)-1-13 래트_CD147_#131 경쇄의 인간화

[0636] 래트_CD147_#131 경쇄의 가변 영역에 대해, 도 17(b) 에 나타내는 억셉터의 아미노산 잔기를 이입함으로써, 인간화 항체 경쇄 #131L2h 의 가변 영역이 설계되었다.

[0637] 설계된 가변 영역에, 인간의 κ 사슬의 정상 영역을 접속시킨 인간화 항체 경쇄가 설계되고, #131L2h 라고 명명하였다. #131L2h 의 경쇄 전체 길이 아미노산 서열을 서열 번호 141 에 기재한다. 서열 번호 141 의 아미노산 서열을 코드하는 뉴클레오티드 서열을 서열 번호 142 에 기재한다.

[0638] 6)-1-14 #131 인간화 항체

[0639] 상기로부터 설계된 중쇄 #131H2hIgG2 와 경쇄 #131L2h 를 조합하고, 인간화 항체 #131H2L2hIgG2 를 설계하였다.

[0640] 6)-2 인간화 항체의 경쇄 발현 벡터의 구축

[0641] 6)-2-1 #84L2h 발현 벡터의 구축

[0642] 서열 번호 128 에 나타내는 #84L2h 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 37 내지 402 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사) 를 사용하여, pCMA-LK 를 제한 효소 BsiWI 로 절단한 지점에 합성한 DNA 단편을 삽입함으로써 #84L2h 발현 벡터를 구축하였다.

[0643] 6)-2-2 #101L2h 발현 벡터의 구축

[0644] 서열 번호 134 에 나타내는 #101L2h 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 37 내지 402 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). 실시예 6)-2-1 과 동일한 방법으로 #101L2h 발현 벡터를 구축하였다.

[0645] 6)-2-3 #110L4h, #110L2h 및 #110L12h 발현 벡터의 구축

[0646] 서열 번호 138, 서열 번호 150 및 서열 번호 152 에 나타내는 #110L4h, #110L2h 및 #110L12h 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 37 내지 402 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). 실시예 6)-2-1 과 동일한 방법으로 #110L4h, #110L2h 및 #110L12h 발현 벡터를 구축하였다.

[0647] 6)-2-4 #131L2h 발현 벡터의 구축

[0648] 서열 번호 142 에 나타내는 #131L2h 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 37 내지 402 에 나타내는 DNA

단편을 합성하였다 (GENEART 사). 실시예 6)-2-1 과 동일한 방법으로 #131L2h 발현 벡터를 구축하였다.

[0649] 6)-3 인간화 항체의 중쇄 발현 벡터의 구축

[0650] 6)-3-1 #84H1hIgG2 발현 벡터의 구축

[0651] 서열 번호 124 에 나타내는 #84H1hIgG2 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 36 내지 437 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사) 를 사용하여, pCMA-G2 를 제한 효소 BlpI 로 절단한 지점에 합성한 DNA 단편을 삽입함으로써 #84H1hIgG2 발현 벡터를 구축하였다.

[0652] 6)-3-2 #84H1hIgG4P 발현 벡터의 구축

[0653] 서열 번호 126 에 나타내는 #84H1hIgG4P 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 36 내지 437 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). In-Fusion HD PCR 클로닝 키트 (Clontech 사) 를 사용하여, pCMA-G4P 를 제한 효소 BlpI 로 절단한 지점에 합성한 DNA 단편을 삽입함으로써 #84H1hIgG4P 발현 벡터를 구축하였다.

[0654] 6)-3-3 #101H1hIgG2 발현 벡터의 구축

[0655] 서열 번호 130 에 나타내는 #101H1hIgG2 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 36 내지 428 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). 실시예 6)-3-1 과 동일한 방법으로 #101H1hIgG2 발현 벡터를 구축하였다.

[0656] 6)-3-4 #101H1hIgG4P 발현 벡터의 구축

[0657] 서열 번호 132 에 나타내는 #101H1hIgG4P 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 36 내지 428 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). 실시예 6)-3-2 와 동일한 방법으로 #101H1hIgG4P 발현 벡터를 구축하였다.

[0658] 6)-3-5 #110H1hIgG4P 및 #110H13hIgG4P 발현 벡터의 구축

[0659] 서열 번호 136 및 서열 번호 148 에 나타내는 #110H1hIgG4P 및 #110H13hIgG4P 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 36 내지 425 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). 실시예 6)-3-2 와 동일한 방법으로 #110H1hIgG4P 및 #110H13hIgG4P 발현 벡터를 구축하였다.

[0660] 6)-3-6 #131H2hIgG2 발현 벡터의 구축

[0661] 서열 번호 140 에 나타내는 #131H2hIgG2 의 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 번호 36 내지 431 에 나타내는 DNA 단편을 합성하였다 (GENEART 사). 실시예 6)-3-1 과 동일한 방법으로 #131H2hIgG2 발현 벡터를 구축하였다.

[0662] 6)-4 인간화 항체의 조제

[0663] 6)-4-1 인간화 항체의 생산

[0664] 실시예 1)-14-1 과 동일한 방법으로 생산하였다. 실시예 6)-1-5, 실시예 6)-1-8, 실시예 6)-1-11, 및 실시예 6)-1-14 에 나타낸 H 사슬과 L 사슬의 조합에 대응한 H 사슬 발현 벡터와 L 사슬 발현 벡터의 조합으로, 각종 인간화 항체를 취득하였다.

[0665] 6)-4-2 인간화 항체의 1 단계 정제

[0666] 실시예 6)-4-1 에서 얻어진 배양 상청으로부터 항체를 rProtein A 어피니티 크로마토그래피의 1 단계 공정으로 정제하였다. 배양 상청을 PBS 로 평형화한 MabSelectSuRe 가 충전된 칼럼 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 에 어플라이한 후에, 칼럼 용량의 2 배 이상의 PBS 로 칼럼을 세정하였다. 다음으로 2M 아르기닌 염산염 용액 (pH 4.0) 으로 용출하고, 항체가 포함되는 획분을 모았다. 그 획분을 투석 (Thermo Scientific 사, Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette) 에 의해 PBS 로의 버퍼 치환을 실시하였다. Centrifugal UF Filter Device VIVASPIN20 (분획 분자량 UF10K, Sartorius 사) 로 항체를 농축하고, IgG 농도를 1 ㎎/㎖ 이상으로 조제하였다. 마지막으로 Minisart-Plus filter (Sartorius 사) 로 여과하고, 정제 샘플로 하였다.

[0667] 6)-4-3 인간화 항체의 2 단계 정제

[0668] 실시예 6)-4-1 에서 얻어진 배양 상청을 rProtein A 어피니티 크로마토그래피와 세라믹 하이드록시아파타이트의

2 단계 공정으로 정제하였다. 배양 상청을 PBS 로 평형화한 MabSelectSuRe 가 충전된 칼럼 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 에 어플라이한 후에, 칼럼 용량의 2 배 이상의 PBS 로 칼럼을 세정하였다. 다음으로 2 M 아르기닌 염산염 용액 (pH 4.0) 으로 항체를 용출하였다. 항체가 포함되는 획분을 투석 (Thermo Scientific 사, Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette) 에 의해 PBS 로의 버퍼 치환을 실시하고, 5 mM 인산나트륨/50 mM MES/pH 7.0 의 버퍼로 5 배 희석한 후에, 5 mM NaPi/50 mM MES/30 mM NaCl/pH 7.0 의 버퍼로 평형화한 세라믹 하이드록시아파타이트 칼럼 (닛폰 바이오랏드, Bio-Scale CHT Type-1 Hydroxyapatite Column) 에 어플라이하였다. 염화나트륨에 의한 직선적 농도 구배 용출을 실시하고, 항체가 포함되는 획분을 모았다. 그 획분을 투석 (Thermo Scientific 사, Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette) 에 의해 HBSor (25 mM 히스티딘/5 % 소르비톨, pH 6.0) 로의 버퍼 치환을 실시하였다. Centrifugal UF Filter Device VIVASPIN20 (분획 분자량 UF10K, Sartorius 사) 으로 항체를 농축하고, IgG 농도를 25 mg/mℓ 로 조제하였다. 마지막으로 Minisart-Plus filter (Sartorius 사) 로 여과하고, 정제 샘플로 하였다.

[0669] (실시예 7) 인간화 항체의 활성 측정

[0670] 7)-1 인간화 항체의 CD147 항체 결합성 평가

[0671] 실시예 6)-4-3 에서 제조한 인간화 항인간 CD147 항체 #84H1L2hIgG2, #84H1L2hIgG4P, #101H1L2hIgG2, #101H1L2hIgG4P, #110H1L4hIgG4P 및 #131H2L2hIgG2 와 인간 CD147 의 해리 정수 측정은, Biacore T200 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 을 사용하고, Human Antibody Capture Kit (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 사용하여 고정화한 항 인간 IgG (Fc) 항체에 항체를 리간드로서 포착 (캡처) 하고, 항원을 아날라이트로서 측정하는 캡처법으로 실시하였다. 러닝 버퍼로서 HBS-EP+ (GE Healthcare Bioscience 사 제조), 센서 칩으로서 CM5 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 사용하였다. 칩 상에 1 ㎍/mℓ 의 인간화 항체를 10 ㎕/분으로 60 초간 첨가한 후, 실시예 5) 에서 사용한 항원의 희석 계열 용액 (#101H1L2hIgG2 및 #101H1L2hIgG4P 에 대해 0.0625 ~ 1 ㎍/mℓ, #84H1L2hIgG2, #84H1L2hIgG4P, #110H1L4hIgG4P, #110H13L2hIgG4P, #110H13L12hIgG4P 및 #131H2L2hIgG2 에 대해 0.25 ~ 4 ㎍/mℓ) 을 유속 30 ㎕/분으로 120 초간 첨가하고, 계속해서 300 초간의 해리상을 모니터하였다. 재생 용액으로서, 3M 마그네슘클로라이드 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 유속 20 ㎕/분으로 30 초간 첨가하였다. 데이터의 해석에는 1 : 1 결합 모델을 사용하여, 결합 속도 정수 ka, 해리 속도 정수 kd 및 해리 정수 (KD ; KD = kd/ka) 를 산출하였다.

[0672] 결과를 표 6 에 나타낸다.

표 6

인간화 항체의 인간 CD147 과의 해리 정수

명칭	KD (nM)
#84H1L2hIgG2	227
#84H1L2hIgG4P	242
#101H1L2hIgG2	10.5
#101H1L2hIgG4P	10.5
#110H1L4hIgG4P	8.60
#110H13L2hIgG4P	58.9
#110H13L12hIgG4P	154
#131H2L2hIgG2	5.84

[0673]

[0674] 7)-2 췌장암 담암 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과

[0675] 5×10^6 세포의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 4 주령 암컷 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 찰스·리버로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 군나누기를 하고, 이식 7 일 후에 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#84H1L2hIgG2, #84H1L2Ig4P, #101H1L2hIg2, #101H1L2hIg4P, #110H1L4hIg4P, #131H2L2hIg2) 를 3 mg/kg, 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 대조약으로서 췌장암의 치료약인 겜시타빈 (닛폰 일라이릴리사로부터 구입) 을 이식 7, 14 일 후에 400 mg/kg 으로 담암 마우스의

복강내에 투여하였다 (n = 5). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0676] 결과를 도 18(a) ~ (d) 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0677] 대조약의 종양 증식 억제율은, 71 % 인, 종양의 소실은 확인되지 않았던 데 반해, 어느 인간화 CD147 항체도, 3 혹은 10 ㎎/㎏ 투여군에서 겜시타빈보다 우수한 항종양 효과를 나타내었다. #84H1L2hIg4P, #101H1L2hIg2, #101H1L2hIg4P, #110H1L4hIG4P 의 10 ㎎/㎏ 투여군에서는, 종양의 소실을 수반하는 강한 항종양 효과가 확인되었다.

[0678] (실시예 8) CD147 항체의 in vitro p38MAPK 시그널의 활성화

[0679] 8)-1 췌장암 세포 PANC-1 에 있어서의 항인간 CD147 인간 키메라 항체에 의한 p38MAPK 인산화의 유도

[0680] CD147 은 활성화에 의해 p38MAPK 의 인산화를 촉진하는 것이 보고되어 있다 (Lim et al., FEBS Letters, 88-92, 1998) (Li et., al. J. Hepatology, 1378-1389, 2015). 항종양 효과를 나타내는 항 CD147 이, p38MAPK 의 시그널에 미치는 영향을 조사하기 위해서, CD147 인간 키메라 항체 LN22R8chIgG4P 를 10 ㎍/㎖ 로 15 분간 처리한 PANC-1 세포에 대해, p38MAPK 인산화를 Simple Western assays 법 (프로테인 심플 재팬 주식회사, Wes) 을 사용하여 평가하였다. 대조 샘플로서, PANC-1 세포를 인간 IgG (Jackson ImmunoResearch 사, 009-000-003) 10 ㎍/㎖ 를 동일하게 처리하여 해석에 제공하였다. p38MAPK 의 검출에는, p38 MAPK 토끼 mAb (Cell signaling technology 사, Cat. #9212) 를 사용하였다. 인산화 p38MAPK 의 검출에는, P-p38 MAPK (T180/Y182) (D3F9) XP 토끼 mAb (Cell signaling technology 사, #4511S) 를 사용하였다. 검출된 p38MAPK 시그널에 대한, 인산화 p38MAPK 시그널의 비를 도 19 에 나타내었다. 항체 처리 샘플은 이중으로 실시하고, 평균값을 도면에 나타내었다.

[0681] LN22R8chIgG4P 항체 처리군에서는, 인산화 MAPK 시그널의 증가가 관찰되었다.

[0682] 8)-2 CD147 항체의 in vitro p38 시그널 하류 분자의 HSP27 의 인산화

[0683] p38MAPK 는 활성화에 의해, HSP27 을 인산화하는 것이 보고되어 있다 (Landry et al., Biochem. Cell Biol., 703-707, 1995). CD147 인간 키메라 항체 LN22R8 에 의해 유도되는 p38 의 인산화가, 실제의 p38 시그널 활성화를 촉진하고 있는지 확인하기 위해서 8)-1 의 항체 처리 샘플에 대해, 인산화를 Simple Western assays 법 (프로테인 심플 재팬 주식회사, Wes) 을 사용하여 평가하였다. HSP27 의 검출에는, HSP27 항체 (R&D systems 사, Cat. AF15801) 를 사용하였다. 인산화 HSP27 의 검출에는, Phospho-HSP27 (Ser82) antibody (Cell signaling technology 사, 2401S), 또는 항 HSP27 (phospho Ser15) 항체 (abcam 사, Cat. ab76313) 를 사용하였다.

[0684] 검출된 HSP27 시그널에 대한, Ser82 또는 Ser15 인산화 HSP27 시그널의 비를, 각각, 도 20(a) 또는 도 20(b) 에 나타내었다. 항체 처리 샘플은 이중으로 실시하고, 평균값을 도면에 나타내었다.

[0685] LN22R8chIgG4P 항체 처리군에서는, 인산화 HSP27 시그널의 증가가 관찰되었다. CD147 인간 키메라 항체에 의해 유도된 p38 의 인산화에 의해 하류의 HSP27 의 인산화 활성화가 유도되고 있는 것으로부터, 항인간 CD147 인간 키메라 항체 LN22R8IgG4P 가 p38MAPK 시그널의 활성화를 유도하는 것을 알 수 있었다. 또, 췌장암 세포 MIA PaCa-2 에 있어서도 동일하게, p38MAPK 시그널의 활성화가 확인되었다.

[0686] (실시예 9) CD147 항체의 종양 내 p38 시그널의 활성화

[0687] in vitro 에서 관찰된 CD147 항체에 의한 p38MAPK 시그널의 활성화가, 마우스 피하에 형성한 종양 내에서도 일어나는지를 MIA PaCa-2 의 마우스 피하 종양으로 조사하였다. 5×10^6 세포의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 5 주령 암컷 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc＜scid＞/J, 닛폰 찰스・리버로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 5 일 후에 군나누기를 실시하고, 항인간 CD147 인간 키메라 항체 LN22R8chIgG4P 를 군나누기 후 당일에 10 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다. 항체 투여 후, 6, 24, 48, 72 시간 후에 종양을 채재 (採材) 하고, 드라이아이스로 동결 후, 냉동 보존하였다. 동결한 종양 조직으로부터의 샘플 조제 (n = 3) 에는, gentleMACS Octo Dissociator with Heaters (밀테니사) 를 사용하였다. 조제한 종양 라이세이트에 대해, Simple Western assays 법 (프로테인 심플 재팬 주식회사, Wes) 을 사용하여 해석하였다.

[0688] 검출된 p38MAPK 시그널의 평균값을 표준 오차와 아울러 도 21(a) 에 나타내었다. 검출된 인산화 p38MAPK 시그널의 평균값을 표준 오차와 아울러 도 21(b) 에 나타내었다. p38MAPK 시그널에 대한, 인산화 p38MAPK 시그널의 비의 평균값을 표준 오차와 아울러 도 21(c) 에 나타내었다. LN22R8chIgG4P 는, 투여 후 6 시간 내지 72 시간에서, 인산화 p38MAPK 의 비율을 증가시켰다. 24 시간 내지 72 시간에서는, p38MAPK 가 증가함으로써, 인산화 p38MAPK 의 시그널은 6 시간을 피크로 감소하고 있었다.

[0689] 마우스의 피하 종양 내에서도 CD147 키메라 항체 투여에 의한 p38 인산화의 상승, HSP27 인산화의 증가가 관찰되고, p38 시그널의 활성화가 일어나고 있는 것을 알 수 있었다.

[0690] (실시예 10) p38MAPK 하류의 분자 CXCL8 의 유도

[0691] p38MAPK 의 활성화에 의해, CXCL8 의 mRNA 안정화를 통한 유도 (Hoffmann et al., J. Leukoc. Biol., 847-855, 2002), SMAD3/4 시그널의 활성화가 보고되어 있다 (Leovonen et al., PLOS ONE, e57474, 2013). MIA PaCa-2 종양 내에서, 항체 투여 후에 CXCL8 의 유전자 발현이 유도되는지 항체 투여 후의 마우스 피하 종양으로부터 추출한 RNA 를 정량적 PCR 법에 의해 조사하였다. 마찬가지로 SMAD 시그널 활성화에 의해 유도되는 것이 보고되어 있는 RHOB 유전자 (Vasilaki et al., FASEB Journal, 891-905, 2010) 에 대해서도 CD147 항체 투여에 의한 변동을 조사하였다. 내재 대조 유전자로서, importin (ipo8) 유전자와 TATA box binding protein (tbp) 유전자의 발현을 측정하였다. 항인간 CD147 인간 키메라 항체를 투여하고, 72 시간 후의 MIA PaCa-2 종양을 채재하고, RNA later (QIAGEN 사, Cat. 76104) 로 처리한 후, RNeasy Mini Kit (250) (QIAGEN 사, Cat. 74106) 을 사용하고, RNA 를 추출하였다. 항인간 CD147 인간 키메라 항체로서, 실시예 1)-14 에서 제조한 LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2 또는 LN22R8chIgG4P 를 사용하였다. 정량적 RT-PCR 에는, EXPRESS One-Step SuperScript qRT-PCR kit Universal (Thermofisher scienticic, Cat. 11781-01K) 을 사용하고, 유전자 정량 프로브로서, importin (ipo8) (Thermo Fisher Scientific, Cat. Hs00183533__m1), TATA box binding protein (tbp) (Thermo Fisher Scientific, Cat. Hs00427621__m1), rashomolog family member B (rhoB) (Thermo Fisher Scientific, Cat. hs00269660__s1), interleukin 8 (Thermo Fisher Scientific, Cat. Hs00174103__m1) 을 각각 사용하였다. PCR 반응에 수반하는 유전자 특이적 형광 시그널의 증가를 ABIPrism7500 (Applied Biosystems 사) 를 사용하여 측정하였다.

[0692] 도 22(a) 에 ipo8/tbp 유전자의 발현비의 평균값 (n = 3) 을 표준 편차와 아울러 나타내었다.

[0693] 도 22(b) 에 cxcl8/tbp 유전자의 발현비의 평균값 (n = 3) 을 표준 편차와 아울러 나타내었다.

[0694] 도 22(c) 에 rhoB/tbp 유전자의 발현비의 평균값 (n = 3) 을 표준 편차와 아울러 나타내었다.

[0695] LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2 또는 LN22R8chIgG4P 투여 후에, ipo8 유전자의 발현은 변동하지 않았던 데 반해, 항인간 CD147 인간 키메라 항체 투여군에서의 cxcl8, rhoB 의 발현 유도가 확인되었다. cxcl8, rhoB 의 발현 유도는, 실시예 1)-18 에서 나타낸 인간 키메라 항체의 항종양 효과의 강도에 순응하고 있고, 양 유전자의 발현 유도가 항종양 효과와 상관할 가능성이 시사되었다.

[0696] (실시예 11) 항인간 CD147 래트 항체의 인간 키메라 항체화에 의한 항종양 효과의 증강에 있어서의, cxcl8, rhoB 유전자의 유도

[0697] 항인간 CD147 래트 항체 래트__CD147__#110 은, 실시예 2, 실시예 7 에 나타낸 바와 같이, 인간 키메라화에 의해 항종양 효과가 증강하였다. 인간 키메라 항체 LN22R8chIgG1, LN22R8chIgG2 또는 LN22R8chIgG4P 투여 후의 종양 중에서 관찰된 cxcl8, rhoB 의 유도에 대해, 14)-2 와 마찬가지로 래트__CD147__#110 과 키메라 항체 #110chIgG4P 를 비교하였다.

[0698] 도 23(a) 에 ipo8/tbp 유전자의 발현비의 평균값 (n = 3) 을 표준 편차와 아울러 나타내었다.

[0699] 도 23(b) 에 cxcl8/tbp 유전자의 발현비의 평균값 (n = 3) 을 표준 편차와 아울러 나타내었다.

[0700] 도 23(c) 에 rhoB/tbp 유전자의 발현비의 평균값 (n = 3) 을 표준 편차와 아울러 나타내었다.

[0701] ipo8 유전자의 발현은, 항체 투여에 의해 변동하지 않았다. cxcl8 유전자, rhoB 유전자의 발현은 래트__CD147__#110 의 투여에 의해, 항체 미투여군과 마찬가지로 변화가 보이지 않았던 데 반해, #110chIgG4P 에서의 cxcl8, rhoB 의 유도가 확인되었다. 양 유전자의 유도가 CD147 항체에 의한 항종양 효과와 상관하는 파라미터인 것이 시사되었다.

[0702] (실시예 12) SMAD4 음성 췌장암 담암 모델에 의한 평가

[0703] SMAD 시그널의 활성화에 중요한 분자의 하나로서, 전사 인자, SMAD4 가 알려져 있다 (Zang, et al., Current Biology, 270-276, 1997). 일부의 췌장암에서는, SMAD4 의 유전자적인 결손에 의해 SMAD 시그널이 부분적인 저해를 받고 있는 것이 알려져 있다 (Hahn, et al., Science, 350-353, 1996). SMAD4 가 결손하고, SMAD 시그널이 부분적으로 저해되어 있는 췌장암 세포주 BxPC-3 에 대해 (Yasutome et al., Clin. Exp. Metastasis, 461-473, 2005), CD147 항체가 항종양 효과를 나타내는지 조사하였다. 2.5×10^6 세포의 인간 췌장주 BxPC-3 (ATCC, Cat. CRL-1687) 을 100 % Matrigel (Corning 사, Cat. 354234) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 6 주령 암컷 BALB/c-nu마우스 (CAnN. Cg-Foxn1nu/CrlCrlj, 닛폰 찰스·리버로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 후 8 일 후에 군나누기를 실시하고, 이식 8, 15, 22 일 후에 마우스 항인간 CD147 항체 LN22R8R8, 또는 래트 항인간 CD147 항체 2P10F2 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 대조약으로서 췌장암의 치료약인 겜시타빈 (닛폰 일라이릴리사, 젬자르 (등록상표)) 을 이식 8, 15, 22 일 후에 200 mg/kg 으로 담암 마우스의 꼬리 정맥내 투여하였다 (n = 5). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0704] 종양 체적 (mm^3) = 1/2 × 단경 (mm) × 단경 (mm) × 장경 (mm)

[0705] 결과를 도 24 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다. BxPC-3 종양은, LN22R8 항체, 2P10F2 항체 및 겜시타빈에 내성이었다.

[0706] (실시예 13) SMAD4 도입에 의한 CD147 항체 감수성의 획득

[0707] 복수의 췌장암 세포주에서 SMAD4 를 도입함으로써 SMAD 시그널이 회복하는 것이 보고되어 있다. SMAD4 의 도입에 의해 회복한 SMAD 시그널에 의해 CD147 항체의 감수성이 증가하는지 조사하였다.

[0708] 13)-1 SMAD4 안정 발현 세포의 제조

[0709] Retro-X™ Q 벡터 키트를 이용하여 BxPC-3 의 SMAD4 안정 발현주를 제조하였다. 레트로바이러스 벡터 (다카라 바이오사, Retro-X™ Q Vector Set, Cat. 631516) 로서 키트에 포함되는 pQCXIP 의 클로닝 부위에 인공 합성에 의해 제조한 인간 SMAD4 유전자를 도입하고, SMAD4 발현 레트로바이러스 벡터로 하였다. Retro-X Universal Packaging System (다카라 바이오사, Cat. 631530) 을 이용하고, BxPC-3 에 SMAD4 발현 레트로바이러스 벡터를 도입하고, 퓨로마이신 (다카라 바이오사, Cat. 631306) 에 의해 바이러스 감염에 의해 염색체에 레트로바이러스가 삽입되고, 퓨로마이신 내성, SMAD4 양성이 된 BxPC-3 세포를 선택하고, SMAD4 양성 BxPC-3 세포, BxPC-3-SMAD4 로 하였다. 레트로바이러스 벡터 pQCXIP 를 동일하게 감염시키고, 퓨로마이신 내성이 된 BxPC-3 세포를 BxPC-3-mock 로 하였다. 레트로바이러스 감염 실험은 2 회 실시하고, BxPC-3-mock, BxPC-3-SMAD4 에 대해, lot. 1, lot. 2 를 제조하였다.

[0710] 13)-2 CD147 과 SMAD4 발현의 확인

[0711] BxPC-3 (ATCC, Cat. CRL-1687), 실시예 13)-1 에서 제조한 BxPC-3-mock, BxPC-3-SMAD4 에 대해, Simple Western assays 법 (프로테인 심플 재팬 주식회사, Wes) 을 사용하여 해석하였다. SMAD4 양성 대조 샘플로서, MIA PaCa-2 를 이용하였다. SMAD4 의 검출에는 항SMAD4 항체 (R&D systems, Cat. AF2097) 를 이용하였다. GAPDH 의 검출에는, 항 GAPDH 항체 (Abfrontier, Cat. LF-MA0026) 를 이용하였다. CD147 의 검출에는, 항 CD147 항체 (Abcam, Cat. Ab108317) 를 이용하였다.

[0712] 결과를 도 25(a) 에 나타내었다. MIA PaCa-2 는 SMAD4 양성, CD147 양성이었다. BxPC-3 은 SMAD4 음성, CD147 양성이었다. BxPC-3-mock 는, 레트로바이러스 감염에 의한 영향은 보이지 않고, SMAD4 음성, CD147 양성이었다. SMAD4 발현 레트로바이러스 벡터를 도입한, BxPC-3-SMAD4 는, lot. 1, lot. 2 모두 SMAD4 양성이었다. Lot. 2 의 SMAD4 발현이 높아, 후의 실험에는, lot. 2 를 BxPC-3-SMAD4 로서 이용하였다.

[0713] 13)-3 SMAD4 안정 발현한 BxPC-3 종양의 CD147 인간 키메라 항체에 대한 감수성

[0714] 2.5×10^6 세포의 BxPC-3-mock, 또는 BxPC-3-SMAD4 를 100 % Matrigel (Corning 사, Cat. 354234) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 5 주령 암컷 BALB/c-nu마우스 (CAnN. Cg-Foxn1nu/CrlCrlj, 닛폰 찰스·리버로부터 구입)

의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 BxPC-3-mock 이식 후 6 일 후에, BxPC-3-SMAD4 는 이식 후 3 일 후에 군나누기를 각각 실시하고, 군 나누기 실시 당일, 7, 14, 21, 28 일 후에 인간 키메라 항인간 CD147 항체 LN22R8R8chIgG2, 또는 LN22R8R8chIgG4P 10 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0715] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0716] 결과를 도 25(b), 도 25(c) 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다. BxPC-3-mock 종양은, LN22R8R8chIgG2, 또는 LN22R8R8chIgG4P 항체에 내성 또는, 저감수성이었다. BxPC-3-SMAD4 종양은, LN22R8R8chIgG2, 또는 LN22R8R8chIgG4P 항체에 부분적인 감수성을 나타내었다.

[0717] 13)-4 SMAD4 발현에 의한 종양 중 p38 시그널의 변화

[0718] SMAD4 음성의 췌장암 세포에서는, SMAD4 를 발현시킴으로써, p38 시그널이 증강하는 것이 보고되어 있다 (Chen et al., B.M.C., 1471-2407, 2014). BxPC-3-SMAD4 종양 중의 p38MAPK 와 인산화 p38MAPK 에 대해, 항인간 CD147 인간 키메라 항체 투여 (항체 투여 후 72 시간 후) 에 의한 변동에 대해, 실시예 13)-1 과 마찬가지로 Simple Western assays 법 (프로테인 심플 재팬 주식회사, Wes) 을 사용하여 해석하였다. 실시예 1)-18 의 항과 마찬가지로, 항인간 CD147 인간 키메라 항체로서, LN22R8chIgG4P 를 10 ㎎/㎏, MIA PaCa-2 피하 종양을 생착한 마우스에 투여하였다. 종양 조직으로부터의 샘플 조제 (n = 3) 에는, gentleMACS Octo Dissociator with Heaters (밀테니사) 를 사용하였다.

[0719] 도 26(a) 에 p38 MAPK 측정값에 대해, 3 개의 종양 샘플의 측정값의 평균값과 표준 오차를 아울러 그래프에 기재하였다. 도 26(b) 에 인산화 p38 MAPK 측정값에 대해, 3 개의 종양 샘플의 측정값의 평균값과 표준 오차를 아울러 그래프에 기재하였다.

[0720] BxPC-3-SMAD4 종양 중에서는, p38 과 인산화 p38 이 2 배 이상으로 증가하고 있었다. CD147 인간 키메라 항체 투여 후 72 시간 후에서는, p38 의 부분적인 감소, 인산화 p38 의 부분적인 증가가 관찰되었다.

[0721] 췌장암 세포 BxPC-3 의 종양에서는, SMAD4 의 발현에 의해, p38 시그널의 증강이 일어나는 것을 알 수 있었다. CD147 인간 키메라 항체 LN22R8chIgG4P 의 감수성 증가에, SMAD4 의존적인 p38 시그널의 증강이 기여하고 있을 가능성이 생각된다.

[0722] (실시예 14) 겜시타빈 내성 췌장암에 있어서의 키메라 CD147 항체의 항종양 효과

[0723] 겜시타빈 내성의 췌장암 종양 모델에서의 CD147 항체의 항종양 효과를 조사하였다. 5×10^6 세포의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 5 주령 암컷 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 찰스·리버) 의 액와부 피하에 이식하였다. 이식 6 일 후에 췌장암의 치료약인 겜시타빈 (닛폰 일라이릴리사) 을 400 ㎎/㎏ 복강내 투여하고, 1 주일 후에 증식이 확인된 겜시타빈 내성 종양을 형성한 마우스를 종양의 사이즈에 기초하여 군나누기를 실시하고, 대조군 (n = 5) 에는, 겜시타빈을 이식 후 13 일째 (군나누기일), 20 일째에 400 ㎎/㎏ 복강내 투여하였다. CD147 항체와 겜시타빈 병용 투여군 (n = 5) 으로서, 겜시타빈을 이식 후 13 일째 (군나누기일), 20 일째에 400 ㎎/㎏ 복강내 투여하는 것에 더하여, CD147 인간 키메라 항체 LN22R8chIgG4P 를 이식 후 13 일째 (군나누기일), 20 일째에 10 ㎎/㎏ 복강내 투여하였다. 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0724] 결과를 도 27 에 나타낸 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다. 겜시타빈 (Gemcitabin) 과 항체를 투여하고 있지 않은 미투여군 (non treatment) 의 종양 증식을 아울러 기재하였다 (n = 5).

[0725] 대조약의 겜시타빈의 투여군의, 종양의 평균 사이즈는, 이식 후 28 일 후에 1269 ㎣ 이고 퇴축하는 종양은 확인되지 않았던 데 반해, CD147 인간 키메라 항체 LN22R8chIgG4P 를 병용 투여한 군의 종양의 평균 사이즈는, 15 ㎣ 이고, 5 예 중 3예에서의 종양의 퇴축이 확인되었다. 이 결과로부터, 겜시타빈에 내성을 나타내고 증식하는 췌장암 종양에 대해서도 CD147 항체에 대한 감수성을 나타낼 가능성이 나타났다.

[0726] (실시예 15) 간장암 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과

[0727] 15)-1 Hep G2 세포에 있어서의 CD147 과 SMAD4 의 발현

[0728] 실시예 13)-2 와 마찬가지로, 간장암 세포주 HepG2 세포 (ATCC, Cat. HB-8065) 의 CD147 과 SMAD4 발현에 대해 확인하였다. CD147 양성의 대조 검체로서, MIA PaCa-2, BxPC-3 (ATCC, Cat. CRL-1687) 을 사용하였다. SMAD4 양성의 대조 검체로서, MIA PaCa-2, SMAD4 음성의 대조 검체로서, BxPC-3 을 각각 사용하였다.

[0729] 검출된 시그널에 대해, GAPDH 에 대한 시그널비를 구하고, 하기에 정리하였다. Hep G2 세포는, CD147, SMAD4 양성인 것을 알 수 있었다.

[0730] CD147/GAPDH 의 시그널비

[0731] MIA PaCa-2 0.481

[0732] BxPC-3 0.481

[0733] Hep G2 2.944

[0734] SMAD4/GAPDH 의 시그널비

[0735] MIA PaCa-2 0.329

[0736] BxPC-3 0.003

[0737] Hep G2 0.723

[0738] 15)-2 Hep G2 세포에 있어서의 CD147 의 플로우 사이토미터에 의한 발현 확인

[0739] HepG2 세포 (ATCC, Cat. HB-8065) 의 세포 표면에 발현하는 CD147 을 플로우 사이토미터에 의해 해석하였다. 인간 CD147 의 발현 확인에는, 시판되는 항인간 CD147 항체로서 APC 라벨된 항인간 CD147 마우스 IgG1 항체 MEM-M6/1-APC (Thermofisher, Cat. MA1-10104) 를 사용하였다. 마우스 IgG1 아이소타입 컨트롤 항체로서 mIgG1-APC (밀테니바이오사, Cat. 130-092-214) 를 사용하였다. HepG2 세포의 현탁액에, 1/10 량의 MEM-M6/1-APC 를 첨가하고, 4 ℃, 30 분간 처리하였다. 5 % FBS 를 포함하는 PBS 완충액으로 세포를 세정 후, 플로우 사이토미터 (CantoII, BD Bioscience 사) 의 측정을 실시하고, 도 28(a) 에 결과를 정리하였다.

[0740] MEM-M6/1-APC 로 처리한 Hep G2 세포는, 강한 형광 시그널을 나타내고, CD147 을 발현하고 있는 것을 알 수 있었다.

[0741] 15)-3 간장암 세포에 있어서의 인간화 CD147 항체에 의한 p38 활성화

[0742] 간장암 세포 HepG2 에 있어서, 항 CD147 항체가, p38MAPK 에 미치는 영향을 조사하기 위해서, 항인간 CD147 인간 키메라 항체 (LN22R8chIgG4P) 또는, 실시예 6)-4-2 에서 제조한 항인간 CD147 인간화 항체 (#84H1L2hIgG2, #84H1L2hIg4P, #101H1L2hIgG2, #101H1L2hIgG4P, #110H1L4hIg4P, #131H2L2hIgG2) 를 10 ㎍/㎖ 로 15 분간 처리한 HepG2 세포 (ATCC, Cat. HB-8065) 에 대해, P38 인산화를 Simple Western assays 법 (프로테인 심플 재팬 주식회사, Wes) 을 사용하여 평가하였다. 대조 샘플로서, HepG2 세포를 인간 IgG (hIgG, Jackson ImmunoResearch 사, 009-000-003) 10 ㎍/㎖ 를 동일하게 처리하고 해석에 제공하였다. p38 MAPK 의 검출에는, p38 MAPK 토끼 mAb (Cell signaling technology 사, Cat. #9212) 를 사용하였다. 인산화 p38MAPK 의 검출에는, P-p38 MAPK (T180/Y182) (D3F9) XP 토끼 mAb (Cell signaling technology 사, #4511S) 를 사용하였다. 검출된 p38MAPK 시그널에 대한, 인산화 p38MAPK 시그널의 비를 도 28(b) 에 나타내었다.

[0743] LN22R8chIgG4P, #84H1L2hIgG2, #84H1L2hIg4P, #101H1L2hIgG2, #101H1L2hIgG4P, #110H1L4hIg4P 또는 #131H2L2hIgG2 의 처리에 의해, 인간 IgG 처리군으로부터 2 배 이상의 인산화 p38 MAPK 시그널의 증가가 관찰되고, 간장암 세포에서도 췌장암 세포와 동일하게 항인간 CD147 항체에 의해 p38MAPK 의 인산화가 유도되고 있는 것을 알 수 있었다.

[0744] 15)-4 간장암에 있어서의 인간화 CD147 항체와 솔라페닙의 항종양 효과의 비교

[0745] CD147 과 SMAD4 양성에서, 항인간 CD147 항체에 의한 p38 의 인산화가 확인된 인간 간장주 HepG2 (ATCC, Cat. HB-8065) 에 대해, 항인간 CD147 인간 키메라 항체와 인간화 항체의 항종양 효과를 검토하였다.

[0746] 5×10^6 세포의 인간 간장주 HepG2 를 50 % Matrigel (Corning 사, Cat. 354234) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 4 주령 암컷 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 찰스·리버로부터 구입) 의 액와부 피하

에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 후 9 일 후에 군나누기를 실시하고, 인간 키메라 CD147 항체 (LN22R8chIgG4P), 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#84H1L2hIgG2, #84H1L2hIg4P, #110H1L4hIg4P) 를 1 mg/kg, 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에 투여하였다 (n = 5). 대조약으로서 간장암의 치료약인 솔라페닙 (넥사바정 200 mg, 바이엘 약품 주식회사) 을 넥사바정 첨부 문서의 참고 문헌 (Chang et. al., Cancer Chem. Thera. Pharm., 2007) 에 따라서 PEG-35 피마자유 (Cremophor EL, 나칼라이테스크사, Cat. 09727-14) 에탄올 용매에 용해하고, 이식 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18 일 후에 30 mg/kg, 90 mg/kg 으로 담암 마우스에 경구 투여하였다 (n = 5). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0747] 종양 체적 (mm^3) = 1/2 × 단경 (mm) × 단경 (mm) × 장경 (mm)

[0748] 결과를 표 7 및 도 29(a) ~ (d) 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0749] 솔라페닙 투여는, 종양 증식의 부분적인 저해가 관찰되었지만, 종양의 소실은 확인되지 않았다. LN22R8chIgG4P, #84H1L2hIgG2, #84H1L2hIg4P, #110H1L4hIg4P 는, 모두 종양의 소실을 수반하는 우수한 항종양 효과를 나타내었다.

표 7

[0750]

군 구성 · 투여 (1 군 : 5 마리)	종양의 평균 용적 (mm^3)	종양 증식 억제율 (%)	종양의 완전 축퇴에 수
미처치	1740	0	0/5
비히클, qD1x9 po	1576	9	0/5
솔라페닙 30mg/kg, qD1x9 po	1425	18	0/5
솔라페닙 90mg/kg, qD1x9 po	1252	28	0/5
LN22R8chIgG4P, 1 mg/kg, 단회 투여 ip	664	62	0/5
LN22R8chIgG4P, 10 mg/kg, 단회 투여 ip	13	99	2/5
#84H1L2hIgG2, 1 mg/kg, 단회 투여 ip	456	74	0/5
#84H1L2hIgG2, 10 mg/kg, 단회 투여 ip	339	81	4/5
#84H1L2hIgG4P, 1 mg/kg, 단회 투여 ip	471	73	0/5
#84H1L2hIgG4P, 10 mg/kg, 단회 투여 ip	6	100	4/5
#110H1L4hIgG4P, 1 mg/kg 단회 투여 ip	410	76	0/5
#110H1L4hIgG4P, 10 mg/kg, 단회 투여 ip	257	85	2/5

[0751] (실시예 16) T 세포 및 PBMC 에 대한 작용

[0752] CD147 은 T 세포의 활성화에 수반하여 CD4 양성, CD8 양성의 T 세포에서 발현이 상승하고 (Hu et al., J. Cell. Mol Med., 2132-2143, 2010), 일부의 CD147 항체에서는, T 세포의 활성화 유도능이나 증식을 저해하는 효과가 보고되어 있다 (Koch et al., Int. Immunology, 777-786, 1999 ; Chiampanichayakul et al., Immunology 167-178, 2006). 이펙터 기능에 의존하지 않고, 강한 항종양 효과를 나타내는 항인간 CD147 항체가, T 세포를 포함하는 말초혈 림프구 (PBL) 에 미치는 영향을 조사하였다.

