(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0013241
(43) 공개일자 2020년02월06일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
C07K 16/2896 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7037757
(22) 출원일자(국제) 2018년05월24일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2019년12월20일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/034446
(87) 국제공개번호 WO 2018/218056
국제공개일자 2018년11월29일
(30) 우선권주장
62/511,178 2017년05월25일 미국(US)
62/599,221 2017년12월15일 미국(US)

(71) 출원인
브리스톨-마이어스 스퀴브 컴퍼니
미국 뉴저지 (우편번호 08540-4000) 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 피.오. 박스 4000
(72) 발명자
얀니우크, 아론, 피.
미국 08543 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
코먼, 앨런, 제이.
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 심미성

전체 청구항 수 : 총 185 항

(54) 발명의 명칭 **변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체**

(57) 요 약

본원에는 비변형 형태의 동일한 항체에 비해 항체의 생물학적 특성을 증진시키는 중쇄 불변 영역 ("변형된 중쇄 불변 영역"으로 지칭됨) 또는 그의 기능적 등가 단편이 제공된다. 예시적인 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 힌지 및 3개의 불변 도메인 (즉, CH1, CH2 및 CH3 도메인)을 포함하고, 여기서 불변 영역 도메인 중 하나 이상은 비-IgG2 이소형 (예를 들어, IgG1, IgG3 또는 IgG4)의 것이다. 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG 도메인 서열 또는 이들 서열의 변이체를 포함할 수 있다. 또한, 본원에는 항체의 비-IgG2 힌지를 IgG2 힌지로 대체하는 것을 포함하는, 비-IgG2 힌지를 포함하는 항체의 특정 생물학적 특성, 예컨대 내재화, 효능작용 및 길항작용을 증진시키는 방법이 제공된다.

(52) CPC특허분류
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/522 (2013.01)
C07K 2317/524 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2317/53 (2013.01)
C07K 2317/55 (2013.01)
C07K 2317/71 (2013.01)
C07K 2317/72 (2013.01)
C07K 2317/75 (2013.01)

(72) 발명자
셀비, 마크, 제이.
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
바른하르트, 브라이언, 씨.
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
론버그, 닐스
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
스리니바산, 모한
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
헤닝, 칼라, 에이.
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
한, 미셸, 민후아
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700
레이, 밍
미국 08543 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
슈바이처, 리앙
미국 08543 뉴저지주 로렌스빌 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드 브리스톨-마이어스 스퀩 컴퍼니
해처, 산드라, 브이.
미국 08543 뉴저지주 프린스톤 루트 206 앤드 프로빈스 라인 로드
라즈팔, 아르빈드
미국 94063 캘리포니아주 레드우드 시티 베이 로드 700

명 세 서

청구범위

청구항 1

변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이며, 여기서 변형된 중쇄 불변 영역은 N-말단에서 C-말단의 순서로 CH1 도메인, 힌지, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하고, 여기서 힌지는 IgG2 이소형의 것이고, CH1, CH2 또는 CH3 도메인 중 적어도 하나는 IgG2 이소형의 것이 아닌 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 힌지가 야생형 인간 IgG2 힌지이거나 또는 야생형 인간 IgG2 힌지의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 힌지가 디술피드 결합 형성을 감소시키는 1개 이상의 변형을 함유하는 것인 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 힌지가 아미노산 치환 C219S를 포함하는 것인 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 힌지가 서열식별번호: 8, 21-23, 126-132 또는 134-147 중 어느 하나의 아미노산 서열 또는 CVE와 CPP 사이에 삽입된 1-3개의 아미노산을 포함하는 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, CH1 도메인이 IgG2 CH1 도메인인 항체.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, CH1 도메인이 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인이거나 또는 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, IgG2 CH1 도메인이 아미노산 서열

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV (서열식별번호: 7)를 포함하는 것인 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 IgG1 CH2 도메인인 항체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인이거나 또는 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하는 1개 이상의 변형을 포함하는 것인 항체.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 포함하는 것인

항체.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 아미노산 서열

PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (서열식별번호: 4)를 포함하는 것인 항체.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, CH3 도메인이 IgG1 CH3 도메인인 항체.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, CH3 도메인이 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인이거나 또는 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, CH3 도메인이 아미노산 서열

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열식별번호: 5)를 포함하는 것인 항체.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, CH3 도메인이 아미노산 치환 E356D 및 M358L을 포함하는 것인 항체.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는 항체.

청구항 19

제18항에 있어서, 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 및 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 갖는 항체.

청구항 20

N-말단에서 C-말단의 순서로 CH1 도메인, 힌지, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이며, 여기서

(a) CH1 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 최대 5개의 아미노산이 상이하거나 서열식별번호: 7에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 C131, R133, E137, S138 또는 R217 중 적어도 하나는 치환되거나 결실되지 않고;

(b) 힌지는 서열식별번호: 8, 21-23, 126-132 또는 134-147 중 어느 하나 또는 CVE와 CPP 사이에 삽입된 1-3개의 아미노산을 포함하는 서열 또는 그와 최대 5개의 아미노산이 상이한 서열을 포함하고, 여기서 힌지는 C219 및 C220 둘 다에서의 치환 또는 결실을 포함하지 않고;

(c) 항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖고;

(d) 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG2 불변 영역 또는 C219S 및/또는 C220S를 포함하는 IgG2 불변 영역이 아닌 것인 항체.

청구항 21

제20항에 있어서, 힌지가 아미노산 서열 ERKXCVECPPCPAP (서열식별번호: 129) 또는 ERKCXVECPPCPAP (서열식별번호: 130)를 포함하고, 여기서 X는 시스테인을 제외한 임의의 아미노산인 항체.

청구항 22

제21항에 있어서, 힌지가 아미노산 서열 ERKSCVECPPCPAP (서열식별번호: 131) 또는 ERKCSVECPPCPAP (서열식별번호: 132)를 포함하는 것인 항체.

청구항 23

제20항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, P233, V234, A235 또는 G237 중 적어도 하나가 결실되거나 또 다른 아미노산 잔기로 치환된 것인 항체.

청구항 24

제23항에 있어서, P233, V234, A235 및 G237이 결실되거나 또 다른 아미노산 잔기로 치환된 것인 항체.

청구항 25

제20항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, 아미노산 잔기 R133, E137, S138 및 R217 중 어느 것도 치환되거나 결실되지 않은 것인 항체.

청구항 26

제24항에 있어서, 아미노산 잔기 C131, R133, E137, S138 및 R217 중 어느 것도 치환되거나 결실되지 않은 것인 항체.

청구항 27

제20항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, N192가 또 다른 아미노산으로 치환된 것인 항체.

청구항 28

제20항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, F193이 또 다른 아미노산으로 치환된 것인 항체.

청구항 29

제20항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 IgG1의 CH2 도메인에 대해 적어도 95% 동일한 CH2 도메인을 포함하는 항체.

청구항 30

제20항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 IgG1의 CH3 도메인에 대해 적어도 95% 동일한 CH3 도메인을 포함하는 항체.

청구항 31

제28항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 및/또는 CH3 도메인이 야생형 IgG1 CH2 및/또는 CH3 도메인이 아니고, 항체가 야생형 IgG1의 이펙터 기능보다 더 강력한 이펙터 기능을 갖는 것인 항체.

청구항 32

제28항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 및/또는 CH3 도메인이 야생형 IgG1 CH2 및/또는 CH3 도메인이 아니고, 항체가 야생형 IgG1의 이펙터 기능보다 덜 강력한 이펙터 기능을 갖는 것인 항체.

청구항 33

제20항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 IgG4의 CH2 도메인에 대해 적어도 95% 동일한 CH2 도메인을 포함하는 항체.

청구항 34

제20항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 IgG4의 CH3 도메인에 대해 적어도 95% 동일한 CH3 도메인을 포함하는 항체.

청구항 35

제20항 내지 제34항 중 어느 한 항에 있어서, 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 갖는 항체.

청구항 36

제35항에 있어서,

(a) CH1 도메인이 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인이고;

(b) 힌지가 서열식별번호: 8, 21-23, 126-132 또는 134-147 중 어느 하나의 서열식별번호의 서열 또는 CVE와 CPP 사이에 삽입된 1-3개의 아미노산을 포함하는 서열을 포함하고;

(c) CH2 도메인이 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인이거나 또는 항체에 증진 또는 감소된 이펙터 기능을 부여하는 변형된 CH2 도메인이고;

(d) CH3 도메인이 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인이거나 또는 항체에 증진 또는 감소된 이펙터 기능을 부여하는 변형된 CH3 도메인인 항체.

청구항 37

제1항 내지 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열 또는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 항체.

청구항 38

변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이며, 여기서 중쇄 불변 영역은 CH1 도메인 및 서열

ASTKGPSVFPLAP**C**S**R**STS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS*NF*GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE**R**K*C*<u>*CVECPPCPAP*</u>*PVAG* (서열식별번호: 133) 또는 서열식별번호: 133과 최대 10개의 아미노산이 상이하거나 서열식별번호: 133에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 힌지를 포함하고, 여기서

C131, R133, E137, S138 및 R217 중 적어도 하나는 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실되지 않고;

C219 및 C220은 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실될 수 있지만, C219 및 C220이 둘 다 치환되거나 결실될 수는 없고;

힌지 내의 CVE와 CPP 사이에 1-3개의 아미노산이 삽입될 수 있고;

힌지는 C-말단에서 추가의 아미노산, 예를 들어 G를 임의로 포함하고;

아미노산 P233, V234, A235 및 G237 중 하나 이상은 또 다른 아미노산 (예를 들어, IgG1로부터의 상응하는 아미노산)으로 치환되거나 결실될 수 있고;

CH2 및 CH3 도메인은 야생형 또는 변형된 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 CH2 및 CH3 도메인일 수 있고;

변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG2 중쇄 불변 영역 또는 C219S 또는 C220S를 갖는 야생형 IgG2 중쇄 불변 도메인이 아니고;

항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는 것인 항체.

청구항 39

제38항에 있어서, 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특

성을 갖는 항체.

청구항 40

제38항 또는 제39항에 있어서, 아미노산 C131; R133; E137; S138; R217 중 어느 것도 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실되지 않은 것인 항체.

청구항 41

제38항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, N192 및/또는 F193이 치환되지 않거나 또는 각각 N192S 및/또는 F193L인 항체.

청구항 42

제38항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, C219가 C219S인 항체.

청구항 43

제38항 내지 제41항 중 어느 한 항에 있어서, C220이 C220S인 항체.

청구항 44

제38항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, P233-G237이 치환되거나 결실된 것인 항체.

청구항 45

제38항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, V234-G237이 치환되거나 결실된 것인 항체.

청구항 46

제38항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, A235-G237이 치환되거나 결실된 것인 항체.

청구항 47

제38항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, G237이 치환되거나 결실된 것인 항체.

청구항 48

제38항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, P233이 치환되거나 결실된 것인 항체.

청구항 49

제38항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, P233-V234가 치환되거나 결실된 것인 항체.

청구항 50

제38항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, P233-A235가 치환되거나 결실된 것인 항체.

청구항 51

제38항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 이펙터 기능을 갖는 항체.

청구항 52

제38항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, 이펙터 기능을 갖지 않는 항체.

청구항 53

제38항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 또는 변형된 IgG1 CH2 도메인을 포함하는 항체.

청구항 54

제38항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 또는 변형된 IgG1 CH3 도메인을 포함하는 항체.

청구항 55

변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이며, 여기서 중쇄 불변 영역은 서열

ASTKGPSVFPLAP**C**S**R**STS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS*NF*GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV**E** (서열식별번호: 7) 또는 서열식별번호: 7과 최대 10개의 아미노산이 상이하거나 서열식별번호: 7에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CH1 도메인을 포함하고, 여기서

C131, R133, E137, S138 및 R217 중 적어도 하나는 치환되거나 결실되지 않고;

변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG2 중쇄 불변 영역 또는 C219S 또는 C220S를 갖는 야생형 IgG2 중쇄 불변 도메인이 아니고;

항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는 것인 항체.

청구항 56

제55항에 있어서, 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 갖는 항체.

청구항 57

제55항 또는 제56항에 있어서, 아미노산 C131; R133; E137 및 S138 어느 것도 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실되지 않은 것인 항체.

청구항 58

제55항 내지 제57항 중 어느 한 항에 있어서, N192 및/또는 F193이 치환되지 않거나 또는 각각 N192S 및/또는 F193L인 항체.

청구항 59

제55항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 이펙터 기능을 갖는 항체.

청구항 60

제55항 내지 제58항 중 어느 한 항에 있어서, 이펙터 기능을 갖지 않는 항체.

청구항 61

제55항 내지 제60항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 또는 변형된 IgG1 CH2 도메인을 포함하는 항체.

청구항 62

제55항 내지 제61항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 또는 변형된 IgG1 CH3 도메인을 포함하는 항체.

청구항 63

변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이며, 여기서 중쇄 불변 영역은 서열

ER**K***CC*VECPPCPAP*PVAG* (서열식별번호: 8) 또는 서열식별번호: 8과 최대 5개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 힌지를 포함하고, 여기서

C219 및 C220은 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실될 수 있지만, C219 및 C220이 둘 다 치환되거나 결실될 수는 없고;

아미노산 P233, V234, A235 및 G237 중 하나 이상은 치환되거나 결실될 수 있고;

힌지 내의 CVE와 CPP 사이에 1-3개의 아미노산이 삽입될 수 있고;

힌지는 C-말단에서 추가의 아미노산, 예를 들어 G를 임의로 포함하고;

CH2 및 CH3 도메인은 야생형 또는 변형된 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 CH2 및 CH3 도메인일 수 있고;

변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG2 중쇄 불변 영역 또는 C219S 또는 C220S를 갖는 야생형 IgG2 중쇄 불변 도메인이 아니고;

항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는 것인 항체.

청구항 64

제63항에 있어서, 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 갖는 항체.

청구항 65

제63항 또는 제64항에 있어서, C219가 C219S인 항체.

청구항 66

제63항 또는 제64항에 있어서, C220이 C220S인 항체.

청구항 67

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, P233-G237이 돌연변이되거나 결실된 것인 항체.

청구항 68

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, V234-G237이 돌연변이되거나 결실된 것인 항체.

청구항 69

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, A235-G237이 돌연변이되거나 결실된 것인 항체.

청구항 70

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, G237이 돌연변이되거나 결실된 것인 항체.

청구항 71

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, P233이 돌연변이되거나 결실된 것인 항체.

청구항 72

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, P233-V234가 돌연변이되거나 결실된 것인 항체.

청구항 73

제63항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, P233-A235가 돌연변이되거나 결실된 것인 항체.

청구항 74

제63항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 이펙터 기능을 갖는 항체.

청구항 75

제63항 내지 제73항 중 어느 한 항에 있어서, 이펙터 기능을 갖지 않는 항체.

청구항 76

제63항 내지 제75항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 또는 변형된 IgG1 CH2 도메인을 포함하는 항체.

청구항 77

제63항 내지 제76항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 또는 변형된 IgG1 CH3 도메인을 포함하는 항체.

청구항 78

변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이며, 여기서 중쇄 불변 영역은 IgG1 또는 IgG2 힌지를 포함하고, 여기서 힌지는 1-7개의 아미노산이 결여되어 있고, 여기서 항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는 것인 항체.

청구항 79

제78항에 있어서, 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 갖는 항체.

청구항 80

제78항 또는 제79항에 있어서, 힌지가 1-4개의 아미노산이 결여되어 있는 IgG2 힌지인 항체.

청구항 81

제80항에 있어서, IgG2 힌지에 아미노산 C219, C220, V222 및 E224가 결여되어 있는 것인 항체.

청구항 82

제78항 또는 제79항에 있어서, 힌지가 아미노산 S219, C220, D221, K222, T223, H224 및 T225가 결여되어 있는 IgG1 힌지인 항체.

청구항 83

제78항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 또는 변형된 IgG2 CH1 도메인을 포함하는 항체.

청구항 84

제78항 내지 제82항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 또는 변형된 IgG1 CH1 도메인을 포함하는 항체.

청구항 85

제78항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, IgG2 CH2 도메인을 포함하는 항체.

청구항 86

제78항 내지 제84항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1 CH2 도메인을 포함하는 항체.

청구항 87

제78항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, IgG2 CH3 도메인을 포함하는 항체.

청구항 88

제78항 내지 제86항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1 CH3 도메인을 포함하는 항체.

청구항 89

제1항 내지 제88항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 또는 인간화 항체 또는 그의 항원 결합 부분인 항체.

청구항 90

제1항 내지 제89항 중 어느 한 항에 있어서, 면역 조절에 관여하는 항원에 특이적으로 결합하는 항체.

청구항 91

제90항에 있어서, 공동자극 수용체의 효능제 또는 억제 수용체의 길항제인 항체.

청구항 92

제91항에 있어서, 공동자극 수용체가 B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB, GITR, OX40, ICOS, CD70, CD27, CD40, DR3 또는 CD28H의 군으로부터 선택되는 것인 항체.

청구항 93

제91항에 있어서, 억제 수용체가 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 및 TIM-4의 군으로부터 선택되는 것인 항체.

청구항 94

제90항에 있어서, 항원이 CD73 또는 CD39인 항체.

청구항 95

공동자극 수용체에 특이적으로 결합하고 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체.

청구항 96

제95항에 있어서, 공동자극 수용체가 GITR, OX40, 4-1BB, CD28, ICOS, CD40L, CD27 또는 임의의 다른 TNFR 슈퍼패밀리 구성원인 항체.

청구항 97

제95항 또는 제96항에 있어서, 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 증진 또는 변경된 효능제 활성을 나타내는 항체.

청구항 98

세포 표면 분자에 특이적으로 결합하고, 세포 표면 분자의 항체 매개된 내재화를 촉발하고, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체.

청구항 99

제98항에 있어서, 세포 표면 분자가 CD73인 항체.

청구항 100

제98항 또는 제99항에 있어서, 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 증진 또는 변경된 내재화 특성을 갖는 항체.

청구항 101

억제 수용체에 특이적으로 결합하고, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체.

청구항 102

제101항에 있어서, 억제 수용체가 CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 및 TIM-4인 항체.

청구항 103

제101항 또는 제102항에 있어서, IgG1 중쇄 불변 영역을 갖는 동일한 항체에 비해 더 강력하거나 변경된 길항제 활성을 나타내거나 새로운 활성을 도입하는 항체.

청구항 104

세포 표면 분자에 특이적으로 결합하고, 세포내 신호전달을 촉발하고, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체.

청구항 105

제104항에 있어서, 세포내 신호전달이 효능제 활성, 길항제 활성, 세포 표면 분자의 내재화 또는 ADCC를 매개하는 것인 항체.

청구항 106

제104항 또는 제105항에 있어서, 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 더 강력한 세포내 신호전달을 촉발하는 항체.

청구항 107

세포 표면 분자에 특이적으로 결합하고, 고분자량 항체-세포 표면 분자 복합체의 형성을 촉발하고, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체.

청구항 108

제107항에 있어서, 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 더 고분자량의 복합체의 형성을 촉발하는 항체.

청구항 109

세포 표면 분자에 특이적으로 결합하고, 세포 표면 분자의 클러스터링 또는 올리고머화를 촉발하고, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체.

청구항 110

제109항에 있어서, 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 세포 표면 분자의 더 많은 클러스터링 또는 올리고머화를 촉발하는 항체.

청구항 111

제2 결합 특이성을 갖는 분자에 연결된 제1항 내지 제110항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 이중특이적 분자.

청구항 112

제2 작용제에 연결된 제1항 내지 제110항 중 어느 한 항의 항체를 포함하는 면역접합체.

청구항 113

제1항 내지 제112항 중 어느 한 항의 항체, 이중특이적 항체 또는 면역접합체 및 담체를 포함하는 조성물.

청구항 114

제44항에 있어서, 1종 이상의 추가의 치료제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 115

제45항에 있어서, 추가의 치료제가 면역계를 자극하는 것인 조성물.

청구항 116

제46항에 있어서, 치료제가 체크포인트 억제제 또는 공동자극 수용체의 길항제인 조성물.

청구항 117

변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 제조하는 방법이며, 여기서 항체는 N-말단에서 C-말단의 순서로 CH1

도메인, 힌지, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하고, 방법은

(a) IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인이 아닌 힌지 및/또는 CH1 도메인을 포함하는 항체를 제공하는 단계;

(b) 힌지 및/또는 CH1 도메인을 각각 IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계

를 포함하는 것인, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 제조하는 방법.

청구항 118

(a) IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인이 아닌 힌지 및/또는 CH1 도메인을 포함하는 항체를 제공하는 단계;

(b) 힌지 및/또는 CH1 도메인을 각각 IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계

를 포함하는, 세포에 의한 항체의 내재화를 증가시키는 방법.

청구항 119

제118항에 있어서, 항체의 내재화가 비-IgG2 이소형의 힌지를 포함하는 동일한 항체, 예를 들어 IgG1 불변 영역을 포함하는 항체의 내재화와 비교하여 증가되는 것인 방법.

청구항 120

(a) IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인이 아닌 힌지 및/또는 CH1 도메인을 포함하는 항체를 제공하는 단계;

(b) 힌지 및/또는 CH1 도메인을 각각 IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계

를 포함하는, 항체의 효능제 활성을 증가시키는 방법.

청구항 121

제120항에 있어서, 효능제 활성이 비-IgG2 이소형의 힌지를 포함하는 동일한 항체, 예를 들어 IgG1 불변 영역을 포함하는 항체의 효능제 활성과 비교하여 증가되는 것인 방법.

청구항 122

제117항 내지 제121항 중 어느 한 항에 있어서, IgG2 힌지가 야생형 인간 IgG2 힌지이거나 또는 야생형 인간 IgG2 힌지의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 123

제117항 내지 제122항 중 어느 한 항에 있어서, CH1, CH2 또는 CH3 도메인 중 적어도 하나를 각각 상이한 이소형의 CH1, CH2 또는 CH3 도메인으로 대체하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 124

제117항 내지 제123항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) CH1 도메인을 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계;

(b) CH2 도메인을 IgG1 CH2 도메인으로 대체하는 단계; 및/또는

(c) CH3 도메인을 IgG1 CH3 도메인으로 대체하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 125

제117항 내지 제124항 중 어느 한 항에 있어서,

(a) CH1 도메인을 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인 또는 그에 대해 적어도 95% 동일한 도메인으로 대체하는 단계;

(b) CH2 도메인을 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인 또는 그에 대해 적어도 95% 동일한 도메인으로 대체하는 단계; 및/또는

(c) CH3 도메인을 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인 또는 그에 대해 적어도 95% 동일한 도메인으로 대체하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 126

제117항 내지 제125항 중 어느 한 항에 있어서,

중쇄 불변 영역을 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나 또는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262에 대해 적어도 95% 동일한 영역을 포함하는 중쇄 불변 영역으로 대체하는 단계를 포함하는 방법.

청구항 127

제117항 내지 제126항 중 어느 한 항에 있어서, 힌지가 디술피드 결합 형성을 감소시키도록 변형되는 것인 방법.

청구항 128

제117항 내지 제127항 중 어느 한 항에 있어서, 힌지가 아미노산 치환 C219S를 포함하는 것인 방법.

청구항 129

제117항 내지 제128항 중 어느 한 항에 있어서, 힌지가 서열식별번호: 8, 21-23, 126-132 또는 134-147 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열 또는 CVE와 CPP 사이에 삽입된 1-3개의 아미노산을 포함하는 서열을 포함하는 것인 방법.

청구항 130

제117항 내지 제129항 중 어느 한 항에 있어서, CH1 도메인이 아미노산 서열

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV (서열식별번호: 7)를 포함하는 것인 방법.

청구항 131

제117항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하도록 변형되는 것인 방법.

청구항 132

제117항 내지 제131항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 포함하는 것인 방법.

청구항 133

제117항 내지 제132항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 아미노산 서열

PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (서열식별번호: 4)를 포함하는 것인 방법.

청구항 134

제117항 내지 제133항 중 어느 한 항에 있어서, CH2 도메인이 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 포함하는 것인 방법.

청구항 135

제117항 내지 제134항 중 어느 한 항에 있어서, CH3 도메인이 아미노산 서열

GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열식별번호: 5)를 포함하는 것인 방법.

청구항 136

제117항 내지 제135항 중 어느 한 항의 방법에 의해 생산된 항체 또는 그의 항원 결합 부분.

청구항 137

제136항에 있어서, 인간 또는 인간화 항체인 항체 또는 그의 항원 결합 부분.

청구항 138

제1항 내지 제110항 중 어느 한 항의 항체 또는 그의 항원 결합 부분을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체를 치료하는 방법.

청구항 139

제138항에 있어서, 1종 이상의 추가의 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 140

제139항에 있어서, 치료제가 면역계를 자극하는 것인 방법.

청구항 141

제140항에 있어서, 치료제가 체크포인트 억제제 또는 공동-자극 분자인 방법.

청구항 142

제111항 내지 제116항 중 어느 한 항의 조성물, 이중특이적 분자 또는 면역접합체를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체를 치료하는 방법.

청구항 143

위치 238에서의 아미노산이 P가 아닌 인간 IgG 중쇄 불변 도메인을 포함하는 변형된 중쇄 불변 도메인을 포함하는 항체 (또는 그의 항원 결합 단편)이며, 변형된 중쇄 불변 도메인은 위치 238에서의 아미노산이 프롤린인 동일한 IgG 중쇄 불변 도메인에 비해 감소된 이펙터 기능을 갖는 것인 항체 (또는 그의 항원 결합 단편).

청구항 144

제143항에 있어서, IgG 중쇄 불변 도메인이 인간 IgG1 중쇄 불변 도메인인 항체.

청구항 145

제143항 또는 제144항에 있어서, 위치 238에서의 아미노산이 K인 항체.

청구항 146

제143항 내지 제145항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 영역이 서열식별번호: 198에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 P238은 P가 아니고 (또는 P도 아니고 S도 아님), 예를 들어 P238K인 항체.

청구항 147

제146항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 영역이 서열식별번호: 198에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 P238은 P가 아니고 (또는 P도 아니고 S도 아님), 예를 들어 P238K인 항체.

청구항 148

제147항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 영역이 서열식별번호: 198에 대해 적어도 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 P238은 P가 아니고 (또는 P도 아니고 S도 아님), 예를 들어 P238K인 항체.

청구항 149

제143항 내지 제148항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 영역이 미국 특허 번호 5,637,481 (이의 내용은 구체적으로 본원에 참조로 포함됨)에 개시된 비 P238 아미노산 변형, 예를 들어 C220S, C226S 및 C229S 중

하나 이상을 포함하지 않는 것인 항체.

청구항 150

제143항 내지 제149항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 영역이 서열식별번호: 198로 이루어진 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 151

제143항 내지 제150항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 영역에 연결된 항체의 항원 결합 단편 (예를 들어, Dab 또는 scFv)인 항체.

청구항 152

제143항 내지 제150항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 도메인에 연결된 중쇄 가변 도메인 및 경쇄 불변 도메인에 연결된 경쇄 가변 도메인을 포함하는 항체.

청구항 153

제143항 내지 제152항 중 어느 한 항에 있어서, 전장 항체 (중쇄 및 경쇄가 각각 전장 중쇄 및 경쇄임)인 항체.

청구항 154

제143항 내지 제153항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 도메인이 이펙터 기능을 감소시키는 1개 이상의 다른 돌연변이를 포함하지 않는 것인 항체.

청구항 155

제154항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 도메인이 이펙터 기능을 감소시키는 본원에 개시된 1개 이상의 다른 돌연변이를 포함하지 않는 것인 항체.

청구항 156

제143항 내지 제153항 중 어느 한 항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 도메인이 이펙터 기능을 감소시키는 1-3개의 다른 돌연변이를 포함하는 것인 항체.

청구항 157

제156항에 있어서, 변형된 중쇄 불변 도메인이 이펙터 기능을 감소시키는 본원에 개시된 1-3개의 다른 돌연변이를 포함하는 것인 항체.

청구항 158

제143항 내지 제157항 중 어느 한 항에 있어서, 항체의 이펙터 기능이 IgG2 항체의 이펙터 기능과 거의 동일한 것인 항체.

청구항 159

제143항 내지 제158항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 IgG1을 갖는 항체에 비해 저친화도 FcɣR에 대한 더 낮은 결합 친화도를 갖는 항체.

청구항 160

제159항에 있어서, 저친화도 FcɣR에 대한 검출가능한 결합을 갖지 않는 항체.

청구항 161

제159항 또는 제160항에 있어서, 저친화도 FcɣR이 hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158 및 hCD16b-NA2인 항체.

청구항 162

제161항에 있어서, (예를 들어, 10 μM 항체 농도에서) 저친화도 FcγR hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158 또는 hCD16b-NA2에 대한 검출가능한 결합을 갖지 않는 항체.

청구항 163

제143항 내지 제162항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 IgG1 불변 영역을 갖는 항체에 비해 더 신속한 오프-레이트 (해리 속도)로 고친화도 FcgR CD64 (hFcgRI)에 결합하는 항체.

청구항 164

제143항 내지 제163항 중 어느 한 항에 있어서, 저친화도 FcγR hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158 또는 hCD16b-NA2에 대한 검출가능한 결합을 갖지 않고 (예를 들어, 10 μM 항체 농도에서), 야생형 불변 영역을 갖는 항체에 비해 더 신속한 오프-레이트를 갖는 항체.

청구항 165

제159항 내지 제164항 중 어느 한 항에 있어서, FcγR에 대한 결합 친화도 및 오프-레이트가 비아코어에 의해 결정되는 것인 항체.

청구항 166

제143항 내지 제165항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 IgG1 불변 영역을 갖는 항체에 비해 우수한 열 안정성을 갖는 항체.

청구항 167

제143항 내지 제166항 중 어느 한 항에 있어서, 야생형 IgG1 불변 영역을 갖는 항체에 비해 감소된 불균질성을 갖는 항체.

청구항 168

돌연변이 L234A, L235E 및 G337A를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함하지만, 이펙터 기능을 감소시키는 A330 및/또는 P331에서의 돌연변이를 함유하지 않는 (예를 들어, A330S 및/또는 P331S를 포함하지 않는) 항체이며, 여기서 항체는 이들 돌연변이가 없는 동일한 항체에 비해 감소된 이펙터 기능 (감소된 ADCC 및 임의로 감소된 CDC)을 갖는 것인 항체.

청구항 169

제168항에 있어서, 면역 세포, 예를 들어 T 세포 상의 억제 수용체에 결합하는 항체.

청구항 170

제168항 또는 제169항에 있어서, 이들 돌연변이가 없는 동일한 항체에 비해 감소된 친화도로 FcγR hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158, hCD16b-NA2 및 hCD64에 결합하는 항체.

청구항 171

제168항 내지 제170항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 서열식별번호: 234 또는 248에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 172

제168항 내지 제171항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 또는 1개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 아미노산 치환)을 포함한 서열식별번호: 234 또는 248의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 아미노산 치환은 1개 이상의 FcγR에 대한 결합을 유의하게 증가시키지 않는 것인 항체.

청구항 173

제168항 내지 제172항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 C-말단 리신을 포함하거나 제외한 서열식별번호: 234 또는 248의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 174

제168항 내지 제172항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 C-말단 리신을 포함하거나 제외한 서열식별번호: 236, 249, 252, 253, 259 또는 260의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 175

제168항 내지 제174항 중 어느 한 항에 있어서, C-말단 리신을 갖거나 갖지 않는 전장 항체인 (또는 전장 중쇄 및 전장 경쇄를 포함하는) 항체.

청구항 176

제168항 내지 제175항 중 어느 한 항에 있어서, 체크포인트 억제제의 길항제 또는 체크포인트 자극제의 효능제인 항체.

청구항 177

제168항 내지 제176항 중 어느 한 항에 있어서, WO 2018/013818에 개시된 항체가 아닌 항체.

청구항 178

제168항 내지 제177항 중 어느 한 항에 있어서, 인간 TIM3에 결합하지 않는 항체.

청구항 179

돌연변이 L234A, L235E 및 G337A를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함하지만, 이펙터 기능을 감소시키는 A330 및/또는 P331에서의 돌연변이를 함유하지 않는 (예를 들어, A330S 및/또는 P331S를 포함하지 않는) 융합 단백질이며, 여기서 항체는 이들 돌연변이가 없는 동일한 항체에 비해 감소된 이펙터 기능 (감소된 ADCC 및 임의로 감소된 CDC)을 갖는 것인 융합 단백질.

청구항 180

제179항에 있어서, 이들 돌연변이가 없는 동일한 항체에 비해 감소된 친화도로 FcɣR hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158, hCD16b-NA2 및 hCD64에 결합하는 융합 단백질.

청구항 181

제179항 또는 제180항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 서열식별번호: 234 또는 248에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 182

제179항 내지 제181항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 1-5, 1-4, 1-3, 1-2 또는 1개의 아미노산 치환 (예를 들어, 보존적 아미노산 치환)을 포함한 서열식별번호: 234 또는 248의 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 아미노산 치환은 1개 이상의 FcɣR에 대한 결합을 유의하게 증가시키지 않는 것인 융합 단백질.

청구항 183

제179항 내지 제182항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 C-말단 리신을 포함하거나 제외한 서열식별번호: 234 또는 248의 아미노산 서열을 포함하는 것인 융합 단백질.

청구항 184

제179항 내지 제183항 중 어느 한 항에 있어서, 중쇄 불변 영역이 C-말단 리신을 포함하거나 제외한 서열식별번호: 236, 249, 252, 253, 259 또는 260의 아미노산 서열을 포함하는 것인 항체.

청구항 185

서열 표에 제시된 아미노산 서열 또는 그에 대해 적어도 95% 동일한 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 미국 가출원 번호 62/511,178 (2017년 5월 25일에 출원됨) 및 62/599,221 (2017년 12월 15일에 출원됨)을 우선권 주장한다. 본 명세서 전체에 걸쳐 언급된 임의의 특허, 특허 출원 및 참고문헌의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배 경 기 술

[0003] 항체 치료제는 질환, 예컨대 암 및 면역 장애의 치료에서 가장 급속히 성장하는 영역 중 하나이다. 그럼에도 불구하고, 치료 항체에 의해 항원을 효율적으로 표적화하는 것은 건강 관리에서 주요 도전과제로 남아있다. 따라서, 항체 조작은 제약 분야에서 주요 초점이 되어왔다. 이러한 초점으로부터, 무수한 새로운 조작된 항체, 예컨대 항체 단편, 항체 약물 접합체 (ADC), 변형된 이펙터 영역을 갖는 항체 및 이중특이적 항체가 출현하였다.

[0004] 항체는 많은 상이한 메카니즘을 통해 그의 치료 특성을 용이하게 한다. 항체는 표적 항원을 직접적으로 억제하거나 활성화시켜, 세포 신호전달을 조절할 수 있다. 항체는 리간드가 수용체에 결합하는 것을 억제할 수 있다. 항체는 또한, 예를 들어 감염 또는 암에 대항하기 위해 대상체의 면역계를 부스팅함으로써 (예를 들어 T 세포의 활성화에서 공동자극제로서) 면역 반응을 유도 또는 억제할 수 있다.

[0005] 추가로, 세포 표면 수용체/항원의 항체-매개된 내재화가 치료 항체에 대한 주요 작용 메카니즘으로서 인식된다. 이 경우에, 항체는 세포 표면으로부터 표적을 제거하고 세포 내로 내재화를 유도함으로써 그의 기능을 수행한다. 실제로, 항체 치료제의 선구자 중 하나는 유방암의 치료를 위한 트라스투주맙이다. 트라스투주맙은 ErbB2 수용체를 표적화하고 수용체/항체 내재화를 유도하여, EGFR 신호전달을 억제한다. 그러나, 항체가 항상 효율적인 내재화 품질을 나타내지는 않으므로, 개선된 내재화 기능을 갖는 항체에 대한 필요가 계속 존재한다. 따라서, 공지된 치료 항체의 내재화를 개선시키는 방법이 고도로 요망된다.

발명의 내용

[0006] 본 발명은 비변형 형태의 동일한 항체에 비해 항체의 생물학적 특성을 증진시키거나 변형시키는 중쇄 불변 영역 ("변형된 중쇄 불변 영역"으로 지칭됨) 또는 그의 기능적 등가 단편을 제공한다. 예를 들어, 변형된 불변 영역을 포함하는 항체는 증가된 내재화 및/또는 효능작용 또는 길항작용 활성을 나타낸다. 따라서, 본 발명의 항체는 원래의 비변형된 항체의 최적화된 버전이다. 특정 실시양태에서, 중쇄는 야생형 중쇄 불변 영역에 비해 1개 이상의 돌연변이 또는 변형을 포함하는 변형된 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 힌지 및 3개의 불변 도메인 (즉, CH1, CH2 및 CH3 도메인)을 포함하고, 여기서 불변 영역 도메인 중 하나 이상은 비-IgG2 인간 이소형 (예를 들어, IgG1, IgG3 또는 IgG4) 또는 그의 기능적 등가 단편이다. 변형된 불변 영역은 상응하는 야생형 아미노산 서열 또는 그의 변이체, 예를 들어 야생형 아미노산 서열에 비해 힌지 또는 CH1, CH2, CH3 도메인 내 1개 이상 (예를 들어, 1 내지 10개 또는 그 초과)의 아미노산 치환 또는 결실을 포함할 수 있다. 따라서, 힌지 및/또는 각각의 불변 도메인의 아미노산 서열은 상응하는 야생형 아미노산 서열에 대해 적어도 약 80%, 85%, 90%, 95% 또는 그 초과 (즉, 96%, 97%, 98%, 99% 또는 100%) 동일하다.

[0007] 한 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 인간 IgG2 힌지, 또는 야생형 인간 IgG2 힌지의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 힌지는 추가의 변형을 추가로 함유하여, 예를 들어 디술피드 결합 형성을 감소시킬 수 있다. 한 실시양태에서, 힌지는 야생형 인간 IgG2 힌지에 비해 아미노산 치환 C219S를 포함한다. 특정 실시양태에서, 힌지는 서열식별번호(SEQ ID NO): 8, 21-23, 126-132 및 134-147 중 임의의 것에 제시된 아미노산 서열 또는 CVE와 CPP 사이에 삽입된 1-3개의 아미노산을 포함하는 이들 서열 중 하나를 포함한다.

[0008] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 CH1 도메인, 예를 들어 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인, 또는 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인의 아미노산 서열 (서열식별번호: 7)에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0009] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG1 CH2 도메인, 예를 들어 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인, 또는

야생형 인간 IgG1 CH2 도메인의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. CH2 도메인은 추가의 변형 (예를 들어, 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하기 위함)을 함유할 수 있다. 특정 실시양태에서, CH2 도메인은 야생형 전장 인간 IgG1 CH2에 비해 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 포함한다. 특정 실시양태에서, CH2 도메인은 서열식별번호: 24를 포함한다.

[0010] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG1 CH3 도메인, 예를 들어 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인, 또는 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. CH3 도메인은 특정한 동종이형을 부여하기 위한 추가의 변형을 추가로 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, CH3 도메인은 상이한 동종이형 (예를 들어, 해당 위치에서 각각 D 및 L을 갖는 "fa" 동종이형)의 야생형 전장 인간 IgG1에 비해, 위치 356에서의 아미노산 잔기 E 및 위치 358에서의 아미노산 M ("f" 동종이형)을 함유한다. 특정 실시양태에서, CH3 도메인은 서열식별번호: 5를 포함한다.

[0011] 특정한 실시양태에서, 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하며, 여기서 (a) CH1 도메인은 추가의 변형을 갖거나 갖지 않는 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인 또는 야생형 IgG1 CH1 도메인이고, (b) 힌지는 C219S 치환을 갖거나 갖지 않는 야생형 IgG2 힌지이고, (c) CH2 도메인은 추가의 변형을 갖거나 갖지 않는 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인 또는 야생형 IgG2 CH2 도메인이고, (d) CH3 도메인은 위치 356에서의 아미노산 E 및 위치 358에서의 아미노산 M을 갖거나 갖지 않는 (예를 들어, 동종이형 f 또는 fa의) 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인 또는 야생형 인간 IgG2 CH3 도메인이다. 구체적 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은, 예를 들어 서열식별번호: 26-37 및 78-93 중 어느 하나에 제시된 본원에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0012] 본 발명의 항체 (즉, 변형된 불변 영역을 갖는 항체)는 완전 인간 항체 또는 인간화 항체일 수 있고, 변형된 중쇄 불변 영역을 갖지 않는 동일한 항체와 비교하여 하나 이상의 증진 또는 변경된 특색을 추가로 나타낼 수 있다. 이들 특색은 세포에 의한 증가 또는 변경된 내재화, 효능작용 활성, 큰 가교된 복합체의 형성, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 및 항종양 활성; 또는 새로운 특성, 예를 들어 효능제 활성의 도입을 포함할 수 있다.

[0013] 또한, 본 발명의 변형된 불변 영역을 함유하는 이중특이적 분자 및 면역접합체, 뿐만 아니라 항체, 이중특이적 항체 또는 면역접합체 및 허용되는 제약 담체를 함유하는 조성물이 제공된다. 이러한 조성물은 또한 1종 이상의 추가의 치료제, 예를 들어 면역계를 자극하는 작용제, 예컨대 체크포인트 억제제, 공동-자극 분자, 항-CD39 항체 또는 항-A2AR 항체를 포함할 수 있다.

[0014] 또한, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 제조하는 방법이 제공된다. 본원에 제공된 특정 방법은 세포에 의한 항체의 내재화를 증가시키는 방법, 및 비-IgG2 이소형의 힌지를 포함하는 동일한 항체와 비교하여 항체의 효능제 활성을 증가시키는 방법을 포함한다. 이러한 방법은 IgG2 힌지가 아닌 힌지를 갖는 항체를 제공하는 단계, 및 힌지를 IgG2 힌지 (예컨대 야생형 인간 IgG2 힌지, 야생형 인간 IgG2 힌지의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 힌지, 또는 디술피드 결합 형성을 감소시키도록 변형된 힌지, 예를 들어 아미노산 치환 C219S를 포함하는 힌지인 힌지)로 대체하는 단계를 포함한다. 한 실시양태에서, 항체의 내재화는 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진 또는 증가되어, $T_{1/2}$를 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 감소시킨다. 특정 실시양태에서, 효능제 활성은 이펙터 T 세포에서 증가된 시토카인 방출 또는 증가된 증식; Treg 상의 결속이 Treg 기능을 감소시키는 경우 감소된 T 조절 세포 활성; 또는 Treg의 증가된 고갈에 의해 정의되는 바와 같이, 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증가 또는 증진된다.

[0015] 특정 실시양태에서, 방법은 CH1, CH2 또는 CH3 도메인 중 적어도 하나를 상이한 이소형의 CH1, CH2 또는 CH3 도메인으로 대체하는 단계를 추가로 포함한다. 이러한 대체는, 예를 들어 (a) CH1 도메인을 IgG1 CH1 도메인 또는 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계; (b) CH2 도메인을 IgG1 CH2 도메인 또는 IgG2 CH2 도메인으로 대체하는 단계; 및/또는 (b) CH3 도메인을 IgG1 CH3 도메인 또는 IgG2 CH3 도메인으로 대체하는 단계를 포함하고, 여기서 대체 도메인은 야생형 서열을 갖거나 또는 야생형 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는다. 특정 실시양태에서, CH1 도메인은 서열식별번호: 7에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, CH2 도메인은 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하도록 변형되고, 예를 들어 CH2 도메인은 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 포함한다 (서열식별번호: 24). 특정 실시양태에서, CH3 도메인은 위치 356에서의 아미노산 잔기 E 및 위치 358에서의 아미노산 M (서열식별번호: 5, 동종이형 "f")을 포함하고, 특정 실시양태에서, CH3 도메인은 동종이형 "fa"를 포함한다.

[0016] 본원에 제공된 방법은 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체, 이중특이적 분자 또는 면역접합체를 투여함으로

써 대상체를 치료하는 방법을 포함한다. 1종 이상의 추가의 치료제, 예를 들어 면역계를 자극하는 치료제, 예컨대 체크포인트 억제제, 공동-자극 분자가 또한 공-투여될 수 있다.

[0017] N-말단에서 C-말단의 순서로 CH1 도메인, 힌지, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이며, 여기서 (a) CH1 도메인은 서열식별번호: 7의 아미노산 서열 또는 그와 최대 5개의 아미노산이 상이하거나 서열식별번호: 7에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 C131, R133, E137, S138 또는 R217 중 적어도 하나는 치환되거나 결실되지 않고; (b) 힌지는 서열식별번호: 8, 21-23, 126-132 또는 134-147 중 어느 하나 또는 CVE와 CPP 사이에 삽입된 1-3개의 아미노산을 포함하는 서열 또는 그와 최대 5개의 아미노산이 상이한 서열을 포함하고, 여기서 힌지는 C219 및 C220 둘 다에서의 치환 또는 결실을 포함하지 않고; (c) 항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖고; (d) 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG2 불변 영역 또는 C219S 및/또는 C220S를 포함하는 IgG2 불변 영역이 아닌 것인 항체가 본원에 제공된다. 힌지는 아미노산 서열 ERKXCVECPPCPAP (서열식별번호: 129) 또는 ERKCXVECPPCPAP (서열식별번호: 130)를 포함할 수 있고, 여기서 X는 시스테인을 제외한 임의의 아미노산이다. 예를 들어, 힌지는 아미노산 서열 ERKSCVECPPCPAP (서열식별번호: 131) 또는 ERKCSVECPPCPAP (서열식별번호: 132)를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 아미노산 잔기 P233, V234, A235 및 G237 중 적어도 하나 또는 모두가 결실되거나 또 다른 아미노산 잔기, 예를 들어 IgG1 힌지 내의 상응하는 아미노산으로 치환된다. 특정 실시양태에서, 아미노산 잔기 R133, E137, S138 및 R217 중 어느 것도 및 C131, R133, E137, S138 및 R217 중 어느 것도 치환되거나 결실되지 않는다. 특정 실시양태에서, N192 및/또는 F193은 또 다른 아미노산으로 치환된다. 항체는 야생형 IgG1의 CH2 도메인에 대해 적어도 95% 동일한 CH2 도메인을 포함할 수 있다. 항체는 야생형 IgG1에 대해 적어도 95% 동일한 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, CH2 및/또는 CH3 도메인은 야생형 IgG1 CH2 및/또는 CH3 도메인이 아니고, 항체는 야생형 IgG1의 이펙터 기능보다 더 강력한 이펙터 기능을 갖는다. 특정 실시양태에서, CH2 및/또는 CH3 도메인은 야생형 IgG1 CH2 및/또는 CH3 도메인이 아니고, 항체는 야생형 IgG1의 이펙터 기능보다 덜 강력한 이펙터 기능을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항체는 야생형 IgG1 또는 IgG4의 CH2 도메인 및/또는 CH1 도메인에 대해 적어도 95% 동일한 CH2 도메인 및/또는 CH1 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 갖는다.

[0018] 특정 실시양태에서, 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하고, 여기서 (a) CH1 도메인은 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인이고; (b) 힌지는 서열식별번호: 8, 21-23, 126-132 또는 134-147 중 어느 하나의 서열식별번호의 서열 또는 CVE와 CPP 사이에 삽입된 1-3개의 아미노산을 포함하는 서열을 포함하고; (c) CH2 도메인은 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인이거나 또는 항체에 증진 또는 감소된 이펙터 기능을 부여하는 변형된 CH2 도메인이고; (d) CH3 도메인은 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인이거나 또는 항체에 증진 또는 감소된 이펙터 기능을 부여하는 변형된 CH3 도메인이다. 변형된 중쇄 불변 도메인은 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열, 또는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 하나 이상에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 이들 서열 중 임의의 것에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 갖는 Fc를 포함하는 중쇄의 경우, 이들 서열 내의 생물학적 활성을 조정하도록 이루어진 특정 아미노산 돌연변이는 변경되지 않는 것이 바람직하다.

[0019] 특정 실시양태에서, 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 불변 영역은 CH1 도메인 및 서열

[0020] ASTKGPSVFPLAP**C**S**R**STS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS*NF*GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE**R**K*C*<u>*CVECPPCPAP*</u>*PVAG* (서열식별번호: 133) 또는 서열식별번호: 133과 최대 10개 아미노산이 상이하거나 서열식별번호: 133에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 힌지를 포함하고, 여기서 (i) C131, R133, E137, S138 및 R217 중 적어도 하나는 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실되지 않고; (ii) C219 및 C220은 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실될 수 있지만, C219 및 C220이 둘 다 치환되거나 결실될 수는 없고; (iii) 힌지 내의 CVE와 CPP 사이에 1-3개의 아미노산이 삽입될 수 있고; (iv) 힌지는 C-말단에서 추가의 아미노산, 예를 들어 G를 임의로 포함하고; (v) 아미노산 P233, V234, A235 및 G237 중 하나 이상은 또 다른 아미노산 (예를 들어, IgG1로부터의 상응하는 아미노산)으로 치환되거나 결실될 수 있고; (vi) CH2 및 CH3 도메인은 야생형 또는 변형된 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 CH2 및 CH3 도메인일 수 있고; (vii) 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG2 중쇄 불변 영역 또는 C219S 또는 C220S를 갖는 야생형 IgG2 중쇄 불변 도메인이 아니고; (viii) 항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는다. 특정 실시양태에서, 항체는 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된

신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 갖는다. 특정 실시양태에서, 아미노산 C131; R133; E137; S138; R217 중 어느 것도 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실되지 않는다. 특정 실시양태에서, N192 및/또는 F193은 치환되지 않거나, 또는 각각 N192S 및/또는 F193L이다. 특정 실시양태에서, C219는 C219S이고, C220은 C220S이고, P233-G237은 치환 또는 결실되거나; V234-G237은 치환 또는 결실되거나; A235-G237은 치환 또는 결실되거나; G237은 치환 또는 결실되거나; P233은 치환 또는 결실되거나; P233-V234는 치환 또는 결실되거나; 또는 P233-A235는 치환되거나 결실된다. 항체는 이펙터 기능을 가질 수 있거나, 또는 이펙터 기능이 박탈될 수 있다. 항체는 야생형 또는 변형된 IgG1 CH2 도메인 및/또는 야생형 또는 변형된 IgG1 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

[0021] 특정 실시양태에서, 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 불변 영역은 서열

[0022] ASTKGPSVFPLAP**C**S**R**STS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS*NF*GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE (서열식별번호: 7) 또는 서열식별번호: 7과 최대 10개의 아미노산이 상이하거나 서열식별번호: 7에 대해 적어도 90% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 CH1 도메인을 포함하고, 여기서 (i) C131, R133, E137, S138 및 R217 중 적어도 하나는 치환되거나 결실되지 않고; (ii) 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG2 중쇄 불변 영역 또는 C219S 또는 C220S를 갖는 야생형 IgG2 중쇄 불변 도메인이 아니고; (iii) 항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는다. 항체는 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, 아미노산 C131; R133; E137 및 S138 중 어느 것도 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실되지 않는다. 특정 실시양태에서, N192 및/또는 F193은 치환되지 않거나, 또는 각각 N192S 및/또는 F193L이다. 항체는 이펙터 기능을 가질 수 있거나, 또는 이펙터 기능이 박탈될 수 있다. 항체는 야생형 또는 변형된 IgG1 CH2 도메인 및/또는 야생형 또는 변형된 IgG1 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

[0023] 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함할 수 있고, 여기서 중쇄 불변 영역은 서열

[0024] E**R**K*CC*VECPPCPAP*PVAG* (서열식별번호: 8) 또는 서열식별번호: 8과 최대 5개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 힌지를 포함하고, 여기서 (i) C219 및 C220은 또 다른 아미노산으로 치환되거나 결실될 수 있지만, C219 및 C220이 둘 다 치환되거나 결실될 수는 없고; (ii) 아미노산 P233, V234, A235 및 G237 중 하나 이상은 치환되거나 결실될 수 있고; (iii) 힌지 내의 CVE와 CPP 사이에 1-3개의 아미노산이 삽입될 수 있고; (iv) 힌지는 C-말단에서 추가의 아미노산, 예를 들어 G를 임의로 포함하고; (v) CH2 및 CH3 도메인은 야생형 또는 변형된 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 CH2 및 CH3 도메인일 수 있고; (vi) 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG2 중쇄 불변 영역 또는 C219S 또는 C220S를 갖는 야생형 IgG2 중쇄 불변 도메인이 아니고; (vii) 항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는다. 항체는 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 가질 수 있다. 특정 실시양태에서, C219는 C219S이고, C220은 C220S이고, P233-G237은 치환 또는 결실되거나; V234-G237은 치환 또는 결실되거나; A235-G237은 치환 또는 결실되거나; G237은 치환 또는 결실되거나; P233은 치환 또는 결실되거나; P233-V234는 치환 또는 결실되거나; 또는 P233-A235는 치환되거나 결실된다. 항체는 이펙터 기능을 가질 수 있거나, 또는 이펙터 기능이 박탈될 수 있다. 항체는 야생형 또는 변형된 IgG1 CH2 도메인 및/또는 야생형 또는 변형된 IgG1 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

[0025] 또한, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이며, 여기서 중쇄 불변 영역은 IgG1 또는 IgG2 힌지를 포함하고, 힌지는 1-7개의 아미노산이 결여되어 있고, 항체는 IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 동일한 항체에 비해 적어도 하나의 증진된 특성 또는 새로운 도입된 특성을 갖는 것인 항체가 제공된다. 항체는 효능제 활성, 항체 매개된 수용체 내재화, ADCC, 수용체 매개된 신호전달, 길항제 활성, 면역-조정 활성 또는 항종양 활성으로부터 선택된 적어도 하나의 증진된 특성; 또는 효능제 활성인 새로 도입된 특성을 가질 수 있다. 힌지는 1-4개의 아미노산, 예를 들어 아미노산 C219, C220, V222 및 E224가 결여되어 있는 IgG2 힌지일 수 있다. 힌지는 아미노산 S219, C220, D221, K222, T223, H224 및 T225가 결여되어 있는 IgG1 힌지이다. 항체는 야생형 또는 변형된 IgG2 CH1 도메인; 야생형 또는 변형된 IgG1 CH1 도메인; 및 IgG1, IgG2 또는 IgG4 CH2 도메인 및 IgG1, IgG2 또는 IgG4 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

[0026] 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 항체는 인간 또는 인간화 항체 또는 그의 항원 결합 부분일 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 면역 조절에 관여하는 항원에 특이적으로 결합한다. 항체는 공동자극 수용체의 효능제 또는

억제 수용체의 길항제일 수 있다. 예를 들어, 항체는, 예를 들어 B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB, GITR, OX40, ICOS, CD70, CD27, CD40, DR3 또는 CD28H의 군으로부터 선택된 공동자극 수용체에 결합할 수 있거나, 또는 항체는, 예를 들어 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 및 TIM-4의 군으로부터 선택된 억제 수용체에 결합할 수 있다. 항원은 내재화되도록 요구되는 항원, 예를 들어 CD73일 수 있다. 항원은 CD39일 수 있다.

[0027] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 공동자극 수용체, 예를 들어 GITR, OX40, 4-1BB, CD28, ICOS, CD40, CD27 또는 임의의 다른 TNFR 슈퍼패밀리 구성원에 특이적으로 결합하고, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 증진 또는 변경된 효능제 활성을 나타낸다.

[0028] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 세포 표면 분자, 예를 들어 CD73에 특이적으로 결합하고, 세포 표면 분자의 항체 매개된 내재화를 촉발하고, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125 및 152-232의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 증진 또는 변경된 내재화 특성을 보유한다. 항-CD73 항체는 또한 서열식별번호: 234-245 및 247-262로 이루어진 군으로부터 선택된 임의의 아미노산 서열을 갖는 Fc에 연결될 수 있다.

[0029] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 억제 수용체, 예를 들어 CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 및 TIM-4에 특이적으로 결합하고, 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 IgG1 중쇄 불변 영역을 갖는 동일한 항체에 비해 더 강력하거나 변경된 길항제 활성을 나타내거나 새로운 활성을 도입한다. 특정 실시양태에서, Fc는 이펙터 기능을 조정, 예를 들어 감소시키는 1개 이상의 돌연변이를 포함한다.

[0030] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 세포 표면 분자에 특이적으로 결합하고, 세포내 신호전달을 촉발하며, 여기서 항체는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 세포내 신호전달은 효능제 활성, 길항제 활성, 세포 표면 분자의 내재화 또는 ADCC를 매개한다. 특정 실시양태에서, 항체는 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 더 강력한 세포내 신호전달을 촉발한다.

[0031] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 세포 표면 분자에 특이적으로 결합하고, 고분자량 항체-세포 표면 분자 복합체의 형성을 촉발하며, 여기서 항체는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 더 고분자량의 복합체의 형성을 촉발한다.

[0032] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 세포 표면 분자에 특이적으로 결합하고, 세포 표면 분자의 클러스터링 또는 올리고머화를 촉발하며, 여기서 항체는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262의 군으로부터 선택된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체는 동일한 가변 영역 및 경쇄를 갖지만 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 비해 세포 표면 분자의 더 많은 클러스터링 또는 올리고머화를 촉발한다.

[0033] 또한, 제2 결합 특이성을 갖는 분자에 연결된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 포함하는 이중특이적 분자가 본원에 제공된다. 또한, 제2 작용제에 연결된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 포함하는 면역접합체가 본원에 제공된다. 또한, 본원에 기재된 항체, 이중특이적 항체 또는 면역접합체 및 담체를 포함하는 조성물이 제공된다. 조성물은 1종 이상의 추가의 치료제를 포함할 수 있고, 예를 들어 치료제는 면역계를 자극하고, 예를 들어 체크포인트 억제제 또는 공동-자극 수용체의 길항제이다.

[0034] 또한, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 제조하는 방법이며, 여기서 항체는 N-말단에서 C-말단의 순서로 CH1 도메인, 힌지, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하고, 방법은 (a) IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인이 아닌 힌지 및/또는 CH1 도메인을 포함하는 항체를 제공하는 단계; 및 (b) 힌지 및/또는 CH1 도메인을 각각 IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계를 포함하는 것인, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를

제조하는 방법이 본원에 제공된다. 추가로, (a) IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인이 아닌 힌지 및/또는 CH1 도메인을 포함하는 항체를 제공하는 단계; 및 (b) 힌지 및/또는 CH1 도메인을 각각 IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계를 포함하는, 세포에 의한 항체의 내재화를 증가시키는 방법이 본원에 제공된다. 항체의 내재화는 비-IgG2 이소형의 힌지를 포함하는 동일한 항체, 예를 들어 IgG1 불변 영역을 포함하는 항체의 내재화와 비교하여 증가될 수 있다. 또한, (a) IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인이 아닌 힌지 및/또는 CH1 도메인을 포함하는 항체를 제공하는 단계; 및 (b) 힌지 및/또는 CH1 도메인을 각각 IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계를 포함하는, 항체의 효능제 활성을 증가시키는 방법이 제공된다. 효능제 활성은 비-IgG2 이소형의 힌지를 포함하는 동일한 항체, 예를 들어 IgG1 불변 영역을 포함하는 항체의 효능제 활성과 비교하여 증가될 수 있다. IgG2 힌지는 야생형 인간 IgG2 힌지일 수 있거나 또는 야생형 인간 IgG2 힌지의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있고, 예를 들어 표 4에 제시된 서열을 포함할 수 있다. 방법은 CH1, CH2 또는 CH3 도메인 중 적어도 하나를 각각 상이한 이소형의 CH1, CH2 또는 CH3 도메인으로 대체하는 단계를 포함할 수 있다. 방법은 (a) CH1 도메인을 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계; (b) CH2 도메인을 IgG1 CH2 도메인으로 대체하는 단계; 및/또는 (b) CH3 도메인을 IgG1 CH3 도메인으로 대체하는 단계를 포함할 수 있다. 방법은 (a) CH1 도메인을 야생형 인간 IgG2 CH1 도메인 또는 그에 대해 적어도 95% 동일한 도메인으로 대체하는 단계; (b) CH2 도메인을 야생형 인간 IgG1 CH2 도메인 또는 그에 대해 적어도 95% 동일한 도메인으로 대체하는 단계; 및/또는 (b) CH3 도메인을 야생형 인간 IgG1 CH3 도메인 또는 그에 대해 적어도 95% 동일한 도메인으로 대체하는 단계를 포함할 수 있다. 방법은 중쇄 불변 영역을 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역 또는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262에 대해 적어도 95% 동일한 영역으로 대체하는 (또는 Fc 내로 이들 서열의 아미노산 돌연변이를 도입하는) 단계를 포함할 수 있다. 힌지는 디술피드 결합 형성을 감소시키거나 변경하도록 변형될 수 있다. 힌지는 아미노산 치환 C219S를 포함할 수 있다. 힌지는 서열식별번호: 8, 21-23, 126-132 또는 134-147 중 어느 하나에 제시된 아미노산 서열 또는 CVE와 CPP 사이에 삽입된 1-3개의 아미노산을 포함하는 서열을 포함할 수 있다. CH1 도메인은 아미노산 서열 ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV (서열식별번호: 7)를 포함할 수 있다. CH2 도메인은 이펙터 기능을 감소시키거나 제거하도록 변형될 수 있다. CH2 도메인은 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 포함할 수 있다. CH2 도메인은 아미노산 서열 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK (서열식별번호: 4)를 포함할 수 있다. CH2 도메인은 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 포함할 수 있다. CH3 도메인은 아미노산 서열 GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK (서열식별번호: 5)를 포함할 수 있다.