[0753] 16)-1 PBMC 의 CD3/CD28 자극에 의한 CD147 의 발현 상승

[0754] CD147 의 발현이 T 세포의 활성화에 수반하여 상승하는지, 인간 PBMC 를 사용하여 조사하였다. 인간 PBMC 를 10 % FBS 를 포함하는 RPMI1640 배지에서, 37 ℃, 5 % CO2 존재하에서 배양하였다. 배양 시에, Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 (CD3/CD28 beads, Thermofishers scientific 사, Cat. 1131D) 을 첨가하여 증식을 유도하고, 4 일 후에 플로우 사이토미터의 해석을 실시하고, CD147 의 발현이 변화하는지 조사하였다. 인간 CD147 의 발현 확인에는, 시판되는 항인간 CD147 항체로서 APC 라벨된 항인간 CD147 마우스 IgG1 항체 MEM-M6/1-APC (CD147-APC, Thermofisher, Cat. MA1-10104) 를 사용하였다. 마우스 IgG1 아이소타입 컨트롤 항체로서 mIgG1-APC (밀테니바이오사, Cat. 130-092-214) 를 사용하였다. 인간 PBMC 에 포함되는 T 세포의 CD3, CD4, CD8 을 검출하기 위해서, APC/Fire™ 750 항 인간 CD3 항체 (BioLegend 사 제조, Cat. 344840), PerCP/Cy5.5 항 인간 CD4 (BioLegend 사 제조, Cat. 344608), Brilliant Violet 510 항 인간 CD8 (BioLegend 사 제조, Cat. 344732) 을 사용하였다.

[0755] CD3, CD4 양성의 세포 및 CD3, CD8 양성의 세포에 있어서의 CD147-APC 의 결합을 도 30 에 정리하였다. CD3, CD4 양성의 세포 및 CD3, CD8 양성의 세포에 있어서, CD3/CD28 비드 자극했을 경우에, CD147 의 발현 상승이 확인되고, T 세포의 활성화에 수반하여 CD147 의 T 세포막 표면 상의 발현이 상승하는 것이 확인되었다.

[0756] 16)-2 인간 말초혈 단핵구의 증식에 있어서의 항인간 CD147 항체 작용의 평가

[0757] 인간 말초혈 단핵구 (PBMC) 의 증식에 있어서의 항인간 CD147 항체 작용을 해석하였다. 항인간 CD147 항체로서, 2P10F2chIgG4P 를 사용하였다. CellVue Claret Far Red Fluorescent Cell Linker Kit (sigma, Cat. MIDCLARET-1 KT) 를 사용하여, PBMC 를 형광 라벨한 후에, 10 % FBS 를 포함하는 RPMI1640 배지에서, 37 ℃, 5 % CO2 존재하에서 배양하였다. 배양 시에, IL-2, Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 (CD3/CD28 beads, Thermofishers scientific 사, Cat. 1131D) 을 첨가하고 증식을 유도했을 때에 2P10F2chIgG4P (10 ㎍/㎖) 를 첨가하여, 증식에 대한 영향을 조사하였다. 배양 3 일, 5 일째에, 세포 분열에 의해 감소한 PBMC 세포 형광 시그널에 대해 플로우 사이토미터 (CantoII, BD Bioscience 사) 를 사용한 측정을 실시하고, 도 31 에 결과를 정리하였다.

[0758] CD3/CD28 비드의 첨가에 의해, 세포 분열에 의해 감소한 PBMC 세포 형광 시그널이, 배양 3 일 후, 5 일 후에 관찰되었다. IL-2, 2P10F2chIgG4P, 또는 IL-2 와 2P10F2chIgG4P 를 배양 시에 첨가했을 경우에, 형광 시그널의 감소에 변화는 보이지 않았다. 실시예 1)-18 에서 나타낸 인간 췌장암의 마우스 종양 모델에 있어서 강한 항종양 효과를 나타낸 항인간 CD147 인간 키메라 항체 2P10F2chIgG4P 는, PBMC 의 증식에는, 영향을 주지 않는 것이 시사되었다.

[0759] 16)-3 인간 말초혈 림프구의 사이토카인 산생에 있어서의 항인간 CD147 항체의 평가

[0760] 항인간 CD147 항체로서, 인간 키메라 항체 #84chIgG1, #84chIgG2, #84chIgG4P, #84chIgG1LALA, #84chIgG4PFALA, #101chIgG4P 또는 #110chIgG4P 를 사용하였다. 인간 말초혈로부터 Ficoll-Paque PLUS (GE 헬스케어 · 재팬 주식회사) 를 사용하여, PBL 을 조제하였다. 96 웰 플레이트에 10 ㎍/㎖ 의 인간 키메라 항체를 코트하였다. 음성 컨트롤 항체로서 인간 IgG (hIgG, Jackson ImmunoResearch 사, 009-000-003), T 세포의 활성화나 사이토카인 유도를 유도하는 양성 컨트롤 항체로서 Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 (CD3/CD28-beads, Thermofishers scientific 사, Cat. 1131D) 을 사용하였다. 항체를 코트한 웰에 1 x 10^6 의 PBL 을 첨가하고, 24 시간 후에, 배지 중의 사이토카인 (IL2, TNFα, INFγ) 을 측정하였다. Dynabeads Human T-Activator CD3/CD28 은, PBL 을 첨가한 웰에 직접 첨가하고, 동일하게 24 시간 후에, 배지 중의 사이토카인 (IL2, TNFα, INFγ) 을 측정하였다. IL2 의 측정에는, Quantikine ELISA Human IL-2 (R&D systems, Cat. D2050) 를 사용하였다. TNFα 의 측정에는, Amersham TNF-α Human, Biotrak Easy ELISA (GE 헬스케어 · 재팬 주식회사, Cat. RPN5967) 를 사용하였다. INFγ 의 측정에는, Human IFN-γ ELISA development kit (MABTECH 사, Cat. 3420-1H-6) 를 사용하였다. 측정은 삼중으로 실시하고, 검출된 흡광도의 평균값과 표준 편차를 산출하고, 도 32 에 정리하였다.

[0761] 측정한 PBL 로부터 산생된 사이토카인 (IL2, TNFα, INFγ) 은, 모두 양성 컨트롤인 CD3/CD28-비드를 첨가한 웰에서의 배양에서만 상승이 확인되고, 어느 항인간 CD147 인간 키메라 항체 코트한 웰에서의 배양에서도, 음성 컨트롤인 hIgG 와 마찬가지로 사이토카인의 상승은 확인되지 않았다.

[0762] (실시예 17) 인간화 #110Fab'-CD147 복합체의 X 선 결정 구조 해석

[0763] 17)-1 복합체의 결정화

[0764] 인간화 #110H1L4hIgG4P 를 펩신 (Pepsin) 에 의해 절단하여 얻어진 Fab'2 를, 디티오트레이톨 (Dithiothreitol) 로 환원한 후, 아이오도아세타마이드 (Iodoacetamide) 에 의해 알킬화함으로써 Fab' 단편을 취득하였다. 이 Fab' 단편과 실시예 5) 에서 사용한 hCD147v2(22-205) 의 혼합물을 Superdex 10/300GL Increase 칼럼 (GE Healthcare) 을 사용한 겔 여과 크로마토그래피에 공여하고, 복합체 획분을 취득하였다. 복합체는 AmiconUltra15 MWCO 10K (밀리포어사 제조) 로 완충액 (10 mM Tris HCl pH 7.5, 50 mM NaCl) 으로 치환하고, 13 g/ℓ 로 농축하였다. 복합체 용액을 증기 확산법에 의해 결정화하였다. 단백질 용액 0.5 ㎕ 에 침전제 용액 (0.1 M NaMalonate pH 7.0, 12 % (w/v) 폴리에틸렌 글리콜 3350) 을 등량 첨가한 용액을, 0.05 ㎖ 의 침전제 용액을 넣은 밀폐 용기에 양쪽 용액이 접촉하지 않도록 넣고, 25 ℃ 에서 정치 (靜置) 하였다. 약 1 주일 후에 얻어진 0.15 ㎜ × 0.15 ㎜ × 0.3 ㎜ 의 결정을 30 % (w/v) 가 되도록

[0765] 폴리에틸렌 글리콜 400 (Polyethylene Glycol 400) 을 첨가한 침전제 용액에 담그고 나서 액체 질소로 동결하였

다. 방사광 시설 포톤 팩토리 (이바라키현, 일본) 의 빔 라인 PF-BL17A 로 X 선 회절 데이터를 수집하였다.

얻어진 회절상으로부터 소프트웨어 mosflm (CCP4 : Collaborative Computational Project No.4) 를 사용하여 회절 강도를 수치화하고, 결정 구조 인자를 구하였다. 결정의 공간군은 P21, 결정의 단위격자는 (a = 64.96 Å, b = 93.37 Å, c = 98.31 Å, 알파 (alpha) = 감마 (gamma) = 90, 베타 (beta) = 90.89) 였다.

[0766] 17)-2 복합체의 구조 해석

[0767] 얻어진 구조 인자와 Fab' 단편의 호몰로지 모델 및 인간 CD147 의 이미 알려진 구조 (PDBID : 3b5h) 의 삼차원 구조 좌표를 사용하여 분자 치환법을 실시하고, 위상을 결정하였다. 계산에는 소프트웨어 phaser (CCP4 : Collaborative Computational Project No.4) 를 사용하였다. 결정은 비대칭 단위에 2 개의 복합체를 포함하고 있었다. 소프트웨어 Refmac5 (CCP4 : Collaborative Computational Project No.4) 를 사용하여 구조의 정밀화를 실시하고, 소프트웨어 coot 를 사용하여 모델의 수정을 실시하였다. 이 조작을 반복 실시하고, 2.3 Å 분해능으로 최종의 R 값 23 %, 프리 R (free R) 값 28 % 를 얻었다. 최종 모델은 인간화 #110H1L4 의 Fab' 단편을 2 개와, 각각에 결합하는 hCD147v2 를 포함한다. 또한, 편방의 hCD147v2 에 대해서는 아미노산 잔기 23-203 에 상당하는 전자 밀도가 확인되었지만, 다른 편방에 대해서는 도메인 1 에 상당하는 전자 밀도는 명료하지 않고, 아미노산 잔기 103-202 에 상당하는 전자 밀도만 확인되었다.

[0768] 17)-3 에피토프의 특정

[0769] 비대칭 단위에 포함되는 2 개의 복합체에 있어서 공통되어 인간화 #110H1L4 의 Fab' 단편의 결합면으로부터 4 Å 이내에 있는 hCD147v2 의 아미노산 잔기는 이하와 같다 : Arg106, Lys108, Ala109, Val110, Lys127, Ser128, Glu129, Ser130, Val131, Pro132, Pro133, Val134, Gln164, Gly165. 도 41 에 복합체 전체의 리본 모델과 표면을, 도 42 에 hCD147v2 와 인간화 #110H1L4 의 상호 작용을 나타내었다.

[0770] (실시예 18) 위암 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과

[0771] 플로우 사이토미터에 의해 CD147 양성이 확인된 인간 위암 세포주 KATO III 세포 (ATCC, Cat. HTB-103) 에 대해, 항인간 CD147 인간 키메라 항체와 인간화 항체의 항종양 효과를 검토하였다.

[0772] 5×10^6 세포의 인간 위암주 KATO III 을 100 % Matrigel (Corning 사, Cat. 354234) 로 현탁하고, 5 주령 암컷의 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 쿠레아로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다.

종양 체적을 기초로 이식 후 3 일 후에 군나누기를 실시하고, 인간 키메라 CD147 항체 (LN22R8chIgG4P), 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#110H1L4hIg4P) 를 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에, 군나누기 후 7 일마다 투여하였다 (n = 6). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0773] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0774] 결과를 도 43 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0775] 미처리군의 마우스의 종양의 평균 체적은, 이식으로부터 24 일 후에 290 ㎣ 인 데 반해, LN22R8chIgG4p 투여군에서는, 199 ㎣, #110H1L4hIgG4P 투여군의 것에서는, 134 ㎣ 이고, 산출된 항종양 효과는, LN22R8chIgG4p 투여군에서 31 %, #110H1L4hIgG4P 투여군에서는, 54 % 였다.

[0776] (실시예 19) 만성 골수성 백혈병 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과

[0777] 플로우 사이토미터에 의해 CD147 양성이 확인된 인간 만성 골수성 백혈병 세포주 KU812 세포 (ATCC, Cat. CRL-2099) 에 대해, 항인간 CD147 인간화 항체의 항종양 효과를 검토하였다.

[0778] 5×10^6 세포의 만성 골수성 백혈병 세포주 KU812 를 50 % Matrigel (Corning 사, Cat. 354234) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 5 주령 암컷의 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 쿠레아로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 후 3 일 후에 군나누기를 실시하고, 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#110H1L4hIg4P) 를 10 mg/kg 으로 담암 마우스의 복강내에, 군나누기 후 7 일마다 투여하였다 (n = 5). 대조약으로서 만성 골수성 백혈병의 치료약인 이마티닙 (ASTATECH 사, Cat. #63168) 을 9 mg/㎖ 용액에 증류수로 조제하고, 90 mg/kg 으로 담암 마우스에 경구 투여하였다 (토일 제외한 연속 투여, 이식 후 4, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 21, 22, 23, 24 일 후에 투여). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내

는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0779] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0780] 결과를 도 44 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0781] 미처리군의 마우스의 종양의 평균 체적은, 이식으로부터 25 일 후에 627 ㎣ 인 데 반해, 이마티닙 투여군에서는, 328 ㎣, #110H1L4hIgG4P 투여군의 것에서는, 6 ㎣ 이고, 산출된 항종양 효과는, 이마티닙 투여군에서 48 %, #110H1L4hIgG4P 투여군에서는, 97 % 였다. #110H1L4hIgG4P 투여군에서만, 5 예 중 4 예에서 종양의 완전 축퇴가 관찰되었다.

[0782] (실시예 20) 대장암 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과

[0783] 플로우 사이토미터에 의해 CD147 양성이 확인된 인간 대장암 세포주 SW620 세포 (ATCC, Cat. CCL-227) 에 대해, 인간화 항체의 항종양 효과를 검토하였다.

[0784] 5×10^6 세포의 인간 대장암주 SW620 을 100 % Matrigel (Corning 사, Cat. 354234) 로 현탁하고, 5 주령 암컷의 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 쿠레아로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 후 3 일 후에 군나누기를 실시하고, 인간 키메라 CD147 항체 (LN22R8chIgG4P), 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#084H1L2hIg4P 혹은 #110H1L4hIg4P) 를 10 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스의 복강내에, 군나누기 후 7 일마다 투여하였다 (n = 5). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0785] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0786] 결과를 도 45 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0787] 미처리군의 마우스의 종양의 평균 체적은, 이식으로부터 21 일 후에 1302 ㎣ 인 데 반해, #084H1L2hIg4P 투여군에서는, 709 ㎣, #110H1L4hIgG4P 투여군의 것에서는, 403 ㎣ 이고, 산출된 항종양 효과는, #084H1L2hIg4P 투여군에서 46 %, #110H1L4hIgG4P 투여군에서는, 69 % 였다.

[0788] (실시예 21) 신장암 786-O 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과

[0789] 플로우 사이토미터에 의해 CD147 양성이 확인된 인간 신장암 786-O 에 대해, 인간화 항체의 항종양 효과를 검토하였다.

[0790] 5×10^6 세포의 인간 신장암 786-O 를 50 % Matrigel (Corning 사, Cat. 354234) 로 현탁하고, 5 주령 암컷의 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 쿠레아로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 후 3 일 후에 군나누기를 실시하고, 인간 키메라 CD147 항체 (LN22R8chIgG4P), 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#084H1L2hIg4P 혹은 #110H1L4hIg4P) 를 10 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스의 복강내에, 군나누기 후 7 일마다 합계 4 회 투여하였다 (n = 6). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0791] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0792] 결과를 도 46 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0793] 미처리군의 마우스의 종양의 평균 체적은, 이식으로부터 31 일 후에 918 ㎣ 인 데 반해, #084H1L2hIg4P 투여군에서는, 224 ㎣, #110H1L4hIgG4P 투여군의 것에서는, 379 ㎣ 이고, 산출된 항종양 효과는, #084H1L2hIg4P 투여군에서 76 %, #110H1L4hIgG4P 투여군에서는, 59 % 였다.

[0794] (실시예 22) 급성 골수성 백혈병 (AML) 모델에 있어서의 인간화 CD147 항체의 항종양 효과

[0795] 플로우 사이토미터에 의해 CD147 양성이 확인된 인간 AML 세포주 OCI-AML3 세포 (DSMZ, Cat. ACC 582) 에 대해, 인간화 항체의 항종양 효과를 검토하였다.

[0796] 5×10^6 세포의 인간 AML 세포주 OCI-AML3 세포를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 로 현탁하고, 5 주령 암컷의 NOD-scid 마우스 (NOD. CB17-Prkdc<scid>/J, 닛폰 쿠레아로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 이식 후 3 일 후에 군나누기를 실시하고, 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#110H1L4hIg4P) 를 꼬리 정맥 주사에 의해, 10 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스로 군나누기 후 7 일마다 투여하였다 (n = 6). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0797] 종양 체적 (㎣) = 1/2 × 단경 (㎜) × 단경 (㎜) × 장경 (㎜)

[0798] 결과를 도 47 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0799] 미처리군의 마우스의 종양의 평균 체적은, 이식으로부터 21 일 후에 1533 ㎣ 인 데 반해, #110H1L4hIgG4P 투여군 것에서는, 394 ㎣ 이고, 산출된 항종양 효과는, #110H1L4hIgG4P 투여군에서는, 74 % 였다.

[0800] (실시예 23) 결합성이 상이한 인간화 항 CD147 항체의 활성 측정

[0801] 5×10^6 세포의 인간 췌장주 MIA PaCa-2 를 50 % GFR-Matrigel (Corning 사, Cat. 354230) 을 포함하는 PBS 로 현탁하고, 4 주령 암컷의 Nude 마우스 (BALB/c Slc-nu/nu, 닛폰 에스엘씨 (주) 로부터 구입) 의 액와부 피하에 이식하였다. 종양 체적을 기초로 군나누기를 하고, 이식 7 일 후에 실시예 6)-4-2 에서 제조한 CD147 단백질에 대한 결합성이 상이한 3 종의 인간화 CD147 항체 (#110H1L4hIgG4P, #110H13L02hIgG4P 및 #110H13L12hIgG4P, 표 6 에 결합성을 기재) 를 10 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스에 꼬리 정맥 투여하였다 (n = 6). 대조약으로서 췌장암의 치료약인 겜시타빈 (닛폰 일라이릴리사로부터 구입) 을 이식 3, 10 일 후에 400 ㎎/㎏ 으로 담암 마우스에 꼬리 정맥 투여하였다 (n = 6). 이식 종양의 장경 및 단경을 주 2 회, 전자 디지털 노기스 (주식회사 미츠토요 제조) 를 사용하여 측정하고, 이하에 나타내는 계산식에 의해 종양 체적을 산출하였다.

[0802] 결과를 도 48 에 나타내었다. 그래프에는 종양 체적의 변화에 대해, 평균값과 표준 오차를 아울러 기재하였다.

[0803] 대조약의 겜시타빈의 종양 증식 억제율은, 66 % 였던 데 반해, 어느 인간화 CD147 항체도, 10 ㎎/㎏ 투여군에서 겜시타빈보다 우수한 항종양 효과를 나타내었다.

[0804] (실시예 24) CD147 항체의 비교

[0805] 24)-1 기존의 항 CD147 항체의 항원 결합성 평가

[0806] 경합 항체로서, WO2010/036460 의 4A5, 5F6 항체, WO2017/061602 의 PPAT-082-03 의 특허 기재 서열에 기초하여, 정제 항체를 조제하였다. CD147 단백질과의 해리 정수 측정은, Biacore T200 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 을 사용하고, Human Antibody Capture Kit (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 사용하여 고정화한 항 인간 IgG(Fc) 항체에 항체를 리간드로서 포착 (캡처) 하고, 항원을 아날라이트로서 측정하는 캡처법으로 실시하였다. 러닝 버퍼로서 HBS-EP+ (GE Healthcare Bioscience 사 제조), 센서 칩으로서 CM5 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 사용하였다. 칩 상에 1 ㎍/㎖ 의 경합 항체를 10 ㎕/분으로 60 초간 첨가한 후, 실시예 2)-5 에서 사용한 항원의 희석 계열 용액 (0.5 ~ 8 ㎍/㎖) 을 유속 30 ㎕/분으로 120 초간 첨가하고, 계속해서 300 초간의 해리상을 모니터하였다. 재생 용액으로서, 3M 마그네슘클로라이드 (GE Healthcare Bioscience 사 제조) 를 유속 20 ㎕/분으로 30 초간 첨가하였다. 데이터의 해석에는 1 : 1 결합 모델을 사용하여, 결합 속도 정수 ka, 해리 속도 정수 kd 및 해리 정수 (KD ; KD = kd/ka) 를 산출하였다.
인간화 CD147 항체 (#084H1L2hIgG4P 혹은 #110H1L4hIgG4P) 의 해리 정수는, 실시예 7)-1 의 방법으로 산출하였다.

[0807] 표 8 에는, 산출한 해리 정수, 이펙터 기능, 에피토프 영역에 관한 정보를 나타낸다.

표 8

[0808]

항체	항체 포맷	KD (nM)	이펙터 기능	에피토프 영역
#110H1L4h	인간 IgG4P	8.60	ADCC (-) CDC (-) ADCP (±)	서열번호 3 (인간 CD147 의 베어리언트 2)의 Arg106 부터 Gly165
#084H1L2h	인간 IgG4P	242	ADCC (-) CDC (-) ADCP (+)	서열번호 3 (인간 CD147 의 베어리언트 2)의 Asp65 부터 Gln81 근방
4A5	마우스 IgG2a	132	ADCC (+) CDC (+) ADCP (+)	#084H1L2h IgG4P 에 경합
5F6	인간 IgG1	71.9	ADCC (+) CDC (-) ADCP (+)	#084H1L2h IgG4P 에 경합
PPAT-082-03	인간 IgG1	33.2	ADCC (+) CDC (-) ADCP (+)	#084H1L2h IgG4P 에 경합

[0809] 24)-2 기존의 CD147 항체와의 경합 ELISA

[0810] 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#084H1L2hIg4P 혹은 #110H1L4hIg4P) 를 사용하고 리콤비넌트 인간 CD147/Fc (Sino Biological 사, Cat. 10186-H02H) 에 대한 결합성을 경합 ELISA 로 평가하였다. 경합 항체로서, 24)-1 에서 조제한 4A5, 5F6항체, PPAT-082-03 항체를 사용하였다. 경합 음성 대조 항체로서, 인간 IgG (잭슨사, Cat. 130093) 를 사용하였다. 경합 양성 대조 항체로서, #084H1L2hIg4P 항체에 대해, #84H1L2hIgG2 항체, #110H1L4hIg4P 에 대해 #110chIgG2 항체를 사용하였다.

[0811] 96 웰 플레이트 (서모 사이언티픽사, Cat. 43454) 에 PBS 로 희석한 리콤비넌트 인간 CD147/Fc 를 2 ug/㎖, 50 ㎕/well 로 첨가하고, 4 ℃ 에서 하룻밤 보존하였다. 단백 용액을 제거한 후에 1 % BSA 를 포함하는 PBS 를 300 ㎕ 첨가하고, 1 시간 실온에서 가온하였다. 용액을 제거하고, 25 ㎕ 의 기존의 항체액 (0, 0.2, 2, 20 ug/㎖) 을 첨가하고, 2 시간 실온에서 가온하였다. 20 ng/㎖ 농도의 25 ㎕ 의 인간화 CD147 항체 (#084H1L2hIg4P 혹은 #110H1L4hIg4P) 를 각 웰에 첨가하고, 2 시간 실온에서 가온하였다. 0.05 % 트윈20 (BIO RAD 사, Cat. 170-6531) 을 포함하는 PBS 로 2 회 세정한 후, 50 ㎕ 의 1 % BSA 를 포함하는 PBS 로 2000 배 희석한 항인간 IgG4-HRP (압캠사, Cat. ab99823) 를 첨가하고, 1 시간 실온에서 가온하였다. 0.05 % 트윈20 (BIO RAD 사, Cat. 170-6531) 을 포함하는 PBS 로 3 회 세정한 후, 충분히 세정액을 없애고, HRP 기질액 (eBioscience 사, Cat. 00-4203-58) 을 50 ㎕ 첨가하고, 15 ~ 20 분 실온에서 가온 후, 405 nm 의 흡광도를 플레이트 리더 (퍼킨엘머사, 모델명 EnVision2104) 로 측정하였다.

[0812] 결과를 표 8 및 도 49(a), (b) 에 나타낸다.

[0813] #084H1L2hIG4P 의 리콤비넌트 인간 CD147/Fc 로의 결합은, hIgG 존재하에서는 1 ~ 10 ug/㎖ 의 기존의 CD147 항체 존재하에서 저해되었다. #110H1L4hIG4P 의 리콤비넌트 인간 CD147/Fc 로의 결합은, hIgG 존재하에서는, 0.1 ~ 10 ug/㎖ 의 기존의 CD147 항체 존재하에서 저해되지 않고, #110chIgG2 항체의 존재하에서 저해되었다. #084H1L2hIG4P 의 에피토프는, 기존의 항 CD147 항체의 결합에 의해 경합을 받지만, #110H1L4hIG4P 의 에피토프는 기존의 항 CD147 항체의 결합에 의해 영향을 받지 않는 것을 알 수 있었다.

[0814] 실시예 17)-3 에서 나타낸 H110H1L4h 항체의 에피토프 정보를 표 8 에 기재하였다. 실시예 1)-9 의 CD147 변이체를 사용한 해석으로 에피토프가 추정된 2P10F2 항체와의 결합 경합성 시험 결과 (실시예 2)-8) 로부터, #084H1L2h 의 에피토프 영역을 추정하고, 표 8 에 기재하였다.

[0815] 24)-3 항 CD147 항체의 ADCC 평가

[0816] 실시예 1)-15 의 수법에 따라서, 항 CD147 항체의 ADCC 활성을 평가하였다. 실시예 1)-15 의 수법과 상이한 조건으로서, ADCC 표적 세포로서 HepG2 세포 (ATCC, Cat. HB-8065) 를 사용하고, CD147 항체로서 #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIg4P, 4A5, 5F6, PPAT-082-03 을 1 ㎍/㎖ 의 농도로 평가하였다. 측정은 삼중으로 실시하고, 평균값, 표준 편차를 산출하였다. 5 % 이상의 세포의 ^{51}Cr 이 검출되었을 경우에, ADCC 양성 (+) 으로 하였다. 5 % 미만의 경우를 ADCC 활성 음성 (-) 으로 하였다. 결과를 표 8 에 나타내었다.

[0817] #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIg4P 는, ADCC 활성이 검출되지 않고, ADCC (－) 로 판정하였다. 4A5, 5F6, PPAT-082-03 은, 5 % 이상의 세포의 ^{51}Cr 이 검출되고, ADCC 양성 (＋) 으로 하였다. #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIg4P 는, ADCC 음성이고, 인간의 생체내에서 CD147 을 발현하고 있는 혈액 세포 등의 정상 세포에 대하여 세포사를 유도할 가능성이, ADCC 활성 양성의 4A5, 5F6, PPAT-082-03 보다 낮은 것이 예측된다.

[0818] 24)-4 항 CD147 항체의 CDC 평가

[0819] 실시예 1)-16 의 수법에 따라서, 항인간 CD147 항체에 의한 보체 의존적인 살세포 활성 (CDC 활성) 을 평가하였다. 실시예 1)-16 의 수법과 상이한 조건으로서, 표적 세포로서 인간 간장주 HepG2 세포 (ATCC, Cat. HB-8065) 를 사용하고, 항인간 CD147 항체로서, #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIg4P, 4A5, 5F6 및 PPAT-082-03 을 사용하고, 토끼 보체를 종농도 8 % 가 되도록 첨가하고, 측정하였다. 측정은 삼중으로 실시하고, 평균값과 표준 편차를 산출하였다. 30 % 이상의 항체 의존적인 CDC 활성이 확인된 항체에 대해서는, CDC 활성 양성으로 하고, 표에 CDC (＋) 라고 기재하였다. 결과를 표 8 에 나타내었다. 항인간 CD147 항체는, 4A5 만 CDC 활성 양성을 나타내었다. #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIg4P, 5F6, PPAT-082-03 은, CDC 음성이고, 인간의 생체내에서 CD147 을 발현하고 있는 혈액 세포 등의 정상 세포에 대하여 세포사를 유도할 가능성이, CDC 활성 양성의 4A5 보다 낮은 것이 예측된다.

[0820] 24)-5 항 CD147 항체의 ADCP 평가

[0821] 실시예 1)-17 의 수법에 따라서, 항 CD147 항체의 ADCP 활성을 측정하였다. 실시예 1)-17 의 수법과 상이한 조건으로서, 표적 세포로서 인간 간장주 HepG2 세포 (ATCC, Cat. HB-8065) 를 사용하고, 항 CD147 항체로서 #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIg4P, 4A5, 5F6, PPAT-082-03 을 1 ㎍/㎖ 의 농도로 첨가하고, 표지한 RAW264.7 세포는 ADCP 표적 세포의 등량 첨가하고, ADCP 활성을 측정하였다. 측정은 삼중으로 실시하고, 평균값, 표준 편차를 산출하고, 인간 IgG 처리군에서 10 % 미만의 ADCP 활성 상승을 약양성 (±), 10 % 이상의 활성 상승을 양성 (＋) 으로서 표 8 에 나타내었다.

[0822] #110H1L4hIgG4P 의 ADCP 활성은 10 % 미만이고 ADCC 활성 ± 로 판정하였다. #084H1L2hIgG4P, 4A5, 5F6, PPAT-082-03 항체의 ADCP 활성은 10 % 이상이고, ADCP 활성 ＋ 로 판정하였다. CD147-D2 를 인식하는 #110H1L4hIgG4P 는, CD147-D1 을 인식하는 다른 CD147 항체보다 ADCP 활성이 낮았다. ADCP 는, CD147 항체가 CD147 에 결합한 후에, 매크로파지나 단핵구 세포 상에 발현하는 Fcγ 수용체에 의해, 항체의 Fc 부분이 인식되는 것이 필요하지만, #110 항체의 에피토프가 세포 표면에 가까워, 항원인 CD147 에 결합한 항체의 Fc 부분이, 다른 CD147-D1 을 인식하는 항체보다 Fcγ 수용체에 의해 잘 인식되지 않아, ADCP 활성이 낮을 가능성이 있다. #110H1L4hIgG4P, ADCP 활성이 약양성이며, 인간의 생체내에서 CD147 을 발현하고 있는 혈액 세포 등의 정상 세포에 대하여 세포사를 유도할 가능성이, ADCP 활성 양성의 #084H1L2hIg4P, 4A5, 5F6, PPAT-082-03 보다 낮은 것이 예측된다.

[0823] (실시예 25)

[0824] 25)-1 항 CD147 항체에 의한 혈액계 세포 응집

[0825] 일부의 항 CD147 항체는, 혈구계 세포의 응집을 유도하는 것이 보고되어 있다 (Kasinrerk 등 Immunology 1999, 96 (2) p184-192). 혈구계 세포의 응집은, 심각한 혈액 독성을 일으킬 가능성이 있어 (Doll, C., et al., 1994, Curr. Opin. Oncol., 345-350), 치료용 항체로는 바람직하지 않은 성질이다. 항 CD147 항체에 대해, 세포 집적의 활성의 차이를 조사하였다. CD147 항체로서 #110H1L4hIgG4P, #084H1L2hIg4P, 4A5, 5F6, PPAT-082-03 을 평가하였다. 음성의 대조 항체로서 인간 IgG (hIgG, ChromPure Human IgG, Jackson ImmunoResearch Laboratories 사, Cat. 009-000-003) 를 사용하였다. HEL92.1.7 세포 (ATCC 로부터 구입, Cat. #TIB-180) 를 96 웰 U 보텀 플레이트 (스미토모 베이크라이트사, Cat. MS-9096U) 에 1 웰당, 1600 세포/80 ㎕ 10 % FBS (하이클론사, Cat. SH30084.03) 를 포함하는 RPMI1640 배지 (서모 피셔 사이언티픽사, Cat. 11875-093) 를 첨가하고, 4 시간, 5 % CO_2, 습도 95 %, 37 도의 조건으로 배양하였다. 각 웰에 20 ㎕ 의 항 CD147 항체 용액 (150 ug/㎖, 50 ug/㎖) 을 첨가하고, 종농도 30, 10 ug/㎖ 로 하였다. 5 % CO2, 습도 95 %, 37 도의 조건으로 2 일간 배양하고, 현미경 관찰을 실시하였다.

[0826] 인간 IgG, #110H1L4hIgG4P 의 첨가에 의한 세포의 집적은 관찰되지 않았던 데 반해, #084H1L2hIg4P, 4A5, 5F6, PPAT-082-03 항체의 존재하에서는, 세포가 집적하고, 플레이트의 중앙에 차례차례 겹쳐진 세포덩어리가 관찰되었다. CD147-D2 를 인식하는 #110H1L4hIgG4P 는, CD147-D1 도메인을 인식하는 다른 CD147 항체와는

달리, 혈액 세포의 응집 활성이 없는 것이 나타났다. #084 를 비롯한 세포 응집 활성이 있는 CD147 항체는, 인간에게 투여했을 경우에, 혈액 세포의 응집을 통한 혈전 등의 독성을 일으킬 우려가 있으므로, 혈전의 치료에 사용되는 용량의 헤파린 내지 저분자 헤파린의 피하주 (皮下注), 또는 항혈소판약의 병용 등에 의해 부작용을 회피 혹은 경감하는 것이 바람직하다.

[0827] 25)-2 사이토카인 방출 증후군의 리스크 평가

[0828] 치료용 항체의 투여에 의해, OKT3, TGN1412 등 일부의 항체에서는, 면역 세포를 활성화시킴으로써, 혈중의 사이토카인이 상승하고, 심각한 사이토카인 방출 증후군을 일으킨다 (Gaston, R., Kidney International, 1991, 141-148 ; Suntharalingam, G., et al., N. Engl. J. Med. 2006, 1018-1028). 일부의 CD147 항체는, 면역 세포에 작용하고, 인터페론 감마나 인터류킨-4 의 산생을 증가하는 작용이 보고되어 있다 (Hu, J., et al., J. Cell. Mol. Med., 2010, 2132-2143). 이 사이토카인 방출 증후군에 의한 항체 의약의 독성은, 말초혈을 사용한 사이토카인 릴리스 어세이에 의해 예측할 수 있다 (Vessillier, S. et al., J. Immunolol. Methods, 2015, 43-52). 동일한 인간 말초혈 사이토카인 릴리스 어세이에 의해 사이토카인 방출 증후군의 리스크를 평가하였다. CD147 항체로서 #110H1L4hIgG4P, #110chIgG4ProFALA, #084H1L2hIg4P, #084H1L2hIg2 를 사용하고, 비교 항체로서, 베바시주맙 (Genentech, Inc.), 트라스투주맙 (Roche Pharma AG), 알렘투주맙 (사노피 주식회사), 항인간 CD3 항체 (BioLegend Cat. No317326) 를 사용하였다. 평가한 모든 CD147 항체에 대해서는, 인간 말초혈 단핵구 (6 도너분을 각각 평가) 에 대해, 세포 증식의 항진은 확인되지 않고, 사이토카인의 방출 (TNFα, INF-ɣ, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, MIP-1α) 에 대한 영향은, 사이토카인 방출 증후군의 리스크가 낮은 베바시주맙보다 약하였다. 항인간 CD3 항체 (OKT3) 에서는, 세포 증식의 항진, 사이토카인의 방출 (TNFα, INF-ɣ, IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, MIP-1α) 의 항진이 관찰되었다. #110H1L4hIgG4P, #110chIgG4ProFALA, #084H1L2hIg4P, #084H1L2hIg2 는, 사이토카인 방출 증후군의 가능성이 되는 사이토카인 릴리스를 유도하지 않는 것이 나타났다.

[0829] 25)-3 항 CD147 항체의 원숭이의 안전성 평가

[0830] 일부의 항마우스 CD147 항체는, 마우스에 투여했을 때에, CD147 의 기능을 저해하고, 비장에서의 적혈구의 집적을 유도함으로써, 말초혈 중의 적혈구량이 저하되고, 빈혈을 일으키는 것이 보고되어 있다 (Coste, I. et al., Blood, 2001, 3984-3988). 본 발명 중에서 취득한 #110H1L4hIgG4P 등의 CD147 항체는, 마우스의 CD147 에 결합을 나타내지 않기 때문에, 마우스에서의 안전성 평가는 적절하지 않다. 그래서, 플로우 사이토미터를 사용한 실험에 의해 인간 및 원숭이 CD147 에 대한 결합성이 확인된 항 CD147 항체로서, #110H1L4hIgG4P 를 게잡이 원숭이에 투여하고, 안전성을 평가하였다. 게잡이 원숭이 (자웅 각 1 예) 에 #110H1L4hIgG4P 를 투여 가능 최대량인 99.2 mg/kg 으로 단회 정맥내 투여한 결과, 투여 후 15 일까지의 관찰 기간과 관찰 기간 종료 시의 병리 조직학적 검사에서는, 심각한 독성 (체중 및 섭이량의 변화, 병리 조직학적 변화) 은 관찰되지 않았다. #110H1L4hIgG4P 는, 게잡이 원숭이에 대해 독성을 나타내지 않고, 인간의 암 치료에 이용할 수 있는 가능성이 나타났다.

[0831] (실시예 26) KLF5 의 CD147 항체 감수성에 대한 영향

[0832] 암 세포에 있어서, SMAD2/SMAD3/SMAD4 의존적인 세포사의 시그널로서 Lethal EMT 시그널이 알려져 있으며, 이 Lethal EMT 시그널은, SMAD4 음성의 암 세포에서는, 통상적으로 SMAD 시그널에 의해 억제되고 있는 전사 인자 KLF5 단백질의 발현이 증가하고, 치사성의 시그널을 억제하는 것이 보고되어 있다 (David, C. Cell, 2016, 1015-1030). 본 발명의 CD147 항체는, SMAD 시그널을 활성화하고, SMAD4 양성의 세포에 항종양 효과를 나타내기 때문에, SMAD 시그널 의존적인 세포사를 유도하는 것으로 생각하였다. KLF5 가 CD147 항체 의존적인 항종양 효과의 감수성에 관여하는지 조사하였다.

[0833] 26)-1 KLF5 발현주의 제조

[0834] 실시예 13 의 방법에 준하여, MIA PaCa-2 세포의 KLF5 안정 발현주를 제조하였다. 인간 KLF5 의 아미노산 서열 및 뉴클레오티드 서열을, 각각, 서열 번호 145 및 146 에 나타낸다. KLF5 유전자로서, (Genscript 사, Cat. OHu21278C) 에 포함되는 서열 (Ref seq. ID : NM_001730.4) 을 짜넣은 레트로바이러스 벡터 pQCXIP 를 제조하고, 레트로바이러스를 제조에 사용하였다. 바이러스 감염에 의해 염색체에 레트로바이러스가 삽입되고, 퓨로마이신 내성, KLF5 양성이 된 MIA PaCa-2 세포를 선택하고, KLF5 양성 MIA PaCa-2 세포, MIA PaCa-2-KLF5 로 하였다. 레트로바이러스 벡터 pQCXIP 를 동일하게 감염시키고, 퓨로마이신 내성이 된 MIA PaCa-2 세포를 MIA PaCa-2-mock 로 하였다.

[0835] 26)-2 CD147 과 SMAD4 발현의 확인

[0836] 플로우 사이토미터에 의해, MIA PaCa-2-mock 와 MIA PaCa-2-KLF5 의 CD147 의 발현을 확인하였다. 실시예 13-2 의 방법에 준하여, MIA PaCa-2-KLF5 의 KLF5 의 발현량이 MIA PaCa-2-mock 로부터 증가하고 있는 것을 확인하였다. KLF5 의 검출에는, KLF5 항체 (CST 사, Cat. #51586) 를 사용하였다.

[0837] 26)-3 KLF5 를 발현한 MIA PaCa-2 종양의 인간화 CD147 항체에 대한 감수성

[0838] 실시예 7)-2 의 방법에 준하여, MIA PaCa-2-KLF5 와 MIA PaCa-2-mock 의 종양의 인간화 CD147 항체 #110H1L4hIgg4P 에 대한 감수성을 비교하였다. 세포 이식 3 일 후에 실시예 6)-4-2 에서 제조한 인간화 CD147 항체 (#110H1L4hIg4P) 를 1 mg/kg 으로 담암 마우스에 꼬리 정맥 투여하였다 (n = 6). 7 일 후에 동일하게 항체를 투여하였다. 대조군의 담암 마우스에는, PBS 완충액을 동일하게 꼬리 정맥 투여하였다 (n = 6). 결과를 도 50 에 나타낸다.

[0839] 인간화 CD147 항체를 투여하여 14 일 후에는, MIA PaCa-2-mock 의 종양은 대조군의 9 % 까지 종양의 평균 체적이 감소하고 있고, CD147 항체에 감수성을 나타내었다. MIA PaCa-2-KLF5 의 종양의 평균 체적은, 대조군의 80 % 로 되어 있고, CD147 항체에 저감수성을 나타내었다. CD147 항체에 의한 SMAD 시그널 의존적인 항종양 효과는, KLF5 의 발현에 의해 억제되는 것을 알 수 있었다.