[0035] 또한, 1개 이상의 FcγR (예를 들어, CD16, CD32, CD64)에 대한 감소되거나 검출불가능한 결합을 갖는 변형된 중쇄 불변 영역이 본원에 제공된다. 이러한 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 중쇄 불변 영역에 비해 1-5, 1-3, 1-2개 또는 단일 돌연변이 (예를 들어, 치환)를 가질 수 있다.

[0036] 또한, 본원에 기재된, 예를 들어 상기 제시된 방법에 의해 생산된 항체 또는 그의 항원 결합 부분, 예를 들어 인간 또는 인간화 항체가 제공된다. 대상체, 예를 들어 암을 갖는 대상체를 본원에 기재된 임의의 항체로 치료하는 방법이 또한 본원에 포괄된다. 방법은 1종 이상의 추가의 치료제, 예를 들어 면역계를 자극하는 치료제를 투여하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 치료제는 체크포인트 억제제 또는 공동-자극 분자를 표적화할 수 있다. 방법은 본원에 기재된 조성물, 이중특이적 분자 또는 면역접합체를 투여하는 것을 포함할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0037] 도 1a는 H2228 세포에서 하기 항체: 11F11, 4C3, 6D11, 4C3Vk1 경쇄를 갖는 CD73.3-IgG1.1f ("3-Vh-hHC-IgG1.1f/4C3Vk1"), 11F11 Vk2 경쇄를 갖는 CD73.4-IgG2CS ("4-Vh-hHC-IgG2-C219S/11F11-Vk2"), CD73.10-IgG2CS ("CD73.10-Vh-hHC-IgG2-C219S"), CD73.10-IgG2CS-IgG1.1f ("CD73.10-Vh-hHC-IgG2-C219S-IgG1.1f"), 및 CD73.10-IgG1.1f ("CD73.10-Vh-hHC-IgG1.1f") 항체에 의한 H2228 세포 (비소세포 폐 암종 세포주)에서의 CD73의 항체 매개된 내재화의 동역학을 보여준다. 11F11 (IgG2 이소형의 것), CD73.4-IgG2CS, CD73.10-IgG2CS 및 CD73.10-IgG2CS-IgG1.1f 항체는 IgG1 이소형의 것인 다른 시험된 항체보다 더 신속하고 더 높은 정도로 내재화된다.

도 1b는 HCC15 세포 (비소세포 폐 암종 세포주)에서 도 1a에 제시된 것과 동일한 항체의 항체 매개된 CD73 내재

화의 동역학을 보여주며, 이는 H2228 세포에서 수득된 것과 유사한 결과를 보여준다.

도 1c는 Calu6 세포에서 도 1a 및 1b에 제시된 것과 동일한 항체 뿐만 아니라 CD73.11-IgG2CS ("11-Vh-hVC-IgG2-C219S")의 항체 매개된 CD73 내재화의 동역학을 보여주며, 이는 H2228 및 HCC15 세포에서 수득된 것과 유사한 결과를 보여준다.

도 1d는 NCI-2030 세포 (비소세포 폐 암종 세포주)에서 도 1c에 제시된 것과 동일한 항체의 항체 매개된 CD73 내재화의 동역학을 보여주며, 이는 H2228, HCC15 및 Calu6 세포에서 수득된 것과 유사한 결과를 보여준다.

도 1e는 유동 세포측정법에 의해 측정된 바와 같은, Calu6 세포에서의 표시된 항체의 항체 매개된 CD73 내재화의 동역학을 보여준다.

도 1f는 유동 세포측정법에 의해 측정된 바와 같은, NCI-H292 세포 (점막표피양 폐 암종 세포주)에서의 표시된 항체의 항체 매개된 CD73 내재화의 동역학을 보여주되, 여기서는 세포를 항체와 첫 번째 인큐베이션한 후 항체를 세척하지 않았다.

도 1g는 표시된 항체로 처리된 Calu6 세포에 내재화된 CD73의 백분율을 보여주며, 이는 시간 경과에 따른 Calu6 세포에서의 표시된 항체의 항체 매개된 CD73 내재화를 보여준다.

도 1h는 시간 경과에 따른 표시된 항체로 처리된 NCI-H292 세포에 내재화된 CD73의 백분율을 보여주며, 이는 시간 경과에 따른 NCI-H292 세포에서의 표시된 항체의 항체 매개된 CD73 내재화를 보여준다.

도 1i는 시간 경과에 따른 표시된 항체로 처리된 SNU-C1 세포 (결장 암종 세포주)에 내재화된 CD73의 백분율을 보여주며, 이는 시간 경과에 따른 SNU-C1 세포에서의 표시된 항체의 항체 매개된 CD73 내재화를 보여준다.

도 1j는 시간 경과에 따른 표시된 항체로 처리된 NCI-H1437 세포 (비소세포 폐 암종 세포주)에 내재화된 CD73의 백분율을 보여주며, 이는 시간 경과에 따른 NCI-H1437 세포에서의 표시된 항체의 항체 매개된 CD73 내재화를 보여준다.

도 2는 항-CD3 (플레이트 코팅됨) 및 CD28-활성화된 인간 CD4 T 세포에 대한 표시된 항-인간 GITR 항체의 결합 동역학 및 그래프로부터 유도된 그의 상응하는 EC50 값을 보여준다.

도 3a, 3b 및 3c는 상이한 중쇄 불변 영역을 갖는 가용성 항-인간 GITR 항체로 자극된 공여자 CD4 T 세포로부터의 IFN-γ 및 IL-2의 분비를 보여준다. 도 3a는 OKT3 발현 CHO 세포 및 IgG2-IgG1 불변 영역을 갖는 다양한 농도의 항-인간 GITR 항체로 자극된 공여자 CD4 T 세포로부터의 IFN-γ 분비를 보여준다. 도 3b는 OKT3 발현 CHO 세포 및 다양한 농도의 IgG1 중쇄 불변 도메인 또는 IgG2-IgG1 하이브리드 중쇄 불변 도메인으로 자극된 공여자 CD4 T 세포로부터의 IL-2 분비를 보여준다. 도 3c는 OKT3 발현 CHO 세포 및 도 3a 및 b에서의 항체의 다양한 농도의 무이펙터 버전 (IgG1.1)으로 자극된 공여자 CD4 T 세포로부터의 IL-2 분비를 보여준다.

도 4는 증가하는 양의 표시된 항-인간 GITR 항체: 하이브리도마 항-GITR (IgG2) 및 IgG1f, IgG1.1 (무이펙터) 또는 IgG2 힌지를 갖는 키메라로서의 재조합 유도체의 존재 하에 항-CD3 모노클로날 항체-코팅된 플레이트 상에서 배양된 3A9-hGITR 세포로부터의 IL-2 분비를 보여준다.

도 5a, 5b, 5c 및 5d는 항체/항원 복합체의 크기에 대한 IgG2 힌지의 효과를 보여준다. 도 5a, 5b 및 5c는 hCD73-his와 상이한 불변 영역을 함유하는 항체 CD73.4와의 복합체에 대한 SEC 크로마토그램 데이터, DLS 데이터 및 MALS 데이터를 보여준다. 도 5d는 도 5c에서의 MALS-결정된 질량으로부터 유도된 hCD73-his/mAb 복합체의 개략적 모델을 보여준다.

도 6은 CD73/mAb 복합체에 대한 SEC-MALS 데이터를 보여준다.

도 7은 CD73/mAb 복합체에 대한 DLS 데이터를 보여준다.

도 8a는 시간 경과에 따른 표시된 항체로 처리된 Calu6 세포에 내재화된 CD73의 백분율을 보여주며, 이는 시간 경과에 따른 Calu6 세포에서의 표시된 항체의 항체 매개된 CD73 내재화를 보여준다.

도 8b는 시간 경과에 따른 표시된 항체로 처리된 NCI-H292 세포에 내재화된 CD73의 백분율을 보여주며, 이는 시간 경과에 따른 Calu6 세포에서의 표시된 항체의 항체 매개된 CD73 내재화를 보여준다.

도 8c는 0, 5, 15 또는 30분 동안 5 μg/ml의 표시된 항체로 처리된 Calu6 세포의 표면 상의 CD73의 수준을 보여준다.

도 9는 표시된 불변 영역을 갖는 항-GITR 항체의 존재 하에 CHO-OKT3 세포와 공동-배양된 CD4+ T 세포에 의해 분비된 IL-2의 수준을 보여준다.

도 10은 각각의 제시된 항체를 첨가한지 1, 4 또는 21시간 후 항체 매개된 CD73 내재화의 백분율을 보여준다. 각각의 항체에 대한 막대는 21시간 (좌측), 4시간 (중간) 및 1시간 (우측)의 순서로 제시된다.

도 11a는 hCD73-his와 상이한 불변 영역 서열을 함유하는 16개의 상이한 CD73.4 항체와의 1:1 몰 복합체에 대한 SEC 크로마토그램 데이터의 오버레이를 보여준다.

도 11b는 도 10a의 크로마토그램의 11 - 19.5분으로부터의 크로마토그램 데이터의 확대도를 보여주며, 4개의 별개의 용리 종이 표시된다.

도 11c는 16개의 상이한 항체/CD73-his 복합체에 대해 플롯팅된, 도 11b의 피크 2에 대한 UV 크로마토그램 신호 면적의 백분율을 보여준다. 데이터는 증가하는 피크 면적 순서로 좌측에서 우측으로 분류된다.

도 12는 항-his Fab 포획된 FcγR-his 단백질에 대한 항체 결합을 보여준다. 결합 반응은 1:1 mAb:FcγR 결합 화학량론을 가정하여 이론적 Rmax의 백분율로서 플롯팅된다. 각각의 항체에 대한 막대는 슬라이드 하단의 색상 범례에 제공된 순서대로 제시된다.

도 13은 항-his Fab 포획된 FcgR-his 단백질에 대한 항체 결합을 보여준다. 결합 반응은 1:1 mAb:FcγR 결합 화학량론을 가정하여 이론적 Rmax의 백분율로서 플롯팅된다. 각각의 항체에 대한 막대는 슬라이드 하단의 색상 범례에 제공된 순서대로 제시된다.

도 14a는 항-his Fab 포획된 FcγR-his 단백질에 대한 항체 결합을 보여준다. 결합 반응은 1:1 mAb:FcγR 결합 화학량론을 가정하여 이론적 Rmax의 백분율로서 플롯팅된다. 각각의 항체에 대한 막대는 슬라이드 하단의 색상 범례에 제공된 순서대로 제시된다.

도 14b는 항-his Fab 포획된 FcγR-his 단백질에 대한 항체 결합을 보여준다. 결합 반응은 1:1 mAb:FcγR 결합 화학량론을 가정하여 이론적 Rmax의 백분율로서 플롯팅된다. 각각의 항체에 대한 막대는 슬라이드 하단의 색상 범례에 제공된 순서대로 제시된다.

도 15는 항-GITR 항체의 내재화 시간 경과 분석을 보여준다.

도 16a는 시간 0에서의 GITR 및 초기 엔도솜 마커 EEA2 공동-국재화 분석을 보여준다.

도 16b는 시간 30 및 120분에서의 GITR 및 초기 엔도솜 마커 EEA2 공동-국재화 분석을 보여준다.

도 16c는 총 염색 대비 공동국재화된 픽셀 강도의 비로서 플롯팅된, 도 16a 및 16b에 제시된 엔도솜 공동-국재화의 정량화 결과를 보여준다.

도 17a는 표시된 항-GITR 항체로 처리된 CD8+ T 세포에서의 NFkB 신호전달 활성화를 보여준다.

도 17b는 표시된 항-GITR 항체로 처리된 CD4+ T 세포에서의 NFkB 신호전달 활성화를 보여준다.

도 18은 표시된 항-GITR 항체로 처리된 CD4+ T 세포에서의 P38 활성화를 보여준다.

도 19는 입체형태 A, B 또는 A/B를 갖는 IgG2 항체 내의 디술피드 결합의 구성을 보여준다.

도 20a는 표시된 불변 영역을 갖는 상이한 농도의 항-GITR 항체의 존재 하에 CHO-OKT3 세포와 공동-배양된 CD4+ T 세포에 의해 분비된 IL-2의 수준을 보여준다.

도 20b는 표시된 불변 영역을 갖는 5 μg/ml의 항-GITR 항체의 존재 하에 CHO-OKT3 세포와 공동-배양된 CD4+ T 세포에 의해 분비된 IL-2의 수준을 보여준다 (도 20a에서의 경우와 동일한 실험).

도 20c는 표시된 불변 영역을 갖는 1.25 μg/ml의 항-GITR 항체의 존재 하에 CHO-OKT3 세포와 공동-배양된 CD4+ T 세포에 의해 분비된 IL-2의 수준을 보여준다 (도 20a에서의 경우와 동일한 실험).

도 20d는 표시된 불변 영역을 갖는 0.313 μg/ml의 항-GITR 항체의 존재 하에 CHO-OKT3 세포와 공동-배양된 CD4+ T 세포에 의해 분비된 IL-2의 수준을 보여준다 (도 20a에서의 경우와 동일한 실험).

도 21은 hIgG1f의 한 부분의 아미노산 서열을 보여주며, 여기서 밑줄표시된 서열은 아래에서 재현되고, 야생형 IgG1 대비 hIgG1, hIgG1.1f, hIgG1.3f 및 hIgG1-P238K 아미노산 서열에서의 돌연변이의 위치를 보여준다.

도 22a, 22b, 22c, 22d, 22e, 22f, 22g, 22h, 22i, 22j, 22k 및 22l은 센소그램 데이터에 기초한 표시된 Fc 수용체와 상이한 Fc 영역과 관련하여 항체 Y1238의 해리 속도의 비교를 보여준다.

도 23a, 23b, 23c, 23d, 23e 및 23f는 icIEF에 의해 특징화된 바와 같은 dAb-Fc 분자에 대한 전하 프로파일을 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0038] 특정 실시양태에서, 본 발명은, 적어도 부분적으로, 항체가 IgG2 힌지를 포함하는 경우에 비-IgG2 힌지를 포함하는 동일한 항체에 비해 (또는 IgG1 불변 영역을 포함하는 동일한 항체에 비해) 항체의 하기 특성: (i) 내재화; (ii) 효능제 기능; (iii) 수용체 매개된 세포내 신호전달; (iv) ADCC; 및 (v) 항체/항원 복합체의 중량이 증진 또는 변경된다는 발견에 기초한다. 추가로, 항체의 이들 증진 또는 변경된 특색은 항체가 IgG2 힌지 이외에 IgG2 CH1 도메인을 추가로 포함하는 경우에 추가로 증진 또는 변경된다. 또한, IgG2 CH1 도메인을 갖지만 IgG2 힌지를 갖지 않는 항체는 IgG1 CH1 도메인을 갖는 동일한 항체와 비교하여 증진 또는 변경된 활성을 갖는 것으로 관찰되었다. 특정한 작용 메카니즘에 제한되는 것을 원하지 않지만, IgG2 힌지의 증진 효과는 항체/항원 복합체의 크기의 증가와 상관관계가 있는 것으로 밝혀졌다. 항체가 IgG2 힌지를 갖는 경우에 항체/항원 복합체의 증진된 크기는 다른 이소형의 경우에 비해 더 높은 IgG2 힌지 강성으로부터 비롯된 것일 수 있다. 추가로, 증진 또는 변경된 활성을 보존하기 위해 IgG2 힌지 및 CH1 도메인의 특정 영역 또는 아미노산 잔기는 변형될 수 있는 반면 다른 것은 바람직하게는 변형되지 않는 것으로 제시되었다.

[0039] 본원에 추가로 기재된 바와 같이, 항체 (또는 그의 항원 결합 영역) 상에 증진 또는 변형된 활성을 부여하는 이들 변형된 중쇄 불변 영역은 이펙터 기능을 가질 수 있다. 따라서, IgG2 힌지 및/또는 CH1 도메인에 의해 부여되는 유리한 특성을 갖고 또한 이펙터 기능을 갖는 항체가 생성될 수 있는 것으로 제시되었다.

[0040] 본 발명은 또한, 적어도 부분적으로, IgG1 또는 IgG2 항체에서 힌지의 특정 부분의 결실이 IgG1 불변 영역을 갖는 항체에 비해 증진 또는 변경된 특성을 갖는 항체를 생성한다는 발견에 기초한다.

[0041] 또한, 본원에는 ADCC 및/또는 CDC 이펙터 기능을 감소시키는 돌연변이, 예를 들어 P238 돌연변이, 예를 들어 P238K를 갖는 변형된 중쇄 영역, 및 일부 실시양태에서, 이러한 1개 이상의 돌연변이가 (i) 내재화; (ii) 효능제 기능; (iii) 수용체 매개된 세포내 신호전달; (iv) ADCC; 및/또는 (v) 항체/항원 복합체의 중량을 증진시키는 돌연변이와 조합된다는 것이 기재된다.

[0042] 따라서, 본원에는 (i) 항체의 항원 결합 영역에 증진 또는 변경된 특성을 부여하는 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 항체 및 그의 사용 방법, 및 (ii) 항체의 비-IgG2 힌지 및/또는 CH1 도메인을 IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인 또는 그의 부분으로 대체하는 것을 포함하는, 비-IgG2 힌지 및/또는 CH1 도메인을 포함하는 항체의 특정 생물학적 특성, 예컨대 내재화, 효능작용 및 길항작용을 증진 또는 변경시키는 방법이 제공된다.

[0043] 본원에는 항체, 예를 들어 비-IgG2 힌지 및/또는 비-IgG2 CH1 도메인을 갖는 항체의 특정 생물학적 특성을 상이한 불변 영역을 갖는 동일한 항체에 비해 증진시키는 "변형된 중쇄 불변 영역"이 제공된다. 예시적인 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 힌지, CH1 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함하고, 여기서 이들 불변 도메인 중 적어도 하나는 IgG2 이소형의 것이 아니고, 예를 들어 IgG1, IgG3 또는 IgG4의 것일 수 있다. 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 힌지 및 IgG1 CH2 및 CH3 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 CH1 도메인 및 IgG2 힌지를 포함한다. 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 CH1 도메인, IgG2 힌지, IgG1 CH2 도메인 및 IgG1 CH3 도메인을 포함한다. 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 IgG1의 경우와 유사한 이펙터 기능을 가질 수 있거나, 또는 야생형 IgG의 경우와 비교하여 감소 또는 증진된 이펙터 기능을 갖도록 조작될 수 있다. 변형된 중쇄 불변 영역은 야생형 CH1, 힌지, CH2 및/또는 CH3 도메인, 또는 그의 변이체, 예를 들어 상응하는 야생형 도메인에 비해 1개 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 갖고/거나 상응하는 야생형 서열에 대해 적어도 90% 또는 그 초과 동일한 아미노산 서열을 갖는 CH1, 힌지, CH2 및/또는 CH3 도메인을 포함할 수 있다.

[0044] 또한 IgG1.3 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체 및 융합 단백질이 제공된다. IgG1.3 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 길항제 또는 효능제 항체, 예컨대 체크포인트 억제제에 대한 길항제 항체 또는 체크포인트 자극제에 대한 효능제 항체일 수 있다.

[0045] 정의

[0046] 본 기재내용이 보다 용이하게 이해될 수 있도록, 특정 용어가 먼저 정의된다. 추가의 정의는 상세한 설명 전반

에 걸쳐 제시된다

[0047] 본원에 사용된 용어 "항체"는 전체 항체 및 임의의 항원 결합 단편 (예를 들어, 힌지를 포함하는 항원 결합 단편, 힌지 및 CH1 도메인을 포함하는 항원 결합 단편, 힌지 및 CH2 도메인을 포함하는 항원 결합 단편, 또는 힌지, CH2 도메인 및 CH3 도메인의 한 부분을 포함하는 항원 결합 단편) 또는 그의 단일 쇄를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, "항체"는 디술피드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)를 포함하는 단백질, 예를 들어 당단백질, 또는 그의 항원 결합 부분을 지칭한다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 V_H로 약기됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 특정 자연 발생 IgG, IgD 및 IgA 항체에서, 중쇄 불변 영역은 힌지, CH1 도메인, CH2 도메인 및 CH3 도메인으로 구성된다. 특정 자연 발생 항체에서, 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 V_L로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인 CL로 구성된다. V_H 및 V_L 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 초가변 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L은 아미노-말단에서 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)을 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개할 수 있다.

[0048] 이뮤노글로불린은 IgA, 분비형 IgA, IgG 및 IgM을 포함하나 이에 제한되지는 않는 통상적으로 공지된 이소형 중 임의의 것으로부터의 것일 수 있다. IgG 이소형은 특정 종에서 하위부류로 나뉘어진다: 인간에서의 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4, 및 마우스에서의 IgG1, IgG2a, IgG2b 및 IgG3. 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 인간 IgG1 또는 IgG2 하위유형의 것이다. 이뮤노글로불린, 예를 들어 인간 IgG1은 최대 수개의 아미노산이 서로 상이한 여러 동종이형으로 존재한다. "항체"는 예로서, 자연 발생 및 비-자연 발생 항체 둘 다; 모노클로날 및 폴리클로날 항체; 키메라 및 인간화 항체; 인간 및 비인간 항체; 완전 합성 항체; 및 단일 쇄 항체를 포함할 수 있다.

[0049] 특정 실시양태에서, 항체의 중쇄는 C-말단 리신; C-말단 글리신 (C-말단 리신을 상실함)을 포함하거나, 또는 GK가 결여되어 있거나, 또는 K가 결여되어 있다. 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 언급하는 경우에, 항체는 C-말단 GK 또는 K를 갖거나, 또는 대안적으로 GK 또는 K가 결여되어 있는 제공 서열을 포함할 수 있다.

[0050] 아미노산 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따른다. 문헌 [Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, MD] 및 미국 특허 출원 공개 번호 2008/0248028의 도 3c-3f에 따름.

[0051] 본원에 사용된 용어 항체의 "항원-결합 부분"은 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 항체의 1개 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원-결합 부분은 "힌지 함유 항원 결합 부분"일 수 있다. 항체의 항원-결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있는 것으로 제시되었다. 본원에 기재된 용어 항체의 "항원-결합 부분" 내에 포괄되는 결합 단편의 예는 (i) V_L, V_H, CL 및 CH1 도메인으로 이루어진 1이 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역에서 디술피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 F(ab')2 단편; (iii) V_H 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 이루어진 Fv 단편; (v) V_H 도메인으로 이루어진 dAb 단편 (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); 및 (vi) 단리된 상보성 결정 영역 (CDR) 또는 (vii) 합성 링커에 의해 임의로 연결될 수 있는 2개 이상의 단리된 CDR의 조합을 포함한다. 추가로, Fv 단편의 2개의 도메인인 V_L 및 V_H가 별개의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 V_L 및 V_H 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성한 단일 단백질 쇄 (단일 쇄 Fv (scFv)로 공지됨)로 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해 재조합 방법을 사용하여 연결될 수도 있다; 예를 들어, 문헌 [Bird et al. (1988) Science 242:423-426; 및 Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883] 참조. 이러한 단일 쇄 항체도 또한 용어 항체의 "항원-결합 부분" 내에 포괄되는 것으로 의도된다. 이들 및 다른 잠재적 구축물이 문헌 [Chan & Carter (2010) Nat. Rev. Immunol. 10:301]에 기재되어 있다. 이들 항체 단편은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상적인 기술을 사용하여 수득되고, 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝된다. 항원-결합 부분은 재조합 DNA 기술에 의해, 또는 무손상 이뮤노글로불린의 효소적 또는 화학적 절단에 의해 생산될 수 있다.

[0052] 가변 도메인의 "CDR"은 카바트, 코티아, 카바트와 코티아 둘 다의 조합, AbM, 접촉, 및/또는 입체형태 정의, 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 임의의 CDR 결정 방법의 정의에 따라 확인되는 초가변 영역 내의 아미노산 잔기이다. 항체 CDR은 카바트 등에 의해 최초로 정의된 초가변 영역으로서 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Kabat et al., 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington D.C.]을 참조한다. CDR의 위치는 또한 코티아 등에 의해 최초로 기재된 구조적 루프 구조로서 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Chothia et al., 1989, Nature 342:877-883]을 참조한다. CDR 확인에 대한 다른 접근법은 카바트와 코티아 사이의 절충안이고 옥스포드 몰레큘라의 AbM 항체 모델링 소프트웨어 (현재 액셀리스(Accelrys)®)를 사용하여 유도된 "AbM 정의", 또는 문헌 [MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745]에 제시되어 있는 관찰된 항원 접촉에 기초하는 CDR의 "접촉 정의"를 포함한다. 본원에서 CDR의 "입체형태적 정의"로 지칭되는 또 다른 접근법에서, CDR의 위치는 항원 결합에 대한 엔탈피 기여를 이루는 잔기로서 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Makabe et al., 2008, Journal of Biological Chemistry, 283:1156-1166]을 참조한다. 또 다른 CDR 경계 정의는 상기 접근법 중 하나를 엄격하게 따르지 않을 수 있지만, 그럼에도 불구하고, 특정한 잔기 또는 잔기들의 군 또는 심지어 전체 CDR이 항원 결합에 유의하게 영향을 미치지 않는다는 예측 또는 실험적 발견에 비추어 단축 또는 연장될 수 있을지라도, 카바트 CDR의 적어도 한 부분과 중첩될 것이다. 본원에 사용된 CDR은 접근법의 조합을 포함하여, 관련 기술분야에 공지된 임의의 접근법에 의해 정의된 CDR을 지칭할 수 있다. 본원에 사용된 방법은 임의의 이들 접근법에 따라 정의된 CDR을 이용할 수 있다. 1개 초과의 CDR을 함유하는 임의의 주어진 실시양태에서, CDR은 카바트, 코티아, 연장형, AbM, 접촉 및/또는 입체형태적 정의 중 임의의 것에 따라 정의될 수 있다.

[0053] 본원에 사용된 "이소형"은 중쇄 불변 도메인 유전자에 의해 코딩되는 항체 부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, IgD 및 IgE 항체)를 지칭한다. 각각의 야생형 인간 IgG 불변 영역 (모든 도메인, 즉 CH1 도메인, 힌지, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함함)의 전장 아미노산 서열은 온-라인으로 이용가능한 유니프롯 데이터베이스에, 예를 들어 P01857 (IgG1), P01859 (IgG2), P01860 (IgG3) 및 P01861 (IgG4), 또는 그의 상이한 동종이형 (각각 서열식별번호: 1, 6, 11 및 16)으로서 카테고리화되어 있다. 본원에 사용된 중쇄 불변 영역의 도메인, 예를 들어 힌지는, 도메인이 각각의 이소형의 상응하는 도메인, 또는 그의 변이체 (각각의 이소형의 상응하는 도메인에 대해, 다른 이소형의 것에 대해서보다 더 높은 상동성을 가짐)의 아미노산 서열을 포함하는 경우에, "IgG1 이소형", "IgG2 이소형", "IgG3 이소형" 또는 "IgG4 이소형"의 것이다.

[0054] "동종이형"은 소수의 아미노산이 상이한, 특정 이소형 군 내의 자연 발생 변이체를 지칭한다 (예를 들어, 문헌 [Jefferies et al. (2009) mAbs 1:1] 참조). 본원에 기재된 항체는 임의의 동종이형을 가질 수 있다.

[0055] "야생형" 단백질 또는 그의 부분은 자연에서 발견되는 것과 같은 단백질의 버전이다. 야생형 단백질, 예를 들어 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 자연에서 발생하는 것과 같은 단백질의 아미노산 서열이다. 동종이형 차이로 인해, 야생형 단백질에 대한 1개 초과의 아미노산 서열이 존재할 수 있다. 예를 들어, 자연 발생 인간 IGg1 중쇄 불변 영역의 여러 동종이형이 존재한다 (예를 들어, 문헌 [Jeffries et al. (2009) mAbs 1:1] 참조).

[0056] "Fc 영역" (결정화가능 단편 영역) 또는 "Fc 도메인" 또는 "Fc"는, 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 상에 위치하는 Fc 수용체 또는 전형적 보체계의 제1 성분 (C1q)에 대한 결합을 포함한 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개하는 항체의 중쇄의 C-말단 영역을 지칭한다. 따라서, 이소형 IgG의 항체의 Fc 영역은 제1 불변 영역 이뮤노글로불린 도메인 (CH1)을 제외한 항체의 중쇄 불변 영역을 포함한다. IgG, IgA 및 IgD 항체 이소형에서, Fc 영역은 항체의 2개의 중쇄 각각에서 C_{H2} 및 C_{H3} 불변 도메인을 포함하고; IgM 및 IgE Fc 영역은 각각의 폴리펩티드 쇄에서 3개의 중쇄 불변 도메인 (C_H 도메인 2-4)을 포함한다. IgG의 경우, Fc 영역은 힌지, CH2 및 CH3으로 이루어진 이뮤노글로불린 도메인을 포함한다. 본원의 목적상, Fc 영역은 아미노산 216에서 시작하여 아미노산 447에서 종결되는 것으로 정의되며, 여기서 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스에 따른다. 문헌 [Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, MD] 및 미국 특허 출원 공개 번호 2008/0248028의 도 3c-3f에 따름. Fc는 임의의 동종이형 변이체, 또는 예를 들어 1, 2, 3, 4, 5, 1-5, 1-10 또는 5-10개 또는 그 초과의 아미노산 돌연변이, 예를 들어 치환, 부가 또는 결실을 포함하는 변이체 Fc (예를 들어, 비-자연 발생 Fc)를 비롯한, 천연 (또는 자연-발생 또는 야생형) Fc일 수 있다. 예를 들어, 변이체 Fc는 야생형 Fc에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 변형 또는 돌연변이된 Fc는 증진 또는 감소된 이펙터 기능 및/또는 반감기를 가질 수 있다. CH2 및 CH3 영역은 이펙터 기능

및 FcRn 결합의 주요 부위이다. Fc는 또한 단리된 상태의 또는 Fc-포함 단백질 폴리펩티드, 예컨대 "Fc 융합 단백질" (예를 들어, 항체 또는 이뮤노어드헤신)로도 지칭되는 "Fc 영역을 포함하는 결합 단백질"과 관련하여의 이러한 영역을 지칭할 수 있다.

[0057] "이펙터 기능"은 항체 Fc 영역과 Fc 수용체 또는 리간드의 상호작용, 또는 그로부터 유발되는 생화학적 사건을 지칭한다. 예시적인 "이펙터 기능"은 Clq 결합, 보체 의존성 세포독성 (CDC), Fc 수용체 결합, FcγR-매개된 이펙터 기능, 예컨대 ADCC 및 항체 의존성 세포-매개된 식세포작용 (ADCP), 및 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향조절을 포함한다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인 (예를 들어, 항체 가변 도메인)과 조합될 것을 필요로 한다.

[0058] Fc 수용체 또는 "FcR"은 이뮤노글로불린의 Fc 영역에 결합하는 수용체이다. IgG 항체에 결합하는 FcR은 이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태를 포함한, FcγR 패밀리의 수용체를 포함한다. FcγR 패밀리는 3종의 활성화 (마우스에서 FcγRI, FcγRIII 및 FcγRIV; 인간에서 FcγRIA, FcγRIIA 및 FcγRIIIA) 및 1종의 억제 (FcγRIIB) 수용체로 이루어진다. 인간 FcγR의 다양한 특성이 표 1에 요약되어 있다. 대다수의 선천성 이펙터 세포 유형은 1종 이상의 활성화 FcγR 및 억제 FcγRIIB를 공발현하고, 반면에 자연 킬러 (NK) 세포는 1종의 활성화 Fc 수용체 (마우스에서 FcγRIII 및 인간에서 FcγRIIIA)를 선택적으로 발현하지만 마우스 및 인간에서 억제 FcγRIIB는 발현하지 않는다. 인간 IgG1은 대부분의 인간 Fc 수용체에 결합하고, 그것이 결합하는 활성화 Fc 수용체의 유형과 관련하여 뮤린 IgG2a와 동등한 것으로 간주된다.

[0059] 표 1. 인간 FcγR의 특성

Fcγ	대립유전자 변이체	인간 IgG에 대한 친화도	이소형 선호도	세포 분포
FcγRI (CD64)	기재된 것 없음	고 (K_D ~10 nM)	IgG1=3>4>>2	단핵구, 대식세포, 활성화된 호중구, 수지상 세포?
FcγRIIA (CD32a)	H131	저 내지 중간	IgG1>3>2>4	호중구, 단핵구, 대식세포, 호산구, 수지상 세포, 소판
	R131	저	IgG1>3>4>2	
FcγRIIIA CD16a)	V158	중간	IgG1=3>>4>2	NK 세포, 단핵구, 대식세포, 비만 세포, 호산구, 수지상 세포?
	F158	저	IgG1=3>>4>2	
FcγRIIB (CD32b)	I232	저	IgG1=3=4>2	B 세포, 단핵구, 대식세포, 수지상 세포, 비만 세포
	T232	저	IgG1=3=4>2	

[0060]

[0061] "힌지", "힌지 도메인" 또는 "힌지 영역" 또는 "항체 힌지 영역"은 CH1 도메인을 CH2 도메인에 연결하는 중쇄 불변 영역의 도메인을 지칭하고, 힌지의 상부, 중간 및 하부 부분을 포함한다 (Roux et al. J. Immunol. 1998 161:4083). 힌지는 항체의 결합 영역과 이펙터 영역 사이에 다양한 수준의 가요성을 제공하고, 또한 2개의 중쇄 불변 영역 사이에 분자간 디술피드 결합을 위한 부위를 제공한다. 본원에 사용된 힌지는 모든 IgG 이소형의 경우에 Glu216에서 시작하고 Gly237에서 종결된다 (Roux et al., 1998 J Immunol 161:4083). 야생형 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 힌지의 서열이 표 2에 제시된다.

[0062] 표 2

[0063] 힌지 영역 아미노산

Ig 유형	C-말단 C_H1*	상부 힌지	중간 힌지	하부 힌지
IgG1	VDKRV (SEQ ID NO:57)	EPKSCDKTHT (SEQ ID NO:59)	CPPCP (SEQ ID NO:64)	APELLGG (SEQ ID NO:70)
IgG2	VDKTV (SEQ ID NO:58)	ERK (SEQ ID NO:60)	CCVECPPCP (SEQ ID NO:65)	APPVAG (SEQ ID NO:71)
IgG3 (17-15-15-15)	VDKRV	ELKTPLGDTTHT (SEQ ID NO:61)	CPRCP (SEQ ID NO:66) $(EPKSCDTPPPCPRCP)_3$ (SEQ ID NO:67)	APELLGG
IgG3 (17-15-15)	VDKRV	ELKTPLGDTTHT	CPRCP $(EPKSCDTPPPCPRCP)_2$	APELLGG
IgG3 (17-15)	VDKRV	ELKTPLGDTTHT	CPRCP $(EPKSCDTPPPCPRCP)_1$	APELLGG
IgG3 (15-15-15)	VDKRV	EPKS (SEQ ID NO:62)	CDTPPPCPRCP (SEQ ID NO:68) $(EPKSCDTPPPCPRCP)_2$	APELLGG
IgG3 (15) IgG4	VDKRV VDKRV	EPKS ESKYGPP (SEQ ID NO:63)	CDTPPPCPRCP CPSCP(SEQ ID NO:69)	APELLGG APEFLGG

[0064]

[0065] * CH1 도메인의 C-말단 아미노산 서열.

[0066] 용어 "힌지"는 야생형 힌지 (예컨대 표 3에 제시된 것), 뿐만 아니라 그의 변이체 (예를 들어, 비-자연-발생 힌지 또는 변형된 힌지)를 포함한다. 예를 들어, 용어 "IgG2 힌지"는 표 3에 제시된 바와 같은 야생형 IgG2 힌지, 및 1, 2, 3, 4, 5, 1-3, 1-5, 3-5개 및/또는 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 돌연변이, 예를 들어 치환, 결실 또는 부가를 갖는 변이체를 포함한다. 예시적인 IgG2 힌지 변이체는 1, 2, 3개 또는 모든 4개의 시스테인 (C219, C220, C226 및 C229)이 또 다른 아미노산으로 변화된 IgG2 힌지를 포함한다. 구체적 실시양태에서, IgG2 힌지는 C219X 또는 C220X 치환을 포함하며, 여기서 X는 시스테인을 제외한 임의의 아미노산이다. IgG2 힌지는 치환을 단독으로 포함할 수 있거나, 또는 중쇄 또는 경쇄의 다른 영역에서의 1개 이상의 치환과 함께 포함할 수 있고, 이는 힌지를 포함하는 항체가 형태 A 또는 B를 채택하도록 할 것이다 (예를 들어, 문헌 [Allen et al. (2009) Biochemistry 48:3755] 참조). 특정 실시양태에서, 힌지는 적어도 2개의 이소형으로부터의 서열을 포함하는 하이브리드 힌지이다. 예를 들어, 힌지는 1개의 이소형으로부터의 상부, 중간 또는 하부 힌지, 및 1종 이상의 다른 이소형으로부터의 나머지를 포함할 수 있다. 예를 들어, 힌지는 IgG2/IgG1 힌지일 수 있고, 예를 들어 IgG2의 상부 및 중간 힌지 및 IgG1의 하부 힌지를 포함할 수 있다. 힌지는 이펙터 기능을 가질 수 있거나 또는 이펙터 기능이 박탈될 수 있다. 예를 들어, 야생형 IgG1의 하부 힌지가 이펙터 기능을 제공한다.

[0067] "비-IgG2" 힌지는 IgG2 이소형의 것이 아닌 힌지를 지칭한다.

[0068] 용어 "CH1 도메인"은 가변 도메인을 중쇄 불변 도메인 내의 힌지에 연결하는 중쇄 불변 영역을 지칭한다. 본원에 사용된 CH1 도메인은 A118에서 시작하고 V215에서 종결된다. 용어 "CH1 도메인"은 야생형 CH1 도메인 (예컨대 IgG1의 경우에 서열식별번호: 2를 갖고 IgG2의 경우에 서열식별번호: 7을 가짐; 표 3), 뿐만 아니라 그의 변이체 (예를 들어, 비-자연 발생 CH1 도메인 또는 변형된 CH1 도메인)를 포함한다. 예를 들어, 용어 "CH1 도메인"은 야생형 CH1 도메인, 및 1, 2, 3, 4, 5, 1-3, 1-5, 3-5개 및/또는 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 돌연변이, 예를 들어 치환, 결실 또는 부가를 갖는 그의 변이체를 포함한다. 예시적인 CH1 도메인은 항체의 생물학적 활

성, 예컨대 ADCC, CDC 또는 반감기를 변형시키는 돌연변이를 갖는 CH1 도메인을 포함한다. 항체의 생물학적 활성에 영향을 미치는 CH1 도메인에 대한 변형이 본원에 제공된다.

[0069] 용어 "CH2 도메인"은 힌지를 중쇄 불변 도메인 내의 CH3 도메인에 연결하는 중쇄 불변 영역을 지칭한다. 본원에 사용된 CH2 도메인은 P238에서 시작하고 K340에서 종결된다. 용어 "CH2 도메인"은 야생형 CH2 도메인 (예컨대 IgG1의 경우에 서열식별번호: 4를 가짐; 표 3), 뿐만 아니라 그의 변이체 (예를 들어, 비-자연 발생 CH2 도메인 또는 변형된 CH2 도메인)를 포함한다. 예를 들어, 용어 "CH2 도메인"은 야생형 CH2 도메인, 및 1, 2, 3, 4, 5, 1-3, 1-5, 3-5개 및/또는 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 돌연변이, 예를 들어 치환, 결실 또는 부가를 갖는 그의 변이체를 포함한다. 예시적인 CH2 도메인은 항체의 생물학적 활성, 예컨대 ADCC, CDC 또는 반감기를 변형시키는 돌연변이를 갖는 CH2 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, CH2 도메인은 이펙터 기능을 감소시키는 치환 A330S/P331S를 포함한다. 항체의 생물학적 활성에 영향을 미치는 CH2 도메인에 대한 다른 변형이 본원에 제공된다.

[0070] 용어 "CH3 도메인"은 중쇄 불변 도메인 내의 CH2 도메인에 대해 C-말단인 중쇄 불변 영역을 지칭한다. 본원에 사용된 CH3 도메인은 G341에서 시작하고 K447에서 종결된다. 용어 "CH3 도메인"은 야생형 CH3 도메인 (예컨대 IgG1의 경우에 서열식별번호: 5를 가짐; 표 3), 뿐만 아니라 그의 변이체 (예를 들어, 비-자연 발생 CH3 도메인 또는 변형된 CH3 도메인)를 포함한다. 예를 들어, 용어 "CH3 도메인"은 야생형 CH3 도메인, 및 1, 2, 3, 4, 5, 1-3, 1-5, 3-5개 및/또는 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 돌연변이, 예를 들어 치환, 결실 또는 부가를 갖는 그의 변이체를 포함한다. 예시적인 CH3 도메인은 항체의 생물학적 활성, 예컨대 ADCC, CDC 또는 반감기를 변형시키는 돌연변이를 갖는 CH3 도메인을 포함한다. 항체의 생물학적 활성에 영향을 미치는 CH3 도메인에 대한 변형이 본원에 제공된다.

[0071] 표 3

도메인	아미노산 서열	SEQ ID NO:
IgG1 CH1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV	2
IgG1 힌지	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG	3
IgG1 CH2	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK	4
IgG1 CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	5
IgG2 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV	7
IgG2 힌지	ERKCCVECPPCPAPPVAG	8
IgG2 CH2	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTK	9
IgG2 CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPML DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	10
IgG3 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKPSNTKVDKRV	12
IgG3 힌지	ELKTPLGDTTHTCPRCPE	13
IgG3 CH2	PKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTK	14
IgG3 CH3	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPML DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK	15
IgG4 CH1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS SGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRV	17
IgG4 힌지	ESKYGPPCPSCPAPEFLGG	18
IgG4 CH2	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAK	
IgG4 CH3	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL DSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	20

[0072]

[0073] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 특정한 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화도를 디스플레이하는 항체 또는 모든 항체가 특정한 에피토프에 대한 단일 결합 특이성 및 친화도를 디스플레이하는 항체의 조성물을 지칭한다. 전형적으로 이러한 모노클로날 항체는 단일 세포 또는 항체를 코딩하는 핵산으로부터 유래될 것이고, 임의의 서열 변경을 의도적으로 도입하는 것 없이 증식될 것이다. 따라서, 용어 "인간 모노클로날 항체"는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 임의적인 불변 영역을 갖는 모노클로날 항체를 지칭한다. 한 실시양태에서, 인간 모노클로날 항체는, 예를 들어 트랜스제닉 또는 트랜스크로모소말 비-인간 동물 (예를 들어, 인간 중쇄 트랜스진 및 경쇄 트랜스진을 포함하는 게놈을 갖는 트랜스제닉 마우스)로부터 수득된 B 세포를 불멸화 세포와 융합시킴으로써 수득된 하이브리도마에 의해 생산된다.

[0074] 본원에 사용된 용어 "재조합 인간 항체"는 재조합 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 모든 인간 항체, 예컨대 (a) 인간 이뮤노글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉 또는 트랜스크로모소말인 동물 (예를 들어, 마우스) 또는 그로부터 제조된 하이브리도마로부터 단리된 항체, (b) 항체를 발현하도록 형질전환된 숙주 세포, 예를 들어 트랜스펙토마로부터 단리된 항체, (c) 재조합, 조합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체, 및 (d) 인간 이뮤노글로불린 유전자 서열을 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 것을 수반하는 임의의 다른 수단에 의해 제조, 발현, 생성 또는 단리된 항체를 포함한다. 이러한 재조합 인간 항체는, 배선 유전자에 의해 코딩되지만 예를 들어 항체 성숙 동안 발생하는 후속적인 재배열 및 돌연변이를 포함하는 특정한 인간 배선 이뮤노글로불린 서열을 이용하는 가변 및 불변 영역을 포함한다. 관련 기술분야에 공지된 바와 같이 (예를 들어, 문헌 [Lonberg (2005) Nature Biotech. 23(9):1117-1125] 참조), 가변 영역은, 재배열되어 외래 항원에 특이적인 항체를 형성하는 다양한 유전자에 의해 코딩되는 항원 결합 도메인을 함유한다. 재배열 이외에도, 가변 영역은 외래 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시키기 위해 다중 단일 아미노산 변화 (체세포 돌연변이 또는 과다돌연변이로 지칭됨)에 의해 추가로 변형될 수 있다. 불변 영역은 항원에 대해 추가로 반응하여 변화할 것이다 (즉, 이소형 스위치). 따라서, 항원에 반응하여 경쇄 및 중쇄 이뮤노글로불린 폴리펩티드를 코딩하는 재배열되고 체세포 돌연변이된 핵산 서열은 원래의 배선 서열과 동일하지 않을 수 있지만, 그 대신 실질적으로 동일하거나 유사할 것이다 (즉, 적어도 80% 동일성을 가짐).

[0075] 인간 항체 (HuMAb)는 프레임워크 및 CDR 영역 둘 다가 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된 가변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 추가로, 항체가 불변 영역을 함유하는 경우에, 불변 영역은 또한 인간 배선 이뮤노글로불린 서열로부터 유래된다. 본원에 기재된 항체는 인간 배선 이뮤노글로불린 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수 있다. 그러나, 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 또 다른 포유동물 종, 예컨대 마우스의 배선으로부터 유래된 CDR 서열이 인간 프레임워크 서열 상에 그라프팅된 항체를 포함하는 것으로 의도되지 않는다. 용어 "인간" 항체 및 "완전 인간" 항체는 동의어로 사용된다.

[0076] 인간화 항체는 비-인간 항체의 CDR 도메인 외부의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두가 인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 상응하는 아미노산으로 대체된 항체를 지칭한다. 인간화 형태의 항체의 한 실시양태에서, CDR 도메인 외부의 아미노산 중 일부, 대부분 또는 모두는 인간 이뮤노글로불린으로부터의 아미노산으로 대체된 반면에, 1개 이상의 CDR 영역 내의 일부, 대부분 또는 모든 아미노산은 변화되지 않는다. 아미노산의 작은 부가, 결실, 삽입, 치환 또는 변형은, 이들이 특정한 항원에 결합하는 항체의 능력을 제거하지 않는 한, 허용가능하다. 인간화 항체는 원래 항체의 것과 유사한 항원 특이성을 유지한다.

[0077] "키메라 항체"는, 가변 영역은 한 종으로부터 유래되고 불변 영역은 또 다른 종으로부터 유래된 항체, 예컨대 가변 영역은 마우스 항체로부터 유래되고 불변 영역은 인간 항체로부터 유래된 항체를 지칭한다.

[0078] "이중특이적" 또는 "이중기능적 항체"는 상이한 항원에 대한 특이성을 갖는 2개의 항원 결합 부위를 발생시키는, 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍을 갖는 인공 하이브리드 항체이다. 이중특이적 항체는 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결을 포함한 다양한 방법에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelny et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992)]을 참조한다.

[0079] 어구 "항원을 인식하는 항체" 및 "항원에 특이적인 항체"는 본원에서 용어 "항원에 특이적으로 결합하는 항체"와 상호교환가능하게 사용된다.

[0080] 본원에 사용된 "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다 (예를 들어, 항원 "x"에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 항원 "x" 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 항체가 실질적으로 없음). 그러나, 항원 "x"의 에피토프에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 상이

한 종으로부터의 다른 항원 "x" 단백질과 교차-반응성을 가질 수 있다.

[0081] 본원에 사용된 "효능제 항체"는 공동-자극 수용체의 효능제인 항체, 예를 들어 단백질의 활성을 자극하고 이것이 차례로 면역 세포, 예를 들어 T 세포, 예컨대 B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70 또는 CD27, DR3, 또는 CD28H 단백질을 자극함으로써 대상체의 면역계 (또는 면역 반응)를 부스팅시킬 수 있는 항체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 효능제 항체는 억제 수용체, 예를 들어 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, 또는 LAG-3, TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, CD73, PD1H, LAIR1, TIM-1, 또는 TIM-4의 활성을 증진시키고 이에 의해 면역 반응을 억제하는 항체이다.

[0082] 본원에 사용된 "길항제 항체"는 면역 세포, 예를 들어 T 세포에 대한 억제 신호의 길항제인 항체, 예를 들어 T 세포 활성화를 억제하는 단백질 (예를 들어, 면역 체크포인트 억제제), 예컨대 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, 또는 LAG-3, TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, CD73, PD1H, LAIR1, TIM-1, 또는 TIM-4를 억제 또는 차단할 수 있고 이에 의해 면역 반응을 자극하는 항체를 지칭한다. 특정 실시양태에서, 길항제 항체는 자극 수용체, 예를 들어 B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, 또는 CD27, DR3, 또는 CD28H의 활성을 억제하고 이에 의해 면역 반응을 억제하는 항체이다.

[0083] 효능제 및 길항제 항체 둘 다는 항원-특이적 T 세포 반응을 증폭시키거나 또는 항원-특이적 T 세포 반응을 억제한다 (면역 체크포인트 조절제).

[0084] 용어 "에피토프" 또는 "항원 결정기"는 이뮤노글로불린 또는 항체가 특이적으로 결합하는 항원 (예를 들어, GITR) 상의 부위를 지칭한다. 단백질 항원 내의 에피토프는 인접 아미노산 (통상적으로 선형 에피토프) 또는 단백질의 3차 폴딩에 의해 병치되는 비인접 아미노산 (통상적으로 입체형태적 에피토프) 둘 다로부터 형성될 수 있다. 인접 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 항상 그러한 것은 아니지만 전형적으로 변성 용매에의 노출시 유지되고, 반면에 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 의한 처리시 상실된다. 에피토프는 고유한 공간 입체형태에 전형적으로 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 아미노산을 포함한다. 어떠한 에피토프가 주어진 항체에 의해 결합되는지 결정하는 방법 (즉, 에피토프 맵핑)은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 이뮤노블롯팅 및 면역침전 검정을 포함하고, 여기서 중첩 또는 인접 펩티드는 주어진 항체와의 반응성에 대해 시험된다. 에피토프의 공간 입체형태를 결정하는 방법은 관련 기술분야의 기술 및 본원에 기재된 기술, 예를 들어 X선 결정학, 2-차원 핵 자기 공명 및 HDX-MS를 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)] 참조).

[0085] 대상에 적용될 때의 본원에 사용된 용어 "자연 발생"은 대상이 자연에서 발견될 수 있다는 사실을 지칭한다. 예를 들어, 자연에서 공급원으로부터 단리될 수 있고 실험실에서 사람에 의해 의도적으로 변형되지 않은 유기체 (바이러스 포함)에 존재하는 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드 서열은 자연 발생이다.

[0086] "폴리펩티드"는 쇄의 길이에 대한 상한치 없이, 적어도 2개의 연속적으로 연결된 아미노산 잔기를 포함하는 쇄를 지칭한다. 단백질 내의 1개 이상의 아미노산 잔기는 변형, 예컨대 비제한적으로, 글리코실화, 인산화 또는 디술피드 결합을 함유할 수 있다. 단백질은 1개 이상의 폴리펩티드를 포함할 수 있다.

[0087] 본원에 사용된 용어 "핵산 분자"는 DNA 분자 및 RNA 분자를 포함하는 것으로 의도된다. 핵산 분자는 단일-가닥 또는 이중-가닥일 수 있고, cDNA일 수 있다.

[0088] 또한, 예를 들어 보존적 뉴클레오티드 및 아미노산 치환, 뿐만 아니라 뉴클레오티드 및 아미노산 부가 및 결실을 포함하는, 본원에 제시된 서열의 "보존적 서열 변형"이 제공된다. 예를 들어, 변형은 관련 기술분야에 공지된 표준 기술, 예컨대 부위-지정 돌연변이유발 및 PCR-매개된 돌연변이유발에 의해 서열식별번호: 1 - 74 내로 도입될 수 있다. 보존적 서열 변형은 아미노산 잔기가 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기로 대체된 보존적 아미노산 치환을 포함한다. 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 잔기의 패밀리는 관련 기술분야에서 정의되었다. 이들 패밀리는 염기성 측쇄 (예를 들어, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄 (예를 들어, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄 (예를 들어, 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인, 트립토판), 비극성 측쇄 (예를 들어, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌), 베타-분지형 측쇄 (예를 들어, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄 (예를 들어, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 갖는 아미노산을 포함한다.

[0089] 한 실시양태에서, 중쇄 불변 영역 또는 그의 도메인에 대한 아미노산 서열 변형은 중쇄 불변 영역의 특정 특성을 변형시키거나 제거하지 않는다. 이들 특성은, 예를 들어 힌지의 강성 또는 강직성, 뿐만 아니라 효능제 또는 항체의 길항제 활성을 포함한다. 특정 실시양태에서, 중쇄 불변 영역 또는 그의 도메인에 대한 아미노산 서열 변형은 중쇄 불변 영역의 특정 특성을 변형시키거나 제거한다.

[0090] 항체 및/또는 불변 영역 특성을 제거하는 및 제거하지 않는 아미노산 보존적 치환을 확인하는 방법은, 예를 들어 본원 실시예 섹션에 기재된 바와 같이 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다.

[0091] 핵산의 경우, 용어 "실질적 상동성"은 2개의 핵산 또는 그의 지정된 서열이 최적으로 정렬되고 비교된 경우에, 적절한 뉴클레오티드 삽입 또는 결실에 의해 적어도 약 80%의 뉴클레오티드, 통상적으로 적어도 약 90% 내지 95%, 보다 바람직하게는 적어도 약 98% 내지 99.5%의 뉴클레오티드에서 동일한 것을 나타낸다. 대안적으로, 실질적 상동성은 절편이 선택적 혼성화 조건 하에 가닥의 상보체에 혼성화될 경우에 존재한다.

[0092] 폴리펩티드의 경우, 용어 "실질적 상동성"은 2개의 폴리펩티드 또는 그의 지정된 서열이 최적으로 정렬되고 비교된 경우에, 적절한 아미노산 삽입 또는 결실에 의해 적어도 약 80%의 아미노산, 통상적으로 적어도 약 90% 내지 95%, 보다 바람직하게는 적어도 약 98% 내지 99.5%의 아미노산에서 동일한 것을 나타낸다.

[0093] 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은 서열이 최적으로 정렬된 경우에 서열에 의해 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이며 (즉, % 상동성 = 동일한 위치의 #/위치의 총 # x 100), 최적 정렬은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입될 필요가 있는 갭의 수 및 각각의 갭의 길이를 고려하여 결정된다. 2개의 서열 사이의 서열 비교 및 퍼센트 동일성 결정은 하기 비제한적 예에 기재된 바와 같이 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다.

[0094] 2개의 뉴클레오티드 서열 사이의 퍼센트 동일성은 NWSgapdna.CMP 매트릭스 및 40, 50, 60, 70 또는 80의 갭 가중치 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 가중치를 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지 내의 GAP 프로그램 (http://www.gcg.com에서 이용가능함)을 사용하여 결정될 수 있다. 또한, 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하여 ALIGN 프로그램 (버전 2.0) 내로 혼입된 문헌 [E. Meyers and W. Miller (CABIOS, 4:11-17 (1989))]의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다. 추가로, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은 Blossum 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5 또는 6을 사용하여 GCG 소프트웨어 패키지 내의 GAP 프로그램 (http://www.gcg.com에서 이용가능함) 내로 혼입된 문헌 [Needleman and Wunsch (J. Mol. Biol. (48):444-453 (1970))] 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.

[0095] 본원에 기재된 핵산 및 단백질 서열은 추가로, 예를 들어 관련 서열을 확인하기 위해 공중 데이터베이스에 대한 검색을 수행하기 위한 "질의 서열"로서 사용될 수 있다. 이러한 검색은 문헌 [Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-10]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램 (버전 2.0)을 사용하여 수행될 수 있다. NBLAST 프로그램, 점수 = 100, 워드길이 = 12로 BLAST 뉴클레오티드 검색을 수행하여 본원에 기재된 핵산 분자에 상동인 뉴클레오티드 서열을 수득할 수 있다. XBLAST 프로그램, 점수 = 50, 워드길이 = 3으로 BLAST 단백질 검색을 수행하여 본원에 기재된 단백질 분자에 상동인 아미노산 서열을 수득할 수 있다. 비교 목적으로 갭이 있는 정렬을 수득하기 위해, 갭드(Gapped) BLAST를 문헌 [Altschul et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402]에 기재된 바와 같이 이용할 수 있다. BLAST 및 갭드 BLAST 프로그램을 이용하는 경우에, 각각의 프로그램 (예를 들어, XBLAST 및 NBLAST)의 디폴트 파라미터가 사용될 수 있다. www.ncbi.nlm.nih.gov를 참조한다.

[0096] 본원에 사용된 용어 "항원"은 임의의 천연 또는 합성 면역원성 물질, 예컨대 단백질, 펩티드 또는 합텐을 지칭한다. 항원은 전장 또는 성숙 단백질 또는 그의 단편일 수 있다.

[0097] "면역 반응"은 외래 작용제에 대한 척추동물 내에서의 생물학적 반응을 지칭하며, 이러한 반응은 이들 작용제 및 그에 의해 유발되는 질환에 대해 유기체를 보호한다. 면역 반응은 침입 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 다른 비정상 세포, 또는 자가면역 또는 병리학적 염증의 경우에는 정상 인간 세포 또는 조직의 선택적 표적화, 그에 대한 결합, 그에 대한 손상, 그의 파괴, 및/또는 그의 척추동물 신체로부터의 제거를 일으키는, 면역계 세포 (예를 들어, T 림프구, B 림프구, 자연 킬러 (NK) 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포 또는 호중구) 및 이들 세포 중 임의의 것 또는 간에 의해 생산된 가용성 거대분자 (항체, 시토카인 및 보체 포함)의 작용에 의해 매개된다. 면역 반응은, 예를 들어 T 세포, 예를 들어 이펙터 T 세포 또는 Th 세포, 예컨대 CD4+ 또는 CD8+ T 세포의 활성화 또는 억제, 또는 Treg 세포의 억제를 포함한다.

[0098] "면역조정제" 또는 "면역조절제"는 면역 반응의 조정, 조절 또는 변형에 수반될 수 있는 작용제, 예를 들어 신호전달 경로의 성분을 지칭한다. 면역 반응의 "조정", "조절" 또는 "변형"은 면역계 세포에서의 또는 이러한

세포 (예를 들어, 이펙터 T 세포)의 활성에서의 임의의 변경을 지칭한다. 이러한 조정은 다양한 세포 유형의 수에서의 증가 또는 감소, 이들 세포의 활성에서의 증가 또는 감소, 또는 면역계 내에서 발생할 수 있는 임의의 다른 변화에 의해 나타날 수 있는 면역계의 자극 또는 억제를 포함한다. 억제 및 자극 면역조정제 둘 다가 확인되었고, 이들 중 일부는 종양 미세환경에서 증진된 기능을 가질 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 면역조정제는 T 세포의 표면 상에 위치한다. "면역조정 표적" 또는 "면역조절 표적"은 물질, 작용제, 모이어티, 화합물 또는 분자에 의한 결합에 대해 표적화되고, 그의 활성이 결합에 의해 변경되는 면역조정제이다. 면역조정 표적은, 예를 들어 세포 표면 상의 수용체 ("면역조정 수용체") 및 수용체 리간드 ("면역조정 리간드")를 포함한다.

[0099] "면역요법"은 면역 반응을 유도, 증진, 억제, 또는 달리 변형하는 것을 포함하는 방법에 의해 질환을 앓거나 또는 그에 걸릴 위험이 있거나 또는 그의 재발을 겪고 있는 대상체를 치료하는 것을 지칭한다.

[0100] "면역자극 요법" 또는 "면역자극성 요법"은, 예를 들어 암을 치료하기 위해 대상체에서 면역 반응의 증가 (유도 또는 증진)를 일으키는 요법을 지칭한다.

[0101] "내인성 면역 반응을 강화시키는"은 대상체에서 기존 면역 반응의 유효성 또는 효력을 증가시키는 것을 의미한다. 유효성 및 효력의 이러한 증가는, 예를 들어 내인성 숙주 면역 반응을 억제하는 메카니즘을 극복하거나 또는 내인성 숙주 면역 반응을 증진시키는 메카니즘을 자극함으로써 달성될 수 있다.

[0102] "T 이펙터" ("T_{eff}") 세포는 세포용해 활성을 갖는 T 세포 (예를 들어, CD4+ 및 CD8+ T 세포), 뿐만 아니라 시토카인을 분비하여 다른 면역 세포를 활성화시키고 지시하는 T 헬퍼 (Th) 세포를 지칭하지만, 조절 T 세포 (Treg 세포)는 포함하지 않는다.

[0103] 본원에 사용된 용어 "연결된"은 2개 이상의 분자의 회합을 지칭한다. 연결은 공유 또는 비-공유일 수 있다. 연결은 또한 유전자적일 수 있다 (즉, 재조합적으로 융합됨). 이러한 연결은 관련 기술분야에 인지된 매우 다양한 기술, 예컨대 화학적 접합 및 재조합 단백질 생산을 사용하여 달성될 수 있다.

[0104] 본원에 사용된 "투여"는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용하여 대상체에게 치료제를 포함하는 조성물을 물리적으로 도입하는 것을 지칭한다. 본원에 기재된 항체의 바람직한 투여 경로는 정맥내, 복강내, 근육내, 피하, 척추 또는 다른 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 것을 포함한다. 본원에 사용된 어구 "비경구 투여"는 통상적으로 주사에 의한, 경장 및 국소 투여 이외의 투여 방식을 의미하며, 비제한적으로, 정맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입, 뿐만 아니라 생체내 전기천공을 포함한다. 대안적으로, 본원에 기재된 항체는 비-비경구 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어 비강내로, 경구로, 질로, 직장으로, 설하로 또는 국소로 투여될 수 있다. 또한, 투여는 예를 들어 1회, 복수회, 및/또는 1회 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.

[0105] 본원에 사용된 용어 "T 세포-매개된 반응"은 이펙터 T 세포 (예를 들어, $CD8^+$ 세포) 및 헬퍼 T 세포 (예를 들어, $CD4^+$ 세포)를 포함한 T 세포에 의해 매개되는 반응을 지칭한다. T 세포 매개된 반응은, 예를 들어 T 세포 세포독성 및 증식을 포함한다.

[0106] 본원에 사용된 용어 "세포독성 T 림프구 (CTL) 반응"은 세포독성 T 세포에 의해 유도되는 면역 반응을 지칭한다. CTL 반응은 주로 $CD8^+$ T 세포에 의해 매개된다.

[0107] 본원에 사용된 용어 "억제하다" 또는 "차단하다" (예를 들어, 리간드가 그의 수용체에 결합하는 것 또는 후속 세포내 반응을 억제/차단하는 것을 지칭함)는 상호교환가능하게 사용되고, 부분 및 완전 억제/차단 둘 다를 포괄한다. 일부 실시양태에서, 항체는 결합을, 예를 들어 본원에 추가로 기재된 바와 같이 결정시 적어도 약 50%, 예를 들어 적어도 약 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 99% 또는 100%만큼 억제한다.

[0108] 본원에 사용된 "암"은 신체 내 비정상 세포의 비제어된 성장을 특징으로 하는 질환의 광범위한 군을 지칭한다. 비조절된 세포 분열은 이웃 조직을 침습하는 악성 종양 또는 세포의 형성을 일으킬 수 있고, 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 원위 부분으로 전이될 수 있다.

[0109] 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 질환과 연관된 증상, 합병증, 상태 또는 생화학적 징후의 진행, 발달, 중증도 또는 재발을 역전, 완화, 호전, 억제 또는 지연 또는 예방할 목적으로 대상체에 대해 수행되는 임의의 유형의 개입 또는 과정, 또는 대상체에게 활성제를 투여하는 것을 지칭한다. 예방은 질환을

갖지 않는 대상체에게 질환이 발생하는 것을 방지하거나 또는 발생한 경우에 그의 효과를 최소화하기 위해 투여하는 것을 지칭한다.

[0110] "혈액 악성종양"은 림프종, 백혈병, 골수종 또는 림프성 악성종양, 뿐만 아니라 비장 및 림프절의 암을 포함한다. 예시적인 림프종은 B 세포 림프종 및 T 세포 림프종 둘 다를 포함한다. B-세포 림프종은 호지킨 림프종 및 대부분의 비-호지킨 림프종 둘 다를 포함한다. B 세포 림프종의 비제한적 예는 미만성 대 B-세포 림프종, 여포성 림프종, 점막-연관 림프 조직 림프종, 소세포 림프구성 림프종 (만성 림프구성 백혈병과 중첩됨), 외투세포 림프종 (MCL), 버킷 림프종, 종격 대 B 세포 림프종, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 결절성 변연부 B 세포 림프종, 비장 변연부 림프종, 혈관내 대 B-세포 림프종, 원발성 삼출 림프종, 림프종성 육아종증을 포함한다. T 세포 림프종의 비제한적 예는 결절외 T 세포 림프종, 피부 T 세포 림프종, 역형성 대세포 림프종 및 혈관면역모세포성 T 세포 림프종을 포함한다. 혈액 악성종양은 또한 백혈병, 예컨대 비제한적으로, 속발성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 급성 골수 백혈병, 만성 골수 백혈병 및 급성 림프모구성 백혈병을 포함한다. 혈액 악성종양은 추가로 골수종, 예컨대 비제한적으로, 다발성 골수종 및 무증상 다발성 골수종을 포함한다. 다른 혈액 및/또는 B 세포- 또는 T-세포-연관 암은 용어 혈액 악성종양에 포괄된다.

[0111] 용어 "유효 용량" 또는 "유효 투여량"은 목적하는 효과를 달성하거나 또는 적어도 부분적으로 달성하기에 충분한 양으로 정의된다. 약물 또는 치료제의 "치료 유효량" 또는 "치료 유효 투여량"은 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합되어 사용되는 경우에, 질환 증상의 중증도의 감소, 질환 증상-부재 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 예방에 의해 입증되는 질환 퇴행을 촉진하는 약물의 임의의 양이다. 약물의 "예방 유효량" 또는 "예방 유효 투여량"은 질환이 발생할 위험 또는 질환이 재발할 위험이 있는 대상체에게 단독으로 또는 또 다른 치료제와 조합하여 투여되는 경우에, 질환의 발생 또는 재발을 억제하는 약물의 양이다. 질환 퇴행을 촉진하거나 질환의 발생 또는 재발을 억제하는 치료제의 능력은 숙련된 진료의에게 공지된 다양한 방법을 사용하여, 예컨대 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예측해주는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 검정에서 작용제의 활성을 검정함으로써 평가될 수 있다.

[0112] 예로서, 항암제는 대상체에서 암 진행을 늦추거나 암 퇴행을 촉진하는 약물이다. 바람직한 실시양태에서, 약물의 치료 유효량은 암이 제거되는 시점까지 암 퇴행을 촉진시킨다. "암 퇴행을 촉진시키는 것"은 유효량의 약물을 단독으로 또는 항신생물제와 조합하여 투여함으로써 환자에서 종양 성장 또는 크기의 감소, 종양의 괴사, 적어도 1종의 질환 증상의 중증도 감소, 질환 무증상 기간의 빈도 및 지속기간 증가, 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 예방, 또는 달리 질환 증상의 호전을 가져오는 것을 의미한다. 약리학적 유효성은 환자에서 암 퇴행을 촉진시키는 약물의 능력을 지칭한다. 생리학적 안전성은 약물의 투여로부터 발생하는 세포, 기관 및/또는 유기체 수준에서의 독성의 허용가능하게 낮은 수준, 또는 다른 유해 생리학적 효과 (유해 효과)를 지칭한다.

[0113] 종양 치료에 대한 예로서, 치료 유효량 또는 치료 유효 투여량의 약물은 바람직하게는 세포 성장 또는 종양 성장을 비치료된 대상체에 비해 적어도 약 20%, 보다 바람직하게는 적어도 약 40%, 보다 더 바람직하게는 적어도 약 60%, 및 보다 더 바람직하게는 적어도 약 80%만큼 억제한다. 가장 바람직한 실시양태에서, 치료 유효량 또는 치료 유효 투여량의 약물은 세포 성장 또는 종양 성장을 완전히 억제하며, 즉, 바람직하게는 세포 성장 또는 종양 성장을 100%만큼 억제한다. 종양 성장을 억제하는 화합물의 능력은 하기 기재된 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 대안적으로, 조성물의 이러한 특성은 세포 성장을 억제하는 화합물의 능력을 검사함으로써 평가될 수 있고, 이러한 억제는 숙련된 진료의에게 공지된 검정에 의해 시험관내에서 측정될 수 있다. 본원에 기재된 다른 바람직한 실시양태에서, 종양 퇴행은 적어도 약 20일, 보다 바람직하게는 적어도 약 40일, 또는 보다 더 바람직하게는 적어도 약 60일의 기간 동안 관찰되고 계속될 수 있다.

[0114] 용어 "환자" 및 "대상체"는 예방적 또는 치유적 치료를 받는 임의의 인간 또는 비-인간 동물을 지칭한다. 예를 들어, 본원에 기재된 방법 및 조성물은 암을 갖는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다. 용어 "비-인간 동물"은 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비-포유동물, 예컨대 비-인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류, 파충류 등을 포함한다.

[0115] 본원에 기재된 다양한 측면이 하기 서브섹션에서 추가로 상세하게 기재된다.

[0116] I. 변형된 중쇄 불변 영역

[0117] 본원에는 "변형된 중쇄 불변 영역"이 기재되며, 이는 항체에 존재하는 경우에, 변형된 중쇄 불변 영역을 갖지 않는 동일한 항체, 예컨대 비-IgG2 힌지를 함유하는 항체, 예를 들어 IgG1 항체에 비해 항체의 특정 생물학적 특성 또는 특색을 증진시키거나 변경시킨다. 항체의 증진 또는 변경된 생물학적 특성은 다음을 포함한다:

[0118] (a) 세포에 의한 증가 또는 변경된 내재화;

[0119] (b) 증가 또는 변경된 효능제 활성;

[0120] (c) 증가 또는 변경된 길항제 또는 차단 활성;

[0121] (d) 증진된 ADCC;

[0122] (d) 새로운 특성의 생성;

[0123] (e) 증가 또는 변경된 신호 전달;

[0124] (f) 보다 큰 항체/항원 가교된 복합체의 형성;

[0125] (g) 표적 세포 표면 분자의 증가된 클러스터링 또는 올리고머화;

[0126] (h) 면역 반응의 증가된 자극 또는 증진; 및/또는

[0127] (i) 면역 반응의 증가된 억제.

[0128] 또한, 이펙터 기능을 조정하는, 예를 들어 이펙터 기능을 감소시키는 1개 이상의 아미노산 돌연변이를 포함하는 중쇄를 포함하는 항체가 본원에 제공된다.

[0129] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 항체 의존성 수용체 (또는 리간드 또는 표면 분자) 내재화를 보다 효과적으로 매개하며, 예를 들어 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 더 높은 속도 및/또는 정도의 세포 내로의 내재화로, 표적 또는 표면 분자 (예를 들어, 수용체 또는 리간드)를 내재화시키고/거나 항체가 세포 막 상의 그의 표적에 결합한 후에 그 자체가 내재화된다. 항체의 내재화의 속도 및 정도는, 예를 들어 실시예에 제시된 바와 같이 결정될 수 있다. 예를 들어 실시예에 제시된 바와 같이, 예를 들어 내재화의 $T_{1/2}$에 의해 측정된 내재화의 속도는 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진 또는 증가되어, $T_{1/2}$를 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 10분의 $T_{1/2}$를 갖는 대신, 변형된 중쇄 불변 영역은 내재화 속도를 증가시키고 이에 의해 $T_{1/2}$를 5분으로 감소시킬 수 있다 (예를 들어, 내재화 속도의 2배 증가 또는 $T_{1/2}$의 2배 감소). "$T_{1/2}$"는 항체를 세포에 첨가한 시간부터 측정시 최대 내재화의 절반이 달성되는 시간으로서 정의된다. 특정 실시양태에서, $T_{1/2}$는 적어도 10분, 30분 또는 1시간만큼 감소된다. 내재화의 최대 수준은 항체 농도 또는 시간에 대해 플롯팅된 내재화를 나타내는 그래프의 플래토에서의 내재화의 수준일 수 있다. 변형된 중쇄 불변 영역은 항체의 내재화의 최대 수준을 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증가시킬 수 있다. 상이한 항체, 예컨대 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 항체와 변형된 중쇄 불변 영역을 갖지 않는 동일한 항체의 내재화 효능을 비교하는 또 다른 방식은 주어진 항체 농도 (예를 들어, 100 nM)에서 및/또는 주어진 시간 (예를 들어, 2분, 5분, 10분 또는 30분)에서 그의 내재화 수준을 비교하는 것이다. 내재화의 수준을 비교하는 것은 또한 내재화의 EC_{50} 수준을 비교함으로써 이루어질 수 있다. 하나의 항체의 내재화의 수준은 주어진 (참조) 항체, 예를 들어 본원에 기재된 항체, 예를 들어, 11F11 또는 CD73.4-IgG2CS-IgG1의 내재화의 수준에 비해 정의될 수 있고, 이는 주어진 (참조) 항체를 사용하여 수득된 값의 백분율로서 표시될 수 있다. 내재화의 정도는 이들 방법 중 어느 하나에 의해 비교시, 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다.

[0130] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 더 강력한 효능제 활성을 갖는다. 특정 실시양태에서, 증진된 효능제 활성은 표적 분자, 예를 들어 GITR, 또는 면역 반응, 예를 들어 T 세포 활성을 자극 또는 공동-자극하는 다른 분자의 자극 활성을 증진시킨다. 특정 실시양태에서, 증진된 효능제 활성은 면역 반응, 예를 들어 T 세포 활성을 억제하는 표적 분자 (예를 들어, 체크포인트 억제제)의 억제 활성을 증진시킨다. T 세포 활성을 조정하는 항체의 증진된 효능제 활성은, 예를 들어 실시예에 제시된 바와 같이, 예를 들어 항체와 접촉된 T 세포로부터 IFN-γ 또는 IL-2 분비 수준을 측정함으로써 결정될 수 있다. 자극 표적에 결합하는 항체의 효능제 활성은, 이펙터 T 세포의 증가된 시토카인 방출 또는 증가된 증식; Treg 상에서의 결속이 Treg 기능을 감소시키는 경우 감소된 T 조절 세포 활성; 또는 Treg의 증가된 고갈에 의해 정의되는 바와 같이, 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다. 예를 들어, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는, 자극 표적에 결합하는 항체에 의해 자극된 T 세포로부터 분비되는 IFN-γ 또는 IL-2의 양은 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하

지 않는 동일한 항체에 의해 자극된 T 세포의 경우보다 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과로 더 높을 수 있다. 억제 표적에 결합하는 항체의 효능제 활성은, 이펙터 T 세포의 감소된 시토카인 방출 또는 감소된 증식; 증가된 T 조절 세포 활성; 또는 Treg의 감소된 고갈에 의해 정의되는 바와 같이, 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다. 예를 들어, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는, 억제 표적에 결합하는 항체에 의해 자극된 T 세포로부터 분비되는 IFN-γ 또는 IL-2의 양은 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않는 동일한 항체에 의해 자극된 T 세포의 경우보다 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과로 더 낮을 수 있다.

[0131] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 더 강력한 길항제 또는 차단 활성을 갖는다. 항체의 증진된 길항제 활성은, 예를 들어 T 세포 활성화의 조건을 포함하는 상황에서 시토카인 방출 및/또는 증식을 측정함으로써 결정될 수 있다. 길항제 활성은 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다.

[0132] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 증진된 ADCC 활성을 갖는다. 증진된 ADCC는 관련 기술분야에 공지된 방법에 따라 결정될 수 있다. ADCC는 적어도 10%, 30%, 50%, 2배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다.

[0133] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 더 큰 항체/항원 가교된 복합체를 형성하는 능력을 갖는다. 복합체를 형성하는 능력은, 예를 들어 실시예에 기재된 바와 같이 결정될 수 있다. 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 의해 형성된 항체/항원 복합체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않는 동일한 항체에 의해 형성된 복합체보다 적어도 50%, 2배, 3배, 5배 또는 10배 더 클 수 있다. 특정 실시양태에서, 적어도 2,000 kDa; 3,000 kDa; 5000 kDa; 10,000 kDa, 50,000 kDa 또는 100,000 kDa의 복합체가 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 항체에 의해 형성된다.

[0134] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 세포 표면 상의 표적 분자의 더 많은 클러스터링 또는 올리고머화를 촉발한다. 클러스터링 또는 올리고머화의 정도는, 예를 들어 항체/항원 복합체의 크기를 측정함으로써 결정될 수 있다.

[0135] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 더 높은 수준 또는 상이한 유형의 신호전달 또는 신호 전달을 도입한다. 신호 전달은 신호 전달 경로에서 1종 이상의 단백질의 활성화 수준을 결정함으로써 모니터링될 수 있다. 특정 실시양태에서, 신호 전달은, 예를 들어 실시예에 기재된 바와 같이 신호 전달 단백질, 예를 들어, NFkB 또는 p38의 활성 (또는 인산화)을 측정함으로써 결정된다. 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 의해 촉발된 신호 전달은 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않는 동일한 항체에 의한 신호 전달보다 적어도 10%, 20%, 50%, 2배, 5배 또는 그 초과만큼 더 높거나 더 낮을 수 있다. 예를 들어, 자극 분자 (예를 들어, GITR)에 결합하고 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체에 의해 촉발된 신호 전달은 IgG1 중쇄를 갖는 동일한 항체에 의해 수득된 경우에 비해 적어도 10%만큼 증진될 수 있다. 예를 들어, NFkB 또는 p38 활성 (예를 들어, 인산화)의 EC_{50}은 적어도 50%, 2배, 5배 또는 그 초과만큼 감소될 수 있다.

[0136] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 면역 반응 또는 면역계를 자극하거나 증진시키는 증가된 능력을 갖는다. 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 증가된 능력은 T 세포 공동자극 수용체의 증진된 효능제 활성 및/또는 억제 수용체의 증진된 길항제 활성으로부터 비롯될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 증가된 능력은 면역 반응을 측정하는 검정, 예를 들어 시토카인 또는 케모카인 방출, 세포용해 활성 (표적 세포 상에서 직접적으로 또는 CD107a 또는 그랜자임을 검출하는 것을 통해 간접적으로 결정됨) 및 증식에서의 변화를 측정하는 검정에서 EC_{50}의 배수 증가 또는 활성의 최대 수준에 의해 반영될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계 활성을 자극하는 능력은 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다.

[0137] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 증가된 항증식 또는 항종양 활성을 갖는다. 항체의 증진된 항종양 활성은, 예를 들어 항체로 치료된 동물에서 종양의 성장에 의해 결정될 수 있다. 항종양 활성은 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다. 항종양 활성은, 예를 들어 감소된 종양

성장 동역학 및 완전한 종양 퇴행에 의해 나타나는, 예를 들어 종양 부담의 감소로서 측정될 수 있다.

[0138] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않고 예를 들어 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체에 비해 면역 반응 또는 면역계를 억제 또는 저해하는 증가된 능력을 갖는다. 면역 반응 또는 면역계를 억제 또는 저해하는 증가된 능력은 T 세포 공동자극 수용체의 증진된 효능제 활성 및/또는 억제 수용체의 증진된 길항제 활성으로부터 비롯될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계를 자극하는 증가된 능력은 면역 반응을 측정하는 검정, 예를 들어 시토카인 또는 케모카인 방출, 세포용해 활성 (표적 세포 상에서 직접적으로 또는 CD107a 또는 그랜자임을 검출하는 것을 통해 간접적으로 결정됨) 및 증식에서의 변화를 측정하는 검정에서 EC_{50}의 배수 증가 또는 활성의 최대 수준에 의해 반영될 수 있다. 면역 반응 또는 면역계 활성을 억제 또는 저해하는 능력은 적어도 10%, 30%, 50%, 75%, 2배, 3배, 5배 또는 그 초과만큼 증진될 수 있다.

[0139] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역 또는 그의 부분, 예를 들어 힌지는 다른 중쇄 불변 영역, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 및/또는 IgG4 중쇄 불변 영역과 비교하여 더 강성이다. 예를 들어, 변형된 중쇄 불변 영역은 그의 자연 발생 중쇄 불변 영역 또는 힌지보다 더 강성인 비-자연 발생 중쇄 불변 영역이거나, 또는 그보다 더 강성인 부분, 예를 들어 힌지를 갖는다. 중쇄 불변 영역 또는 그의 부분, 예컨대 힌지의 강성은 힌지를 포함하는 항체의 회전 반경을 측정 또는 비교하는, 예를 들어 컴퓨터 모델링, 전자 현미경검사, 분광분석법, 예컨대 핵 자기 공명 (NMR), X선 결정학 (B-인자) 또는 침강 속도 분석용 초원심분리 (AUC)에 의해 결정될 수 있다. 대안적으로, 중쇄 불변 영역 또는 그의 부분의 강성은, 예를 들어 본원에 추가로 기재된 바와 같이, 항체/항원 복합체의 크기를 측정함으로써 결정될 수 있다.

[0140] 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하고, 관련 기술분야에 공지되고 본원에 기재된 방법론에 따라 결정된 바와 같은 증진된 기능적 특성을 나타내는 항체는, 동일한 항체이지만 상이한 중쇄 불변 영역을 갖는 항체에서 관찰되는 것에 비해 특정한 활성에서의 통계적으로 유의한 차이와 관련되는 것으로 이해될 것이다.

[0141] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 이소형의 힌지 ("IgG2 힌지") 및 CH1, CH2 및 CH3 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 힌지 및 CH1, CH2 및 CH3 도메인을 포함하고, 여기서 CH1, CH2 및 CH3 도메인 중 적어도 하나는 IgG2 이소형의 것이 아니다. 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 힌지 및 CH1, CH2 및 CH3 도메인을 포함하고, 여기서 중쇄 불변 도메인은 야생형 IgG2 불변 영역이 아니거나 또는 아미노산 219 또는 220에서의 돌연변이를 갖는 IgG2 불변 영역이 아니다. IgG2 힌지는 야생형 IgG2 힌지, 예를 들어 야생형 인간 IgG2 힌지 (예를 들어, 서열식별번호: 8을 가짐) 또는 그의 변이체일 수 있으며, 단 IgG2 힌지는 비-IgG2 힌지를 포함하거나 또는 IgG1 중쇄를 포함하는 동일한 항체의 경우에 비해 증진된 활성을 항체에 부여하는 능력을 보유한다. 특정 실시양태에서, IgG2 힌지 변이체는 야생형 IgG2 힌지의 것과 유사한 강성 또는 강직성을 보유한다. 힌지의 강성은 힌지를 포함하는 항체의 회전 반경을 측정 또는 비교하는, 예를 들어 컴퓨터 모델링, 전자 현미경검사, 분광분석법, 예컨대 핵 자기 공명 (NMR), X선 결정학 (B-인자) 또는 침강 속도 분석용 초원심분리 (AUC)에 의해 결정될 수 있다. 힌지를 포함하는 항체가 상이한 힌지, 예를 들어 IgG1 힌지를 갖는 동일한 항체의 값과 5%, 10%, 25%, 50%, 75% 또는 100% 미만으로 상이한, 이전 문장에 기재된 시험 중 하나로부터 수득된 값을 갖는 경우에, 힌지는 또 다른 힌지의 것과 유사한 또는 그에 비해 더 높은 강성을 갖는다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 시험으로부터 이들 시험의 결과를 해석함으로써 힌지가 또 다른 힌지의 것과 적어도 유사한 강성을 갖는지 여부를 결정할 수 있을 것이다.

[0142] 예시적인 인간 IgG2 힌지 변이체는 4개의 시스테인 잔기 (즉, C219, C220, C226 및 C229) 중 하나 이상을 또 다른 아미노산으로 치환시킨 것을 포함하는 IgG2 힌지이다. 시스테인은 세린에 의해 대체될 수 있다. 예시적인 IgG2 힌지는 C219X 돌연변이 또는 C220X 돌연변이를 포함하는 인간 IgG2 힌지이며, 여기서 X는 시스테인을 제외한 임의의 아미노산이다. 특정 실시양태에서, IgG2 힌지는 C219X 치환 및 C220X 치환 둘 다를 포함하지 않는다. 특정 실시양태에서, IgG2 힌지는 C219S 또는 C220S를 포함하지만, C219S 및 C220S 둘 다를 포함하지는 않는다. 사용될 수 있는 다른 IgG2 힌지 변이체는 C220, C226 및/또는 C229 치환, 예를 들어 C220S, C226S 또는 C229S 돌연변이 (이는 C219S 돌연변이와 조합될 수 있음)를 포함하는 인간 IgG2 힌지를 포함한다. IgG2 힌지는 또한 힌지의 한 부분이 또 다른 이소형의 것인 IgG2 힌지일 수 있으며 (즉, 키메라 또는 하이브리드 힌지임), 단 키메라 힌지의 강성은 야생형 IgG2 힌지의 것과 적어도 유사하다. 예를 들어, IgG2 힌지는 하부 힌지 (표 2에 정의된 바와 같음)가 IgG1 이소형의 것이고 예를 들어 야생형 IgG1 하부 힌지인 IgG2 힌지일 수 있다.

[0143] "하이브리드" 또는 "키메라" 힌지는 힌지의 연속 아미노산의 절반 초과가 특정 이소형으로부터의 것인 경우에, 그러한 이소형의 것으로 지칭된다. 예를 들어, IgG2의 상부 및 중간 힌지, 및 IgG1의 하부 힌지를 갖는 힌지는 IgG2 하이브리드 힌지인 것으로 간주된다.

[0144] 특정 실시양태에서, 항체는 표 4에 제시된 서열, 예를 들어 하기 아미노산 서열: 8, 21, 22, 23, 126-129 및 134-147 중 하나를 포함하는 IgG2 힌지를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함한다. 특정 실시양태에서, 힌지는 서열식별번호: 8, 21, 126, 134 또는 135를 포함하며, 여기서 1, 2, 3개 또는 모든 4개의 아미노산 P233, V234, A235 및 G237 (C-말단 4개의 아미노산 "PVAG" (서열식별번호: 148)에 상응함)은 결실되거나 또는 또 다른 아미노산, 예를 들어 IgG1 힌지의 C-말단의 아미노산 (ELLG (서열식별번호: 149) 또는 ELLGG (서열식별번호: 150))으로 치환된다. 특정 실시양태에서, 힌지는 서열식별번호: 8, 21, 126, 134 또는 135를 포함하며, 여기서 V234, A235 및 G237은 결실되거나 또는 또 다른 아미노산으로 치환된다. 특정 실시양태에서, 힌지는 서열식별번호: 8, 21, 126, 134 또는 135를 포함하며, 여기서 A235 및 G237은 결실되거나 또는 또 다른 아미노산으로 치환된다. 특정 실시양태에서, 힌지는 서열식별번호: 8, 21, 126, 134 또는 135를 포함하며, 여기서 G237은 결실되거나 또는 또 다른 아미노산으로 치환된다. 특정 실시양태에서, 힌지는 서열식별번호: 8, 21, 126, 134 또는 135를 포함하며, 여기서 V234 및 A235는 결실되거나 또는 또 다른 아미노산으로 치환된다. 서열식별번호: 22 또는 138을 갖는 하이브리드 힌지 또는 그의 변이체 (예를 들어, 표 4 참조)를 수득하기 위해 IgG2 내의 PVAG (서열식별번호: 143)를 IgG1 힌지의 상응하는 아미노산, 즉 ELLG (서열식별번호: 144) 또는 ELLGG (서열식별번호: 145)로 치환하는 것은, IgG2 힌지의 이점 및 IgG1 힌지의 이펙터 기능을 갖는 힌지를 제공한다.

[0145] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 표 4 내의 서열, 예를 들어 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 127-132 및 134-141 중 하나로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어지고, 특정 실시양태에서 추가의 힌지 아미노산 잔기를 포함하지 않는 힌지를 포함한다.

[0146] 표 4: 예시적인 IgG2 힌지

IgG2 힌지 설명	아미노산 서열	SEQ ID NO:
야생형 IgG2	ERKCCVECPPCPAPPVAG	8
C219S를 갖는 IgG2	ERKSCVECPPCPAPPVAG	21
C220S를 갖는 IgG2	ERKCSVECPPCPAPPVAG	126
C219X를 갖는 IgG2	ERKXCVECPPCPAPPVAG	134
C220X를 갖는 IgG2	ERKCXVECPPCPAPPVAG	135
C-말단 X를 갖는 야생형 IgG2	ERKCCVECPPCPAPPVAGX	143
C-말단 X와 C219S를 갖는 IgG2	ERKSCVECPPCPAPPVAGX	144
C-말단 X와 C220S를 갖는 IgG2	ERKCSVECPPCPAPPVAGX	145
C-말단 X와 C219X를 갖는 IgG2	ERKXCVECPPCPAPPVAGX	146
C-말단 X와 C220X를 갖는 IgG2	ERKCXVECPPCPAPPVAGX	147
IgG2/IgG1 하이브리드	ERKCCVECPPCPAPELLGG	22
C219S를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드	ERKSCVECPPCPAPELLGG	23
C220S를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드	ERKCSVECPPCPAPELLGG	127
C219X를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드	ERKXCVECPPCPAPELLGG	136
C220X를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드	ERKCXVECPPCPAPELLGG	137
IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKCCVECPPCPAPELLG	138
C219S를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKSCVECPPCPAPELLG	139
C220S를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKCSVECPPCPAPELLG	140
C219X를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKXCVECPPCPAPELLG	141
C220X를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKCXVECPPCPAPELLG	142
말단절단된 야생형 IgG2	ERKCCVECPPCPAP	128
C219S를 갖는 말단절단된 야생형 IgG2	ERKSCVECPPCPAP	129
C220S를 갖는 말단절단된 야생형 IgG2	ERKCSVECPPCPAP	130
C219X를 갖는 말단절단된 야생형 IgG2	ERKXCVECPPCPAP	131
C220X를 갖는 말단절단된 야생형 IgG2	ERKCXVECPPCPAP	132

[0147]

[0148] X는 시스테인을 제외한 임의의 아미노산이다.

[0149] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 표 4에 제시된 IgG2 힌지를 포함하며, 여기서 1-5, 1-3, 1-2 또는 1개의 아미노산이 아미노산 잔기 CVE와 CPP사이에 삽입된다. 특정 실시양태에서, THT 또는 GGG가 삽입된다. 특정 실시양태에서, 1, 1-2 또는 1-3개의 아미노산이 힌지와 CH2 도메인 사이에 삽입될 수 있다. 예를 들어, 추가의 글리신이 힌지와 CH2 도메인 사이에 삽입될 수 있다.

[0150] 특정 실시양태에서 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG1 또는 IgG2 불변 영역이며, 여기서 힌지는 1-10개의 아미노산의 결실을 포함한다. 실시예에 제시된 바와 같이, 아미노산 잔기 SCDKTHT (S219, C220, D221, K222, T223, H224 및 T225; 서열식별번호: 151)가 결여된 IgG1 항체는 야생형 IgG1 불변 영역을 갖는 동일한 항체보다 더 효과적으로 항체 매개된 CD73 내재화를 부여하였다. 유사하게, IgG2 항체와 관련하여, 아미노산 잔기 CCVE (C219, C220, V222, 및 E224; 서열식별번호: 152)가 결여된 IgG2 항체는 야생형 IgG1 불변 영역을 갖는 동일한 항체보다 더 효과적으로 항체 매개된 CD73 내재화를 부여하였다. 따라서, 힌지가, IgG1 항체의 경우에 잔기 S219, C220, D221, K222, T223, H224 및 T225로부터 선택되고 IgG2 항체의 경우에 잔기 C219, C220, V222, 및 E224로부터 선택된 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7개의 아미노산 잔기의 결실을 포함하는 것인 변형된 중쇄 불변 영역이 본원에 제공된다.

[0151] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG1 또는 IgG2 이소형의 야생형 CH1 도메인인 CH1 도메인 (각각 "IgG1 CH1 도메인" 또는 "IgG2 CH1 도메인")을 포함한다. 이소형 IgG3 및 IgG4의 CH1 도메인 (각각 "IgG3 CH1 도메인 및 "IgG2 CH1 도메인")이 또한 사용될 수 있다. CH1 도메인은 또한, 야생형 CH1 도메인의 변이체, 예를 들어 야생형 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 CH1 도메인의 변이체일 수 있다. CH1 도메인의 예시적인 변이체는 A114C, C131S 및/또는 T173C를 포함한다. CH1 도메인, 예를 들어 IgG2 CH1 도메인은 치환 C131S를 포함할 수 있으며, 이러한 치환은 IgG2 항체, 또는 IgG2 CH1 및 힌지를 갖는 항체에 B 형태 (또는 입체형태)를 부여한다.

[0152] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG2 이소형의 것인 CH1 도메인을 포함한다. 특정 실시양태에서, CH1 도메인은, 예를 들어 아미노산 서열: ASTKGPSVFPLAP**C**S**R**STS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS*NF*GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV (서열식별번호: 7)를 갖는 야생형 IgG2 CH1 도메인이다. 특정 실시양태에서, CH1 도메인은 서열식별번호: 7의 변이체이고, 서열식별번호: 7 대비 1-10, 1-5, 1-2 또는 1개의 아미노산 치환 또는 결실을 포함한다. 실시예에 추가로 기재된 바와 같이, IgG2 CH1 도메인 또는 그의 변이체는 IgG1 항체에 비해 증진된 특성을 항체에 부여하고, 항체가 또한 IgG2 힌지를 포함하는 경우에는 훨씬 더 증진된 특성을 부여하는 것으로 본원에서 밝혀졌다. 특정 실시양태에서, IgG2 CH1 변이체는 하기 아미노산 잔기: C131, R133, E137 및 S138 (이들 아미노산 잔기는 상기 제시된 서열식별번호: 7에서 볼드체 및 밑줄로 제시되어 있음) 중 하나 이상에서의 아미노산 치환 또는 결실을 포함하지 않는다. 예를 들어, 변형된 중쇄 불변 영역은 R133, E137 및 S138 중 어느 것도 또 다른 아미노산으로 치환되지 않거나 결실되지 않거나, 또는 C131, R133, E137 및 S138 중 어느 것도 또 다른 아미노산으로 치환되지 않거나 결실되지 않은 IgG2 CH1 도메인을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, C131은 또 다른 아미노산, 예를 들어 C131S로 치환되며, 이러한 치환은 항체가 입체형태 B를 채택하도록 촉발한다. 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 입체형태 A 및 입체형태 B 항체 둘 다는, IgG1 불변 영역을 갖는 동일한 항체에 비해 증진된 활성을 갖는 것으로 본원에서 밝혀졌다.

[0153] 특정 실시양태에서, N192 및/또는 F193 (상기 제시된 서열식별번호: 7에서 이탤릭체 및 밑줄표시된 잔기로 제시됨)은 또 다른 아미노산, 예를 들어 IgG1 내의 상응하는 아미노산, 즉 N192S 및/또는 F193L로 치환된다.

[0154] 특정 실시양태에서, IgG2 CH1 도메인의 1개 이상의 아미노산 잔기는 IgG4 내의 상응하는 아미노산 잔기로 치환된다. 예를 들어, N192는 N192S일 수 있고/거나; F193은 F193L일 수 있고/거나; C131은 C131K일 수 있고/거나; T214는 T214R일 수 있다.

[0155] 항체는 IgG2 CH1 도메인 또는 그의 변이체 및 IgG2 힌지 또는 그의 변이체를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함할 수 있다. 힌지 및 CH1 도메인은 본원에 기재된 임의의 IgG2 힌지와 IgG2 CH1 도메인의 조합일 수 있다. 특정 실시양태에서, IgG2 CH1 및 힌지는 하기 아미노산 서열 ASTKGPSVFPLAP**C**S**R**STS**ES**TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS*NF*GTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG (서열식별번호: 133), 또는 그와 최대 1-10개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함한다. 아미노산 변이체는 상기 힌지 및 CH1 도메인에 대해 기재된 바와 같다.

[0156] 특정 실시양태에서, 항체는 적어도 IgG2 힌지, 및 임의로 또한 IgG2 CH1 도메인, 또는 힌지 및/또는 CH1 도메인의 단편 또는 유도체를 포함하고, 항체는 형태 (또는 입체형태) A를 채택하였다 (예를 들어, 문헌 [Allen et al. (2009) Biochemistry 48:3755] 참조). 특정 실시양태에서, 항체는 적어도 IgG2 힌지, 및 임의로 또한 IgG2 CH1 도메인, 또는 힌지 및/또는 CH1 도메인의 단편 또는 유도체를 포함하고, 항체는 형태 B를 채택하였다 (예를 들어, 문헌 [Allen et al. (2009) Biochemistry 48:3755] 참조).

[0157] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소형의 야생형 CH2 도메인인 CH2 도메인 (각각 "IgG1 CH2 도메인", "IgG2 CH2 도메인", "IgG3 CH2 도메인" 또는 "IgG4 CH2 도메인")을 포함한다. CH2 도메인은 또한, 야생형 CH2 도메인의 변이체, 예를 들어 야생형 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 CH2 도메인의 변이체일 수 있다. CH2 도메인의 예시적인 변이체는 항체의 Fc 영역의 생물학적 활성, 예컨대 ADCC 또는 CDC를 조정하거나 또는 항체의 반감기 또는 그의 안정성을 조정하는 변이체를 포함한다. 한 실시양태에서, CH2 도메인은 A330S 및/또는 P331S 돌연변이를 갖는 인간 IgG1 CH2 도메인이며, 여기서 CH2 도메인은 돌연변이를 갖지 않는 동일한 CH2 돌연변이에 비해 감소된 이펙터 기능을 갖는다. CH2 도메인은 증진된 이펙터 기능을 가질 수 있다. CH2 도메인은 하기 돌연변이: SE (S267E), SELF (S267E/L328F), SDIE (S239D/I332E), SEFF, GASDALIE (G236A/S239D/A330L/I332E) 중 1개 이상을 포함할 수 있고/거나 하기 아미노산: E233, L235, G237, P238, H268, P271, L328, A330 및 K322에서의 1개 이상의 돌연변이를 포함할 수 있다. 이들 돌연변이의 일부는 실제로 본원에 정의된 바와 같은 CH2 도메인보다는 오히려 힌지의 일부라는 것을 주목한다. 다른 돌연

변이가 본원의 다른 곳에 추가로 제시된다.

[0158] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소형의 야생형 CH3 도메인인 CH3 도메인 (각각 "IgG1 CH3 도메인", "IgG2 CH3 도메인", "IgG3 CH3 도메인" 또는 "IgG4 CH3 도메인")을 포함한다. CH3 도메인은 또한, 야생형 CH3 도메인의 변이체, 예를 들어 야생형 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 CH3 도메인의 변이체일 수 있다. CH3 도메인의 예시적인 변이체는 항체의 Fc 영역의 생물학적 활성, 예컨대 ADCC 또는 CDC를 조정하거나 또는 항체의 반감기 또는 그의 안정성을 조정하는 변이체를 포함한다.

[0159] 일반적으로, CH1, 힌지, CH2 또는 CH3 도메인의 변이체는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 돌연변이, 및/또는 최대 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 또는 1개의 돌연변이, 또는 1-10 또는 1-5개의 돌연변이를 포함할 수 있거나, 또는 상응하는 야생형 도메인 (각각 CH1, 힌지, CH2 또는 CH3 도메인)의 것에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있으며, 단 특정 변이체를 포함하는 중쇄 불변 영역은 필수 생물학적 활성을 보유한다.

[0160] 표 5는 인간 CH1, 힌지, CH2 및/또는 CH3 도메인을 포함하는 예시적인 인간 중쇄 불변 영역을 제시하며, 여기서 각각의 도메인은 야생형 도메인, 또는 중쇄 불변 영역에 목적하는 생물학적 활성을 제공하는 그의 변이체이다. 표 5에서 비어있는 셀은 도메인이 존재하거나 또는 존재하지 않고, 존재하는 경우에는 임의의 이소형, 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4의 것일 수 있음을 나타낸다. 예를 들어, 표 5 내의 중쇄 불변 영역 1을 포함하는 항체는 적어도 IgG2 힌지를 포함하고, 또한 CH1, CH2 및/또는 CH3 도메인을 포함할 수 있으며, 존재하는 경우에 CH1, CH2 및/또는 CH3 도메인은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소형의 것인 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이다. 표 5의 이해를 위한 또 다른 예로서, 중쇄 불변 영역 8을 포함하는 항체는 IgG1 CH1 도메인, 및 IgG2 힌지, IgG1 CH2 도메인을 포함하고, 또한 CH3 도메인을 포함할 수 있거나 또는 포함하지 않을 수 있으며, 존재하는 경우에 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소형의 것일 수 있는 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체이다.

[0161] 표 5

MHCCR*	CH1	힌지	CH2	CH3
1		IgG2		
2	IgG1	IgG2		
3	IgG2	IgG2		
4		IgG2	IgG1	
5		IgG2	IgG2	
6		IgG2		IgG1
7		IgG2		IgG2
8	IgG1	IgG2	IgG1	
9	IgG1	IgG2	IgG2	
10	IgG2	IgG2	IgG1	
11	IgG2	IgG2	IgG2	
12	IgG1	IgG2		IgG1
13	IgG1	IgG2		IgG2
14	IgG2	IgG2		IgG1
15	IgG2	IgG2		IgG2
16		IgG2	IgG1	IgG1
17		IgG2	IgG1	IgG2
18		IgG2	IgG2	IgG1
19		IgG2	IgG2	IgG2
20	IgG1	IgG2	IgG1	IgG1
21	IgG1	IgG2	IgG1	IgG2
22	IgG1	IgG2	IgG2	IgG1
23	IgG1	IgG2	IgG2	IgG2
24	IgG2	IgG2	IgG1	IgG1
25	IgG2	IgG2	IgG1	IgG2
26	IgG2	IgG2	IgG2	IgG1
27	IgG2	IgG2	IgG2	IgG2

[0162]

[0163] * 변형된 중쇄 불변 영역

[0164] 특정 실시양태에서, 표 5에 제시된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 특정 중쇄 불변 영역을 포함하지 않는 중쇄 불변 영역을 포함하는 동일한 항체에 비해 또는 IgG1 불변 영역을 포함하는 동일한 항체에 비해 증진된 생물학적 활성을 갖는다.

[0165] 특정 실시양태에서, 비-IgG2 힌지 및/또는 비-IgG2 CH1 도메인을 포함하는 항체의 생물학적 활성을 개선시키는 방법은 비-IgG2 힌지 및/또는 비-IgG2 CH1 도메인을 포함하는 항체를 제공하는 단계 및 비-IgG2 힌지 및 비-IgG2 CH1 도메인을 각각 IgG2 힌지 및 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계를 포함한다. 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않는 항체의 생물학적 활성을 개선시키는 방법은 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않는 항체를 제공하는 단계 및 그의 중쇄 불변 영역을 변형된 중쇄 불변 영역으로 대체하는 단계를 포함할 수 있다.

[0166] 예시적인 변형된 중쇄 불변 영역이 표 6에 제공되며, 이는 각각의 도메인의 정체를 제시한다.

[0167] 표 6

변형된 중쇄 불변 영역	CH1	힌지	CH2	CH3	전체 MHCCR의 SEQ ID NO
IgG1-IgG2-IgG1	IgG1 야생형 SEQ ID NO:2	IgG2/IgG1 SEQ ID NO:22	IgG1 야생형 SEQ ID NO:4	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:26
IgG1-IgG2-IgG12	IgG1 야생형 SEQ ID NO:2	IgG2 야생형 SEQ ID NO:8	IgG1 야생형 SEQ ID NO:4	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:27
IgG1-IgG2CS-IgG1	IgG1 야생형 SEQ ID NO:2	IgG2C219S/IgG1 SEQ ID NO:23	IgG1 야생형 SEQ ID NO:4	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:32
IgG1-IgG2CS-IgG12	IgG1 야생형 SEQ ID NO:2	IgG2 C219S SEQ ID NO:21	IgG1 야생형 SEQ ID NO:4	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:33
IgG2-IgG1	IgG2 야생형 SEQ ID NO:7	IgG2/IgG1 SEQ ID NO:22	IgG1 야생형 SEQ ID NO:4	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:28
IgG2-IgG12	IgG2 야생형 SEQ ID NO:7	IgG2 야생형 SEQ ID NO:8	IgG1 야생형 SEQ ID NO:4	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:29
IgG2CS-IgG1	IgG2 야생형 SEQ ID NO:7	IgG2C219S/IgG1 SEQ ID NO:23	IgG1 야생형 SEQ ID NO:4	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:34
IgG2CS-IgG12	IgG2 야생형 SEQ ID NO:7	IgG2 C219S SEQ ID NO:21	IgG1 야생형 SEQ ID NO:4	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:35
IgG1CH1-IgG2힌지-IgG1CH2 (A330S, P331S)-IgG1CH3 또는 IgG1-IgG2-IgG1.1	IgG1 야생형 SEQ ID NO:2	IgG2 야생형 SEQ ID NO:8	IgG1 A330S/P331S SEQ ID NO:24	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:30
IgG1CH1-IgG2힌지(C219S)-IgG1CH2(A330S, P331S)-IgG1CH3 또는 IgG1-IgG2CS-IgG1.1	IgG1 야생형 SEQ ID NO:2	IgG2 C219S SEQ ID NO:21	IgG1 A330S/P331S SEQ ID NO:24	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:36
IgG2-IgG1.1	IgG2 야생형 SEQ ID NO:7	IgG2 야생형 SEQ ID NO:8	IgG1 A330S/P331S SEQ ID NO:24	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:31
IgG2CS-IgG1.1	IgG2 야생형 SEQ ID NO:7	IgG2 C219S SEQ ID NO:21	IgG1 A330S/P331S SEQ ID NO:24	IgG1 야생형 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:37

[0168]

[0169] 특정 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 126-132, 134-136 및 137 중 어느 하나를 포함하는 IgG2 힌지 또는 그의 변이체, 예컨대 (i) 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 126-132, 134-136 및 137 중 어느 하나와 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이한 아미노산 서열; (ii) 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 126-132, 134-136 및 137 중 어느 하나와 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이한 아미노산 서열; (iii) 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 126-132, 134-136 및 137 중 어느 하나와 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이한 아미노산 서열 및/또는 (iv) 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 126-132, 134-136 또는 137 중 어느 하나에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 아미노산 서열을 포함하는 IgG2 힌지를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하며, 여기서 (i)-(iv) 중 임의의 것에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비-보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 불변 영역은 또 다른 중쇄 불변 영역, 예를 들어 비-IgG2 힌지를 포함하는 중쇄 불변 영역에 비해 또는 비-IgG2 힌지를 포함하는 동일한 변형된 중쇄 불변 영역에 비해 증진된 생물학적 활성을 갖는다.

[0170] 특정 실시양태에서, 힌지는 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 126-132, 134-136 및 137 중 어느 하나의 변이체인 서열을 포함하고, 여기서 R217 (야생형 IgG2 힌지 (서열식별번호: 8) 내의 제2 아미노산)은 결실되거나 또 다른 아미노산으로 치환되지 않는다. 힌지가 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 126-132, 134-136 및 137 중 어느 하나의 변이체인 특정 실시양태에서, 힌지는 야생형 IgG2의 경우와 유사한 강직성을 갖는다.

[0171] 특정 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 2를 포함하는 IgG1 CH1 도메인 또는 서열식별번호: 7을 포함하는 IgG2 CH1 도메인 또는 서열식별번호: 2 또는 7의 변이체를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하고, 이러한 변이체는 (i) 서열식별번호: 2 또는 7과 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (ii) 서열식별번호: 2 또는 7과 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iii) 서열식별번호: 2 또는 7과 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iv) 서열식별번호: 2 또는 7에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (i)-(iv) 중 임의의 것에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비-보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 불변 영역은 또 다른 중쇄 불변 영역, 예를 들어 비-IgG2 힌지를 포함하는 중쇄 불변 영역의 것에 비해 또는 비-IgG2 힌지를 포함하는 동일한 변형된 중쇄 불변 영역에 비해 증진된 생물학적 활성을 갖는다.

[0172] 특정 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 4 또는 24를 포함하는 IgG1 CH2 도메인 또는 서열식별번호: 4 또는 24의 변이체를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하고, 이러한 변이체는 (i) 서열식별번호: 4 또는 24와 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (ii) 서열식별번호: 4 또는 24와 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iii) 서열식별번호: 4 또는 24와 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iv) 서열식별번호: 4 또는 24에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (i)-(iv) 중 임의의 것에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비-보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 불변 영역은 또 다른 중쇄 불변 영역, 예를 들어 비-IgG2 힌지를 포함하는 중쇄 불변 영역의 것에 비해 또는 비-IgG2 힌지를 포함하는 동일한 변형된 중쇄 불변 영역에 비해 증진된 생물학적 활성을 갖는다.

[0173] 특정 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 5를 포함하는 IgG1 CH3 도메인 또는 서열식별번호: 5의 변이체를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하고, 이러한 변이체는 (i) 서열식별번호: 5와 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (ii) 서열식별번호: 5와 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iii) 서열식별번호: 5와 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iv) 서열식별번호: 5에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (i)-(iv) 중 임의의 것에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비-보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 불변 영역은 또 다른 중쇄 불변 영역, 예를 들어 비-IgG2 힌지를 포함하는 중쇄 불변 영역의 것에 비해 또는 비-IgG2 힌지를 포함하는 동일한 변형된 중쇄 불변 영역에 비해 증진된 생물학적 활성을 갖는다.

[0174] 변형된 중쇄 불변 영역은 또한, 상기 기재된 CH1, 힌지, CH2 및 CH3 도메인의 조합을 포함할 수 있다.

[0175] 특정 실시양태에서, 항체는 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역 또는 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역의 변이체를 포함하고, 이러한 변이체는 (i) 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역과 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (ii) 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역과 최대 10, 9, 8, 7, 6,5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iii) 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역과 1-5, 1-3, 1-2, 2-5, 3-5, 1-10, 또는 5-10개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iv) 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (i)-(iv) 중 임의의 것에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비-보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 불변 영역은 또 다른 중쇄 불변 영역, 예를 들어 비-IgG2 힌지를 포함하는 중쇄 불변 영역의 것에 비해 또는 비-IgG2 힌지를 포함하는 동일한 변형된 중쇄 불변 영역에 비해 증진된 생물학적 활성을 갖는다.

[0176] 특정 실시양태에서, 항체는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역, 또는 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나의 변이체를 포함하고, 이러한 변이체는 (i) 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나와 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (ii) 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나와 최대 10, 9, 8, 7, 6,5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iii) 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나와 1-5, 1-3, 1-2, 2-5, 3-5, 1-10 또는 5-10개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iv) 서열식별번호: 26-37, 54-56, 78-125, 152-232, 234-245 및 247-262 중 어느 하나에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%

또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (i)-(iv) 중 임의의 것에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비-보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 불변 영역은 또 다른 중쇄 불변 영역, 예를 들어 비-IgG2 힌지를 포함하는 중쇄 불변 영역의 것에 비해 또는 비-IgG2 힌지를 포함하는 동일한 변형된 중쇄 불변 영역에 비해 증진된 생물학적 활성 (및/또는 감소된 이펙터 기능)을 갖는다.

[0177] 변형된 중쇄 불변 영역은 (i) 야생형 중쇄 불변 영역과 유사하거나, 그에 비해 감소 또는 증가된 이펙터 기능 (예를 들어, FcγR에의 결합) 및/또는 (ii) 야생형 중쇄 불변 영역과 유사하거나, 그에 비해 감소 또는 증가된 반감기 (또는 FcRn 수용체에의 결합)를 가질 수 있다.

[0178] 특정 실시양태에서, 항체 (또는 그의 항원 결합 단편)는 서열식별번호: 198 또는 P238K를 포함하는 그의 부분을 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역, 또는 서열식별번호: 198의 어느 하나 또는 그의 부분의 변이체를 포함하고, 이러한 변이체는 (i) 서열식별번호: 198 또는 P238K를 포함하는 그의 부분과 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (ii) 서열식별번호: 198 또는 P238K를 포함하는 그의 부분과 최대 10, 9, 8, 7, 6,5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iii) 서열식별번호: 198 또는 P238K를 포함하는 그의 부분과 1-5, 1-3, 1-2, 2-5, 3-5, 1-10, 또는 5-10개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iv) 서열식별번호: 198 또는 P238K를 포함하는 그의 부분에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비-보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 변형된 중쇄 불변 영역은 본원에 기재된 검정에서 결정된 바와 같은, 감소된 이펙터 기능, 예를 들어 저친화도 FcγR (예를 들어, CD32a, CD32b 및 CD16a)에 대한 검출불가능한 결합 및 임의로 고친화도 FcγR (CD64)에 대한 검출불가능한 결합을 갖는다.

[0179] 특정 실시양태에서, P238K 돌연변이를 포함하는 (예를 들어, 서열식별번호: 198 또는 그의 부분을 포함하는) IgG1 Fc는 야생형 IgG1 Fc, 예를 들어 본원에 기재된 것에 비해 다른 돌연변이를 포함하지 않는다. 특정 실시양태에서, P238K 돌연변이를 포함하는 (예를 들어, 서열식별번호: 198 또는 그의 부분을 포함하는) IgG1 Fc는 야생형 인간 IgG1 Fc에 비해 P238K 이외에도 1-5개의 아미노산 변화를 포함하고, 예를 들어 서열식별번호: 198 또는 그의 부분 및 서열식별번호: 198 또는 그의 부분에 비해 1-5개의 아미노산 변화를 포함하며, 단 IgG1 Fc는 감소된 이펙터 기능을 갖는다.

[0180] 특정 실시양태에서, P238K 돌연변이를 포함하는 IgG1 Fc는 이펙터 기능을 감소시키는 임의의 다른 돌연변이를 포함하지 않는다. 특정 실시양태에서, P238K 돌연변이를 포함하는 IgG1 Fc는 이펙터 기능을 감소시키는 1-5개의 돌연변이를 포함한다.

[0181] 특정 실시양태에서, P238K 돌연변이를 포함하는 IgG Fc는 또한 L235E 돌연변이 및/또는 K322A 돌연변이를 포함하고, 특정 실시양태에서는 Fc 이펙터 기능을 조정하는 임의의 추가의 Fc 돌연변이를 함유하지 않을 수 있고, 예를 들어 P330, P331에서의 돌연변이, 또는 하부 힌지, 예를 들어 아미노산 234 및 236-237에서의 돌연변이를 포함하지 않는다. IgG는 IgG1 또는 IgG2일 수 있다.

[0182] 특정 실시양태에서, 항체는 IgG2 불변 도메인 또는 적어도 그의 힌지를 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함하고, 여기서 IgG2 불변 도메인 또는 그의 힌지는 P238A, P238K, L235A, K322A로 이루어진 군으로부터 선택된 돌연변이, 및 임의로 C219 및/또는 C220에서의 돌연변이, 예를 들어 C219S 및/또는 C220S를 포함한다.

[0183] 특정 실시양태에서, 항체는 L234A, L235E 및 G237A 중 하나 이상을 포함하는 IgG1 불변 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 본원에 사용된 "IgG1.3"은 L234A, L235E 및 G237A를 포함하는 IgG1 중쇄를 지칭한다 (예를 들어, 서열식별번호: 248 참조). 이들 3개의 돌연변이를 포함하는 IgG1 불변 영역은 또한 추가의 돌연변이, 예컨대 본원에 기재된 것을 포함할 수 있다. L234A, L235E 및 G237A 돌연변이 및 추가의 돌연변이를 포함하는 예시적인 서열이 본원 서열 표에 제공된다. IgG1.3 Fc는 유의하게 감소된 이펙터 기능, 예컨대 ADCC 및 CDC를 갖는 항체를 제공한다. 특정 실시양태에서, Fc는 IgG1.3의 돌연변이 및 추가의 돌연변이, 예를 들어 P238K를 포함한다.

[0184] 특정 실시양태에서, 항체는 IgG1.3 중쇄 불변 영역을 포함하고, 이러한 불변 영역은 L234A, L235E 및 G237A 이외에 이펙터 기능을 조정하는 어떠한 다른 돌연변이도 포함하지 않는다. 특정 실시양태에서, 항체는 L234A, L235E 및 G237A 이외에 어떠한 다른 돌연변이도 포함하지 않는 IgG1.3 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0185] 중쇄 불변 영역이 서열 표에 제공된다. 특정 실시양태에서, 항체는 표에 제시된 중쇄 불변 영역 중 하나를 포함하고, 여기서 불변 영역은 표에 제시된 서열 내의 돌연변이 이외에 어떠한 다른 돌연변이도 포함하지 않는다.

특정 실시양태에서, 항체는 표에 제시된 중쇄 불변 영역 중 하나를 포함하며, 여기서 불변 영역은 (i) 서열 표 내의 서열과 1, 2, 3, 4 또는 5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (ii) 서열 표 내의 서열과 최대 5, 4, 3, 2 또는 1개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iii) 서열 표 내의 서열과 1-5, 1-3, 1-2, 2-5 또는 3-5개의 아미노산 치환, 부가 또는 결실로 상이하고/거나; (iv) 서열 표 내의 서열에 대해 적어도 약 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 아미노산 서열을 포함하며, 여기서 (i)-(iv) 중 임의의 것에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환 또는 비-보존적 아미노산 치환일 수 있고; 여기서 불변 영역의 생물학적 활성은 이들 돌연변이(들)에 의해 유의하게 변화되지 않는다.

[0186] 중쇄 불변 영역은 각각의 개별 돌연변이에 의해 부여되는 생물학적 활성의 조합을 중쇄 영역을 포함하는 항체에 부여하는 돌연변이의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 큰 세포 표면 복합체의 효능제 활성 형성을 증진시키거나 또는 항체의 내재화를 증진시키는 1개 이상의 돌연변이는 이펙터 기능을 조정하는 1개 이상의 돌연변이와 조합될 수 있다. 상이한 생물학적 기능을 부여하는 돌연변이의 조합을 포함하는 예시적인 불변 쇄 서열이 서열 표에 제시된다.

[0187] II. 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 항체 및 그의 표적 항원

[0188] 변형된 중쇄 불변 영역은 광범위한 항체, 예컨대 내재화를 필요로 하는 항체 (예를 들어, 항체 약물 접합체 (ADC) 및 항-CD73 항체), 효능제 활성을 필요로 하는 항체 (예를 들어, 면역 반응을 조정하는데, 예를 들어 T 세포 활성화를 자극하는데 효과적인 항체, 예컨대 효능제 항-GITR 항체), 길항제 활성을 필요로 하는 항체 (예를 들어, 면역 반응, 예를 들어 T 세포 활성화를 억제하는 단백질을 억제 또는 차단하는 항체, 예컨대 길항제 PD-1 항체), 이펙터 기능, 예를 들어 ADCC 및 CDC, 또는 감소된 이펙터 기능, 신호 전달, 또는 항종양 활성을 필요로 하는 항체에 사용될 수 있다. 예를 들어, 세포 표면 억제 수용체의 내재화는 수용체(들)와 상호작용하고 세포 기능(들)을 감소시키는 그의 능력을 제한할 수 있다.

[0189] 한 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 도메인을 포함하는 항체는 이들이 세포 표면에 결합할 때, 예를 들어 수용체-매개된 세포내이입을 유도함으로써 활성을 위해 그의 내재화를 필요로 하는 항체 (예를 들어, 세포 표면 수용체에 특이적인 항체)이다. 이러한 항체는 치료적 적용을 위해 약물, 독소, 효소 또는 DNA의 표적화 전달을 위한 비히클로서 사용될 수 있고, 따라서 이들 항체의 내재화 특성을 증가시키는 것이 바람직하다. 효과적인 내재화로부터 이익을 얻을 수 있는 예시적인 항체는 항체 약물 접합체이다. 항체의 내재화 특성을 측정하기 위한 다양한 검정이 관련 기술분야에 공지되어 있고 본원에 기재되어 있다. 이들 검정은, 예를 들어 내재화를 모니터링하기 위한 세척 또는 켄칭-기반 검정에서 사용될 수 있는 항체 표지를 위해 광범위한 염료를 이용한다. 항체 내재화는 또한 형광 표지에 의존하는 세척-부재 검정에서 모니터링될 수 있다.

[0190] 한 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 도메인을 포함하는 항체는 활성을 위해 이들이 결합하는 항원, 예를 들어 세포 표면 분자, 예컨대 수용체 또는 리간드의 내재화를 필요로 하는 항체이다. 따라서, 생물학적 (예를 들어, 치료적) 활성에 대해 하향조절될 필요가 있는 세포 표면 단백질에 대한 항체는 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역을 사용할 수 있다.

[0191] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 도메인을 포함하는 항체는 세포 표면 분자에 결합하고, 세포 표면 분자, 예를 들어 면역 세포, 예를 들어 T 세포, Teff 세포, Th1 세포, Th2 세포, CD4+ T 세포, CD8+ T 세포, Treg 세포, 수지상 세포, 대식세포, 단핵구, 랑게르한스 세포, NK 세포, 골수 유래 억제 세포, B 세포 또는 임의의 다른 면역 세포 상의 세포 표면 분자의 생물학적 활성을 효능화 또는 길항한다. 세포 표면 분자는 자극, 예를 들어 공동-자극 분자 (예를 들어, GITR, OX40, CD137, CD40, ICOS 및 다른 TNFR 패밀리 구성원)일 수 있고, 항체는 활성을 추가로 자극할 수 있거나 (효능제 항체) 또는 항체는 활성을 억제할 수 있다 (길항제 항체). 세포 표면 분자는 억제 분자 (예를 들어, CTLA-4, PD-1, PD-L1, LAG-3, TIM-3)일 수 있고, 항체는 활성을 추가로 자극할 수 있거나 (효능제 항체) 또는 항체는 활성을 억제할 수 있다 (길항제 항체).

[0192] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 도메인을 포함하는 항체는, 예를 들어 T 세포로부터 IL-2 및/또는 IFN-γ 분비를 유도함으로써, 예를 들어 대상체의 면역계를 부스팅하는 자극 (또는 공동자극) 분자의 효능제 항체 (예를 들어, 항-GITR 항체)이다. 다른 효능제 항체는 APC를 활성화시키고/거나, 항종양 T-세포 반응을 촉진시키고/거나, T-세포 면역성의 부재 하에 암을 제어하는 잠재력으로 세포독성 골수 세포를 촉진하는 것으로 나타났다. 자극 분자의 효능제 항체는 음성 면역 체크포인트를 차단하는, 억제 분자의 길항제 항체, 예컨대 항-CTLA-4 또는 항-PD-1와 상이하다. 효능제 활성, 예컨대 T 세포 증식은 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법을 사용하여 측정될 수 있다.

[0193] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 도메인을 포함하는 항체는, 예를 들어 활성화된 T-세포 상에서 발현된 억제 수용체를 표적화하여 음성 면역 체크포인트를 차단 또는 억제함으로써 대상체의 면역 반응을 부스팅하는, 체크포인트 억제제의 길항제 항체, 예컨대 항-CTLA-4 또는 항-PD-1 항체이다. 길항제 활성, 예컨대 T 세포 증식의 억제는 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법을 사용하여 측정될 수 있다.