[0840] 산업상 이용가능성

[0841] 본 발명에 의해 CD147 을 활성화하고, 높은 항종양 효과를 나타내는 CD147 특이적 항체가 제공된다. 본 발명에 의해, 이펙터 기능에 의존하지 않고 높은 항종양 효과를 나타내는 항체가 제공된다. 본 발명의 항체는, 간장암 세포에 있어서, 간장암의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 솔라페닙보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다. 본 발명의 항체는, 췌장암 세포에 있어서, 췌장암의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 겜시타빈보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다. 또, 본 발명의 항체는, 만성 골수성 백혈병 세포에 있어서, 만성 골수성 백혈병의 표준 치료약 중 하나로서 사용되는 이마티닙보다 현저하게 강한 약효를 나타낸다. 본 발명의 항체는, 그 항종양 효과가 이펙터 기능에 의존하지 않고, 그 밖의 안전성 평가 항목에 있어서도 염려가 적고 안전성이 우수한 항 CD147 항체가 제공된다. CD147 은 종양 세포 뿐만 아니라 혈액 세포에도 발현하고 있지만, 본 발명의 항체는, T 세포 및 PBMC 에 대해 작용하지 않고 또한 이펙터 기능에도 의존하지 않기 때문에, 항종양제로서의 개발에 있어서, 안전성의 염려가 적다는 이점을 갖는다. 본 발명에 의해 상기 항체를 포함하는 의약 조성물, 그리고, 그 항체 및/또는 그 의약 조성물을 사용한 종양의 치료 방법이 제공된다.

[0842] **서열표 프리 텍스트**

[0843] 서열 번호 1 : 인간 CD147 의 베어리언트 1 의 아미노산 서열

[0844] 서열 번호 2 : 인간 CD147 의 베어리언트 1 의 뉴클레오티드 서열

[0845] 서열 번호 3 : 인간 CD147 의 베어리언트 2 의 아미노산 서열

[0846] 서열 번호 4 : 인간 CD147 의 베어리언트 2 의 뉴클레오티드 서열

[0847] 서열 번호 5 : 인간 SMAD4 의 아미노산 서열

[0848] 서열 번호 6 : 인간 SMAD4 의 뉴클레오티드 서열

[0849] 서열 번호 7 : LN22R8 의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0850] 서열 번호 8 : LN22R8 의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0851] 서열 번호 9 : LN22R8 의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0852] 서열 번호 10 : LN22R8 의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0853] 서열 번호 11 : LN22R8 의 CDRL1 의 아미노산 서열

[0854] 서열 번호 12 : LN22R8 의 CDRL2 의 아미노산 서열

[0855] 서열 번호 13 : LN22R8 의 CDRL3 의 아미노산 서열

[0856] 서열 번호 14 : LN22R8 의 CDRH1 의 아미노산 서열

[0857] 서열 번호 15 : LN22R8 의 CDRH2 의 아미노산 서열

[0858] 서열 번호 16 : LN22R8 의 CDRH3 의 아미노산 서열

[0859] 서열 번호 17 : 2P10F2 의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0860] 서열 번호 18 : 2P10F2 의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0861] 서열 번호 19 : 2P10F2 의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0862] 서열 번호 20 : 2P10F2 의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0863] 서열 번호 21 : 2P10F2 의 CDRL1 의 아미노산 서열

[0864] 서열 번호 22 : 2P10F2 의 CDRL2 의 아미노산 서열

[0865] 서열 번호 23 : 2P10F2 의 CDRL3 의 아미노산 서열

[0866] 서열 번호 24 : 2P10F2 의 CDRH1 의 아미노산 서열

[0867] 서열 번호 25 : 2P10F2 의 CDRH2 의 아미노산 서열

[0868] 서열 번호 26 : 2P10F2 의 CDRH3 의 아미노산 서열

[0869] 서열 번호 27 : 인간 경쇄 시그널 서열 및 인간 κ 사슬 정상 영역을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편

[0870] 서열 번호 28 : 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG1 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편

[0871] 서열 번호 29 : 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG2 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편

[0872] 서열 번호 30 : 인간 키메라 LN22R8 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열

[0873] 서열 번호 31 : 인간 키메라 LN22R8 의 경쇄의 아미노산 서열

[0874] 서열 번호 32 : 인간 키메라 LN22R8 의 중쇄 IgG1 타입의 뉴클레오티드 서열

[0875] 서열 번호 33 : 인간 키메라 LN22R8 의 중쇄 IgG1 타입의 아미노산 서열

[0876] 서열 번호 34 : 인간 키메라 LN22R8 의 중쇄 IgG2 타입의 뉴클레오티드 서열

[0877] 서열 번호 35 : 인간 키메라 LN22R8 의 중쇄 IgG2 타입의 아미노산 서열

[0878] 서열 번호 36 : 인간 키메라 LN22R8 의 중쇄 IgG4P 타입의 아미노산 서열을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편

[0879] 서열 번호 37 : 인간 키메라 LN22R8 의 중쇄 IgG4P 타입의 아미노산 서열

[0880] 서열 번호 38 : 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG1LALA 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편

[0881] 서열 번호 39 : 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG4P 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편

[0882] 서열 번호 40 : 인간 키메라 2P10F2 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열

[0883] 서열 번호 41 : 인간 키메라 2P10F2 의 경쇄의 아미노산 서열

[0884] 서열 번호 42 : 인간 키메라 2P10F2 의 중쇄 IgG1LALA 타입의 뉴클레오티드 서열

[0885] 서열 번호 43 : 인간 키메라 2P10F2 의 중쇄 IgG1LALA 타입의 아미노산 서열

[0886] 서열 번호 44 : 인간 키메라 2P10F2 의 중쇄 IgG2 타입의 뉴클레오티드 서열

[0887] 서열 번호 45 : 인간 키메라 2P10F2 의 중쇄 IgG2 타입의 아미노산 서열

[0888] 서열 번호 46 : 인간 키메라 2P10F2 의 중쇄 IgG4P 타입의 뉴클레오티드 서열

[0889] 서열 번호 47 : 인간 키메라 2P10F2 의 중쇄 IgG4P 타입의 아미노산 서열

[0890] 서열 번호 48 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0891] 서열 번호 49 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0892] 서열 번호 50 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0893] 서열 번호 51 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0894] 서열 번호 52 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 CDRL1 의 아미노산 서열

[0895] 서열 번호 53 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 CDRL2 의 아미노산 서열

[0896] 서열 번호 54 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 CDRL3 의 아미노산 서열

[0897] 서열 번호 55 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 CDRH1 의 아미노산 서열

[0898] 서열 번호 56 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 CDRH2 의 아미노산 서열

[0899] 서열 번호 57 : 래트_CD147_#84 (r#84) 의 CDRH3 의 아미노산 서열

[0900] 서열 번호 58 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0901] 서열 번호 59 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0902] 서열 번호 60 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0903] 서열 번호 61 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0904] 서열 번호 62 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 CDRL1 의 아미노산 서열

[0905] 서열 번호 63 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 CDRL2 의 아미노산 서열

[0906] 서열 번호 64 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 CDRL3 의 아미노산 서열

[0907] 서열 번호 65 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 CDRH1 의 아미노산 서열

[0908] 서열 번호 66 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 CDRH2 의 아미노산 서열

[0909] 서열 번호 67 : 래트_CD147_#101 (r#101) 의 CDRH3 의 아미노산 서열

[0910] 서열 번호 68 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0911] 서열 번호 69 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0912] 서열 번호 70 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0913] 서열 번호 71 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0914] 서열 번호 72 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 CDRL1 의 아미노산 서열

[0915] 서열 번호 73 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 CDRL2 의 아미노산 서열

[0916] 서열 번호 74 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 CDRL3 의 아미노산 서열

[0917] 서열 번호 75 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 CDRH1 의 아미노산 서열

[0918] 서열 번호 76 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 CDRH2 의 아미노산 서열

[0919] 서열 번호 77 : 래트_CD147_#110 (r#110) 의 CDRH3 의 아미노산 서열

[0920] 서열 번호 78 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0921] 서열 번호 79 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0922] 서열 번호 80 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

[0923] 서열 번호 81 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열

[0924] 서열 번호 82 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 CDRL1 의 아미노산 서열

[0925] 서열 번호 83 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 CDRL2 의 아미노산 서열

[0926] 서열 번호 84 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 CDRL3 의 아미노산 서열

[0927] 서열 번호 85 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 CDRH1 의 아미노산 서열

[0928] 서열 번호 86 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 CDRH2 의 아미노산 서열

[0929] 서열 번호 87 : 래트_CD147_#131 (r#131) 의 CDRH3 의 아미노산 서열

[0930] 서열 번호 88 : 인간 중쇄 시그널 서열 및 인간 IgG4PFALA 정상 영역의 아미노산을 코드하는 DNA 서열을 포함하는 DNA 단편

[0931] 서열 번호 89 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열

[0932] 서열 번호 90 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 경쇄의 아미노산 서열

[0933] 서열 번호 91 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG1 타입의 뉴클레오티드 서열

[0934] 서열 번호 92 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG1 타입의 아미노산 서열

[0935] 서열 번호 93 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG2 타입의 뉴클레오티드 서열

[0936] 서열 번호 94 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG2 타입의 아미노산 서열

[0937] 서열 번호 95 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG4P 타입의 뉴클레오티드 서열

[0938] 서열 번호 96 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG4P 타입의 아미노산 서열

[0939] 서열 번호 97 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG1LALA 타입의 뉴클레오티드 서열

[0940] 서열 번호 98 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG1LALA 타입의 아미노산 서열

[0941] 서열 번호 99 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG4PFALA 타입의 뉴클레오티드 서열

[0942] 서열 번호 100 : 인간 키메라 래트_CD147_#84 의 중쇄 IgG4PFALA 타입의 아미노산 서열

[0943] 서열 번호 101 : 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열

[0944] 서열 번호 102 : 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 경쇄의 아미노산 서열

[0945] 서열 번호 103 : 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 중쇄 IgG2 의 뉴클레오티드 서열

[0946] 서열 번호 104 : 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 중쇄 IgG2 의 아미노산 서열

[0947] 서열 번호 105 : 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 중쇄 IgG4P 의 뉴클레오티드 서열

[0948] 서열 번호 106 : 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 중쇄 IgG4P 의 아미노산 서열

[0949] 서열 번호 107 : 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 중쇄 IgG4PFALA 의 뉴클레오티드 서열

[0950] 서열 번호 108 : 인간 키메라 래트_CD147_#101 의 중쇄 IgG4PFALA 의 아미노산 서열

[0951] 서열 번호 109 : 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열

[0952] 서열 번호 110 : 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 경쇄의 아미노산 서열

[0953] 서열 번호 111 : 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 중쇄 IgG2 의 뉴클레오티드 서열

[0954] 서열 번호 112 : 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 중쇄 IgG2 의 아미노산 서열

[0955] 서열 번호 113 : 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 중쇄 IgG4P 의 뉴클레오티드 서열

[0956] 서열 번호 114 : 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 중쇄 IgG4P 의 아미노산 서열

[0957] 서열 번호 115 : 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 중쇄 IgG4PFALA 의 뉴클레오티드 서열

[0958] 서열 번호 116 : 인간 키메라 래트_CD147_#110 의 중쇄 IgG4PFALA 의 아미노산 서열

[0959] 서열 번호 117 : 인간 키메라 래트_CD147_#131 의 경쇄의 뉴클레오티드 서열

[0960] 서열 번호 118 : 인간 키메라 래트_CD147_#131 의 경쇄의 아미노산 서열

[0961] 서열 번호 119 : 인간 키메라 래트_CD147_#131 의 중쇄 IgG2 의 뉴클레오티드 서열

[0962] 서열 번호 120 : 인간 키메라 래트_CD147_#131 의 중쇄 IgG2 의 아미노산 서열

[0963] 서열 번호 121 : 인간 키메라 래트_CD147_#131 의 중쇄 IgG4P 의 뉴클레오티드 서열

[0964] 서열 번호 122 : 인간 키메라 래트_CD147_#131 의 중쇄 IgG4P 의 아미노산 서열

[0965] 서열 번호 123 : #84H1hIgG2 의 아미노산 서열

[0966] 서열 번호 124 : #84H1hIgG2 의 뉴클레오티드 서열

[0967] 서열 번호 125 : #84H1hIgG4P 의 아미노산 서열

[0968] 서열 번호 126 : #84H1hIgG4P 의 뉴클레오티드 서열

[0969] 서열 번호 127 : #84L2h 의 아미노산 서열

[0970] 서열 번호 128 : #84L2h 의 뉴클레오티드 서열

[0971] 서열 번호 129 : #101H1hIgG2 의 아미노산 서열

[0972] 서열 번호 130 : #101H1hIgG2 의 뉴클레오티드 서열

[0973] 서열 번호 131 : #101H1hIgG4P 의 아미노산 서열

[0974] 서열 번호 132 : #101H1hIgG4P 의 뉴클레오티드 서열

[0975] 서열 번호 133 : #101L2h 의 아미노산 서열

[0976] 서열 번호 134 : #101L2h 의 뉴클레오티드 서열

[0977] 서열 번호 135 : #110H1hIgG4P 의 아미노산 서열

[0978] 서열 번호 136 : #110H1hIgG4P 의 뉴클레오티드 서열

[0979] 서열 번호 137 : #110L4h 의 아미노산 서열

[0980] 서열 번호 138 : #110L4h 의 뉴클레오티드 서열

[0981] 서열 번호 139 : #131H2hIgG2 의 아미노산 서열

[0982] 서열 번호 140 : #131H2hIgG2 의 뉴클레오티드 서열

[0983] 서열 번호 141 : #131L2h 의 아미노산 서열

[0984] 서열 번호 142 : #131L2h 의 뉴클레오티드 서열

[0985] 서열 번호 143 : 인간 CD147v1 의 mu3 영역

[0986] 서열 번호 144 : 게잡이 원숭이 CD147 의 mu3 영역

[0987] 서열 번호 145 : 인간 KLF5 의 아미노산 서열

[0988] 서열 번호 146 : 인간 KLF5 의 뉴클레오티드 서열

[0989] 서열 번호 147 : #110H13hIgG4P 의 아미노산 서열

[0990] 서열 번호 148 : #110H13hIgG4P 의 뉴클레오티드 서열

[0991] 서열 번호 149 : #110L2h 의 아미노산 서열

[0992] 서열 번호 150 : #110L2h 의 뉴클레오티드 서열

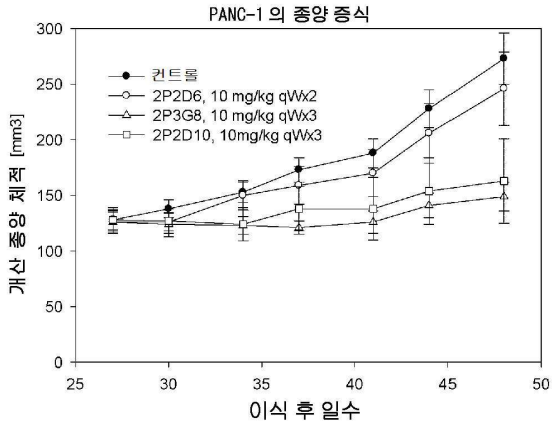
[0993] 서열 번호 151 : #110L12h 의 아미노산 서열

[0994] 서열 번호 152 : #110L12h 의 뉴클레오티드 서열

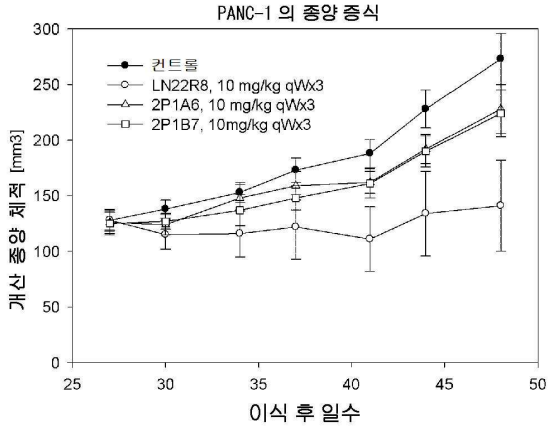
도면

도면1

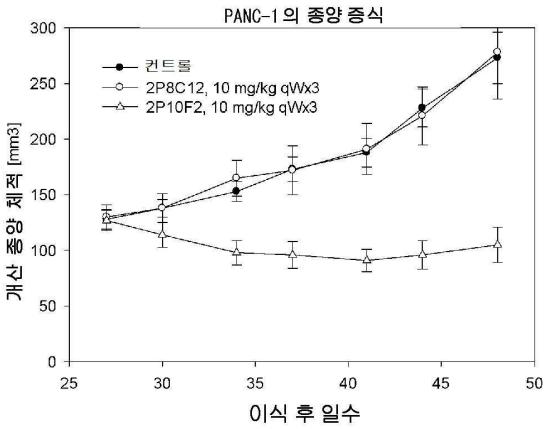
(a)


PANC-1 의 종양 증식
컨트롤
2P2D6, 10 mg/kg qWx2
2P3G8, 10 mg/kg qWx3
2P2D10, 10mg/kg qWx3
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

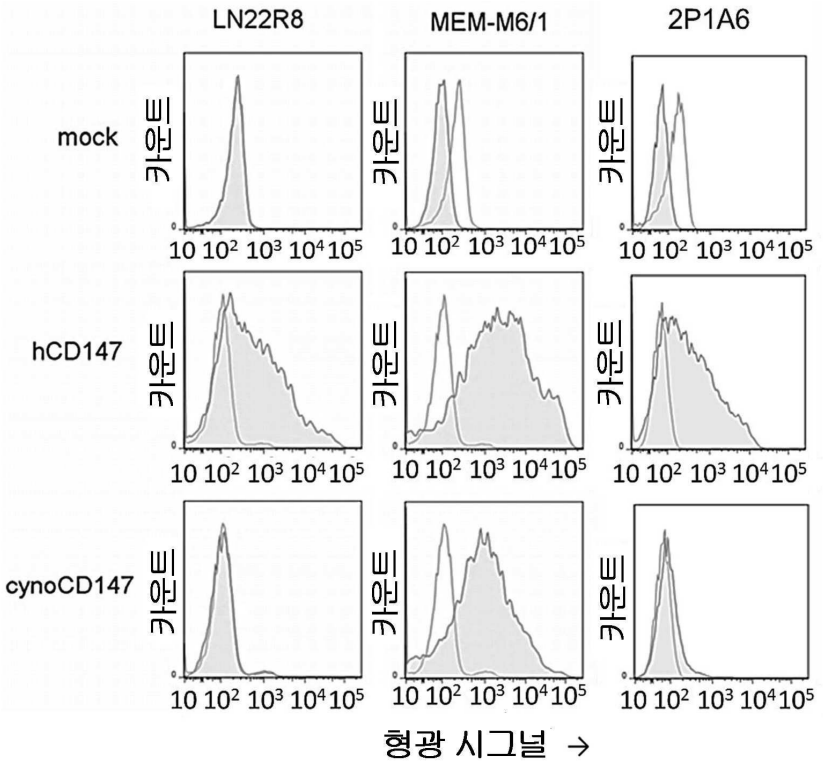
(b)


PANC-1 의 종양 증식
컨트롤
LN22R8, 10 mg/kg qWx3
2P1A6, 10 mg/kg qWx3
2P1B7, 10mg/kg qWx3
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

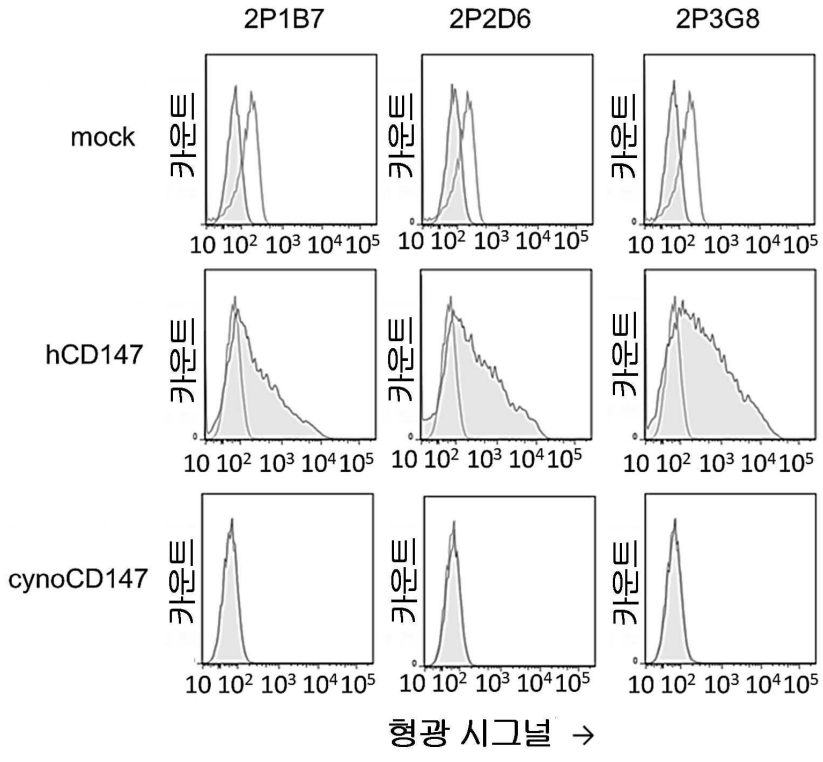
(c)


PANC-1 의 종양 증식
컨트롤
2P8C12, 10 mg/kg qWx3
2P10F2, 10 mg/kg qWx3
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

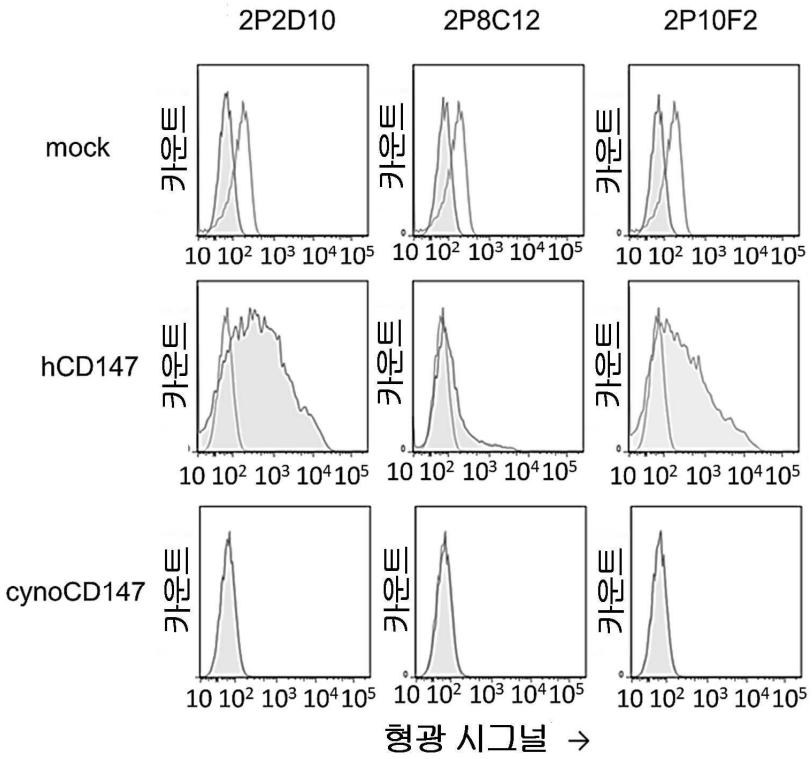
도면2a


LN22R8
MEM-M6/1
2P1A6
mock
hCD147
cynoCD147
카운트
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
형광 시그널 →

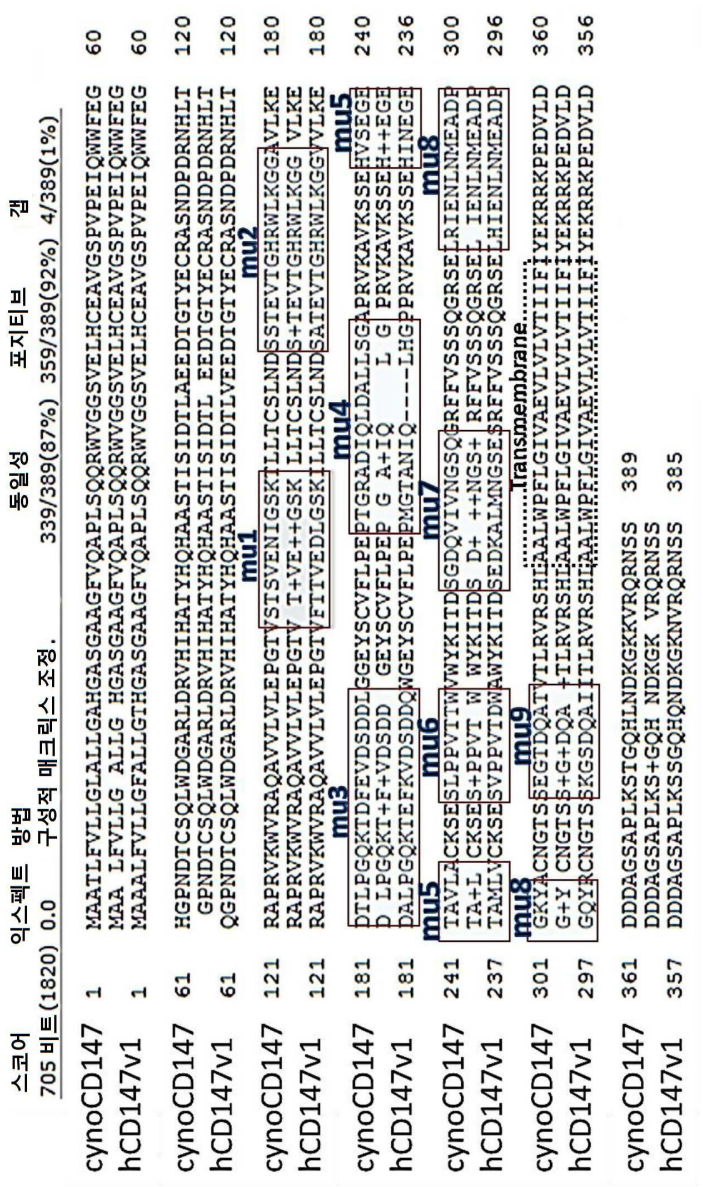
도면2b


2P1B7
2P2D6
2P3G8
mock
hCD147
cynoCD147
카운트
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
형광 시그널 →

도면2c


2P2D10
2P8C12
2P10F2
mock
hCD147
cynoCD147
카운트
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
형광 시그널 →

도면3



도면4a

서열 번호 7 : LN22R8의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCTTATCTGCCTCTCTGGGAGAAAGAGTCAGTCTCACTTGTCGGGCAAGTCTGGAAATT
AGTGGTTTCTTAAGTTGGCTTCAGCAGAAACCAGATGGAACTATTAAACGCCTGATCTACGCCGCATCCATTTTAGATTCTGGTGTC
CCAAAAAGGTTCAGTGGCAGTAGGTCTGGGTCAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTTGAGTCTGAAGATTTTGCAGACTATTAC
TGTCTACAATATGCTAGTTATCCGTGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACGG

서열 번호 8 : LN22R8 의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)

DIQMTQSPSSLSASLGERVSLTCRASLEISGFLSWLQQKPDGTIKRLIYAASILDSGVPKRFSGSRSGSDYSLTISSLESEDFADYY
CLQYASYPWTFGGGTKLEIKR

서열 번호 11 : LN22R8의CDRL1의 아미노산 서열

RASLEISGFLS

서열 번호 12 : LN22R8의CDRL2의 아미노산 서열

AASILDS

서열 번호 13 : LN22R8의CDRL3의 아미노산 서열

LQYASYPWT

도면4b

서열 번호 ９ : ＬＮ２２Ｒ８의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
CAGATCCAGTTGGTGCAGTCTGGACCTGAGCTGAAGAAGCCTGGAGAGACAGTCAAGATCTCCTGCAAGGCTTCTGGGTATACCTTC
ACAAACTATGGAATGAACTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGAAAGGGTTTAAAGTGGATGGGCTGGATAAACACCTACACTGGAGAGCCA
ACATATGCTGATGACTTCAAGGGACGGTTTGCCTTCTCTTTGGAAACCTCTGCCAGCACTGCCTATTTGCAGATCAACAACCTCAAA
AATGAGGACACGGCTACATATTTCTGTGCAAGAGGGGGGTATGGTAACTACGGGGCGGGGGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGTACC
TCAGTCACCGTCTCCTCA

서열 번호１０ : ＬＮ２２Ｒ８의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWVKQAPGKGLKWMGWINTYTGEPTYADDFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLK
NEDTATYFCARGGYGNYGAGAMDYWGQGTSVTVSS

서열 번호１４ : ＬＮ２２Ｒ８의ＣＤＲＨ１의 아미노산 서열
GYTFTNYGMN

서열 번호１５ : ＬＮ２２Ｒ８의ＣＤＲＨ２의 아미노산 서열
WINTYTGEPT

서열 번호１６ : ＬＮ２２Ｒ８의ＣＤＲＨ３의 아미노산 서열
GGYGNYGAGAMDY

도면5a

서열 번호１７ : ２Ｐ１０Ｆ２의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GACATCCAGATGACACAGTCTCCAGCTTCCCTGTCTGCATCTCTGGGAGAAACTGTCTCCATCGAATGTCTTGCAAGTGAGGGCATT
TCCAATAGTTTAGCGTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAATCTCCTCAGCTCCTGATCTATGGTGCAAGTAGCTTGCAAGACGGGGTC
CCATCACGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGCACACAGTATTCTCTCAAGATCAGCGGCATGCAACCTGAAGATGAAGGGGTTTATTAC
TGTCAACAGGGTTACAAGTATCCATTCACGTTCGGCTCAGGGACGAAGTTGGAAATAAAACGG

서열 번호１８ : ２Ｐ１０Ｆ２의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
DIQMTQSPASLSASLGETVSIECLASEGISNSLAWYQQKPGKSPQLLIYGASSLQDGVPSRFSGSGSGTQYSLKISGMQPEDEGVYY
CQQGYKYPFTFGSGTKLEIKR

서열 번호 ２１ : ２Ｐ１０Ｆ２의ＣＤＲＬ１의 아미노산 서열
LASEGISNSLA

서열 번호 ２２ : ２Ｐ１０Ｆ２의ＣＤＲＬ２의 아미노산 서열
GASSLQD

서열 번호 ２３ : ２Ｐ１０Ｆ２의ＣＤＲＬ３의 아미노산 서열
QQGYKYPFT

도면5b

서열 번호 １９ : ２Ｐ１０Ｆ２ 의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GAGGTGCAGCTTCAGGAGTCAGGACCTGGCCTTGTGAAACCCTCACAGTCACTCTCCCTCACCTGTTCTGTCACTGGTTACTCCATC
ACTAGTAATTACTGGGGCTGGATCCGGAAGTTCCCAGGAAATAAAATGGAGTGGATGGGATGCATAACCTACAGTGGTGGCACTAGC
TACAACCCATCTCTCAAAAGTCGAATCTCCATTACTAGAGACACATCAAAGAATCAGTTCTTCCTGCAGTTGAACTCTGTAACTACT
GAGGACACAGCCACATATTACTGTGCAAGTTCCTATACCAGTGGTGACGTCGATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCC
TCA

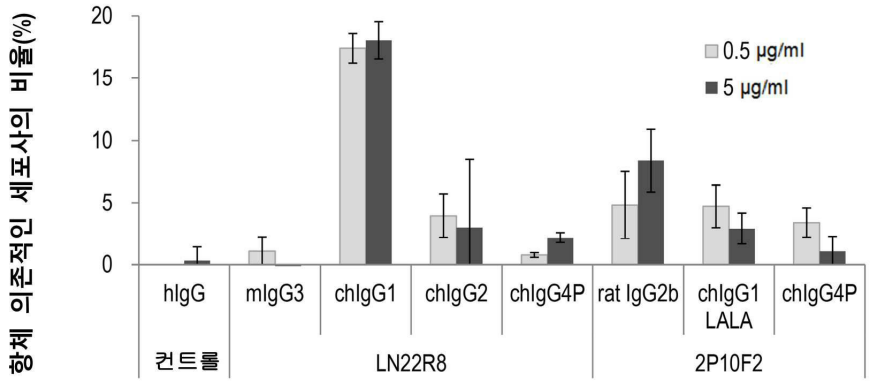
서열 번호 ２０ : ２Ｐ１０Ｆ２ 의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
EVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSNYWGWIRKFPGNKMEWMGCITYSGGTSYNPSLKSRISITRDTSKNQFFLQLNSVTT
EDTATYYCASSYTSGDVDYWGQGVMVTVSS

서열 번호 ２４ : ２Ｐ１０Ｆ２의ＣＤＲＨ１의 아미노산 서열
GYSITSNYWG

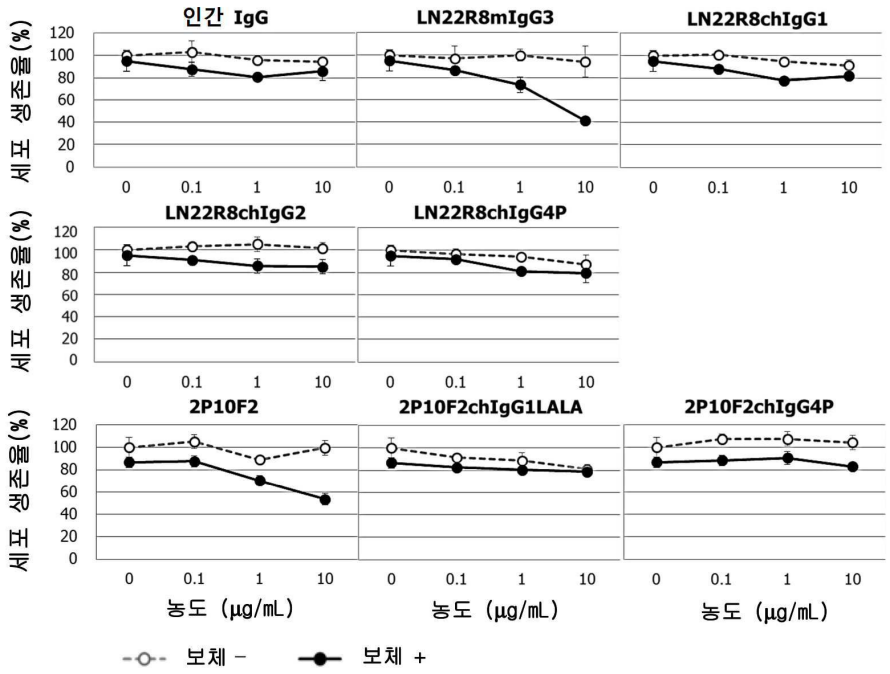
서열 번호 ２５ : ２Ｐ１０Ｆ２의ＣＤＲＨ２의 아미노산 서열
CITYSGGTS

서열 번호 ２６ : ２Ｐ１０Ｆ２의ＣＤＲＨ３의 아미노산 서열
SYTSGDVDY

도면6

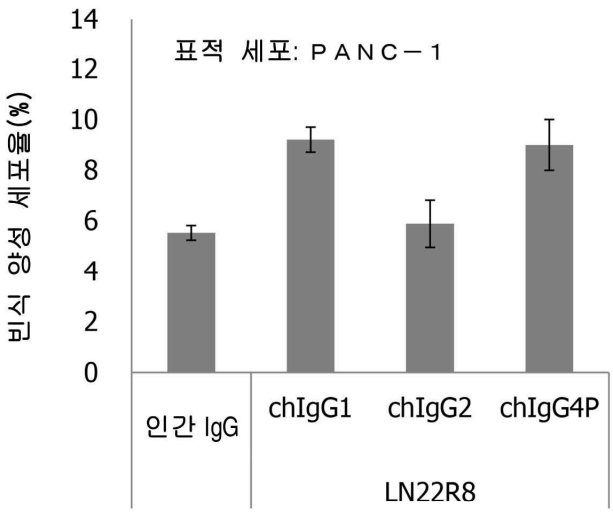

항체 의존적인 세포사의 비율(%)
20
15
10
5
0
0.5 μg/ml
5 μg/ml
hIgG
mIgG3
chIgG1
chIgG2
chIgG4P
rat IgG2b
chIgG1 LALA
chIgG4P
컨트롤
LN22R8
2P10F2

도면7

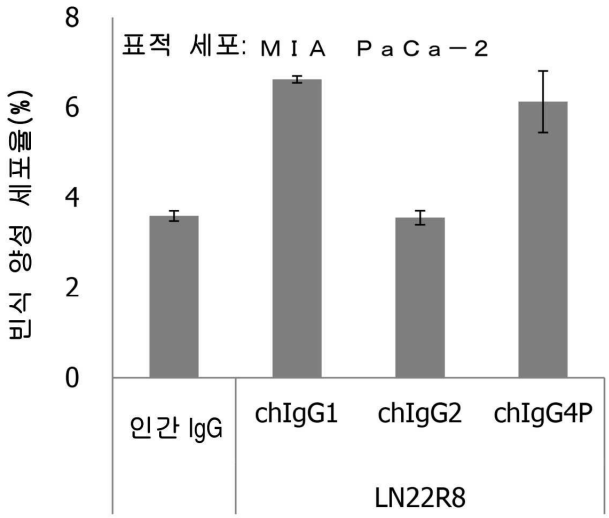

인간 IgG
LN22R8mIgG3
LN22R8chIgG1
LN22R8chIgG2
LN22R8chIgG4P
2P10F2
2P10F2chIgG1LALA
2P10F2chIgG4P
세포 생존율(%)
120
100
80
60
40
20
0
0
0.1
1
10
농도 (μg/mL)
보체 −
보체 +

도면8

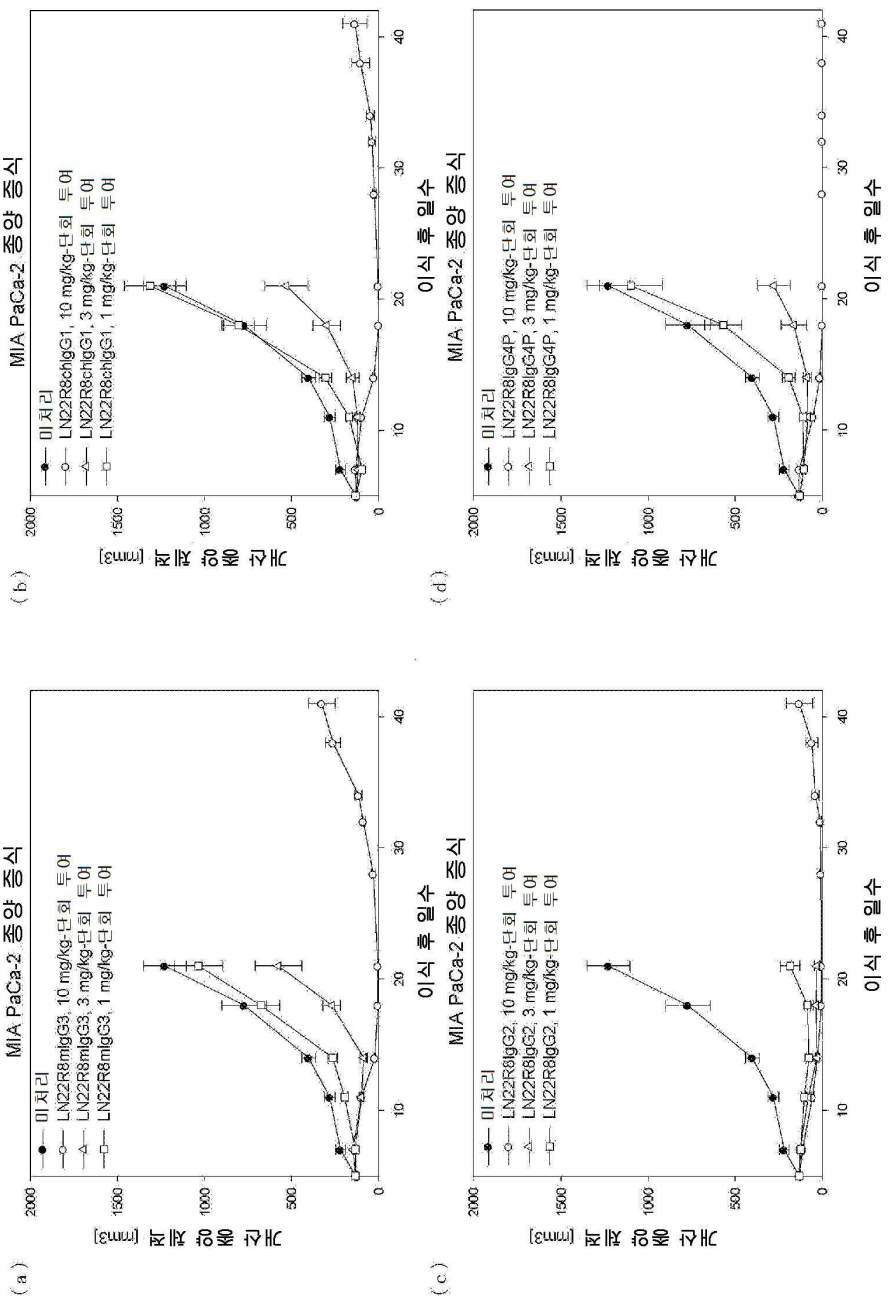
(a)


표적 세포: PANC-1
빈식 양성 세포율(%)
14
12
10
8
6
4
2
0
인간 IgG
chIgG1
chIgG2
chIgG4P
LN22R8