[0194] 한 실시양태에서, 항체는, 예를 들어 T 세포 상의 (i) 공동-자극 수용체의 효능제 또는 (ii) 억제 신호의 길항제이고, 이들 둘 다는 면역 반응, 예를 들어 항원-특이적 T 세포 반응을 증폭시킬 수 있다 (면역 체크포인트 조절제). 특정 실시양태에서, 항체는, 예를 들어 T 세포 상의 (i) 공동자극 수용체의 길항제 또는 (ii) 억제 신호의 효능제이다. 공동-자극 및 공동-억제 분자는 이뮤노글로불린 슈퍼 패밀리 (IgSF)의 구성원일 수 있고, 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 항체는 이들 중 임의의 것에 결합할 수 있다. 공동-자극 또는 공동-억제 수용체에 결합하는 막-결합된 리간드의 하나의 중요한 패밀리는 B7 패밀리이며, 이는 B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) 및 B7-H6을 포함하고, 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 항체는 이들 중 임의의 것에 결합할 수 있다. 공동-자극 또는 공동-억제 수용체에 결합하는 막 결합된 리간드의 또 다른 패밀리는 동족 TNF 수용체 (TNFR) 패밀리 구성원에 결합하는 분자의 TNF 패밀리이며, 이는 CD40 및 CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137, TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LTβR, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, 림프독소 α/TNFβ, TNFR2, TNFα, LTα, LTβ, LTβR, 림프독소 α1β2, FAS, FASL (CD178), DR3 (TNFRSF25), RELT, DR6, TROY, NGFR을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Tansey (2009) Drug Discovery Today 00:1] 참조). 따라서, 본원에 기재된 항체는 이들 표면 분자 중 임의의 것에 결합할 수 있고, 이들은, 예를 들어, (i) IgSF 패밀리 또는 B7 패밀리 또는 T 세포 활성화를 억제하는 TNFR 패밀리의 단백질의 효능제 또는 길항제 (또는 억제제 또는 차단제), 또는 T 세포 활성화를 억제하는 시토카인 (예를 들어, IL-6, IL-10, TGF-β, VEGF; "면역억제 시토카인")의 길항제 및/또는 (ii) IgSF 패밀리, B7 패밀리 또는 TNF 패밀리의 자극 수용체, 또는 예를 들어 증식성 질환, 예컨대 암을 치료하기 위해 면역 반응을 조정, 예를 들어 자극하기 위해 T 세포 활성화를 자극하는 시토카인의 효능제 또는 길항제일 수 있다.

[0195] 따라서, 변형된 중쇄 불변 도메인을 갖는 항체는 하기 작용제 중 하나로서 사용될 수 있다:

[0196] (1) 예를 들어 T 세포 활성화를 자극하는 단백질, 예컨대 B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, GITR, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, CD70, CD27, CD40, DR3 또는 CD28H의 효능제; 또는

[0197] (2) T 세포 활성화를 억제하는 단백질 (예를 들어, 면역 체크포인트 억제제), 예컨대 상기 기재된 바와 같은 CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2 및 LAG-3, 및 하기 단백질: TIM-3, 갈렉틴 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, 갈렉틴-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, CD73, PD1H, LAIR1, TIM-1 ,TIM-4, CD39 중 임의의 것의 길항제 (억제제 또는 차단제).

[0198] 다른 항체는 NK 세포 상의 억제 수용체의 길항제 및 NK 세포 상의 활성화 수용체, 예를 들어 KIR, TIGIT, NKG2A의 효능제를 포함한다.

[0199] 일반적으로, 변형된 중쇄 불변 영역으로부터 이익을 얻을 수 있는 항체는, 예를 들어 양성 공동자극 수용체를 라이게이션하는 효능제 항체, 억제 수용체를 통한 신호전달을 감쇠시키는 차단 항체, 길항제 항체, 및 항종양 T 세포의 빈도를 전신적으로 증가시키는 항체, 종양 미세환경 내의 별개의 면역 억제 경로를 극복하는 (예를 들어, 억제 수용체 결속 (예를 들어, PD-L1/PD-1 상호작용)을 차단, Treg을 고갈 또는 억제 (예를 들어, 항-CD25 모노클로날 항체), 대사 효소, 예컨대 IDO를 억제, 또는 T 세포 무반응 또는 소진을 역전/방지하는) 항체, 및 종양 부위에서의 선천성 면역 활성화 및/또는 염증을 촉발하는 항체를 포함한다. 억제 수용체의 증가된 내재화는 보다 낮은 수준의 잠재적 억제제로 번역될 수 있다.

[0200] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 활성을 위해 내재화를 필요로 하는 면역접합체, 예컨대 항체 약물 접합체 (ADC)를 형성하기 위해 치료제에 접합되는 항체이다. ADC에서, 항체는 ADC를 그의 항원, 예컨대 암 세포 상의 항원을 발현하는 표적 세포에 지시하기 위한 표적화제로서 기능한다. 이 경우에, 항원은 종양 연관 항원, 즉 암 세포에 의해 고유하게 발현되거나 과다발현되는 것일 수 있다. 여기서, 약물은 표적 세포 내부에서 또는 그 부근에서 방출되어 치료제로서 작용한다. 암 요법에 있어서 ADC의 작용 메카니즘 및 용도에 관한 검토를 위해, 문헌 [Schrama et al., Nature Rev. Drug Disc. 2006, 5, 147]을 참조한다.

[0201] 암 치료를 위해, ADC의 치료제 또는 약물은 바람직하게는 표적화된 암 세포의 사멸을 야기하는 세포독성 약물이

다. ADC에 사용될 수 있는 세포독성 약물은 하기 유형의 화합물 및 그의 유사체 및 유도체를 포함한다:

[0202] (a) 에네디인, 예컨대 칼리케아미신 (예를 들어, 문헌 [Lee et al., J. Am. Chem. Soc. 1987, 109, 3464 and 3466] 참조) 및 운시알라마이신 (예를 들어, 문헌 [Davies et al., WO 2007/038868 A2 (2007) 및 Chowdari et al., US 8,709,431 B2 (2012)] 참조);

[0203] (b) 튜부리신 (예를 들어, 문헌 [Domling et al., US 7,778,814 B2 (2010); Cheng et al., US 8,394,922 B2 (2013); 및 Cong et al., US 2014/0227295 A1] 참조);

[0204] (c) CC-1065 및 두오카르마이신 (예를 들어, 문헌 [Boger, US 6,5458,530 B1 (2003); Sufi et al., US 8,461,117 B2 (2013); 및 Zhang et al., US 2012/0301490 A1 (2012)] 참조);

[0205] (d) 에포틸론 (예를 들어, 문헌 [Vite et al., US 2007/0275904 A1 (2007) 및 US RE42930 E (2011)] 참조);

[0206] (e) 아우리스타틴 (예를 들어, 문헌 [Senter et al., US 6,844,869 B2 (2005) 및 Doronina et al., US 7,498,298 B2 (2009)] 참조);

[0207] (f) 피롤로벤조디아제핀 (PBD) 이량체 (예를 들어, 문헌 [Howard et al., US 2013/0059800 A1(2013); US 2013/0028919 A1 (2013); 및 WO 2013/041606 A1 (2013)] 참조); 및

[0208] (g) 메이탄시노이드, 예컨대 DM1 및 DM4 (예를 들어, 문헌 [Chari et al., US 5,208,020 (1993) 및 Amphlett et al., US 7,374,762 B2 (2008)] 참조).

[0209] ADC에서, 항체 및 치료제는 링커, 예를 들어 절단가능한 링커, 예컨대 펩티딜, 디술피드 또는 히드라존 링커를 통해 접합될 수 있다. 예를 들어, 링커는 펩티딜 링커, 예컨대 Val-Cit, Ala-Val, Val-Ala-Val, Lys-Lys, Pro-Val-Gly-Val-Val, Ala-Asn-Val, Val-Leu-Lys, Ala-Ala-Asn, Cit-Cit, Val-Lys, Lys, Cit, Ser, 또는 Glu 일 수 있다. ADC는 미국 특허 번호 7,087,600; 6,989,452; 및 7,129,261; PCT 공개 WO 02/096910; WO 07/038658; WO 07/051081; WO 07/059404; WO 08/083312; 및 WO 08/103693; 미국 특허 공개 20060024317; 20060004081; 및 20060247295에 기재된 바와 같이 제조될 수 있고; 이들의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0210] 변형된 중쇄 불변 영역에 의해 증진될 수 있는 ADC의 예시적인 표적은 B7H4 (Korman et al., US 2009/0074660 A1); CD19 (Rao-Naik et al., 8,097,703 B2); CD22 (King et al., US 2010/0143368 A1); CD30 (Keler et al., US 7,387,776 B2 (2008); CD70 (Terrett et al., US 8,124,738 B2); CTLA-4 (Korman et al., US 6,984,720 B1 (2006)); PD-1 (Korman et al., US 8,008,449 B2 (2011); PSMA (Huang et al., US 2009/0297438 A1 및 Cardarelli et al., US 7,875,278 B2); PTK7 (Terrett et al., US 2010/0034826 A1); 글리피칸-3 (Terrett et al., US 2010/0209432 (A1)); RG1 (Harkins et al., US 7,335,748 B2(2008)); 메소텔린 (Terrett et al., US 8,268,970 B2 (2012)); 및 CD44 (Xu et al., US 2010/0092484 A1)를 포함한다.

[0211] 변형된 중쇄 불변 도메인은 또한 종양학 이외의 용도, 예를 들어 면역 질환, 예컨대 류마티스성 관절염, 루푸스 등을 위한 항체의 일부일 수 있다.

[0212] 변형된 중쇄 불변 도메인은 또한 비 항체 분자 (또는 항체 변이체) 또는 그의 단편에 융합될 수 있고, Fc의 존재를 필요로 하는 임의의 폴리펩티드에 융합될 수 있다. 변형된 중쇄 불변 도메인은 본원에 추가로 정의된 바와 같은 (예를 들어, 정의 섹션에서) 항체의 항원 결합 단편에 융합될 수 있다.

[0213] 특정 실시양태에서, 특정 이펙터 기능이 결여된, P238K 돌연변이를 포함하는 중쇄 불변 도메인 또는 그의 부분은 폴리펩티드, 예를 들어 항체의 항원 결합 단편의 중쇄 부분에 융합된다. 본원에 추가로 기재된 바와 같이, P238K 돌연변이 및 예를 들어 서열식별번호: 198에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 IgG, 예를 들어 IgG1 Fc는 항체의 중쇄 가변 도메인에 융합될 수 있으며, 여기서 항체는 임의의 표적, 예를 들어 본원에 기재된 표적 단백질 (예를 들어, CD40 또는 CD40L)에 결합한다. P238K 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc (예를 들어, 서열식별번호: 198의 아미노산 서열을 갖는 P238K IgG1 fa 또는 동종이형 f를 갖는 IgG1과 관련하여)는 이펙터 기능, 특히 Fc γR CD32a, CD32b 및 CD16a에 대한 결합이 요구되지 않는 임의의 항체에서 또는 그의 임의의 항원 결합 단편과 함께 사용될 수 있다. P238K 이외에도, 중쇄 불변 영역은 Fc γR CD64에 대한 결합을 감소시키는 추가의 1 또는 2개의 돌연변이, 예를 들어 치환을 포함할 수 있거나, 또는 P238K는 본원에 추가로 기재된 바와 같이 IgG2 힌지, 예를 들어 C219S를 포함하는 IgG2 힌지와 관련하여 사용될 수 있다.

[0214] III. 항체의 생물학적 활성을 변형시키는 방법

[0215] 특정 항체의 생물학적 활성, 예컨대 하기 생물학적 활성 중 하나 이상을 증진시키는 방법이 본원에 제공된다:

[0216] (a) 세포에 의한 증가 또는 변경된 내재화;

[0217] (b) 증가 또는 변경된 효능제 활성;

[0218] (c) 증가 또는 변경된 길항제 또는 차단 활성;

[0219] (d) 증진 또는 감소된 ADCC;

[0220] (d) 새로운 특성의 생성;

[0221] (e) 증가 또는 변경된 신호 전달;

[0222] (f) 보다 큰 항체/항원 가교된 복합체의 형성;

[0223] (g) 표적 세포 표면 분자의 증가된 클러스터링 또는 올리고머화;

[0224] (h) 면역 반응의 증가된 자극 또는 증진; 및/또는

[0225] (i) 면역 반응의 증가된 억제.

[0226] 항체의 생물학적 활성을 증진시키는 방법은 중쇄 불변 영역 또는 그의 부분, 예를 들어 힌지 및/또는 CH1 도메인을 변형된 중쇄 불변 영역 또는 그의 부분, 예를 들어 IgG2 힌지 및/또는 IgG2 CH1 도메인으로 대체하는 단계를 포함할 수 있다.

[0227] 특정 실시양태에서, 항체의 생물학적 활성을 개선시키는 방법은 (i) 본원에 기재된 바와 같은 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하지 않는 항체를 제공하는 단계; 및 (ii) 항체의 중쇄 불변 영역을 항체의 생물학적 활성을 증진시키는 변형된 중쇄 불변 영역 또는 그의 부분으로 대체하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체의 생물학적 활성을 개선시키는 방법은 (i) 비-IgG2 힌지 (예를 들어 IgG1 힌지, IgG3 힌지 또는 IgG4 힌지)를 포함하는 항체를 제공하는 단계; 및 (ii) 항체의 비-IgG2 힌지를 IgG2 힌지로 대체하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항체의 생물학적 활성을 개선시키는 방법은 (i) 비-증진 IgG2 힌지를 포함하는 항체를 제공하는 단계; 및 (ii) 항체의 비-증진 IgG2 힌지를 IgG2 힌지로 대체하는 단계를 포함한다. "비-증진 IgG2 힌지"는 항체의 생물학적 활성을 증진시키기 위해 요구되는 특징을 더 이상 갖지 않는 방식으로 IgG2 힌지와 상이한 변이체 IgG2 힌지, 예를 들어 야생형 IgG2 힌지의 강직성을 더 이상 갖지 않는 변이체 힌지이다.

[0228] 항체의 생물학적 활성을 증진시키는 예시적인 방법은 (i) 비-IgG2 힌지 또는 비-증진 IgG2 힌지를 포함하는 항체를 제공하는 단계, 및 (ii) 힌지를 서열식별번호: 8, 21, 22, 23, 126-132, 134-136 또는 137을 포함하는 힌지 또는 그의 변이체, 예를 들어 본원에 기재된 변이체로 대체하는 단계를 포함한다. 항체의 생물학적 활성을 증진시키는 방법은 또한 (i) 변형된 중쇄 불변 영역이 아닌 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 제공하는 단계, 및 (ii) 중쇄 불변 영역을 변형된 중쇄 불변 영역으로 대체하는 단계를 포함할 수 있다. 중쇄 불변 영역을 대체하는 것은 CH1, 힌지, CH2 및/또는 CH3 도메인을 대체하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 불변 영역은 힌지를 IgG2 힌지 또는 그의 변이체로 대체하고/거나 CH1 도메인을 IgG1 또는 IgG2 CH1 도메인 또는 그의 변이체로 대체함으로써 변형될 수 있다. 특정 실시양태에서, 힌지는 IgG2 힌지로 대체되고, CH2 도메인은 IgG1 CH2 도메인으로 대체된다. 특정 실시양태에서, 힌지는 IgG2 힌지로 대체되고, CH3 도메인은 IgG1 CH3 도메인으로 대체된다. 특정 실시양태에서, 힌지는 IgG2 힌지로 대체되고, CH1은 IgG2 힌지로 대체되고, CH2 도메인은 IgG1 CH2 도메인으로 대체되고, CH3 도메인은 IgG1 CH3 도메인으로 대체된다. 특정 실시양태에서, 중쇄 불변 영역은 상기 표 5에 제시된 변형된 중쇄 영역 1-27 또는 표 6에 제시되거나 본원에 기재된 중쇄 불변 영역으로 대체된다.

[0229] 또한, IgG1 또는 IgG2 항체의 힌지 내 1-10개의 아미노산을 각각 결실시키는 것을 포함하는, IgG1 또는 IgG2 항체의 생물학적 활성을 증진시키는 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, 아미노산 S219, C22, D221, K222, T223, H224 및 T225 중 하나 이상이 결실될 수 있다. 한 실시양태에서, 아미노산 S219, C22, D221, K222, T223, H224 및 T225 모두가 결실된다.

[0230] 추가로, 항체의 이펙터 기능을 제거하거나 감소시키기 위해, 예를 들어 P238을, 예를 들어 P238K로 돌연변이시킴으로써 무이펙터 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 제조 및 제공하는 방법이 본원에 제공된다.

[0231] 특정 실시양태에서, 항체의 중쇄 불변 영역을, 예를 들어 그의 생물학적 활성을 변형시키기 위해 대체하는 것은, 표적 항원에 대한 그의 결합 활성의 감소 또는 유의한 감소를 동반하지 않는다. 실시예에 기재된 바와 같이, 항-GITR 및 항-CD73 항체의 중쇄 불변 영역을 치환하는 것은 각각 인간 GITR 및 인간 CD73 항원에 대한

그의 친화도를 유의하게 변화시키지 않았다.

[0232] 특정 이소형의 도메인을 상이한 이소형의 동일한 도메인으로 또는 돌연변이, 예를 들어 P238 돌연변이를 포함하는 도메인으로 대체하는 것을 언급하는 경우에, 도메인을 문자 그대로 대체할 필요가 있는 것이 아니라 오히려 2개의 이소형 사이에 상이한 아미노산을 변화시키는 것만이 필요할 수 있다는 것이 이해될 것이다.

[0233] 다양한 종의 항원에 대한 항체의 결합 능력을 평가하기 위한 표준 검정은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 본원에 추가로 기재되어 있으며, 예를 들어 ELISA, 웨스턴 블롯 및 RIA를 포함한다. 적합한 검정은 실시예에서 상세하게 기재된다. 항체의 결합 동역학 (예를 들어, 결합 친화도)은 또한 관련 기술분야에 공지된 표준 검정, 예컨대 비아코어(BIACORE)® SPR 분석에 의해 평가될 수 있다. 변형된 불변 영역을 갖는 항체의 특성 (예를 들어, 리간드 결합, T 세포 증식, 시토카인 생산)을 평가하기 위한 검정은 하기 및 실시예에서 추가로 상세하게 기재된다.

[0234] 본원에 기재된 바와 같이 변형될 수 있는 예시적인 항체는, 예를 들어 암을 치료하기 위한 항체, 예컨대 하기를 포함한다: 예르보이(Yervoy)™ (이필리무맙) 또는 트레멜리무맙 (CTLA-4에 대한 것), 갈릭시맙 (B7.1에 대한 것), BMS-936558 (PD-1에 대한 것), CT-011 (PD-1에 대한 것), MK-3475 (PD-1에 대한 것), AMP224 (B7DC에 대한 것), BMS-936559 (B7-H1에 대한 것), MPDL3280A (B7-H1에 대한 것), MEDI-570 (ICOS에 대한 것), AMG557 (B7H2에 대한 것), MGA271 (B7H3에 대한 것), IMP321 (LAG-3에 대한 것), BMS-663513 (CD137에 대한 것), PF-05082566 (CD137에 대한 것), CDX-1127 (CD27에 대한 것), 항-OX40 (프로비던스 헬스 서비시즈(Providence Health Services)), huMAbOX40L (OX40L에 대한 것), 아타시셉트 (TACI에 대한 것), CP-870893 (CD40에 대한 것), 루카투무맙 (CD40에 대한 것), 다세투주맙 (CD40에 대한 것), 무로모납-CD3 (CD3에 대한 것), 이필리무맙 (CTLA-4에 대한 것).

[0235] 본원에 기재된 바와 같이 변형될 수 있는 다른 항체는 PD-1 및 PD-L1 길항제 항체를 포함한다. 본원에 기재된 바와 같이 변형될 수 있는 예시적인 항-PD-1 항체는 니볼루맙 (BMS-936558); WO 2006/121168에 기재된 항체 17D8, 2D3, 4H1, 5C4, 7D3, 5F4 및 4A11 중 1개의 CDR 또는 가변 영역을 포함하는 항체; WO2012/145493에 기재된 MK-3475 (람브롤리주맙); WO 2012/145493에 기재된 AMP-514; CT-011 (피딜리주맙; 이전에 CT-악티바디 또는 BAT; 예를 들어 문헌 [Rosenblatt et al. (2011) J. Immunotherapy 34:409] 참조); WO 2009/014708, WO 03/099196, WO 2009/114335, WO 2011/066389, WO 2011/161699, WO 2012/145493, WO2013/173223, 미국 특허 번호 7,635,757 및 8,217,149, 및 미국 특허 공개 번호 2009/0317368에 기재된 것들이다.

[0236] 변형될 수 있는 추가의 항체는 항-PD-L1 항체, 예를 들어, BMS-936559 (WO 2007/005874 및 미국 특허 번호 7,943,743에서 12A4로 지칭됨); PCT 공개 WO 07/005874 및 미국 특허 번호 7,943,743에 기재된 3G10, 12A4, 10A5, 5F8, 10H10, 1B12, 7H1, 11E6, 12B7 및 13G4의 CDR 또는 가변 영역을 포함하는 항체; MEDI4736 (또한 항-B7-H1로도 공지됨); MPDL3280A (또한 RG7446으로도 공지됨); WO2013/173223, WO2011/066389, WO2012/145493, 미국 특허 번호 7,635,757 및 8,217,149 및 미국 공개 번호 2009/145493에 개시된 임의의 항-PD-L1 항체를 포함한다.

[0237] 변형될 수 있는 다른 항체는 항-CTLA-4 항체, 예를 들어 예르보이™ (이필리무맙 또는 PCT 공개 WO 01/14424에 기재된 항체 10D1); 트레멜리무맙 (이전에 티실리무맙, CP-675,206); 하기 공개 중 임의의 것에 기재된 모노클로날 또는 항-CTLA-4 항체: WO 98/42752; WO 00/37504; 미국 특허 번호 6,207,156; 문헌 [Hurwitz et al. (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95(17):10067-10071; Camacho et al. (2004) J. Clin. Oncology 22(145): Abstract No. 2505 (antibody CP-675206); 및 Mokyr et al. (1998) Cancer Res. 58:5301-5304]; 및 WO2013/173223에 개시된 임의의 항-CTLA-4 항체를 포함한다.

[0238] 변형될 수 있는 다른 항체는 항-LAG-3 항체, 예를 들어 BMS-986016; US 2011/007023에 기재된 IMP731; 및 IMP-321을 포함한다.

[0239] 변형될 수 있는 다른 항체는 항-GITR 효능제 항체, 예를 들어 WO2006/105021에 기재된 항-GITR 항체 6C8 또는 그의 인간화 버전; WO2011/028683에 기재된 항체; 및 JP2008278814에 기재된 항체를 포함한다.

[0240] 본원의 다른 곳에 기재된 것들을 포함한, 다른 항원을 표적화하는 항체가 또한 변형될 수 있다. 예를 들어, 내재화를 필요로 하는 항-Her2 항체, 예를 들어 트라스투주맙 (헤르셉틴)이 본원에 기재된 바와 같이 변형될 수 있다.

[0241] IV. 추가의 중쇄 불변 도메인 변형

[0242] 생물학적 활성을 증진시키거나 이펙터 기능을 감소시키기 위한 항체에 대한 본원에 기재된 변형 이외에, 예를 들어 이펙터 기능, FcγR에 대한 결합 및/또는 항체의 안정성을 추가로 감소시키기 위해, 예를 들어 CH1, 힌지, CH2 또는 CH3 도메인에 추가의 돌연변이가 이루어질 수 있다. 예를 들어, 본원, 예를 들어 하기에 기재된 임의의 변형은, 예컨대 IgG1 또는 IgG1-IgG2 하이브리드 Fc 또는 그의 부분에서 P238, 예를 들어 P238K 돌연변이와 조합될 수 있다.

[0243] Fc 및 변형된 Fc

[0244] 본원에 기재된 항체는, 전형적으로 항체의 하나 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 항원-의존성 세포성 세포독성을 변경시키기 위해 하나 이상의 변형을 포함하는 Fc를 포함할 수 있다.

[0245] 예를 들어, (a) 증가 또는 감소된 항체-의존성 세포-매개된 세포독성 (ADCC), (b) 증가 또는 감소된 보체 매개된 세포독성 (CDC), (c) 증가 또는 감소된 C1q에 대한 친화도 및/또는 (d) 모 Fc에 비해 Fc 수용체에 대한 증가 또는 감소된 친화도를 갖는 Fc 변이체를 생성하기 위해 Fc 영역에서 변형이 이루어질 수 있다. 이러한 Fc 영역 변이체는 일반적으로 Fc 영역에 적어도 하나의 아미노산 변형을 포함할 것이다. 아미노산 변형의 조합이 특히 바람직한 것으로 생각된다. 예를 들어, 변이체 Fc 영역은 그 안에, 예를 들어 본원에서 확인된 특정 Fc 영역 위치의 2, 3, 4, 5개 등의 치환을 포함할 수 있다. 예시적인 Fc 서열 변이체가 본원에 개시되고, 또한 미국 특허 번호 5,624,821; 6,277,375; 6,737,056; 6,194,551; 7,317,091; 8,101,720; PCT 특허 공개 WO 00/42072; WO 01/58957; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 및 WO 06/020114에서 제공된다.

[0246] 이펙터 기능 감소

[0247] ADCC 활성은 Fc 영역을 변형시킴으로써 감소될 수 있다. 특정 실시양태에서, Fc 수용체에의 결합에 영향을 미치는 부위, 바람직하게는 샐비지 수용체 결합 부위 이외의 부위는 (예를 들어, 돌연변이에 의해) 제거될 수 있다. 다른 실시양태에서, Fc 영역은 ADCC 부위가 제거되도록 변형될 수 있다. ADCC 부위는 관련 기술분야에 공지되어 있고; 예를 들어, IgG1 내의 ADCC 부위에 관한 문헌 [Sarmay et al. (1992) Molec. Immunol. 29 (5): 633-9]을 참조한다. 한 실시양태에서, 인간 IgG1의 G236R 및 L328R 변이체는 FcγR 결합을 효과적으로 제거한다. 문헌 [Horton et al. (2011) J. Immunol. 186:4223 및 Chu et al. (2008) Mol. Immunol. 45:3926]. 다른 실시양태에서, FcγR에 대해 감소된 결합을 갖는 Fc는 아미노산 치환 L234A, L235E 및 G237A를 포함하였다. 문헌 [Gross et al. (2001) Immunity 15:289].

[0248] CDC 활성도 또한 Fc 영역을 변형시킴으로써 감소될 수 있다. IgG1 위치 D270, K322, P329 및 P331에서의 돌연변이, 구체적으로 알라닌 돌연변이 D270A, K322A, P329A 및 P331A는 상응하는 항체가 C1q에 결합하고 보체를 활성화시키는 능력을 유의하게 감소시킨다. 문헌 [Idusogie et al. (2000) J. Immunol. 164:4178]; WO99/51642. IgG1의 위치 331의 변형 (예를 들어 P331S)은 보체 결합을 감소시키는 것으로 밝혀졌다. 문헌 [Tao et al. (1993) J. Exp. Med. 178:661 및 Canfield & Morrison (1991) J. Exp. Med. 173:1483]. 또 다른 예에서, 아미노산 위치 231 내지 239 내의 1개 이상의 아미노산 잔기가 변경됨으로써 항체가 보체를 고정하는 능력이 감소된다. WO 94/29351.

[0249] 일부 실시양태에서, 감소된 보체 고정을 갖는 Fc는 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 갖는다. 문헌 [Gross et al. (2001) Immunity 15:289].

[0250] 이펙터 기능을 전적으로 회피하고자 하는 경우, 예를 들어 항원 결합 단독으로도 목적하는 치료 이익을 생성하기에 충분하고 이펙터 기능은 단지 바람직하지 않은 부작용으로 이어지는 (또는 그의 위험을 증가시키는) 경우의 사용을 위해, IgG4 항체가 사용될 수 있거나, 또는 Fc 영역이 결여된 항체 또는 단편 또는 그의 실질적인 부분이 고안될 수 있거나, 또는 글리코실화를 전적으로 제거하기 위해 Fc가 돌연변이될 수 있다 (예를 들어 N297A). 대안적으로, 이펙터 기능이 없고, FcγR에 결합하는 능력이 결여되어 있고 (IgG2와 같이), 보체를 활성화시킬 수 없는 (IgG4와 같이) 인간 IgG2 (C_H1 도메인 및 힌지 영역) 및 인간 IgG4 (C_H2 및 C_H3 도메인)의 하이브리드 구축물이 생성되었다. 문헌 [Rother et al. (2007) Nat. Biotechnol. 25:1256]. 또한 문헌 [Mueller et al. (1997) Mol. Immunol. 34:441; Labrijn et al. (2008) Curr. Op. Immunol. 20:479] (일반적으로 이펙터 기능을 감소시키는 Fc 변형에 대해 논의함)을 참조한다.

[0251] 다른 실시양태에서, 항체의 모든 이펙터 기능(들)을 감소시키기 위해 Fc 영역은 적어도 1개의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체함으로써 변경된다. 예를 들어, 항체가 이펙터 리간드에 대해 감소된 친화도를 갖

지만 모 항체의 항원-결합 능력은 보유하도록, 아미노산 잔기 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 및 322로부터 선택된 1개 이상의 아미노산이 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 (잔기 234, 235, 236, 237, 297) 또는 보체의 C1 성분 (잔기 297, 318, 320, 322)일 수 있다. 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260 (둘 다 Winter et al.).

[0252] WO 88/007089는 FcγRI에 대한 결합을 감소시켜 ADCC를 감소시키거나 (234A; 235E; 236A; G237A) 또는 보체 성분 C1q에 대한 결합을 차단하여 CDC를 제거하기 위한 (E318A 또는 V/K320A 및 K322A/Q) IgG Fc 영역 내의 변형을 제안하였다. 또한 문헌 [Duncan & Winter (1988) Nature 332:563; Chappel et al. (1991) Proc. Nat'l Acad. Sci. (USA) 88:9036; 및 Sondermann et al. (2000) Nature 406:267] (FcγRIII 결합에 대한 이들 돌연변이의 효과를 논의함)을 참조한다.

[0253] 이펙터 기능을 감소시키는 Fc 변형은 또한 위치 234, 235, 236, 237, 267, 269, 325 및 328에서의 치환, 삽입 및 결실, 예컨대 234G, 235G, 236R, 237K, 267R, 269R, 325L 및 328R을 포함한다. Fc 변이체는 236R/328R을 포함할 수 있다. FcγR 및 보체 상호작용을 감소시키기 위한 다른 변형은 치환 297A, 234A, 235A, 237A, 318A, 228P, 236E, 268Q, 309L, 330S, 331S, 220S, 226S, 229S, 238S, 233P 및 234V를 포함한다. 이들 및 다른 변형은 문헌 [Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 20:685-691]에서 검토된다. IgG 잔기를 위치 233 - 236 및 327 - 331 중 하나 이상에서, 예컨대 IgG1에서 E233P, L234V, L235A, 임의로 G236△, A327G, A330S 및 P331S; IgG4에서 E233P, F234V, L235A, 임의로 G236△; 및 IgG2에서 A330S 및 P331S로 돌연변이시킴으로써, 신생아 FcR 결합은 유지하면서 (반감기는 유지하면서) 이펙터 기능 (ADCC 및 보체 활성화 둘 다)을 감소시킬 수 있다. 문헌 [Armour et al. (1999) Eur. J. Immunol. 29:2613; WO 99/58572]을 참조한다. 이펙터 기능을 감소시키는 다른 돌연변이는 IgG1 내의 L234A 및 L235A (Alegre et al. (1994) Transplantation 57:1537); IgG2 내의 V234A 및 G237A (Cole et al. (1997) J. Immunol. 159:3613; 또한 미국 특허 번호 5,834,597 참조); 및 IgG4에 대한 S228P 및 L235E (Reddy et al. (2000) J. Immunol. 164:1925)를 포함한다. 인간 IgG1에서 이펙터 기능을 감소시키기 위한 돌연변이의 또 다른 조합은 L234F, L235E 및 P331S를 포함한다. 문헌 [Oganesyan et al. (2008) Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 64:700]. 일반적으로 문헌 [Labrijn et gal. (2008) Curr. Op. Immunol. 20:479] 참조. Fc (IgG1) 융합 단백질 (아바타셉트)과 관련하여 이펙터 기능을 감소시키는 것으로 발견된 추가의 돌연변이는 C226S, C229S 및 P238S (EU 잔기 넘버링)이다. 문헌 [Davis et al. (2007) J. Immunol. 34:2204].

[0254] 감소된 ADCC 및/또는 CDC를 갖는 다른 Fc 변이체는 문헌 [Glaesner et al. (2010) Diabetes Metab. Res. Rev. 26:287] (ADCC 및 ADCP를 감소시키기 위한 IgG4 내의 F234A 및 L235A); 문헌 [Hutchins et al. (1995) Proc. Nat'l Acad. Sci. (USA) 92:11980] (IgG4 내의 F234A, G237A 및 E318A); 문헌 [An et al. (2009) MAbs 1:572 및 미극 특허 출원 공개 2007/0148167 (IgG2 내의 H268Q, V309L, A330S 및 P331S); 문헌 [McEarchern et al. (2007) Blood 109:1185] (IgG1 내의 C226S, C229S, E233P, L234V, L235A); 문헌 [Vafa et al. (2014) Methods 65:114] (IgG2 내의 V234V, G237A, P238S, H268A, V309L, A330S, P331S)에 개시되어 있다.

[0255] 특정 실시양태에서, 이펙터 기능을 본질적으로 갖지 않는, 즉 FcγR에 대한 감소된 결합 및 감소된 보체 고정을 갖는 Fc가 선택된다. 무이펙터인 예시적인 Fc, 예를 들어 IgG1 Fc는 하기 5개의 돌연변이: L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S를 포함한다. 문헌 [Gross et al. (2001) Immunity 15:289]. 이들 5개의 치환은 또한 글리코실화를 제거하기 위해 N297A와 조합될 수 있다.

[0256] 이펙터 기능 증진

[0257] 대안적으로, Fc 영역을 변형시킴으로써 ADCC 활성이 증가될 수 있다. ADCC 활성과 관련하여, 인간 IgG1 ≥ IgG3 ≫ IgG4 ≥ IgG2이므로, IgG2 또는 IgG4보다는 IgG1 불변 도메인이 ADCC가 요구되는 약물에서의 사용을 위해 선택될 수 있다. 대안적으로, 항체 의존성 세포성 세포독성 (ADCC)을 증가시키고/거나 Fcγ 수용체에 대한 친화도를 증가시키기 위해 Fc 영역은 하기 위치: 234, 235, 236, 238, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 262, 263, 264, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 313, 315, 320, 322, 324, 325, 326, 327, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 433, 434, 435, 436, 437, 438 또는 439에서 1개 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 변형될 수 있다. WO 2012/142515를 참조하고; 또한 WO 00/42072를 참조한다. 예시적인 치환은 236A, 239D, 239E, 268D, 267E, 268E, 268F, 324T, 332D, 및 332E를 포함한다. 예시적인 변이체는 239D/332E, 236A/332E, 236A/239D/332E, 268F/324T, 267E/268F, 267E/324T, 및 267E/268F/324T를 포함한다. 예를 들어,

G236A 변이체를 포함하고 임의로 I332E와 조합될 수 있는 인간 IgG1 Fc는 FcγIIA / FcγIIB 결합 친화도 비를 대략 15배 증가시키는 것으로 제시된 바 있다. 문헌 [Richards et al. (2008) Mol. Cancer Therap. 7:2517; Moore et al. (2010) mAbs 2:181]. FcγR 및 보체 상호작용을 증진시키기 위한 다른 변형은 치환 298A, 333A, 334A, 326A, 247I, 339D, 339Q, 280H, 290S, 298D, 298V, 243L, 292P, 300L, 396L, 305I, 및 396L을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 이들 및 다른 변형이 문헌 [Strohl (2009) Current Opinion in Biotechnology 20:685-691]에서 검토된다. 구체적으로, ADCC 및 CDC 둘 다는 IgG1의 위치 E333에서의 변화, 예를 들어 E333A에 의해 증진될 수 있다. 문헌 [Shields et al. (2001) J. Biol. Chem. 276:6591]. IgG1에서 이펙터 기능을 증진시키기 위한 P247I 및 A339D/Q 돌연변이의 사용이 WO 2006/020114에 개시되어 있고, D280H, K290S ± S298D/V가 WO 2004/074455에 개시되어 있다. K326A/W 및 E333A/S 변이체는 인간 IgG1에서 및 E333S는 IgG2에서 이펙터 기능을 증가시키는 것으로 제시된 바 있다. 문헌 [Idusogie et al. (2001) J. Immunol. 166:2571].

[0258] 구체적으로, FcγR1, FcγRII, FcγRIII 및 FcRn에 대한 인간 IgG1 상의 결합 부위가 맵핑되었고, 개선된 결합을 갖는 변이체가 기재되었다. 문헌 [Shields et al. (2001) J. Biol. Chem. 276:6591-6604]. 조합 돌연변이체 T256A/S298A, S298A/E333A, S298A/K224A 및 S298A/E333A/K334A를 포함한 위치 256, 290, 298, 333, 334 및 339에서의 특정 돌연변이가 FcγRIII에 대한 결합을 개선시키는 것으로 제시되었다 (증진된 FcγRIIIa 결합 및 ADCC 활성을 가짐). S239D/I332E 및 S239D/I332E/A330L 돌연변이를 갖는 변이체를 포함한, FcγRIIIa에 대해 강력하게 증진된 결합을 갖는 다른 IgG1 변이체가 확인된 바 있고, 이는 시노몰구스 원숭이에서 FcγRIIIa에 대한 친화도의 최대 증가, FcγRIIb 결합의 감소, 및 강한 세포독성 활성을 제시하였다. 문헌 [Lazar et al.(2006) Proc. Nat'l Acad Sci. (USA) 103:4005; Awan et al. (2010) Blood 115:1204; Desjarlais & Lazar (2011) Exp. Cell Res. 317:1278]. 항체, 예컨대 알렘투주맙 (CD52-특이적), 트라스투주맙 (HER2/neu-특이적), 리툭시맙 (CD20-특이적), 및 세툭시맙 (EGFR-특이적) 내로 삼중 돌연변이를 도입한 것은 시험관내에서 매우 증진된 ADCC 활성으로 해석되었고, S239D/I332E 변이체는 원숭이에서 B 세포를 고갈시키는 증진된 능력을 제시하였다. 문헌 [Lazar et al.(2006) Proc. Nat'l Acad Sci. (USA) 103:4005]. 추가로, B 세포 악성종양 및 유방암 모델에서 인간 FcγRIIIa를 발현하는 트랜스제닉 마우스에서 FcγRIIIa에 대한 증진된 결합 및 병행하여 증진된 ADCC 활성을 나타낸 L235V, F243L, R292P, Y300L, V305I 및 P396L 돌연변이를 함유하는 IgG1 돌연변이체가 확인된 바 있다. 문헌 [Stavenhagen et al. (2007) Cancer Res. 67:8882; 미국 특허 번호 8,652,466; Nordstrom et al. (2011) Breast Cancer Res. 13:R123].

[0259] 상이한 IgG 이소형은 또한 차등 CDC 활성을 나타낸다 (IgG3>IgG1>>IgG2 ≈ IgG4). 문헌 [Dangl et al. (1988) EMBO J. 7:1989]. 증진된 CDC를 목적으로 하는 사용을 위해, C1q에 대한 결합을 증가시키는 돌연변이를 도입하는 것이 또한 가능하다. 보체를 동원하는 능력 (CDC)은 보체 캐스케이드의 제1 성분인 C1q에 대한 결합을 증가시키기 위한 IgG2 내의 K326 및/또는 E333에서의 돌연변이, 예컨대 K326W (ADCC 활성을 감소시킴) 및 E333S에 의해 증진될 수 있다. 문헌 [Idusogie et al. (2001) J. Immunol. 166:2571]. 인간 IgG1 내로 S267E / H268F / S324T를 (단독으로 또는 임의의 조합으로) 도입하는 것은 C1q 결합을 증진시킨다. 문헌 [Moore et al. (2010) mAbs 2:181]. 문헌 [Natsume et al. (2008) Cancer Res. 68:3863 (그 안의 도 1)]의 IgG1/IgG3 하이브리드 이소형 항체 "113F"의 Fc 영역은 또한 증진된 CDC를 부여한다. 또한 문헌 [Michaelsen et al. (2009) Scand. J. Immunol. 70:553 and Redpath et al. (1998) Immunology 93:595]을 참조한다.

[0260] 이펙터 기능을 증가 또는 감소시킬 수 있는 추가의 돌연변이가 문헌 [Dall'Acqua et al. (2006) J. Immunol. 177:1129]에 개시되어 있다. 또한, 문헌 [Carter (2006) Nat. Rev. Immunol. 6:343; Presta (2008) Curr. Op. Immunol. 20:460]을 참조한다.

[0261] 또한 억제 수용체 FcγRIIb에 대한 친화도를 증진시키는 Fc 변이체가, 예를 들어 아폽토시스-유도 또는 아주반트 활성을 증진시키기 위해 사용될 수 있다. 문헌 [Li & Ravetch (2011) Science 333:1030; Li & Ravetch (2012) Proc. Nat'l Acad. Sci (USA) 109:10966; 미국 특허 출원 공개 2014/0010812]을 참조한다. 이러한 변이체는, 예를 들어 B 세포 및 단핵구를 포함한 $FcγRIIb^{+}$ 세포와 관련된 면역조정 활성을 갖는 항체를 제공할 수 있다. 한 실시양태에서, Fc 변이체는 1개 이상의 활성화 수용체에 비해 FcγRIIb에 대해 선택적으로 증진된 친화도를 제공한다. FcγRIIb에 대한 결합을 변경시키기 위한 변형은 EU 인덱스에 따라 234, 235, 236, 237, 239, 266, 267, 268, 325, 326, 327, 328 및 332로 이루어진 군으로부터 선택된 위치에서의 1개 이상의 변형을 포함한다. FcγRIIb 친화도를 증진시키기 위한 예시적인 치환은 234D, 234E, 234F, 234W, 235D, 235F, 235R, 235Y, 236D, 236N, 237D, 237N, 239D, 239E, 266M, 267D, 267E, 268D, 268E, 327D, 327E, 328F, 328W, 328Y 및 332E를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 예시적인 치환은 235Y, 236D, 239D, 266M, 267E, 268D, 268E, 328F, 328W 및

328Y를 포함한다. FcγRIIb에 대한 결합을 증진시키기 위한 다른 Fc 변이체는 235Y/267E, 236D/267E, 239D/268D, 239D/267E, 267E/268D, 267E/268E 및 267E/328F를 포함한다. 구체적으로, 인간 IgG1의 S267E + L328F 이중 변이체를 포함한 S267E, G236D, S239D, L328F 및 I332E 변이체는 억제 FcγRIIb 수용체에 대한 친화도를 특이적으로 증진시키는데 있어서 특히 가치있다. 문헌 [Chu et al. (2008) Mol. Immunol. 45:3926; 미국 특허 출원 공개 2006/024298; WO 2012/087928]. FcγRIIb에 대한 증진된 특이성 (FcγRIIa^{R131}과 구별됨)은 P238D 치환을 부가함으로써 얻을 수 있다. 문헌 [Mimoto et al. (2013) Protein. Eng. Des. & Selection 26:589; WO 2012/115241].

[0262] 글리코실화

[0263] 이펙터 기능을 증가 또는 감소시키기 위해 항체의 글리코실화가 변형된다. 예를 들어, 위치 297에서 보존된 아스파라긴 잔기를 돌연변이시키고 (예를 들어 N297A), 이에 따라 보체 및 FcγRI 결합을 무효화함으로써 모든 이펙터 기능이 결여된 비-글리코실화 항체를 제조할 수 있다. 문헌 [Bolt et al. (1993) Eur. J. Immunol. 23:403]. 또한 문헌 [Tao & Morrison (1989) J. Immunol. 143:2595 (위치 297에서 글리코실화를 제거하기 위해 IgG1에서 N297Q를 사용함)]을 참조한다.

[0264] 비-글리코실화 항체는 일반적으로 이펙터 기능이 결여되어 있지만, 그러한 기능을 회복시키기 위해 돌연변이가 도입될 수 있다. 비-글리코실화 항체, 예를 들어 N297A/C/D/ 또는 H 돌연변이로부터 생성되거나 또는 단백질을 글리코실화하지 않는 시스템 (예를 들어 이. 콜라이(*E. coli*))에서 생산된 것은 FcγR 결합을 회복시키기 위해 추가로, 예를 들어 S298G 및/또는 T299A/G/ 또는 H (WO 2009/079242), 또는 E382V 및 M428I (Jung et al. (2010) Proc. Nat'l Acad. Sci (USA) 107:604)로 돌연변이될 수 있다.

[0265] 추가적으로, 증진된 ADCC를 갖는 항체는 글리코실화를 변경함으로써 제조될 수 있다. 예를 들어, 중쇄 Asn297-연결된 올리고사카라이드로부터의 푸코스의 제거는 FcγRIIIa에 대한 개선된 결합에 기초하여, ADCC를 증진시키는 것으로 제시된 바 있다. 문헌 [Shields et al. (2002) JBC 277:26733; Niwa et al. (2005) J. Immunol. Methods 306: 151; Cardarelli et al. (2009) Clin. Cancer Res.15:3376 (MDX-1401); Cardarelli et al. (2010) Cancer Immunol. Immunotherap. 59:257 (MDX-1342)]. 이러한 저푸코스 항체는, 예를 들어 푸코실트랜스퍼라제 (FUT8)가 결여된 녹아웃 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포에서 생산될 수 있거나 (Yamane-Ohnuki et al. (2004) Biotechnol. Bioeng. 87:614), 또는 비-푸코실화 항체를 생성하는 다른 세포에서 생산될 수 있다. 예를 들어 문헌 [Zhang et al. (2011) mAbs 3:289 및 Li et al. (2006) Nat. Biotechnol. 24:210 (둘 다 당조작된 피키아 파스토리스(*Pichia pastoris*)에서의 항체 생산을 기재함); Mossner et al. (2010) Blood 115:4393; Shields et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:26733; Shinkawa et al. (2003) J. Biol. Chem. 278:3466; EP 1176195B1]을 참조한다. ADCC는 또한 PCT 공개 WO 03/035835에 기재된 바와 같이 증진될 수 있고, 이는 푸코스를 Asn(297)-연결된 탄수화물에 부착시키는 감소된 능력을 갖는 변이체 CHO 세포주, Lec13의 사용을 개시하며, 이는 또한 그러한 숙주 세포에서 발현되는 항체의 저푸코실화를 발생시킨다 (또한, 문헌 [Shields, R.L. et al. (2002) J. Biol. Chem. 277:26733-26740] 참조). 대안적으로, 푸코스가 항체의 탄수화물 내로 혼입되는 것을 억제하기 위해 푸코스 유사체가 항체 생산 동안 배양 배지에 첨가될 수 있다. WO 2009/135181.

[0266] 항체-연결된 올리고사카라이드에서의 양분성 GlcNac 구조를 증가시키는 것은 또한 ADCC를 증진시킨다. PCT 공개 WO 99/54342 (Umana et al.)는 당단백질-변형 글리코실 트랜스퍼라제 (예를 들어, 베타(1,4)-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III (GnTIII))를 발현하도록 조작된 세포주를 기재하며, 조작된 세포주에서 발현된 항체는 증가된 양분성 GlcNac 구조를 나타내고, 이는 항체의 ADCC 활성을 증가시킨다 (또한, 문헌 [Umana et al. (1999) Nat. Biotech. 17:176-180] 참조).

[0267] 갈락토스, 시알산, 푸코스 및 크실로스 잔기 (소위 GNGN 당형태)가 없고, 증진된 ADCC 및 ADCP, 그러나 감소된 CDC를 나타내는 추가의 글리코실화 변이체, 뿐만 아니라 시알산, 푸코스 및 크실로스 (소위 G1/G2 당형태)가 없고, 증진된 ADCC, ADCP 및 CDC를 나타내는 다른 변이체가 개발되었다. 미국 특허 출원 공개 번호 2013/0149300. 이들 글리코실화 패턴을 갖는 항체는 내인성 크실로실 및 푸코실 트랜스퍼라제 유전자가 녹-아웃된 유전자 변형된 엔. 벤타미아나(*N. benthamiana*) 식물에서 임의로 생산된다.

[0268] 당조작은 또한 Fc 영역의 Asn297에서 부착된 탄수화물 쇄의 α2,6 시알릴 함량을 변화시킴으로써 IgG 구축물의 항염증 특성을 변형시키는데 사용될 수 있고, 여기서 α2,6 시알릴화 형태의 증가된 비율은 증진된 항염증 효과를 가져온다. 문헌 [Nimmerjahn et al. (2008) Ann. Rev. Immunol. 26:513]을 참조한다. 반대로, α2,6 시알릴화 탄수화물을 갖는 항체의 비율의 감소는 항염증 특성을 원치 않는 경우에 유용할 수 있다. 예를 들어 α

2,6 시알릴화 형태의 선택적 정제에 의해 또는 효소적 변형에 의해 항체의 α2,6 시알릴화 함량을 변형시키는 방법이 미국 특허 출원 공개 번호 2008/0206246에 제공된다. 다른 실시양태에서, α2,6 시알릴화의 영향을 모방하기 위해, 예를 들어 F241A 변형을 포함시키는 것에 의해 Fc 영역의 아미노산 서열이 변형될 수 있다. WO 2013/095966.

[0269] 본원에 기재된 항체는 경쇄 또는 중쇄 가변 영역에서 1개 이상의 글리코실화 부위를 함유할 수 있다. 이러한 글리코실화 부위는 변경된 항원 결합으로 인해 항체의 증가된 면역원성 또는 항체의 pK의 변경을 가져올 수 있다 (Marshall et al. (1972) Annu Rev Biochem 41:673-702; Gala and Morrison (2004) J. Immunol 172:5489-94; Wallick et al. (1988) J Exp Med 168:1099-109; Spiro (2002) Glycobiology 12:43R-56R; Parekh et al. (1985) Nature 316:452-7; Mimura et al. (2000) Mol Immunol 37:697-706). 글리코실화는 N-X-S/T 서열을 함유하는 모티프에서 발생하는 것으로 공지되어 있다.

[0270] 생물학적 반감기

[0271] 특정 실시양태에서, 항체는 그의 생물학적 반감기를 증가시키기 위해 변형된다. 다양한 접근법이 가능하다. 예를 들어, 이것은 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합 친화도를 증가시킴으로 이루어질 수 있다. 한 실시양태에서, 항체는 미국 특허 번호 5,869,046 및 6,121,022 (Presta et al.)에 기재된 바와 같이 IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개의 루프로부터 취해진 샐비지 수용체 결합 에피토프를 함유하도록 CH1 또는 CL 영역 내에서 변경된다. FcRn에 대한 결합을 증가시키고/거나 약동학적 특성을 개선시키는 다양한 다른 예시적인 Fc 변이체는, 예를 들어 259I, 308F, 428L, 428M, 434S, 434H, 434F, 434Y 및 434M을 포함한 위치 259, 308 및 434에서의 치환을 포함한다. FcRn에 대한 Fc 결합을 증가시키는 다른 변이체는 다음을 포함한다: 250E, 250Q, 428L, 428F, 250Q/428L (Hinton et al., 2004, J. Biol. Chem. 279(8): 6213-6216, Hinton et al. 2006 Journal of Immunology 176:346-356), 256A, 272A, 305A, 307A, 31 1A, 312A, 378Q, 380A, 382A, 434A (Shields et al., Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9):6591-6604), 252F, 252Y, 252W, 254T, 256Q, 256E, 256D, 433R, 434F, 434Y, 252Y/254T/256E, 433K/434F/436H (Del' Acqua et al. Journal of Immunology, 2002, 169:5171-5180, Dall'Acqua et al., 2006, Journal of Biological Chemistry 281:23514-23524). 미국 특허 번호 8,367,805를 참조한다.

[0272] IgG Fc 내의 특정 보존된 잔기 (I253/H310/Q311/H433/N434)의 변형, 예컨대 N434A 변이체 (Yeung et al. (2009) J. Immunol. 182:7663)는 FcRn 친화도를 증가시키고 이에 따라 순환에서 항체의 반감기를 증가시키는 방법으로써 제안되었다. WO 98/023289. M428L 및 N434S를 포함하는 조합 Fc 변이체는 FcRn 결합을 증가시키고 혈청 반감기를 최대 5배 증가시키는 것으로 제시되었다. 문헌 [Zalevsky et al. (2010) Nat. Biotechnol. 28:157]. T307A, E380A 및 N434A 변형을 포함하는 조합 Fc 변이체는 또한 IgG1 항체의 반감기를 연장시킨다. 문헌 [Petkova et al. (2006) Int. Immunol. 18:1759]. 추가로, M252Y/M428L, M428L/N434H, M428L/N434F, M428L/N434Y, M428L/N434A, M428L/N434M 및 M428L/N434S 변이체를 포함하는 조합 Fc 변이체가 반감기를 연장시키는 것으로 또한 제시된 바 있다. WO 2009/086320.

[0273] 추가로, M252Y, S254T 및 T256E를 포함하는 조합 Fc 변이체는 반감기를 거의 4배 증가시킨다. 문헌 [Dall'Acqua et al. (2006) J. Biol. Chem. 281:23514]. 증가된 FcRn 친화도 그러나 감소된 pH 의존성을 제공하는 관련 IgG1 변형 (M252Y / S254T / T256E / H433K / N434F)은 FcRn에 대한 다른 항체의 결합을 방지하기 위한 경쟁자로서 사용하기 위해 IgG1 구축물 ("MST-HN Abdeg")을 생성하는데 사용된 바 있고, 이는 다른 항체, 내인성 IgG (예를 들어 자가면역 상황에서) 또는 또 다른 외인성 (치료적) mAb의 증가된 클리어런스를 유발한다. 문헌 [Vaccaro et al. (2005) Nat. Biotechnol. 23:1283; WO 2006/130834].

[0274] FcRn 결합을 증가시키기 위한 다른 변형은 문헌 [Yeung et al. (2010) J. Immunol. 182:7663-7671; 6,277,375; 6,821,505; WO 97/34631; WO 2002/060919]에 기재되어 있다.

[0275] 특정 실시양태에서, FcRn 결합을 증가시키고 잠재적으로 반감기를 증가시키기 위해 하이브리드 IgG 이소형이 사용될 수 있다. 예를 들어, CH2 및/또는 CH3 영역 내의 IgG1 위치를 2종의 이소형이 상이한 위치에서의 IgG3으로부터의 아미노산으로 치환함으로써 IgG1/IgG3 하이브리드 변이체가 구축될 수 있다. 따라서 1개 이상의 치환, 예를 들어 274Q, 276K, 300F, 339T, 356E, 358M, 384S, 392N, 397M, 422I, 435R 및 436F를 포함하는 하이브리드 변이체 IgG 항체가 구축될 수 있다. 본원에 기재된 다른 실시양태에서, CH2 및/또는 CH3 영역 내의 IgG2 위치를 2종의 이소형이 상이한 위치에서의 IgG1로부터의 아미노산으로 치환함으로써 IgG1/IgG2 하이브리드 변이체가 구축될 수 있다. 따라서 1개 이상의 치환, 예를 들어 하기 아미노산 치환: 233E, 234L, 235L, -236G (위치 236에서의 글리신의 삽입을 지칭함), 및 327A 중 1개 이상을 포함하는 하이브리드 변이체 IgG 항체가 구

축될 수 있다. 미국 특허 번호 8,629,113 참조. 보고된 바로는 혈청 반감기를 증가시키고 발현을 개선시키는 IgG1/IgG2/IgG4 서열의 하이브리드가 생성되었다. 미국 특허 번호 7,867,491 (그 안의 서열 번호 18).

[0276] 본 발명의 항체의 혈청 반감기는 또한 PEG화에 의해 증가될 수 있다. 항체는, 예를 들어 항체의 생물학적 (예를 들어, 혈청) 반감기를 증가시키기 위해 PEG화될 수 있다. 항체를 PEG화하기 위해, 항체 또는 그의 단편을 전형적으로 1개 이상의 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 기가 항체 또는 항체 단편에 부착되도록 하는 조건 하에 PEG 시약, 예컨대 PEG의 반응성 에스테르 또는 알데히드 유도체와 반응시킨다. 바람직하게는, PEG화는 반응성 PEG 분자 (또는 유사한 반응성 수용성 중합체)와의 아실화 반응 또는 알킬화 반응을 통해 수행된다. 본원에 사용된 용어 "폴리에틸렌 글리콜"은 다른 단백질을 유도체화하는데 사용된 임의의 형태의 PEG, 예컨대 모노 (C1-C10) 알콕시- 또는 아릴옥시-폴리에틸렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜-말레이미드를 포괄하는 것으로 의도된다. 특정 실시양태에서, PEG화되는 항체는 비-글리코실화 항체이다. 단백질을 PEG화하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 본원에 기재된 항체에 적용될 수 있다. 예를 들어, EP 0154316 (Nishimura et al.) 및 EP 0401384 (Ishikawa et al.)을 참조한다.

[0277] 대안적으로, 일부 상황 하에 본 발명의 항체의 반감기를 증가시키기 보다는 감소시키는 것이 바람직할 수 있다. 인간 IgG1의 Fc 내의 변형, 예컨대 I253A (Hornick et al. (2000) J. Nucl. Med. 41:355) 및 H435A/R I253A 또는 H310A (Kim et al. (2000) Eur. J. Immunol. 29:2819)는 FcRn 결합을 감소시키고, 따라서 신속한 클리어런스가 바람직한 상황, 예컨대 의료 영상화에서의 사용을 위해 반감기를 감소 (클리어런스를 증가)시킬 수 있다. 또한 문헌 [Kenanova et al. (2005) Cancer Res. 65:622] 참조. 클리어런스를 증진시키기 위한 다른 수단은 본 발명의 항원 결합 도메인을 FcRn에 결합하는 능력이 결여된 항체 단편, 예컨대 Fab 단편으로서 포맷화하는 것을 포함한다. 이러한 변형은 항체의 순환 반감기를 2주 정도로부터 수시간까지 감소시킬 수 있다. 항체 단편의 선택적 PEG화는 이어서, 필요한 경우 항체 단편의 반감기를 미세-조정 (증가)하는데 사용될 수 있다. 문헌 [Chapman et al. (1999) Nat. Biotechnol. 17:780]. 항체 단편은 또한, 예를 들어 융합 단백질 구축물에서 인간 혈청 알부민에 융합되어 반감기를 증가시킬 수 있다. 문헌 [Yeh et al. (1992) Proc. Nat'l Acad. Sci. 89:1904]. 대안적으로, 본 발명의 제1 항원 결합 도메인 및 인간 혈청 알부민 (HSA)에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 갖는 이중특이적 항체가 구축될 수 있다. 국제 특허 출원 공개 WO 2009/127691 및 그 안에 인용된 특허 참고문헌을 참조한다. 대안적으로, 특화된 폴리펩티드 서열, 예를 들어 "XTEN" 폴리펩티드 서열이 항체 단편에 부가되어 반감기를 증가시킬 수 있다. 문헌 [Schellenberger et al. (2009) Nat. Biotechnol. 27:1186; 국제 특허 출원 공개 WO 2010/091122].

[0278] 안정성

[0279] IgG1 구축물의 힌지 내의 잠재적인 프로테아제 절단 부위는 D221G 및 K222S 변형에 의해 제거될 수 있고, 이는 항체의 안정성을 증가시킨다. WO 2014/043344.

[0280] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 아스파라긴 이성질현상 부위를 함유하지 않는다. 아스파라긴의 탈아미드화는 N-G 또는 D-G 서열 상에서 일어날 수 있고, 이는 폴리펩티드 쇄 내에 킹크를 도입할 수 있고 그의 안정성을 감소시킬 수 있는 이소아스파르트산 잔기의 생성을 일으킬 수 있다 (이소아스파르트산 효과).

[0281] 각각의 항체는 고유한 등전점 (pI)을 가질 것이며, 이는 일반적으로 6 내지 9.5의 pH 범위에 속한다. IgG1 항체에 대한 pI는 전형적으로, 7-9.5의 pH 범위 내에 속하고, IgG4 항체에 대한 pI는 전형적으로, 6-8의 pH 범위 내에 속한다. 정상 범위를 벗어난 pI를 갖는 항체는 생체내 조건 하에 약간의 언폴딩 및 불안정성을 가질 수 있다는 의견이 존재한다. 따라서, 정상 범위에 속하는 pI 값을 함유하는 항체를 갖는 것이 바람직하다. 이것은 정상 범위 내의 pI를 갖는 항체를 선택하거나 또는 하전된 표면 잔기를 돌연변이시킴으로써 달성될 수 있다.

[0282] 각각의 항체는 특징적인 용융 온도를 가질 것이고, 용융 온도가 높을수록 생체내에서 보다 큰 전체 안정성을 나타낸다 (Krishnamurthy R and Manning M C (2002) Curr Pharm Biotechnol 3:361-71). 일반적으로, T_{M1} (초기 언폴딩 온도)은 60℃ 초과, 바람직하게는 65℃ 초과, 보다 더 바람직하게는 70℃ 초과인 것이 바람직하다. 항체의 융점은 시차 주사 열량측정 (Chen et al. (2003) Pharm Res 20:1952-60; Ghirlando et al. (1999) Immunol Lett 68:47-52) 또는 원형 이색성 (Murray et al. (2002) J. Chromatogr Sci 40:343-9)을 사용하여 측정될 수 있다.