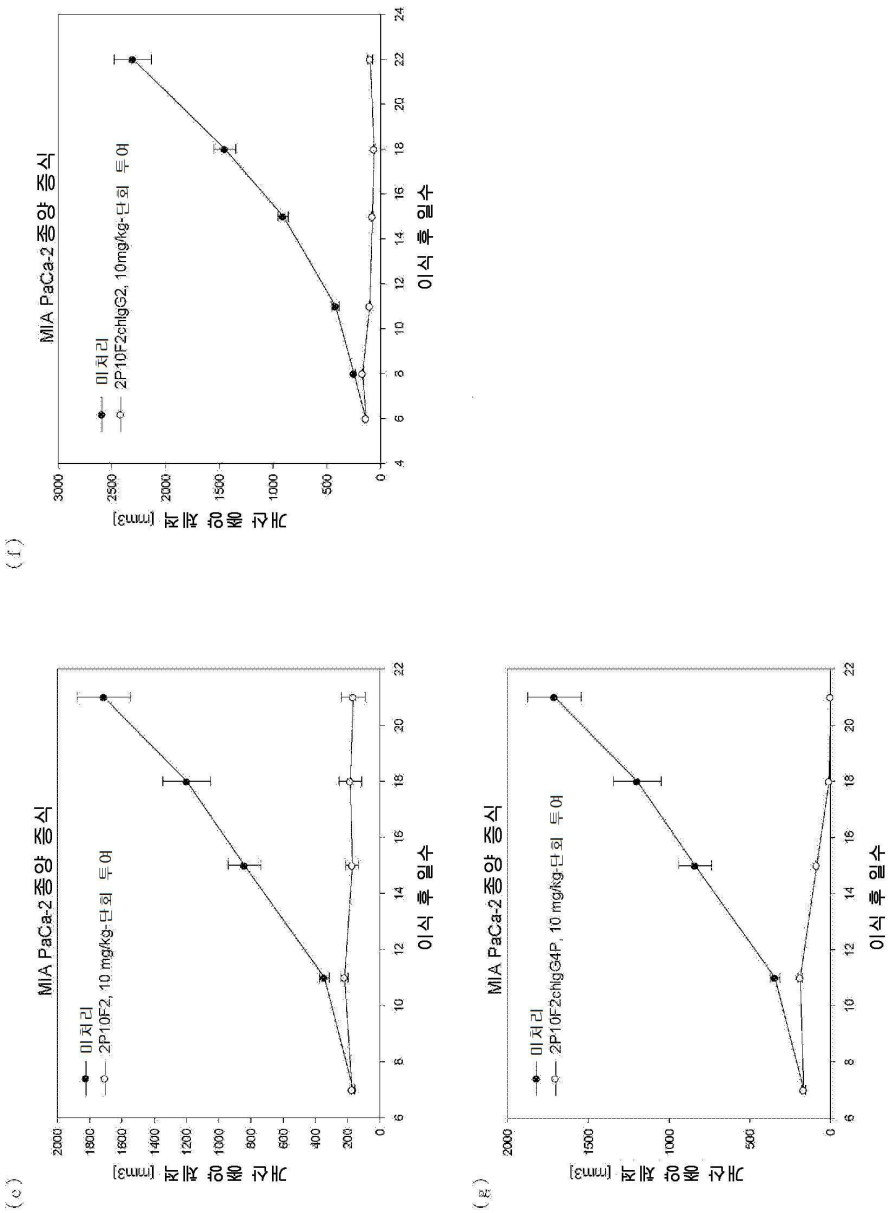
(b)


표적 세포: MIA PaCa-2
빈식 양성 세포율(%)
8
6
4
2
0
인간 IgG
chIgG1
chIgG2
chIgG4P
LN22R8

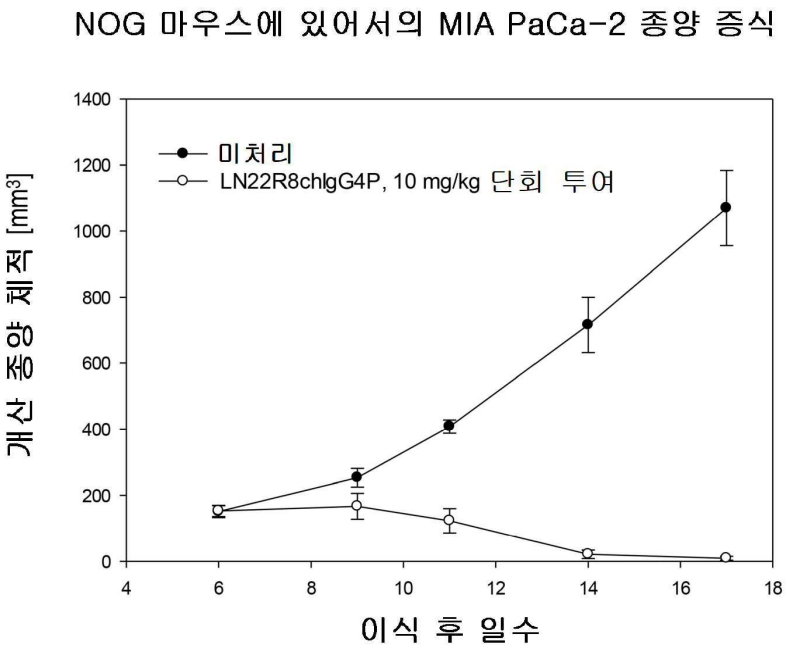
도면9a


(a)
MIA PaCa-2 종양 증식
비 처 리
LN22R8mIgG3, 10 mg/kg-단 회 투 여
LN22R8mIgG3, 3 mg/kg-단 회 투 여
LN22R8mIgG3, 1 mg/kg-단 회 투 여
평균 종양 부피 [mm3]
이식 후 일수
(b)
MIA PaCa-2 종양 증식
비 처 리
LN22R8chIgG1, 10 mg/kg-단 회 투 여
LN22R8chIgG1, 3 mg/kg-단 회 투 여
LN22R8chIgG1, 1 mg/kg-단 회 투 여
평균 종양 부피 [mm3]
이식 후 일수
(c)
MIA PaCa-2 종양 증식
비 처 리
LN22R8IgG2, 10 mg/kg-단 회 투 여
LN22R8IgG2, 3 mg/kg-단 회 투 여
LN22R8IgG2, 1 mg/kg-단 회 투 여
평균 종양 부피 [mm3]
이식 후 일수
(d)
MIA PaCa-2 종양 증식
비 처 리
LN22R8IgG4P, 10 mg/kg-단 회 투 여
LN22R8IgG4P, 3 mg/kg-단 회 투 여
LN22R8IgG4P, 1 mg/kg-단 회 투 여
평균 종양 부피 [mm3]
이식 후 일수

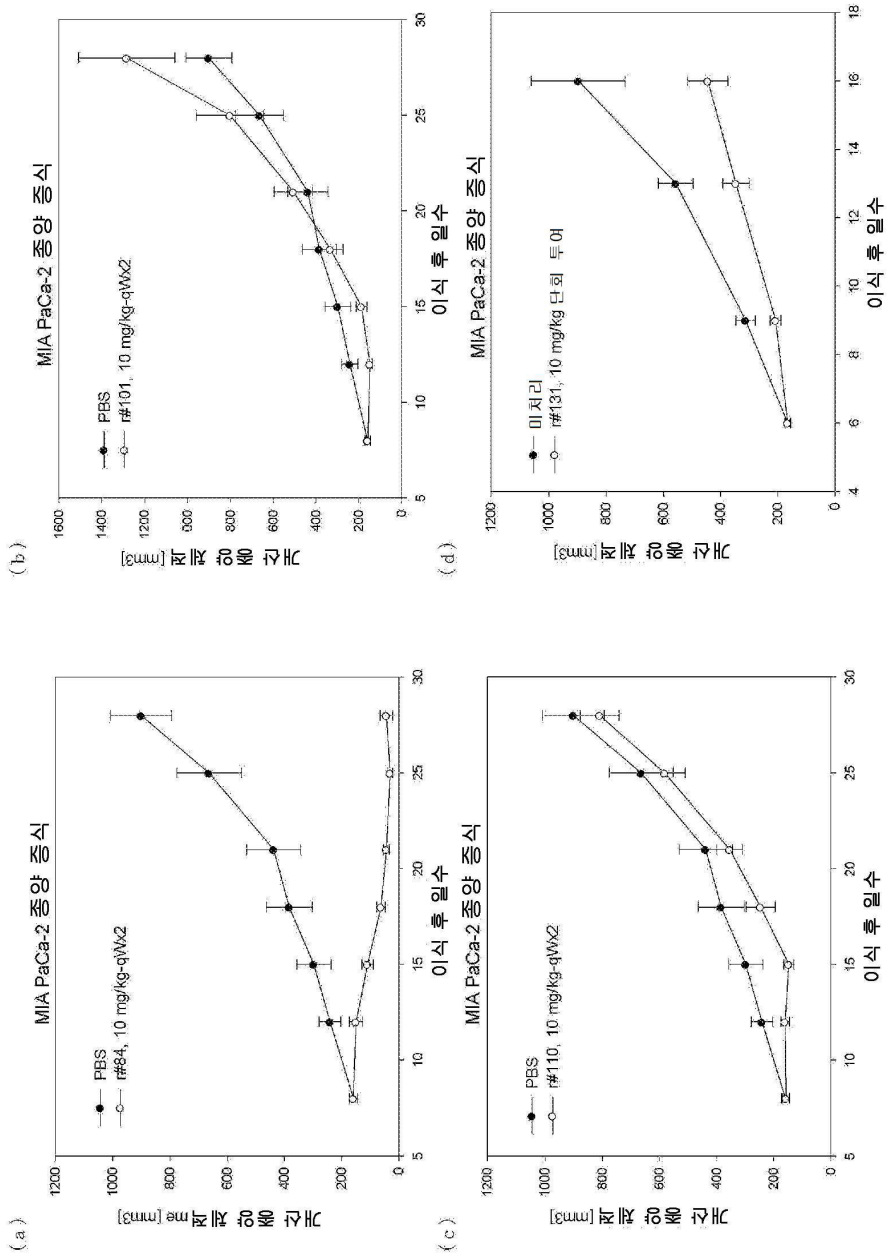
도면9b


(f)
MIA PaCa-2 종양 증식
미처리
2P10F2chIgG2, 10mg/kg-단회 투여
종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(e)
MIA PaCa-2 종양 증식
미처리
2P10F2, 10 mg/kg-단회 투여
종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(g)
MIA PaCa-2 종양 증식
미처리
2P10F2chIgG4P, 10 mg/kg-단회 투여
종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

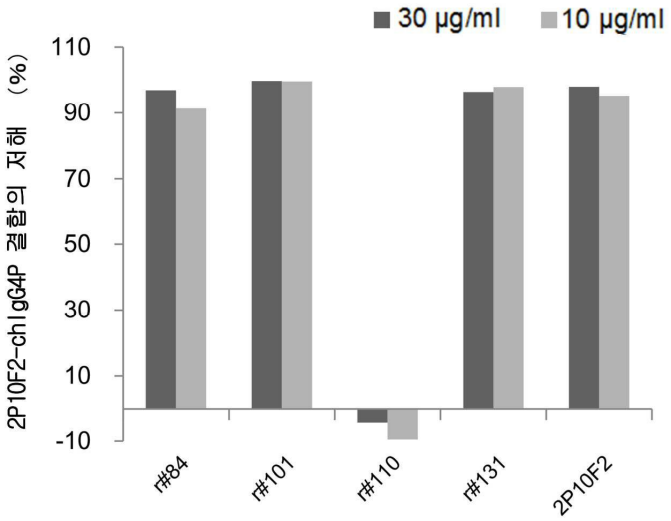
도면10


NOG 마우스에 있어서의 MIA PaCa-2 종양 증식
미처리
LN22R8chIgG4P, 10 mg/kg 단회 투여
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
4
6
8
10
12
14
16
18

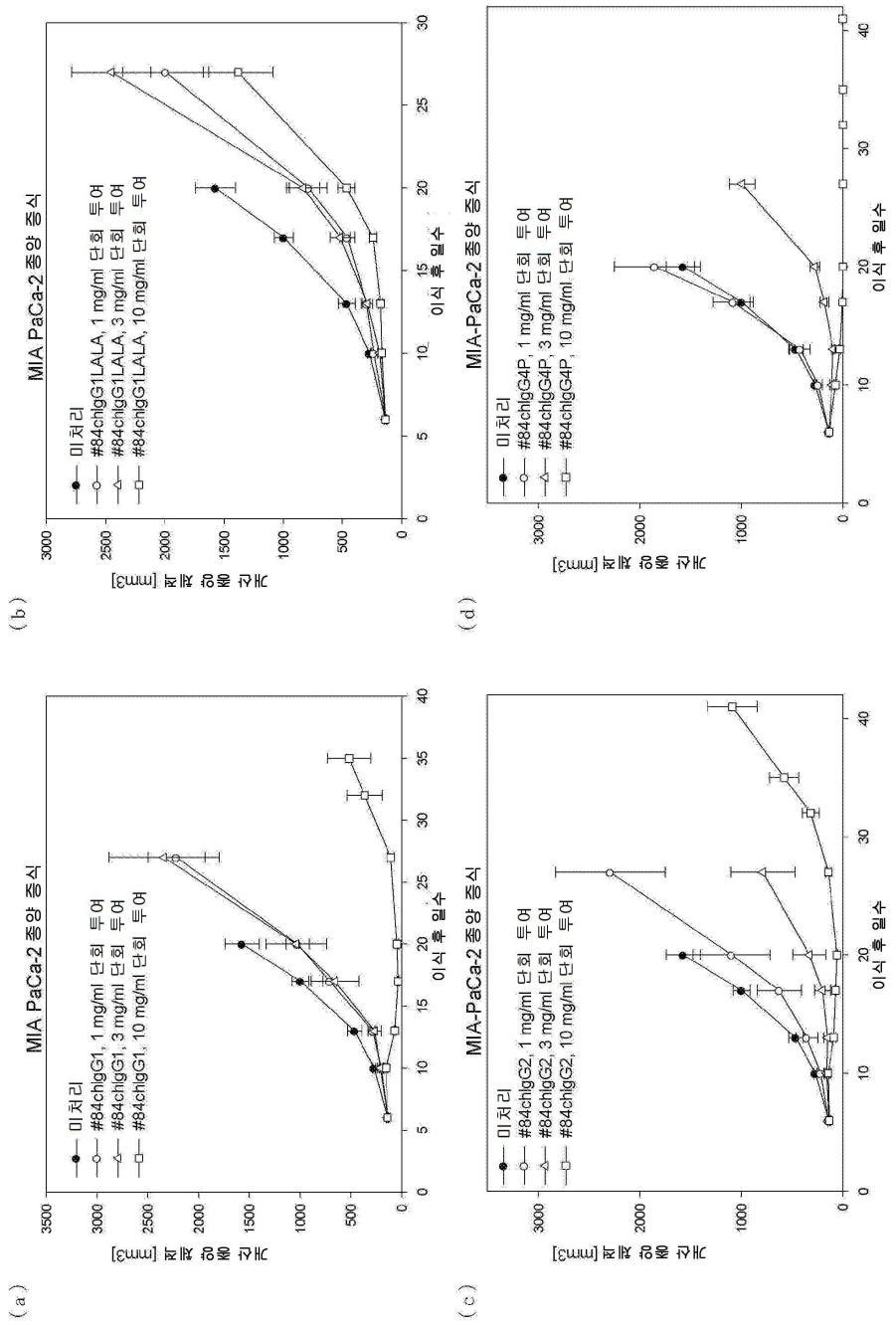
도면11


(a)
MIA PaCa-2 종양 증식
PBS
r#84, 10 mg/kg-qWx2
개수 평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(b)
MIA PaCa-2 종양 증식
PBS
r#101, 10 mg/kg-qWx2
개수 평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(c)
MIA PaCa-2 종양 증식
PBS
r#110, 10 mg/kg-qWx2
개수 평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(d)
MIA PaCa-2 종양 증식
미처리
r#131, 10 mg/kg 단회 투여
개수 평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

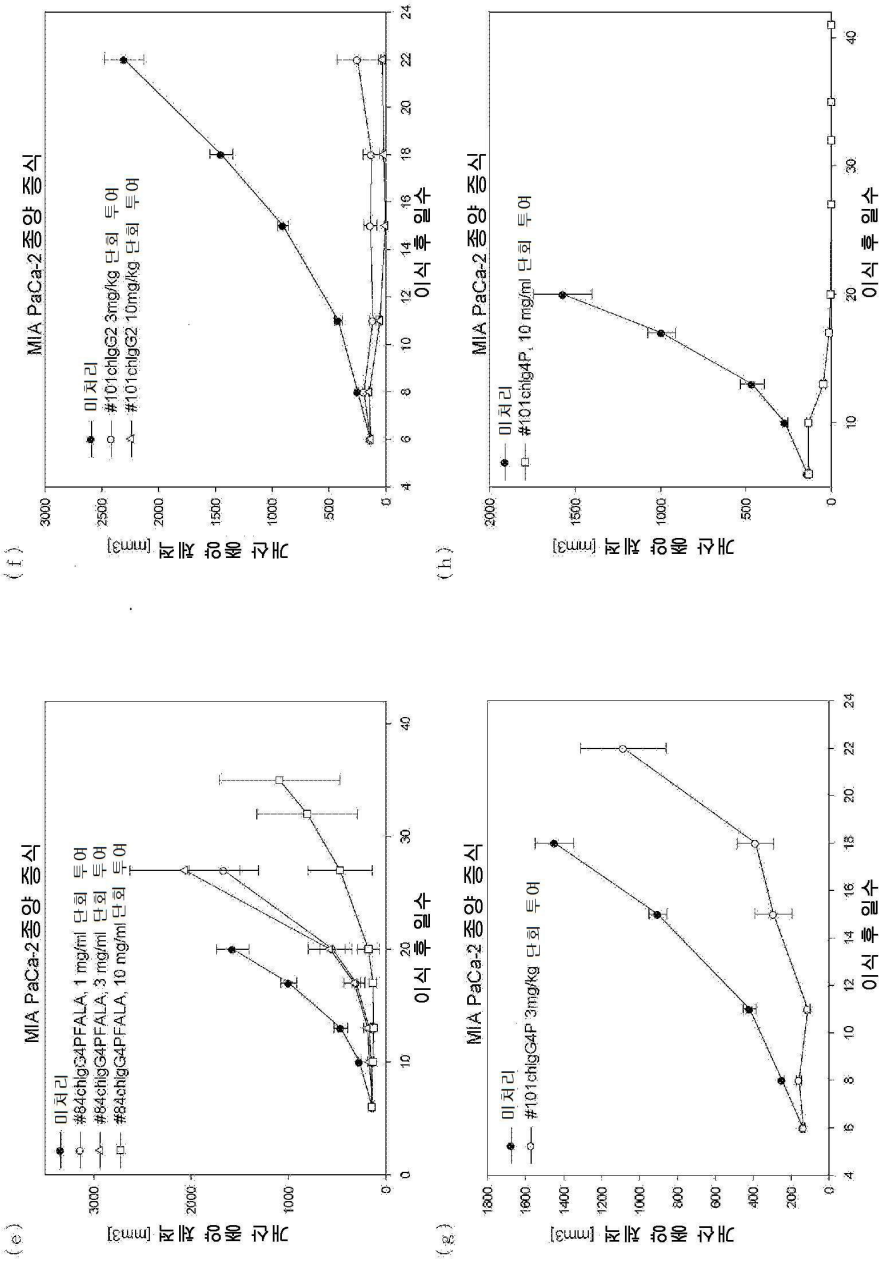
도면12


30 μg/ml
10 μg/ml
2P10F2-chIgG4P 결합의 저해 (%)
110
90
70
50
30
10
-10
r#84
r#101
r#110
r#131
2P10F2

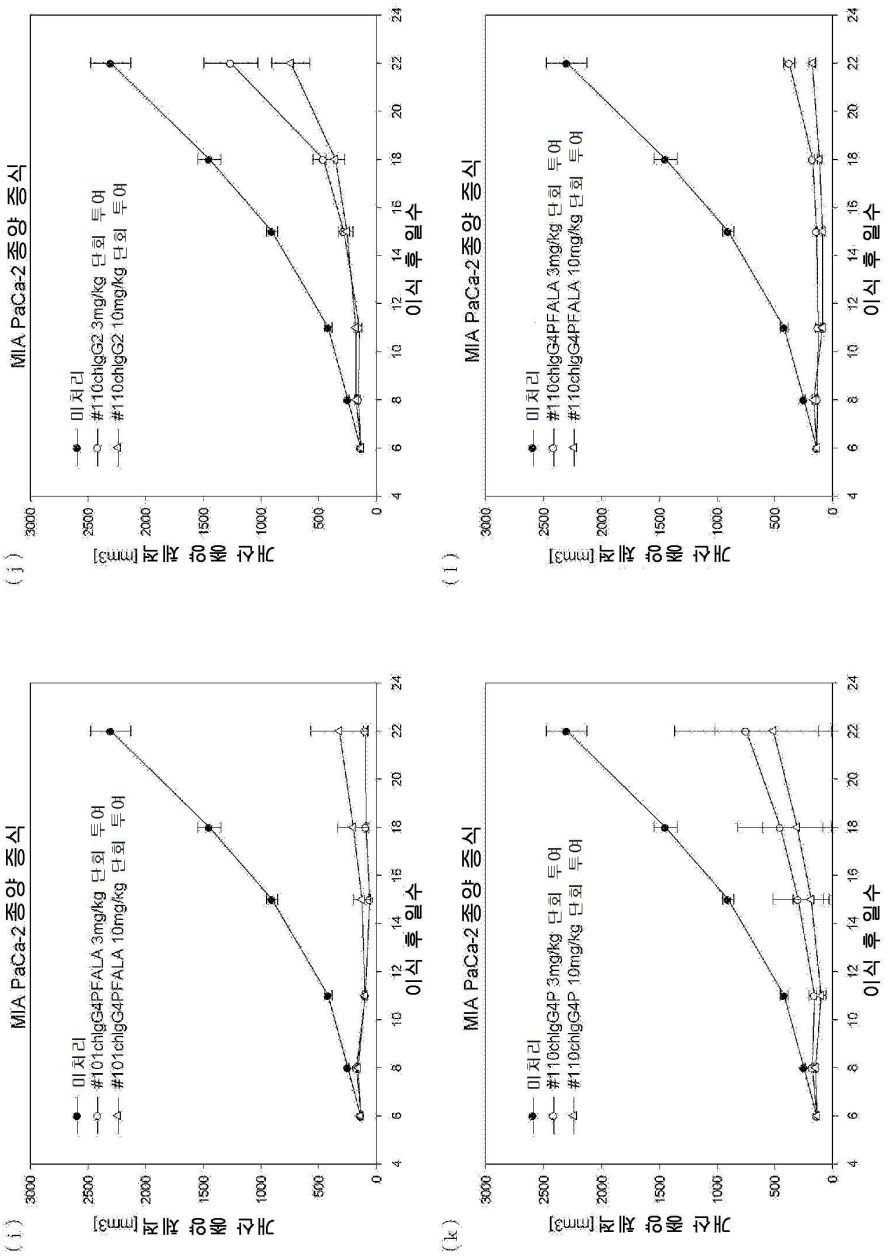
도면13a


(a)
MIA PaCa-2 종양 증식
미처리
#84chIgG1, 1 mg/ml 단회 투여
#84chIgG1, 3 mg/ml 단회 투여
#84chIgG1, 10 mg/ml 단회 투여
종양 용적 [mm3]
이식 후 일수
(b)
MIA PaCa-2 종양 증식
미처리
#84chIgG1LALA, 1 mg/ml 단회 투여
#84chIgG1LALA, 3 mg/ml 단회 투여
#84chIgG1LALA, 10 mg/ml 단회 투여
종양 용적 [mm3]
이식 후 일수
(c)
MIA-PaCa-2 종양 증식
미처리
#84chIgG2, 1 mg/ml 단회 투여
#84chIgG2, 3 mg/ml 단회 투여
#84chIgG2, 10 mg/ml 단회 투여
종양 용적 [mm3]
이식 후 일수
(d)
MIA-PaCa-2 종양 증식
미처리
#84chIgG4P, 1 mg/ml 단회 투여
#84chIgG4P, 3 mg/ml 단회 투여
#84chIgG4P, 10 mg/ml 단회 투여
종양 용적 [mm3]
이식 후 일수

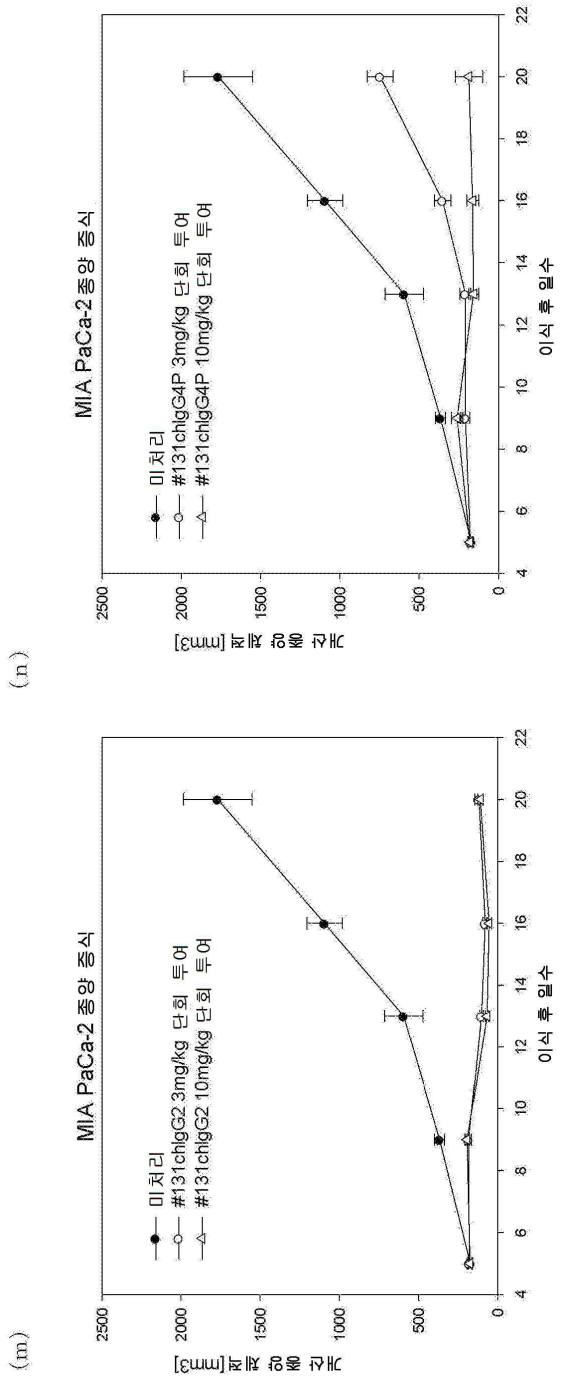
도면13b


(e)
MIA PaCa-2 종양 증식
이식 후 일수
종양 체적 [mm3]
대조
#84chIgG4PFALA, 1 mg/ml 단회 투여
#84chIgG4PFALA, 3 mg/ml 단회 투여
#84chIgG4PFALA, 10 mg/ml 단회 투여
(f)
MIA PaCa-2 종양 증식
이식 후 일수
종양 체적 [mm3]
대조
#101chIgG2 3mg/kg 단회 투여
#101chIgG2 10mg/kg 단회 투여
(g)
MIA PaCa-2 종양 증식
이식 후 일수
종양 체적 [mm3]
대조
#101chIgG4P 3mg/kg 단회 투여
(h)
MIA PaCa-2 종양 증식
이식 후 일수
종양 체적 [mm3]
대조
#101chIg4P, 10 mg/ml 단회 투여

도면13c


(i)
MIA PaCa-2 종양 증식
개수 평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
이 저 리
#101chIgG4PFALA 3mg/kg 단 회 투 여
#101chIgG4PFALA 10mg/kg 단 회 투 여
(j)
MIA PaCa-2 종양 증식
개수 평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
이 저 리
#110chIgG2 3mg/kg 단 회 투 여
#110chIgG2 10mg/kg 단 회 투 여
(k)
MIA PaCa-2 종양 증식
개수 평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
이 저 리
#110chIgG4P 3mg/kg 단 회 투 여
#110chIgG4P 10mg/kg 단 회 투 여
(l)
MIA PaCa-2 종양 증식
개수 평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
이 저 리
#110chIgG4PFALA 3mg/kg 단 회 투 여
#110chIgG4PFALA 10mg/kg 단 회 투 여

도면13d


(m)
MIA PaCa-2 종양 종식
미처리
#131chIgG2 3mg/kg 단회 투여
#131chIgG2 10mg/kg 단회 투여
종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(n)
MIA PaCa-2 종양 종식
미처리
#131chIgG4P 3mg/kg 단회 투여
#131chIgG4P 10mg/kg 단회 투여
종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

도면14

(a) #84H1h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#84 HC   1 EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPKKGLEWVATITTSGSRPYY 60
#84H1h              1 ..............G..R.....................G......S.......... 60

래트_CD147_#84 HC  61 PDSVKGRFTISRDNAKSSLYLQMNSLKSEDTATYYCARHIYYYDGYPFAYWGQGTLVTVS 120
#84H1h             61 A.............S.NT........RA....V.......................... 120

래트_CD147_#84 HC 121 S                                                         121
#84H1h            121 .                                                         121
```

(b) #84L2h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#84 LC   1 DVQMTQSPSYLAASPGESVSISCKASKSISNNLAWYQEKPGKANKLLIHSGSTLQSGTPS 60
#84L2h              1 .........S.S..V.DR.T.T..............Q..................... 60

래트_CD147_#84 LC  61 RFSGSGSGTDFTLTIRSLEFEDFAVYYCQQYNEYPLTFGSGTKLEIKR             108
#84L2h             61 ...............S..QP....T.............Q...V....             108
```

도면15

(a) #101H1h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#101 HC   1 EVQLVESDGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPTKGLEWVATISYDGSNTYY 60
#101H1h              1 .......G..........R.....................G.................. 60

래트_CD147_#101 HC  61 RDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSGDTATYYCARFYNNYYFDYWGQGVMVTVSS   118
#101H1h             61 .............S........N...A....V.................TL.....   118
```

(b) #101L2h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#101 LC   1 DIQMTQSPSLLSASVGGRITLNCKASQNLYKNLAWYQQKLGEAPKLLIDNANSLQTGIPS 60
#101L2h              1 .........S......D.V.I...................P.K.................. 60

래트_CD147_#101 LC  61 RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYFCQQYYSGSYTFGAGTKLELKR             108
#101L2h             61 ......................F................Q...V.I..             108
```

도면16

(a) #110H1h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#110 HC   1 QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGYTFTSDFMHWIKQQPGNGLEWIGWIYPGDGDTEY 60
#110H1h              1 ....V.....VK...A...V.................VR.A..Q....M............ 60

래트_CD147_#110 HC  61 NQKFNGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGRGYVMDAWGQGASVTVSS    117
#110H1h             61 ....Q.RV...R.T.I.....E..R.R.D.T...Y..............TT.....    117
```

(b) #110H13h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#110 HC   1 QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGYTFTSDFMHWIKQQPGNGLEWIGWIYPGDGDTEY 60
#110H13h             1 ....V.....VK...A...V.................VR.A..Q....M............ 60

래트_CD147_#110 HC  61 NQKFNGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGRGYVMDAWGQGASVTVSS    117
#110H13h            61 A...Q.RV.M.R.T.I.....E..R.R.D.T...Y..............TT.....    117
```

(c) #110L4h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#110 LC   1 DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPS 60
#110L4h              1 ......S...LS..V.D....T..................GKA.................. 60

래트_CD147_#110 LC  61 RFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYFCQQYDSSPRTFGGGTKLELKR             108
#110L4h             61 ...........T......Q.....T..................V.I..             108
```

(d) #110L2h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#110 LC   1 DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPS 60
#110L2h              1 ......S...LS..V.D....T..................GKAP................. 60

래트_CD147_#110 LC  61 RFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYFCQQYDSSPRTFGGGTKLELKR             108
#110L2h             61 ...........T......Q.....T.Y................V.I..             108
```

(e) #110L12h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#110 LC   1 DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPS 60
#110L12h             1 ......S...LS..V.D....T..................GKAP................. 60

래트_CD147_#110 LC  61 RFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYFCQQYDSSPRTFGGGTKLELKR             108
#110L12h            61 ..........FT......Q.....T.Y................V.I..             108
```

도면17

(a) #131H2h의 가변 영역의 설계

```
래트_CD147_#131 HC    1 EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCGASGFTFNNYWMTWVRQAPGKGLEWVASITKAGGSTYY 60
#131H2h               1 Q.........V.......R...A..................................... 60

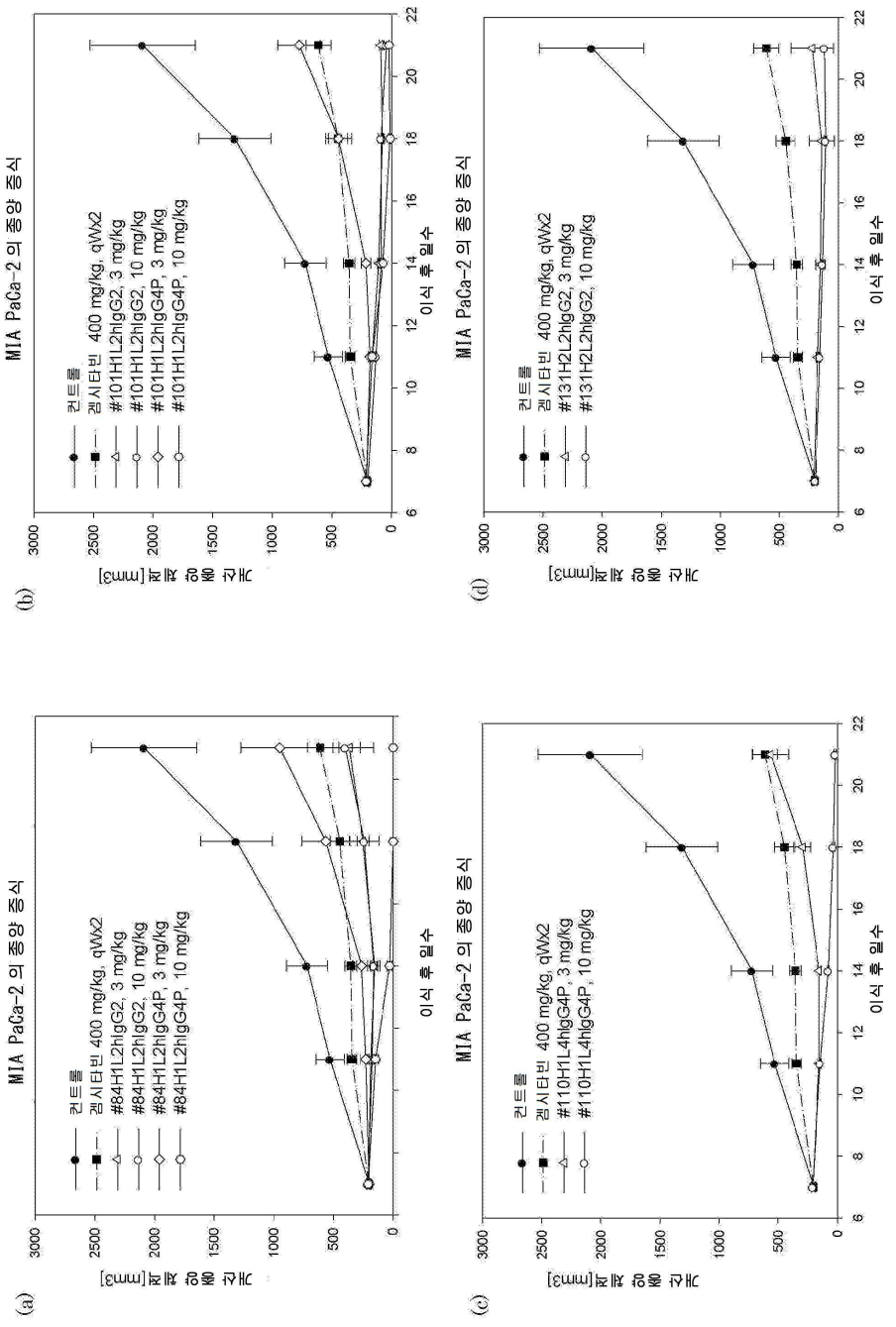
래트_CD147_#131 HC   61 RDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMNSLRSEDTATYYCTRELGEFYVMDAWGQGASVTVSS  119
#131H2h              61 A.............S............A.G..V...................TT.....  119
```

(b) #131L2h의 가변 영역의 설계

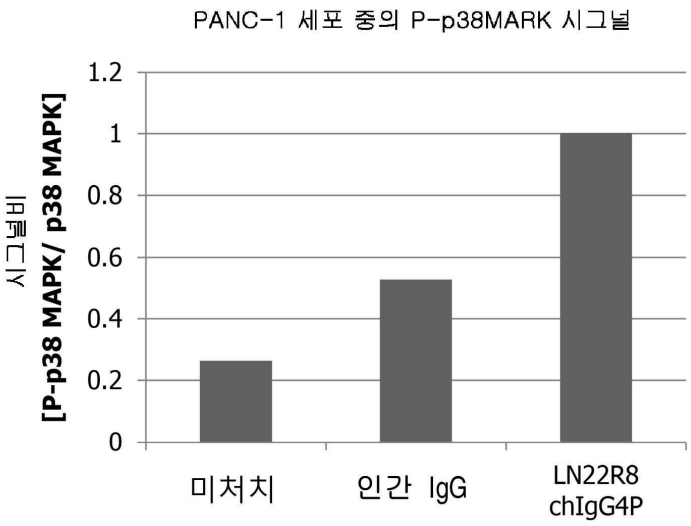
```
래트_CD147_#131 LC    1 DVQMTQSPSYLAASPGESVSISCKASKSINTYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGTPS 60
#131L2h               1 .........S.S..V.DR.T.T...................................... 60

래트_CD147_#131 LC   61 RFSGSGSGTDFTLTIRSLEPEDFAVYYCQQHNEYPFTFGSGTKLEIKR             108
#131L2h              61 ..............S..Q.....T..............Q........             108
```

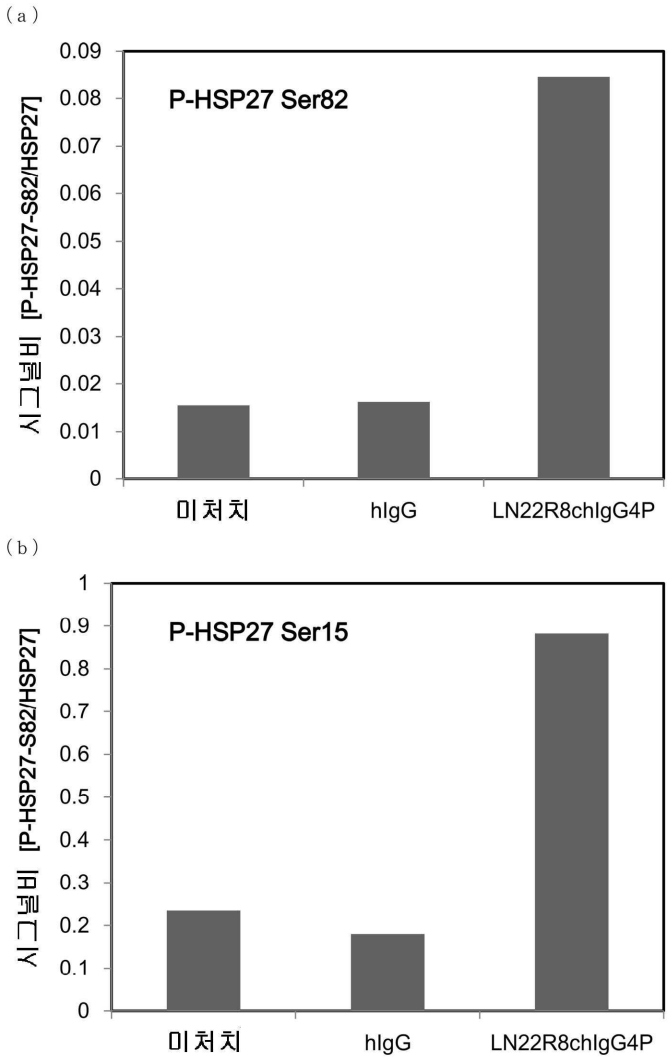
도면18



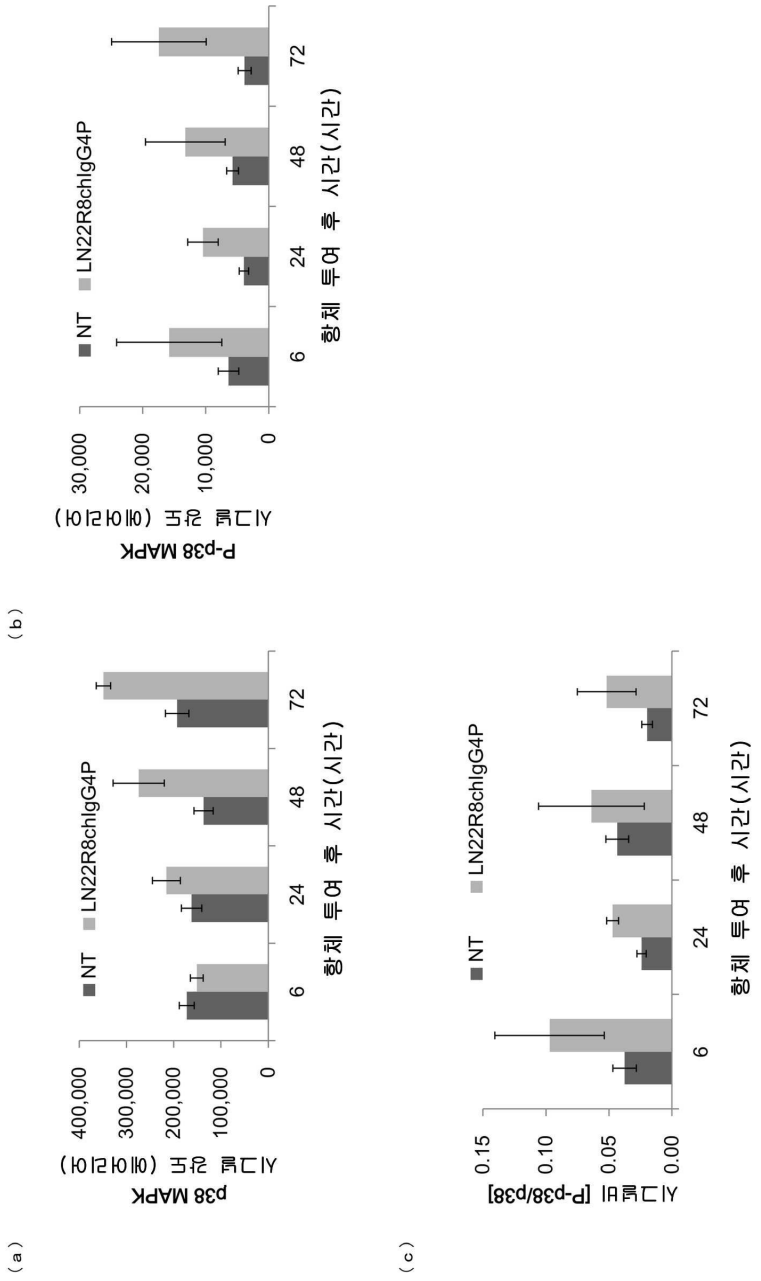
도면19


PANC-1 세포 중의 P-p38MARK 시그널
시그널비
[P-p38 MAPK/ p38 MAPK]
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
미처치
인간 IgG
LN22R8
chIgG4P

도면20

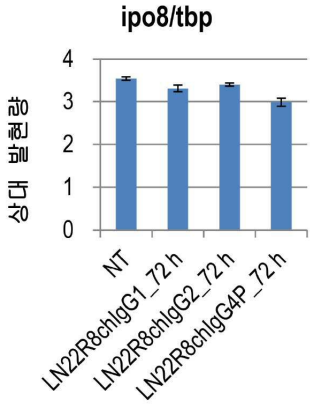

(a)
P-HSP27 Ser82
시그널비 [P-HSP27-S82/HSP27]
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
미처치
hIgG
LN22R8chIgG4P
(b)
P-HSP27 Ser15
시그널비 [P-HSP27-S82/HSP27]
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
미처치
hIgG
LN22R8chIgG4P

도면21

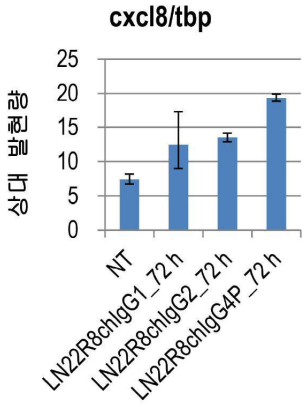

(a)
p38 MAPK
시그널 강도 (에어리어)
400,000
300,000
200,000
100,000
0
6
24
48
72
항체 투여 후 시간(시간)
NT
LN22R8chIgG4P
(b)
P-p38 MAPK
시그널 강도 (에어리어)
30,000
20,000
10,000
0
6
24
48
72
항체 투여 후 시간(시간)
NT
LN22R8chIgG4P
(c)
시그널비 [P-p38/p38]
0.15
0.10
0.05
0.00
6
24
48
72
항체 투여 후 시간(시간)
NT
LN22R8chIgG4P

도면22

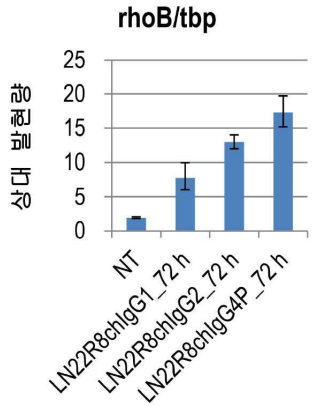
(a)


ipo8/tbp
상대 발현량
4
3
2
1
0
NT
LN22R8chIgG1_72 h
LN22R8chIgG2_72 h
LN22R8chIgG4P_72 h

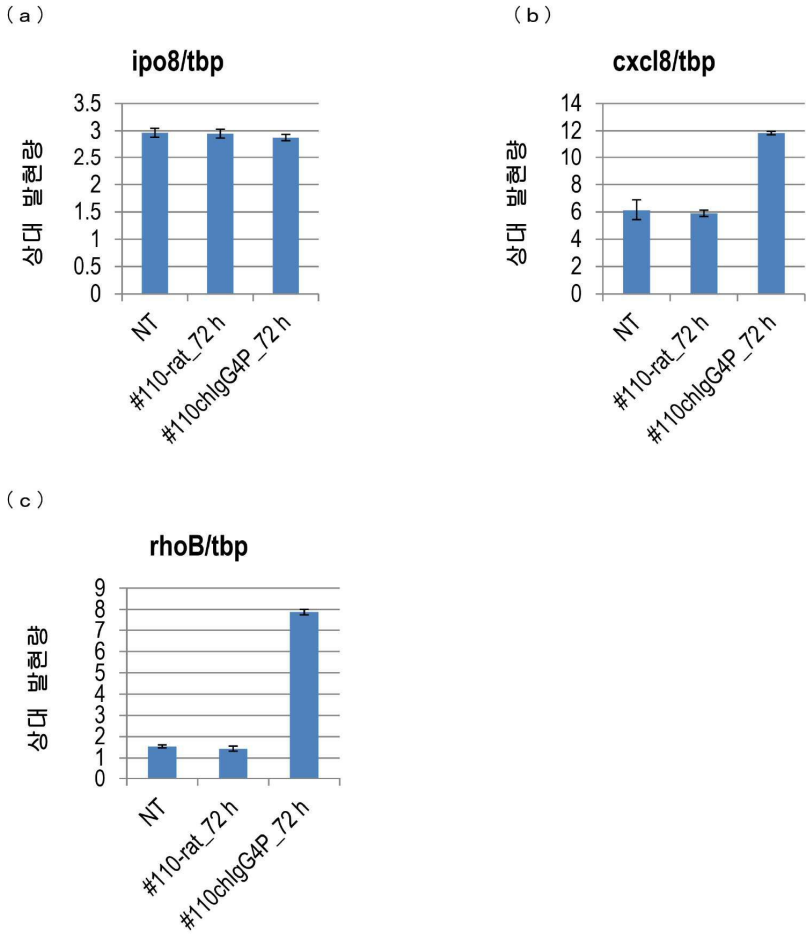
(b)


cxcl8/tbp
상대 발현량
25
20
15
10
5
0
NT
LN22R8chIgG1_72 h
LN22R8chIgG2_72 h
LN22R8chIgG4P_72 h

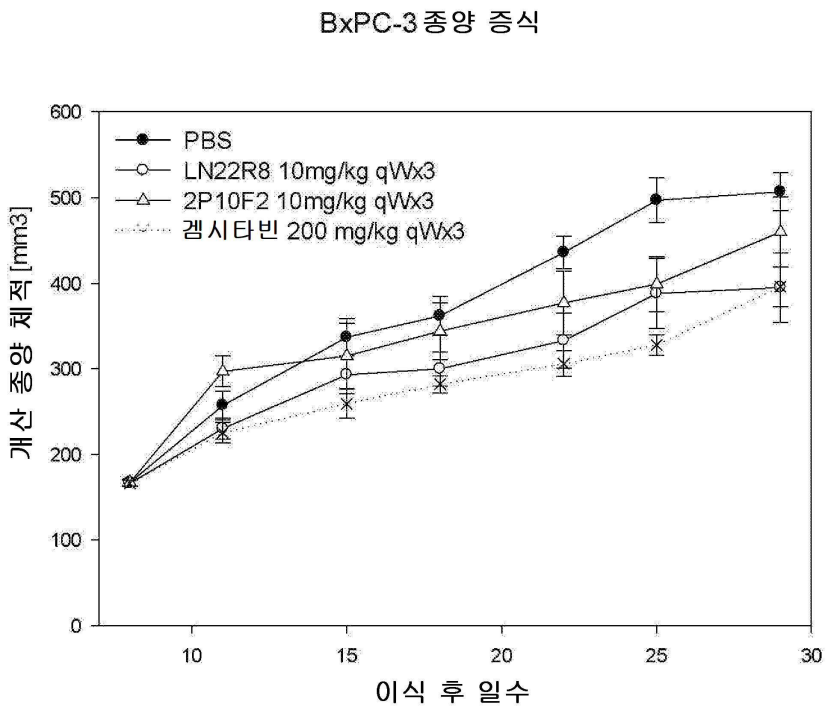
(c)


rhoB/tbp
상대 발현량
25
20
15
10
5
0
NT
LN22R8chIgG1_72 h
LN22R8chIgG2_72 h
LN22R8chIgG4P_72 h

도면23

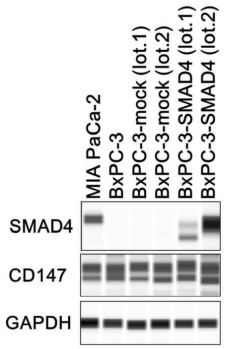

(a)
ipo8/tbp
상대 발현량
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
NT
#110-rat_72 h
#110chIgG4P_72 h
(b)
cxcl8/tbp
상대 발현량
14
12
10
8
6
4
2
0
NT
#110-rat_72 h
#110chIgG4P_72 h
(c)
rhoB/tbp
상대 발현량
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
NT
#110-rat_72 h
#110chIgG4P_72 h

도면24

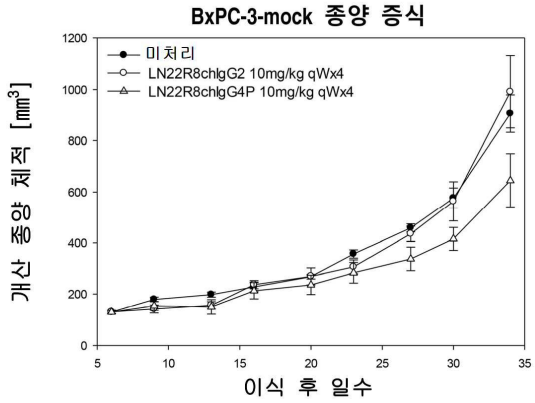

BxPC-3 종양 증식
개산 종양 체적 [mm3]
600
500
400
300
200
100
0
PBS
LN22R8 10mg/kg qWx3
2P10F2 10mg/kg qWx3
겜시타빈 200 mg/kg qWx3
10
15
20
25
30
이식 후 일수

도면25

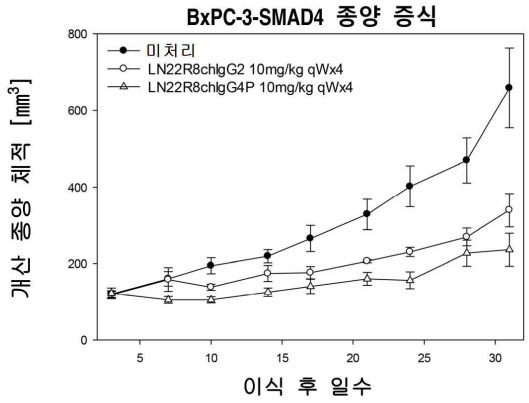
(a)


MIA PaCa-2
BxPC-3
BxPC-3-mock (lot.1)
BxPC-3-mock (lot.2)
BxPC-3-SMAD4 (lot.1)
BxPC-3-SMAD4 (lot.2)
SMAD4
CD147
GAPDH

(b)

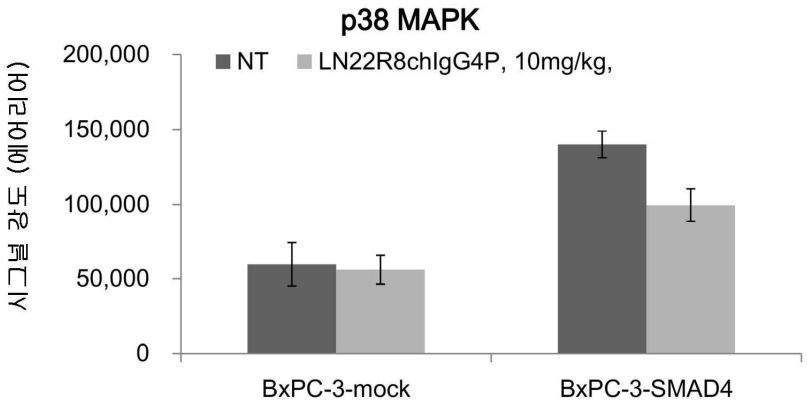

BxPC-3-mock 종양 증식
미처리
LN22R8chIgG2 10mg/kg qWx4
LN22R8chIgG4P 10mg/kg qWx4
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

(c)

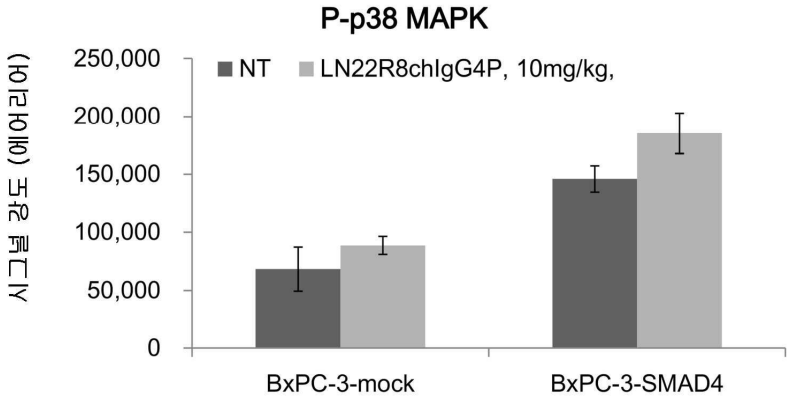

BxPC-3-SMAD4 종양 증식
미처리
LN22R8chIgG2 10mg/kg qWx4
LN22R8chIgG4P 10mg/kg qWx4
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

도면26

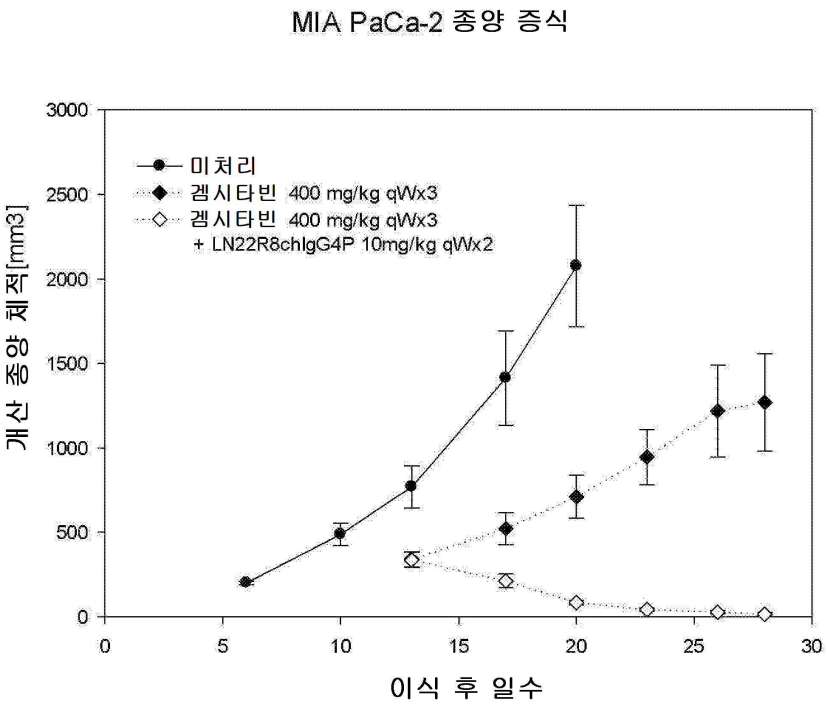
(a)


p38 MAPK
NT
LN22R8chIgG4P, 10mg/kg,
시그널 강도 (에어리어)
200,000
150,000
100,000
50,000
0
BxPC-3-mock
BxPC-3-SMAD4

(b)

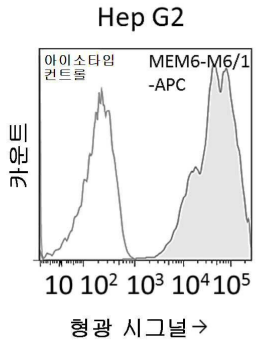

P-p38 MAPK
NT
LN22R8chIgG4P, 10mg/kg,
시그널 강도 (에어리어)
250,000
200,000
150,000
100,000
50,000
0
BxPC-3-mock
BxPC-3-SMAD4

도면27

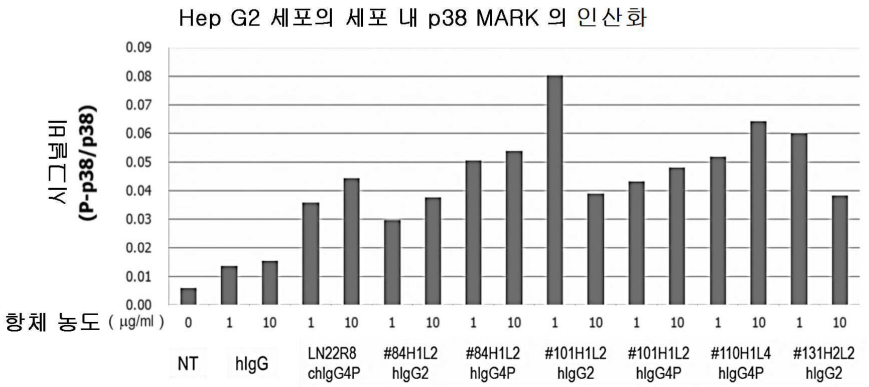

MIA PaCa-2 종양 증식
미처리
겜시타빈 400 mg/kg qWx3
겜시타빈 400 mg/kg qWx3
+ LN22R8chIgG4P 10mg/kg qWx2
개산 종양 체적[mm3]
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
이식 후 일수

도면28

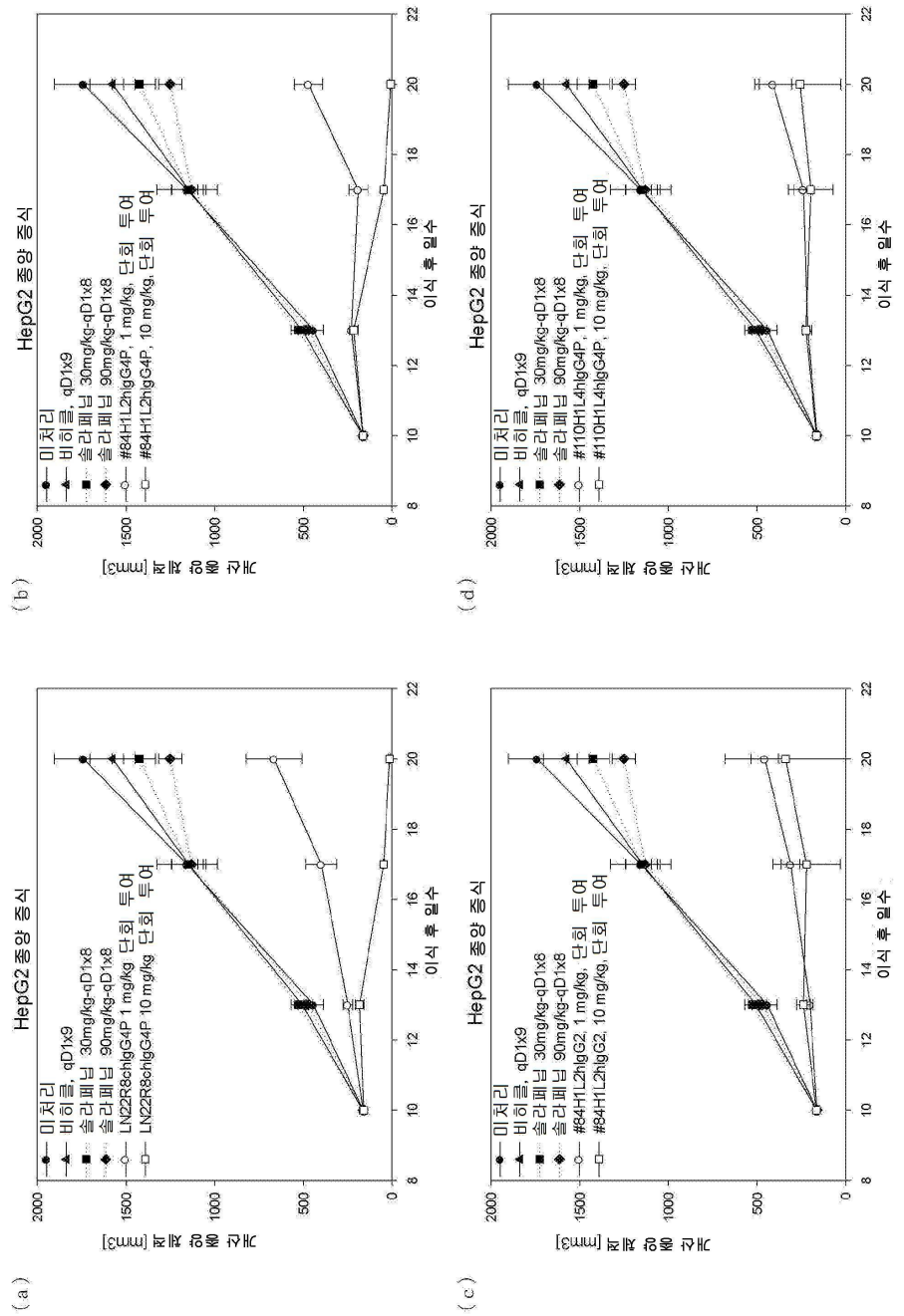
(a)


Hep G2
아이소타입
컨트롤
MEM6-M6/1
-APC
카운트
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
형광 시그널→

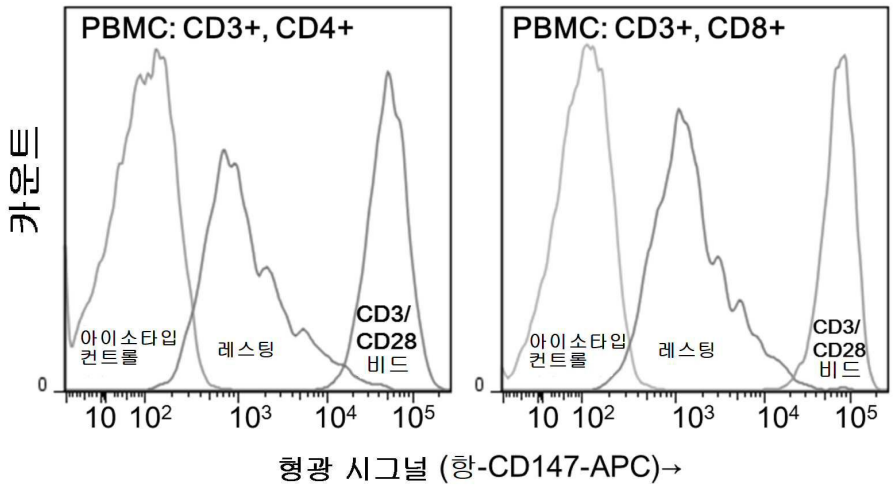
(b)


Hep G2 세포의 세포 내 p38 MARK 의 인산화
시그널비
(P-p38/p38)
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
항체 농도 (μg/ml)
0 1 10 1 10 1 10 1 10 1 10 1 10 1 10 1 10
NT
hIgG
LN22R8 chIgG4P
#84H1L2 hIgG2
#84H1L2 hIgG4P
#101H1L2 hIgG2
#101H1L2 hIgG4P
#110H1L4 hIgG4P
#131H2L2 hIgG2

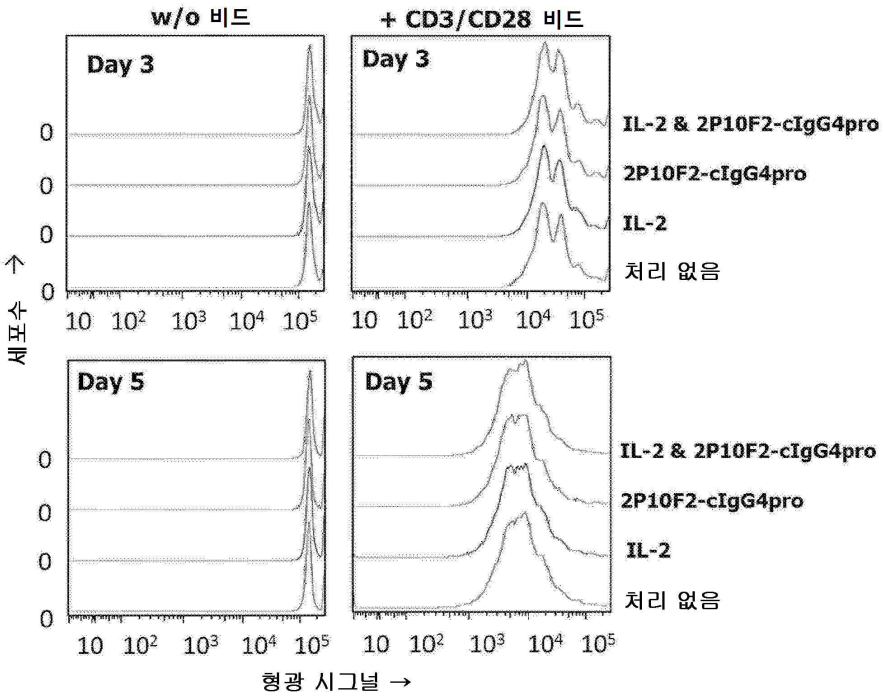
도면29


(a)
HepG2 종양 증식
비히클, qD1x9
슬라페닙 30mg/kg-qD1x8
슬라페닙 90mg/kg-qD1x8
LN22R8chIgG4P 1 mg/kg 단회 투여
LN22R8chIgG4P 10 mg/kg 단회 투여
평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(b)
HepG2 종양 증식
비히클, qD1x9
슬라페닙 30mg/kg-qD1x8
슬라페닙 90mg/kg-qD1x8
#84H1L2hIgG4P, 1 mg/kg, 단회 투여
#84H1L2hIgG4P, 10 mg/kg, 단회 투여
평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(c)
HepG2 종양 증식
비히클, qD1x9
슬라페닙 30mg/kg-qD1x8
슬라페닙 90mg/kg-qD1x8
#84H1L2hIgG2, 1 mg/kg, 단회 투여
#84H1L2hIgG2, 10 mg/kg, 단회 투여
평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
(d)
HepG2 종양 증식
비히클, qD1x9
슬라페닙 30mg/kg-qD1x8
슬라페닙 90mg/kg-qD1x8
#110H1L4hIgG4P, 1 mg/kg, 단회 투여
#110H1L4hIgG4P, 10 mg/kg, 단회 투여
평균 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

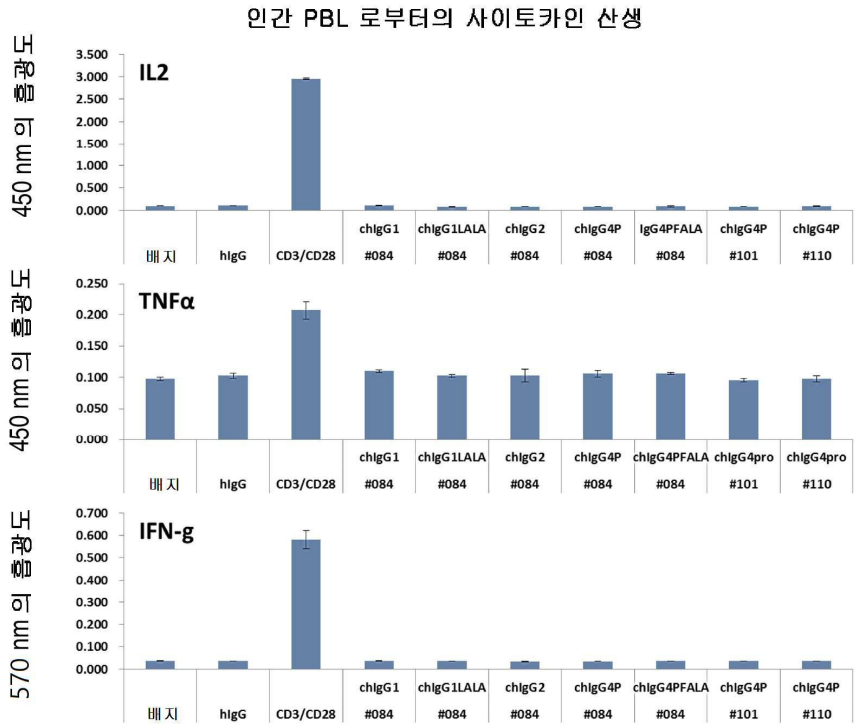
도면30


PBMC: CD3+, CD4+
PBMC: CD3+, CD8+
카운트
아이소타입 컨트롤
레스팅
CD3/ CD28 비드
0
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
형광 시그널 (항-CD147-APC)→

도면31


w/o 비드
+ CD3/CD28 비드
Day 3
Day 5
IL-2 & 2P10F2-cIgG4pro
2P10F2-cIgG4pro
IL-2
처리 없음
세포수 →
0
10 10² 10³ 10⁴ 10⁵
형광 시그널 →

도면32



도면33a

서열 번호 ４８ : 래트 _CD147_#84 의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GATGTCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCGTCTCCTGGAGAAAGTGTTTCCATCAGTTGCAAGGCAAGTAAGAGCATTAGCAATAA
TTTAGCCTGGTATCAGGAGAAACCTGGGAAAGCAAATAAGCTTCTTATTCACTCTGGGTCAACTTTGCAATCTGGAACTCCATCGAGGTTCAGTG
GCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACGCTCACCATCAGAAGCCTGGAGTTTGAAGATTTTGCAGTCTATTACTGTCAACAGTATAATGAATACCCA
CTCACGTTCGGTTCTGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGG

서열 번호 ４９ : 래트 _CD147_#84 의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
DVQMTQSPSYLAASPGESVSISCKASKSISNNLAWYQEKPGKANKLLIHSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTIRSLEFEDFAVYYCQQYNEYP
LTFGSGTKLEIKR

서열 번호 ５２ : 래트 _CD147_#84 의 CDRL1 의 아미노산 서열
KASKSISNNLA

서열 번호 ５３ : 래트 _CD147_#84 의 CDRL2 의 아미노산 서열
SGSTLQS

서열 번호 ５４ : 래트 _CD147_#84 의 CDRL3 의 아미노산 서열
QQYNEYPLT

도면33b

서열 번호５０： 래트 __ＣＤ１４７__＃８４의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTAGTGCAGCCTGGAAGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCAGGATTCACTTTCAGTAACTA
TTACATGGCCTGGGTCCGCCAGGCTCCAAAGAAGGGTCTGGAGTGGGTCGCAACCATTACTACCAGTGGTAGCAGACCTTACTATCCAGACTCCG
TGAAAGGCCGATTCACTATCTCCAGAGATAATGCAAAAAGCAGCCTATACCTGCAAATGAACAGTCTGAAGTCTGAGGACACGGCCACTTATTAC
TGTGCAAGACATATTTATTACTATGATGGTTACCCCTTTGCTTACTGGGGCCAAGGCACTCTGGTCACTGTCTCTTCA

서열 번호５１： 래트 __ＣＤ１４７__＃８４의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPKKGLEWVATITTSGSRPYYPDSVKGRFTISRDNAKSSLYLQMNSLKSEDTATYY
CARHIYYYDGYPFAYWGQGTLVTVSS

서열 번호５５： 래트 __ＣＤ１４７__＃８４의ＣＤＲＨ１의 아미노산 서열
GFTFSNYYMA

서열 번호５６： 래트 __ＣＤ１４７__＃８４의ＣＤＲＨ２의 아미노산 서열
TITTSGSRPY

서열 번호５７： 래트 __ＣＤ１４７__＃８４의ＣＤＲＨ３의 아미노산 서열
HIYYYDGYPFAY

도면34a

서열 번호５８： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCTTCACTCCTGTCTGCATCTGTGGGAGGCAGAATCACTCTCAACTGCAAAGCAAGTCAGAATCTCTATAAGAA
CTTAGCCTGGTATCAGCAGAAGCTTGGAGAAGCTCCCAAACTCCTGATTGATAATGCAAACAGTTTGCAAACGGGCATCCCATCAAGGTTCAGTG
GCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACACTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCCACATATTTCTGCCAGCAGTATTATAGCGGGTCG
TACACGTTTGGAGCTGGGACCAAGCTGGAACTGAAACGG

서열 번호５９： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
DIQMTQSPSLLSASVGGRITLNCKASQNLYKNLAWYQQKLGEAPKLLIDNANSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYFCQQYYSGS
YTFGAGTKLELKR

서열 번호６２： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의ＣＤＲＬ１의 아미노산 서열
KASQNLYKNLA

서열 번호６３： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의ＣＤＲＬ２의 아미노산 서열
NANSLQT

서열 번호６４： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의ＣＤＲＬ３의 아미노산 서열
QQYYSGSYT

도면34b

서열 번호６０： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGATGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAAGGTCCCTAAAACTCTCCTGTGCAGCCTCAGGATTCACTTTCAGTGACTA
TTACATGGCCTGGGTCCGCCAGGCTCCAACGAAGGGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTTATGATGGTAGTAACACTTACTATCGAGACTCCG
TGAAGGGCCGATTCACTATCTCCAGAGATAATGCAAAAAGCACCCTATACCTGCAAATGGACAGTCTGAGGTCTGGGGACACGGCCACTTATTAC
TGTGCAAGATTTTACAACAACTACTACTTTGATTACTGGGGCCAAGGAGTCATGGTCACAGTCTCCTCA

서열 번호６１： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
EVQLVESDGGLVQPGRSLKLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPTKGLEWVATISYDGSNTYYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMDSLRSGDTATYY
CARFYNNYYFDYWGQGVMVTVSS

서열 번호６５： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의ＣＤＲＨ１의 아미노산 서열
GFTFSDYYMA

서열 번호６６： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의ＣＤＲＨ２의 아미노산 서열
TISYDGSNTY

서열 번호６７： 래트 __ＣＤ１４７__＃１０１의ＣＤＲＨ３의 아미노산 서열
FYNNYYFDY

도면35a

서열 번호６８： 래트 _CD147_#110의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GACATCCAGATGACCCAGACTCCATCCTCCATGCCTGCATCTCTGGGAGAGAGAGTCACCATCAGTTGCAGAGCAAGTCAGGGTATTAGCAATTA
TCTAAACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACGATTAAACCCCTGATCTACTACACATCCAATTTACAATCTGGTGTCCCATCAAGGTTCAGTG
GCAGTGGGTCTGGGACAGATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTTCTGCCAACAGTATGATAGTTCTCCT
CGGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATTGAAACGG

서열 번호６９： 래트 _CD147_#110의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
DIQMTQTPSSMPASLGERVTISCRASQGISNYLNWYQQKPDGTIKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISSLEPEDFAMYFCQQYDSSP
RTFGGGTKLELKR

서열 번호７２： 래트 _CD147_#110의CDRL1의 아미노산 서열
RASQGISNYLN

서열 번호７３： 래트 _CD147_#110의CDRL2의 아미노산 서열
YTSNLQS

서열 번호７４： 래트 _CD147_#110의CDRL3의 아미노산 서열
QQYDSSPRT

도면35b

서열 번호７０： 래트 _CD147_#110의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
CAGGTACAGCTGCAGCAATCTGGGGCTGAACTGGTGAAGCCTGGGTCCTCAGTGAAAATTTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTCACCAGTGA
CTTTATGCACTGGATAAAACAGCAGCCTGGAAATGGCCTTGAGTGGATTGGGTGGATTTATCCTGGAGATGGTGATACAGAGTACAATCAAAAGT
TCAATGGGAAGGCAACACTCACTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTATATGCAGCTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCAGTCTATTTC
TGTGCAAGGGGACGGGGGTATGTTATGGATGCCTGGGGTCAAGGAGCTTCAGTCACTGTCTCCTCA

서열 번호７１： 래트 _CD147_#110의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
QVQLQQSGAELVKPGSSVKISCKASGYTFTSDFMHWIKQQPGNGLEWIGWIYPGDGDTEYNQKFNGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYF
CARGRGYVMDAWGQGASVTVSS

서열 번호７５： 래트 _CD147_#110의CDRH1의 아미노산 서열
GYTFTSDFMH

서열 번호７６： 래트 _CD147_#110의CDRH2의 아미노산 서열
WIYPGDGDTE

서열 번호７７： 래트 _CD147_#110의CDRH3의 아미노산 서열
GRGYVMDA

도면36a

서열 번호７８： 래트 _CD147_#131의 경쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GATGTCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTATCTTGCTGCGTCTCCTGGAGAAAGTGTTTCCATCAGTTGCAAGGCAAGTAAAAGCATTAACACATA
CTTAGCCTGGTATCAGGAGAAACCTGGGAAAACGAATAAGCTTCTTATCTACTCTGGGTCAACTTTGCAATCTGGAACTCCATCGAGATTCAGTG
GCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACGCTCACCATCAGAAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTCTACTACTGTCAACAGCATAATGAATACCCC
TTCACGTTCGGCTCAGGGACGAAGTTGGAAATAAAACGG

서열 번호７９： 래트 _CD147_#131의 경쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
DVQMTQSPSYLAASPGESVSISCKASKSINTYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTIRSLEPEDFAVYYCQQHNEYP
FTFGSGTKLEIKR

서열 번호８２： 래트 _CD147_#131의CDRL1의 아미노산 서열
KASKSINTYLA

서열 번호８３： 래트 _CD147_#131의CDRL2의 아미노산 서열
SGSTLQS

서열 번호８４： 래트 _CD147_#131의CDRL3의 아미노산 서열
QQHNEYPFT

도면36b

서열 번호８０： 래트 __ＣＤ１４７__＃１３１의 중쇄의 가변 영역의 뉴클레오티드 서열
GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCCTAGTGCAGCCTGGAAGGTCTCTGAAACTATCCTGTGGAGCCTCTGGATTCACATTCAATAACTA
CTGGATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGGTTGCATCCATTACTAAAGCTGGTGGTAGCACTTACTATCGAGACTCTG
TGAAGGGCCGATTCACTATCTCCAGAGATAATGCAAAAAGCACCCTATATCTGCAAATGAACAGTCTGAGGTCTGAGGACACGGCCACTTATTAC
TGTACAAGAGAACTGGGAGAGTTCTATGTTATGGATGCCTGGGGTCAAGGAGCTTCAGTCACTGTCTCCTCA

서열 번호８１： 래트 __ＣＤ１４７__＃１３１의 중쇄의 가변 영역의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
EVQLVESGGGLVQPGRSLKLSCGASGFTFNNYWMTWVRQAPGKGLEWVASITKAGGSTYYRDSVKGRFTISRDNAKSTLYLQMNSLRSEDTATYY
CTRELGEFYVMDAWGQGASVTVSS

서열 번호８５： 래트 __ＣＤ１４７__＃１３１의ＣＤＲＨ１의 아미노산 서열
GFTFNNYWMT

서열 번호８６： 래트 __ＣＤ１４７__＃１３１의ＣＤＲＨ２의 아미노산 서열
SITKAGGSTY

서열 번호８７： 래트 __ＣＤ１４７__＃１３１의ＣＤＲＨ３의 아미노산 서열
ELGEFYVMDA

도면37a

서열 번호１２３：＃８４Ｈ１ｈＩｇＧ２의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSTITTSGSRPYYADSVKGRFTISRDNSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHIYYYDGYPFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV
SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
시그널 배열 1～19、가변 영역 20～140、정상 영역 141～466

서열 번호１２４：＃８４Ｈ１ｈＩｇＧ２의 뉴클레오티드 서열
ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGAGGACTGGTTCA
ACCTGGCGGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACTATATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTGTCCACCATCACCACCAGCGGCAGCAGACCTTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG
AACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGACACATCTACTACTACGACGGCTACCCCTT
CGCCTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCCGTTCCACCA
GCGAGTCCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTG
CACACCTTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAACTTCGGCACCCAAACCTACAC
CTGTAACGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCTCCTTGTCCTGCCCCTCCTG
TGGCCGGACCTTCCGTGTTCCTTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTG
TCCCACGAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAG
CACCTTCCGTGTGGTGTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGAGCAACAAGGGACTTCCTG
CCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCCTTCCTCCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAAC
CAAGTGTCCCTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACTACAAGAC
CACCCCTCCTATGCTTGACAGCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTgACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTCAGCT
GTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCCTGAGCCCTGGAAAG
시그널 배열 1-57、가변 영역 58-420、정상 영역 421-1398

도면37b

서열 번호 １２５ : ＃８４Ｈ１ｈＩｇＧ４Ｐ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLEWVSTITTSGSRPYYADSVKGRFTISRDNSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHIYYYDGYPFAYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV
HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD
VSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
시그널 배열 1～19、가변 영역 20～140、정상 영역 141～467

서열 번호 １２６ : ＃８４Ｈ１ｈＩｇＧ４Ｐ의 뉴클레오티드 서열
ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGAGGACTGGTTCA
ACCTGGCGGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACTATATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTGTCCACCATCACCACCAGCGGCAGCAGACCTTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG
AACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGACACATCTACTACTACGACGGCTACCCCTT
CGCCTATTGGGGCCAGGGAACACTGGTCACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCAGAAGCACCA
GCGAGTCTACAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTG
CACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCAAGACCTACAC
CTGTAACGTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTGAAT
TTCTGGGCGGACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGAT
GTGTCCCAGGAAGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAA
CAGCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGC
CCAGCTCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCAGGAAGAGATGACCAAG
AATCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCGGAGAACAACTACAA
GACCACCCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCA
GCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCTGGGCAAA
시그널 배열 1～57、가변 영역 58～420、정상 영역 421～1401

도면37c

서열 번호 １２７ : ＃８４Ｌ２ｈ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MVLQTQVFISLLLWISGAYGDVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASKSISNNLAWYQQKPGKANKLLIHSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQYNEYPLTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
시그널 배열 1～20、가변 영역 21～128、정상 영역 129～234

서열 번호 １２８ : ＃８４Ｌ２ｈ의 뉴클레오티드 서열
ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACGTTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCAAGAGCATCAGCAACAACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGAAAGGCCA
ACAAGCTGCTGATCCACAGCGGCAGCACACTGCAGTCTGGCACCCCTAGCAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGATTTCACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACAACGAGTACCCTCTGACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT
시그널 배열 1～60、가변 영역 61～384、정상 영역 385～702

도면38a

서열 번호 １２９ : ＃１０１Ｈ１ｈＩｇＧ２ 의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVATISYDGSNTYYRDSVKGRFTISRDNSK
STLYLQMNSLRAGDTAVYYCARFYNNYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

시그널 배열 1～19、가변 영역 20～137、정상 영역 138～463

서열 번호 １３０ : ＃１０１Ｈ１ｈＩｇＧ２ 의 뉴클레오티드 서열

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGAGGACTGGTTCA
GCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTATATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTCGCCACCATCAGCTACGACGGCAGCAACACCTACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCTCCAGAGACAACAGCAAG
AGCACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGGCGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGATTCTACAACAACTACTACTTCGACTACTG
GGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCCGTTCCACCAGCGAGTCCA
CCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGCACACCTTC
CCTGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAACTTCGGCACCCAAACCTACACCTGTAACGT
GGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCTCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCCGGAC
CTTCCGTGTTCCTTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAG
GACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAGCACCTTCCG
TGTGGTGTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGAGCAACAAGGGACTTCCTGCCCCTATCG
AGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCCTTCCTCCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCC
CTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCTCC
TATGCTTGACAGCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTgACCGTGGACAAGTCCGGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTCAGCTGTTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCCTGAGCCCTGGAAAG

시그널 배열 1～57、가변 영역 58～411、정상 영역 412～1389

도면38b

서열 번호 １３１ : ＃１０１Ｈ１ｈＩｇＧ４Ｐ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)

MKHLWFFLLLVAAPRWVLSEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLEWVATISYDGSNTYYRDSVKGRFTISRDNSK
STLYLQMNSLRAGDTAVYYCARFYNNYYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQ
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

시그널 배열 1～19、가변 영역 20～137、정상 영역 138～464

서열 번호 １３２ : ＃１０１Ｈ１ｈＩｇＧ４Ｐ 의 뉴클레오티드 서열

ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCGAAGTGCAGCTGGTTGAGTCTGGCGGAGGACTGGTTCA
GCCTGGCAGAAGCCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGACTACTATATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTCGCCACCATCAGCTACGACGGCAGCAACACCTACTACCGGGACAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCTCCAGAGACAACAGCAAG
AGCACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGGCGATACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGATTCTACAACAACTACTACTTCGACTACTG
GGGCCAGGGCACCCTGGTCACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCAGAAGCACCAGCGAGTCTA
CAGCCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTT
CCAGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGT
GGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTGAATTTCTGGGCG
GACCCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCAG
GAAGATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACCTA
CCGGGGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCTCCA
TCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTG
TCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCC
CCCTGTGCTGGACTCCGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCG
TGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCTGGGCAAA

시그널 배열 1-57、가변 영역 58-411、정상 영역 412-1392

도면38c

서열 번호 １３３ : ＃１０１Ｌ２ｈ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTINCKASQNLYKNLAWYQQKPGKAPKLLIDNANSLQTGIPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYFCQQYYSGSYTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
시그널 배열 1～20、가변 영역 21～128、정상 영역 129～234

서열 번호 １３４ : ＃１０１Ｌ２ｈ의 뉴클레오티드 서열
ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGATAGAGTGACCATCAACTGCAAGGCCAGCCAGAACCTGTACAAGAACCTGGCCTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCTC
CTAAGCTGCTGATCGACAACGCCAACAGCCTGCAGACCGGCATTCCCAGCAGATTTTCTGGCAGCGGCTCCGGCACCGATTTCACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTTTTGCCAGCAGTACTACAGCGGCAGCTACACCTTTGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT
시그널 배열 1～60、가변 영역 61～384、정상 영역 385～702

도면39a

서열 번호 １３５ : ＃１１０Ｈ１ｈＩｇＧ４Ｐ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSDFMHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGDTEYNQKFQGRVTLTRDTSI
STAYMELSRLRSDDTAVYYCARGRGYVMDAWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
시그널 배열 1～19、가변 영역 20～136、정상 영역 137～463

서열 번호 １３６ : ＃１１０Ｈ１ｈＩｇＧ４Ｐ의 뉴클레오티드 서열
ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAA
ACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCGACTTCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGAC
TTGAATGGATGGGCTGGATCTATCCCGGGCGACGGCGACACCGAGTACAACCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCCTGACCAGAGACACCAGCATC
AGCACCGCCTACATGGAACTGAGCCGGCTGAGATCCGATGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGGCAGAGGCTATGTGATGGATGCTTGGGG
CCAGGGCACCACCGTTACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCAGAAGCACCAGCGAGTCTACAG
CCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCA
GCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA
CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTGAATTTCTGGGCGGAC
CCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCAGGAA
GATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACCTACCG
GGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCTCCATCG
AGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCC
CTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCC
TGTGCTGGACTCCGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCTGGGCAAA
시그널 배열 1～57、가변 영역 58～408、정상 영역 409～1389

도면39b

서열 번호 １４７ : ＃１１０Ｈ１３ｈＩｇＧ４Ｐ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSDFMHWVRQAPGQGLEWMGWIYPGDGDTEYAQKFQGRVTMTRDTSI
STAYMELSRLRSDDTAVYYCARGRGYVMDAWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQE
DPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
시그널 배열 1~19, 가변 영역 20~136, 정상 영역 137~463

서열 번호 １４８ : ＃１１０Ｈ１３ｈＩｇＧ４Ｐ 의 뉴클레오티드 서열
ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTTCAGCTGGTTCAGTCTGGCGCCGAAGTGAAGAA
ACCTGGCGCCTCTGTGAAGGTGTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTTACCAGCGACTTCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCAGGACAGGGAC
TTGAATGGATGGGCTGGATCTATCCCGGCGACGGCGATACAGAGTACGCCCAGAAATTCCAGGGCAGAGTGACCATGACCAGAGACACCAGCATC
AGCACCGCCTACATGGAACTGAGCCGGCTGAGATCCGATGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGGCAGAGGCTATGTGATGGATGCTTGGGG
CCAGGGCACCACCGTTACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTAGCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCAGAAGCACCAGCGAGTCTACAG
CCGCCCTGGGCTGCCTCGTGAAGGACTACTTTCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACTCTGGCGCTCTGACAAGCGGCGTGCACACCTTTCCA
GCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACTCTCTGTCCAGCGTCGTGACTGTGCCCAGCAGCTCTCTGGGCACCAAGACCTACACCTGTAACGTGGA
CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAATCTAAGTACGGCCCTCCCTGCCCTCCTTGCCCAGCCCCTGAATTTCTGGGCGGAC
CCTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCAGGAA
GATCCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACCTACCG
GGTGGTGTCCGTGCTGACAGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCCCAGCTCCATCG
AGAAAACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGCGAACCCCAGGTGTACACACTGCCTCCAAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCC
CTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCC
TGTGCTGGACTCCGATGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAGACTGACCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGA
TGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCTCTGAGCCTGGGCAAA
시그널 배열 1~57, 가변 영역 58~408, 정상 영역 409~1389

도면39c

서열 번호 １３７ : ＃１１０Ｌ４ｈ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAIKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTI
SSLQPEDFATYFCQQYDSSPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
시그널 배열 1~20, 가변 영역 21~128, 정상 영역 129~234

서열 번호 １３８ : ＃１１０Ｌ４ｈ의 뉴클레오티드 서열
ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCA
TCAAGCCCCTGATCTACTACACCAGCAACCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTACACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTTTTGCCAGCAGTACGACAGCAGCCCCAGAACCTTTGGCGGCGGAACAAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT
시그널 배열 1~60, 가변 영역 61~384, 정상 영역 385~702

도면39d

서열 번호 １４９ : ＃１１０Ｌ２ｈ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTI
SSLQPEDFATYYCQQYDSSPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
시그널 배열 1~20, 가변 영역 21~128, 정상 영역 129~234

서열 번호 １５０ : ＃１１０Ｌ２ｈ 의 뉴클레오티드 서열
ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCC
CTAAGCCTCTGATCTACTACACCAGCAACCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTACACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACGACAGCAGCCCCAGAACATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT
시그널 배열 1~60, 가변 영역 61~384, 정상 영역 385~702

도면39e

서열 번호 １５１ : ＃１１０Ｌ１２ｈ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MVLQTQVFISLLLWISGAYGDIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLNWYQQKPGKAPKPLIYYTSNLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQYDSSPRTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
시그널 배열 1～20、가변 영역 21～128、정상 영역 129～234

서열 번호 １５２ : ＃１１０Ｌ１２ｈ의 뉴클레오티드 서열
ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGATATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACCTGTAGAGCCAGCCAGGGCATCAGCAACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCC
CTAAGCCTCTGATCTACTACACCAGCAACCTGCAGAGCGGCGTGCCCAGCAGATTTTCTGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGTACGACAGCAGCCCCAGAACATTTGGCGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT
시그널 배열 1～60、가변 영역 61～384、정상 영역 385～702

도면40a

서열 번호 １３９ : ＃１３１Ｈ２ｈＩｇＧ２의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MKHLWFFLLLVAAPRWVLSQVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFNNYWMTWVRQAPGKGLEWVASITKAGGSTYYADSVKGRFTISRDNSK
STLYLQMNSLRAEGTAVYYCTRELGEFYVMDAWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHT
FPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH
EDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
시그널 배열 1～19、가변 영역 20～138、정상 영역 139～464

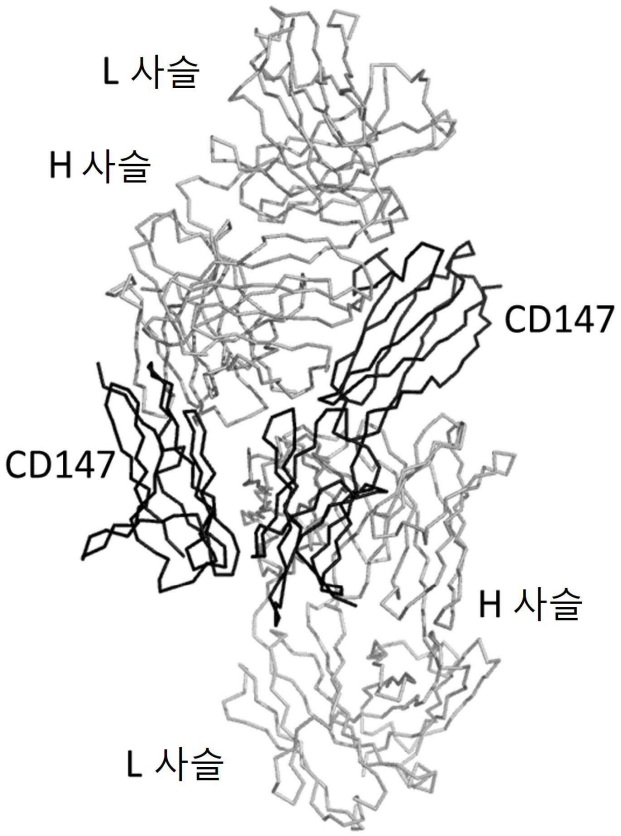
서열 번호 １４０ : ＃１３１Ｈ２ｈＩｇＧ２의 뉴클레오티드 서열
ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTGCTGAGCCAGGTTCAGCTGGTTGAATCTGGTGGCGGAGTGGTGCA
GCCTGGCAGATCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAACAACTACTGGATGACCTGGGTCCGACAGGCCCCTGGCAAAGGAC
TTGAATGGGTCGCCAGCATCACCAAGGCTGGCGGCTCTACCTACTACGCCGATAGCGTGAAGGGCAGATTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAG
AGCACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGGCACAGCCGTGTACTACTGTACAAGAGAGCTGGGCGAGTTCTACGTGATGGATGC
CTGGGGGCCAGGGCACCACAGTTACAGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCTCTGGCCCCTTGTAGCCGTTCCACCAGCGAGT
CCACCGCCGCCCTTGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCTGAGCCTGTGACCGTGAGCTGGAACTCCGGAGCCCTTACCAGCGGCGTGCACACC
TTCCCTGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTTTACTCCCTGAGCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCAACTTCGGCACCCAAACCTACACCTGTAA
CGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGTAAGTGTTGTGTGGAGTGTCCTCCTTGTCCTGCCCCTCCTGTGGCCG
GACCTTCCGTGTTCCTTTTCCCTCCTAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCCGTACCCCTGAGGTGACCTGTGTGGTGGTGGACGTGTCCCAC
GAGGACCCTGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTCGTGAGGAGCAATTCAACAGCACCTT
CCGTGTGGTGTCCGTGCTTACCGTGGTGCACCAAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGTAAGGTGAGCAACAAGGGACTTCCTGCCCCTA
TCGAGAAGACCATCTCCAAGACCAAGGGCCAACCTCGTGAGCCTCAAGTGTACACCCTTCCTCCTAGCCGTGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTG
TCCCTTACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCTAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGACAACCTGAGAACAACTACAAGACCACCCC
TCCTATGCTTGACAGCGACGGCTCCTTCTTCCTGTACAGCAAGCTgACCGTGGACAAGTCCCGTTGGCAACAAGGCAACGTGTTCAGCTGTTCCG
TGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAAAAGAGCCTTTCCCTGAGCCCTGGAAAG
시그널 배열 1～57、가변 영역 58～414、정상 영역 415～1392

도면40b

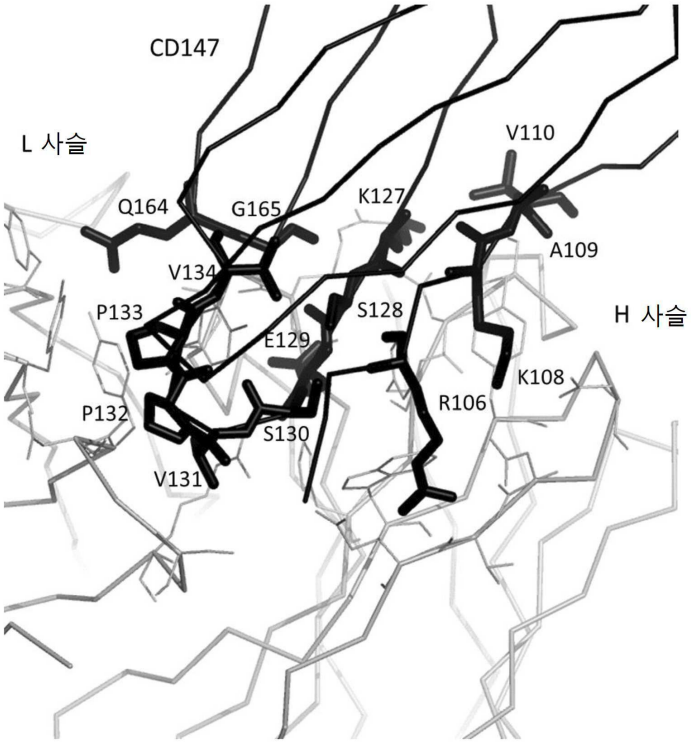
서열 번호 １４１ : ＃１３１Ｌ２ｈ의 아미노산 서열 (각 CDR 에 밑줄)
MVLQTQVFISLLLWISGAYGDVQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASKSINTYLAWYQEKPGKTNKLLIYSGSTLQSGTPSRFSGSGSGTDFTLTI
SSLQPEDFATYYCQQHNEYPFTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD
STYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
시그널 배열 1～20、가변 영역 21～128、정상 영역 129～234

서열 번호 １４２ : ＃１３１Ｌ２ｈ의 뉴클레오티드 서열
ATGGTGCTGCAGACCCAGGTGTTCATCTCCCTGCTGCTGTGGATCTCCGGCGCGTACGGCGACGTTCAGATGACACAGAGCCCTAGCAGCCTGTC
TGCCAGCGTGGGAGACAGAGTGACCATCACATGCAAGGCCAGCAAGAGCATCAACACCTACCTGGCCTGGTATCAAGAGAAGCCCGGCAAGACCA
ACAAGCTGCTGATCTACAGCGGCAGCACACTGCAGAGCGGCACCCCTTCTAGATTTTCCGGCTCTGGCAGCGGCACCGACTTCACCCTGACCATA
TCTAGCCTGCAGCCTGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGCACAACGAGTACCCCTTCACCTTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAA
GCGTACGGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCATCTTCCCCCCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTGTGCCTGCTGAATAACT
TCTACCCCAGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGGAACTCCCAGGAGAGCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGAC
AGCACCTACAGCCTGAGCAGCACCCTGACCCTGAGCAAAGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGCCTGAG
CTCCCCCGTCACCAAGAGCTTCAACAGGGGGGAGTGT
시그널 배열 1～60、가변 영역 61～384、정상 영역 385～702

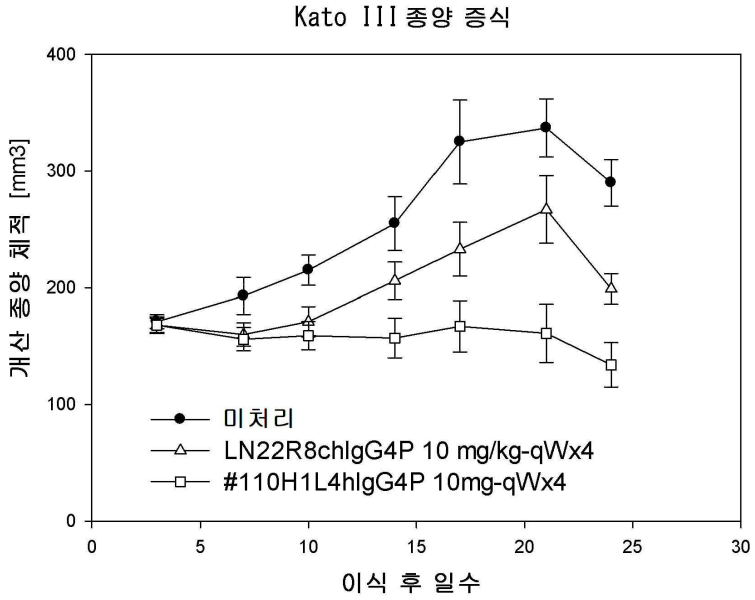
도면41


L 사슬
H 사슬
CD147
CD147
H 사슬
L 사슬

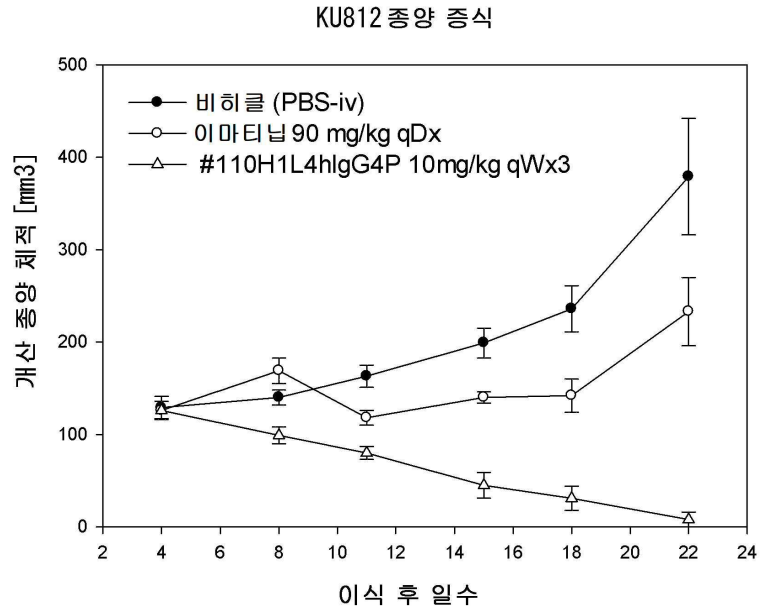
도면42


CD147
L 사슬
V110
Q164
G165
K127
A109
V134
P133
S128
H 사슬
E129
K108
R106
P132
S130
V131

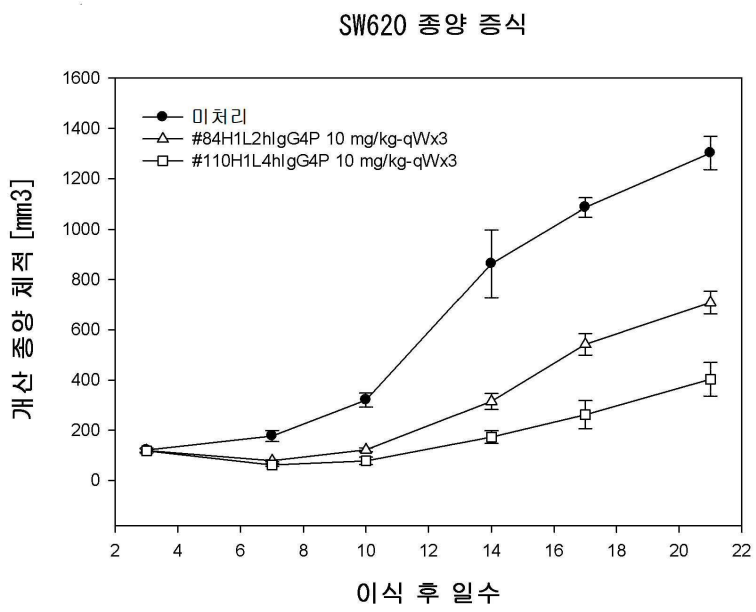
도면43


Kato III 종양 증식
개산 종양 체적 [mm3]
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
25
30
이식 후 일수
미처리
LN22R8chIgG4P 10 mg/kg-qWx4
#110H1L4hIgG4P 10mg-qWx4

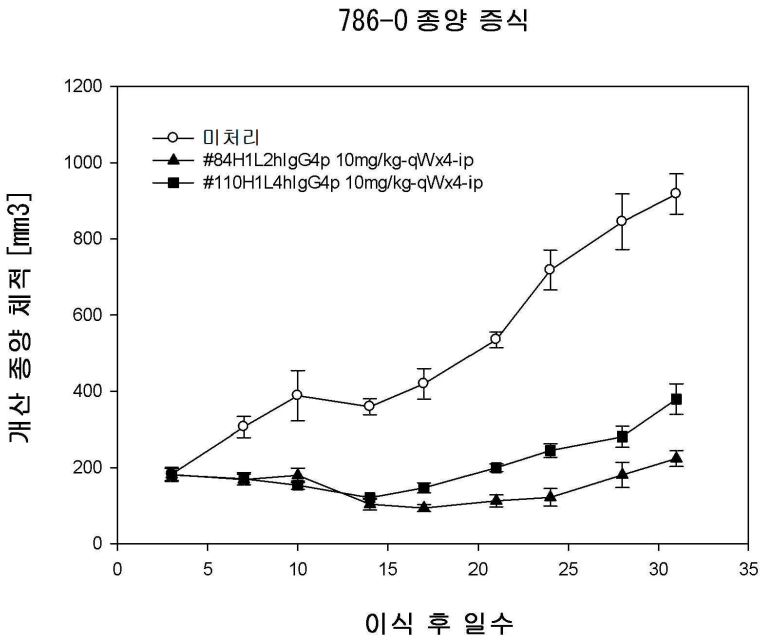
도면44


KU812 종양 증식
개산 종양 체적 [mm3]
500
400
300
200
100
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
이식 후 일수
비히클 (PBS-iv)
이마티닙 90 mg/kg qDx
#110H1L4hIgG4P 10mg/kg qWx3

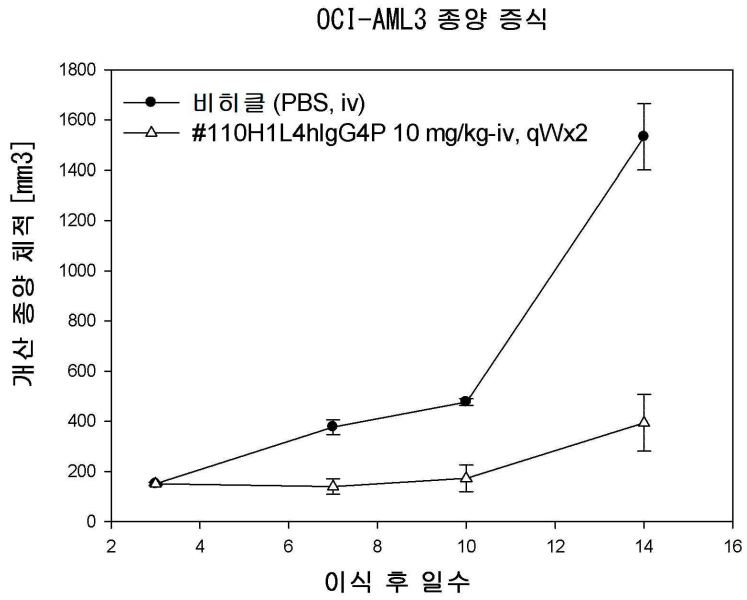
도면45


SW620 종양 증식
미처리
#84H1L2hIgG4P 10 mg/kg-qWx3
#110H1L4hIgG4P 10 mg/kg-qWx3
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

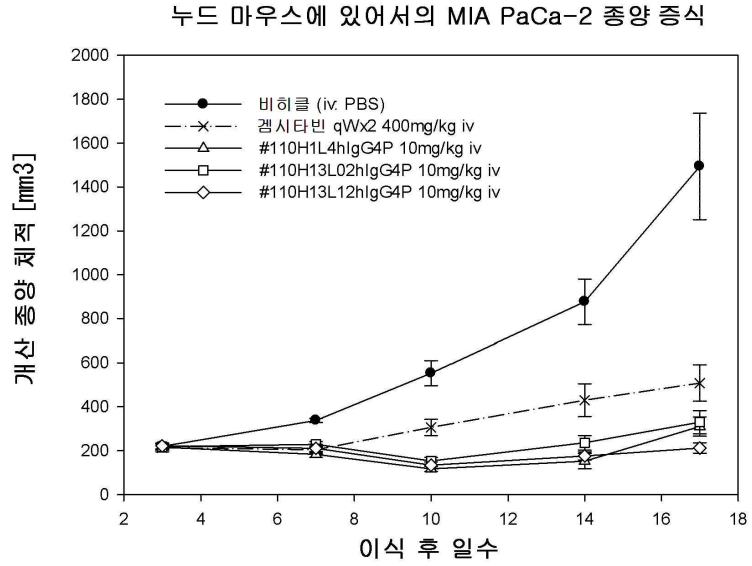
도면46


786-O 종양 증식
미처리
#84H1L2hIgG4p 10mg/kg-qWx4-ip
#110H1L4hIgG4p 10mg/kg-qWx4-ip
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수

도면47

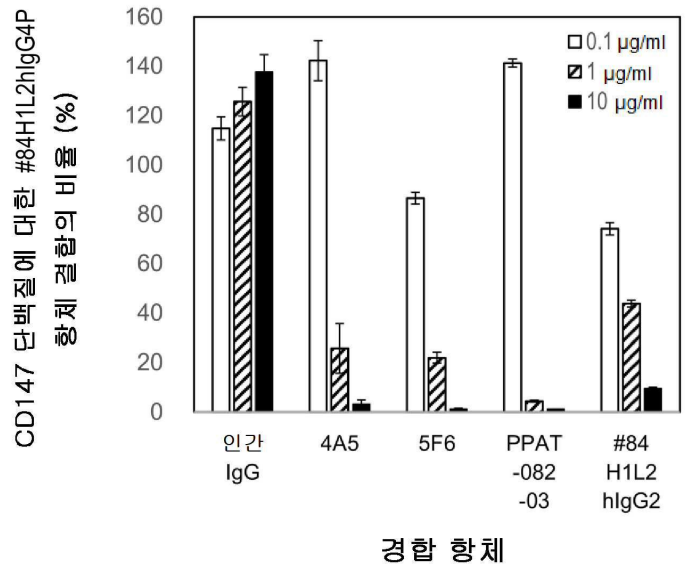

OCI-AML3 종양 증식
비히클 (PBS, iv)
#110H1L4hIgG4P 10 mg/kg-iv, qWx2
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2
4
6
8
10
12
14
16

도면48

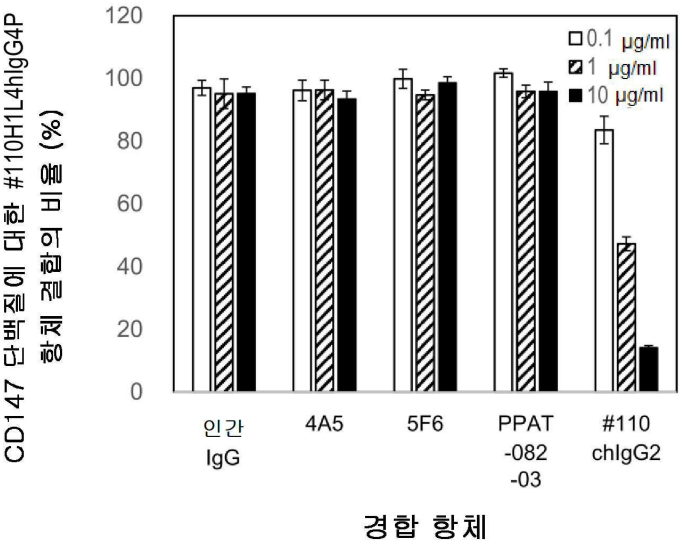

누드 마우스에 있어서의 MIA PaCa-2 종양 증식
비히클 (iv. PBS)
겜시타빈 qWx2 400mg/kg iv
#110H1L4hIgG4P 10mg/kg iv
#110H13L02hIgG4P 10mg/kg iv
#110H13L12hIgG4P 10mg/kg iv
개산 종양 체적 [mm3]
이식 후 일수
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
2
4
6
8
10
12
14
16
18

도면49

(a)

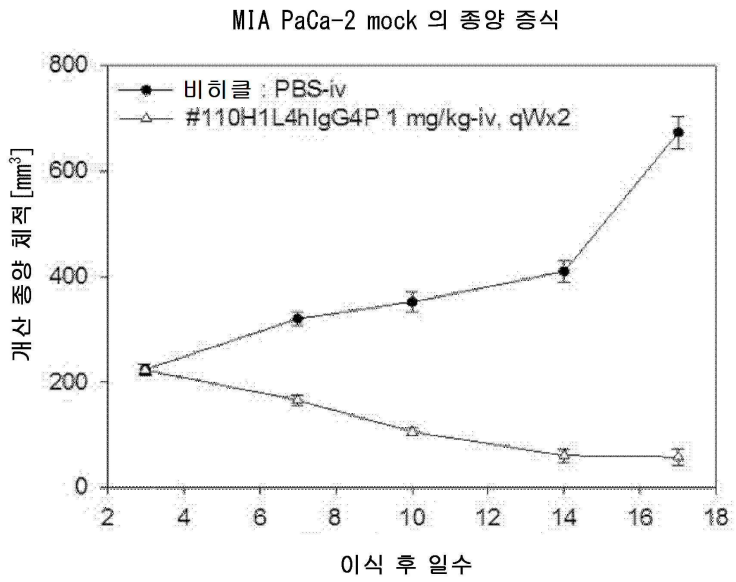

CD147 단백질에 대한 #84H1L2hIgG4P 항체 결합의 비율 (%)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0.1 μg/ml
1 μg/ml
10 μg/ml
인간 IgG
4A5
5F6
PPAT-082-03
#84 H1L2 hIgG2
경합 항체

(b)

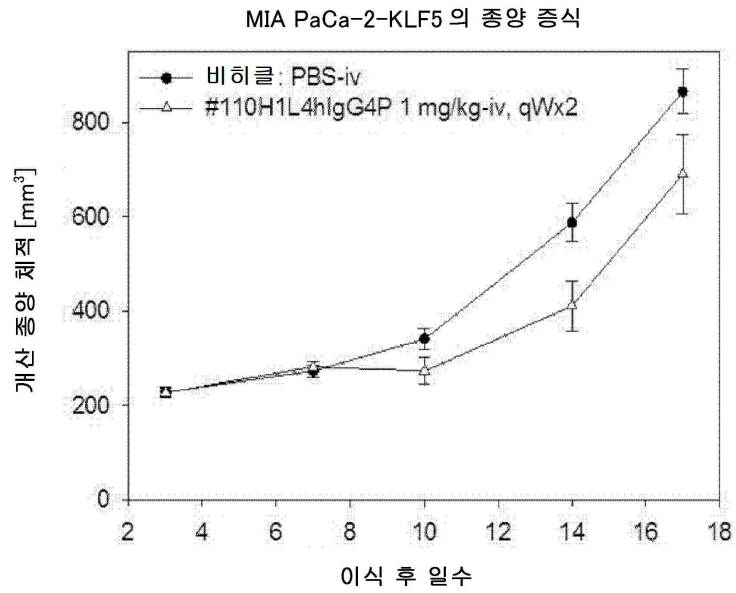

CD147 단백질에 대한 #110H1L4hIgG4P 항체 결합의 비율 (%)
120
100
80
60
40
20
0
0.1 μg/ml
1 μg/ml
10 μg/ml
인간 IgG
4A5
5F6
PPAT-082-03
#110 chIgG2
경합 항체

도면50

(a)



(b)



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> DAIICHI SANKYO COMPANY, LIMITED

<120> Anti CD147 antibody

<130> DSPCT-FP1821

<150> JP2017-145701

<151> 2017-07-27

<160> 152

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 385

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Ala Ala Ala Leu Phe Val Leu Leu Gly Phe Ala Leu Leu Gly Thr
1 5 10 15

His Gly Ala Ser Gly Ala Ala Gly Phe Val Gln Ala Pro Leu Ser Gln
20 25 30

Gln Arg Trp Val Gly Gly Ser Val Glu Leu His Cys Glu Ala Val Gly
35 40 45

Ser Pro Val Pro Glu Ile Gln Trp Trp Phe Glu Gly Gln Gly Pro Asn
50 55 60

Asp Thr Cys Ser Gln Leu Trp Asp Gly Ala Arg Leu Asp Arg Val His
65 70 75 80

Ile His Ala Thr Tyr His Gln His Ala Ala Ser Thr Ile Ser Ile Asp
85 90 95