[0283] 바람직한 실시양태에서, 신속하게 분해되지 않는 항체가 선택된다. 항체의 분해는 모세관 전기영동 (CE) 및 MALDI-MS (Alexander A J and Hughes D E (1995) Anal Chem 67:3626-32)를 사용하여 측정될 수 있다.

[0284] IgG4 불변 도메인을 사용하는 경우에, 치환 S228P를 포함하는 것이 통상적으로 바람직하고, 이는 IgG1 내의 힌

지 서열을 모방하여, 예를 들어 치료될 환자에서 치료 항체와 내인성 IgG4 사이의 Fab-아암 교환을 감소시킴으로써 IgG4 분자를 안정화시킨다. 문헌 [Labrijn et al. (2009) Nat. Biotechnol. 27:767; Reddy et al. (2000) J. Immunol. 164:1925]. 유사하게, IgG2 힌지 함유 항체에서 C219S 및/또는 C220S 돌연변이는 IgG2 힌지 함유 항체를 안정화시킨다.

[0285] 응집

[0286] 또 다른 바람직한 실시양태에서, 원치 않는 면역 반응 및/또는 변경된 또는 바람직하지 않은 약동학적 특성의 촉발로 이어질 수 있는 응집 효과를 최소로 갖는 항체가 선택된다. 일반적으로, 응집이 25% 이하, 바람직하게는 20% 이하, 보다 더 바람직하게는 15% 이하, 보다 더 바람직하게는 10% 이하, 및 보다 더 바람직하게는 5% 이하인 항체가 허용된다. 응집은 크기 배제 칼럼 (SEC), 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 및 광 산란을 포함한 여러 기술에 의해 측정될 수 있다.

[0287] V. 비-항체 단백질 및 항체 유도체

[0288] 본원에 기재된 본 발명은 또한 전장 항체가 아닌 분자에 적용될 수 있으며, 단 이들은 힌지를 포함한다. 예를 들어, 증진된 생물학적 활성을 갖거나 이펙터 기능이 결여된 IgG 융합 단백질이 제조될 수 있다. 따라서, IgG 불변 영역, 예를 들어 IgG2 힌지 및 임의로 CH2 및 CH3 도메인을 포함하는 Fc 영역 또는 그의 부분에 연결된, 예를 들어 공유 연결된, 또는 감소된 이펙터 기능을 갖는, 예를 들어 P238에서의 돌연변이, 예를 들어 P238K를 포함하는 IgG (예를 들어, IgG1) 또는 그의 부분에 연결된 활성 모이어티를 포함하는 융합 단백질이 본원에 제공된다. Fc는 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역의 임의의 Fc, 예컨대 표 5, 6 또는 서열 표에 제시된 변형된 중쇄 불변 영역의 Fc 부분일 수 있다.

[0289] 본원에 기재된 항체는 또한 이중특이적 분자 또는 CAR-T 요법을 위한 분자의 형성에 사용될 수 있다. 항체 또는 그의 항원-결합 부분은 또 다른 기능적 분자, 예를 들어 또 다른 펩티드 또는 단백질 (예를 들어, 또 다른 항체 또는 수용체에 대한 리간드)로 유도체화되거나 또는 이에 연결되어, 적어도 2개의 상이한 결합 부위 또는 표적 분자에 결합하는 이중특이적 분자를 생성할 수 있다. 본원에 기재된 항체는 1종 초과의 다른 기능적 분자로 유도체화되거나 또는 이에 연결되어, 2개 초과의 상이한 결합 부위 및/또는 표적 분자에 결합하는 다중특이적 분자를 생성할 수 있고, 이러한 다중특이적 분자도 또한 본원에 사용된 용어 "이중특이적 분자"에 포괄되는 것으로 의도된다. 이중특이적 분자를 생성시키기 위해, 본원에 기재된 항체는 1종 이상의 다른 결합 분자, 예컨대 또 다른 항체, 항체 단편, 펩티드 또는 결합 모방체에 기능적으로 연결되어 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유적 회합 등에 의함) 이중특이적 분자가 생성되도록 할 수 있다.

[0290] VI. 조성물

[0291] 제약상 허용되는 담체와 함께 제제화된, 본원에 기재된 항체 또는 그의 항원-결합 부분(들)의 조합을 함유하는 조성물, 예를 들어 제약 조성물이 추가로 제공된다. 이러한 조성물은 (예를 들어, 2종 이상의 상이한) 항체 중 1종 또는 그의 조합, 또는 본원에 기재된 면역접합체 또는 이중특이적 분자를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 제약 조성물은 표적 항원 상의 상이한 에피토프에 결합하거나 또는 상보적 활성을 갖는 항체 (또는 면역접합체 또는 이중특이체)의 조합을 포함할 수 있다.

[0292] 특정 실시양태에서, 조성물은 본원에 기재된 항체를 적어도 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml, 50 mg/ml, 100 mg/ml, 150 mg/ml, 200 mg/ml, 1-300 mg/ml 또는 100-300 mg/ml의 농도로 포함한다.

[0293] 본원에 기재된 제약 조성물은 또한 조합 요법으로, 즉 다른 작용제와 조합되어 투여될 수 있다. 예를 들어, 조합 요법은 본원에 기재된 항체를 적어도 1종의 다른 항암제 및/또는 T-세포 자극제 (예를 들어, 활성화제)와 조합하여 포함할 수 있다. 조합 요법으로 사용될 수 있는 치료제의 예는 본원에 기재된 항체의 용도에 관한 하기 섹션에서 보다 상세하게 기재된다.

[0294] 일부 실시양태에서, 본원에 개시된 치료 조성물은 암 치료에 사용되는 다른 화합물, 약물 및/또는 작용제를 포함할 수 있다. 이러한 화합물, 약물 및/또는 작용제는, 예를 들어 화학요법 약물, 소분자 약물, 또는 소정의 암에 대한 면역 반응을 자극하는 항체를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 치료 조성물은, 예를 들어 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체, 항-PDL-1 항체, 항-OX40 (또한 CD134, TNFRSF4, ACT35 및/또는 TXGP1L로도 공지됨) 항체, 또는 항-LAG-3 항체 중 1종 이상을 포함할 수 있다.

[0295] 본원에 사용된 "제약상 허용되는 담체"는 생리학상 상용성인 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장화제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 바람직하게는, 담체는 정맥내, 근육내, 피하, 비

경구, 척수 또는 표피 투여 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의함)에 적합하다. 투여 경로에 따라, 활성 화합물, 즉 항체, 면역접합체 또는 이중특이적 분자는 화합물을 불활성화시킬 수 있는 산 및 다른 천연 조건의 작용으로부터 화합물을 보호하는 물질로 코팅될 수 있다.

[0296] 본원에 기재된 제약 화합물은 1종 이상의 제약상 허용되는 염을 포함할 수 있다. "제약상 허용되는 염"은 모 화합물의 목적하는 생물학적 활성을 보유하고 어떠한 바람직하지 않은 독성학적 효과도 제공하지 않는 염을 지칭한다 (예를 들어, 문헌 [Berge, S.M., et al. (1977) J. Pharm. Sci. 66:1-19] 참조). 이러한 염의 예는 산 부가염 및 염기 부가염을 포함한다. 산 부가염은 비독성 무기 산, 예컨대 염산, 질산, 인산, 황산, 브로민화수소산, 아이오딘화수소산, 아인산 등으로부터 유래된 것, 뿐만 아니라 비독성 유기 산, 예컨대 지방족 모노- 및 디카르복실산, 페닐-치환된 알칸산, 히드록시 알칸산, 방향족 산, 지방족 및 방향족 술폰산 등으로부터 유래된 것을 포함한다. 염기 부가염은 알칼리 토금속, 예컨대 나트륨, 칼륨, 마그네슘, 칼슘 등으로부터 유래된 것, 뿐만 아니라 비독성 유기 아민, 예컨대 N,N'-디벤질에틸렌디아민, N-메틸글루카민, 클로로프로카인, 콜린, 디에탄올아민, 에틸렌디아민, 프로카인 등으로부터 유래된 것을 포함한다.

[0297] 본원에 기재된 제약 조성물은 또한 제약상 허용되는 항산화제를 포함할 수 있다. 제약상 허용되는 항산화제의 예는 다음을 포함한다: (1) 수용성 항산화제, 예컨대 아스코르브산, 시스테인 히드로클로라이드, 중황산나트륨, 메타중아황산나트륨, 아황산나트륨 등; (2) 유용성 항산화제, 예컨대 아스코르빌 팔미테이트, 부틸화 히드록시아니솔 (BHA), 부틸화 히드록시톨루엔 (BHT), 레시틴, 프로필 갈레이트, 알파-토코페롤 등; 및 (3) 금속 킬레이트화제, 예컨대 시트르산, 에틸렌디아민 테트라아세트산 (EDTA), 소르비톨, 타르타르산, 인산 등.

[0298] 본원에 기재된 제약 조성물에 사용될 수 있는 적합한 수성 및 비수성 담체의 예는 물, 에탄올, 폴리올 (예컨대 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 및 주사가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올리에이트를 포함한다. 적절한 유동성은, 예를 들어 코팅 물질, 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다.

[0299] 이들 조성물은 또한, 아주반트, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제를 함유할 수 있다. 미생물의 존재를 방지하는 것은 상기의 멸균 절차, 및 다양한 항박테리아제 및 항진균제, 예를 들어 파라벤, 클로로부탄올, 페놀 소르브산 등을 포함시키는 것 둘 다에 의해 보장될 수 있다. 등장화제, 예컨대 당, 염화나트륨 등을 조성물 내로 포함시키는 것이 또한 바람직할 수 있다. 추가로, 흡수를 지연시키는 작용제, 예컨대 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시킴으로써 주사가능한 제약 형태의 지속 흡수가 달성될 수 있다.

[0300] 제약상 허용되는 담체는 멸균 수용액 또는 분산액, 및 멸균 주사가능한 용액 또는 분산액의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 제약 활성 물질을 위한 이러한 매질 및 작용제의 용도가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 임의의 통상적인 매질 또는 작용제가 활성 화합물과 비상용성인 경우를 제외하고는, 본원에 기재된 제약 조성물에서의 그의 용도가 고려된다. 보충 활성 화합물이 또한 조성물 내로 혼입될 수 있다.

[0301] 치료 조성물은 전형적으로 제조 및 저장 조건 하에 멸균되고 안정하여야 한다. 이러한 조성물은 용액, 마이크로에멀젼, 리포솜, 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 정렬된 구조로서 제제화될 수 있다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 액체 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 그의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매질일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 코팅물질, 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산액의 경우 요구되는 입자 크기의 유지에 의해, 및 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 다수의 경우에, 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 소르비톨, 또는 염화나트륨을 조성물에 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 모노스테아레이트 염 및 젤라틴을 조성물에 포함시킴으로써 주사가능한 조성물의 지속 흡수가 달성될 수 있다.

[0302] 적절한 용매 중의 필요한 양의 활성 화합물을, 필요에 따라 상기 열거된 성분 중 1종 또는 그의 조합과 함께 혼입시킨 다음, 멸균 마이크로여과함으로써, 멸균 주사가능한 용액이 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산액은 활성 화합물을 기본 분산 매질 및 상기 열거된 것으로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히클 내로 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사가능한 용액을 제조하기 위한 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 활성 성분의 분말 플러스 이전의 그의 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가의 목적하는 성분을 생성하는 진공 건조 및 동결-건조 (동결건조)이다.

[0303] 단일 투여 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성분의 양은 치료하고자 하는 대상체 및 특정한 투여 방식에 따라 달라질 것이다. 단일 투여 형태를 생성하기 위해 담체 물질과 조합될 수 있는 활성 성

분의 양은 일반적으로, 치료 효과를 생성하는 조성물의 양일 것이다. 일반적으로 100%를 기준으로, 이 양은 제약상 허용되는 담체와 조합된 활성 성분의 약 0.01% 내지 약 99%, 바람직하게는 약 0.1% 내지 약 70%, 가장 바람직하게는 활성 성분의 약 1% 내지 약 30% 범위일 것이다.

[0304] 투여 요법은 목적하는 최적의 반응 (예를 들어, 치료 반응)을 제공하도록 조정된다. 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있거나, 여러 분할 용량이 시간 경과에 따라 투여될 수 있거나, 용량이 치료 상황의 위급성에 의해 나타나는 바와 비례하여 감소 또는 증가될 수 있다. 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위해 비경구 조성물을 투여 단위 형태로 제제화하는 것이 특히 유리하다. 본원에 사용된 바와 같은 투여 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단일 투여량으로서 적합한 물리적 이산 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 필요한 제약 담체와 함께 목적하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 활성 화합물의 미리 결정된 양을 함유한다. 본원에 기재된 투여 단위 형태에 대한 세부사항은 (a) 활성 화합물의 고유한 특징 및 달성하고자 하는 특정한 치료 효과, 및 (b) 개체에서의 감수성을 치료하기 위해 이러한 활성 화합물의 배합 기술분야에 내재된 제한사항에 의해 좌우되고 직접적으로 그에 의존한다.

[0305] 항체를 투여하는 경우, 투여량은 숙주 체중의 약 0.0001 내지 100 mg/kg, 및 보다 통상적으로 0.01 내지 5 mg/kg 범위이다. 예를 들어 투여량은 0.3 mg/kg 체중, 1 mg/kg 체중, 3 mg/kg 체중, 5 mg/kg 체중 또는 10 mg/kg 체중, 또는 1-10 mg/kg 범위 내일 수 있다. 예시적인 치료 요법은 1주에 1회, 2주마다 1회, 3주마다 1회, 4주마다 1회, 1개월 1회, 3개월마다 1회 또는 3 내지 6개월마다 1회 투여를 수반한다. 본원에 기재된 항체에 대한 바람직한 투여 요법은 정맥내 투여를 통한 1 mg/kg 체중 또는 3 mg/kg 체중을 포함하며, 항체는 하기 투여 스케줄 중 하나를 사용하여 제공된다: (i) 6회 투여량에 대해 4주마다, 이어서 3개월마다; (ii) 3주마다; (iii) 3 mg/kg 체중 1회, 이어서 1 mg/kg 체중 3주마다.

[0306] 일부 방법에서, 상이한 결합 특이성을 갖는 2종 이상의 모노클로날 항체를 동시에 투여하며, 이 경우에 투여되는 각각의 항체의 투여량은 표시된 범위 내에 속한다. 항체는 통상적으로 다중 투여된다. 단일 투여 사이의 간격은, 예를 들어 매주, 매월, 3개월마다 또는 매년일 수 있다. 간격은 또한, 환자에서 표적 항원에 대한 항체의 혈액 수준을 측정함으로써 제시되는 바와 같이 불규칙적일 수 있다. 일부 방법에서, 약 1-1000 μg/ml의 혈장 항체 농도 및 일부 방법에서 약 25-300 μg/ml를 달성하도록 투여량이 조정된다.

[0307] 항체는 지속 방출 제제로서 투여될 수 있고, 이러한 경우에 덜 빈번한 투여가 요구된다. 투여량 및 빈도는 환자에서의 항체의 반감기에 따라 달라진다. 일반적으로, 인간 항체가 가장 긴 반감기를 제시하고, 이어서 인간화 항체, 키메라 항체, 및 비인간 항체이다. 투여량 및 투여 빈도는 치료가 예방적인지 또는 치료적인지에 따라 달라질 수 있다. 예방적 적용에서는, 비교적 적은 투여량이 장기간에 걸쳐 비교적 드문 간격으로 투여된다. 일부 환자는 그의 나머지 여생 동안 계속 치료받는다. 치료적 적용에서는, 질환의 진행이 감소되거나 종결될 때까지, 바람직하게는 환자가 질환 증상의 부분적 또는 완전한 호전을 나타낼 때까지 비교적 짧은 간격으로의 비교적 높은 투여량이 때때로 요구된다. 그 후, 환자에게 예방적 요법이 투여될 수 있다.

[0308] 본원에 기재된 제약 조성물 중의 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 독성이 아니면서, 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 목적하는 치료 반응을 달성하는데 유효한 활성 성분의 양을 수득하도록 달라질 수 있다. 선택되는 투여량 수준은 사용된 본원에 기재된 특정한 조성물, 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정한 화합물의 배출 속도, 치료 지속기간, 사용된 특정한 조성물과 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료될 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 과거 병력, 및 의학 기술분야에 널리 공지된 다른 인자를 포함한 다양한 약동학적 인자에 의존할 것이다.

[0309] 본원에 기재된 항체의 "치료 유효 투여량"은 바람직하게는 질환 증상의 중증도의 감소, 질환 증상 부재 기간의 빈도 및 지속기간의 증가, 또는 질환 고통으로 인한 손상 또는 장애의 방지를 가져온다. 암과 관련하여, 치료 유효 용량은 바람직하게는 암과 연관된 신체 증상이 추가로 악화되는 것을 방지한다. 암의 증상은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 비통상적 모반 특색, 비대칭, 경계, 색상 및/또는 직경을 포함한 모반의 외관의 변화, 새롭게 착색된 피부 영역, 비정상적 모반, 손발톱 아래의 거무스름한 영역, 유방 종괴, 유두 변화, 유방 낭, 유방 통증, 사멸, 체중 감소, 쇠약, 과도한 피로, 섭식 곤란, 식욕 상실, 만성 기침, 호흡곤란 악화, 객혈, 혈뇨, 혈변, 오심, 구토, 간 전이, 폐 전이, 골 전이, 복부 포만감, 복부팽창, 복막강액, 질 출혈, 변비, 복부 팽만, 결장 천공, 급성 복막염 (감염, 열, 통증), 통증, 토혈, 다한, 열, 고혈압, 빈혈, 설사, 황달, 어지럼증, 오한, 근육 연축, 결장 전이, 폐 전이, 방광 전이, 간 전이, 골 전이, 신장 전이, 및 췌장 전이, 삼킴 곤란 등을 포함한다.

[0310] 치료 유효 용량은 암의 발병을 방지 또는 지연시킬 수 있고, 예컨대 질환의 초기 또는 예비 징후가 존재하는 경

우에 바람직할 수 있다. 암 진단에 이용된 실험실 시험은 화학, 혈액학, 혈청학 및 방사선학을 포함한다. 따라서, 상기 중 임의의 것을 모니터링하는 임의의 임상적 또는 생화학적 검정을 사용하여, 특정한 치료가 암을 치료하기 위한 치료 유효 용량인지 여부를 결정할 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 대상체의 크기, 대상체의 증상의 중증도, 및 선택된 특정한 조성물 또는 투여 경로와 같은 인자에 기초하여 이러한 양을 결정할 수 있을 것이다.

[0311] 본원에 기재된 조성물은 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법 중 1종 이상을 사용하여 1종 이상의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 통상의 기술자에 의해 인지될 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 목적하는 결과에 따라 달라질 것이다. 본원에 기재된 항체에 대한 바람직한 투여 경로는 정맥내, 근육내, 피내, 복강내, 피하, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 것을 포함한다. 본원에 사용된 어구 "비경구 투여"는 경장 및 국소 투여 이외의, 통상적으로 주사에 의한 투여 방식을 의미하고, 비제한적으로 정맥내, 근육내, 동맥내, 척추강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 각피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함한다.

[0312] 대안적으로, 본원에 기재된 항체는 비-비경구 경로, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로를 통해, 예를 들어 비강내로, 경구로, 질로, 직장으로, 설하로 또는 국소로 투여될 수 있다.

[0313] 활성 화합물은 화합물의 급속 방출을 방지할 담체와 함께, 예컨대 이식물, 경피 패치 및 마이크로캡슐화 전달 시스템을 포함한 제어 방출 제제로 제조될 수 있다. 생분해성, 생체적합성 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제제를 제조하기 위한 많은 방법이 특허되었거나 또는 일반적으로 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J.R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978]을 참조한다.

[0314] 치료 조성물은 관련 기술분야에 공지된 의료 장치를 사용하여 투여될 수 있다. 예를 들어, 바람직한 실시양태에서, 본원에 기재된 치료 조성물은 무바늘 피하 주사 장치, 예컨대 미국 특허 번호 5,399,163; 5,383,851; 5,312,335; 5,064,413; 4,941,880; 4,790,824; 또는 4,596,556에 개시된 장치를 사용하여 투여될 수 있다. 본원에 기재된 항체와 함께 사용하기 위한 널리 공지된 이식물 및 모듈의 예는 미국 특허 번호 4,487,603에 개시된, 제어된 속도로 의약을 분배하기 위한 이식가능 마이크로-주입 펌프; 미국 특허 번호 4,486,194에 개시된, 피부를 통해 의약을 투여하기 위한 치료 장치; 미국 특허 번호 4,447,233에 개시된, 정확한 주입 속도로 의약을 전달하기 위한 의약 주입 펌프; 미국 특허 번호 4,447,224에 개시된, 연속 약물 전달을 위한 가변 유동 이식가능 주입 기구; 미국 특허 번호 4,439,196에 개시된, 멀티-챔버 구획을 보유하는 삼투성 약물 전달 시스템; 및 미국 특허 번호 4,475,196에 개시된, 삼투성 약물 전달 시스템을 포함한다. 이들 특허는 본원에 참조로 포함된다. 많은 다른 이러한 이식물, 전달 시스템 및 모듈이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다.

[0315] 특정 실시양태에서, 본원에 기재된 항체는 생체내에서 적절한 분포를 보장하도록 제제화될 수 있다. 예를 들어, 혈액-뇌 장벽 (BBB)은 많은 고도 친수성 화합물을 배제시킨다. 본원에 기재된 치료 화합물이 (경우에 따라) BBB를 가로지르는 것을 보장하기 위해, 이들은, 예를 들어 리포솜에 제제화될 수 있다. 리포솜을 제조하는 방법에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 4,522,811; 5,374,548; 및 5,399,331을 참조한다. 리포솜은 특정 세포 또는 기관 내로 선택적으로 수송되는 1종 이상의 모이어티를 포함할 수 있으므로, 표적화된 약물 전달을 증진시킬 수 있다 (예를 들어, 문헌 [V.V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685] 참조). 예시적인 표적화 모이어티는 폴레이트 또는 비오틴 (예를 들어, 미국 특허 5,416,016 (Low et al.) 참조); 만노시드 (Umezawa et al., (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038); 항체 (P.G. Bloeman et al. (1995) FEBS Lett. 357:140; M. Owais et al. (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180); 계면활성제 단백질 A 수용체 (Briscoe et al. (1995) Am. J. Physiol. 1233:134); p120 (Schreier et al. (1994) J. Biol. Chem. 269:9090)을 포함하며; 또한 문헌 [K. Keinanen; M.L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346:123; J.J. Killion; I.J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273]을 참조한다.

[0316] VII. 용도 및 방법

[0317] 본원에 기재된 항체, 항체 조성물 및 방법은, 예를 들어 다양한 장애, 예를 들어 암의 치료를 수반하는, 수많은 시험관내 및 생체내 유용성을 갖는다. 예를 들어, 본원에 기재된 항체는 시험관내 또는 생체외에서 배양물 내의 세포에 투여되거나, 또는 예를 들어 생체내에서 인간 대상체에 투여될 수 있다. 따라서, 대상체에게 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체를 투여하여 치료가 이루어지도록 하는 것을 포함하는, 대상체의 치료 방법이 본원에 제공된다. 또한, 대상체에게 항체를 투여하여 대상체에서 면역 반응이 변형되도록 하는 것을 포함하는,

대상체에서 면역 반응을 변형시키는 방법이 본원에 제공된다. 바람직하게는, 반응은 증진되거나, 자극되거나 또는 상향-조절된다. 그러나, 다른 실시양태에서, 면역 반응은 억제된다.

[0318] 바람직한 대상체는 면역 반응의 증진이 바람직할 인간 환자를 포함한다. 방법은 면역 반응 (예를 들어, T-세포 매개된 면역 반응)을 증대시킴으로써 치료될 수 있는 장애를 갖는 인간 환자를 치료하는데 특히 적합하다. 특정한 실시양태에서, 방법은 생체내 암의 치료에 특히 적합하다. 한 실시양태에서, 대상체는 종양-보유 대상체이고, 종양에 대한 면역 반응이 자극된다. 종양은 고형 종양 또는 액상 종양, 예를 들어 혈액 악성종양일 수 있다. 특정 실시양태에서, 종양은 면역원성 종양이다. 특정 실시양태에서, 종양은 비-면역원성이다. 특정 실시양태에서, 종양은 PD-L1 양성이다. 특정 실시양태에서, 종양은 PD-L1 음성이다. 대상체는 또한 바이러스-보유 대상체일 수 있고 바이러스에 대한 면역 반응이 자극된다.

[0319] 추가로 대상체에게 본원에 기재된 항체를 투여하여 대상체에서 종양의 성장이 억제되도록 하는 것을 포함하는, 대상체에서 종양 세포의 성장을 억제하는 방법이 제공된다. 또한 대상체에게 본원에 기재된 항체를 투여하여 대상체에서 바이러스 감염이 치료되도록 하는 것을 포함하는, 대상체에서 바이러스 감염을 치료하는 방법이 제공된다.

[0320] 또한 종양, 예를 들어 암성 종양을 갖는 대상체에게 종양 미세환경에서 T_{reg} 세포의 고갈을 자극하는 Fc를 포함하는 본원에 기재된 항체의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체의 종양 미세환경으로부터 Treg 세포를 고갈시키는 방법이 본원에 포괄된다. Fc는, 예를 들어 이펙터 기능 또는 증진된 이펙터 기능, 예컨대 1종 이상의 활성화 Fc 수용체에 대한 결합 또는 그에 대한 증진된 결합을 갖는 Fc일 수 있다.

[0321] 특정 실시양태에서, 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체는 자극 분자에 결합하고 그의 활성을 억제하며, 즉 자극 분자의 길항제이거나, 또는 항체는 억제 분자에 결합하고 그의 활성을 자극하며, 즉 억제 분자의 효능제이다. 이러한 항체는 면역계 또는 면역 반응이 하향조절되어야 하는 질환, 예를 들어 자가면역 질환을 치료하기 위해 또는 이식 거부를 예방하기 위해 사용될 수 있다.

[0322] 암

[0323] 암을 갖는 대상체에게 본원에 기재된 항체를 투여하여, 이러한 대상체가 치료되도록 하는, 예를 들어 암성 종양의 성장이 억제 또는 감소되고/거나 종양이 퇴행되도록 하는 것을 포함하는, 암을 갖는 대상체를 치료하는 방법이 본원에 제공된다. 예를 들어, 항-GITR 항체에 의한 GITR의 활성화는 환자에서 암성 세포에 대한 면역 반응을 증진시킬 수 있다. 항체는 단독으로 사용되어 암성 종양의 성장을 억제할 수 있다. 대안적으로, 항체는 또 다른 작용제, 예를 들어 하기 기재된 바와 같은 다른 면역원성 작용제, 표준 암 치료 또는 다른 항체와 함께 사용될 수 있다.

[0324] 본원에 기재된 항체를 사용하여 성장이 억제될 수 있는 암은 전형적으로 면역요법에 대해 반응성인 암을 포함한다. 치료하기 위한 암의 비제한적 예는 편평 세포 암종, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 편평 비소세포 폐암 (NSCLC), 비-NSCLC, 신경교종, 위장암, 신암 (예를 들어 투명 세포 암종), 난소암, 간암, 결장직장암, 자궁내막암, 신장암 (예를 들어, 신세포 암종 (RCC)), 전립선암 (예를 들어 호르몬 불응성 전립선 선암종), 갑상선암, 신경모세포종, 췌장암, 교모세포종 (다형성 교모세포종), 자궁경부암, 위암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암종, 및 두경부암 (또는 암종), 위암, 배세포 종양, 소아 육종, 부비동비강 자연 킬러, 흑색종 (예를 들어, 전이성 악성 흑색종, 예컨대 피부 또는 안내 악성 흑색종), 골암, 피부암, 자궁암, 항문부암, 고환암, 난관 암종, 자궁내막 암종, 자궁경부 암종, 질 암종, 외음부 암종, 식도암, 소장암, 내분비계암, 부갑상선암, 부신암, 연부 조직 육종, 요도암, 남근암, 소아기 고형 종양, 요관암, 신우 암종, 중추 신경계 (CNS) 신생물, 원발성 CNS 림프종, 종양 혈관신생, 척추 종양, 뇌간 신경교종, 뇌하수체 선종, 카포시 육종, 표피양암, 편평 세포암, T-세포 림프종, 환경적으로 유도된 암 (석면에 의해 유도된 암 포함), 바이러스 관련 암 (예를 들어, 인간 유두종 바이러스 (HPV)-관련 종양), 및 2종의 주요 혈액 세포 계통 중 어느 하나, 즉 골수 세포주 (과립구, 적혈구, 혈소판, 대식세포 및 비만 세포를 생산함) 또는 림프성 세포주 (B, T, NK 및 형질 세포를 생산함)로부터 유래된 혈액 악성종양, 예컨대 모든 유형의 백혈병, 림프종 및 골수종, 예를 들어 급성, 만성, 림프구성 및/또는 골수성 백혈병, 예컨대 급성 백혈병 (ALL), 급성 골수 백혈병 (AML), 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 및 만성 골수 백혈병 (CML), 미분화된 AML (M0), 골수모구성 백혈병 (M1), 골수모구성 백혈병 (M2; 세포 성숙을 동반함), 전골수구성 백혈병 (M3 또는 M3 변이형 [M3V]), 골수단핵구성 백혈병 (M4 또는 호산구증가증을 동반한 M4 변이형 [M4E]), 단핵구성 백혈병 (M5), 적백혈병 (M6), 거핵모구성 백혈병 (M7), 고립성 과립구성 육종, 및 녹색종; 림프종, 예컨대 호지킨 림프종 (HL), 비-호지킨 림프종 (NHL), B-세포 림프종, T-세포 림프종, 림프형질세포양 림프종, 단핵구성 B-세포 림프종, 점막 연관 림프성 조직 (MALT) 림프종, 역형성 (예를 들어, Ki 1+) 대세포 림프

종, 성인 T-세포 림프종/백혈병, 외투 세포 림프종, 혈관 면역모세포성 T-세포 림프종, 혈관중심성 림프종, 장 T-세포 림프종, 원발성 종격 B-세포 림프종, 전구체 T-림프모구성 림프종, T-림프모구성; 및 림프종/백혈병 (T-Lbly/T-ALL), 말초 T-세포 림프종, 림프모구성 림프종, 이식후 림프증식성 장애, 진성 조직구성 림프종, 원발성 중추 신경계 림프종, 원발성 삼출 림프종, 림프모구성 림프종 (LBL), 림프계의 조혈 종양, 급성 림프모구성 백혈병, 미만성 대 B-세포 림프종, 버킷 림프종, 여포성 림프종, 미만성 조직구성 림프종 (DHL), 면역모세포성 대세포 림프종, 전구체 B-림프모구성 림프종, 피부 T-세포 림프종 (CTLC) (또한 균상 식육종 또는 세자리 증후군으로도 불림), 및 발덴스트롬 마크로글로불린혈증을 동반한 림프형질세포양 림프종 (LPL); 골수종, 예컨대 IgG 골수종, 경쇄 골수종, 비분비성 골수종, 무증상 골수종 (또한 무통성 골수종으로도 불림), 고립성 형질세포종, 및 다발성 골수종, 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 모발상 세포 림프종; 골수계 조혈 종양, 중간엽 기원 종양 (섬유육종 및 횡문근육종 포함); 정상피종, 기형암종, 중추 및 말초 신경 종양 (성상세포종, 슈반세포종 포함); 중간엽 기원 종양 (섬유육종, 횡문근육종 및 골육종 포함); 및 다른 종양, 예를 들어 흑색종, 색소성 건피증, 각화극세포종, 정상피종, 갑상선 여포암 및 기형암종, 림프계 조혈 종양, 예를 들어 T-세포 및 B-세포 종양, 예를 들어 비제한적으로 T-세포 장애, 예컨대 T-전림프구성 백혈병 (T-PLL) (소세포 및 대뇌양 세포 유형 포함); 바람직하게는 T-세포 유형의 거대 과립 림프구 백혈병 (LGL); a/d T-NHL 간비장 림프종; 말초/흉선 후 T 세포 림프종 (다형성 및 면역모세포성 하위유형); 혈관중심성 (비강) T-세포 림프종; 두경부암, 신암, 직장암, 갑상선암; 급성 골수성 림프종, 뿐만 아니라 상기 암의 임의의 조합을 포함한다. 본원에 기재된 방법은 또한, 전이성 암, 불응성 암 (예를 들어, 이전의 면역요법, 예를 들어 차단 CTLA-4 또는 PD-1 항체를 사용한 이전의 면역요법에 대해 불응성인 암), 및 재발성 암의 치료를 위해 사용될 수 있다.

[0325] 조합 요법

[0326] 상기 제공된 요법에 추가로, 본원에 기재된 항체는 또한 또 다른 요법과 조합되어 사용될 수 있다. 예를 들어, 암 치료를 위해, 본원에 기재된 항체는 또 다른 암 치료, 예컨대 화학요법, 방사선, 수술 또는 유전자 요법을 또한 받고 있는 대상체에게 투여될 수 있다.

[0327] 치료 방법은 본원에 기재된 항체 (예를 들어, 길항제 항체, 효능제 항체 및 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 ADC)와 또 다른 분자, 예를 들어 항체 (예를 들어, 길항제 항체, 효능제 항체 및 ADC)와의 공투여를 포함할 수 있다. 면역계를 자극하는 본원에 기재된 항체는 면역계를 자극하는 또 다른 분자, 예를 들어 공동-자극 분자의 효능제 또는 억제 분자의 억제제인 분자와 함께 투여될 수 있다.

[0328] 본원에 기재된 바와 같은 항체 단독 또는 1종 이상의 추가의 면역 자극 항체 (예를 들어, CTLA-4 및/또는 PD-1 및/또는 PD-L1 및/또는 LAG-3 차단)와의 조합은 표준 암 치료와 조합될 수 있다. 예를 들어, 본원에 기재된 항체 단독 또는 1종 이상의 추가의 항체와의 조합은 화학치료 요법과 효과적으로 조합될 수 있다. 이들 경우에, 본 개시내용의 조합과 함께 투여되는 다른 화학요법 시약의 용량을 감소시키는 것이 가능할 수 있다 (Mokyr et al. (1998) Cancer Research 58: 5301-5304). 이러한 조합의 예는 추가로 흑색종의 치료를 위한 데카르바진 또는 IL-2와 조합된, 추가의 항체의 존재 또는 부재 하의 본원에 기재된 항체의 조합이다.

[0329] 본원에 기재된 항체는 항-신생물성 항체, 예컨대 리툭산(Rituxan)® (리툭시맙), 헤르셉틴(Herceptin)® (트라스투주맙), 벡사르(Bexxar)® (토시투모맙), 제발린(Zevalin)® (이브리투모맙), 캄파트(Campath)® (알렘투주맙), 림포사이드(Lymphocide)® (에프라투주맙), 아바스틴(Avastin)® (베바시주맙) 및 타르세바(Tarceva)® (에를로티닙) 등과 조합될 수 있다. 본원에 기재된 항체는 또한 하기 화학요법제 중 1종 이상과 조합될 수 있다: 캄프토테신 (CPT-11), 5-플루오로우라실 (5-FU), 시스플라틴, 독소루비신, 이리노테칸, 파클리탁셀, 겜시타빈, 시스플라틴, 파클리탁셀, 카르보플라틴-파클리탁셀 (탁솔), 독소루비신, 5-fu, 또는 캄프토테신 + apo2l/TRAIL (6X 콤보)); 프로테아솜 억제제 (예를 들어, 보르테조밉 또는 MG132); Bcl-2 억제제 (예를 들어, BH3I-2' (bcl-xl 억제제), 인돌아민 디옥시게나제-1 (IDO1) 억제제 (예를 들어, INCB24360), AT-101 (R-(-)-고시폴 유도체), ABT-263 (소분자), GX-15-070 (오바토클락스), 또는 MCL-1 (골수성 백혈병 세포 분화 단백질-1) 길항제), iAP (아폽토시스 단백질 억제제) 길항제 (예를 들어, smac7, smac4, 소분자 smac 모방체, 합성 smac 펩티드 (문헌 [Fulda et al., Nat Med 2002;8:808-15] 참조), ISIS23722 (LY2181308), 또는 AEG-35156 (GEM-640)), HDAC (히스톤 데아세틸라제) 억제제, 항-CD20 항체 (예를 들어, 리툭시맙), 혈관신생 억제제 (예를 들어, 베바시주맙), VEGF 및 VEGFR 표적화 항혈관신생제 (예를 들어, 아바스틴), 합성 트리테르페노이드 (문헌 [Hyer et al., Cancer Research 2005;65:4799-808] 참조), c-FLIP (세포성 FLICE-억제 단백질) 조정제 (예를 들어, PPARγ (퍼옥시솜 증식자-활성화 수용체 γ)의 천연 및 합성 리간드, 5809354 또는 5569100), 키나제 억제제 (예를 들어, 소라페닙), 트라스투주맙, 세툭시맙, 템시롤리무스, mTOR 억제제, 예컨대 라파마이신 및 템시롤리무스, 보르테조밉, JAK2 억제제, HSP90 억제제, PI3K-AKT 저해제, 레날리도미드, GSK3β 억제제, IAP 억제

제 및/또는 유전자독성 약물.

[0330] 본원에 기재된 항체 및 조합 항체 요법은 추가로 1종 이상의 항증식 세포독성제와 조합되어 사용될 수 있다. 항증식 세포독성제로서 사용될 수 있는 화합물의 부류는 하기를 포함하나 이에 제한되지는 않는다:

[0331] 알킬화제 (비제한적으로, 질소 머스타드, 에틸렌이민 유도체, 알킬 술포네이트, 니트로소우레아 및 트리아젠 포함): 우라실 머스타드, 클로르메틴, 시클로포스파미드 (시톡산(CYTOXAN)™), 포스파미드, 멜팔란, 클로람부실, 피포브로만, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌티오포스포르아민, 부술판, 카르무스틴, 로무스틴, 스트렙토조신, 다카르바진, 및 테모졸로미드.

[0332] 항대사물 (비제한적으로, 폴산 길항제, 피리미딘 유사체, 퓨린 유사체 및 아데노신 데아미나제 억제제 포함): 메토트렉세이트, 5-플루오로우라실, 플록수리딘, 시타라빈, 6-메르캅토퓨린, 6-티오구아닌, 플루다라빈 포스페이트, 펜토스타틴, 및 겜시타빈.

[0333] 본원에 기재된 항체와 조합하는데 적합한 항증식제, 관련 기술분야에 공지된 다른 마이크로투불린 안정화제 이외에, 비제한적으로, 탁산, 파클리탁셀 (파클리탁셀은 탁솔(TAXOL)™로서 상업적으로 입수가능함), 도세탁셀, 디스코데르몰리드 (DDM), 딕티오스타틴 (DCT), 펠로루시드 A, 에포틸론, 에포틸론 A, 에포틸론 B, 에포틸론 C, 에포틸론 D, 에포틸론 E, 에포틸론 F, 푸라노에포틸론 D, 데스옥시에포틸론 B1, [17]-데히드로데스옥시에포틸론 B, [18]데히드로데스옥시에포틸론 B, C12,13-시클로프로필-에포틸론 A, C6-C8 가교된 에포틸론 A, 트랜스-9,10-데히드로에포틸론 D, 시스-9,10-데히드로에포틸론 D, 16-데스메틸에포틸론 B, 에포틸론 B10, 디스코데로몰리드, 파투필론 (EPO-906), KOS-862, KOS-1584, ZK-EPO, ABJ-789, XAA296A (디스코데르몰리드), TZT-1027 (소블리도틴), ILX-651 (타시도틴 히드로클로라이드), 할리콘드린 B, 에리불린 메실레이트 (E-7389), 헤미아스텔린 (HTI-286), E-7974, 크립토피신, LY-355703, 메이탄시노이드 면역접합체 (DM-1), MKC-1, ABT-751, T1-38067, T-900607, SB-715992 (이스피네시브), SB-743921, MK-0731, STA-5312, 엘레우테로빈, 17베타-아세톡시-2-에톡시-6-옥소-B-호모-에스트라-1,3,5(10)-트리엔-3-올, 시클로스트렙틴, 이소라울리말리드, 라울리말리드, 4-epi-7-데히드록시-14,16-디데메틸-(+)-디스코데르몰리드, 및 크립토틸론 1.

[0334] 조합 치료는 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 특정 예에서, 조합은 고정 용량 조합물이다.

[0335] 본원에 기재된 항체를 사용한 치료와 함께 또는 그 전에, 이상 증식성 세포를 정지기로 만드는 것이 바람직한 경우에, 호르몬 및 스테로이드 (합성 유사체 포함), 예컨대 17a-에티닐에스트라디올, 디에틸스틸베스트롤, 테스토스테론, 프레드니손, 플루옥시메스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 테스토락톤, 메게스트롤아세테이트, 메틸프레드니솔론, 메틸-테스토스테론, 프레드니솔론, 트리암시놀론, 클로로트리아니센, 히드록시프로게스테론, 아미노글루테티미드, 에스트라무스틴, 메드록시프로게스테론아세테이트, 류프롤리드, 플루타미드, 토레미펜, 졸라덱스(ZOLADEX)™가 또한 환자에게 투여될 수 있다. 본원에 기재된 방법 또는 조성물을 사용하는 경우에, 임상 환경에서 종양 성장 또는 전이를 조정하는데 사용되는 다른 작용제, 예컨대 항모방제가 또한 원하는 만큼 투여될 수 있다.

[0336] 화학요법제를 안전하고 효과적으로 투여하는 방법은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되어 있다. 또한, 그의 투여가 표준 문헌에 기재되어 있다. 예를 들어, 많은 화학요법제의 투여가 문헌 [Physicians' Desk Reference (PDR), e.g., 1996 edition (Medical Economics Company, Montvale, N.J. 07645-1742, USA)]에 기재되어 있고; 그의 개시내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0337] 화학요법제(들) 및/또는 방사선 요법은 관련 기술분야에 널리 공지된 치료 프로토콜에 따라 투여될 수 있다. 화학요법제(들) 및/또는 방사선 요법의 투여는 치료될 질환 및 이러한 질환에 대한 화학요법제(들) 및/또는 방사선 요법의 공지된 효과에 따라 달라질 수 있다는 것이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 분명할 것이다. 또한, 숙련된 임상의의 지식에 따라, 치료 프로토콜 (예를 들어, 투여량 및 투여 시간)은 환자에 대한 투여된 치료제의 관찰되는 효과의 관점에서, 및 투여된 치료제에 대한 질환의 관찰되는 반응의 관점에서 달라질 수 있다.

[0338] 본 개시내용은 하기 실시예에 의해 추가로 예시되며, 이는 추가로 제한하는 것으로 해석되어서는 안된다. 본원 전반에 걸쳐 인용되는 모든 도면 및 모든 참고문헌, 진뱅크 서열, 특허 및 공개된 특허 출원의 내용은 명확하게 본원에 참조로 포함된다. 특히, PCT 출원 WO 09/045957, WO 09/073533, WO 09/073546, WO 09/054863, PCT/US2013/072918, PCT/US15/61632, 및 미국 특허 공개 번호 2011/0150892의 개시내용은 명확하게 본원에 참조로 포함된다.

[0339] 실시예

[0340] 실시예 1: 비-IgG2 힌지를 갖는 동일한 항체에 비해 IgG2 힌지를 갖는 항-CD73 항체의 증진된 내재화

[0341] IgG2 불변 영역을 갖는 하이브리도마 유래된 항-CD73 항체 11F11은 IgG1 또는 IgG1.1 (무이펙터 IgG1)로서의 11F11 항체보다 세포 CD73 억제 검정에서 더 강력하고, IgG1 불변 영역을 갖는 다른 항-CD73 항체보다 더 강력한 것으로 관찰되었다. 적어도 이러한 관찰에 기초하여, 비-IgG2 힌지, 예컨대 IgG1 힌지를 갖는 것에 비해 IgG2 힌지를 갖는 항-CD73 항체의 증가된 억제 활성은 항체의 증가된 내재화로 인한 것으로 가설화되었다. 이러한 가설을 시험하기 위해, IgG1 또는 IgG2 불변 영역 또는 그의 부분을 갖는 항-CD73 항체를 내재화 검정에서 시험하였다.

[0342] 사용된 항체가 표 7에 열거되어 있으며, 이는 존재하는 경우 특정 돌연변이를 포함한 각각의 항체의 각각의 불변 영역 도메인 (모두 인간)의 정체를 제공한다.

[0343] 표 7

항체의 명칭	VH	CH1	힌지	CH2	CH3	HC SEQ ID NO[1]	LC SEQ ID NO[2]
11F11	11F11	IgG2	IgG2	IgG2	IgG2	44	72
4C3	4C3	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	45	73
6D11	6D11	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	46	74
CD73.10-IgG2-C219S	CD73.10	IgG2	IgG2 (C219S)	IgG2	IgG2	47	72
CD73.10-IgG2-C219S-IgG1.1	CD73.10	IgG2	IgG2 (C219S)	IgG1.1 (A330S/P331S)	IgG2	48	72
CD73.10-IgG1.1	CD73.10	IgG1.1	IgG1.1 (L234A/L235E/G237A)	IgG1.1 (A330S/P331S)	IgG1.1	49	72
CD73.4-IgG2-C219S	CD73.10	IgG2	IgG2 (C219S)	IgG2	IgG2	50	72
CD73.3-IgG1.1	CD73.3	IgG1.1	IgG1.1 (L234A/L235E/G237A)	IgG1.1 (A330S/P331S)	IgG1.1	51	73

[0344]

[0345] [1] 전장 중쇄의 서열식별번호

[0346] [2] 전장 경쇄의 서열식별번호

[0347] HEK293-6E 세포에서 중쇄 및 경쇄를 발현시킴으로써 항체를 제조하고, 형질감염 5일 후에 배양 배지를 수거하였다.

[0348] FcγR에 대한 구축물의 결합을 측정하였다. IgG1.1 및 IgG2 분자에 대한 hCD64 및 hCD32a-H131 결합 데이터는 상이한 Fc에 대한 예상된 값과 일치하였다. IgG1.1f가 가장 불활성인 Fc이다. IgG2 및 IgG2-C219S는 IgG2에 대한 전형적인 FcR 결합을 나타냈다. 예상대로, IgG2-C219S-G1.1f에 대한 데이터는 야생형 IgG1 또는 IgG2보다 유의하게 더 약한 결합을 시사하지만, IgG1.1f와 비교해서는 증가된 결합을 시사한다.

[0349] 인간 CD73에 대한 항체의 친화도를 측정하여 불변 영역의 변화가 이들에게 영향을 미치는지 여부를 결정하였다. 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 하기와 같이 친화도를 결정하였다. 25℃에서 비아코어 T100 기기 (지이 헬스케어(GE Healthcare))를 사용하여 표면 플라즈몬 공명 (SPR)에 의해 CD73 결합 동역학 및 친화도를 연구하였다. 이 실험은 고정화된 단백질 A 표면 상에 포획된 항체에 대한 hCD73의 N-말단 도메인 (인간 CD73의 잔기 26 - 336으로 이루어짐; N-hCD73으로 명명됨)의 결합을 시험하였다. 이들 실험을 위해, 단백질 A (피어스(Pierce))를 0.01 M HEPES pH 7.4, 0.15 M NaCl, 3 mM EDTA, 0.005% v/v 트윈 20의 구동 완충제 중에서 에탄올아민 차단하에 표준 에틸 (디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (EDC) / N-히드록시숙신이미드 (NHS) 화학을 사용하여 CM5 센서 칩 (지이 헬스케어)의 유동 셀 1-4 상에 3000 - 4000 RU의 밀도로 고정화시켰다. 먼저, 유량 30 ul/

분으로 180초 회합 시간 및 360초 해리 시간을 사용하여 600, 200, 66.7, 22.2, 7.4 및 2.5 nM N-hCD73-his를 결합시키면서, 10ul/분으로 30초 접촉 시간을 사용하여 단백질 A 표면 상에 항체 (5-10ug/ml)를 포획시킴으로써 동역학 실험을 수행하였다. 동역학 실험을 위한 구동 완충제는 10 mM 인산나트륨, 130 mM 염화나트륨, 0.05% 트윈 20, pH 7.1이었다. 각각의 사이클 후에 30 μl/분의 유량으로 10 mM 글리신 pH 1.5의 2회 30초 펄스를 사용하여 표면을 재생시켰다. 센소그램 데이터를 이중-참조한 다음, 비아코어 T100 평가 소프트웨어 v2.0.4를 사용하여 1:1 랭뮤어 모델에 피팅시켜, 회합률 상수 (ka), 해리율 상수 (kd) 및 평형 해리 상수 (KD)를 결정하였다.

[0350] 결과가 표 8에 제시된다. 표는 상이한 실험으로부터의 데이터를 컴파일링한다. 2 세트의 수가 제시된 항체에 대해, 각각의 세트는 개별 실험에서 수득된 데이터에 상응한다.

[0351] 표 8

mAb	Fc	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)
11F11	IgG2	2.6E+05	4.2E-04	1.6
		2.9 E+05	1.6 E-04	0.56
4C3	IgG1	2.2E+04	2.4E-03	110
		2.4 E+04	2.2 E-03	92
6E11	IgG1	5.7E+04	1.4E-03	25
CD73.10	IgG1.1	2.7 E+05	1.3 E-03	4.7
CD73.10	IgG2-C219S	2.2 E+05	1.4 E-03	6.2
		2.2 E+05	1.8 E-03	8.3
CD73.10	IgG2-C219S-IgG1.1	2.4 E+05	1.4 E-03	5.7
		2.3 E+05	1.60E-03	6.8
CD73.4	IgG2-C219S	2.9 E+05	1.6 E-04	0.55
		2.8 E+05	3.3 E-04	1.2
		2.9 E+05	3.7 E-04	1.3
CD73.3	IgG1.1	1.6 E+04	3.6 E-03	220

[0352]

[0353] 결과는 항체, 예를 들어 CD73.10에서의 상이한 불변 영역의 존재가 인간 CD73에 대한 항체의 친화도를 변화시키지 않았다는 것을 나타낸다.

[0354] 항-CD73 항체의 내재화를 2가지 상이한 검정에서 측정하였다.

[0355] A. 고-함량 내재화 검정 (2시간 고정 시간 검정)

[0356] 항-CD73 항체를 사용하여, 2시간의 항체 인큐베이션 후 세포 발현을 평가함으로써 Calu6 세포에서의 항-CD73 항체 의존성 CD73 내재화를 시험하였다. 20 μl의 완전 배지 (10% 열 불활성화 태아 소 혈청을 함유하는 깁코 RPMI 배지 1640) 중의 세포 (2,000개 세포/웰)를 384 BD 팔콘 플레이트에 플레이팅하고, 37℃ 5% CO_2 및 95% 습도에서 밤새 성장시켰다. 항-CD73 항체를 0.2% BSA를 함유하는 PBS 완충제로 연속 희석하고, 세포 플레이트에 5 μl/웰로 첨가하였다. 세포를 37℃ 5% CO_2 및 95% 습도에서 2시간 동안 항체와 함께 인큐베이션하고, 이어서 PBS 완충제로 1회 세척하였다. 이어서, 포름알데히드 (PBS 중 최종 4%)를 세포 플레이트에 20ul/웰로 첨가하고, 플레이트를 실온에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 그 후, 모든 액체를 흡인하고, 세포를 30ul PBS로 1회 세척하였다. 검출 항체 (2.5 μg/웰의 항-CD73 Ab CD73.10.IgG2C219S)를 고정된 세포 플레이트에 15 μg/웰로 첨가하였다. 세포를 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음 날, 플레이트를 PBS 완충제로 2회 세척하고, 이어서 알렉사-488 염소 항 인간을 함유하는 2차 항체 및 DAPI를 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 염색하였다. PBS 완충제에서 3회 세척한 후, 플레이트를 어레이스캔 Vti (펜실베니아주 피츠버그 소재 셀로믹스 (Cellomics)) 상에서 영상화하였다. IC_{50} 및 Ymax를 측정하였다. 내부 최대로서 100nM 용량의 11F11과 비교함으로써 Ymax를 결정하였다. 모든 계산은 100%로 설정된 이러한 대조군과 비교한 내재화의 백분율로서 결정하였다.

[0357] 결과가 표 9에 제공된다.

[0358] 표 9

mAb	불변 영역	에피토프 빈	EC50 (nM)	Ymax
11F11	IgG2	1	0.58	98
4D4	IgG2	1	0.38	104
10D2	IgG1	1	ND	29
24H2	IgG1	1	8.2	51
7A11	IgG1	1	2.59	50
CD73.4	IgG2-C219S-IgG1.1	1	1.2	97
CD73.10	IgG1.1	1	6.18	64
CD73.10	IgG2-C219S	1	0.67	99
CD73.10	IgG2-C219S-IgG1.1	1	0.87	99

[0359]

[0360] ND = 검출되지 않음

[0361] NA = 적용가능하지 않음.

[0362] 결과는 IgG2 힌지를 갖는 항-CD73 항체가 더 낮은 EC50 및 더 높은 Ymax를 갖는다는 것을 보여준다.

[0363] 동역학 내재화 연구를 수행하여 내재화의 속도를 평가하였다. 여러 세포주를 시험하였다: H2228 세포, HCC15 세포, Calu6 세포 및 NCI-H2030. 20 μl의 완전 배지 (10% 열 불활성화 태아 소 혈청을 함유하는 깁코 RPMI 배지 1640) 중의 세포 (2,000개 세포/웰)를 384 BD 팔콘 플레이트에 플레이팅하고, 37℃ 5% CO_2 및 95% 습도에서 밤새 성장시켰다. CD73 항체를 0.2% BSA를 함유하는 PBS 완충제로 10 μg/ml로 희석하고, 세포 플레이트에 5 μl/웰로 첨가하였다. 세포를 37℃에서 0-2시간의 시간 경과 동안 항체와 함께 인큐베이션하고, 이어서 PBS 완충제로 1회 세척하였다. 후속적으로, 포름알데히드 (PBS 중 최종 4%)로 실온에서 10분 동안 세포를 고정시킨 다음, 30ul PBS로 1회 세척하였다. 검출 항체 (2.5 μg/웰 항-CD73 Ab CD73.10.IgG2C219S)를 0.2% BSA를 함유하는 PBS 완충제로 희석하고, 고정된 세포 플레이트에 15 μl/웰로 첨가하였다. 플레이트를 4℃에서 밤새 인큐베이션하였다. 다음 날, PBS 완충제 중 3회 세척 후, 2차 항체 알렉사488-염소 항 인간을 DAPI와 함께 첨가하였다. 세포를 실온에서 60분 동안 염색하고, 3회 세척 후, 어레이스캔 Vti (펜실베니아주 피츠버그 소재 셀로믹스)를 사용하여 영상을 획득하였다. 결과는 도 1a - j 및 표 10 및 11에 제공된다. 표 10에서의 값은 도 1a - j에 도시된 데이터로부터 유도된 것이다.

[0364] 표 10

세포주	11F11(IgG2) $T_{1/2}$ (분)	6E11(IgG1) $T_{1/2}$ (분)	CD73.10.IgG1.1f $T_{1/2}$ (분)
Calu6	3.9	60.9	14.4
HCC44	3.3	27.9	23.5
H2030	3.3	40.3	18.3
H647	45.7	N/A	N/A
H2228	10.9	36.5	35.7
HCC15	2.2	84.4	37.9
SKLU1	6.8	18.0	17.2
SKMES1	2.2	62.8	32.3
SW900	10.3	94.9	43.4

[0365]

[0366] 표 11: 4종의 인간 세포주에서의 CD73 항체의 $T_{1/2}$ 및 % 내재화

	H228 세포		HCC15 세포		Calu6 세포		H2030 세포	
	$T_{1/2}$ 분	% 내재화	$T_{1/2}$ 분	% 내재화	$T_{1/2}$ 분	% 내재화	$T_{1/2}$ 분	% 내재화
CD73.11-IgG2CS	-	-	-	-	4.1	89	4.6	85
CD73.10-IgG2CS	9.7	93	2.6	91	3.0	91	3.3	85
CD73.10-IgG2CS-IgG1.1f	9.4	92	3.0	91	3.1	91	4.3	87
CD73.4-IgG2CS	13.8	94	3.1	94	6.5	88	3.7	89
CD73.10-IgG1.1f	35.7	33	37.9	71	14.4	63	18.3	67
CD73.3-IgG1.1f	16.5	-47	>240	38	111.4	79	>120	27
11F11	10.9	96	2.2	94	3.9	87	3.3	90
4C3	7.6	-48	141.5	28	0.6	-6	>120	-34
6E11	36.5	13	84.4	64	107.4	68	40.32	51

[0367]

[0368] 결과는 11F11 (IgG2 항체)이 수분 이내에 내재화되어 30분 내에 플래토에 도달한 반면, 6E11 (IgG1 항체)은 더 천천히 내재화되어 약 1시간에 플래토에 도달하였다는 것을 나타낸다 (도 1a-j). 유사하게, IgG1 불변 영역을 갖는 11F11은 IgG2 불변 영역을 갖는 11F11보다 더 천천히 내재화되었다. 이 경향은 여러 세포주에서 관찰되었다 (표 10 및 11 및 도 1a-j).

[0369] B. 유동 세포측정법에 의해 측정된 내재화

[0370] CD73의 항-CD73 항체 매개된 내재화를 또한 유동 세포측정법에 의해 시험하였다. 표시된 세포를 10 μg/mL의 표시된 항체와 함께 얼음 상에서 30분 동안 인큐베이션하고, 수회 세척하고, 표시된 시간 동안 37℃로 옮겼다. 표시된 인큐베이션 시간 후에 세포를 동시에 수거하였다. 세포를 다시 1차 항체 (초기 인큐베이션에 사용된 것과 동일한 항체)로 염색하고, 이어서 항-인간 2차 항체로 염색하였다. 이어서, 세포를 유동 세포측정법에 의해 CD73의 발현에 대해 검정하였다.

[0371] 도 1e 및 표 11에 제시된 결과는 상기 기재된 내재화 검정에서 수득된 것과 일치하고, IgG2 힌지 및 CH1을 갖는 모든 항체가 신속하고 완전한 내재화를 유도하였다는 것을 나타낸다. CD73 수준은 세척 후 22시간 후에 낮게 유지되었으며, 이는 내재화가 지속적이라는 것을 나타낸다.

[0372] 도 1f 및 표 11에 제시된 유사한 결과가 NCI-H292 세포주에서 수득되었으며, 여기서 항체는 인큐베이션 시간 동안 배양물 중에서 유지되었다 (세척 부재). 다시, 이들 데이터는 신속하고 유의한 내재화 및 내인성 CD73의 하향조절의 유지를 나타낸다.

[0373] 또한 인간 SNU-C1 (결장암 세포주) 및 NCI-H1437 (비소세포 폐 암종 세포주) 세포를 사용하여 내재화 검정을 수행하였다. 도 1i 및 j에 제시된 결과는 또한, 최대 수준을 동반한 신속한 내재화가 5시간 이내에 도달되었고, SNU-C1 세포에서 CD73.4.IgG2-C219S-IgG1.1f에 대한 내재화의 최대 수준은 약 50%이고 NCI-H1437 세포의 경우에는 60%라는 것을 나타낸다. 도 1g 및 h는 Calu6 및 NCI-H292 세포에서의 CD73.4.IgG2-C219S-IgG1.1f의 내재화의 유사한 동역학을 보여준다. 내재화된 CD73의 %를 제시하는 그래프의 경우, 이러한 숫자는 하기와 같이 수득하였다:

[0374] $$\%\ 내재화된\ CD73 = 100 - \left(\frac{MFI_{t=x} - MFI_{배경}}{MFI_{t=0} - MFI_{배경}} \times 100\right)$$

[0375] 여기서 각각의 항체에 대해, $MFI_{t=x}$는 주어진 시점에서의 MFI이고, $MFI_{t=0}$은 t=0에서의 최대 형광이고, $MFI_{배경}$은 2차 Ab 단독의 MFI이다.

[0376] 표 12: 여러 세포주에서 항체 매개된 CD73 내재화의 EC_{50} (도 1g-i로부터의 데이터)

	Calu6		NCI-H292		SNU-C1		SNU-C1 (세척 부재)		NCI-H1437		NCI-H1437 (세척 부재)	
	Ymax (%)	$T_{1/2}$ (hr)	Ymax (%)	$T_{1/2}$ (hr)	Ymax (%)	$T_{1/2}$ (hr)	Ymax (%)	$T_{1/2}$ (hr)	Ymax (%)	$T_{1/2}$ (hr)	Ymax (%)	$T_{1/2}$ (hr)
mAb-CD73.4-IgG2-IgG1.1f	76.8	0.5661	77.64	0.2633	48.96	0.4954	38.39	1.025	63.12	0.3164	62.78	0.3418
mAb-CD73.4-IgG2	75.59	0.6003	78.42	0.2766	-	-	-	-	-	-	-	-
mAb-CD73.4-IgG1.1f	44.99	1.737	51.49	0.2087	30.58	0.9915	33.16	2.33	49.76	0.4915	49.95	0.5384

[0377]

[0378] 따라서, IgG2 힌지를 갖는 항-CD73 항체는 IgG1 힌지를 갖는 항-CD73 항체에 비해 더 신속하고 더 큰 정도로 내재화된다.

[0379] 실시예 2: IgG1 힌지를 갖는 동일한 항체에 비해 IgG2 힌지를 갖는 GITR 항체의 증진된 효능제 활성

[0380] 본 실시예는 IgG2 힌지를 포함하는 항-GITR 항체가 IgG1 힌지를 갖는 동일한 항체에 비해 T 세포로부터의 IL-2 및 IFN-γ 분비를 유도하는 증가된 능력을 갖는다는 것을 입증한다.

[0381] 상기 기재된 CHO-OKT3 및 3A9 검정에서, IgG2 불변 영역을 갖는 하이브리도마 유래된 항체가, 중쇄 불변 영역이 IgG1 또는 무이펙터 IgG1 (IgG1.1)의 것으로 전환된 동일한 항체보다 시토카인 분비를 자극하는데 있어서 더 강력하다는 것이 관찰되었다. 따라서, 항-GITR 항체에 대한 IgG2 불변 영역 또는 힌지의 효과를 이들 검정에서 추가로 시험하였다.

[0382] 항-인간 GITR 항체의 중쇄 가변 영역 (서열식별번호: 75)을 표 13에 제시된 중쇄 불변 영역에 연결하였다. 항-GITR 항체의 경쇄는 서열식별번호: 77을 포함하였다. 표 13은 각각의 불변 영역 도메인의 정체를 보여준다:

[0383] 표 13: 본 실시예에서 사용된 항체의 중쇄 불변 영역

항체의 명칭	**CH1**	**힌지**	**CH2**	**CH3**	**SEQ ID NO***
항-GITR	IgG2 SEQ ID NO:7	IgG2 SEQ ID NO:8	IgG2 SEQ ID NO:9	IgG2 SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:52
항-GITR -IgG2	IgG2 SEQ ID NO:7	IgG2 SEQ ID NO:8	IgG2 SEQ ID NO:9	IgG2 SEQ ID NO:10	SEQ ID NO:52
항-GITR -IgG1	IgG1 SEQ ID NO:2	IgG1 SEQ ID NO:3	IgG1 SEQ ID NO:4	IgG1 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:53
항-GITR -IgG1.1	IgG1.1 SEQ ID NO:2	IgG1.1 (L234A/L235E/G237A) SEQ ID NO:25	IgG1.1 (A330S/P331S) SEQ ID NO:24	IgG1.1 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:54
항-GITR -IgG2-IgG1 또는 항-GITR.g2.g1	IgG2 SEQ ID NO:7	IgG2/IgG1 하이브리드 SEQ ID NO:22	IgG1 SEQ ID NO:4	IgG1 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:55
항-GITR -IgG2-IgG1.1 또는 항-GITR.g2.g1.1	IgG2 SEQ ID NO:7	IgG2 SEQ ID NO:8	IgG1.1 (A330S/P331S) SEQ ID NO:24	IgG1 SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:56

[0384]

[0385] *전장 중쇄 불변 영역의 서열식별번호

[0386] 먼저, 이들 GITR 항체의 결합 친화도를 IgG1 힌지를 갖는 GITR 항체의 것과 비교하였다. 가용성 GITR에 대한 항-GITR 항체의 결합 친화도를 하기와 같이 비아코어에 의해 결정하였다. 항-GITR 항체를 인간 카파 코팅된 칩 (~5KRU; 서던바이오테크(Southernbiotech) cat#2060-01) 상에 포획시키고, 재조합 인간 GITR (rHGITR/Fc: 알앤

디 시스템즈(R&D systems), CAT#689-GR)을 500 nM, 250 nM, 125 nM, 62 nM 및 31 nM의 농도로 칩 전체에 유동시켰다. mAb의 포획 농도/부피는 2-40 μg/mL (10 μL/분으로 5 μL)였다. 항원 회합 시간은 15 μL/분으로 5분이었고, 항원 해리 시간은 6분이었으며, 재생은 50 mM HCl/50 mM NaOH (100 μL/분으로 각각 12μL)를 사용하여 수행하였다.

[0387] 도 2에 제시된 결과는 IgG2 힌지를 갖는 모든 3종의 GITR 항체가 IgG1 또는 IgG1.1 불변 영역을 갖는 GITR 항체와 유사한 활성화된 T 세포에 대한 친화도를 가졌다는 것을 나타낸다.

[0388] 다음으로, IgG1 불변 영역 또는 IgG2 힌지/IgG1 Fc 도메인을 갖는 GITR 항체의 능력을, 항-CD3scFv (OKT3)-발현 CHO 세포로 자극된 인간 공여자 T 세포로부터의 IL-2 및 IFN-γ 분비를 유도하는 능력에 대해 시험하였다. CHO 세포는 항-GITR 항체에 의한 효능작용을 관찰할 수 있도록 준최적 자극을 촉진하기 위해 낮은 수준의 OKT3을 발현하였다. 공여자로부터의 CD4+ T 세포를 OKT3 발현 CHO 세포 및 항-GITR 항체로 자극하고, IL-2 및 IFN-γ 분비를 측정하였다. 실험을 하기와 같이 수행하였다. CD4+ T 세포를 사용한 실험의 경우, 제조업체의 프로토콜에 따라 로제트셉(RosetteSep) 인간 CD4+ T 세포 풍부화 칵테일 (스템셀 테크놀로지(StemCell Technology)#15062)을 사용하여 인간 PBMC로부터 CD4+T 세포를 수득하였다. 항-CD3scFv (OKT3)를 발현하는 CHO 세포 (CHO-OKT3)를 RPMI 배지로 2회 세척하고, 50K Rad 선량으로 방사선조사하였다. 세포를 수거하여 배양 배지 (10% 태아 소 혈청, 2mM L-글루타민, 55nM β-메르캅토에탄올, 1mM 피루브산나트륨 및 100U/mL 페니실린/스트렙토마이신이 보충된 RPMI-1640) 중에 $2.5x10^5$개/mL로 재현탁시켰다. 96-웰 TC 등급 편평-바닥 플레이트 (코스타(Costar))에 웰당 $2.5x10^4$개의 CHO-OKT3 세포 및 $1x10^5$개의 T 세포를 시딩하였다. 세포를 40 μg/mL에서 시작하여 8-포인트, 4-배 적정의 GITR 항체와 함께 인큐베이션하였다. 비관련 hIgG1을 이소형 대조군으로서 40 μg/mL로 첨가하였다. 어떠한 처리도 없는 기준선 활성을 나타나기 위해 세포만을 갖는 샘플을 포함시켰다. 제2일에 IL-2 측정을 위해 (CD4+ T 세포를 사용한 검정에 대해서만) (BD opt EIA 인간 IL-2 ELISA 키트; BD 바이오사이언스(BD Bioscience)#555190) 및 제3일에 IFN-γ 측정을 위해 (BD optEIA 인간 IFN-g ELISA 키트; BD 바이오사이언스#555142) 각각의 샘플로부터의 상청액을 수거하였다.

[0389] 도 3a 및 b에 제시된 바와 같이, IgG2 힌지/IgG1 Fc 도메인을 갖는 항체 (항-GITR.g2.g1)는 IgG1 불변 영역을 갖는 항체 (항-GITR.g1)보다 더 높은 정도로 T 세포로부터의 IL-2 및 IFN-γ 분비 둘 다를 유도하였다. 유사한 결과가 이들 불변 도메인의 무이펙터 버전에 의해 수득되었다 (도 3c).

[0390] IgG2 힌지를 포함하는 항-GITR 항체에 의한 T 세포의 증가된 활성화를 추가로 확인하기 위해, 상이한 실험 포맷으로 IL-2 분비를 시험하였다. 이러한 실험에서, 3A9-hGITR 세포 (인간 GITR을 이소 발현하는 마우스 T 세포 하이브리도마 3A9 세포주)로부터 IL-2 분비를 유도하는 GITR 항체의 능력을 하기와 같이 시험하였다. 인간 GITR을 이소 발현하는 마우스 T 세포 하이브리도마 3A9 세포주 (3A9-hGITR)를 항-CD3 모노클로날 항체-코팅된 플레이트 상에서 증가하는 양의 표시된 항체의 존재 하에 배양하였다. 5×10^4개의 3A9-hGITR 세포를 1 μg/ml의 항-CD3 항체 (클론 145-2C11; BD 바이오사이언시스)로 코팅된 플레이트 상에서 배양하고, 표시된 농도의 항체로 7시간 동안 처리하였다.

[0391] 도 4에 제시된 바와 같이, IgG2 힌지를 갖는 모든 항체 (항-GITR.g2, 항-GITR.g2.g1f, 및 항-GITR.g2.g1.f)는 그의 IgG1 불변 영역 함유 대응물 (항-GITR.g1f 및 항-GITR.g1.1f)보다 더 높은 정도로 3A9-hGITR 세포로부터 IL-2 분비를 유도하였다.

[0392] 이들 결과는 종합하면 IgG2 힌지 및 g1 또는 g1.1 불변 영역을 갖는 항-GITR 항체가 IgG1 힌지를 갖는 동일한 항체보다 더 강력하다는 것을 시사한다.

[0393] 실시예 3: 항체/항원 복합체의 크기에 대한 상이한 힌지/Fc 조합의 영향

[0394] 상기 실시예에 제시된 바와 같이, IgG2 힌지를 갖는 항-CD73 항체는 IgG1 힌지를 갖는 동일한 항체보다 CD73 세포 활성의 더 우수한 억제제이고 더 우수하게 내재화되고, IgG2 힌지를 갖는 항-GITR 항체는 IgG1 힌지를 갖는 동일한 항체보다 더 강력한 효능제이다. 이러한 관찰 및 IgG2 힌지가 IgG1 힌지보다 더 강직성이라는 사실에 기초하여, IgG1 힌지를 갖는 항체에 비해 IgG2 힌지를 갖는 항체와 항원 사이에 더 큰 복합체가 형성되는 것으로 가설화하였다. 하기 실험을 수행하여 이러한 가설을 분석하였다.

[0395] 용액 중의 CD73/항체 복합체의 구조 및 올리고머 상태를 SEC-MALS 및 DLS에 의해 검사하였다. 이들 연구를 위해, IgG1 또는 IgG2 불변 영역을 함유하는 항체를, C-말단 폴리히스티딘 태그를 함유하는 인간-CD73의 전장 세포외 도메인 (인간-CD73의 아미노산 잔기 26 - 546; hCD73-his로 명명됨) 또는 인간-CD73의 N-말단 도메인에 상

응하는 단편 (아미노산 잔기 26 - 336; N-hCD73-his로 명명됨)을 포함하는 재조합 단백질과 다양한 몰 비로 혼합하였다.

[0396] CD73/항체 복합체의 올리고머 상태를 인라인 다중-각도 광 산란 검출기에 커플링된 크기-배제 크로마토그래피(SEC-MALS)에 의해 검사하였다. 0.5 mL/분으로 구동되는, 0.02% Na 아지드 (0.1 μm 여과됨)를 함유하는 200 mM K_2HPO_4, 150 mM NaCl, pH 6.8을 함유하는 완충제 중에서, 프로미넌스 시마즈(Prominence Shimadzu) UFLC에 연결된 쇼덱스 프로테인(Shodex PROTEIN) KW-803 칼럼 상에서 등용매 분리를 수행하였다. SIL-20AC 프로미넌스 시마즈 오토샘플러를 사용하여 칼럼 상에 샘플을 주입하고, 연속하여 연결된 3개의 온라인 검출기: 프로미넌스 SPD-20AD 다이오드 어레이 UV/vis 분광광도계, 이어서 와이어트 miniDAWN™ TREOS 다중-각도 광 산란 검출기, 이어서 와이어트 옵티랩 T-rEX 굴절률 검출기로부터 데이터를 수득하였다. 데이터를 수집하고, 아스트라 (와이어트) 및 랩솔루션즈 (시마즈) 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0397] 동적 광 산란 (DLS) 연구를 와이어트 디나프로 플레이트 판독기 상의 384 웰 플레이트에서 25℃에서 수행하였다. 실험 파라미터를 측정당 각각 5초씩 20회 획득하였고, 측정치를 사중으로 기록하고, 평균 및 표준 편차를 보고하였다. 강도 자기상관 함수를 역학 소프트웨어 (와이어트 테크놀로지스)의 "규칙화" 알고리즘을 사용하여 피팅시켰다.

[0398] SEC-MALS 및 DLS의 요약이 도 6 및 도 7에 제공한다. 항체 단독의 분석은, 각각의 항체에 대해 단량체 모노클로날 항체에 전형적인, 체류 시간 (약 16 - 17분), 질량 (140 - 150 kDa) 및 유체역학 반경 (5.0 - 5.4 nm)을 보여준다. hCD73-his 단백질에 대한 데이터는 용액 중 예상되는 이량체 구조를 채택한 단백질과 일치하며; 특히, SEC-MALS 데이터로부터 결정된 질량 (120 kDa)은 CD73-his 이량체에 대해 예상된 것 (117 kDa)과 일치하고, hCD73-his 단량체에 대해 예상된 것 (58.5 kDa)과는 불일치한다. N-hCD73에 대한 데이터는 용액 중 단량체인 재조합 N-도메인 단백질과 일치하고 (예상된 단량체 질량 = 35.0 kDa과 비교하여, SEC-MALS 측정된 질량 = 38 kDa), 이는 단백질의 이량체화의 원인이 되는 전장 CD73 세포외 도메인의 영역이 N-도메인 잔기의 기여 없이 C-말단 도메인 내에 함유되기 때문인 것으로 예상된다.

[0399] 주어진 항체와 N-hCD73-his의 등몰 혼합물은 SEC에서 항체 또는 N-hCD73-his 단독보다 더 짧은 체류 시간을 가질뿐만 아니라 DLS에 의하면 더 큰 유체역학 반경 (Rh)을 갖는 단일 종으로서 용리되는 것으로 발견되었고, 이는 복합체의 형성과 일치한다. MALS 데이터는 이들 복합체에 대한 질량이 대략 210 kDa임을 나타낸다. 이것은 1:2 항체:N-hCD73-his 복합체를 형성하기 위해 1개의 N-hCD73-his 분자가 주어진 항체의 2개의 Fab 도메인 각각에 결합된 것과 일치한다.

[0400] 항-CD73 항체와 hCD73-his 이량체의 혼합물에 대한 SEC-MALS 데이터는 혼합물이 hCD73-his 또는 항체 단독보다 더 빨리 용리된다는 것을 보여주며, 이는 복합체가 형성된다는 것을 시사한다. 동일한 가변 영역을 함유하지만 상이한 불변 도메인을 함유하는 mAb에 대한 데이터를 비교한 것은, IgG2 불변 도메인 (IgG2-C219S, IgG2-C219S-IgG1.1f)을 함유하는 mAb와 hCD73-his의 복합체에 대한 용리 시간이, IgG1.1f 불변 도메인을 함유하는 mAb와 hCD73-his의 복합체에 대한 것보다 더 빠르다는 것을 보여준다. 추가로, IgG2 불변 도메인을 함유하는 mAb와 hCD73-his의 복합체에 대한 MALS-결정된 질량은 IgG1 불변 도메인을 함유하는 mAb와 hCD73-his의 복합체에 대한 것보다 더 크다. DLS 데이터는 추가로, IgG2 불변 도메인을 함유하는 mAb와 hCD73-his의 복합체의 유체역학 반경이 IgG1 불변 도메인을 함유하는 mAb와 hCD73-his의 복합체에 대한 것보다 더 크다는 것을 보여준다. 예를 들어, 3개의 상이한 불변 영역 (IgG2-C219S, IgG2-C219S-IgG1.1f, 또는 IgG1.1f)을 갖는 CD73.4에 대한 SEC-MALS 및 DLS 데이터가 도 5에 제시된다. 여기서, IgG2 불변 도메인을 함유하는 CD73.4와 hCD73-his의 복합체는 CD73.4-IgG1.1f와 hCD73-his의 복합체와 비교하여 더 짧은 체류 시간 (도 5a), 더 큰 유체역학 반경 (도 5b) 및 더 큰 MALS-결정된 질량 (도 5c)을 갖는다는 것을 관찰할 수 있다. MALS 질량에 기초하여, hCD73-his와 항체 사이의 복합체의 구조 및 화학량론에 대한 개략적 모델이 도 5d에 제시되며, 여기서 CD73.4-IgG1.1f를 함유하는 복합체는 더 작은 2:2 (피크 1 = ~550 kDa) 또는 4:4 mAb/CD73 이량체 복합체 (피크 2 = ~1300 kDa)를 우세하게 형성하는 반면에, CD73.4-IgG2-C219S 또는 CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f는 hCD73-his와 훨씬 더 큰 복합체 (>3000 kDa)를 형성하며, 그에 대한 정확한 구조 및 화학량론은 확신있게 모델링될 수 없다.

[0401] 종합하면, SEC-MALS 및 DLS 데이터는 IgG1 힌지 영역을 함유하는 mAb (IgG1.1f)와 비교하여, IgG2 힌지 영역을 함유하는 mAb (IgG2-C219S 또는 IgG2-C219S-IgG1.1f)와 hCD73-his 사이에 더 큰 복합체가 형성된다는 것을 입증한다.

[0402] 실시예 4: IgG2 이소형의 CH1은 추가로 항체 매개된 CD73 내재화를 개선시킨다

[0403] Calu6 및 H292 세포에서 추가의 내재화 검정을 수행하여 내재화에 대한 이소형의 역할을 추가로 판별하였다. 내재화 검정을 실시예 1A 및 1B에 기재된 바와 같이 수행하고 (항체의 세척 단계가 없는 유동 세포측정법 프로토콜), 표 14에 제시된 다양한 하이브리드 이소형의 항체를 인큐베이션 시간 동안 10㎍/mL로 배양 중에 유지시켰다. 유동 세포측정 실험을 위해, 실시예 1B의 방법을 96 웰 플레이트 (48 웰 플레이트와 대조적임)에서 웰당 50,000개의 세포를 사용하는 고처리량 분석에 적합화시켰다.

[0404] 표 14: CD73.4의 가변 영역과 함께 시험된 불변 영역:

구축물	불변 영역의 SEQ ID NO	설명
IgG1f	78	야생형 IgG1f
IgG1.1f	83	표준 불활성 IgG1.1f
IgG2.3	79	IgG2 A-형태 (C219S)
IgG2.5	82	IgG2 B-형태 (C131S)
IgG2.3G1-KH	81	IgG2.3의 CH1, 상부 힌지 및 하부 힌지/상부 CH2, 그 밖에 모두 IgG1f
IgG2.5G1-KH	90	IgG2.5의 CH1, 상부 힌지 및 하부 힌지/상부 CH2, 그 밖에 모두 IgG1f
IgG2.3G1-AY	80	IgG2.3의 CH1 및 상부 힌지, 그 밖에 모두 IgG1f
IgG2.5G1-AY	89	IgG2.5의 CH1 및 상부 힌지, 그 밖에 모두 IgG1f
IgG1-G2.3G1-KH	93	IgG1의 CH1, IgG2.3의 상부 힌지 및 하부 힌지/상부 CH2, 그 밖에 모두 IgG1f
IgG1-G2.3G1-AY	92	IgG1의 CH1, IgG2.3의 상부 힌지, 그 밖에 모두 IgG1f
IgG2.3G1.1f-KH	84	IgG2.3의 CH1, 상부 힌지 및 하부 힌지/상부 CH2, 그 밖에 모두 IgG1.1f
IgG2.5G1.1f-KH	88	IgG2.5의 CH1, 상부 힌지 및 하부 힌지/상부 CH2, 그 밖에 모두 IgG1.1f
IgG1-델타THT	85	THT 서열이 힌지로부터 제거된 IgG1
IgG2.3-플러스THT	86	THT 서열 (IgG1로부터)이 힌지 내로 부가된 IgG2.3
IgG2.5-플러스THT	91	THT 서열 (IgG1로부터)이 힌지 내로 부가된 IgG2.5
IgG2.3-플러스GGG	87	가요성 GGG 서열이 힌지 내로 부가된 IgG2.3

[0405]

[0406] FcγR 결합이 각각의 구축물에 대해 예상된 바와 같이 나타났고, 즉 FcγR 결합은 하부 힌지/CH2 영역에 의해 구동된다.

[0407] 결과는 도 8a, b 및 c 및 표 15 및 16에 제시된다. 표 15에 제시된 데이터는 실시예 1B에 기재된 것과 동일한 프로토콜 (항체 세척 부재)을 사용하여 생성되었다. 표 16에 제시된 데이터는 실시예 1A에 기재된 것과 동일한 프로토콜을 사용하여 생성되었다.

[0408] 표 15: Calu6 및 NCI-292 세포에서의 항체 매개된 CD73 내재화의 Ymax 및 $T_{1/2}$

	Calu6		NCI-H292	
	Ymax (%)	$T_{1/2}$ (hr)	Ymax (%)	$T_{1/2}$ (hr)
mAb-CD73.4-IgG1f/LC-11F11-Vk2	55.72	0.8452	73.05	0.5014
mAb-CD73.4-IgG2.3G1-AY-pTT5-SP	85.07	0.3326	90.25	0.272
mAb-CD73.4-IgG2.3G1-KH	81.62	0.3962	91.61	0.2801
mAb-CD73.4-G1-G2.3-G1-AY	72.7	0.4229	84.51	0.3083
mAb-CD73.4-IgG1-델타THT	69.27	0.5652	83.63	0.3441
mAb-CD73.4-G1-G2.3-G1-KH	65.67	0.5674	83.29	0.343
mAb-CD73.4-IgG2.3-플러스THT	81.19	0.3551	91.41	0.2935
mAb-CD73.4-IgG2.3-플러스GGG	81.72	0.3355	91.6	0.2712
mAb-CD73.4-IgG2.5	78.98	0.3485	89.56	0.3057
mAb-CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH	79.63	0.3527	90.86	0.2993
mAb-CD73.4-IgG2.5G1-AY	81.91	0.2901	91.3	0.2452
mAb-CD73.4-IgG2.5G1-KH	76	0.2837	90.75	0.256
mAb-CD73.4-IgG2.5플러스THT/LC	80.15	0.2869	89.6	0.2565
mAb-CD73.4-IgG2-C219S/LC	82.35	0.3725	88.91	0.2866
mAb-CD73.4-IgG2-C219S/LC	82.54	0.3639	87.66	0.2845
mAb-CD73.4-IgG1.1f+K/LC	57.07	1.519	70.4	0.4969
mAb-CD73.4-IgG2CS-IgG1.1f	80.98	0.3508	90.35	0.2764

[0409]

[0410] 표 16: Calu6 세포에서의 다양한 불변 영역을 갖는 CD73.4의 내재화 특징

CD73_mAb_클론	내재화 최대	속도
CD73.4-IgG1f/LC-11F11-Vk2	+	+
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3G1-AY-pTT5-SP5	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3G1-KH	++++	+++
CD73.4-Vh-hHC-G1-G2.3-G1-AY	++	++
CD73.4-Vh-hHC-G1-G2.3-G1-KH	++	++
CD73.4-Vh-hHC-IgG1-델타THT	++	+++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3-플러스THT	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3-플러스GGG	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1.1f-KH	++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1-AY	+++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1-KH	+++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5플러스THT/LC	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2-C219S/LC	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG2-C219S/LC	++++	++++
CD73.4-Vh-hHC-IgG1.1f+K/LC	+	+
CD73.4-Vh-hCh-IgG2-C219S-IgG1.1f	++++	++++

[0411]

[0412] 도 8a-c 및 표 15 및 16은 IgG2 이소형의 힌지 및 CH1 도메인을 갖는 항체가 CD73의 내재화를 구동하는데 있어서 가장 효율적인 반면에, IgG1 힌지 및 CH1 도메인을 갖는 항체는 도면에서 하부 곡선, 즉 더 낮은 정도의 내재화에 상응한다는 것을 나타낸다. 추가로, IgG2로부터의 힌지만을 갖는 항체는 인간 IgG1 힌지와 비교하여 증가된 내재화를 갖는다. 따라서, IgG2 이소형의 힌지 및 CH1 도메인을 갖는 항체는 IgG1 이소형을 갖는 항체에 비해 우수한 내재화 특징을 갖는다.

[0413] 따라서, 항-CD73 항체 mAb-CD73.4-IgG2CS-IgG1.1f (C219S 치환을 갖는 IgG2 힌지 및 IgG2 CH1 도메인을 가짐)는 시험된 세포주에 따른 신속한 내재화를 유도하였다. 내재화에 대한 $T_{1/2}$는 수분에서 1시간 미만의 범위였다.

시험된 대부분의 세포주는 10분 미만의 $T_{1/2}$를 가졌다. 일부 세포주의 경우에 거의 완전한 내재화가 유도되었고, 시험된 대부분의 세포주는 표면 CD73 발현의 적어도 50% 감소를 가졌으며, 이는 전형적으로 5시간, 일부 경우에는 훨씬 더 짧은 시간에 최대 수준에 도달하였다.

[0414] 실시예 5: IgG2 CH1은 CD4+ T 세포에 의한 GITR Ab 유도된 IL-2 분비를 증진시킨다

[0415] 본 실시예는 IgG1 이소형의 CH1 도메인을 갖는 항체에 비해 IgG2 이소형의 CH1 도메인이 항-GITR 항체 유도된 T 세포 활성을 증진시킨다는 것을 보여준다.

[0416] 실시예 4에 사용된 동일한 변형된 중쇄 불변 영역을 (실시예 2의) 항-GITR 항체의 가변 영역에 연결시켰다. 공여자 CD4+ T 세포를 OKT3-scFv 발현 CHO 세포 및 다양한 항-GITR 항체와 인큐베이션하고, 분비된 IL-2의 수준을 측정하였다. 이것을 실시예 2에 기재된 바와 같이 수행하였다.

[0417] 도 9에 제시된 결과는 IgG2 이소형의 힌지에 추가로 IgG2 이소형의 CH1 도메인을 갖는 모든 항-GITR 항체가 IgG1 힌지 및 CH1을 갖는 것보다 CD4+ T 세포로부터의 IL-2 분비를 자극하는데 더 효과적이라는 것을 보여준다.

[0418] 따라서, 본 실시예는 효능제 항-GITR 항체에서 IgG2 힌지 및 IgG2 CH1 도메인의 존재가 IgG2 이소형의 힌지 및/또는 CH1 도메인을 갖지 않는 동일한 항체에 비해 항체의 효능제 활성을 추가로 증진시킨다는 것을 보여준다. IgG2 이소형의 힌지 및 CH1 도메인 둘 다를 갖는 항체는, IgG2 이소형의 힌지는 갖지만 CH1은 갖지 않는 항체에 비해 더 강한 효능제 효과를 갖는다. 추가적으로, IgG2로부터의 CH1 도메인을 갖는 항체는 IgG1 이소형으로부터의 CH1 도메인을 갖는 항체보다 더 강한 효능제 활성을 갖는다. IgG2로부터의 힌지 및 IgG1로부터의 CH1 도메인을 갖는 항체는 IgG1 이소형으로부터의 CH1 및 힌지를 갖는 항체보다 더 강한 효능제 활성을 갖는다.

[0419] 실시예 6: 항체 매개된 CD73 내재화를 개선시키는데 있어서 IgG2 CH1 및 힌지 내의 특정 아미노산 잔기의 관련성

[0420] 표 17에 제시된 중쇄 불변 영역을 갖는 항-CD73 항체 (CD73.4)를 제조하고, 이를 상기 기재된 바와 같이 항체 매개된 CD73 내재화 검정에서 시험하였다.

[0421] 표 17: 항-CD73 가변 영역에 융합된 중쇄 불변 영역

설명	구축물	불변 영역의 SEQ ID NO
IgG2의 CH1 도메인, 그 밖에 모두 IgG1. 또한, 잠재적 디술피드 불균질성을 감소시키기 위한 Cys>Ser로의 돌연변이:	G2-G1-G1-G1	94
	G2.5-G1-G1-G1	95
IgG1의 CH1 도메인, 그 밖에 모두 IgG2.3:	G1-G2.3-G2-G2	96
IgG1 내의 CH1 영역을 IgG2의 것으로 개별로 또는 함께 교체:	G1-KRGEGSSNLF	97
	G1-KRGEGS	98
	G1-SNLF	99
	IgG1-ITNDRTPR	100
	G1-SNLFPR	101
IgG2 내의 CH1 영역을 IgG1의 것으로 개별로 또는 함께 교체:	G2-RKEGSGNSFL	102
	G2-RKEGSG	103
	G2-NSFL	104
	IgG2-TIDNTRRP	105
	G2-NSFLRP	106
IgG2의 CH2 도메인 잔기를 갖는 IgG1:	G1-G1-G2-G1-AY	107
	G1-G1-G2-G1-KH	108
IgG1의 CH2 도메인 잔기를 갖는 IgG2:	G2-G2.3-G1-G2-KH	109
	G2.5-G2.3-G1-G2-KH	110
	G2-G2.3-G1-G2-AY	111
	G2.5-G2.3-G1-G2-AY	112
IgG1과 IgG2 사이의 힌지 영역 교체:	G1-G2.3-G1-G1-KH	113
	G2-G1-G2-G2-AY	114
	G2.5-G1-G2-G2-AY	115
	G1-G2-G1-G1-AY	116
	G2-G1-G2-G2-KH	117
	G2.5-G1-G2-G2-KH	118
힌지 말단절단	IgG1-델타힌지	119
	IgG2-델타힌지	120
	IgG2.5-델타힌지	121
	IgG1-델타G237	122
	IgG2-플러스G237	123
기타	IgG2.4	124
	IgG2.3/4	125

[0422]

[0423] 등가물

[0424] 도 10에 제시된 결과는 CD73 내재화와 관련하여 하기 정보를 제공한다:

[0425] ● CH2 도메인은 하기에 의해 제시된 바와 같이 영향을 갖는 것으로 보이지 않음

[0426] ○ a) 포맷 "KH" (ERKCCVECPPCPAPELLGG (서열식별번호: 22))를 갖는 것에 비해, 포맷 "AY" (IgG2 힌지 ERKCCVECPPCPAPPVAG (서열식별번호: 8)를 가짐)를 갖는 변형된 중쇄 불변 영역을 포함하는 항체 사이에 내재화 능력에 있어서 매우 적은 차이가 관찰됨 (세트 5, 6 및 7);

[0427] ○ b) CH2 교체는 야생형 G1 또는 G2와 대등함 (세트 5 및 6); 및

[0428] ○ c) 잔기 237은 내재화에 영향을 미치지 않고: "G" 잔기를 IgG2 힌지에 부가하는 것뿐만 아니라 IgG1 힌지 내의 C 말단 "G"를 결실시키는 것도 내재화에 영향을 미치지 않음 (세트 9).

[0429] 이것은 CH2 도메인이 내재화에 영향을 미치지 않는다는 것을 시사한다 (즉, CH2 도메인은 IgG1 또는 IgG2로부터의 것일 수 있다);

[0430] ● IgG1 내의 세트 3에 표시된 CH1 영역 (KRGEGSSNLF; KRGEGS; SNLF; ITNDRTPR 및 SNLFPR)을 IgG2의 것으로 교체하는 것은 이익을 거의 제공하지 않고, 즉 내재화는 IgG1의 것과 유사하게 유지된다 (세트 3 참조);

[0431] ● IgG2 내의 세트 4에 표시된 CH1 영역 (RKEGSGNSFL; RKEGSG; NSFL; TIDNTRRP 및 NSFLRP)을 IgG1의 것으로 교체하는 것은 다양한 영향을 갖는다: NSFL을 변화시키는 것은 어떠한 영향도 갖지 않지 않는 반면 다른 2개 영역 (RKEGSG & RP)은 관련된다 (세트 4 참조). 세트 3 및 4의 결과에 기초하여, CH1 영역과 힌지 사이에 상호작용이 존재하며, RKEGSG 및 RP 영역이 NSFL 영역보다 더 중요한 것으로 보인다;

[0432] ● 힌지 영역은 내재화에 영향을 미치고, 즉 IgG2의 힌지는 IgG1의 힌지에 비해 더 우수한 내재화를 제공한다 (세트 7 및 8 참조). 추가로, 결실을 갖는 IgG1 (G1-델타-힌지)은 IgG1에 비해 내재화를 개선시킨다. 결실을

갖는 IgG2 (G2-델타-힌지)는 IgG2 힌지의 것에 비해 유사한 수준의 내재화를 제공한다. 이것은 힌지 영역이 내재화에 영향을 미치고, 이러한 효과는 IgG2 CH1에 의해 증진된다는 것을 시사한다 (G2-G1-G2-G2-AY는 G1-G2-G1-G1-AY와 대등함);

[0433] ● IgG2.4 (C220S)는 IgG2.3 (C219S)과 비교하여 유사하거나 감소된 내재화를 갖는다. IgG2.3/4 (C219S/C220S)는 IgG2.3 또는 IgG2.4 단독과 비교하여 훨씬 감소된 내재화를 갖는다 (세트 10 참조). 이것은 IgG2 힌지 및 C219S를 갖는 항체의 내재화가 C220S를 갖는 IgG2 힌지의 내재화와 거의 동일하고, 이들 둘 다는 C219S 및 C220S 둘 다를 갖는 IgG2 힌지의 내재화보다 훨씬 더 우수하다는 것을 시사한다;

[0434] ● IgG2.5 (C131S 돌연변이)는 C131을 갖는 구축물과 비교하여 감소된 내재화를 갖는다 (세트 1, 6 및 7 참조).

[0435] 따라서, 이들 결과는 CH1 도메인 및 힌지가 둘 다 항체 매개된 CD73 내재화와 관련이 있고, 이들 도메인으로부터의 IgG2 서열을 갖는 항체가 IgG1로부터의 이들 영역을 갖는 항체에 비해 더 우수한 효능으로 내재화된다는 것을 나타낸다.

[0436] 실시예 7: IgG2 힌지 및/또는 CH1 도메인을 갖는 항체는 고분자량 복합체를 형성한다

[0437] 표 14에 제시된 중쇄 불변 영역을 갖는 CD73.4 항체를 또한, 실시예 3에 기재된 바와 같이 SEC-MALS 및 DLS 실험에 의해 고분자량 복합체의 형성에 대해 시험하였다.

[0438] 본 연구에서 16종의 항체 중 3종은 이전에 시험하였다: CD73.4-IgG1.1f, CD73.4-IgG2-C219S (또한 CD73.4-IgG2.3으로 불림) 및 CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f (또한 CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH로 불림). 항체 단독의 SEC-MALS 및 DLS 데이터는 각각의 항체에 대해 단량체 모노클로날 항체에 전형적인 체류 시간, 질량 및 유체역학 반경을 보여주었다. 각각의 항체 (5.5 uM)와 hCD73-his (5.5uM)의 등몰 복합체는 항체 또는 hCD73-his 단독과 비교하여 모든 복합체에 대해 더 느린 체류 시간을 보여주었으며, 이는 복합체의 형성을 나타낸다. 16종의 복합체 각각에 대한 SEC 크로마토그램 데이터의 오버레이가 도 11a에 제시된다. 크로마토그램 데이터는 4개의 별개의 피크로 나뉘어질 수 있으며, 이는 도 11b에 제시된다. 피크 1은 가장 큰 종을 함유하고, MALS-결정된 질량은 4:4 hCD73-his:mAb 복합체보다 더 큰 질량 당량을 갖는 복합체를 시사한다. 피크 2는 MALS-결정된 질량을 갖는 종을 함유하고, 이는 약 2:2 hCD73-his:mAb 복합체의 복합체를 시사한다. 피크 3은 낮은 신호 및 MALS-결정된 질량을 갖는 소수 종이고, 이는 약 1:1 hCD73-his:mAb 복합체를 시사한다. 피크 4는 유리 항체와 일치하는 MALS-결정된 질량을 갖는 mAb 단독의 용리에 상응한다. 각각의 종의 상대량을 정량화하기 위해, 각각의 크로마토그램의 4개 피크를 피크 1 (<12.9분), 피크 2 (12.9 - 15.1분), 피크 3 (15.1 - 16.7분), 피크 4 (16.7 - 19.3분)로서 적분하였다. 적분은 또한 임의의 저분자량 종을 설명하기 위해 피크 5 (>19.3분)로 칭해지는 추가의 적분된 범위를 포함하였으며, 이는 무시해도 될 정도 (모든 복합체에 대해 <3.5%)인 것으로 밝혀졌다. 이러한 적분으로부터의 각각의 종의 백분율이 표 18에 요약된다. 모든 복합체는 유사한 적은 백분율의 피크 3 (약 6-9%)을 함유하였지만, 다른 피크는 가변량으로 함유하였다. 가장 주목할만한 것은 hCD73-his와 hIgG1로부터의 CH1 도메인을 함유하는 항체 사이의 모든 복합체는 더 작은 복합체 (피크 2)를 유의하게 더 큰 백분율로 갖는 반면에, hIgG2로부터의 CH1 도메인을 함유하는 것은 더 큰 복합체 (피크 1)를 더 큰 백분율로 갖는다는 것이다 (표 18 및 도 11c). 이것은 보다 고 차수 복합체 형성에서 힌지 영역 뿐만 아니라 CH1 도메인의 중요한 역할을 시사한다.

[0439] 표 18: 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 CD73.4 항체의 체류 시간

	UV%				
	피크1	피크2	피크3	피크4	피크5
복합체	<12.9분	12.9-15.1분	15.1-16.7분	16.7-19.3분	>19.3분
CD73.4-IgG2.3 + hCD73-his	37.0	23.8	7.7	28.6	2.9
CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH + hCD73-his	36.0	23.8	7.9	29.3	3.0
CD73.4-IgG1.1f + hCD73-his	28.4	36.2	7.4	25.6	2.3
CD73.4-IgG1f + hCD73-his	26.0	36.5	7.5	27.8	2.2
CD73.4-IgG2.3G1-AY + hCD73-his	30.2	24.3	8.1	34.4	3.0
CD73.4-IgG2.3G1-KH + hCD73-his	34.9	23.4	7.9	30.7	3.0
CD73.4-IgG1-G2.3G1-AY + hCD73-his	14.6	29.2	6.4	48.3	1.6
CD73.4-IgG1-G2.3G1-KH + hCD73-his	23.8	32.6	7.0	34.5	2.1
CD73.4-IgG1-델타THT + hCD73-his	28.3	35.4	7.0	26.9	2.4
CD73.4-IgG2.3-플러스THT + hCD73-his	30.6	24.3	8.3	33.7	3.2
CD73.4-IgG2.3-플러스GGG + hCD73-his	30.0	23.9	8.2	34.9	2.9
CD73.4-IgG2.5 + hCD73-his	31.7	24.4	8.4	32.5	3.1
CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH + hCD73-his	30.7	24.3	8.9	32.7	3.4
CD73.4-IgG2.5G1-AY + hCD73-his	26.3	24.8	8.1	38.3	2.6
CD73.4-IgG2.5G1-KH + hCD73-his	21.4	24.1	7.0	45.6	1.9
CD73.4-IgG2.5-플러스THT + hCD73-his	32.6	23.5	8.3	32.6	3.0

[0440]

[0441] 실시예 8: 조작된 불변 도메인을 갖는 항체에 대한 Fc 수용체 결합

[0442] 본 실시예는 IgG2의 CH1 및 힌지를 포함하는 변형된 중쇄 불변 영역을 갖는 항체가, 이들이 IgG1의 CH2 및 CH3 도메인을 함유하는 경우에 FcγR에 결합한다는 것을 입증한다.

[0443] 가변 도메인에 의한 항원 결합에 추가로, 항체는 불변 도메인과의 상호작용을 통해 Fc-감마 수용체 (FcgR)에 결속할 수 있다. 이들 상호작용은 이펙터 기능, 예컨대 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC) 및 항체-의존성 세포성 식세포작용 (ADCP)을 매개한다. 이펙터 기능 활성은 IgG1 이소형의 경우에 높지만, IgG2 및 IgG4의 경우에는 이들 이소형이 FcgR에 대해 보다 낮은 친화도를 갖기 때문에 매우 낮거나 부재한다. 추가로, IgG1의 이펙터 기능은 불변 영역 내의 아미노산 잔기의 돌연변이를 통해 변형되어, FcgR 친화도 및 선택성을 변경시킬 수 있다.

[0444] Fc 감마 수용체 (FcγR 또는 FcgR)에 대한 항체의 결합을, 비아코어 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 및 포르테바이오 생물층 간섭측정법 (BLI)을 포함한 바이오센서 기술을 사용하여 연구하였다. SPR 연구를 비아코어 T100 기기 (지이 헬스케어) 상에서 25℃에서 수행하였다. 뮤린 항-6xHis 항체로부터의 Fab 단편을, EDC/NHS를 사용하여 CM5 센서 칩 상에 ~3000 RU의 밀도로 고정화시켰다. 다양한 his-태그부착된 FcgR (7 ug/ml)을, 30초 접촉 시간을 사용하여 10 ul/분으로 C-말단 his-태그를 통해 포획하고, 1.0 uM 항체의 결합을 10 mM NaPO4, 130 mM NaCl, 0.05% p20 (PBS-T) pH 7.1의 구동 완충제 중에서 평가하였다. 이들 실험에 사용된 FcgR은 CD64 (FcgRI), CD32a-H131 (FcgRIIa-H131), CD32a-R131 (FcgRIIa-R131), CD32b (FcgRIIb), CD16a-V158 (FcgRIIIa-V158), CD16b-NA1 (FcgRIIIb-NA1), 및 CD16B-NA2 (FcgRIIIb-NA2)를 포함하였다. BLI 실험은 포르테바이오 옥텟 RED 기기 (폴, 포르테바이오(Pall, Fortebio)) 상에서 25℃에서 10 mM NaPO4, 130 mM NaCl, 0.05% p20 (PBS-T) pH 7.1 중에서 수행하였다. 항체를 희석되지 않은 발현 상청액으로부터 단백질 A 코팅된 센서 상에 포획하고, 이어서 1uM hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158, 또는 0.1 uM hCD64 분석물을 결합시켰다.

[0445] 먼저, 치환 S267E (SE) 및 S267E/L328F (SELF), 뿐만 아니라 V4, V7, V8, V9 및 V12로 지칭되는 돌연변이 P238D, P271G, H268D, A330R, G237D, E233D의 다양한 조합을 포함한 변형된 IgG1 Fc 도메인을 함유하는, 다양한 표적에 결합하는 항체를 제조하였다. 이들 항체의 결합은 비아코어 SPR에 의해 IgG1f, IgG2.3 (IgG2-C219S) 및 IgG4.1 (IgG4-S228P) 항체, 뿐만 아니라 모든 FcgR에 대한 결합이 감소되도록 조작된 IgG1.1f 항체와 비교하여 연구하였다. 도 12에 제시된 결과는 SE 및 SELF에 대한 증가된 CD32a-H131, CD32a-R131 및 CD32b 결합, 뿐

만 아니라 CD32a-H131 및 CD32a-R131보다 CD32b에 대한 V4, V7, V8, V9 및 V12 돌연변이체의 증가된 선택성을 포함한, IgG1f, IgG2.3 및 IgG4.1 및 돌연변이된 IgG1 항체에 대해 예상된 FcgR 결합 특성을 입증한다, 도 12.

[0446] 다음 세트의 구축물을 사용하여 이펙터 기능을 다른 이펙터 기능 음성 IgG2 이소형으로 조작하였다. 이러한 연구를 위해, IgG2.3 불변 영역, 또는 IgG2.3G1-AY로 칭해지는 IgG2.3/IgG1f 하이브리드와 관련하여 상기 기재된 돌연변이를 도입하였다, 표 19. 항체를 상청액으로서 소규모로 발현시키고, 포르테바이오 옥텟 생물층 간섭측정 바이오센서 기술을 사용하여 FcgR에의 결합에 대해 시험하였다. 항체는 상청액 중 낮은 농도로 존재하기 때문에, 단백질 A 코팅된 센서를 사용하여 상청액으로부터 항체를 포획한 다음, 용액 중 FcgR 분석물을 결합시킴으로써 실험을 수행하였다. 야생형 IgG1, SE, P238D, V4 및 V12 항체를 포함한, 정제된 및 상청액 대조군 IgG1f를 또한 비교를 위해 포함시켰고, 이들 대조군 항체 각각은 예상된 FcgR 결합 특성을 입증하였다, 도 13. IgG2.3 항체는 또한, CD32a-H131에 대해서만 인지가능하게 결합하여, 예상된 결합 프로파일을 입증하였다. 그러나, IgG2.3 내로 S267E, L328F, P238D, P271G, H268D, A330R, G237D, 또는 E233D 돌연변이를 도입한 모든 돌연변이는 상응하는 조작된 IgG1 mAb의 FcgR 친화도를 재현하는데 실패하였다, 도 13. 대조적으로, IgG2.3G1-AY 구축물은 IgG2.3의 CH1 및 힌지 영역을 보유하면서, 야생형 IgG1의 FcgR 결합 특성을 완전하게 보존할 수 있었다. 추가로, S267E, L328F, P238D, P271G, H268D, A330R, G237D, 및 E233D를 함유하는 모든 IgG2.3G1-AY 돌연변이체는, 동일한 돌연변이를 함유하는 IgG1 버전 mAb와 대등한 FcgR 결합 특성을 입증하였다, 도 13. 이것은 야생형 또는 돌연변이체 IgG1의 이펙터 기능과 조합된, IgG2의 CH1 및 힌지 영역을 갖는 항체의 성공적인 조작을 입증한다.

[0447] 표 19: 조작된 IgG2 구축물

세트	ID	구축물	Seq ID#
1	IgG2.3	hHC-IgG2-C219S	
	IgG2.3-V13	hHC-IgG2-C219S - P238D	
	IgG2.3-V14	hHC-IgG2-C219S - P238D,P271G	
	IgG2.3-V15	hHC-IgG2-C219S - P238D,H268D,P271G	
	IgG2.3-V16	hHC-IgG2-C219S - P238D,P271G,A330R	
	IgG2.3-V17	hHC-IgG2-C219S - P238D,H268D,P271G,A330R	
	IgG2.3-V18	hHC-IgG2-C219S - S267E	
	IgG2.3-V19	hHC-IgG2-C219S - S267E,L328F	
2	IgG2.3G1	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f	
	IgG2.3G1-AY-V20	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - P238D	
	IgG2.3G1-AY-V21	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - P238D,P271G	
	IgG2.3G1-AY-V22	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - P238D,H268D,P271G	
	IgG2.3G1-AY-V23	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - P238D,P271G,A330R	
	IgG2.3G1-AY-V24	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - P238D,H268D,P271G,A330R	
	IgG2.3G1-AY-V25	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - G237D,P238D,H268D,P271G,A330R	
	IgG2.3G1-AY-V26	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - E233D,G237D,P238D,H268D,P271G,A330R	
	IgG2.3G1-AY-V27	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - S267E	
	IgG2.3G1-AY-V28	hHC-IgG2-C219S/hHC-IgG1f - S267E,L328F	

[0448]

[0449] 이러한 조작 전략을, IgG2.3G1-AY로 포맷화된 다른 항체, IgG2.3G1-AY-S267E (IgG2.3G1-AY-V27), 뿐만 아니라 IgG2-B-형태 변이체 (IgG2.5G1-AY 및 IgG2.5G1-AY-V27), 및 IgG1 및 IgG2 불변 도메인의 상이한 조합을 함유하는 다른 하이브리드 항체를 생산하고, 비아코어 SPR 기술을 사용하여 항-his Fab 포획된 his-태그부착된 FcgR에 대한 이들 항체의 결합을 시험함으로써 추가로 연구하였다. 옥텟 상청액 데이터와 일치하게, SPR 데이터는 IgG2.3G1-AY 및 IgG2.3G1-AY-V27 항체가 A-형태 IgG2 항체 (IgG2.3)의 CH1 및 힌지 영역을 함유함에도 불구하고, 각각 IgG1f 및 IgG1f-S267E와 대등한 FcgR 결합 특성을 갖는다는 것을 보여주었다 (도 14a 및 b 및 표 20). IgG2.5G1-AY 및 IgG2.5G1-AY-V27 항체를 사용하여 또한 유사한 데이터를 수득하였으며, 이는 IgG1f 또는 변형된 IgG1f 유사 이펙터 기능을 갖는 B-형태 IgG2 항체 (C131S 돌연변이 함유, IgG2.5로 칭해짐)의 성공적인 조작을 입증한다. IgG2.3G1-AY, IgG2.3G1-AY-V27, IgG2.5G1-AY, 또는 IgG2.5G1-AY-V27 불변 영역을 갖지만 가변 영역이 상이한 여러 다른 항체에 대한 데이터는 이러한 조작 전략이 가변 도메인과 독립적으로 다른 항체에도 광범위하게 적용가능하다는 것을 보여준다 (도 14a 및 b 및 표 20). IgG1f-유사 FcgR 결합 특성을 입증하는

다른 구축물은 IgG1-G2.3G1-AY, 및 IgG1델타THT이며, 반면에 IgG2.3G1-KH, IgG2.5G1-KH, IgG2.3플러스THT, IgG2.5플러스THT 및 IgG2.3플러스GGG 구축물을 포함한 여러 변형된 불변 영역 구축물은 IgG1f-유사 FcgR 결합 특성을 보유할 수 없었다 (도 14a 및 b 및 표 20).

[0450] 표 20: 항-his Fab 포획된 FcgR-his 단백질에 결합하는 1 uM 항체에 대한 %Rmax 값

mAb	hCD64	hCD32a-H131	hCD32a-R131	hCD32b	hCD16a-V158	hCD16B-NA2
mAb8-IgG1f	80%	82%	51%	27%	51%	21%
mAb9-IgG1f	70%	33%	19%	4%	28%	10%
CD73.4-IgG1f	65%	46%	26%	6%	43%	17%
GITR.6-IgG1f	66%	35%	25%	8%	41%	19%
CD73.4-IgG1.1f	2%	0%	2%	1%	0%	0%
GITR.6-IgG1.1f	2%	0%	3%	1%	0%	0%
mAb11-IgG2.3	2%	44%	17%	5%	1%	0%
CD73.4-IgG2.3	3%	48%	11%	1%	1%	0%
mAb6-IgG2.3	3%	66%	14%	3%	1%	0%
GITR.6-IgG2.3	4%	40%	10%	1%	2%	0%
mAb4-IgG2.3	1%	39%	6%	1%	1%	0%
mAb5-IgG2.3	6%	100%	30%	4%	3%	0%
mAb12-IgG2.3	2%	39%	7%	1%	1%	0%
mAb13-IgG2.3	2%	40%	7%	1%	1%	0%
mAb11-IgG2.5	0%	40%	13%	3%	0%	-1%
mAb7-IgG2.5	4%	72%	19%	2%	2%	0%
mAb8-IgG2.5	3%	59%	14%	3%	2%	0%
mAb10-IgG2.5	1%	29%	5%	1%	1%	0%
CD73.4-IgG2.5	3%	40%	7%	1%	1%	0%
mAb6-IgG2.5	3%	75%	17%	4%	2%	0%
GITR.6-IgG2.5	4%	43%	13%	2%	2%	1%
mAb4-IgG2.5	2%	46%	8%	1%	1%	0%
mAb5-IgG2.5	6%	89%	26%	5%	4%	1%
mAb12-IgG2.5	1%	36%	6%	1%	1%	0%
mAb13-IgG2.5	-2%	39%	4%	-2%	0%	-2%
mAb8-IgG2.3G1-AY	77%	61%	38%	10%	38%	13%
mAb10-IgG2.3G1-AY	67%	23%	14%	4%	24%	8%
CD73.4-IgG2.3G1-AY	65%	38%	20%	5%	38%	14%
GITR.6-IgG2.3G1-AY	66%	43%	33%	16%	42%	21%
mAb7-IgG2.5G1-AY	80%	73%	45%	12%	47%	19%
mAb8-IgG2.5G1-AY	77%	70%	45%	17%	48%	22%
CD73.4-IgG2.5G1-AY	65%	43%	24%	7%	40%	16%
GITR.6-IgG2.5G1-AY	65%	38%	27%	10%	41%	19%
CD73.4-IgG2.3G1-KH	2%	15%	2%	0%	2%	0%
GITR.6-IgG2.3G1-KH	3%	13%	3%	0%	3%	1%
CD73.4-IgG2.5G1- KH	2%	17%	2%	0%	3%	0%
GITR.6-IgG2.5G1- KH	2%	15%	3%	0%	3%	1%
CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH	1%	10%	1%	0%	1%	0%

[0451]

GITR.6-IgG2.3G1.1f-KH	2%	9%	2%	0%	1%	0%
CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH	1%	6%	1%	0%	1%	0%
GITR.6-IgG2.5G1.1f-KH	3%	15%	4%	0%	2%	0%
mAb7-IgG2.3G1-AY-V27	84%	68%	92%	76%	26%	7%
mAb8-IgG2.3G1-AY-V27	78%	67%	80%	67%	24%	7%
mAb10-IgG2.3G1-AY-V27	69%	24%	57%	40%	12%	3%
mAb7-IgG2.5G1-AY-V27	81%	74%	89%	84%	32%	9%
mAb8-IgG2.5G1-AY-V27	77%	76%	79%	77%	33%	10%
CD73.4-IgG1-G2.3G1-AY	66%	50%	31%	10%	48%	23%
GITR.6-IgG1-G2.3G1-AY	66%	36%	25%	7%	42%	19%
CD73.4-IgG1-G2.3G1-KH	2%	18%	2%	0%	4%	1%
GITR.6-IgG1-G2.3G1-KH	2%	21%	2%	0%	5%	1%
CD73.4-IgG1델타THT	65%	43%	23%	6%	42%	17%
GITR.6-IgG1델타THT	66%	57%	42%	17%	48%	27%
CD73.4-IgG2.3플러스THT	3%	42%	8%	1%	1%	0%
GITR.6-IgG2.3플러스THT	6%	45%	17%	2%	3%	1%
CD73.4-IgG2.5플러스THT	2%	34%	7%	1%	1%	0%
GITR.6-IgG2.5플러스THT	5%	44%	15%	2%	3%	1%
CD73.4-IgG2.3플러스GGG	3%	43%	8%	1%	1%	0%
GITR.6-IgG2.3플러스GGG	6%	45%	17%	2%	3%	1%

[0452]

[0453] 종합하면 이들 데이터는, 힌지 영역 내의 보존된 CPPCPAP 모티프의 바로 C-말단의 서열이 FcgR-매개된 이펙터 기능을 부여하는 반면에, 항체의 CH1 및 힌지의 상부 부분을 IgG2 또는 변형된 IgG2 서열로 대체하여, IgG1 및 변형된 IgG1의 이펙터 기능을 IgG2 CH1 및/또는 힌지 영역을 함유하는 항체의 우수한 내재화 또는 신호전달 특성과 잠재적으로 조합할 수 있다는 것을 보여준다.

[0454] 실시예 9: GITR 효능제 Ab 내재화는 IgG2 힌지 및 CH1 도메인을 갖는 항체에서 증진된다

[0455] GITR 발현을 유도하기 위해, 세포를 20ng/ml 항-CD3 + 1000ng/ml CD28과 함께 37℃에서 72시간 동안 인큐베이션하였다. T-세포 활성화의 대안적 방법으로서, 3 단계의 배양 프로토콜에 의해 대형 배치의 활성화된 $CD4^+$ T-세포를 제조하였다. 간략하게, $CD4^+$ T-세포를 1ug/ml 가용성 CD28이 보충된 플레이트 결합된 CD3 (1.5ug/ml)으로 37℃에서 72시간 동안 자극하고, 배양물 중 20 u/ml IL-2의 존재 하에 14일 동안 확장시키고, 10ug/ml PHA, 2u/ml IL2 및 1ug/ml CD28을 37℃에서 72시간 동안 첨가하여 또 다른 활성화 라운드에 최종 노출시켰다. 자극된 T 세포를 384 웰 PDL 영상화 플레이트에 2시간 동안 시딩하여 세포를 부착시키고, 4℃에서 15분 동안 냉각시킨 다음, 알렉사 488-표지된 GITR 항체를 개별적으로 1시간 동안 첨가하였다. 플레이트를 HCS에 의해 최종 영상화하고, 데이터를 세포당 총 강도로서 보고하였다.

[0456] 상기 언급된 T 세포 활성화 방법을 사용하여 3종의 상이한 GITR 항체를 평가하였다. 이들은 G1 이소형으로서 GITR.6 항체 및 Fc 수용체에 결합할 수 없는 불활성 (IgG1.1) 이소형, 뿐만 아니라 IgG1 힌지 대신 IgG2 힌지를 갖는 키메라이다.

[0457] GITR 항체 유도된 내재화를 CD3 자극된 CD4+ T-세포에서 알렉사 켄칭 검정 포맷을 사용하여 평가하였다. 새로 수득된 CD4-양성 T 세포를 상기 기재된 바와 같은 조건 하에 인큐베이션하여 GITR 발현을 유도하였다. 자극 후, 세포를 신선한 배지에 재현탁시키고, 하기와 같은 내재화 검정을 위해 플레이팅하였다. 세포를 상기 기재된 바와 같이 항체와 함께 인큐베이션하고, 따뜻한 배지로 세척하고, 고정 및 켄칭 전 표시된 시간 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 내재화된 항체는, 시간 0에서 관찰된 작은 켄칭불가능한 신호를 초과한 증가된 형광으로서 측정한 다음, 세포에 초기에 결합된 총 형광 "비켄칭된 대조군"에 대해 정규화하였다. 도 15에 제시된 바와 같이, GITR 라이게이션은 시험된 각각의 항체에 대해 30-60분 사이에 신속한 내재화 최고점을 발생시킨 반면, 대조군 항체는 형질 막에의 국재화를 유지하는 것으로 확인되었다. 결과는 IgG2 힌지 영역이 GITR 라이게이션 유도된 내재화를 증진시킨다는 것을 나타낸다.

[0458] 내재화 및 연관 역학의 상세 메카니즘을 추가로 조사하기 위해, 항체 세포내이입 및 초기 엔도솜 구획 내로의 전달을 분석하였다. 본 실험에서, 세포를 비표지된 항체를 사용한 펄스 추적 분석에 적용하였다. 고정시, 세포를 투과화시키고, 초기 엔도솜 마커 EEA1 (셀 시그널링 테크놀로지(cell signaling technology))에 대해 염색하고, 세척한 다음, 알렉사 플루오르 - 488 접합된 항-토끼 2차 항체 (EEA1) 및 알렉사 플루오르 - 647 접합된 항-인간 항체 (GITR)로 검출하였다. 플레이트를 60X 수침 대물렌즈가 구비된 오페라 공초점 시스템 상에서 영상화하였다. 결과는 막 결합된 항-GITR 항체 염색과 세포내 EEA1 신호 사이의 분명한 분리를 나타냈다. 배양물의 가온시, 엔도솜 단백질과의 공동-국재화로 보이는 일부 항체의 클러스터링이 검출되었다. HCS 스튜디오 소프트웨어를 사용하여 엔도솜 공동-국재화의 정량화를 수행하였으며, 결과는 총 염색 대비 공동국재화된 픽셀 강도의 비로서 플롯팅되어 있다 (도 16). GITR 항체 및 초기 엔도솜의 공동국재화는 30분에 가장 우세하다. 이러한 시험된 시점에서, GITR.6.G2.G1f는 GITR.6.G1f 항체보다 더 높은 공동국재화된 분획을 보여주었다. 공동국재화 결과는 상기 기재된 알렉사 켄칭 방법을 사용하여 이루어진 관찰과 상관관계가 있고, G2 힌지가 GITR 내재화를 유도하는데 G1보다 잠재적 이점을 갖는다는 것을 시사하는 모델을 지지한다.

[0459] 실시예 10: T 세포 수용체 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포에서의 GITR 효능제 Ab 신호전달은 IgG2 힌지 및 CH1 도메인을 갖는 항체에서 증진된다

[0460] 항-GITR 효능제 항체에 대한 메카니즘을 추가로 조사하기 위해, T 세포 활성화에 수반되는 여러 신호전달 경로, 예컨대 NFkB 및 P38 신호전달 경로를 모니터링하였다.

[0461] 건강한 공여자 (M6576)로부터의 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 플레이트-코팅된 0.4 μg/ml 항-CD3 및 0.4μg/ml 항-CD28로 활성화시켰다. 3일 후에, 세포를 수집하고, 신호전달 활성화를 위해 384-웰 영상 플레이트 상에 플레이팅하였다. 세포를 2시간 동안 플레이트에 침강시킨 후, 이들을 GITR 항체로 15분 동안 처리하고, 포름알데히드를 최종 10%로 검정 플레이트에 첨가하여 신호전달 사건을 종결시켰다. 이어서 세포를 투과화시키고, 신호전달 검출을 위해 인광체-p65 NFKB 항체로 염색하였다. 도 17에 제시된 바와 같이, GITR.6.G2 및 GITR.6.G2.G1f 항체는 CD4+ 및 CD8+ T 세포 둘 다에서 GITR.6.G1f와 비교하여 더 높은 신호전달 반응을 가졌다. 내재화와 신호전달 경로 활성화를 연관짓는 어떠한 직접 증거도 존재하지 않지만, G2 이소형이 GITR.6의 경우 IgG1과 비교하여 항체 기능적 활성의 둘 다의 측면을 개선시키는 것으로 보인다고 주목되는 것은 흥미롭다.