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

Asp Pro Asp Arg Asn His Leu Thr Arg Ala Pro Arg Val Lys Trp Val
115 120 125

Arg Ala Gln Ala Val Val Leu Val Leu Glu Pro Gly Thr Val Phe Thr
130 135 140

Thr Val Glu Asp Leu Gly Ser Lys Ile Leu Leu Thr Cys Ser Leu Asn
145 150 155 160

Asp Ser Ala Thr Glu Val Thr Gly His Arg Trp Leu Lys Gly Gly Val
165 170 175

Val Leu Lys Glu Asp Ala Leu Pro Gly Gln Lys Thr Glu Phe Lys Val
180 185 190

Asp Ser Asp Asp Gln Trp Gly Glu Tyr Ser Cys Val Phe Leu Pro Glu
195 200 205

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

210 215 220

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

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

Asp Val Leu Asp Asp Asp Asp Ala Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ser Ser
355 360 365
Gly Gln His Gln Asn Asp Lys Gly Lys Asn Val Arg Gln Arg Asn Ser
370 375 380
Ser
385

<210> 2
<211> 1158
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 2

atggcggctg cgctgttcgt gctgctggga ttcgcgctgc tgggcaccca cggagcctcc 60
ggggctgccg gcttcgtcca ggcgccgctg tcccagcaga ggtgggtggg gggcagtgtg 120
gagctgcact gcgaggccgt gggcagcccg gtgcccgaga tccagtggtg gtttgaaggg 180

cagggtccca acgacacctg ctcccagctc tgggacggcg cccggctgga ccgcgtccac 240

atccacgcca cctaccacca gcacgcggcc agcaccatct ccatcgacac gctcgtggag 300

gaggacacgg gcacttacga gtgccgggcc agcaacgacc cggatcgcaa ccacctgacc 360

cgggcgccca gggtcaagtg ggtccgcgcc caggcagtcg tgctagtcct ggaacccggc 420

acagtcttca ctaccgtaga agaccttggc tccaagatac tcctcacctg ctccttgaat 480

gacagcgcca cagaggtcac agggcaccgc tggctgaagg ggggcgtggt gctgaaggag 540

gacgcgctgc ccggccagaa aacggagttc aaggtggact ccgacgacca gtggggagag 600

tactcctgcg tcttcctccc cgagcccatg ggcacggcca acatccagct ccacgggcct 660

cccagagtga aggctgtgaa gtcgtcagaa cacatcaacg agggggagac ggccatgctg 720

gtctgcaagt cagagtccgt gccacctgtc actgactggg cctggtacaa gatcactgac 780

tctgaggaca aggccctcat gaacggctcc gagagcaggt tcttcgtgag ttcctcgcag 840

ggccggtcag agctacacat tgagaacctg aacatggagg ccgaccccgg ccagtaccgg 900

tgcaacggca ccagctccaa gggctccgac caggccatca tcacgctccg cgtgcgcagc 960

cacctggccg ccctctggcc cttcctgggc atcgtggctg aggtgctggt gctggtcacc 1020

atcatcttca tctacgagaa gcgccggaag cccgaggacg tcctggatga tgacgacgcc 1080

ggctctgcac ccctgaagag cagcgggcag caccagaatg acaaaggcaa gaacgtccgc 1140

cagaggaact cttcctga 1158

<210> 3

<211> 269

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Met Ala Ala Ala Leu Phe Val Leu Leu Gly Phe Ala Leu Leu Gly Thr
1 5 10 15

His Gly Ala Ser Gly Ala Ala Gly Thr Val Phe Thr Thr Val Glu Asp
20 25 30

Leu Gly Ser Lys Ile Leu Leu Thr Cys Ser Leu Asn Asp Ser Ala Thr
35 40 45

Glu Val Thr Gly His Arg Trp Leu Lys Gly Gly Val Val Leu Lys Glu
50 55 60

Asp Ala Leu Pro Gly Gln Lys Thr Glu Phe Lys Val Asp Ser Asp Asp
65 70 75 80

Gln Trp Gly Glu Tyr Ser Cys Val Phe Leu Pro Glu Pro Met Gly Thr
85 90 95

Ala Asn Ile Gln Leu His Gly Pro Pro Arg Val Lys Ala Val Lys Ser
100 105 110
Ser Glu His Ile Asn Glu Gly Glu Thr Ala Met Leu Val Cys Lys Ser
115 120 125
Glu Ser Val Pro Pro Val Thr Asp Trp Ala Trp Tyr Lys Ile Thr Asp
130 135 140
Ser Glu Asp Lys Ala Leu Met Asn Gly Ser Glu Ser Arg Phe Phe Val
145 150 155 160

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

Ile Ile Phe Ile Tyr Glu Lys Arg Arg Lys Pro Glu Asp Val Leu Asp
225 230 235 240
Asp Asp Asp Ala Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ser Ser Gly Gln His Gln
245 250 255
Asn Asp Lys Gly Lys Asn Val Arg Gln Arg Asn Ser Ser
260 265

<210> 4
<211> 810
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 4
atggcggctg cgctgttcgt gctgctggga ttcgcgctgc tgggcaccca cggagcctcc 60

ggggctgccg gcacagtctt cactaccgta gaagaccttg gctccaagat actcctcacc 120

tgctccttga atgacagcgc cacagaggtc acagggcacc gctggctgaa gggggggcgtg 180

gtgctgaagg aggacgcgct gcccggccag aaaacggagt tcaaggtgga ctccgacgac 240

cagtggggag agtactcctg cgtcttcctc cccgagccca tgggcacggc caacatccag 300

ctccacgggc ctcccagagt gaaggctgtg aagtcgtcag aacacatcaa cgagggggag 360

acggccatgc tggtctgcaa gtcagagtcc gtgccacctg tcactgactg ggcctggtac 420

aagatcactg actctgagga caaggccctc atgaacggct ccgagagcag gttcttcgtg 480

agttcctcgc agggccggtc agagctacac attgagaacc tgaacatgga ggccgacccc 540

ggccagtacc ggtgcaacgg caccagctcc aagggctccg accaggccat catcacgctc 600

cgcgtgcgca gccacctggc cgccctctgg cccttcctgg gcatcgtggc tgaggtgctg 660

gtgctggtca ccatcatctt catctacgag aagcgccgga agcccgagga cgtcctggat 720

gatgacgacg ccggctctgc acccctgaag agcagcgggc agcaccagaa tgacaaaggc 780

aagaacgtcc gccagaggaa ctcttcctga 810

<210> 5

<211> 552

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Met Asp Asn Met Ser Ile Thr Asn Thr Pro Thr Ser Asn Asp Ala Cys
1 5 10 15

Leu Ser Ile Val His Ser Leu Met Cys His Arg Gln Gly Gly Glu Ser
20 25 30

Glu Thr Phe Ala Lys Arg Ala Ile Glu Ser Leu Val Lys Lys Leu Lys
35 40 45

Glu Lys Lys Asp Glu Leu Asp Ser Leu Ile Thr Ala Ile Thr Thr Asn
50 55 60

Gly Ala His Pro Ser Lys Cys Val Thr Ile Gln Arg Thr Leu Asp Gly
65 70 75 80

Arg Leu Gln Val Ala Gly Arg Lys Gly Phe Pro His Val Ile Tyr Ala
85 90 95

Arg Leu Trp Arg Trp Pro Asp Leu His Lys Asn Glu Leu Lys His Val
100 105 110

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

115 120 125

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

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

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

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

Asn Val His Arg Thr Glu Ala Ile Glu Arg Ala Arg Leu His Ile Gly
370 375 380

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

Gln Gln Ala Ala Thr Ala Gln Ala Ala Ala Ala Ala Gln Ala Ala Ala
450 455 460
Val Ala Gly Asn Ile Pro Gly Pro Gly Ser Val Gly Gly Ile Ala Pro
465 470 475 480
Ala Ile Ser Leu Ser Ala Ala Ala Gly Ile Gly Val Asp Asp Leu Arg
485 490 495
Arg Leu Cys Ile Leu Arg Met Ser Phe Val Lys Gly Trp Gly Pro Asp
500 505 510

Tyr Pro Arg Gln Ser Ile Lys Glu Thr Pro Cys Trp Ile Glu Ile His
515 520 525
Leu His Arg Ala Leu Gln Leu Leu Asp Glu Val Leu His Thr Met Pro
530 535 540
Ile Ala Asp Pro Gln Pro Leu Asp
545 550

<210> 6
<211> 1659
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<400> 6
atggacaata tgtctattac gaatacacca acaagtaatg atgcctgtct gagcattgtg 60
catagtttga tgtgccatag acaaggtgga gagagtgaaa catttgcaaa aagagcaatt 120

gaaagtttgg taaagaagct gaaggagaaa aaagatgaat tggattcttt aataacagct 180

ataactacaa atggagctca tcctagtaaa tgtgttacca tacagagaac attggatggg 240

aggcttcagg tggctggtcg gaaaggattt cctcatgtga tctatgcccg tctctggagg 300

tggcctgatc ttcacaaaaa tgaactaaaa catgttaaat attgtcagta tgcgtttgac 360

ttaaaatgtg atagtgtctg tgtgaatcca tatcactacg aacgagttgt atcacctgga 420

attgatctct caggattaac actgcagagt aatgctccat caagtatgat ggtgaaggat 480

gaatatgtgc atgactttga gggacagcca tcgttgtcca ctgaaggaca ttcaattcaa 540

accatccagc atccaccaag taatcgtgca tcgacagaga catacagcac cccagctctg 600

ttagccccat ctgagtctaa tgctaccagc actgccaact ttcccaacat tcctgtggct 660

tccacaagtc agcctgccag tatactgggg ggcagccata gtgaaggact gttgcagata 720

gcatcagggc ctcagccagg acagcagcag aatggattta ctggtcagcc agctacttac 780

catcataaca gcactaccac ctggactgga agtaggactg caccatacac acctaatttg 840

cctcaccacc aaaacggcca tcttcagcac cacccgccta tgccgcccca tcccggacat 900

tactggcctg ttcacaatga gcttgcattc cagcctccca tttccaatca tcctgctcct 960

gagtattggt gttccattgc ttactttgaa atggatgttc aggtaggaga gacatttaag 1020

gttccttcaa gctgccctat tgttactgtt gatggatacg tggacccttc tggaggagat 1080

cgcttttgtt tgggtcaact ctccaatgtc cacaggacag aagccattga gagagcaagg 1140

ttgcacatag gcaaaggtgt gcagttggaa tgtaaaggtg aaggtgatgt ttgggtcagg 1200

tgccttagtg accacgcggt ctttgtacag agttactact tagacagaga agctgggcgt 1260

gcacctggag atgctgttca taagatctac ccaagtgcat atataaaggt ctttgatttg 1320

cgtcagtgtc atcgacagat gcagcagcag gcggctactg cacaagctgc agcagctgcc 1380

caggcagcag ccgtggcagg aaacatccct ggcccaggat cagtaggtgg aatagctcca 1440

gctatcagtc tgtcagctgc tgctggaatt ggtgttgatg accttcgtcg cttatgcata 1500

ctcaggatga gttttgtgaa aggctgggga ccggattacc caagacagag catcaaagaa 1560

acaccttgct ggattgaaat tcacttacac cgggccctcc agctcctaga cgaagtactt 1620

cataccatgc cgattgcaga cccacaacct ttagactga 1659

<210> 7

<211> 324

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 7

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ttatctgcct ctctgggaga aagagtcagt 60

ctcacttgtc gggcaagtct ggaaattagt ggtttcttaa gttggcttca gcagaaacca 120

gatggaacta ttaaacgcct gatctacgcc gcatccattt tagattctgg tgtcccaaaa 180

aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ccttgagtct 240

gaagattttg cagactatta ctgtctacaa tatgctagtt atccgtggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaaatcaa acgg 324

<210> 8

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 8

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Leu Glu Ile Ser Gly Phe

20 25 30

Leu Ser Trp Leu Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Arg Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Trp

85 90 95

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

100 105

<210> 9

<211> 366

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 9

cagatccagt tggtgcagtc tggacctgag ctgaagaagc ctggagagac agtcaagatc 60

tcctgcaagg cttctgggta taccttcaca aactatggaa tgaactgggt gaagcaggct 120

ccaggaaagg gtttaaagtg gatgggctgg ataaacacct acactggaga gccaacatat 180

gctgatgact tcaagggacg gtttgccttc tctttggaaa cctctgccag cactgcctat 240

ttgcagatca acaacctcaa aaatgaggac acggctacat atttctgtgc aagaggggggg 300

tatggtaact acggggcggg ggctatggac tactggggtc aaggtacctc agtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 10

<211> 122

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 10

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

1 5 10 15

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr

20 25 30

Gly Met Asn Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Lys Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala Asp Asp Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 11

Arg Ala Ser Leu Glu Ile Ser Gly Phe Leu Ser

1 5 10

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 12

Ala Ala Ser Ile Leu Asp Ser

1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 13

Leu Gln Tyr Ala Ser Tyr Pro Trp Thr

1 5

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 14

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Tyr Gly Met Asn

1 5 10

<210> 15

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 15

Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr

1 5 10

<210> 16

<211> 13

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 16

Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 17

<211> 324

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 17

gacatccaga tgacacagtc tccagcttcc ctgtctgcat ctctgggaga aactgtctcc 60

atcgaatgtc ttgcaagtga gggcatttcc aatagtttag cgtggtatca gcagaagcca 120

gggaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaagtagct tgcaagacgg ggtcccatca 180

cggttcagtg gcagtggatc tggcacacag tattctctca agatcagcgg catgcaacct 240

gaagatgaag gggtttatta ctgtcaacag ggttacaagt atccattcac gttcggctca 300

gggacgaagt tggaaataaa acgg 324

<210> 18

<211> 108

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Glu Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Tyr Lys Tyr Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 19

<211> 351

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 19

gaggtgcagc ttcaggagtc aggacctggc cttgtgaaac cctcacagtc actctccctc 60

acctgttctg tcactggtta ctccatcact agtaattact ggggctggat ccggaagttc 120

ccaggaaata aaatggagtg gatgggatgc ataacctaca gtggtggcac tagctacaac 180

ccatctctca aaagtcgaat ctccattact agagacacat caaagaatca gttcttcctg 240

cagttgaact ctgtaactac tgaggacaca gccacatatt actgtgcaag ttcctatacc 300

agtggtgacg tcgattactg gggccaagga gtcatggtca cagtctcctc a 351

<210> 20

<211> 117

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 20

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

Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn
20 25 30

Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met Glu Trp Met
35 40 45

Gly Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Ser Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val Met
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 21

<211> 11

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 21

Leu Ala Ser Glu Gly Ile Ser Asn Ser Leu Ala

1 5 10

<210> 22

<211> 7

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 22

Gly Ala Ser Ser Leu Gln Asp

1 5

<210> 23

<211> 9

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 23

Gln Gln Gly Tyr Lys Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 24

Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asn Tyr Trp Gly

1 5 10

<210> 25

<211> 9

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 25

Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 26

Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr

1 5

<210> 27

<211> 449

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA comprising DNA sequence coding for human light chain signal sequence and human kappa chain constant region

<400> 27

gcctccggac tctagagcca ccatggtgct gcagacccag gtgttcatct ccctgctgct 60

gtggatctcc ggcgcgtacg gcgatatcgt gatgattaaa cgtacggtgg ccgccccctc 120

cgtgttcatc ttcccccct ccgacgagca gctgaagtcc ggcaccgcct ccgtggtgtg 180

cctgctgaat aacttctacc ccagagaggc caaggtgcag tggaaggtgg acaacgccct 240

gcagtccggg aactcccagg agagcgtgac cgagcaggac agcaaggaca gcacctacag 300

cctgagcagc accctgaccc tgagcaaagc cgactacgag aagcacaagg tgtacgcctg 360

cgaggtgacc caccagggcc tgagctcccc cgtcaccaag agcttcaaca gggggggagtg 420

ttaggggccc gtttaaacgg gggaggcta 449

<210> 28

<211> 1132

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA comprising DNA sequence coding for amino acid of human heavy chain signal sequence and human IgG1 constant region

<400> 28

gcctccggac tctagagcca ccatgaaaca cctgtggttc ttcctcctgc tggtggcagc 60

tcccagatgg gtgctgagcc aggtgcaatt gtgcaggcgg ttagctcagc ctccaccaag 120

ggcccaagcg tcttcccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc 180

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaacccgtga ccgtgagctg gaactcaggc 240

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc 300

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 360

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac 420

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaactcc tgggggggacc ctcagtcttc 480

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 540

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 600

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg 660

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 720

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc 780

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 840

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 900

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac 960

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac 1020

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc 1080

tccctgtctc ccggcaaatg agatatcggg cccgtttaaa cgggggaggc ta 1132

<210> 29

<211> 1114

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA comprising DNA sequence coding for amino acid of human heavy

chain signal sequence and human IgG2 constant region

<400> 29

ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc 60

agctcccaga tgggtgctga gccaggtgca attgtgcagg cggttagctc agcctccacc 120

aagggcccctt ccgtgttccc tctggcccct tgtagccgtt ccaccagcga gtccaccgcc 180

gcccttggct gtctggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgaccgtgag ctggaactcc 240

ggagcccttа ccagcggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtccag cggcctttac 300

tccctgagct ccgtggtgac cgtgcctagc tccaacttcg gcacccaaac ctacacctgt 360

aacgtggacc acaagcctag caacaccaag gtggacaaga ccgtggagcg taagtgttgt 420

gtggagtgtc ctccttgtcc tgcccctcct gtggccggac cttccgtgtt ccttttccct 480

cctaagccta aggacaccct gatgatcagc cgtacccctg aggtgacctg tgtggtggtg 540

gacgtgtccc acgaggaccc tgaggtgcag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 600

cacaacgcca agaccaagcc tcgtgaggag caattcaaca gcaccttccg tgtggtgtcc 660

gtgcttaccg tggtgcacca agactggctg aacggcaagg agtacaagtg taaggtgagc 720

aacaagggac ttcctgcccc tatcgagaag accatctcca agaccaaggg ccaacctcgt 780

gagcctcaag tgtacaccct tcctcctagc cgtgaggaga tgaccaagaa ccaagtgtcc 840

cttacctgtc tggtgaaggg cttctaccct agcgacatcg ccgtggagtg ggagtccaac 900

ggacaacctg agaacaacta caagaccacc cctcctatgc ttgacagcga cggctccttc 960

ttcctgtaca gcaagctgac cgtggacaag tcccgttggc aacaaggcaa cgtgttcagc 1020

tgttccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc aaaagagcct ttccctgagc 1080

cctggaaagt gagtttaaac gggggaggct aact 1114

<210> 30

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera LN22R8_light chain

<400> 30

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ttatctgcct ctctgggaga aagagtcagt 120

ctcacttgtc gggcaagtct ggaaattagt ggtttcttaa gttggcttca gcagaaacca 180

gatggaacta ttaaacgcct gatctacgcc gcatccattt tagattctgg tgtcccaaaa 240

aggttcagtg gcagtaggtc tgggtcagat tattctctca ccatcagcag ccttgagtct 300

gaagattttg cagactatta ctgtctacaa tatgctagtt atccgtggac gttcggtgga 360

ggcaccaagc tggaaatcaa acgggctgtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 31

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera LN22R8_light chain

<400> 31

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Ser Leu Thr Cys Arg Ala Ser Leu Glu
35 40 45

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

50 55 60

Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ile Leu Asp Ser Gly Val Pro Lys
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Ser Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Ser Glu Asp Phe Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala
100 105 110

Ser Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

115 120 125

Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225 230

<210> 32

<211> 1413

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera LN22R8_heavy chain_IgG1

<400> 32

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

atccagttgg tgcagtctgg acctgagctg aagaagcctg gagagacagt caagatctcc 120

tgcaaggctt ctgggtatac cttcacaaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcca 180

ggaaagggtt taaagtggat gggctggata aacacctaca ctggagagcc aacatatgct 240

gatgacttca agggacggtt tgccttctct ttggaaacct ctgccagcac tgcctatttg 300

cagatcaaca acctcaaaaa tgaggacacg gctacatatt tctgtgcaag agggggggtat 360

ggtaactacg gggcgggggc tatggactac tggggtcaag gtacctcagt caccgtcagc 420

tcagcctcca ccaagggccc aagcgtcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctct 480

ggcggcacag ccgccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc cgtgaccgtg 540

agctggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tccccgctgt cctgcagtcc 600

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag 660

acctacatct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 720

cccaaatctt gtgacaaaac tcacacatgc ccaccctgcc cagcacctga actcctgggg 780

ggaccctcag tcttcctctt cccccaaaa cccaaggaca ccctcatgat ctcccggacc 840

cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag accctgaggt caagttcaac 900

tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccccggga ggagcagtac 960

aacagcacgt accgggtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaatggc 1020

aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag cccccatcga gaaaaccatc 1080

tccaaagcca aaggccagcc ccgggaacca caggtgtaca ccctgccccc atcccgggag 1140

gagatgacca agaaccaggt cagcctgacc tgcctggtca aaggcttcta tcccagcgac 1200

atcgccgtgg agtgggagag caatggccag cccgagaaca actacaagac cacccctccc 1260

gtgctggact ccgacggctc cttcttcctc tacagcaagc tcaccgtgga caagagcagg 1320

tggcagcagg gcaacgtctt ctcatgctcc gtgatgcatg aggctctgca caaccactac 1380

acccagaaga gcctctccct gtctcccggc aaa 1413

<210> 33

<211> 471

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera LN22R8_heavy chain_IgG1

<400> 33

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Trp Met Gly Trp Ile Asn Thr Tyr Thr Gly Glu Pro Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Asp Asp Phe Lys Gly Arg Phe Ala Phe Ser Leu Glu Thr Ser Ala Ser

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr

100 105 110

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
420 425 430

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
435 440 445

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
450 455 460

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
465 470

<210> 34

<211> 1401

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera LN22R8_heavy chain_IgG2

<400> 34

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

atccagttgg tgcagtctgg acctgagctg aagaagcctg gagagacagt caagatctcc 120

tgcaaggctt ctgggtatac cttcacaaac tatggaatga actgggtgaa gcaggctcca 180

ggaaagggtt taaagtggat gggctggata aacacctaca ctggagagcc aacatatgct 240

gatgacttca agggacggtt tgccttctct ttggaaacct ctgccagcac tgcctatttg 300

cagatcaaca acctcaaaaa tgaggacacg gctacatatt tctgtgcaag agggggtat 360

ggtaactacg gggcgggggc tatggactac tggggtcaag gtacctcagt caccgtcagc 420

tcagcctcca ccaagggccc ttccgtgttc cctctggccc cttgtagccg ttccaccagc 480

gagtccaccg ccgcccttgg ctgtctggtg aaggactact tccctgagcc tgtgaccgtg 540

agctggaact ccggagccct taccagcggc gtgcacacct tccctgccgt gctgcagtcc 600

agcggccttt actccctgag ctccgtggtg accgtgccta gctccaactt cggcacccaa 660

acctacacct gtaacgtgga ccacaagcct agcaacacca aggtggacaa gaccgtggag 720

cgtaagtgtt gtgtggagtg tcctccttgt cctgcccctc ctgtggccgg accttccgtg 780

ttccttttcc ctcctaagcc taaggacacc ctgatgatca gccgtacccc tgaggtgacc 840

tgtgtggtgg tggacgtgtc ccacgaggac cctgaggtgc agttcaactg gtacgtggac 900

ggcgtggagg tgcacaacgc caagaccaag cctcgtgagg agcaattcaa cagcaccttc 960

cgtgtggtgt ccgtgcttac cgtggtgcac caagactggc tgaacggcaa ggagtacaag 1020

tgtaaggtga gcaacaaggg acttcctgcc cctatcgaga agaccatctc caagaccaag 1080

ggccaacctc gtgagcctca agtgtacacc cttcctccta gccgtgagga gatgaccaag 1140

aaccaagtgt cccttacctg tctggtgaag ggcttctacc ctagcgacat cgccgtggag 1200
tgggagtcca acggacaacc tgagaacaac tacaagacca cccctcctat gcttgacagc 1260
gacggctcct tcttcctgta cagcaagctg accgtggaca agtcccgttg gcaacaaggc 1320
aacgtgttca gctgttccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccaaaagagc 1380
ctttccctga gccctggaaa g 1401

<210> 35
<211> 467
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human chimera LN22R8_heavy chain_IgG2
<400> 35

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

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

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
130 135 140
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415

Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460

Pro Gly Lys
465

<210> 36

<211> 1454

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA comprising DNA sequence coding for amino acid sequence of human chimera LN22R8_heavy chain_ IgG4P type

<400> 36

ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa gcacctgtgg ttctttctgc tgctggtggc 60

cgctcccaga tgggtgctgt ctcagatcca gctggtgcag agcggccctg agctgaagaa 120

acccggcgag acagtgaaga tcagctgcaa ggccagcggc tacaccttca ccaactacgg 180

catgaactgg gtcaagcagg cccctggcaa gggcctgaag tggatgggct ggatcaacac 240

ctacaccggc gagcccacct acgccgacga cttcaagggc agattcgcct tcagcctgga 300

aaccagcgcc agcaccgcct acctgcagat caacaacctg aagaacgagg acaccgccac 360

ctacttttgc gccagaggcg gctacggcaa ttacggcgct ggcgccatgg attactgggg 420

ccagggaaca agcgtgaccg tgtccagcgc ctctaccaag ggccctagcg tgttccctct 480

ggcccccttgc agcagaagca ccagcgaatc tacagccgcc ctgggctgcc tcgtgaagga 540

ctactttccc gagcccgtga cagtgtcctg gaactctggc gccctgacaa gcggcgtgca 600

cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct ctgagcagcg tcgtgactgt 660

gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac gtggaccaca agcccagcaa 720

caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct ccctgccctc cttgcccagc 780

ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc ccaaagccca aggacaccct 840

gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg gatgtgtccc aggaagatcc 900

cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg cacaacgcca agaccaagcc 960

tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc gtgctgacag tgctgcacca 1020
ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc aacaagggac tgcccagctc 1080
catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc gaaccccagg tgtacacact 1140
gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa ccaggtgtcc ctgacctgtc tcgtgaaagg 1200
cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac ggccagcccg agaacaacta 1260
caagaccacc ccccctgtgc tggacagcga cggctcattc ttcctgtaca gcagactgac 1320
cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc tgcagcgtga tgcacgaggc 1380

cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc ctgggcaaat gagtttaaac 1440
gggggaggct aact 1454

<210> 37
<211> 468
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human chimera LN22R8_heavy chain_IgG4P
<400> 37

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15
Val Leu Ser Gln Ile Gln Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Leu Lys Lys
20 25 30

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

Thr Ala Tyr Leu Gln Ile Asn Asn Leu Lys Asn Glu Asp Thr Ala Thr
100 105 110
Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Gly Tyr Gly Asn Tyr Gly Ala Gly Ala Met

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys

210 215 220

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

225 230 235 240

Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr
420 425 430
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
435 440 445
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
450 455 460
Ser Leu Gly Lys
465

<210> 38
<211> 1137
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223
> DNA comprising DNA sequence coding for amino acid of human heavy chain signal sequence and human IgG1LALA constant region
<400> 38

ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc 60
agctcccaga tgggtgctga gccaggtgca attgtgcagg cggttagctc agcctccacc 120
aagggcccaa gcgtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg cggcacagcc 180
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaacccg tgaccgtgag ctggaactca 240
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cccgctgtcc tgcagtcctc aggactctac 300

tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 360
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttgagcc caaatcttgt 420
gacaaaactc acacatgccc accctgccca gcacctgaag ccgcgggggg accctcagtc 480
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 540
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 600
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccccgggagg agcagtacaa cagcacgtac 660

cgggtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 720

tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 780
ggccagcccc gggaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 840
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 900
tgggagagca atggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccctcccgt gctggactcc 960
gacggctcct tcttcctcta cagcaagctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggc 1020
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac ccagaagagc 1080
ctctccctgt ctcccggcaa atgagatatc gggcccgttt aaacggggga ggctaac 1137

<210> 39
<211> 1117
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> DNA comprising DNA sequence coding for amino acid of human heavy chain signal sequence and human IgG4P constant region
<400> 39
ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc 60
agctcccaga tgggtgctga gccaggtgca attgtgcagg cggttagctc agcctccacc 120
aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 180
gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 240

ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 300
tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 360
aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 420
cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa tttctgggcg gaccctccgt gttcctgttc 480
cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 540
gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 600
gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 660

tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 720
tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 780
cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 840
tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 900
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 960

ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1020

agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1080

agcctgggca aatgagttta aacgggggag gctaact 1117

<210> 40

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera 2P10F2_light chain

<400> 40

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacatccaga tgacacagtc tccagcttcc ctgtctgcat ctctgggaga aactgtctcc 120

atcgaatgtc ttgcaagtga gggcatttcc aatagtttag cgtggtatca gcagaagcca 180

gggaaatctc ctcagctcct gatctatggt gcaagtagct tgcaagacgg ggtcccatca 240

cggttcagtg gcagtggatc tggcacacag tattctctca agatcagcgg catgcaacct 300

gaagatgaag gggtttatta ctgtcaacag ggttacaagt atccattcac gttcggctca 360

gggacgaagt tggaaataaa acgggctgtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 41

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera 2P10F2_light chain

<400> 41

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ser Leu Gly Glu Thr Val Ser Ile Glu Cys Leu Ala Ser Glu Gly

35 40 45

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

Lys Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125
Ala Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

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

<210> 42

<211> 1398

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera 2P10F2_heavy chain_IgG1LALA

<400> 42

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagcttc aggagtcagg acctggcctt gtgaaaccct cacagtcact ctccctcacc 120

tgttctgtca ctggttactc catcactagt aattactggg gctggatccg gaagttccca 180

ggaaataaaa tggagtggat gggatgcata acctacagtg gtggcactag ctacaaccca 240

tctctcaaaa gtcgaatctc cattactaga gacacatcaa agaatcagtt cttcctgcag 300

ttgaactctg taactactga ggacacagcc acatattact gtgcaagttc ctataccagt 360

ggtgacgtcg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag 420

ggcccaagcg tcttcccccc ggcaccctcc tccaagagca cctctggcgg cacagccgcc 480

ctgggctgcc tggtcaagga ctacttcccc gaacccgtga ccgtgagctg gaactcaggc 540

gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctgc agtcctcagg actctactcc 600

ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac 660

gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag ttgagcccaa atcttgtgac 720

aaaactcaca catgcccacc ctgcccagca cctgaagccg cgggggggacc ctcagtcttc 780

ctcttccccc caaaacccaa ggacaccctc atgatctccc ggacccctga ggtcacatgc 840

gtggtggtgg acgtgagcca cgaagaccct gaggtcaagt tcaactggta cgtggacggc 900

gtggaggtgc ataatgccaa gacaaagccc cgggaggagc agtacaacag cacgtaccgg 960

gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag gactggctga atggcaagga gtacaagtgc 1020

aaggtctcca acaaagccct cccagccccc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggc 1080

cagccccggg aaccacaggt gtacaccctg cccccatccc gggaggagat gaccaagaac 1140

caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc ttctatccca gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagagcaatg gccagcccga gaacaactac aagaccaccc ctcccgtgct ggactccgac 1260

ggctccttct tcctctacag caagctcacc gtggacaaga gcaggtggca gcagggcaac 1320

gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct ctgcacaacc actacaccca gaagagcctc 1380

tccctgtctc ccggcaaa 1398

<210> 43

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera 2P10F2_heavy chain_IgG1LALA

<400> 43

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met
50 55 60

Glu Trp Met Gly Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
85 90 95

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

Tyr Cys Ala Ser Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
225 230 235 240

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly
245 250 255

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
260 265 270

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

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

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

Gly Lys
465

<210> 44
<211> 1386
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera 2P10F2_heavy chain_IgG2

<400> 44

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagcttc aggagtcagg acctggcctt gtgaaaccct cacagtcact ctccctcacc 120

tgttctgtca ctggttactc catcactagt aattactggg gctggatccg gaagttccca 180

ggaaataaaa tggagtggat gggatgcata acctacagtg gtggcactag ctacaaccca 240

tctctcaaaa gtcgaatctc cattactaga gacacatcaa agaatcagtt cttcctgcag 300

ttgaactctg taactactga ggacacagcc acatattact gtgcaagttc ctataccagt 360

ggtgacgtcg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag 420

ggcccttccg tgttccctct ggcccccttgt agccgttcca ccagcgagtc caccgccgcc 480

cttggctgtc tggtgaagga ctacttccct gagcctgtga ccgtgagctg gaactccgga 540

gcccttacca gcggcgtgca caccttccct gccgtgctgc agtccagcgg cctttactcc 600

ctgagctccg tggtgaccgt gcctagctcc aacttcggca cccaaaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcctagcaa caccaaggtg gacaagaccg tggagcgtaa gtgttgtgtg 720

gagtgtcctc cttgtcctgc ccctcctgtg gccggacctt ccgtgttcct tttccctcct 780

aagcctaagg acaccctgat gatcagccgt acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac 840

gtgtcccacg aggaccctga ggtgcagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac 900

aacgccaaga ccaagcctcg tgaggagcaa ttcaacagca ccttccgtgt ggtgtccgtg 960

cttaccgtgg tgcaccaaga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgagcaac 1020

aagggacttc ctgcccctat cgagaagacc atctccaaga ccaagggcca acctcgtgag 1080

cctcaagtgt acacccttcc tcctagccgt gaggagatga ccaagaacca agtgtccctt 1140

acctgtctgg tgaagggctt ctaccctagc gacatcgccg tggagtggga gtccaacgga 1200

caacctgaga acaactacaa gaccacccct cctatgcttg acagcgacgg ctccttcttc 1260

ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgttggcaac aaggcaacgt gttcagctgt 1320

tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacacccaaa agagcctttc cctgagccct 1380

ggaaag 1386

<210> 45

<211> 462

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera 2P10F2_heavy chain_IgG2

<400> 45

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

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

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

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

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
245 250 255

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

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 46
<211> 1389
<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera 2P10F2_heavy chain_IgG4P

<400> 46

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagcttc aggagtcagg acctggcctt gtgaaaccct cacagtcact ctccctcacc 120

tgttctgtca ctggttactc catcactagt aattactggg gctggatccg gaagttccca 180

ggaaataaaa tggagtggat gggatgcata acctacagtg gtggcactag ctacaaccca 240

tctctcaaaa gtcgaatctc cattactaga gacacatcaa agaatcagtt cttcctgcag 300

ttgaactctg taactactga ggacacagcc acatattact gtgcaagttc ctataccagt 360

ggtgacgtcg attactgggg ccaaggagtc atggtcacag tcagctcagc ctccaccaag 420

ggccctagcg tgttccctct ggcccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480

ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540

gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600

ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720

ccctgccctc cttgcccagc ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780

ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840

gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960

gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020

aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080

gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140

ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200

ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260

ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320

tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380

ctgggcaaa 1389

<210> 47

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera 2P10F2_heavy chain_IgG4P

<400> 47

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys
20 25 30

Pro Ser Gln Ser Leu Ser Leu Thr Cys Ser Val Thr Gly Tyr Ser Ile
35 40 45

Thr Ser Asn Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Phe Pro Gly Asn Lys Met

50 55 60

Glu Trp Met Gly Cys Ile Thr Tyr Ser Gly Gly Thr Ser Tyr Asn Pro
65 70 75 80

Ser Leu Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln
85 90 95

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

Tyr Cys Ala Ser Ser Tyr Thr Ser Gly Asp Val Asp Tyr Trp Gly Gln

115 120 125

Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

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

180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

<210> 48

<211> 324

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 48

gatgtccaga tgacccagtc tccatcttat cttgctgcgt ctcctggaga aagtgtttcc 60

atcagttgca aggcaagtaa gagcattagc aataatttag cctggtatca ggagaaacct 120

gggaaagcaa ataagcttct tattcactct gggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacgctca ccatcagaag cctggagttt 240

gaagattttg cagtctatta ctgtcaacag tataatgaat acccactcac gttcggttct 300

gggaccaagc tggagatcaa acgg 324

<210> 49

<211> 108

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 49

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

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn Asn
20 25 30

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

His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

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

Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 50

<211> 363

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 50

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctagtgcagc ctggaaggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctcaggatt cactttcagt aactattaca tggcctgggt ccgccaggct 120

ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcaacc attactacca gtggtagcag accttactat 180

ccagactccg tgaaaggccg attcactatc tccagagata atgcaaaaag cagcctatac 240

ctgcaaatga acagtctgaa gtctgaggac acggccactt attactgtgc aagacatatt 300

tattactatg atggttaccc ctttgcttac tggggccaag gcactctggt cactgtctct 360

tca 363

<210> 51

<211> 121

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 52

Lys Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 53

<211> 7

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 53

Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<

400> 54

Gln Gln Tyr Asn Glu Tyr Pro Leu Thr

1 5

<210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 55

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Tyr Met Ala

1 5 10

<210> 56

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 56

Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr

1 5 10

<210> 57

<211> 12

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 57

His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala Tyr

1 5 10

<210> 58

<211> 324

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 58

gacatccaga tgacccagtc tccttcactc ctgtctgcat ctgtgggagg cagaatcact 60

ctcaactgca aagcaagtca gaatctctat aagaacttag cctggtatca gcagaagctt 120

ggagaagctc ccaaactcct gattgataat gcaaacagtt tgcaaacggg catcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacactca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatgttg ccacatattt ctgccagcag tattatagcg ggtcgtacac gtttggagct 300

gggaccaagc tggaactgaa acgg 324

<210> 59

<211> 108

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg

100 105

<210> 60

<

211> 354

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 60

gaggtgcagc tggtggagtc tgatggaggc ttagtgcagc ctggaaggtc cctaaaactc 60

tcctgtgcag cctcaggatt cactttcagt gactattaca tggcctgggt ccgccaggct 120

ccaacgaagg ggctggagtg ggtcgcaacc attagttatg atggtagtaa cacttactat 180

cgagactccg tgaagggccg attcactatc tccagagata atgcaaaaag cacctatac 240

ctgcaaatgg acagtctgag gtctggggac acggccactt attactgtgc aagattttac 300

aacaactact actttgatta ctggggccaa ggagtcatgg tcacagtctc ctca 354

<210> 61

<211> 118

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 61

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 62

Lys Ala Ser Gln Asn Leu Tyr Lys Asn Leu Ala

1 5 10

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 63

Asn Ala Asn Ser Leu Gln Thr

1 5

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 64

Gln Gln Tyr Tyr Ser Gly Ser Tyr Thr

1 5

<210> 65

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 65

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Ala

1 5 10

<210> 66

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 66

Thr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr

1 5 10

<210> 67

<211> 9

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 67

Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5

<210> 68

<211> 324

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 68

gacatccaga tgacccagac tccatcctcc atgcctgcat ctctgggaga gagagtcacc 60

atcagttgca gagcaagtca gggtattagc aattatctaa actggtatca gcagaaacca 120

gatggaacga ttaaacccct gatctactac acatccaatt tacaatctgg tgtcccatca 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcag cctggagcct 240

gaagattttg caatgtattt ctgccaacag tatgatagtt ctcctcggac gttcggtgga 300

ggcaccaagc tggaattgaa acgg 324

<210> 69

<211> 108

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Ile Lys Pro Leu Ile

35 40 45

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

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

<210> 70
<211> 351
<212> DNA
<213> Rattus norvegicus
<400> 70
caggtacagc tgcagcaatc tggggctgaa ctggtgaagc ctgggtcctc agtgaaaatt 60
tcctgcaagg cttctggcta caccttcacc agtgacttta tgcactggat aaaacagcag 120

cctggaaatg gccttgagtg gattgggtgg atttatcctg gagatggtga tacagagtac 180
aatcaaaagt tcaatgggaa ggcaacactc actgcagaca aatcctccag cacagcctat 240
atgcagctca gcagcctgac atctgaggac tctgcagtct atttctgtgc aaggggacgg 300
gggtatgtta tggatgcctg gggtcaagga gcttcagtca ctgtctcctc a 351
<210> 71
<211> 117
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus
<400> 71
Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

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

Asn 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 Phe Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln Gly Ala Ser
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 72
<211> 11
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus
<400> 72
Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Asn
1 5 10

<210> 73
<211> 7
<212> PRT

<213> Rattus norvegicus
<400> 73
Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser
1 5

<210> 74
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus
<400> 74
Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Arg Thr
1 5

<210> 75
<211> 10
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus

<400> 75

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Asp Phe Met His

1 5 10

<210> 76

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 76

Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu

1 5 10

<210> 77

<211> 8

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 77

Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala

1 5

<210> 78

<211> 324

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 78

gatgtccaga tgacccagtc tccatcttat cttgctgcgt ctcctggaga aagtgtttcc 60

atcagttgca aggcaagtaa aagcattaac acatacttag cctggtatca ggagaaacct 120

gggaaaacga ataagcttct tatctactct gggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg 180

agattcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacgctca ccatcagaag cctggagcct 240

gaagattttg cagtctacta ctgtcaacag cataatgaat acccccttcac gttcggctca 300

gggacgaagt tggaaataaa acgg 324

<210> 79

<211> 108

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 79

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

1 5 10 15

Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Asn Thr Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Phe

85 90 95

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

100 105

<210> 80

<211> 357

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 80

gaggtgcagc tggtggagtc tgggggaggc ctagtgcagc ctggaaggtc tctgaaacta 60

tcctgtggag cctctggatt cacattcaat aactactgga tgacctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggttgcatcc attactaaag ctggtggtag cacttactat 180

cgagactctg tgaagggccg attcactatc tccagagata atgcaaaaag caccctatat 240

ctgcaaatga acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aagagaactg 300

ggagagttct atgttatgga tgcctggggt caaggagctt cagtcactgt ctcctca 357

<210> 81

<211> 119

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 81

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

1 5 10 15

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

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

Ala Ser Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 82
<211> 11
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus
<400> 82
Lys Ala Ser Lys Ser Ile Asn Thr Tyr Leu Ala
1 5 10

<210> 83
<211> 7
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus
<400> 83
Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser
1 5

<210> 84
<211> 9
<212> PRT
<213> Rattus norvegicus
<400> 84

Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 85

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 85

Gly Phe Thr Phe Asn Asn Tyr Trp Met Thr

1 5 10

<210> 86

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 86

Ser Ile Thr Lys Ala Gly Gly Ser Thr Tyr

1 5 10

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 87

Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala

1 5 10

<210> 88

<211> 1117

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> DNA comprising DNA sequence coding for amino acid of human heavy chain signal sequence and human IgG4PFALAconstant region

<400> 88

ccagcctccg gactctagag ccaccatgaa acacctgtgg ttcttcctcc tgctggtggc 60

agctcccaga tgggtgctga gccaggtgca attgtgcagg cggttagctc agcctccacc 120

aagggcccta gcgtgttccc tctggccccct tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 180

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 240

ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 300

tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 360

aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 420

cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa gccgcgggcg gaccctccgt gttcctgttc 480

cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 540

gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 600

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 660

tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 720

tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 780

cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 840

tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 900

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 960

ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1020

agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1080

agcctgggca aatgagttta aacgggggag gctaact 1117

<210> 89

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_light chain

<400> 89

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatgtccaga tgacccagtc tccatcttat cttgctgcgt ctcctggaga aagtgtttcc 120

atcagttgca aggcaagtaa gagcattagc aataatttag cctggtatca ggagaaacct 180

gggaaagcaa ataagcttct tattcactct gggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg 240

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacgctca ccatcagaag cctggagttt 300

gaagattttg cagtctatta ctgtcaacag tataatgaat acccactcac gttcggttct 360

gggaccaagc tggagatcaa acggacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 90

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_light chain

<400> 90

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ser Pro Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Ser

35 40 45

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

50 55 60

Lys Leu Leu Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Glu Phe Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 91

<211> 1410

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG1

<400> 91

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240

gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300

caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360

tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420

gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480

ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaact cctgggggga 780

ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggacccct 840

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960

agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200

gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380

cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410

<210> 92

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG1

<400> 92

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
115 120 125

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

465 470

<210> 93

<211> 1398

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG2

<400> 93

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240

gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300

caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360

tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420

gcctccacca agggcccttc cgtgttccct ctggcccctt gtagccgttc caccagcgag 480

tccaccgccg cccttggctg tctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgagc 540

tggaactccg gagcccttac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtccagc 600

ggcctttact ccctgagctc cgtggtgacc gtgcctagct ccaacttcgg cacccaaacc 660

tacacctgta acgtggacca caagcctagc aacaccaagg tggacaagac cgtggagcgt 720

aagtgttgtg tggagtgtcc tccttgtcct gcccctcctg tggccggacc ttccgtgttc 780

cttttccctc ctaagcctaa ggacaccctg atgatcagcc gtacccctga ggtgacctgt 840

gtggtggtgg acgtgtccca cgaggaccct gaggtgcagt tcaactggta cgtggacggc 900

gtggaggtgc acaacgccaa gaccaagcct cgtgaggagc aattcaacag caccttccgt 960

gtggtgtccg tgcttaccgt ggtgcaccaa gactggctga acggcaagga gtacaagtgt 1020

aaggtgagca acaagggact tcctgcccct atcgagaaga ccatctccaa gaccaagggc 1080

caacctcgtg agcctcaagt gtacaccctt cctcctagcc gtgaggagat gaccaagaac 1140

caagtgtccc ttacctgtct ggtgaagggc ttctacccta gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagtccaacg gacaacctga gaacaactac aagaccaccc ctcctatgct tgacagcgac 1260

ggctccttct tcctgtacag caagctgacc gtggacaagt cccgttggca acaaggcaac 1320

gtgttcagct gttccgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca aaagagcctt 1380

tccctgagcc ctggaaag 1398

<210> 94

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG2

<400> 94

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Thr Thr Ser Gly Ser Arg Pro Tyr Tyr Pro
65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala

115 120 125

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

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

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

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

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
370 375 380

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

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
450 455 460
Gly Lys
465

<210> 95
<211> 1401
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG4P
<400> 95

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120
tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240
gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300
caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360
tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420
gcctccacca agggccctag cgtgttccct ctggcccctt gtagcagaag caccagcgag 480
tctacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagcccgt gaccgtgtcc 540
tggaactctg gcgctctgac aagcggcgtg cacacctttc cagccgtgct gcagagcagc 600

ggcctgtact ctctgtccag cgtcgtgact gtgcccagca gctctctggg caccaagacc 660

tacacctgta acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 720

aagtacggcc ctccctgccc tccttgccca gcccctgaat ttctgggcgg accctccgtg 780

ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 840

tgcgtggtgg tggatgtgtc ccaggaagat cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 900

ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagttcaa cagcacctac 960

cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 1020

tgcaaggtgt ccaacaaggg cctgcccagc tccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1080

ggccagcccc gcgaacccca ggtgtacaca ctgcctccaa gccaggaaga gatgaccaag 1140

aatcaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1200

tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggactcc 1260

gatggctcat tcttcctgta cagcagactg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1320

aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1380

ctgtctctga gcctgggcaa a 1401

<210> 96

<211> 467

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG4P

<400> 96

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala
115 120 125
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
130 135 140
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu
145 150 155 160
Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
165 170 175

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

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

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
370 375 380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
385 390 395 400
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
405 410 415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460
Leu Gly Lys
465

<210> 97
<211> 1410
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG1LALA
<400> 97
atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180
aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240
gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300
caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360
tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420
gcctccacca agggcccaag cgtcttcccc ctggcaccct cctccaagag cacctctggc 480
ggcacagccg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaacccgt gaccgtgagc 540

tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc ccgctgtcct gcagtcctca 600

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc 660

tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagccc 720

aaatcttgtg acaaaactca cacatgccca ccctgcccag cacctgaagc cgcgggggga 780

ccctcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccccct 840

gaggtcacat gcgtggtggt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg 900

tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cccgggagga gcagtacaac 960

agcacgtacc gggtggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc aggactggct gaatggcaag 1020

gagtacaagt gcaaggtctc caacaaagcc ctcccagccc ccatcgagaa aaccatctcc 1080

aaagccaaag gccagccccg ggaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggaggag 1140

atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1200

gccgtggagt gggagagcaa tggccagccc gagaacaact acaagaccac ccctcccgtg 1260

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1320

cagcagggca acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacc 1380

cagaagagcc tctccctgtc tcccggcaaa 1410

<210> 98

<211> 470

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG1LALA

<400> 98

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

465 470

<210> 99

<211> 1401

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG4PFALA

<400

> 99

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtccct gaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtaac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

aagaagggtc tggagtgggt cgcaaccatt actaccagtg gtagcagacc ttactatcca 240

gactccgtga aaggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcag cctatacctg 300

caaatgaaca gtctgaagtc tgaggacacg gccacttatt actgtgcaag acatatttat 360

tactatgatg gttacccctt tgcttactgg ggccaaggca ctctggtcac tgtcagctca 420

gcctccacca agggccctag cgtgttccct ctggcccctt gtagcagaag caccagcgag 480

tctacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagcccgt gaccgtgtcc 540

tggaactctg gcgctctgac aagcggcgtg cacacctttc cagccgtgct gcagagcagc 600

ggcctgtact ctctgtccag cgtcgtgact gtgcccagca gctctctggg caccaagacc 660

tacacctgta acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 720

aagtacggcc ctccctgccc tccttgccca gcccctgaag ccgcgggcgg accctccgtg 780

ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 840

tgcgtggtgg tggatgtgtc ccaggaagat cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 900

ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagttcaa cagcacctac 960

cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 1020

tgcaaggtgt ccaacaaggg cctgcccagc tccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1080

ggccagcccc gcgaacccca ggtgtacaca ctgcctccaa gccaggaaga gatgaccaag 1140

aatcaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1200

tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggactcc 1260

gatggctcat tcttcctgta cagcagactg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1320

aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1380

ctgtctctga gcctgggcaa a 1401

<210> 100

<211> 467

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 84_heavy chain_IgG4PFALA

<400> 100

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
325 330 335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile

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

405 410 415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val
420 425 430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
435 440 445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
450 455 460
Leu Gly Lys
465

<210> 101

<211>

702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 101_light chain

<400> 101

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacatccaga tgacccagtc tccttcactc ctgtctgcat ctgtgggagg cagaatcact 120

ctcaactgca aagcaagtca gaatctctat aagaacttag cctggtatca gcagaagctt 180

ggagaagctc ccaaactcct gattgataat gcaaacagtt tgcaaacggg catcccatca 240

aggttcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacactca ccatcagcag cctgcagcct 300

gaagatgttg ccacatattt ctgccagcag tattatagcg ggtcgtacac gtttggagct 360

gggaccaagc tggaactgaa acggacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 102
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 101_light chain
<400> 102

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

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

115 120 125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

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

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

<210> 103

<211> 1389

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 101_heavy chain_IgG2

<400> 103

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60
gtgcagctgg tggagtctga tggaggctta gtgcagcctg gaaggtccct aaaactctcc 120
tgtgcagcct caggattcac tttcagtgac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180
acgaaggggc tggagtgggt cgcaaccatt agttatgatg gtagtaacac ttactatcga 240
gactccgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatacctg 300
caaatggaca gtctgaggtc tggggacacg gccacttatt actgtgcaag attttacaac 360
aactactact ttgattactg gggccaagga gtcatggtca cagtcagctc agcctccacc 420

aagggccctt ccgtgttccc tctggccct tgtagccgtt ccaccagcga gtccaccgcc 480
gcccttggct gtctggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgaccgtgag ctggaactcc 540
ggagccctta ccagcggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtccag cggcctttac 600
tccctgagct ccgtggtgac cgtgcctagc tccaacttcg gcacccaaac ctacacctgt 660
aacgtggacc acaagcctag caacaccaag gtggacaaga ccgtggagcg taagtgttgt 720
gtggagtgtc ctccttgtcc tgcccctcct gtggccggac cttccgtgtt ccttttccct 780

cctaagccta aggacaccct gatgatcagc cgtacccctg aggtgacctg tgtggtggtg 840

gacgtgtccc acgaggaccc tgaggtgcag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900
cacaacgcca agaccaagcc tcgtgaggag caattcaaca gcaccttccg tgtggtgtcc 960
gtgcttaccg tggtgcacca agactggctg aacggcaagg agtacaagtg taaggtgagc 1020
aacaagggac ttcctgcccc tatcgagaag accatctcca agaccaaggg ccaacctcgt 1080
gagcctcaag tgtacaccct tcctcctagc cgtgaggaga tgaccaagaa ccaagtgtcc 1140
cttacctgtc tggtgaaggg cttctaccct agcgacatcg ccgtggagtg ggagtccaac 1200
ggacaacctg agaacaacta caagaccacc cctcctatgc ttgacagcga cggctccttc 1260

ttcctgtaca gcaagctgac cgtggacaag tcccgttggc aacaaggcaa cgtgttcagc 1320
tgttccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc aaaagagcct ttccctgagc 1380
cctggaaag 1389

<210> 104
<211> 463
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human chimera rat 101_heavy chain_IgG2
<400> 104

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15
Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Asp Gly Gly Leu Val Gln

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

85 90 95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Thr
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125
Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140
Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala

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

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

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

340 345 350
Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

<210> 105

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 101_heavy chain_IgG4P

<400> 105

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctga tggaggctta gtgcagcctg gaaggtccct aaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtgac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

acgaaggggc tggagtgggt cgcaaccatt agttatgatg gtagtaacac ttactatcga 240

gactccgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatacctg 300

caaatggaca gtctgaggtc tggggacacg gccacttatt actgtgcaag attttacaac 360

aactactact ttgattactg gggccaagga gtcatggtca cagtcagctc agcctccacc 420

aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 480

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 540

ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 600

tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 660

aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 720

cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa tttctgggcg gaccctccgt gttcctgttc 780

ccccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 840

gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 960

tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 1020

tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 1080

cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 1140

tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 1200

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 1260

ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1320

agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1380

agcctgggca aa 1392

<210> 106

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 101_heavy chain_IgG4P

<400> 106

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Asp Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

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

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