[0462] 각각의 항체에 대해 신호전달 활성을 정량화하기 위해, 각각의 항체에 대해 EC50 및 Emax 둘 다를 계산하였으며, 이는 둘 다의 파라미터가 신호전달 사건의 전체 정도를 포획하는데 중요하기 때문이다. GITR.6.G2.G1f의 반응 수준을 100% 대조군인 것으로 선택하고, 모든 다른 항체를 그에 대해 정규화하였다. 항-CD3 및 항-CD28 항체에 의해 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포 집단 둘 다에 대해 표 21에 제시된 바와 같이, 효력 (EC50) 및 효능 (Emax%) 둘 다의 관점에서 GITR 항체에 대한 활성의 범위가 존재하였다. GITR.6.G2, GITR.6.G2.G1f 및 GITR.6.G1f가 약 10nM 범위의 유사한 효력 (EC50)을 나타냈지만, 효능 (Emax)은 상이한 이소형에 대해 매우 상이하였으며, 이는 G1 항체가 G2 또는 키메라 이소형만큼 효과적으로 신호전달하지 않는다는 것을 시사한다.

[0463] 표 21. TCR 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포에서의 GITR HuMab NFKB 신호전달 활성의 요약

	CD4+ T 세포		CD8+ T 세포	
항체	EC50 (nM)	Emax (%)	EC50 (nM)	Emax (%)
GITR.6.G2	12.8	69	9.00	85
GITR.6.G2.Gif	9.00	100	3.77	92
GITR.6.G1f	7.3	10.8	20.05	27
hIgG1 이소형 대조군	불활성	4	불활성	6

[0464]

[0465] GITR.6.G1f와 비교하여 GITR.6.G2 및 GITR.6.G2.G1f의 신호전달 차이가 NFkB 신호전달에만 제한되는지 또는 다른 신호전달 사건에서도 또한 마찬가지인지 여부를 추가로 확인하기 위해, P38MAPK 신호전달 판독을 연구하였다. 도 18에 제시된 바와 같이, GITR.6.G2 및 GITR.6.G2.G1f 항체는 CD4+ 세포 p38 MAPK 활성화 검정에서 GITR.6.G1f 항체와 비교하여 더 높은 신호전달 반응을 가졌다. 따라서, G1 이소형과 비교하여 GITR.6 G2 이소형에 대해 더 나은 신호전달 활성은 NFkB 신호전달에만 제한되지 않는다.

[0466] 증진된 효능제 활성 및 내재화에 추가로, 변형된 중쇄 불변 영역은 증진된 ADCC (예를 들어, 자극 수용체의 효

능제에 대해)를 부여할 뿐만 아니라 항체에 대한 새로운 활성을 제공할 수 있는 것으로 또한 밝혀졌다. 예를 들어, 억제 세포 표면 분자에 결합하고 본원에 기재된 변형된 중쇄 불변 영역에 대한 세포 표면 분자 (길항제)의 억제 활성을 방지하는 항체의 불변 중쇄 도메인을 변화시키는 것은 항체가 길항제가 될 수 있는 능력을 상실시키고 대신 항체에 (억제 활성의) 효능제 활성을 부여하는 것을 밝혀졌다.

[0467] 실시예 11: IgG2.3 및 IgG2.5 구축물의 디술피드 결합의 확인

[0468] 불변 도메인 IgG2.3 (A 형태), IgG2.3G1 (A 형태) 및 IgG2.5 (B-형태)를 포함하는 항체 내의 디술피드 결합 구조는 비-환원 대 환원 Lys-C 소화물의 비교에 의해 정확한 것으로 확인되었다.

[0469] 항체 샘플을 리신 (K, Lys) 잔기의 카르복실-말단 측 상의 펩티드 결합을 특이적으로 절단하는 Lys-C로 소화시켰다. 소화물 내의 펩티드를 워터스 액퀴티(Waters Acquity) BEH C18 칼럼, 1.7㎛, 2.1x150mm, 역상 HPLC 칼럼을 사용하여 분리하고, 214 nm에서의 자외선 (UV) 검출기 및 써모 LTQ 질량 분광계로 검출하였다.

[0470] Lys-C 효소적 소화 및 디술피드 결합의 환원: 100㎍의 항체 샘플을 함유하는 바이알에, 120㎕ 변성 완충제를 첨가하여 3.7M GuHCl, 0.2M 트리스 pH 7.0 용액을 생성하였다. 혼합물을 55℃에서 30분 동안 인큐베이션하였다. 상기 용액 중 50mM 아이오도아세트아미드 1㎕를 첨가한 다음 암실 내 실온에서 30분 동안 인큐베이션함으로써 단백질의 알킬화를 수행하였다. 알킬화 샘플을 80㎕ dH2O로 희석하고, 와코 Lys-C를 효소 대 기질 비 1:10으로 첨가하였다. 항체를 암실 내 실온에서 밤새 소화시켰다. 소화 후, 100㎕ 분취물을 Lys-C 소화된 샘플로부터 제거하고, 10㎕의 0.5M DTT를 첨가하였다. 이 샘플을 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하여 디술피드 결합을 환원시켰다.

[0471] 수득된 결과는 하기와 같다:

[0472] IgG2.3 및 IgG2.3G1 항체 (A 형태)의 디술피드 구조: 중쇄의 Fab 영역 내에서 Cys22 (H)는 Cys98 (H)에 연결되고 Cys151 (H)은 Cys207 (H)에 연결된다. 중쇄의 Fc 영역 내에서 Cys265 (H)는 Cys325 (H)에 연결되고 Cys371 (H)은 Cys429 (H)에 연결된다. 경쇄의 Fab 영역 내에서 Cys23 (L)은 Cys88 (L)에 연결되고 Cys134 (L)는 Cys194 (L)에 연결된다. 경쇄 Cys214 (L)의 C-말단은 중쇄에 Cys138 (H)에서 연결된다. 중쇄의 힌지 영역은 3개의 시스테인 잔기 Cys227 (H), Cys230 (H) 및 Cys233 (H)을 함유하며, 이는 3개의 쇄간 디술피드 결합을 제공한다. 가장 가능한 연결은 Cys227 (H) 대 Cys227 (H), Cys230 (H) 대 Cys230 (H) 및 Cys233 (H) 대 Cys233 (H)이며, 이는 IgG2 A 형태의 정확한 이론적 디술피드 배열이다.

[0473] IgG2.5 항체 (B 형태)의 디술피드 구조: 중쇄의 Fab 영역 내에서 Cys22 (H)는 Cys98 (H)에 연결되고 Cys151 (H)은 Cys207 (H)에 연결된다. 중쇄의 Fc 영역 내에서 Cys264 (H)는 Cys324 (H)에 연결되고 Cys370 (H)은 Cys428 (H)에 연결된다. 경쇄의 Fab 영역 내에서 Cys23 (L)은 Cys88 (L)에 연결되고 Cys134 (L)는 Cys194 (L)에 연결된다. 중쇄의 힌지 영역은 4개의 시스테인 잔기 Cys226 (H), Cys227 (H), Cys230 (H) 및 Cys233 (H)을 함유한다. 경쇄 Cys214 (L)의 C-말단은 중쇄의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기에 연결되고, 나머지 3개의 시스테인 잔기는 3개의 쇄간 디술피드 결합을 제공한다. 가장 가능성 있는 연결은 Cys214 (L) 대 Cys226 (H), 이어서 Cys227 (H) 대 Cys227 (H), Cys230 (H) 대 Cys230 (H) 및 Cys233 (H) 대 Cys233 (H)이고, 이는 IgG2 B 형태의 정확한 이론적 디술피드 배열이다. 추가적으로, 이온 트랩 질량 분광계를 사용하는 전자 전달 해리 (ETD) 촉발된 탠덤 질량 분광측정법을 사용하여 힌지 영역 내의 디술피드 연결을 확인하였다.

[0474] 실시예 12: T 세포에 대한 GITR 효능작용을 개선시키는데 있어서의 IgG2 CH1 및 힌지 내의 특정 아미노산 잔기의 관련성

[0475] 표 17에 제시된 중쇄 불변 영역을 갖는 항-GITR 항체 (GITR.6)를 제조하고, 실시예 2에 기재된 바와 같은 IL-2 생산 검정에서 시험하되, 상청액을 48시간이 아닌 40시간에 수거하였다.

[0476] 도 20a-d에 제시된 결과는 본 실시예에서 사용된 것과 동일한 중쇄 불변 영역을 갖는 항-CD73 항체로 수득된 CD73 내재화 결과 (도 10 참조)와 대부분 일치하였다.

[0477] 실시예 13: P238K 돌연변이를 사용한 이펙터 기능의 제거

[0478] 항체의 가변 영역을 야생형 IgG1 Fc와 단일 아미노산 잔기가 상이한 IgG1 Fc에 융합시켰다: P238K (서열식별번호: 198). 이러한 단일 돌연변이를 갖는 항체는 저친화도 FcγR hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158 또는 hCD16b-NA2에 대한 검출가능한 결합 신호를 본질적으로 갖지 않는 이펙터 기능의 결여를 나타냈다 (실시예 14에서의 데이터 참조). 추가로, IgG1 P238K를 갖는 항체는 고친화도 FcγR CD64에 대한 결합 친화도의 유의한 감소를 나타냈다 (실시예 14에서의 데이터 참조). CD64에 대한 항체의 결합은 야생형 IgG1 불변 도

메인을 갖는 항체에 비해 더 신속한 오프-레이트 (해리 상수)를 나타냈다.

[0479] 또한 항체 변이체를 사용하여 P238K 돌연변이를 갖는 IgG1 Fc (서열식별번호: 198)의 이펙터 기능의 결여를 입증하였다.

[0480] 따라서, 예를 들어 중쇄 불변 영역이 서열식별번호: 198의 아미노산 서열을 포함하는 것인, 단일 돌연변이(P238K)를 갖는 인간 IgG1 Fc는 이펙터 기능이 요망되지 않는 임의의 항체에서 사용될 수 있다.

[0481] 실시예 14: P238K 및 추가의 돌연변이를 사용한 이펙터 기능의 제거

[0482] 이펙터 기능, 바람직하게는 ADCC 및 CDC 둘 다를 추가로 감소시키기 위해 돌연변이(들)를 갖는 Fc를 갖는 추가의 항체를 생성하였다. 표 22에 제시된 바와 같이 FcR 결합을 추가로 감소시키기 위한 돌연변이체를 생성하였다. 특히, 상기 제시된 바와 같이, P238K는 CD64를 제외하고는 검출가능한 FcR 결합을 제거하므로, 목표는 CD64 결합을 감소시키는 추가의 돌연변이와 P238K를 조합하는 것이었다. IgG1 이소형, IgG2.3 및 IgG2.5 이소형 및 IgG2.3G1 이소형 포맷과 관련하여 돌연변이를 시험하였다. 이들 항체에 사용된 Fc는 서열식별번호: 234-245 및 247-262를 갖는 아미노산 서열 중 하나를 포함한다.

[0483] 돌연변이의 위치는 도 21에 제시된다.

[0484] 비아코어 8K 시스템 (지이 헬스케어)을 사용하는 표면 플라즈몬 공명에 의해 인간 FcγR의 항체에 대한 결합을 연구하였다. 이들 연구를 위해, 10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 계면활성제 p20의 구동 완충제 중에서 에탄올아민 차단 하에 표준 에틸 (디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (EDC)/N-히드록시숙신이미드 (NHS) 화학을 사용하여 CM5 센서 칩의 유동 셀 1-4 상에 ~3000 RU의 밀도로 단백질 A를 고정화시켰다. 정제된 항체 (10 μg/mL) 또는 발현 상청액 (~10ug/ml로 희석됨)을 단백질 A 표면 상에 ~1000 - 1200 RU의 밀도로 포획하고, FcγR 분석물의 결합을 20 μL/분의 유량으로 120초 회합 시간 및 120초 해리 시간을 사용하여 25℃에서 10 mM NaPO4, 130 mM NaCl, 0.05% p20, 완충제 (PBS-T) pH 7.1로 이루어진 구동 완충제 중에서 시험하였다. 하기와 같이 100% 분율 활성을 가정하고 글리코실화가 없는 단백질 질량만을 고려하면서, 포획된 항체의 수준에 기초하여, 각각의 항체에 대한 이론적 최대 결합 반응의 백분율 (%Rmax)로서 측정된 결합 반응을 결정함으로써, 비아코어 8K 평가 소프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하였다. 상이한 분자의 FcgR 결합을 비교하기 위해, 일반적으로 하기 식 1에 나타낸 바와 같이 이론적 최대 결합 반응의 백분율 (%Rmax)로서 최대 결합 반응을 계산함으로써 SPR 결합 데이터를 분석하였다:

[0485] $$\%Rmax = \frac{(\text{관찰된 결합 반응 분석물})}{(\text{이론적 최대 결합 반응 분석물})}$$ 식 1

[0486] 구체적으로, %Rmax는 하기 식을 사용하여 계산하였다:

[0487] $$\%Rmax = \frac{(\text{결합 반응 분석물})}{\frac{(Mw\ \text{분석물})}{(Mw\ \text{리간드})} \times (\text{반응 리간드}) \times (\text{분석물:리간드 화학량론})}$$ 식 2

[0488] 여기서 "분석물"은 항체이고, "리간드"는 포획된 FcgR 단백질이다. 이러한 분석은 항체 또는 FcgR의 글리코실화의 질량을 고려하지 않고 포획된 리간드에 대한 100% 분율 활성을 가정한다.

[0489] "% Rmax 분석"은, 시험된 분석물 농도 (1 마이크로몰 (μM)) 근처 또는 미만에서 비교적 빠른 회합 및 해리 속도 및 친화도를 갖고, 따라서 표면의 포화가 일반적으로 이들 조건 하에 달성되지 않는 "저친화도" FcgR, 예를 들어 hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158, hCD16a-F158, hCD16b-NA1 및 hCD16b-NA2의 결합을 평가하는데 특히 유용하다. 대조적으로, "고친화도" FcgR hCD64는 다른 FcgR보다 더 높은 친화도 및 더 느린 해리 동역학으로, 특히 IgG1 및 IgG4에 결합하고, 따라서 이들 이소형은 전형적으로 마이크로몰 분석물 농도 하에 hCD64 표면을 포화시켜, %Rmax를 사용하여 친화도를 구별하는 것이 더 어렵다. 이들 상호작용에 대해, 항체간 차이는 센소그램 데이터에서 해리 속도를 비교함으로써 용이하게 관찰될 수 있다.

[0490] 결과는 표 22에 제시되고, 예시적인 센소그램 데이터는 도 21a-1에 제공된다.

[0491] 표 22: Rmax의 백분율로서 제시된 야생형 또는 돌연변이된 Fc를 갖는 항체의 FcγR에 대한 결합

항체	샘플	1uM hCD64	10uM hCD32a-H131	10uM hCD32a-R131	10uM hCD32b	10uM hCD16a-V158	10uM hCD16a-F158		0.1uM hCD64	1uM hCD32a-H131	1uM hCD32a-R131	1uM hCD32b	1uM hCD16a-V158	1uM hCD16a-F158
Ab1-hIgG1f	정제됨	126%	98%	93%	61%	116%	45%		126%	54%	43%	13%	81%	10%
Ab2-hIgG1f	정제됨	123%	98%	96%	73%	116%	65%		124%	65%	56%	20%	94%	17%
Ab1-NF	정제됨	125%	97%	98%	76%	124%	130%		125%	55%	59%	22%	123%	104%
Ab33-IgG2.3	정제됨	16%	100%	69%	29%	27%	4%		2%	60%	21%	7%	6%	2%
Ab4-hz1-P238K	정제됨	116%	0%	1%	1%	-1%	-1%		88%	0%	0%	0%	0%	0%
Ab2-IgG1.3f-P238K	상청액	1%	1%	3%	2%	0%	0%		0%	1%	1%	1%	0%	0%
Ab2-IgG1f-P238K	상청액	109%	-3%	-2%	-2%	-4%	-4%		89%	1%	1%	1%	0%	0%
Ab2-IgG1f-L235E-P238K	상청액	11%	1%	3%	3%	0%	-1%		2%	0%	1%	1%	1%	0%
Ab2-IgG1f-L235E-P238K-K322A	상청액	11%	2%	5%	3%	0%	0%		2%	1%	1%	1%	1%	0%
Ab2-IgG2.3G1.3f-P238K	상청액	2%	1%	3%	2%	0%	0%		0%	1%	1%	1%	1%	0%
Ab2-IgG2.3G1-L235E-P238K	상청액	16%	1%	4%	3%	1%	0%		2%	1%	1%	1%	1%	1%
Ab2-IgG2.3G1-L235E-P238K-K322A	상청액	16%	2%	5%	3%	0%	0%		2%	1%	1%	1%	1%	0%
Ab2-IgG2.5G1.3f-P238K	상청액	2%	1%	3%	2%	0%	0%		0%	1%	1%	1%	1%	0%
Ab2-IgG2.5G1-L235E-P238K-K322A	상청액	15%	2%	5%	3%	0%	0%		2%	1%	1%	1%	1%	1%
Ab4-IgG1fa	상청액	124%	99%	95%	71%	116%	59%		125%	63%	53%	19%	91%	15%
Ab4-IgG1.3fa	상청액	7%	2%	29%	17%	4%	1%		1%	0%	4%	2%	1%	0%
Ab4-IgG1fa-P238K	상청액	116%	1%	1%	1%	0%	0%		87%	1%	1%	1%	0%	0%
Ab4-IgG1fa-L235A-P238K	상청액	51%	0%	1%	0%	-1%	-1%		10%	0%	0%	0%	0%	0%
Ab4-IgG1fa-L235E-P238K	상청액	9%	0%	3%	2%	0%	0%		1%	0%	1%	1%	0%	0%
Ab4-IgG1.3fa-P238K	상청액	1%	0%	2%	1%	0%	-1%		0%	0%	1%	0%	0%	0%
Ab4-IgG1fa-L235E-P238K-K322A	상청액	11%	1%	4%	1%	-1%	-1%		2%	0%	1%	0%	0%	0%
Ab4-IgG2.3	상청액	16%	98%	73%	31%	34%	4%		2%	66%	23%	6%	7%	2%
Ab4-IgG2.3-P238K	상청액	1%	1%	2%	1%	0%	0%		0%	2%	2%	2%	1%	1%
Ab4-IgG2.3G1	상청액	123%	95%	93%	72%	113%	62%		123%	62%	55%	21%	90%	16%
Ab4-IgG2.3G1-P238K	상청액	116%	0%	1%	1%	-1%	-2%		91%	0%	0%	0%	0%	-1%
Ab4-IgG2.5G1-P238K	상청액	118%	1%	2%	2%	0%	0%		94%	1%	1%	1%	1%	1%
Ab4-IgG2.3G1-L235E-P238K	상청액	13%	0%	3%	3%	0%	0%		2%	0%	1%	1%	0%	0%

[0492]

[0493] 표 22 및 도 22에 제시된 바와 같이, 조합 돌연변이체는 매우 약한 FcR 결합을 나타냈다. P238K 이소형에 대한 L235 돌연변이의 부가는 CD64 결합을 IgG1.3f와 유사한 수준으로 감소시켰다. CD64 결합을 감소시키는데 L235A 돌연변이보다 L235E가 우수하였다. IgG2에 P238K 돌연변이를 부가하여 (IgG2.3-P238K) 완전 불활성 이소형을 생성하였으며, 이는 FcR 단백질 중 임의의 것에 대해서도 검출가능한 결합을 나타내지 않는다. 돌연변이는 또한 IgG1 및 IgG2.xG1 포맷과 관련하여 유사한 경향을 나타냈다. c1q 결합 (CDC 활성)을 감소시키고 일부 구축물에서 부가된 K322A 돌연변이는 FcR 결합에 최소한의 영향을 가지므로 K322A의 많은 효과가 관찰되지는 않았다.

[0494] 실시예 14: IgG1.3 Fc를 사용한 이펙터 기능의 제거

[0495] 본 실시예는 "변형된 IgG1 Fc 도메인 및 이와의 항-CD40 도메인 항체 융합체"라는 발명의 명칭의 공동-출원 및 공동-소유 PCT 출원의 실시예 2 및 3에 기재되어 있다.

[0496] 본 실시예는 IgG1.3 Fc를 갖는 항체 또는 폴리펩티드가 본질적으로 CD16, CD32a, CD32b 및 CD64에 대한 결합이 없다는 것을 보여준다. 이것은 또한 IgG1.3 Fc를 항-TIM3 항체의 가변 도메인에 연결하였을 때 관찰되었다 (WO

2018/013818 참조). "IgG1.1" Fc ("IgG1.1"은 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S 치환을 갖는 IgG1임)로부터 A330S 및 P331S를 제거하여 5개 돌연변이 중 3개, 즉 L234A, L235E, G237A를 유지시킴으로써 IgG1.3을 유도하였다. 놀랍게도 IgG1.1 Fc 내의 A330S 및 P331S의 부재는 이러한 Fc의 불활성에 유의하게 영향을 미치지 않는 것으로 발견되었다. 항체와 관련하여 뿐만 아니라 비-항체 단백질과 관련하여 IgG1.1 및 IgG1.3의 불활성을 비교하는, IgG1.1 및 IgG1.3 (및 비교 목적을 위한 다른 Fc) 함유 항체 및 융합 단백질의 예시적인 FcγR 결합 측정이 하기에 존재한다.

[0497] 본 실시예에서 사용된 물질 및 방법은 하기를 포함한다.

[0498] FcgR 결합 SPR: 비아코어™ 표면 플라즈몬 공명 (SPR)을 사용하여 정제된 FcγR을 사용하여 시험관내에서 FcgR 결합을 측정할 수 있다. 본원에서 2가지 방법을 사용하였다.

[0499] 한 방법은 항-His 항체의 고정화된 Fab 단편 상에 포획된 His-태그부착된 FcgR 단백질 (FcgR-His ("FcgR"은 "FcγR"과 상호교환가능하게 사용됨))에 대한 정제된 항체 또는 dAb-Fc 단백질의 결합을 시험한다. 이들 실험은 25℃에서 비아코어™ T100 또는 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어) 상에서 수행한다. 뮤린 항-6xHis 항체 (사내 생성)로부터의 Fab 단편을, 10 밀리몰 (mM) HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 계면활성제 p20 (HBS-EP+)의 구동 완충제 중에서 에탄올아민 차단 하에 표준 에틸(디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (EDC)/N-히드록시숙신이미드 (NHS) 화학을 사용하여 CM5 센서 칩 상에 ~3000 공명 단위 RU의 밀도로 고정화시킨다. 모든 나머지 연구는 pH 7.1에서의 10 mM $NaPO_4$, 130 mM NaCl, 0.05% p20 (PBS-T)의 구동 완충제를 사용하여 수행한다. C-말단 6x 폴리-히스티딘 태그를 함유하는 다양한 FcgR 단백질 (사내 생성)을 10 μl/분으로 30초 접촉 시간을 사용하여 상기 표면 상에 (전형적으로 ~7 μg/ml의 FcgR-His 단백질 농도를 사용하여) 포획하였다. 다양한 농도의 정제된 항체 또는 dAb-Fc 단백질을 결합에 대해, 예를 들어 30 μl/분으로 120초의 회합 시간 및 30 μl/분으로 120초의 해리 시간을 사용하여 시험한다. 이들 연구에서 시험된 FcgR 단백질은 "고친화도" FcgR hCD64 (hFcgRI), 뿐만 아니라 "저친화도" FcgR hCD32a-H131 (FcgRIIa-H131), hCD32a-R131 (FcgRIIa-R131), hCD32b (FcgRIIb), hCD16a-V158 (FcgRIIIa-V158), hCD16a-F158 (FcgRIIIa-F158), hCD16b-NA1 (FcgRIIIb-NA1), 및 hCD16b-NA2 (FcgRIIIb-NA2)를 포함한다.

[0500] 결합 반응을 정량적으로 분석하고 상이한 분자의 FcgR 결합을 비교하기 위해, 일반적으로 하기 식 1에 나타낸 바와 같이 최대 결합 반응을 이론적 최대 결합 반응의 백분율 (%Rmax)로서 계산함으로써 SPR 결합 데이터를 분석할 수 있다.

[0501] $$\%Rmax = \frac{(\text{관찰된 결합 반응 분석물})}{(\text{이론적 최대 결합 반응 분석물})}$$ 식 1

[0502] 구체적으로, %Rmax는 하기 식을 사용하여 계산된다:

[0503] $$\%Rmax = \frac{(\text{결합 반응 분석물})}{\frac{(Mw\ \text{분석물})}{(Mw\ \text{리간드})} \times (\text{반응 리간드}) \times (\text{분석물:리간드 화학량론})}$$ 식 2

[0504] 여기서, "분석물"은 항체 또는 dAb-Fc이고, "리간드"는 포획된 FcgR 단백질이다. 이러한 분석은 항체, dAb-Fc 또는 FcgR의 글리코실화의 질량을 고려하지 않고, 포획된 리간드에 대한 100% 분율 활성을 가정한다.

[0505] "%Rmax 분석"은, 시험된 분석물 농도 (1 마이크로몰 (μM)) 근처 또는 미만에서 비교적 빠른 회합 및 해리 속도 및 친화도를 갖고, 따라서 표면의 포화가 일반적으로 이들 조건 하에 달성되지 않는 "저친화도" FcgR, 예를 들어 hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158, hCD16a-F158, hCD16b-NA1 및 hCD16b-NA2의 결합을 평가하는데 특히 유용하다. 대조적으로, "고친화도" FcgR hCD64는 다른 FcgR보다 더 높은 친화도 및 더 느린 해리 동역학으로, 특히 IgG1 및 IgG4에 결합하고, 따라서 이들 이소형은 전형적으로 마이크로몰 분석물 농도 하에 hCD64 표면을 포화시켜, %Rmax를 사용하여 친화도를 구별하는 것이 더 어렵다. 이들 상호작용에 대해, 항체간 차이는 센소그램 데이터에서 해리 속도를 비교함으로써 용이하게 관찰될 수 있다.

[0506] 항체 또는 dAb-Fc 단백질과 FcgR 단백질 사이의 상호작용을 시험하기 위한 제2 SPR 검정은 단백질 A 포획 방법이다. 이들 실험은 또한 25℃에서 비아코어™ T100 또는 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어) 상에서 수행한다. 이들 연구를 위해, 10 mM HEPES pH 7.4, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 계면활성제 p20의 구동 완충제 중에서 에탄올아민 차단 하에 표준 에틸 (디메틸아미노프로필) 카르보디이미드 (EDC)/N-히드록시숙신이미드 (NHS) 화학을 사용하여 CM5 센서 칩의 유동 셀 1-4 상에 ~3000 RU의 밀도로 단백질 A를 고정화킨다. 항체 또는 dAb-Fc 단백질 (전형적으로 ~3-10 μg/ml)을 단백질 A 표면 상에 포획하고, FcgR 분석물의 결합을, 예를 들어

30 μL/분의 유량으로 120초 회합 시간 및 180초 해리 시간을 사용하여 25℃에서 10 mM $NaPO_4$, 130 mM NaCl, 0.05% p20, 완충제 (PBS-T) (pH 7.1)로 이루어진 구동 완충제 중에서 시험한다.

[0507] 단백질 A 포획 검정을 또한 사용하여 항체 또는 dAb-Fc 분자를 함유하는 정제되지 않은 상청액을 분석할 수 있다. 이러한 분석을 위해, 희석되지 않은 상청액 또는 구동 완충제로 희석된 상청액으로부터 항체 또는 dAb-Fc 단백질을 포획할 수 있다. 결합 반응을 정량적으로 분석하고 상이한 분자의 FcgR 결합을 비교하기 위해, 상기 식 1을 사용하여 %Rmax를 계산함으로써 SPR 결합 데이터를 분석할 수 있으며, 식에서 분석물은 정제된 FcgR 단백질이고, 리간드는 포획된 항체 또는 dAb-Fc 단백질이다.

[0508] %Rmax 분석에 추가로, 단백질 A 포획된 항체 또는 dAb-Fc 단백질에의 결합에 대해 FcgR 분석물의 적정을 시험함으로써 결합의 동역학 및 친화도의 정량적 분석을 수행할 수 있다. 예를 들어, 3:1 연속 희석의 FcgR은 10 μM로부터 0.15 nM (hCD64) 또는 1.5 nM (모든 다른 FcgR)로 적정할 수 있다. 이들 동역학적 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어를 사용하여 1:1 랭뮤어 모델 또는 정상-상태 결합 모델에 피팅하여 동역학 및 친화도 값을 얻을 수 있다.

[0509] dAb-Fc: 본 실시예에서 연구된 dAb-Fc가 표 23에 제시된다. 이들 서열에서, 단일 가변 도메인 3h56-269 잔기는 아미노산 1-118 (밑줄표시)이다. 링커 AST는 이중-밑줄표시되어 있다.

[0510] 표 23

Seq #	샘플 ID	서열
263	3h56-269-IgG4.1 또는 BMS-986090	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLERVSA INPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLP FRFSDRGQGTLVTVSSASTESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
264	3h56-269-CT	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLERVSA INPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLP FRFSDRGQGTLVTVSSASTEPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
265	3h56-269-IgG1.1f	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLERVSA INPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLPFRF SDRGQGTLVTVSSASTEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
266	3h56-269-IgG1.3f	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLERVSA INPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLPFRF SDRGQGTLVTVSSASTEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
267	3h56-269-IgG1-D265A	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLERVSA INPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLPFRF SDRGQGTLVTVSSASTEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0511]

[0512] 표 23에 제시된 각각 "EPK"로 시작하는 IgG1.1f 및 IgG1.3f의 서열 (즉, 서열식별번호: 77 및 78의 서열)은 각각 서열식별번호: 83 및 248에서 EPK로 시작하는 서열과 동일하다.

[0513] 대조군 mAb: 대조군 모노클로날 항체 (1F4)를 또한 유사한 Fc 도메인 돌연변이를 사용하여 포맷화하였다. 가변 영역 및 CH1 영역을 포함한 1F4 중쇄의 부분의 서열 (서열식별번호: 268)을 비롯하여 개별 쇄 서열이 표 24에 제시된다. 이 서열은 중쇄 서열 (서열식별번호: 269-275)에서 밑줄표시되어 있다. 각각의 1F4 mAb 변이체에

대한 중쇄 및 경쇄 서열의 쌍이 표 25에 제시된다.

[0514] 표 24

Seq ID No.	서열 정체	서열
268	1F4 중쇄 가변 영역 및 CH1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSLQMNS LRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRV
269	1F4 경쇄 가변 영역 및 CL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISSSYLAWYQQKPGQA PRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYC QQYGSSPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
270	1F4-IgG1f 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSLQMNS LRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
271	1F4-IgG4.1 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSLQMNS LRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVF SCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
272	1F4-IgG1.1f 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSLQMNS LRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[0515]

Seq ID No.	서열 정체	서열
273	1F4-IgG1.3f 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSLQMNS LRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
274	1F4-D265A 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQAGK GLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSLQMNSL RAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM ISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
275	1F4-CT 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQAPG KGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSLQMNS LRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNT KVDKRVEPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0516]

[0517] 표 25

mAb 명칭	HC	LC
1F4-IgG1f	SEQ #: 270	SEQ #: 269
1F4-IgG4.1	SEQ #: 271	SEQ #: 269
1F4-IgG1.1f	SEQ #: 272	SEQ #: 269
1F4-IgG1.3f	SEQ #: 273	SEQ #: 269
1F4-D265A	SEQ #: 274	SEQ #: 269
1F4-CT	SEQ #: 275	SEQ #: 269

[0518]

[0519] 결과: FcgR 결합을 감소시키기 위해 Fc 도메인에 돌연변이를 사용하여 dAb-Fc 분자를 생산하였다. 구체적으로, 항-CD40 도메인 항체 3h56-269를 하기 Fc 도메인 변이체: IgG1.1f, IgG1.3f 및 IgG1-D265A를 사용하여 포맷화하였다. 3h-56-269-IgG1.1f (서열식별번호: 77), 3h-56-269-IgG1.3f (서열식별번호: 78) 및 3h-56-269-IgG1-D265A (서열식별번호: 79) 각각에서, 아미노산 1-116은 3h-56-269 dAb이고, 아미노산 117-119는 링커이고, 아미노산 120-351은 Fc 도메인이다.

[0520] 각각의 이들 dAb-Fc 융합 단백질 뿐만 아니라 각각의 3h56-269-IgG4.1 및 3h56-269-CT는 비아코어™ SPR에 의해 측정시 정제된 인간-CD40 단량체 (hCD40 단량체, 사내 생성)에 대해 고친화도로 결합하는 것으로 확인되었다. 표 26에 제시된 바와 같이, KD 값은 상이한 Fc 변이체에 대해 7.3 nM 내지 11.5 nM 범위이다. 각각의 dAb-Fc 분자는 또한 센서 칩의 표면 상의 hCD40-Fc 및 용액 중 가용성 분석물로서 dAb-Fc 분자를 사용하여 SPR에 의해 측정시 높은 결합력으로 인간 CD40에 결합하였으며, 여기서 250 nM 및 25 nM dAb-Fc 분석물 주입에 대한 데이터를 1:1 랭뮤어 모델에 피팅시켜 모든 dAb-Fc에 대한 결합력의 영향을 받는 겉보기 KD 값 ($KD_{겉보기}$)을

<1 nM로 추정하였다. 표 26 참조.

[0521] 표 26: 인간 CD40에의 dAb-Fc 분자의 결합에 대한 SPR 데이터.

리간드	고정화된 단백질 A 표면 상에 포획된 dAb-Fc 분자에 대한 hCD40단량체 결합 (친화도)			고정화된 hCD40-Fc 표면에 대한 dAb-Fc 결합 (결합력)
	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (nM)	KD겉보기 (nM)
3h56-269-IgG4.1	8.5E+03	9.7E-05	11.5	<1
3h56-269-CT	1.6E+04	1.3E-04	8.0	<1
	1.6E+04	1.2E-04	7.3	<1
3h56-269-CT (UCOE-CHO)*	1.6E+04	1.3E-04	7.7	<1
	1.9E+04	1.4E-04	7.0	<1
3h56-269-IgG1.1f	9.6E+03	1.0E-04	10.8	<1
3h56-269-IgG1.3f	9.9E+03	9.1E-05	9.2	<1
	1.1E+04	1.1E-04	9.8	<1
3h56-269-IgG1-D265A	1.1E+04	9.9E-05	9.0	<1

[0522]

[0523] *3h-56-269-CT는 UCOE-CHO 세포로부터 발현되고 정제되었다.

[0524] dAb-Fc 분자 및 다양한 대조군 모노클로날 1F4 항체의 FcgR 결합 특성을 SPR에 의해 특징화하였다. 제1 검정은 항-His Fab 포획된 FcgR-His 표면에 대한 1 μM 또는 10 μM dAb-Fc 또는 인간-IgG1f 항체 대조군 (1F4-IgG1f)의 결합을 수반하였다. 이들 데이터가 표 27에 제시된다.

[0525] 표 27: 항-His Fab 포획된 hFcgR-His 단백질에 대한 1μM 또는 10μM dAb-Fc 또는 1F4-IgG1f 항체 대조군 결합에 대한 %Rmax 데이터

샘플	농도 (μM)	항-His Fab 포획된 FcgR					
		고친화도 FcgR	저친화도 FcgR				
		hCD64	hCD32a-H131	hCD32a-R131	hCD32b	hCD16a-V158	hCD16b-NA2
1F4-IgG1f	1	65%	31%	19%	5%	31%	13%
3h56-269-IgG4.1	1	68%	27%	30%	20%	6%	1%
3h56-269-IgG1-D265A	1	68%	7%	2%	0%	1%	0%
3h56-269-IgG1.1f	1	11%	1%	10%	3%	0%	0%
3h56-269-IgG1.3f	1	12%	1%	8%	3%	1%	0%
3h56-269-CT	1	72%	0%	1%	0%	1%	0%
1F4-IgG1f	10	65%	62%	51%	24%	52%	36%
3h56-269-IgG4.1	10	69%	65%	66%	57%	27%	9%
3h56-269-IgG1-D265A	10	69%	33%	17%	2%	2%	-1%
3h56-269-IgG1.1f	10	39%	6%	43%	21%	3%	2%
3h56-269-IgG1.3f	10	39%	6%	37%	19%	5%	4%
3h56-269-CT	10	70%	2%	10%	3%	6%	-1%

[0526]

[0527] 또 다른 검정에서, FcgR 분석물 (1 μM 또는 10 μM)을 단백질 A-포획된 dAb-Fc 표면에의 결합에 대해 (데이터는 표 28에 제시됨) 및 항체 표면에의 결합에 대해 (데이터는 표 29에 제시됨) 시험하였다.

[0528] 표 28: 단백질 A-포획된 dAb-Fc 단백질에 대한 1 μM 또는 10 μM FcgR 결합에 대한 %RMax 데이터.

샘플	농도 (μM)	단백질 A-포획된 dAb-Fc 단백질				
		3h56-269-IgG4.1	3h56-269-IgG1-D265A	3h56-269-IgG1.1f	3h56-269-IgG1.3f	3h56-269-CT
hCD64	1	99%	41%	1%	2%	80%
hCD32a-H131	1	29%	3%	0%	1%	1%
hCD32a-R131	1	31%	1%	4%	5%	1%
hCD32b	1	19%	0%	1%	2%	1%
hCD16a-V158	1	12%	0%	0%	1%	1%
hCD16B-NA2	1	2%	0%	0%	0%	0%
hCD64	10	119%	85%	3%	7%	114%
hCD32a-H131	10	70%	18%	4%	6%	7%
hCD32a-R131	10	71%	4%	18%	26%	7%
hCD32b	10	59%	1%	9%	12%	4%
hCD16a-V158	10	47%	2%	2%	6%	7%
hCD16B-NA2	10	13%	0%	1%	3%	1%

[0529]

[0530] 표 29: 단백질 A 포획된 항체에 대한 1 μM 또는 10 μM FcgR 결합에 대한 %Rmax 데이터.

샘플	농도 (μM)	단백질 A-포획된 항체					
		1F4-IgG1f	1F4-IgG4.1	1F4-D265A	1F4-IgG1.1f	1F4-IgG1.3f	1F4-CT
hCD64	1	138%	126%	96%	8%	5%	120%
hCD32a-H131	1	62%	29%	7%	2%	1%	2%
hCD32a-R131	1	48%	33%	3%	5%	3%	2%
hCD32b	1	11%	17%	1%	1%	1%	1%
hCD16a-V158	1	97%	15%	1%	3%	2%	2%
hCD16B-NA2	1	33%	4%	1%	4%	3%	0%
hCD64	10	155%	139%	131%	17%	14%	131%
hCD32a-H131	10	99%	79%	38%	7%	6%	11%
hCD32a-R131	10	101%	87%	17%	28%	24%	13%
hCD32b	10	55%	68%	4%	11%	12%	8%
hCD16a-V158	10	125%	59%	2%	5%	7%	11%
hCD16B-NA2	10	81%	16%	-2%	4%	6%	1%

[0531]

[0532] 이들 실험에서 결합 반응 또는 그의 결여에 기초하여, 분석물 적정 (단백질 A 포획된 항체 또는 dAb-Fc에 대한 FcgR 분석물 결합)을 사용하는 동역학/친화도 특징화를 위해 가장 강한 결합 반응을 갖는 보다 높은 친화도 dAb-Fc/FcgR 또는 Ab/FcgR 상호작용의 하위세트를 선택하였다. 이들 데이터가 표 30에 제시된다.

[0533] 표 30: 단백질 A 포획된 항체 또는 dAb-Fc에의 정제된 FcgR 분석물 결합에 대한 KD 값 (nM).

샘플	hCD64	hCD32a-H131	hCD32a-R131	hCD32b	hCD16a-V158	hCD16B-NA2
1F4-IgG1f	0.2	920	1400	>5000	430	4800
1F4-IgG4.1	0.58	3700	2400	3100	>5000	>5000
3h56-269-IgG4.1	2.8	>5000	2200	>5000	>5000	>5000
3h56-269-IgG1-D265A	62					
3h56-269-IgG1.1f	>5000					
3h56-269-IgG1.3f	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000
3h56-269-CT	4.6	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000

[0534]

[0535] 종합하면, 이들 FcgR 결합 SPR 데이터는 IgG1f 및 IgG4.1 이소형 분자가 변형된 Fc 변이체 IgG1-D265A, IgG1.1f, IgG1.3f 또는 CT 분자와 비교하여 모든 FcgR에 걸쳐 유의하게 더 높은 FcgR 친화도를 갖는다는 것을 보여준다. 변형된 Fc 변이체 중에서, hCD64 결합 친화도는 3h56-269-CT에 대해 가장 강하였고 (KD = 4.6 nM), 3h56-269-IgG1-D265A에 대해 더 약하였고 (KD = 62 nM), 3h56-269-IgG1.1f 및 3h56-269-IgG1.3f에 대해 가장 약하였으며, 이 경우 시험된 조건 하에 정량화하기에는 친화도가 너무 약하였다 (K_D > 5 μM, 이는 시험된 최고 분석물 농도의 절반임). IgG1-D265A, IgG1.1f, IgG1.3f 및 CT 변이체에 대한 모든 다른 FcgR 상호작용 (hCD32a-H131, hCD32a-R131, hCD32b, hCD16a-V158, hCD16b-NA2) 또한 신뢰성 있는 KD 값을 수득하기에는 너무 약하였다 (K_D > 5 μM). 그러나, 상대적 결합 반응에서의 차이는 %Rmax 데이터에서 관찰될 수 있다. 예를 들어, IgG1-D265A 변이체는 IgG1.1f, IgG1.3f 또는 CT 변이체와 비교하여 hCD32a-H131에 대해 더 강한 결합 반응을 갖는다 (표 28). 대조적으로, IgG1.1f 및 IgG1.3f 변이체는 IgG1-D265A 및 CT 변이체와 비교하여 hCD32a-R131에 대한 더 강한 결합 반응을 갖는다 (표 28).

[0536] IgG1.3 함유 융합 단백질 또는 항체를 DSC, icIEF 및 질량 분광측정법에 의해 평가하였다. 물질 및 방법은 하기 기재되어 있다.

[0537] 시차 주사 열량측정법: 10 mM $NaPO_4$, 130 mM NaCl pH 7.1 중에서 마이크로칼 VP-모세관 DSC 기기 (말번 인스트루먼츠(Malvern Instruments), 영국 말번) 상에서 DSC 실험을 수행하였다. 1 mg/ml dAb-Fc 또는 항체의 샘플을 10-110℃의 스캔 범위 및 90℃/hr의 스캔 속도를 사용하여 시험하였다. 마이크로칼-오리진 7.0 소프트웨어를 사용하여 데이터를 분석하였다.

[0538] 영상화 모세관 등전 포커싱: 프로테인심플 iCE3(ProteinSimple iCE3)™ 시스템 (프로테인심플, 캘리포니아주 산호세) 상에서 icIEF 실험을 수행하였다. 이들 연구를 위해, 전형적으로 2 mg/ml 농도의 dAb-Fc 또는 항체 샘플을 2 M 우레아, 0.35% 메틸셀룰로스, 1% 파마라이트 5-8, 3% 파마라이트 8-10.5, 및 pI 마커 5.85 및 10.10으로 이루어진 담체 양성전해질 혼합물과, 0.20 mg/mL의 최종 단백질 농도로 혼합하고, 1.5 kV에서 1분의 사전-포커싱 시간 및 3 kV에서 10분의 포커싱 시간을 사용하여 분석하였다.

[0539] 질량 분광측정법: 질량 분광측정법 (mass spec) 분석을 위해, 100 mM DTT를 사용하여 샘플을 환원시키고, 펩티드:N-글리코시다제 (FPNGaseF)를 사용하여 N-탈글리코실화를 수행하였다. 사용된 액체 크로마토그래피-질량 분광측정법 (LC/MS) 기기는 워터스 액퀴티® UPLC (초고성능 액체 크로마토그래피)를 동반한 워터스 시냅트(Waters Synapt)® G2 (워터스 코포레이션(Waters Corporation), 매사추세츠주 밀포드)였다. UPLC 칼럼은 워터스 액퀴티® BEH (에틸렌 가교 하이브리드 입자) C4 (2.1 x 150 mm, 300 Å, 1.7 um 입자)였다. 구배는 200 μL/분 유량으로 10분간 10%에서 38% (이동상 B)였다. 이동상 A는 물 중 0.1% 포름산이었다. 이동상 B는 아세토니트릴 중 0.1% 포름산이었다. 칼럼 온도는 60℃였다. 워터스 매스링스(Waters MassLynx)™ 소프트웨어의 보조 하에 데이터 분석을 수동으로 수행하였고; MaxEnt1 알고리즘을 사용하여 스펙트럼 디컨볼루션을 수행하였다.

[0540] 가속 안정성 연구: 먼저 4℃에서 표적 제제 완충제 중 dAb-Fc 분자를 광범위하게 투석함으로써 가속 안정성 연구를 수행하였다. 샘플을 회수하고, 아미콘(Amicon)® 초원심분리 필터 유닛 (머크 카게아아(Merck KgaA), 독일)을 사용하여 농축시키고, 투석 완충제 중 상이한 표적 농도로 제조하였다. 이들 샘플을 다양한 온도, 전형

적으로 4℃, 25℃, 32℃ 및/또는 40℃에서 수주 동안 인큐베이션하고, 분취물을 분리해 내고, 분석적 크기 배제 크로마토그래피에 의해 분석하였다. 애질런트(Agilent) 1260 HPLC 상에서 쇼덱스™ K403-4F 칼럼 (쇼와 덴코 아메리카, 인크.(Showa Denko America, Inc.), 뉴욕주 뉴욕)을 사용하여 100 mM 인산나트륨, 150 mM 염화나트륨, pH 7.3, 유량 0.3 ml/분의 이동상에서 분석적 크기 배제 크로마토그래피를 수행하였다.

[0541] 결과 - 시차 주사 열량측정법: DSC를 사용하여 단백질의 열 안정성을 측정할 수 있다. 최적 피트 Tm 값이 표 31에 요약되어 있다.

[0542] 표 31: DSC에 의해 결정된 바와 같은 dAb-Fc 분자에 대한 열 용융 온도 (Tm) 값.

	Tm dAb 및 CH2 도메인		Tm CH3 도메인 (°C)
샘플	Tm1 (°C)	Tm2 (°C)	
3h56-269-IgG4.1	62.8		69.6
3h56-269-CT	55.4	60.4	83.2
3h56-269-IgG1.1f	59.0	61.6	82.3
3h56-269-IgG1.3f	57.0	62.8	81.9
3h56-269-IgG1-D265A	56.4	61.4	82.4

[0543]

[0544] IgG Fc 도메인에 대한 특징적인 열 변성 프로파일에 기초하여, 3h56-269-IgG4.1에 대한 Fc CH3 도메인 전이는 69.6℃의 중간점 (Tm) 값을 갖는 전이로서 배정되었고; 다양한 IgG1 분자의 Fc CH3 도메인은 ~82 - 83℃ 근처의 Tm을 갖는 전이로서 배정되었다. dAb-Fc에 대한 dAb 도메인 및 CH2 도메인의 변성은 65℃ 미만의 전이(들)로 배정되었으며, 이는 상이한 구축물 사이에 열 변성의 개시 ($T_{개시}$), 언폴딩 전이의 형상 및 최적 피트 Tm 값 모두가 상이하다. 예를 들어, 3h56-269-IgG4.1의 dAb 및 CH2 도메인에 대한 열 전이는 Tm 값이 62.8℃로 단일 중첩 또는 협력 전이로 보인다. 3h56-269-IgG1-D265A, 3h56-269-IgG1.1f 및 3h56-269-IgG1.3f의 dAb 및 CH2 도메인에 대한 변성 프로파일은 모두 보다 높은 비대칭적 전이와 일치하며, 이는 ~56 - 63℃의 Tm 값을 갖는 2개의 전이에 의해 가장 잘 설명되었다. 3h56-269-CT는 40℃ 근처에서 언폴딩하기 시작하여 가장 낮은 $T_{개시}$를 가졌고, 넓은 열 전이 및 Tm1 = 55.4℃ 및 Tm2 = 60.4℃의 가장 낮은 Tm 값을 가졌다.

[0545] 결과 - 영상화 모세관 등전 포커싱 (icIEF): 영상화 모세관 등전 포커싱 (icIEF)을 사용하여 샘플 균질성 또는 불균질성을 특징화할 수 있다. 균질한 생성물을 생성하는 능력은 또 다른 중요한 개발가능성 기준이다. 결과적으로, 신규 단백질 치료제의 발견 및 최적화 동안, 샘플 불균질성을 특징화 및 정량하고 가장 균질한 분자를 선택하기 위해 다양한 분석 방법이 이용된다.

[0546] dAb-Fc 분자에 대한 전하 프로파일을 icIEF에 의해 특징화하였다. 데이터가 도 23에 제시된다. 3h56-269-IgG4.1 (도 23a), 3h56-269-IgG1.1f (도 23e) 및 3h56-269-IgG1.3f (도 23f)에 대한 icIEF 프로파일은 모두 비교적 간단하고, 각각은 69-86%의 면적을 갖는 뚜렷한 주요 피크 및 더 낮은 존재비의 2 내지 4개의 전하 변이체로 이루어져 있다. 이러한 icIEF 프로파일은 항체에 대해 얻어진 전형적인 프로파일과 유사하다. 3h56-269-IgG1-D265A (도 23d)에 대한 주요 피크는 다소 더 낮은 존재비 (49%)를 가지며, 적어도 6개의 검출가능한 종을 갖는 상응하는 더 높은 수준의 산성 변이체가 존재한다. 대조적으로, 3h56-269-CT에 대한 프로파일 (도 23b)은 고도로 불균질하며, 적어도 16개의 상이한 종으로 이루어지고 명확한 주요 피크가 없다. 상이한 세포주 (UCOE-CHO)에서 발현된 3h56-269-CT에 대한 icIEF 프로파일은 동등하게 불균질하였지만 (도 23c), 전하 변이체의 분포는 HEK293-발현된 물질과 상당히 상이하였다.

[0547] 결과 - 질량 분광측정법: IgG 또는 Fc-함유 단백질의 Fc 도메인 상의 전형적인 글리코실화는 G0F, G1F 및 일부 G2F 종의 혼합물이다. 다른 당형태, 예컨대 시알릴화 또는 비-푸코실화 형태는 일반적으로 훨씬 더 낮은 존재비 또는 검출불가능한 수준에서 발견된다.

[0548] dAb-Fc 단백질의 글리코실화 프로파일을 특징화하기 위해 및 dAb-Fc 단백질을 유사한 Fc 돌연변이를 갖는 대조군 항체와 비교하기 위해, 질량 분광측정법 실험을 수행하였다. 데이터가 표 32에 제시된다.

[0549] 표 32: 질량 분광측정법에 의해 결정된 바와 같은 dAb-Fc 및 항체 분자에서의 검출가능한 당형태.

샘플	G0F	G1F	G2F	G2FS1	G2FS2
3h56-269-IgG4.1	67%	29%	4%		
3h56-269-IgG1.1f	32%	58%	9%		
3h56-269-IgG1.3f	42%	55%	3%		
3h56-269-IgG1-D265A	4%	37%	43%	13%	2%
1F4-IgG1f	68%	32%			
1F4-IgG1.3f	26%	64%	10%		
1F4-D265A	27%	40%	27%	4%	2%

[0550]

[0551] 대조군 항체 1F4-IgG1f 및 1F4-IgG1.3f, 뿐만 아니라 dAb-Fc 항체 3h56-269-IgG4.1, 3h56-269-IgG1.1f, 3h56-269-IgG1.3f에 대한 질량 분광측정법 데이터는 이들 단백질이 G0F, G1F 당형태와 더 낮은 존재비의 G2F 종의 전형적인 혼합물로 이루어져 있다는 것을 보여주었다.

[0552] 따라서, IgG1.3 (중쇄 불변 영역 및 Fc)은 본질적으로 CD16, CD32a, CD32b 및 CD64에 대한 결합이 없고, 우수한 생물리학적 특성을 갖는다. 이것은 또한 IgG1.3 Fc가 항-TIM3 항체의 가변 도메인에 연결되었을 때에도 관찰되었다 (WO 2018/013818 참조). IgG1.3을 포함하는 항-TIM3 항체는 우수한 열 안정성 (Tm1 = 68.1℃, Tm2 = 80.3℃, Tm3 = 82.6℃) 및 열 가역성 (74℃에서 95.6%, 80℃에서 25.5%)을 갖는 것으로 나타났으며, 이는 분자가 열 응력 하에 그의 구조적 완전성을 유지하고 응력이 해제될 때 강건한 리폴딩 특성을 갖는다는 것을 시사한다.

[0553] 서열 표 33

SEQ ID NO	설명	서열
1	전장 IgG1 야생형	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
2	CH1 IgG1 야생형	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKV
3	힌지 IgG1 야생형	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG
4	CH2 IgG1 야생형	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPAPIEKTISKAK
5	CH3 IgG1 야생형	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
6	전장 IgG2 야생형	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
7	CH1 IgG2 야생형	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTV
8	힌지 IgG2 야생형	ERKCCVECPPCPAPPVAG
9	CH2 IgG2 야생형	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS NKGLPAPIEKTISKTK
10	CH3 IgG2 야생형	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
11	전장 IgG3 야생형	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKP SNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKS CDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSC SVMHEALHNRFTQKSLSLSPGK
12	CH1 IgG3 야생형	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHKP SNTKVDKRV
13	힌지 IgG3 야생형	ELKTPLGDTTHTCPRCPE

[0554]

14	CH2 IgG3 야생형	PKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKALPAPIEKTISKTK
15	CH3 IgG3 야생형	GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESS GQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVM HEALHNRFTQKSLSLSPGK
16	전장 IgG4 야생형	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
17	CH1 IgG4 야생형	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRV
18	힌지 IgG4 야생형	ESKYGPPCPSCPAPEFLGG
19	CH2 IgG4 야생형	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKGLPSSIEKTISKAK
20	CH3 IgG4 야생형	GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSLGK
21	변형된 IgG2 힌지 (C219S)	ERKSCVECPPCPAPPVAG
22	IgG2/IgG1 하이브리드 힌지	ERKCCVECPPCPAPELLGG
23	IgG2 C219S/IgG1 하이브리드 힌지	ERKSCVECPPCPAPELLGG
24	변형된 CH2 IgG1 (A330S/P331S)	PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV SNKALPSSIEKTISKAK
25	IgG1.1 힌지 (L234A/L235E/G237A)	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGA
26	IgG1-IgG2-IgG1 (IgG1-IgG2/IgG1(SEQ#22)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG
27	IgG1-IgG2-IgG12 (IgG1-IgG2(SEQ#8)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG

[0555]

[0556]

28	IgG2-IgG1 (IgG2-IgG2/IgG1(SEQ#22)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
29	IgG2-IgG12 (IgG2-IgG2(SEQ#8)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
30	IgG1-IgG2-IgG1.1 (IgG1-IgG2(SEQ#8)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
31	IgG2-IgG1.1 (IgG2-IgG2(SEQ#8)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
32	IgG1-IgG2CS-IgG1 (IgG1-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
33	IgG1-IgG2CS-IgG12 (IgG1-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
34	IgG2CS-IgG1 (IgG2-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG

35	IgG2CS-IgG12 (IgG2-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
36	IgG1-IgG2CS-IgG1.1 (IgG1-IgG2(C219S)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG
37	IgG2CS-IgG1.1 (IgG2-IgG2(C219S)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
38	Ab 11F11 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSNYGMHWVRQAPGK GLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQGTMVTVSS
39	Ab 4C3 VH	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGISWKSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCVKGYYVILTGLDYWGQGTLVTVSS
40	Ab CD73.10 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPG KGLEWVAVIWYDESNKYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQGTMVTVSS
41	Ab CD73.3 VH (4C3 / V94A)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGISWKSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTVLYYCVKGYYVILTGLDYWGQGTLVTVSS
42	Ab 6E11 VH	EVQLVESGGALVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGITWNSGGIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDRYYSSWLLFDNWGQGILVTVSS
43	Ab CD73.4 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPG KGLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQGTMVTVSS
44	Ab 11F11 전장 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCATSGFTFSNYGMHWVRQAPGK GLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQGTMVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKT VERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVL TVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYT LPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK

[0557]

45	Ab 4C3 전장 HC	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGISWKSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCVKGYYVILTGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
46	Ab 6E11 전장 HC	EVQLVESGGALVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGITWNSGGIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTALYYCAKDRYYSSWLLFDNWGQGILVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH NHYTQKSLSLSPGK
47	Ab CD73.10-IgG2-C219S 전장 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPG KGLEWVAVIWYDESNKYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQGTMVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVD KTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
48	Ab CD73.10-IgG2-C219S-IgG1.1 전장 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPG KGLEWVAVIWYDESNKYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQGTMVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVD KTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVS VLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
49	Ab CD73.10-IgG1.1 전장 HC (IgG1.1 - IgG1.1(L234A/L235E/G237A)-IgG1.1(A330S/P331S)-IgG1.1)	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPG KGLEWVAVIWYDESNKYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQGTMVTVSSASTKGPS VFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG

[0558]

50	Ab CD73.4-IgG2-C219S 전장 HC	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYGMHWVRQAPG KGLEWVAVILYDGSNKYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNS LRAEDTAVYYCARGGSSWYPDSFDIWGQGTMVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVD KTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQV YTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
51	Ab CD73.3-IgG1.1 전장 HC (IgG1.1 - IgG1.1(L234A/L235E/G237A)-IgG1.1(A330S/P331S)-IgG1.1)	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGK GLEWVSGISWKSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLR AEDTVLYYCVKGYYVILTGLDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
52	전장 중쇄 불변 영역 IgG2-IgG2-IgG2-IgG2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
53	전장 중쇄 불변 영역 IgG1-IgG1-IgG1-IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
54	전장 중쇄 불변 영역 IgG1-IgG1.1(L234A/L235E/G237A)-IgG1.1 (A330S/P331S)-IgG1	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
55	전장 중쇄 불변 영역 IgG2-IgG2/IgG1 하이브리드-IgG1-IgG1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPG

[0559]

[0560]

56	전장 중쇄 불변 영역 IgG2-IgG2-IgG1.1(A330/P331S)-IgG1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPG
57	Table 2 - 힌지 도메인	VDKRV
58	Table 2 - 힌지 도메인	VDKTV
59	Table 2 - 힌지 도메인	EPKSCDKTHT
60	Table 2 - 힌지 도메인	ERK
61	Table 2 - 힌지 도메인	ELKTPLGDTTHT
62	Table 2 - 힌지 도메인	EPKS
63	Table 2 - 힌지 도메인	ESKYGPP
64	Table 2 - 힌지 도메인	CPPCP
65	Table 2 - 힌지 도메인	CCVECPPCP
66	Table 2 - 힌지 도메인	CPRCP
67	Table 2 - 힌지 도메인	EPKSCDTPPPCPRCP
68	Table 2 - 힌지 도메인	CDTPPPCPRCP
69	Table 2 - 힌지 도메인	CPSCP
70	Table 2 - 힌지 도메인	APELLGG
71	Table 2 - 힌지 도메인	APPVAG
72	경쇄 11F11	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAP KSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ YNSYPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCL LNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
73	경쇄 4C3	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPR LLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQY GSSPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
74	경쇄 6D11	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAP RLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQH YGSSFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN NFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
75	항-GITR AbVH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVAVIWYEGSNKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARGGSMVRGDYYYGMDVWGQGTTVTVSS
76	항-GITR Ab VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPK LLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQF NSYPYTFGQGTKLEIK
77	항-GITR Ab LC	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPK LLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQF NSYPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTL TLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0561]

78	IgG1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
79	IgG2.3	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
80	IgG2.3G1-AY	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
81	IgG2.3G1-KH	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
82	IgG2.5	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
83	IgG1.1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

84	IgG2.3G1.1f-KH	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
85	IgG1-델타THT	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
86	IgG2.3-플러스THT	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVETHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
87	IgG2.3-플러스GGG	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVEGGGCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
88	IgG2.5G1.1f-KH	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
89	IgG2.5G1-AY	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0562]

[0563]

90	IgG2.5G1-KH	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
91	IgG2.5-플러스THT	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVETHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
92	IgG1-G2.3G1-AY	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVERKSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
93	IgG1-G2.3G1-KH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
94	G2-G1-G1-G1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

95	G2.5-G1-G1-G1	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
96	G1-G2.3-G2-G2	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV S HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
97	G1-KRGEGSSNLF	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
98	G1-KRGEGS	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0564]

[0565]

99	G1-SNLF	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
100	IgG1-ITNDRTPR	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
101	G1-SNLFPR	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVER KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
102	G2-RKEGSGNSFL	ASTKGPSVFPLAPCSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV S HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0566]

103	G2-RKEGSG	ASTKGPSVFPLAPCSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV S HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
104	G2-NSFL	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV S HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
105	IgG2-TIDNTRRP	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV S HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
106	G2-NSFLRP	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVEP KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV S HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

107	G1-G1-G2-G1-AY	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
108	G1-G1-G2-G1-KH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
109	G2-G2.3-G1-G2-KH	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV S HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
110	G2.5-G2.3-G1-G2-KH	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV S HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0567]

111	G2-G2.3-G1-G2-AY	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER KSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
112	G2.5-G2.3-G1-G2-AY	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER KSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
113	G1-G2.3-G1-G1-KH	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
114	G2-G1-G2-G2-AY	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0568]

115	G2.5-G1-G2-G2-AY	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
116	G1-G2-G1-G1-AY	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
117	G2-G1-G2-G2-KH	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
118	G2.5-G1-G2-G2-KH	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER KSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0569]

[0570]

119	IgG1-벨타힌지	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
120	IgG2-벨타힌지	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
121	IgG2.5-벨타힌지	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKV DKTVER KCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVH QDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
122	IgG1-벨타G237	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD KRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV VDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