```
            100                 105                 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
        115                 120                 125
Gln Gly Val Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
    130                 135                 140

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

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
            340                 345                 350
```

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
355 360 365

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 107

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 101_heavy chain_IgG4PFALA

<400> 107

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctga tggaggctta gtgcagcctg gaaggtccct aaaactctcc 120

tgtgcagcct caggattcac tttcagtgac tattacatgg cctgggtccg ccaggctcca 180

acgaaggggc tggagtgggt cgcaaccatt agttatgatg gtagtaacac ttactatcga 240

gactccgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatacctg 300

caaatggaca gtctgaggtc tggggacacg gccacttatt actgtgcaag attttacaac 360

aactactact ttgattactg gggccaagga gtcatggtca cagtcagctc agcctccacc 420

aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 480

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 540

ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 600

tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 660

aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 720

cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa gccgcgggcg gaccctccgt gttcctgttc 780

cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 840

gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 960

tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 1020

tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 1080

cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 1140

tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 1200

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 1260

ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1320

agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1380

agcctgggca aa 1392

<210> 108

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 101_heavy chain_IgG4PFALA

<400

> 108

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Asp Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

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

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Thr
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

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

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

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

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
325 330 335
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

<210> 109

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 110_light chain

<400> 109

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacatccaga tgacccagac tccatcctcc atgcctgcat ctctgggaga gagtcacc 120

atcagttgca gagcaagtca gggtattagc aattatctaa actggtatca gcagaaacca 180

gatggaacga ttaaacccct gatctactac acatccaatt tacaatctgg tgtcccatca 240

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagat tattctctca ccatcagcag cctggagcct 300

gaagattttg caatgtattt ctgccaacag tatgatagtt ctcctcggac gttcggtgga 360

ggcaccaagc tggaattgaa acggacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 110

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 110_light chain

<400> 110

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Pro Ser Ser Met Pro
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly
35 40 45

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

Lys Pro Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Met Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asp
100 105 110

Ser Ser Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 111

<211> 1386

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 110_heavy chain_IgG2

<400> 111

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gtacagctgc agcaatctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggtcctcagt gaaaatttcc 120

tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagt gactttatgc actggataaa acagcagcct 180

ggaaatggcc ttgagtggat tgggtggatt tatcctggag atggtgatac agagtacaat 240

caaaagttca atgggaaggc aacactcact gcagacaaat cctccagcac agcctatatg 300

cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt tctgtgcaag gggacggggg 360

tatgttatgg atgcctgggg tcaaggagct tcagtcactg tcagctcagc ctccaccaag 420

ggcccttccg tgttccctct ggcccccttgt agccgttcca ccagcgagtc caccgccgcc 480

cttggctgtc tggtgaagga ctacttccct gagcctgtga ccgtgagctg gaactccgga 540

gcccttacca gcggcgtgca caccttccct gccgtgctgc agtccagcgg cctttactcc 600

ctgagctccg tggtgaccgt gcctagctcc aacttcggca cccaaaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcctagcaa caccaaggtg gacaagaccg tggagcgtaa gtgttgtgtg 720

gagtgtcctc cttgtcctgc ccctcctgtg gccggacctt ccgtgttcct tttccctcct 780

aagcctaagg acaccctgat gatcagccgt acccctgagg tgacctgtgt ggtggtggac 840

gtgtcccacg aggaccctga ggtgcagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcac 900

aacgccaaga ccaagcctcg tgaggagcaa ttcaacagca ccttccgtgt ggtgtccgtg 960

cttaccgtgg tgcaccaaga ctggctgaac ggcaaggagt acaagtgtaa ggtgagcaac 1020

aagggacttc ctgcccctat cgagaagacc atctccaaga ccaagggcca acctcgtgag 1080

cctcaagtgt acacccttcc tcctagccgt gaggagatga ccaagaacca agtgtccctt 1140

acctgtctgg tgaagggctt ctaccctagc gacatcgccg tggagtggga gtccaacgga 1200
caacctgaga acaactacaa gaccacccct cctatgcttg acagcgacgg ctccttcttc 1260
ctgtacagca agctgaccgt ggacaagtcc cgttggcaac aaggcaacgt gttcagctgt 1320
tccgtgatgc acgaggccct gcacaaccac tacacccaaa agagcctttc cctgagccct 1380
ggaaag 1386

<210> 112
<211> 462
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human chimera rat 110_heavy chain_IgG2
<400> 112

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

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

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
405 410 415

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
420 425 430

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
435 440 445

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 113

<211> 1389

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 110_heavy chain_IgG4P

<400> 113

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gtacagctgc agcaatctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggtcctcagt gaaaatttcc 120

tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagt gactttatgc actggataaa acagcagcct 180

ggaaatggcc ttgagtggat tgggtggatt tatcctggag atggtgatac agagtacaat 240

caaaagttca atgggaaggc aacactcact gcagacaaat cctccagcac agcctatatg 300

cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt tctgtgcaag gggacggggg 360

tatgttatgg atgcctgggg tcaaggagct tcagtcactg tcagctcagc ctccaccaag 420

ggccctagcg tgttccctct ggcccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480

ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540

gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600

ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720

ccctgccctc cttgcccagc ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780

ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840

gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960

gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020

aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080

gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140

ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200

ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260

ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320

tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380

ctgggcaaa 1389

<210> 114

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 110_heavy chain_IgG4P

<400> 114

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys
20 25 30

Pro Gly Ser Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Asp Phe Met His Trp Ile Lys Gln Gln Pro Gly Asn Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Asn Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

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

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln

115 120 125

Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140

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

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

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

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

370 375 380
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

<210> 115

<211> 1389

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 110_heavy chain_IgG4PFALA

<400> 115

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gtacagctgc agcaatctgg ggctgaactg gtgaagcctg ggtcctcagt gaaaatttcc 120

tgcaaggctt ctggctacac cttcaccagt gactttatgc actggataaa acagcagcct 180

ggaaatggcc ttgagtggat tgggtggatt tatcctggag atggtgatac agagtacaat 240

caaaagttca atgggaaggc aacactcact gcagacaaat cctccagcac agcctatatg 300

cagctcagca gcctgacatc tgaggactct gcagtctatt tctgtgcaag gggacggggg 360

tatgttatgg atgcctgggg tcaaggagct tcagtcactg tcagctcagc ctccaccaag 420

ggccctagcg tgttccctct ggcccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480

ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540

gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600

ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720

ccctgccctc cttgcccagc ccctgaagcc gcgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780

ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840

gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960

gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020

aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080
gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140
ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200
ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260
ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320
tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380
ctgggcaaa 1389

<210> 116
<211> 463
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human chimera rat 110_heavy chain_IgG4PFALA
<400> 116

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

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

Tyr Phe Cys Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

130 135 140

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
180 185 190

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
195 200 205

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
210 215 220

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
225 230 235 240

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val
245 250 255

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
260 265 270

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
275 280 285

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
290 295 300

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
325 330 335

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
340 345 350

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
370 375 380

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

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460

<210> 117
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Human chimera rat 131_light chain
<400> 117

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
gatgtccaga tgacccagtc tccatcttat cttgctgcgt ctcctggaga aagtgtttcc 120

atcagttgca aggcaagtaa aagcattaac acatacttag cctggtatca ggagaaacct 180
gggaaaacga ataagcttct tatctactct gggtcaactt tgcaatctgg aactccatcg 240
agattcagtg gcagtggatc tggtacagat ttcacgctca ccatcagaag cctggagcct 300
gaagattttg cagtctacta ctgtcaacag cataatgaat acccccttcac gttcggctca 360
gggacgaagt tggaaataaa acggacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttccccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 118
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 131_light chain

<400> 118

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Ser Pro Gly Glu Ser Val Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Lys Ser
35 40 45

Ile Asn Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser
65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Leu Glu Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn
100 105 110

Glu Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
115 120 125

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140

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

145 150 155 160

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
195 200 205

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

210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 119

<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 131_heavy chain_IgG2

<400> 119

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtctct gaaactatcc 120

tgtggagcct ctggattcac attcaataac tactggatga cctgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggc tggagtgggt tgcatccatt actaaagctg gtggtagcac ttactatcga 240

gactctgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatatctg 300

caaatgaaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaag agaactggga 360

gagttctatg ttatggatgc ctggggtcaa ggagcttcag tcactgtcag ctcagcctcc 420

accaagggcc cttccgtgtt ccctctggcc ccttgtagcc gttccaccag cgagtccacc 480

gccgcccttg gctgtctggt gaaggactac ttccctgagc ctgtgaccgt gagctggaac 540

tccggagccc ttaccagcgg cgtgcacacc ttccctgccg tgctgcagtc cagcggcctt 600

tactccctga gctccgtggt gaccgtgcct agctccaact tcggcaccca aacctacacc 660

tgtaacgtgg accacaagcc tagcaacacc aaggtggaca agaccgtgga gcgtaagtgt 720

tgtgtggagt gtcctccttg tcctgccccc cctgtggccg gaccttccgt gttccttttc 780

cctcctaagc ctaaggacac cctgatgatc agccgtaccc ctgaggtgac ctgtgtggtg 840

gtggacgtgt cccacgagga ccctgaggtg cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctcgtgag gagcaattca acagcacctt ccgtgtggtg 960

tccgtgctta ccgtggtgca ccaagactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgtaaggtg 1020

agcaacaagg gacttcctgc ccctatcgag aagaccatct ccaagaccaa gggccaacct 1080

cgtgagcctc aagtgtacac ccttcctcct agccgtgagg agatgaccaa gaaccaagtg 1140

tcccttacct gtctggtgaa gggcttctac cctagcgaca tcgccgtgga gtgggagtcc 1200

aacggacaac ctgagaacaa ctacaagacc acccctccta tgcttgacag cgacggctcc 1260

ttcttcctgt acagcaagct gaccgtggac aagtcccgtt ggcaacaagg caacgtgttc 1320

agctgttccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccaaaagag cctttccctg 1380

agccctggaa ag 1392

<210> 120

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 131_heavy chain_IgG2

<400> 120

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Asn Tyr Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Lys Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
195 200 205

Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
210 215 220
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
225 230 235 240

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

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

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
385 390 395 400
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
405 410 415
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430

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

450 455 460

<210> 121

<211> 1395

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 131_heavy chain_IgG4P

<400> 121

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgag 60

gtgcagctgg tggagtctgg gggaggccta gtgcagcctg gaaggtctct gaaactatcc 120

tgtggagcct ctggattcac attcaataac tactggatga cctgggtccg ccaggctcca 180

gggaaggggc tggagtgggt tgcatccatt actaaagctg gtggtagcac ttactatcga 240

gactctgtga agggccgatt cactatctcc agagataatg caaaaagcac cctatatctg 300

caaatgaaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaag agaactggga 360

gagttctatg ttatggatgc ctggggtcaa ggagcttcag tcactgtcag ctcagcctcc 420

accaagggcc ctagcgtgtt ccctctggcc ccttgtagca gaagcaccag cgagtctaca 480

gccgccctgg gctgcctcgt gaaggactac tttcccgagc ccgtgaccgt gtcctggaac 540

tctggcgctc tgacaagcgg cgtgcacacc tttccagccg tgctgcagag cagcggcctg 600

tactctctgt ccagcgtcgt gactgtgccc agcagctctc tgggcaccaa gacctacacc 660

tgtaacgtgg accacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agcgggtgga atctaagtac 720

ggccctccct gccctccttg cccagccccc gaatttctgg gcggaccctc cgtgttcctg 780

ttcccccaa agcccaagga caccctgatg atcagccgga cccccgaagt gacctgcgtg 840

gtggtggatg tgtcccagga agatcccgag gtgcagttca attggtacgt ggacggcgtg 900

gaagtgcaca acgccaagac caagcctaga gaggaacagt tcaacagcac ctaccgggtg 960

gtgtccgtgc tgacagtgct gcaccaggac tggctgaacg gcaaagagta caagtgcaag 1020

gtgtccaaca agggcctgcc cagctccatc gagaaaacca tcagcaaggc caagggccag 1080

ccccgcgaac cccaggtgta cacactgcct ccaagccagg aagagatgac caagaatcag 1140

gtgtccctga cctgtctcgt gaaaggcttc taccccctccg atatcgccgt ggaatgggag 1200

agcaacggcc agcccgagaa caactacaag accacccccc ctgtgctgga ctccgatggc 1260

tcattcttcc tgtacagcag actgaccgtg gacaagagcc ggtggcagga aggcaacgtg 1320

ttcagctgct ccgtgatgca cgaggccctg cacaaccact acacccagaa gtccctgtct 1380

ctgagcctgg gcaaa 1395

<210> 122

<211> 465

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human chimera rat 131_heavy chain_IgG4P

<400> 122

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Lys Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Asn Tyr Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Lys Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala Trp
115 120 125

Gly Gln Gly Ala Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
130 135 140

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
165 170 175

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
195 200 205

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

210 215 220

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr

225 230 235 240

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Lys

465

<210> 123

<211> 466

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #84H1hIgG2

<400> 123

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Gly Lys

465

<210> 124

<211> 1398

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #84H1hIgG2

<400> 124

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

gtgcagctgg ttgagtctgg cggaggactg gttcaacctg gcggaagcct gagactgtct 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcaac tactatatgg cctgggtccg acaggcccct 180

ggcaaaggac ttgaatgggt gtccaccatc accaccagcg gcagcagacc ttactacgcc 240

gatagcgtga agggcagatt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacc gccgtgtact attgcgccag acacatctac 360

tactacgacg gctacccctt cgcctattgg ggccagggaa cactggtcac agttagctca 420

gcctccacca agggcccttc cgtgttccct ctggcccctt gtagccgttc caccagcgag 480

tccaccgccg cccttggctg tctggtgaag gactacttcc ctgagcctgt gaccgtgagc 540

tggaactccg gagcccttac cagcggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtccagc 600

ggcctttact ccctgagctc cgtggtgacc gtgcctagct ccaacttcgg cacccaaacc 660

tacacctgta acgtggacca caagcctagc aacaccaagg tggacaagac cgtggagcgt 720

aagtgttgtg tggagtgtcc tccttgtcct gcccctcctg tggccggacc ttccgtgttc 780

cttttccctc ctaagcctaa ggacaccctg atgatcagcc gtacccctga ggtgacctgt 840

gtggtggtgg acgtgtccca cgaggaccct gaggtgcagt tcaactggta cgtggacggc 900

gtggaggtgc acaacgccaa gaccaagcct cgtgaggagc aattcaacag caccttccgt 960

gtggtgtccg tgcttaccgt ggtgcaccaa gactggctga acggcaagga gtacaagtgt 1020

aaggtgagca acaagggact tcctgccccc atcgagaaga ccatctccaa gaccaagggc 1080

caacctcgtg agcctcaagt gtacaccctt cctcctagcc gtgaggagat gaccaagaac 1140

caagtgtccc ttacctgtct ggtgaagggc ttctacccta gcgacatcgc cgtggagtgg 1200

gagtccaacg gacaacctga gaacaactac aagaccaccc ctcctatgct tgacagcgac 1260

ggctccttct tcctgtacag caagctgacc gtggacaagt cccgttggca acaaggcaac 1320

gtgttcagct gttccgtgat gcacgaggcc ctgcacaacc actacaccca aaagagcctt 1380

tccctgagcc ctggaaag 1398

<210> 125

<211> 467

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #84H1hIgG4P

<400> 125

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Ile Tyr Tyr Tyr Asp Gly Tyr Pro Phe Ala

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Leu Gly Lys

465

<210> 126

<211> 1401

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #84H1hIgG4P

<400> 126

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

gtgcagctgg ttgagtctgg cggaggactg gttcaacctg gcggaagcct gagactgtct 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcaac tactatatgg cctgggtccg acaggcccct 180

ggcaaaggac ttgaatgggt gtccaccatc accaccagcg gcagcagacc ttactacgcc 240

gatagcgtga agggcagatt caccatcagc cgggacaaca gcaagaacac cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagagc cgaggacacc gccgtgtact attgcgccag acacatctac 360

tactacgacg gctacccctt cgcctattgg ggccagggaa cactggtcac agttagctca 420

gcctccacca agggccctag cgtgttccct ctggcccctt gtagcagaag caccagcgag 480

tctacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagcccgt gaccgtgtcc 540

tggaactctg gcgctctgac aagcggcgtg cacacctttc cagccgtgct gcagagcagc 600

ggcctgtact ctctgtccag cgtcgtgact gtgcccagca gctctctggg caccaagacc 660

tacacctgta acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 720

aagtacggcc ctccctgccc tccttgccca gcccctgaat ttctgggcgg accctccgtg 780

ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 840

tgcgtggtgg tggatgtgtc ccaggaagat cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 900

ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cctagagagg aacagttcaa cagcacctac 960

cgggtggtgt ccgtgctgac agtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 1020

tgcaaggtgt ccaacaaggg cctgcccagc tccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1080

ggccagcccc gcgaacccca ggtgtacaca ctgcctccaa gccaggaaga gatgaccaag 1140

aatcaggtgt ccctgacctg tctcgtgaaa ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1200

tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca ccccccctgt gctggactcc 1260

gatggctcat tcttcctgta cagcagactg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1320

aacgtgttca gctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtcc 1380

ctgtctctga gcctgggcaa a 1401

<210> 127

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #84L2h

<400> 127

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Leu Leu Ile His Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 128

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #84L2h

<400> 128

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacgttcaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120

atcacatgca aggccagcaa gagcatcagc aacaacctgg cctggtatca gcagaagccc 180

ggaaaggcca acaagctgct gatccacagc ggcagcacac tgcagtctgg caccctagc 240

agattttccg gctctggcag cggcaccgat ttcaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacaacgagt accctctgac ctttggccag 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggagt gt 702

<210> 129

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #101H1hIgG2

<400> 129

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His
210 215 220

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

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

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

405 410 415
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
420 425 430
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
435 440 445
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460
<210> 130
<211> 1389

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #101H1hIgG2

<400> 130

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

gtgcagctgg ttgagtctgg cggaggactg gttcagcctg gcagaagcct gagactgtct 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcgac tactatatgg cctgggtccg acaggccccct 180

ggcaaaggac ttgaatgggt cgccaccatc agctacgacg gcagcaacac ctactaccgg 240

gacagcgtga agggcagatt caccatctcc agagacaaca gcaagagcac cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagagc cggcgatacc gccgtgtact actgcgccag attctacaac 360

aactactact tcgactactg gggccagggc accctggtca cagttagctc agcctccacc 420

aagggccctt ccgtgttccc tctggccccct tgtagccgtt ccaccagcga gtccaccgcc 480

gcccttggct gtctggtgaa ggactacttc cctgagcctg tgaccgtgag ctggaactcc 540

ggagccctta ccagcggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgcagtccag cggcctttac 600

tccctgagct ccgtggtgac cgtgcctagc tccaacttcg gcacccaaac ctacacctgt 660

aacgtggacc acaagcctag caacaccaag gtggacaaga ccgtggagcg taagtgttgt 720

gtggagtgtc ctccttgtcc tgcccctcct gtggccggac cttccgtgtt ccttttccct 780

cctaagccta aggacaccct gatgatcagc cgtacccctg aggtgacctg tgtggtggtg 840

gacgtgtccc acgaggaccc tgaggtgcag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tcgtgaggag caattcaaca gcaccttccg tgtggtgtcc 960

gtgcttaccg tggtgcacca agactggctg aacggcaagg agtacaagtg taaggtgagc 1020

aacaagggac ttcctgcccc tatcgagaag accatctcca agaccaaggg ccaacctcgt 1080

gagcctcaag tgtacaccct tcctcctagc cgtgaggaga tgaccaagaa ccaagtgtcc 1140

cttacctgtc tggtgaaggg cttctaccct agcgacatcg ccgtggagtg ggagtccaac 1200

ggacaacctg agaacaacta caagaccacc cctcctatgc ttgacagcga cggctccttc 1260

ttcctgtaca gcaagctgac cgtggacaag tcccgttggc aacaaggcaa cgtgttcagc 1320

tgttccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc aaaagagcct ttccctgagc 1380

cctggaaag 1389

<210> 131

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #101H1hIgG4P

<400> 131

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

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

Glu Trp Val Ala Thr Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Arg
65 70 75 80

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

85 90 95

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

Tyr Tyr Cys Ala Arg Phe Tyr Asn Asn Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
130 135 140

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

145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val
195 200 205

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

210 215 220

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

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

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

405 410 415
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
420 425 430
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
435 440 445
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
450 455 460
<210> 132
<211> 1392

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #101H1hIgG4P

<400> 132

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagcgaa 60

gtgcagctgg ttgagtctgg cggaggactg gttcagcctg gcagaagcct gagactgtct 120

tgtgccgcca gcggcttcac cttcagcgac tactatatgg cctgggtccg acaggcccct 180

ggcaaaggac ttgaatgggt cgccaccatc agctacgacg gcagcaacac ctactaccgg 240

gacagcgtga agggcagatt caccatctcc agagacaaca gcaagagcac cctgtacctg 300

cagatgaaca gcctgagagc cggcgatacc gccgtgtact actgcgccag attctacaac 360

aactactact tcgactactg gggccagggc accctggtca cagttagctc agcctccacc 420

aagggcccta gcgtgttccc tctggccccc tgtagcagaa gcaccagcga gtctacagcc 480

gccctgggct gcctcgtgaa ggactacttt cccgagcccg tgaccgtgtc ctggaactct 540

ggcgctctga caagcggcgt gcacaccttt ccagccgtgc tgcagagcag cggcctgtac 600

tctctgtcca gcgtcgtgac tgtgcccagc agctctctgg gcaccaagac ctacacctgt 660

aacgtggacc acaagcccag caacaccaag gtggacaagc gggtggaatc taagtacggc 720

cctccctgcc ctccttgccc agcccctgaa tttctgggcg gaccctccgt gttcctgttc 780

cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc agccggaccc ccgaagtgac ctgcgtggtg 840

gtggatgtgt cccaggaaga tcccgaggtg cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctagagag gaacagttca acagcaccta ccgggtggtg 960

tccgtgctga cagtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaaggtg 1020

tccaacaagg gcctgcccag ctccatcgag aaaaccatca gcaaggccaa gggccagccc 1080

cgcgaacccc aggtgtacac actgcctcca agccaggaag agatgaccaa gaatcaggtg 1140

tccctgacct gtctcgtgaa aggcttctac ccctccgata tcgccgtgga atgggagagc 1200

aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc acccccccctg tgctggactc cgatggctca 1260

ttcttcctgt acagcagact gaccgtggac aagagccggt ggcaggaagg caacgtgttc 1320

agctgctccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccagaagtc cctgtctctg 1380

agcctgggca aa 1392

<210> 133

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #101L2h

<400> 133

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

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

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

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

210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 134

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #101L2h

<400> 134

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatatccaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga tagagtgacc 120

atcaactgca aggccagcca gaacctgtac aagaacctgg cctggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggctc ctaagctgct gatcgacaac gccaacagcc tgcagaccgg cattcccagc 240

agattttctg gcagcggctc cggcaccgat ttcaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctactt ttgccagcag tactacagcg gcagctacac ctttggccag 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 135

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #110H1hIgG4P

<400> 135

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Arg Gly Tyr Val Met Asp Ala Trp Gly Gln
115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

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

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

<210> 136

<211> 1389

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #110H1hIgG4P

<400> 136

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gttcagctgg ttcagtctgg cgccgaagtg aagaaacctg gcgcctctgt gaaggtgtcc 120

tgcaaggcca gcggctacac ctttaccagc gacttcatgc actgggtccg acaggctcca 180

ggacagggac ttgaatggat gggctggatc tatcccggcg acggcgacac cgagtacaac 240

cagaaattcc agggcagagt gaccctgacc agagacacca gcatcagcac cgcctacatg 300

gaactgagcc ggctgagatc cgatgacacc gccgtgtact actgcgccag aggcagaggc 360

tatgtgatgg atgcttgggg ccagggcacc accgttacag ttagctcagc ctccaccaag 420

ggccctagcg tgttccctct ggcccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480

ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540

gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600

ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660

gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720

ccctgccctc cttgcccagc ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780

ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840

gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900

cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960

gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020

aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080

gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140

ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200

ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260

ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320

tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380

ctgggcaaa 1389

<210> 137

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #110L4h

<400> 137

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

Ser Ser Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
115 120 125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175

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

<210> 138

<211> 702

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #110L4h

<400> 138

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatatccaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120

atcacctgta gagccagcca gggcatcagc aactacctga actggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggcca tcaagcccct gatctactac accagcaacc tgcagagcgg cgtgcccagc 240

agattttctg gctctggcag cggcaccgac tacaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctactt ttgccagcag tacgacagca gccccagaac ctttggcggc 360

ggaacaaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttcccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggggagt gt 702

<210> 139

<211> 464

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #131H2hIgG2

<400> 139

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp
1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
20 25 30

Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
35 40 45

Asn Asn Tyr Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Val Ala Ser Ile Thr Lys Ala Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala
65 70 75 80

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Arg Glu Leu Gly Glu Phe Tyr Val Met Asp Ala Trp

115 120 125

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

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

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

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

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
370 375 380

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

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450 455 460

<210> 140
<211> 1392
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> #131H2hIgG2
<400> 140

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60
gttcagctgg ttgaatctgg tggcggagtg gtgcagcctg gcagatctct gagactgtct 120
tgtgccgcca gcggcttcac cttcaacaac tactggatga cctgggtccg acaggccct 180
ggcaaaggac ttgaatgggt cgccagcatc accaaggctg gcggctctac ctactacgcc 240

gatagcgtga agggcagatt caccatcagc cgggacaaca gcaagagcac cctgtacctg 300
cagatgaaca gcctgagagc cgagggcaca gccgtgtact actgtacaag agagctgggc 360
gagttctacg tgatggatgc ctggggccag ggcaccacag ttacagttag ctcagcctcc 420
accaagggcc cttccgtgtt ccctctggcc ccttgtagcc gttccaccag cgagtccacc 480
gccgcccttg gctgtctggt gaaggactac ttccctgagc ctgtgaccgt gagctggaac 540
tccggagccc ttaccagcgg cgtgcacacc ttccctgccg tgctgcagtc cagcggcctt 600
tactccctga gctccgtggt gaccgtgcct agctccaact tcggcaccca aacctacacc 660

tgtaacgtgg accacaagcc tagcaacacc aaggtggaca agaccgtgga gcgtaagtgt 720
tgtgtggagt gtcctccttg tcctgcccct cctgtggccg gaccttccgt gttccttttc 780

cctcctaagc ctaaggacac cctgatgatc agccgtaccc ctgaggtgac ctgtgtggtg 840

gtggacgtgt cccacgagga ccctgaggtg cagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag 900

gtgcacaacg ccaagaccaa gcctcgtgag gagcaattca acagcacctt ccgtgtggtg 960

tccgtgctta ccgtggtgca ccaagactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgtaaggtg 1020

agcaacaagg gacttcctgc ccctatcgag aagaccatct ccaagaccaa gggccaacct 1080

cgtgagcctc aagtgtacac ccttcctcct agccgtgagg agatgaccaa gaaccaagtg 1140

tcccttacct gtctggtgaa gggcttctac cctagcgaca tcgccgtgga gtgggagtcc 1200

aacggacaac ctgagaacaa ctacaagacc acccctccta tgcttgacag cgacggctcc 1260

ttcttcctgt acagcaagct gaccgtggac aagtcccgtt ggcaacaagg caacgtgttc 1320

agctgttccg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca cccaaaagag cctttccctg 1380

agccctggaa ag 1392

<210> 141

<211> 234

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #131L2h

<400> 141

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser
1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly Asp Val Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Lys Ser
35 40 45

Ile Asn Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn
50 55 60

Lys Leu Leu Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Thr Pro Ser
65 70 75 80

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn
100 105 110

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

115 120 125

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

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

<210> 142
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> #131L2h
<400> 142

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gacgttcaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120
atcacatgca aggccagcaa gagcatcaac acctacctgg cctggtatca agagaagccc 180
ggcaagacca acaagctgct gatctacagc ggcagcacac tgcagagcgg cacccttct 240
agattttccg gctctggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatatctag cctgcagcct 300
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag cacaacgagt acccccttcac ctttggccag 360
ggcaccaagc tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccct ccgtgttcat cttcccccc 420
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 143

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 143

Asp Ala Leu Pro Gly Gln Lys Thr Glu Phe Lys Val Asp Ser Asp Asp

1 5 10 15

Gln

<210> 144

<211> 17

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 144

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

1 5 10 15

Leu

<210> 145

<211> 457

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

Met Ala Thr Arg Val Leu Ser Met Ser Ala Arg Leu Gly Pro Val Pro

1 5 10 15

Gln Pro Pro Ala Pro Gln Asp Glu Pro Val Phe Ala Gln Leu Lys Pro

20 25 30

Val Leu Gly Ala Ala Asn Pro Ala Arg Asp Ala Ala Leu Phe Pro Gly

35 40 45

Glu Glu Leu Lys His Ala His His Arg Pro Gln Ala Gln Pro Ala Pro

50 55 60

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

Thr Pro Gln Leu Pro Pro Val Pro Ile Ile Pro Glu His Lys Lys Tyr
100 105 110
Arg Arg Asp Ser Ala Ser Val Val Asp Gln Phe Phe Thr Asp Thr Glu
115 120 125
Gly Leu Pro Tyr Ser Ile Asn Met Asn Val Phe Leu Pro Asp Ile Thr
130 135 140
His Leu Arg Thr Gly Leu Tyr Lys Ser Gln Arg Pro Cys Val Thr His
145 150 155 160

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

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

Pro Ser Gln Phe Leu Pro Gln Gln Ala Thr Tyr Phe Pro Pro Ser Pro
290 295 300
Pro Ser Ser Glu Pro Gly Ser Pro Asp Arg Gln Ala Glu Met Leu Gln

305 310 315 320

Asn Leu Thr Pro Pro Pro Ser Tyr Ala Ala Thr Ile Ala Ser Lys Leu

325 330 335

Ala Ile His Asn Pro Asn Leu Pro Thr Thr Leu Pro Val Asn Ser Gln

340 345 350

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

355 360 365

Lys Arg Arg Ile His Tyr Cys Asp Tyr Pro Gly Cys Thr Lys Val Tyr

370 375 380

Thr Lys Ser Ser His Leu Lys Ala His Leu Arg Thr His Thr Gly Glu

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Asp Glu Leu Thr Arg His Tyr Arg Lys His Thr Gly Ala Lys Pro

420 425 430

Phe Gln Cys Gly Val Cys Asn Arg Ser Phe Ser Arg Ser Asp His Leu

435 440 445

Ala Leu His Met Lys Arg His Gln Asn

450 455

<210> 146

<211> 1374

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 146

atggctacaa gggtgctgag catgagcgcc cgcctgggac ccgtgcccca gccgccggcg 60

ccgcaggacg agccggtgtt cgcgcagctc aagccggtgc tgggcgccgc gaatccggcc 120

cgcgacgcgg cgctcttccc cggcgaggag ctgaagcacg cgcaccaccg cccgcaggcg 180

cagcccgcgc ccgcgcaggc cccgcagccg gcccagccgc ccgccaccgg cccgcggctg 240

cctccagagg acctggtcca gacaagatgt gaaatggaga agtatctgac acctcagctt 300

cctccagttc ctataattcc agagcataaa aagtatagac gagacagtgc ctcagtcgta 360

gaccagttct tcactgacac tgaagggtta ccttacagta tcaacatgaa cgtcttcctc 420

cctgacatca ctcacctgag aactggcctc tacaaatccc agagaccgtg cgtaacacac 480

atcaagacag aacctgttgc cattttcagc caccagagtg aaacgactgc ccctcctccg 540

gccccgaccc aggccctccc tgagttcacc agtatattca gctcacacca gaccgcagct 600

ccagaggtga acaatatttt catcaaacaa gaacttccta caccagatct tcatctttct 660

gtccctaccc agcagggcca cctgtaccag ctactgaata caccggatct agatatgccc 720

agttctacaa atcagacagc agcaatggac actcttaatg tttctatgtc agctgccatg 780

gcaggcctta acacacacac ctctgctgtt ccgcagactg cagtgaaaca attccagggc 840

atgccccctt gcacatacac aatgccaagt cagtttcttc cacaacaggc cacttacttt 900

cccccgtcac caccaagctc agagcctgga agtccagata gacaagcaga gatgctccag 960

aatttaaccc cacctccatc ctatgctgct acaattgctt ctaaactggc aattcacaat 1020

ccaaatttac ccaccaccct gccagttaac tcacaaaaca tccaacctgt cagatacaat 1080

agaaggagta accccgattt ggagaaacga cgcatccact actgcgatta ccctggttgc 1140

acaaaagttt ataccaagtc ttctcattta aaagctcacc tgaggactca cactggtgaa 1200

aagccataca agtgtacctg ggaaggctgc gactggaggt tcgcgcgatc ggatgagctg 1260

acccgccact accggaagca cacaggcgcc aagcccttcc agtgcggggt gtgcaaccgc 1320

agcttctcgc gctctgacca cctggccctg catatgaaga ggcaccagaa ctga 1374

<210> 147

<211> 463

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> #110H13hIgG4P

<400> 147

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Glu Trp Met Gly Trp Ile Tyr Pro Gly Asp Gly Asp Thr Glu Tyr Ala

65 70 75 80

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

115 120 125
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
130 135 140
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
145 150 155 160
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
165 170 175
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

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

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

305 310 315 320
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

<210> 148

<211> 1389

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #110H13hIgG4P

<400> 148

atgaaacacc tgtggttctt cctcctgctg gtggcagctc ccagatgggt gctgagccag 60

gttcagctgg ttcagtctgg cgccgaagtg aagaaacctg gcgcctctgt gaaggtgtcc 120

tgcaaggcca gcggctacac ctttaccagc gacttcatgc actgggtccg acaggctcca 180

ggacagggac ttgaatggat gggctggatc tatcccggcg acggcgatac agagtacgcc 240

cagaaattcc agggcagagt gaccatgacc agagacacca gcatcagcac cgcctacatg 300

gaactgagcc ggctgagatc cgatgacacc gccgtgtact actgcgccag aggcagaggc 360

tatgtgatgg atgcttgggg ccagggcacc accgttacag ttagctcagc ctccaccaag 420

ggccctagcg tgttccctct ggcccccttgt agcagaagca ccagcgagtc tacagccgcc 480

ctgggctgcc tcgtgaagga ctactttccc gagcccgtga ccgtgtcctg gaactctggc 540

gctctgacaa gcggcgtgca cacctttcca gccgtgctgc agagcagcgg cctgtactct 600

ctgtccagcg tcgtgactgt gcccagcagc tctctgggca ccaagaccta cacctgtaac 660
gtggaccaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagcggg tggaatctaa gtacggccct 720
ccctgccctc cttgcccagc ccctgaattt ctgggcggac cctccgtgtt cctgttcccc 780
ccaaagccca aggacaccct gatgatcagc cggacccccg aagtgacctg cgtggtggtg 840
gatgtgtccc aggaagatcc cgaggtgcag ttcaattggt acgtggacgg cgtggaagtg 900
cacaacgcca agaccaagcc tagagaggaa cagttcaaca gcacctaccg ggtggtgtcc 960
gtgctgacag tgctgcacca ggactggctg aacggcaaag agtacaagtg caaggtgtcc 1020

aacaagggcc tgcccagctc catcgagaaa accatcagca aggccaaggg ccagccccgc 1080
gaaccccagg tgtacacact gcctccaagc caggaagaga tgaccaagaa tcaggtgtcc 1140
ctgacctgtc tcgtgaaagg cttctacccc tccgatatcg ccgtggaatg ggagagcaac 1200
ggccagcccg agaacaacta caagaccacc ccccctgtgc tggactccga tggctcattc 1260
ttcctgtaca gcagactgac cgtggacaag agccggtggc aggaaggcaa cgtgttcagc 1320
tgctccgtga tgcacgaggc cctgcacaac cactacaccc agaagtccct gtctctgagc 1380
ctgggcaaa 1389

<210> 149
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> #110L2h
<400> 149

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

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

115 120 125
Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
130 135 140
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
165 170 175
Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

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

<210> 150
<211> 702
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> #110L2h
<400>
150
atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60
gatatccaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120
atcacctgta gagccagcca gggcatcagc aactacctga actggtatca gcagaagccc 180
ggcaaggccc ctaagcctct gatctactac accagcaacc tgcagagcgg cgtgcccagc 240
agattttctg gctctggcag cggcaccgac tacaccctga ccatatctag cctgcagcct 300
gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacgacagca gccccagaac atttggcgga 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480
cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540
gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600
ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660
ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac aggggggagt gt 702

<210> 151
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> #110L12h
<400> 151

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

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

65 70 75 80

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230

<210> 152

<211> 702

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> #110L12h

<400> 152

atggtgctgc agacccaggt gttcatctcc ctgctgctgt ggatctccgg cgcgtacggc 60

gatatccaga tgacacagag ccctagcagc ctgtctgcca gcgtgggaga cagagtgacc 120

atcacctgta gagccagcca gggcatcagc aactacctga actggtatca gcagaagccc 180

ggcaaggccc ctaagcctct gatctactac accagcaacc tgcagagcgg cgtgcccagc 240

agattttctg gctctggcag cggcaccgac ttcaccctga ccatatctag cctgcagcct 300

gaggacttcg ccacctacta ctgccagcag tacgacagca gccccagaac atttggcgga 360

ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacggtg gccgcccccc ccgtgttcat cttccccccc 420

tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtggtgt gcctgctgaa taacttctac 480

cccagagagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtccgg gaactcccag 540

gagagcgtga ccgagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 600

ctgagcaaag ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtgac ccaccagggc 660

ctgagctccc ccgtcaccaa gagcttcaac agggggagt gt 702