123	IgG2-플러스G237	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGV HTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVER KSCVECPPCPAPPVAG**G**PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS HEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
124	IgG2.4	ASTKGP SVFPLAPCSR STSESTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSNF GTQTYTCNVD HKPSNTKVDK TVERKCSVEC PPCPAPPVAG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STFRVVSVLT VVHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPAPIEKTIS KTKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPM LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
125	IgG2.3/4	ASTKGP SVFPLAPCSR STSESTAALG CLVKDYFPEP VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSNF GTQTYTCNVD HKPSNTKVDK TVERKSSVEC PPCPAPPVAG PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVQFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQFN STFRVVSVLT VVHQDWLNGK EYKCKVSNKG LPAPIEKTIS KTKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPM LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPGK
126	힌지 IgG2 C220S	ERKCSVECPPCPAPPVAG
127	IgG2/IgG1 하이브리드 힌지 C220S	ERKCSVECPPCPAP<u>ELLGG</u>
128	야생형 IgG2 힌지 부분	ERKCCVECPPCPAP
129	IgG2 힌지 부분 C219S	ERKSCVECPPCPAP
130	IgG2 힌지 부분 C220S	ERKCSVECPPCPAP
131	IgG2 힌지 부분 C219X	ERKXCVECPPCPAP
132	IgG2 힌지 부분 C220X	ERKCXVECPPCPAP
133	IgG2 CH1+IgG2 힌지 (야생형)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG
134	C219X를 갖는 IgG2	ERKXCVECPPCPAPPVAG
135	C220X를 갖는 IgG2	ERKCXVECPPCPAPPVAG

[0571]

[0572]

136	C219X를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드	ERKXCVECPPCPAPELLGG
137	C220X를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드	ERKCVECPPCPAPELLGG
138	IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKCCVECPPCPAPELLG
139	C219S를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKSCVECPPCPAPELLG
140	C220S를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKCSVECPPCPAPELLG
141	C219X를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKXCVECPPCPAPELLG
142	C220X를 갖는 IgG2/IgG1 하이브리드 델타G	ERKCXVECPPCPAPELLG
143	C-말단 X를 갖는 야생형 IgG2	ERKCCVECPPCPAPPVAGX
144	C-말단 X와 C219S를 갖는 IgG2	ERKSCVECPPCPAPPVAGX
145	C-말단 X와 C220S를 갖는 IgG2	ERKCSVECPPCPAPPVAGX
146	C-말단 X와 C219X를 갖는 IgG2	ERKXCVECPPCPAPPVAGX
147	C-말단 X와 C220X를 갖는 IgG2	ERKCXVECPPCPAPPVAGX
148	IgG2 힌지 부분	PVAG
149	IgG1 힌지 부분	SCDKTHT
150	IgG1 힌지 부분 1	ELLG
151	IgG1 힌지 부분 2	ELLGG
152	IgG2.3-V13	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGDSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
153	IgG2.3-V14	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGDSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDGEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
154	IgG2.3-V15	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGDSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDEDGEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK

[0573]

155	IgG2.3-V16	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGDSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDGEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPRPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
156	IgG2.3-V17	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGDSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDEDGEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPRPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
157	IgG2.3-V18	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
158	IgG2.3-V19	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVEHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGFPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
159	IgG2.3G1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
160	IgG2.3G1-V20	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
161	IgG2.3G1-V21	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0574]

162	IgG2.3G1-V22	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSDEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
163	IgG2.3G1-V23	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
164	IgG2.3G1-V24	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSDEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
165	IgG2.3G1-V25	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGDDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSDEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
166	IgG2.3G1-V26	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPDLLGDDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSDEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
167	IgG2.3G1-V27	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
168	IgG2.3G1-V28	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

169	IgG2.3G1-AY-V9-D270E	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGDDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEEGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
170	IgG2.3G1-AY-V11	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGDDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSDEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
171	IgG2.5G1-AY-V9-D270E	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGDDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEEGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
172	IgG2.5G1-AY-V11	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGDDSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSDEDGEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPRPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
173	IgG1f-GASDALIE	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
174	IgG1f-G236A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0575]

175	IgG2.3G1-AY-G236A	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
176	IgG2.3G1-AY-GASDALIE	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
177	IgG2.5G1-AY-G236A	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLAGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
178	IgG2.5G1-AY-GASDALIE	STKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSN TKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLAGPDVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPLPEEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
179	IgG2.3G1.1f-AY	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
180	IgG2.3G1.3f-AY	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
181	IgG2.3G1-AY-D265A	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0576]

182	IgG2.3G1-AY-N297A	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
183	IgG2.5G1.1f-AY	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
184	IgG2.5G1.3f-AY	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
185	IgG2.5G1-AY-D265A	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
186	IgG2.5G1-AY-N297A	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYA STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
187	CT	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
188	CTf	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0577]

189	IgG2.3-CT	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVESPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
190	IgG2.5-CT	ASTKGPSVFPLAPSSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVESPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
191	IgG1fa-C226S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
192	IgG1fa-C229S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
193	IgG1fa-C226S,C229S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
194	IgG1fa-P238S	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
195	IgG1fa-C226A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTAPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0578]

196	IgG1fa-C229A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPAPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
197	IgG1fa-C226A,C229A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTAPPAPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
198	IgG1fa-P238K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGKSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
199	IgG2.3-R133K	ASTKGPSVFPLAPCSKSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
200	IgG2.3-E137G	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK PSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
201	IgG2.3-S138G	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSEGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK PSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
202	IgG2.3-E137G-S138G	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK PSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0579]

[0580]

203	IgG2.3-T214R	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKRVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
204	IgG2.3-R217P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVEPKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
205	IgG2.3-R217S	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVESKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
206	IgG2.3-V224A	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCAECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
207	IgG2.3-E225A	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVACPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
208	IgG2.3-R133A	ASTKGPSVFPLAPCSASTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
209	IgG2.3-E137D	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSDSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK PSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

210	IgG2.3-E137Q	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSQSTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHK PSNTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
211	IgG2.3-S138T	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSETTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
212	IgG2.3-S138E	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSEETAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
213	IgG2.3-E137A-S138I	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSAITAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
214	IgG2.3-E137I-S138A	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSIATAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
215	IgG2.3-R217G	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVEGKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
216	IgG2.3-R217A	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVEAKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK

[0581]

[0582]

217	IgG2.3-R217I	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVEIKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
218	IgG2.3-R217E	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVEEKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
219	IgG2.3-R217K	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVEKKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
220	IgG2.3-V224I	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCIECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
221	IgG2.3-E225D	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVDCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
222	IgG2-G4.1-G4-G4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
223	IgG4-G2.3-G2-G2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK

[0583]

224	IgG2-G4.1-G2-G2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
225	IgG4-G2.3-G4-G4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
226	IgG2-G2.3-G4-G4	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKSCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
227	IgG4-G4.1-G2-G2	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMH EALHNHYTQKSLSLSPGK
228	IgG4-G4.1-G1-G1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
229	IgG4.1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
230	IgG4.1-R214T	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKTVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK

231	IgG4.1-S217R	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVERKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
232	IgG4.1-S217P	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVEPKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSLGK
233	IgG1fa	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
234	IgG1.3fa	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AE**G**A**PSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
235	IgG1fa-P238K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG**K**SVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
236	IgG1.3fa-P238K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**AE**G**AK**SVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
237	IgG1fa-L235E-P238K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0584]

[0585]

238	IgG1fa-L235A-P238K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL**A**GG**K**SVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
239	IgG1fa-L235E-P238K-K322A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**A**VSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
240	IgG2.3	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
241	IgG2.3-P238K	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPPVAG**K**SVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
242	IgG2.3G1	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
243	IgG2.3G1-P238K	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPELLGG**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
244	IgG2.3G1-L235E-P238K	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

245	IgG2.5G1-P238K	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGG**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVD**G**VEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
246	hIgG1f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
247	hIgG1f-P238K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG**K**SVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
248	hIgG1.3f	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**A**E**G**APSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
249	hIgG1.3f-P238K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPE**A**E**G**A**K**SVFLFPPKPKDT LMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
250	hIgG1f-L235E-P238K	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
251	hIgG1f-L235E-P238K-K322A	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**A**VSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0586]

[0587]

252	IgG2.3G1.3f	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPE**A**E**G**A**P**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
253	IgG2.3G1.3f-P238K	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPE**A**E**G**A**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
244	IgG2.3G1-L235E-P238K	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
254	IgG2.3G1-L235E-P238K-K322A	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERK**S**CVECPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**A**VSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
255	IgG2.5	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
256	IgG2.5-P238K	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAG**K**SVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNST FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE ALHNHYTQKSLSLSPGK
257	IgG2.5G1	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0588]

258	IgG2.5G1-P238K	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPELLGG**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
259	IgG2.5G1.3f	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPE**AE**G**A**PSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
260	IgG2.5G1.3f-P238K	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPE**AE**G**AK**SVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGK
261	IgG2.5G1-L235E-P238K	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
262	IgG2.5G1-L235E-P238K-K322A	ASTKGPSVFPLAP**S**SRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPS NTKVDKTVERKCCVECPPCPAPEL**E**GG**K**SVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC**A**VSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
263	3h56-269-IgG4.1 또는 BMS-986090	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLER VSA INPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLP FRFSDRGQGTLVTVSSASTESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL D SDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

264	3h56-269-CT	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLER VSA INPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKLP FRFSDRGQGTLVTVSSASTEPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP P VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
265	3h56-269-IgG1.1f	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLER VSAINPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKLPFRFSDRGQGTLVTVSSASTEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
266	3h56-269-IgG1.3f	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLER VSAINPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKLPFRFSDRGQGTLVTVSSASTEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
267	3h56-269-IgG1-D265A	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYEMWWVRQAPGKGLER VSAINPQGTRTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC AKLPFRFSDRGQGTLVTVSSASTEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
268	1F4 중쇄 가변 영역 및 CH1	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSL QMNSLRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRV
269	1F4 경쇄 가변 영역 및 CL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSISSSYLAWYQQKPG QAPRLLIYGASSRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDF AVYYCQQYGSSPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQ LKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESV TEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSS PVTKSFNRGEC

[0589]

270	1F4-IgG1f 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSL QMNSLRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
271	1F4-IgG4.1 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSL QMNSLRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT YTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSV FLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSLG
272	1F4-IgG1.1f 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSL QMNSLRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGA PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG
273	1F4-IgG1.3f 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSL QMNSLRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEGA PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPG

[0590]

274	1F4-D265A 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQA GKGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSL QMNSLRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
275	1F4-CT 중쇄	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSIYAMSWVRQA PGKGLEWVSAISDSGGRTYFADSVRGRFTISRDNSKNTLSL QMNSLRAEDTAVYYCAKVDYSNYLFFDYWGQGTLVTVS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT YICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGS SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK

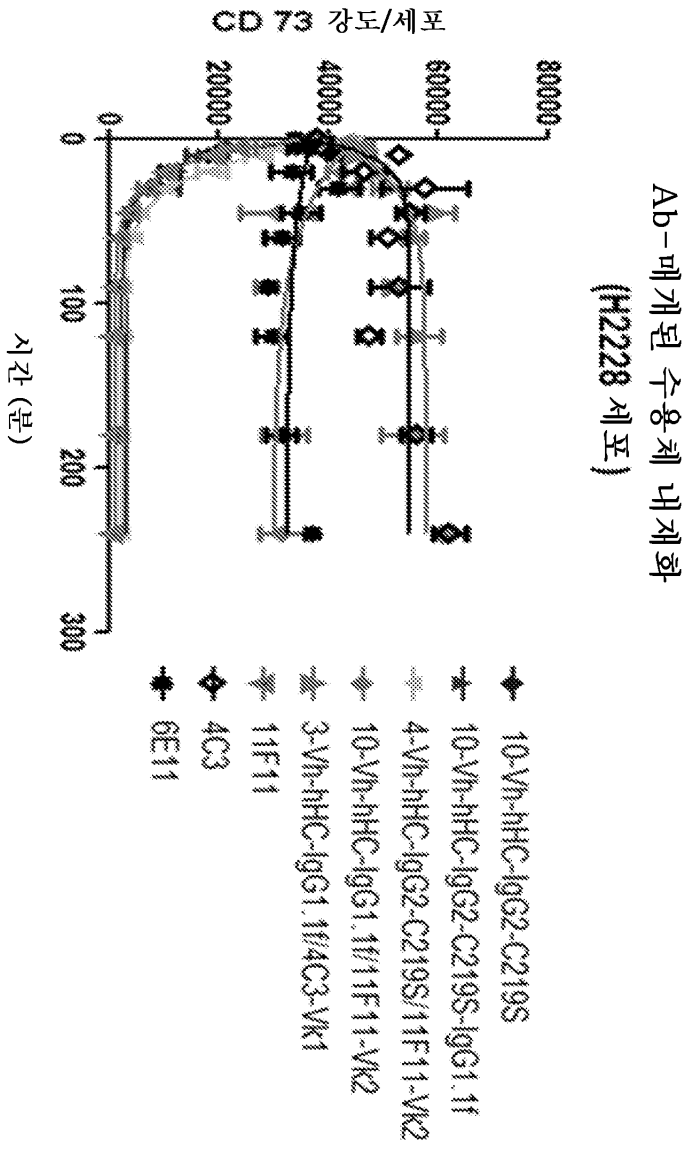
[0591]

[0592] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 상용에 지나지 않는 실험을 사용하여 본원에 기재된 구체적 실시양태의 많은

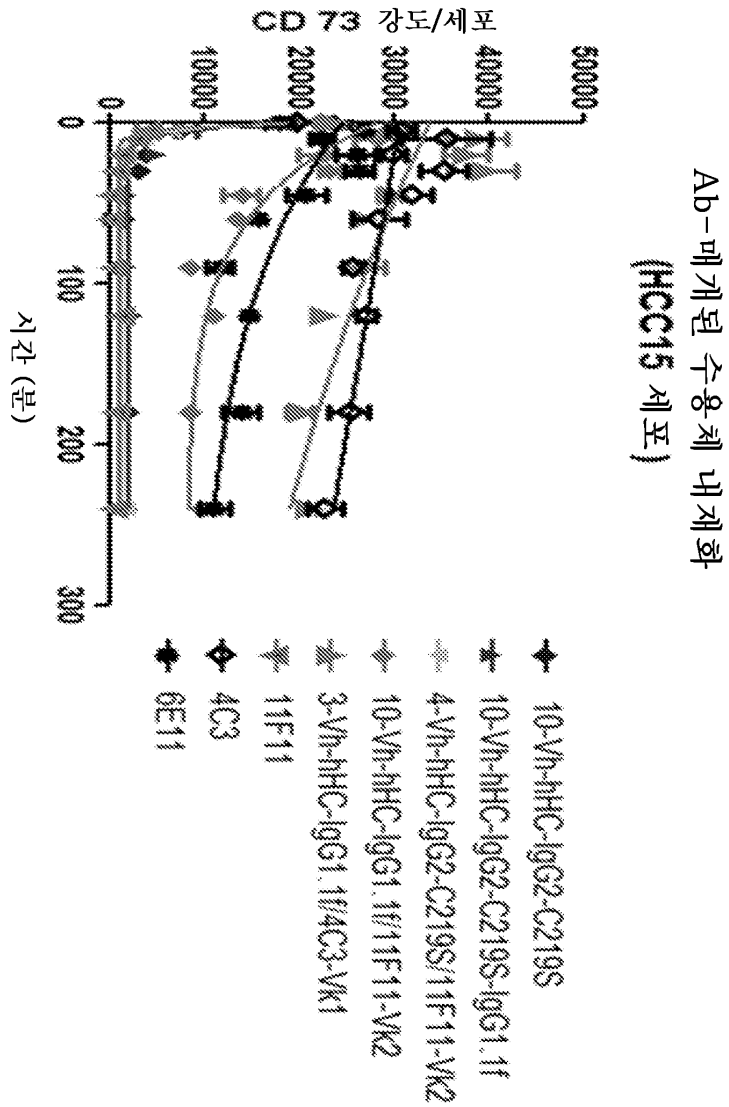
등가물을 인식하거나 그를 확인할 수 있을 것이다. 이러한 등가물은 하기 청구범위에 포괄되는 것으로 의도된다.

도면

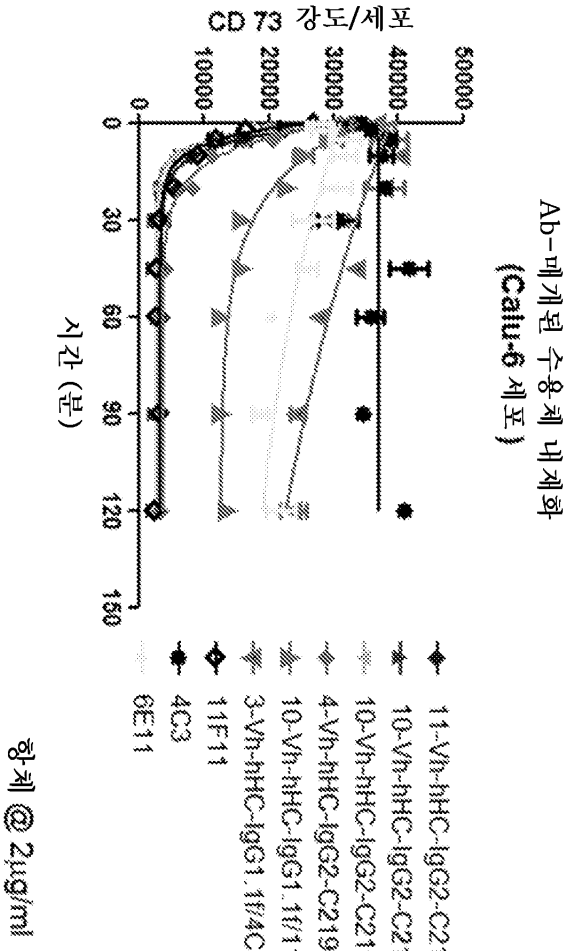
도면1a



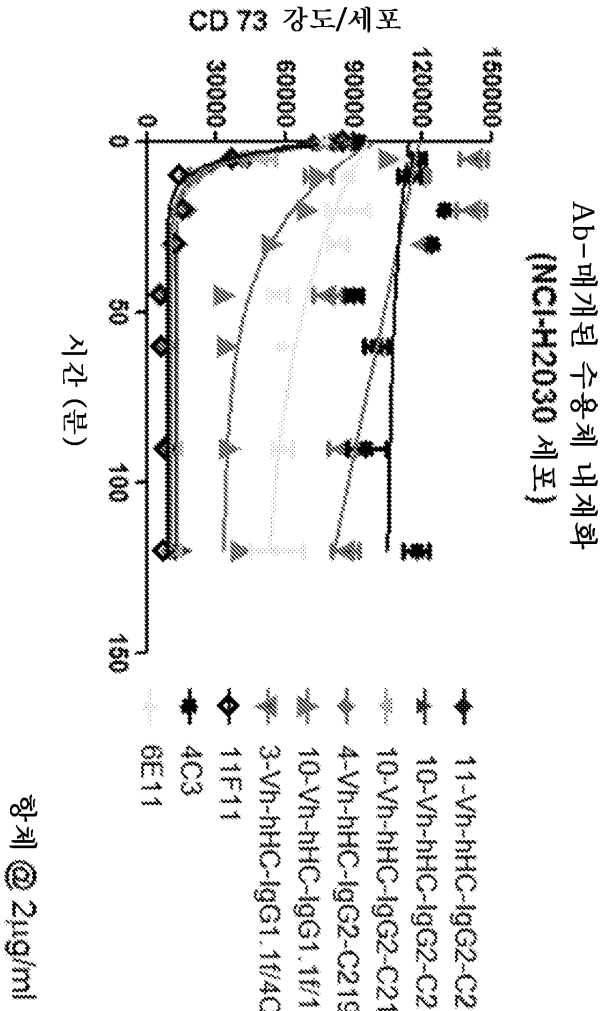
도면1b


Ab-매개된 수용체 내재화
(HCC15 세포)
CD 73 강도/세포
0
10000
20000
30000
40000
50000
0
100
200
300
시간 (분)
10-Vh-hHC-IgG2-C219S
10-Vh-hHC-IgG2-C219S-IgG1.1f
4-Vh-hHC-IgG2-C219S/11F11-Vk2
10-Vh-hHC-IgG1.1f/11F11-Vk2
3-Vh-hHC-IgG1.1f/4C3-Vk1
11F11
4C3
6E11

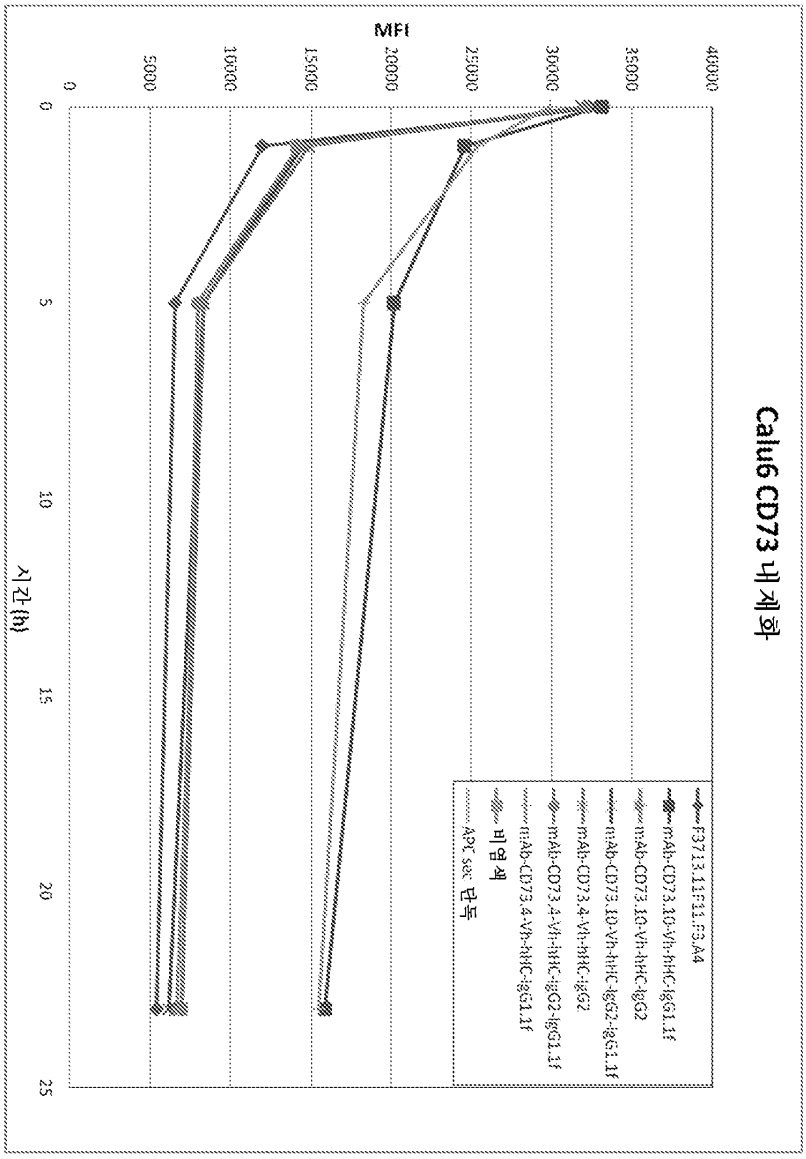
도면1c


Ab-매개된 수용체 내재화
(Calu-6 세포)
CD 73 강도/세포
50000
40000
30000
20000
10000
0
0
30
60
90
120
150
시간 (분)
11-Vh-hHC-IgG2-C219S
10-Vh-hHC-IgG2-C219S
10-Vh-hHC-IgG2-C219S-IgG1.1f
4-Vh-hHC-IgG2-C219S/11F11-Vk2
10-Vh-hHC-IgG1.1f/11F11-Vk2
3-Vh-hHC-IgG1.1f/4C3-Vk1
11F11
4C3
6E11
항체 @ 2μg/ml

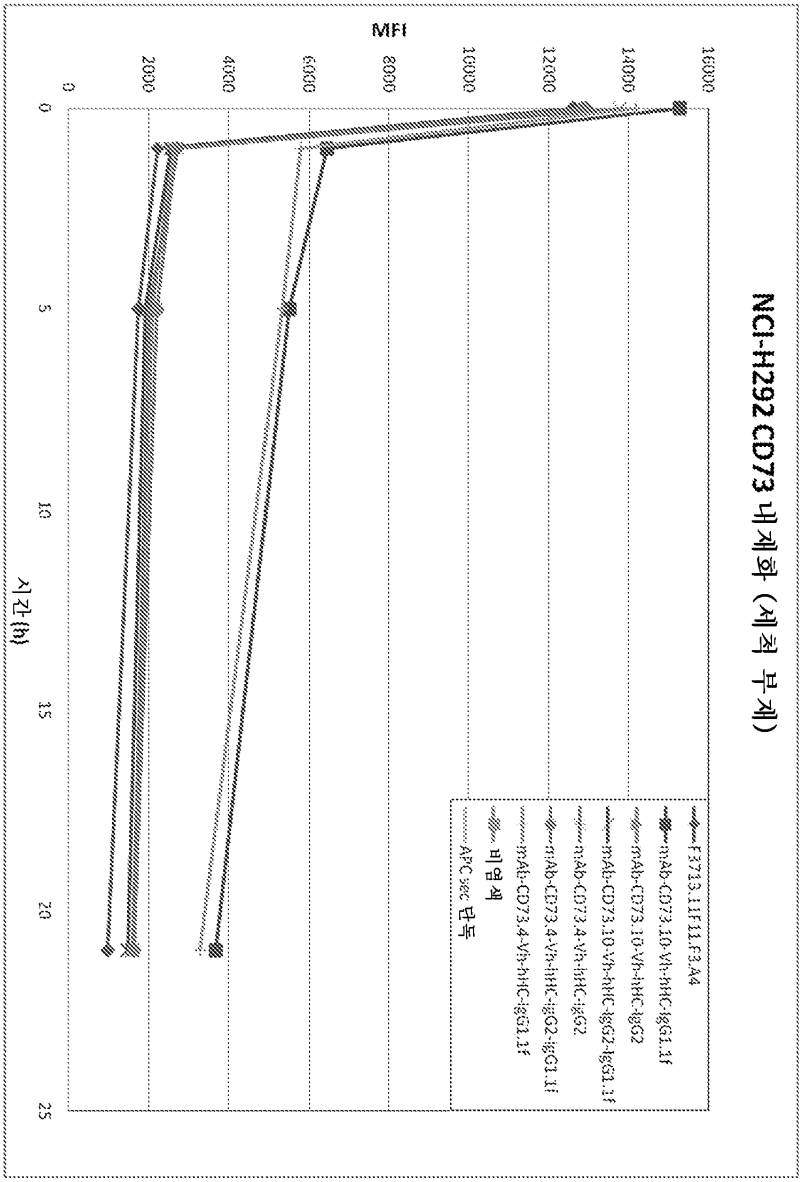
도면1d


Ab-매개된 수용체 내재화
(NCI-H2030 세포)
CD 73 강도/세포
150000
120000
90000
60000
30000
0
0
50
100
150
시간 (분)
항체 @ 2μg/ml
11-Vh-hHC-IgG2-C219S
10-Vh-hHC-IgG2-C219S
10-Vh-hHC-IgG2-C219S-IgG1.1f
4-Vh-hHC-IgG2-C219S/11F11-Vk2
10-Vh-hHC-IgG1.1f/11F11-Vk2
3-Vh-hHC-IgG1.1f/4C3-Vk1
11F11
4C3
6E11

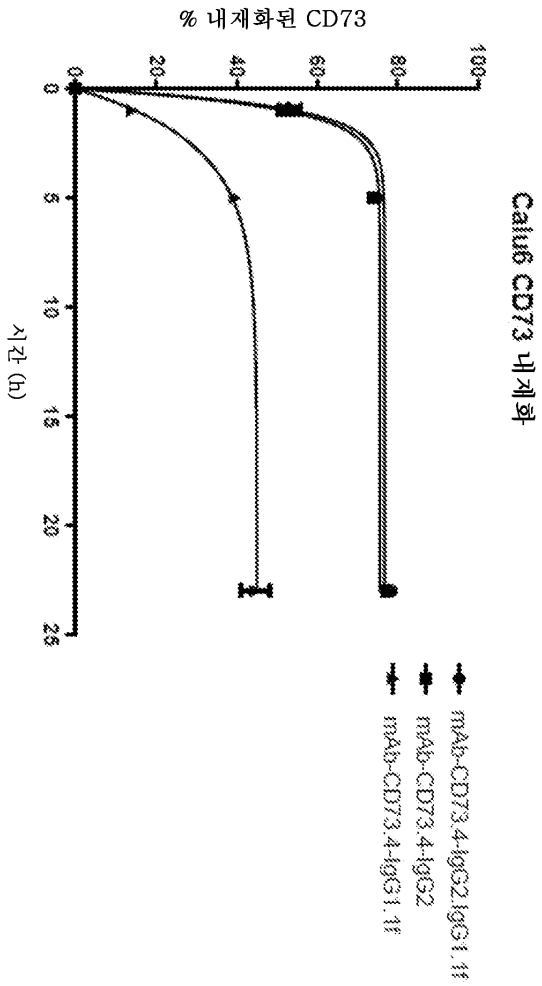
도면1e


Calu6 CD73 내재화
MFI
시간(h)
F313.11.F11.F3.A4
mAb-CD73.10-VH-hHC-IgG1.1f
mAb-CD73.10-VH-hHC-IgG2
ni:Ab-CD73.10-VH-hHC-IgG2-IgG1.1f
mAb-CD73.4-VH-hHC-IgG2
mAb-CD73.4-VH-hHC-IgG2-IgG1.1f
ni:Ab-CD73.4-VH-hHC-IgG1.1f
비염색
APC set 단독

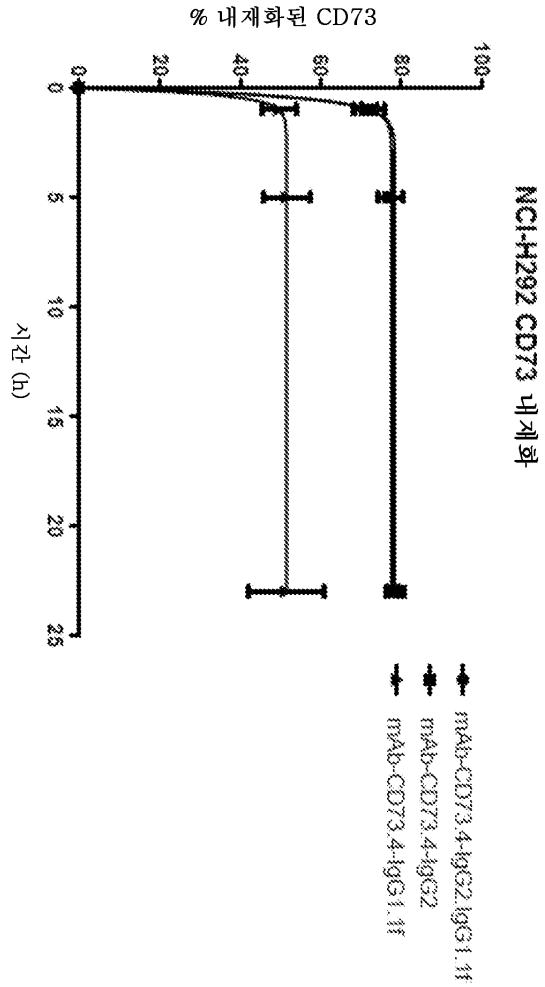
도면1f


NCI-H292 CD73 내재화 (세척 부재)
MFI
16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
0
5
10
15
20
25
시간 (h)
F3713.11F11.F3.A4
mAb-CD73.10-Vh-hHC-hIgG1.1f
mAb-CD73.10-Vh-hHC-IgG2
mAb-CD73.10-Vh-hHC-IgG2-IgG1.1f
mAb-CD73.4-Vh-hHC-IgG2
mAb-CD73.4-Vh-hHC-IgG2-IgG1.1f
mAb-CD73.4-Vh-hHC-IgG1.1f
비 염색
APC 488 단독

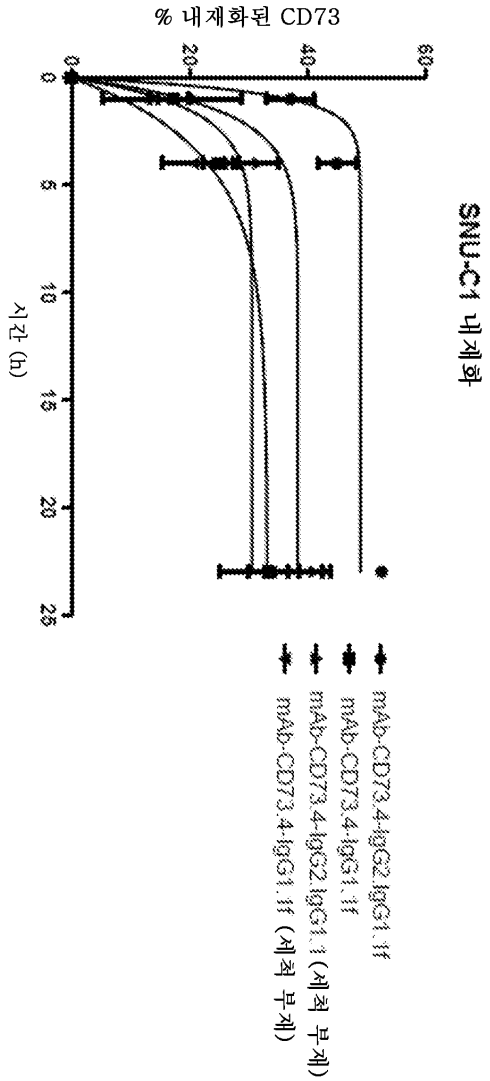
도면1g


% 내재화된 CD73
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25
시간 (h)
Calu6 CD73 내재화
mAb-CD73.4-IgG2.IgG1.1f
mAb-CD73.4-IgG2
mAb-CD73.4-IgG1.1f

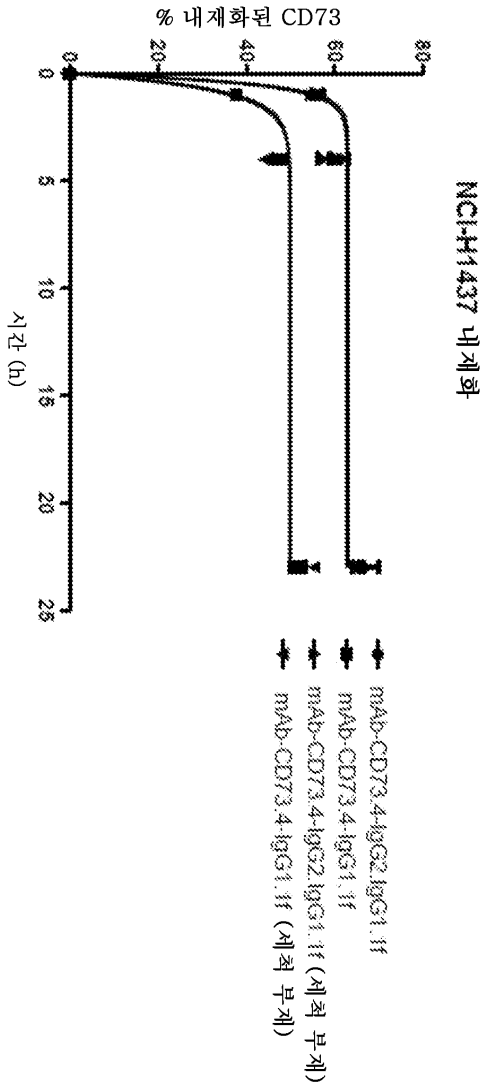
도면1h


% 내재화된 CD73
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25
시간 (h)
NCI-H292 CD73 내재화
mAb-CD73.4-IgG2.IgG1.1f
mAb-CD73.4-IgG2
mAb-CD73.4-IgG1.1f

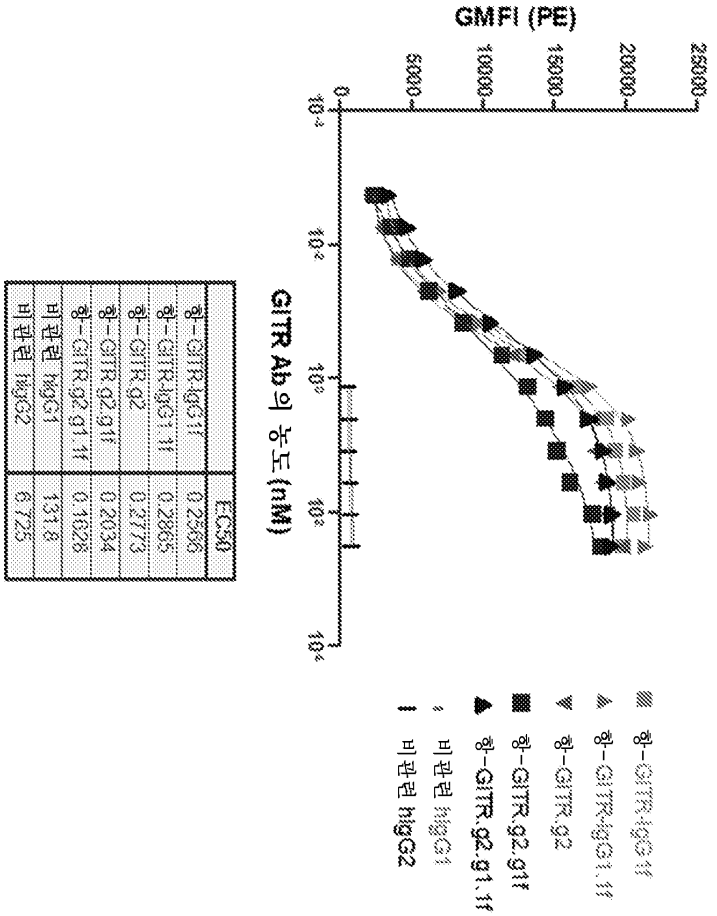
도면1i


% 내재화된 CD73
0
20
40
60
0
5
10
15
20
25
시간 (h)
SNU-C1 내재화
mAb-CD73.4-IgG2.IgG1.1f
mAb-CD73.4-IgG1.1f
mAb-CD73.4-IgG2.IgG1.1 (세척 부재)
mAb-CD73.4-IgG1.1f (세척 부재)

도면1j

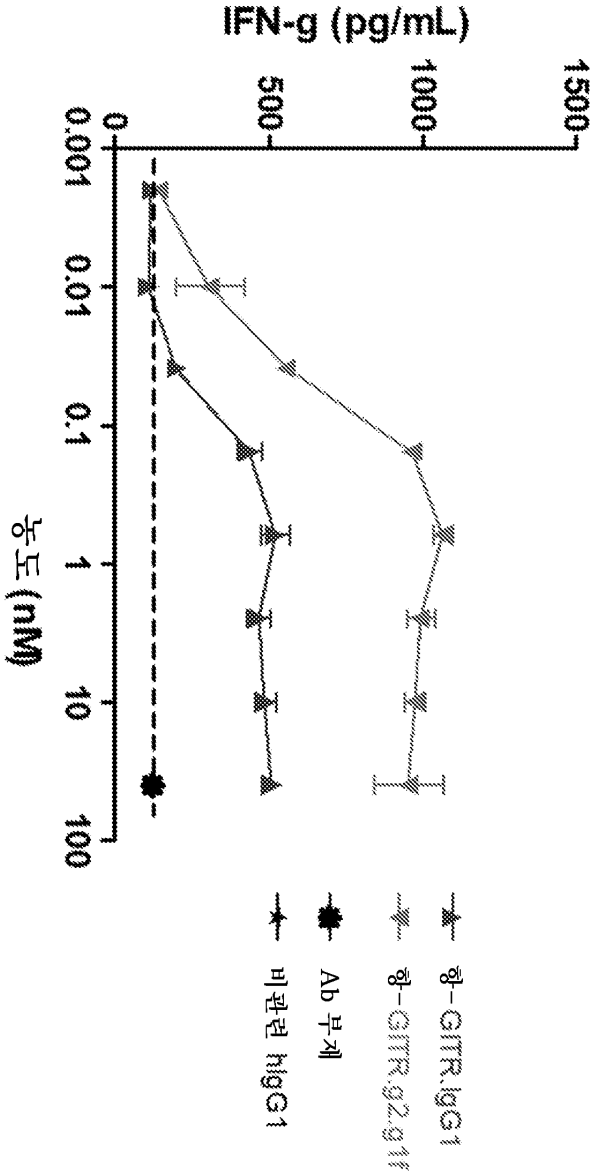

% 내재화된 CD73
0
20
40
60
80
0
5
10
15
20
25
시간 (h)
NCI-H1437 내재화
mAb-CD73.4-IgG2.IgG1.1f
mAb-CD73.4-IgG1.1f
mAb-CD73.4-IgG2.IgG1.1f (세척 부재)
mAb-CD73.4-IgG1.1f (세척 부재)

도면2



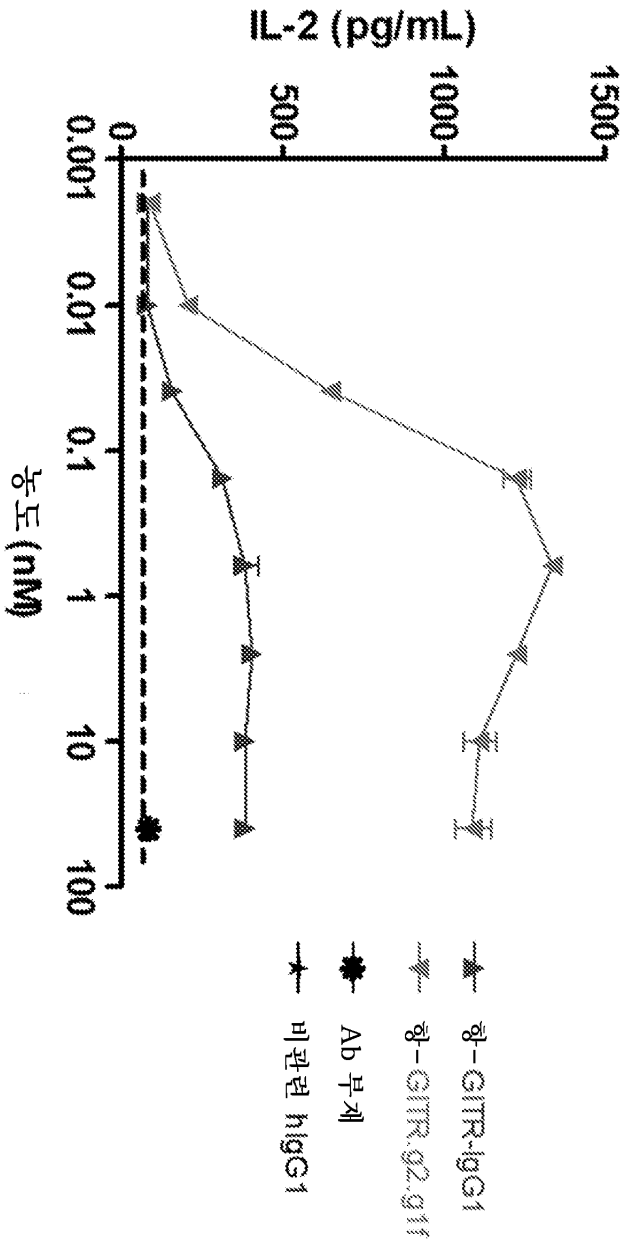
	EC50
항-GITR.hIgG1f	0.2330
항-GITR.hIgG1.1f	0.2665
항-GITR.g2	0.2773
항-GITR.g2.g1f	0.2034
항-GITR.g2.g1.1f	0.1026
비관련 hIgG1	131.8
비관련 hIgG2	6.725

도면3a



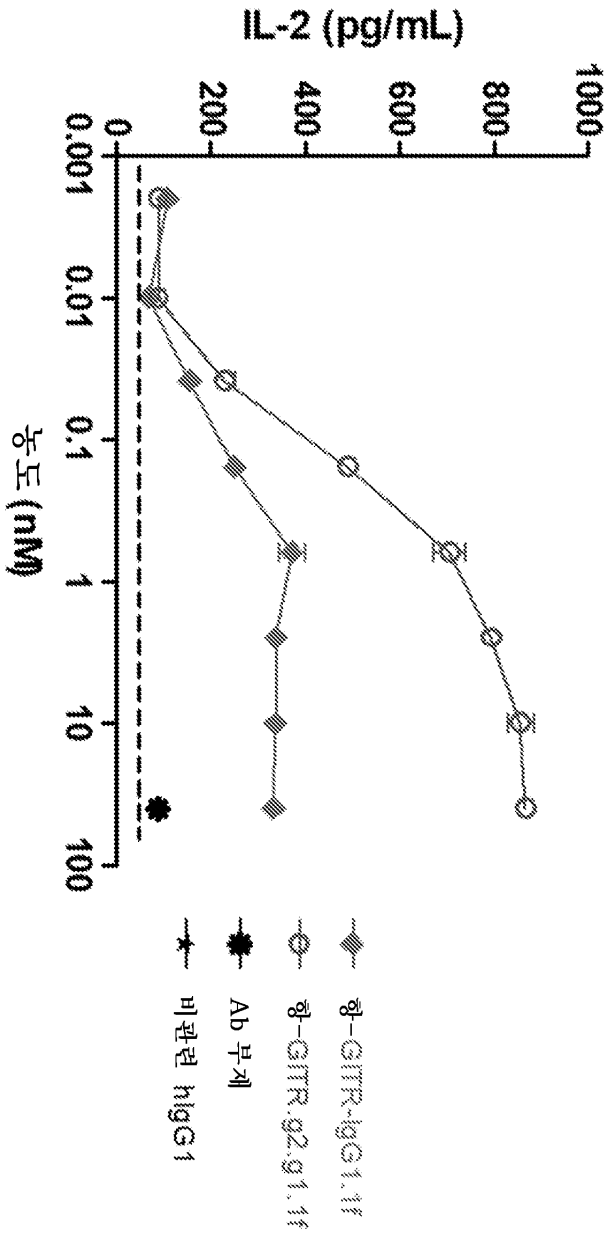
OKT3-발현 CHO 세포로 자극된 CD4 T 세포 - 공여자#2에 의한 IFN-g 분비에 대한 GITR Ab

도면3b



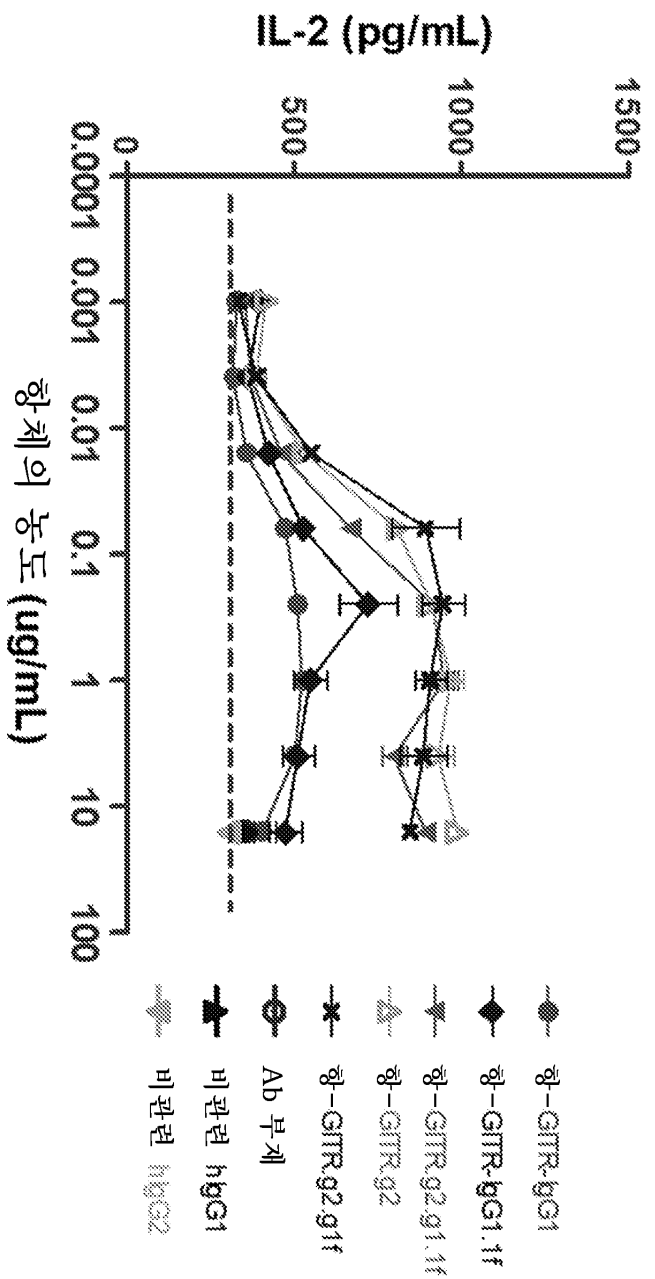
OKT3 발현 CHO 세포로 자극된 CD4 T 세포 - 공여자#3에 의한 IL-2 분비에 대한 GITR Ab

도면3c

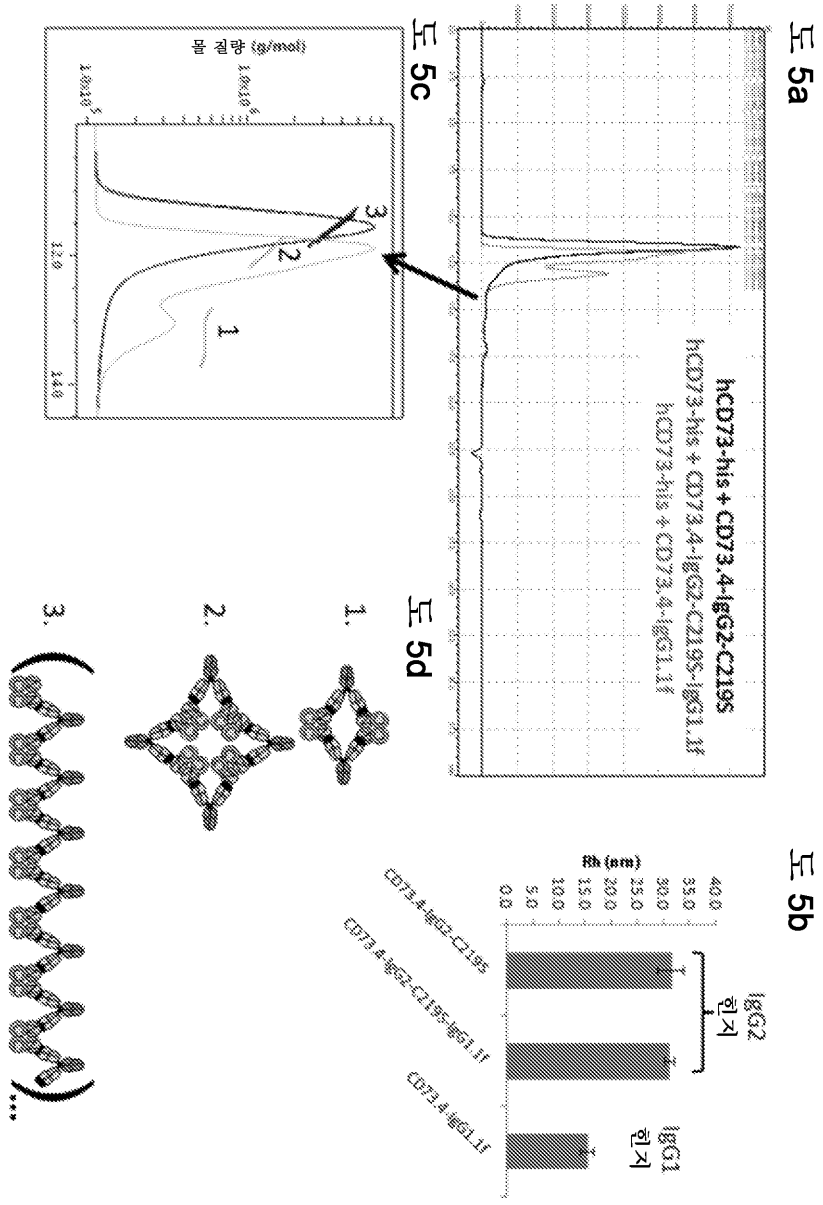


OKT3 발현 CHO 세포로 자극된 CD4 T 세포 – 공여자#3에 의한 IL-2 분비에 대한 GITR Ab

도면4


IL-2 (pg/mL)
0
500
1000
1500
항체의 농도 (ug/mL)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
항-GITR-hG1
항-GITR-hG1.1f
항-GITR.g2.g1.1f
항-GITR.g2
항-GITR.g2.g1f
Ab 부재
비관련 hgG1
비관련 hIgG2

도면5


도 5a
hCD73-his + CD73.4-IgG2-C219S
hCD73-his + CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f
hCD73-his + CD73.4-IgG1.1f
도 5c
몰 질량 (g/mol)
1
2
3
도 5d
1.
2.
3.
도 5b
Rh (nm)
CD73.4-IgG2-C219S
CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f
CD73.4-IgG1.1f
IgG2 힌지
IgG1 힌지

도면6

CD73/mAb 복합체에 대한 SEC-MALS 데이터

					UV 용리 시간 (분)				SEC UV 적분 (%)				MW (kDa)			
표적	mAb	몰비	[표적] (uM)	[mAb] (uM)	피크 1	피크 2	피크 3	피크 4	피크 1	피크 2	피크 3	피크 4	피크 1	피크 2	피크 3	피크 4
	CD73.10-IgG1.1f	0:1		4	~2.0	~14.0	~17.3		0.3	0.3	99.4		n/a	62	140	
	CD73.10-IgG2-C219S	0:1		4	~2.0	~17.5			0.1	99.5			73	150		
	CD73.3-IgG1.1f	0:1		4	~15.3				100.0				150			
	11F11-Fab	0:1		8	~2.0	~17.7	~20.2		0.8	0.6	98.7		n/a	19	47	
hCD73-his		1:0	4		~17.1	~18.4			2.8	97.2			280	120		
N-hCD73-his		1:0	8		~19.3				100.0				38			
hCD73-his	CD73.10-IgG1.1f	1:1	4	4	~11.7	~12.7	~16.9		34.2	67.2	3.0		1100	540	180	
hCD73-his	CD73.10-IgG2-C219S	1:1	4	4	~10.3	~11.1			6.4	93.3			110000	3400		
hCD73-his	CD73.3-IgG1.1f	1:1	4	4	~12.0	~13.0	~14.8		17.5	78.3	4.0		960	530	250	
hCD73-his	11F11-Fab	1:2	4	8	~12.6	~14.7	~16.8	~20.1	0.9	90.7	0.8	7.7	300	310	85	40
N-hCD73-his	CD73.10-IgG1.1f	2:1	8	4	~14.6	~17.1			86.5	13.5			210	140		
N-hCD73-his	CD73.10-IgG2-C219S	2:1	8	4	~14.7	~17.3			87.1	12.9			210	150		
N-hCD73-his	CD73.3-IgG1.1f	2:1	8	4	~15.3	~16.2	~19.3		6.4	68.7	24.9		170	160	42	
N-hCD73-his	11F11-Fab	1:1	8	8	~17.4	~20.0			95.3	4.7			84	44		
hCD73		1:0	2.5	0	~16.9				100.0				120			
hCD73	CD73.4-하이브리드	1:0.25	2.5	0.625	~11.8	~13.4	~17.1		42.0	21.6	36.4		1200	520	120	
hCD73	CD73.4-하이브리드	1:0.5	2.5	1.25	~11.7	~13.4	~17.1		71.9	15.8	13.4		1900	540	130	
hCD73	CD73.4-하이브리드	1:1	2.5	2.5	~11.5	~13.4	~17.1		95.3	1.9	2.8		3300	1000	530	
hCD73	CD73.4-하이브리드	1:2	2.5	5	~11.7	~13.4	~15.3	~17.1	52.5	17.7	0.6	29.3	1700	500	220	140
hCD73	CD73.4-하이브리드	1:4	2.5	10	~11.7	~13.4	~15.3	~17.1	24.1	16.2	1.2	58.6	1300	500	200	140
hCD73		1:0	2.5	0	~16.9	~18.2			97.6	2.4			120	73		
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:0.25	2.5	0.625	~12.3	~13.1	~17.1		11.8	49.5	38.6		830	530	120	
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:0.5	2.5	1.25	~12.3	~13.1	~17.1		31.1	54.8	3.3	10.7	890	540	120	81
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	2.5	2.5	~12.1	~12.3	~13.1	~17.0	55.2	44.5	2.1	2.2	1100	560	280	160
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:2	2.5	5	~12.3	~13.1	~15.3	~17.0	22.3	44.1	2.8	30.7	910	530	210	140
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:4	2.5	10	~12.3	~13.2	~15.3	~17.0	9.1	31.0	2.4	57.4	810	510	200	140
N-hCD73	CD73.4-하이브리드	1:1	5	2.5	~13.9	~14.7	~15.9	~17.0	0.7	88.3	8.1	2.8	390	210	180	150
N-hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	5	2.5	~13.4	~14.7			1.7	98.3			360	210		
	CD73.4-하이브리드	0:1	0	5	~15.9	~16.9			0.4	99.6			290	140		
	CD73.4-IgG1.1f	0:1	0	5	~14.2	~15.9	~17.1		0.6	1.2	98.2		51	120	140	
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S	1:1	2.5	2.5	~11.5	~13.4	~17.3		95.0	2.1	2.8		3400	970	480	
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	2.5	2.5	~11.5	~13.4	~17.3		94.7	2.3	3.0		3600	1100	580	
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	2.5	2.5	~11.7	~13.0	~15.1	~17.0	60.0	35.3	2.3	2.5	1300	550	270	160
hCD73	CD73.10-IgG2-C219S	1:1	2.5	2.5	~11.8	~16.9			96.2	3.2			2000	310		
hCD73	CD73.10-IgG2CS-1.1	1:1	2.5	2.5	~11.8	~16.9			96.6	2.5	0.9		2000	320	390	
hCD73	CD73.10-IgG1.1f	1:1	2.5	2.5	~12.1	~13.0	~16.5		35.1	62.1	2.7		1200	530	170	
hCD73		1:0	2.5	0	~17.3	~18.4			97.2	2.8			120	60		
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	5	5	~11.5	~13.4	~17.3		93.9	2.6	3.5		2800	1300	740	
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	1	1	~11.5	~13.4	~15.0	~17.3	84.4	7.6	2.5	5.4	2500	660	460	240

* 몰 농도는 N-hCD73 단량체, 11F11-Fab 단량체, hCD73-his 이량체 및 (2가) mAb로 규정됨.

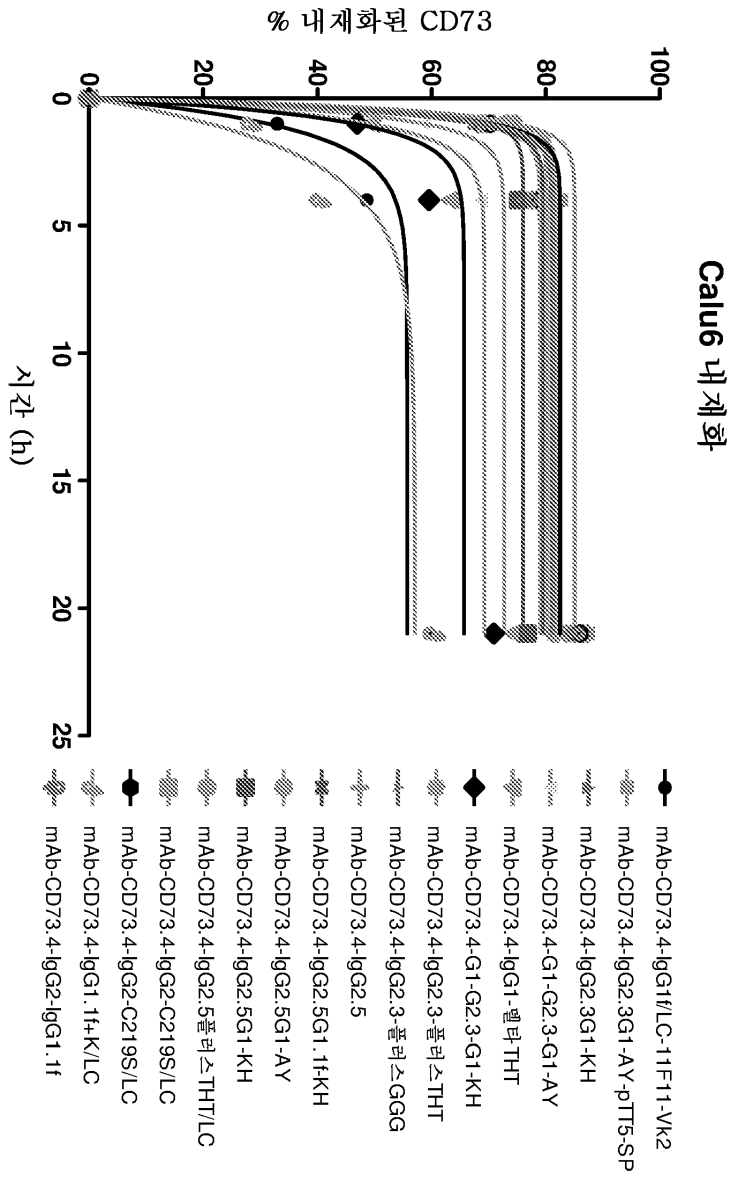
도면7

CD73/mAb 복합체에 대한 DLS 데이터:

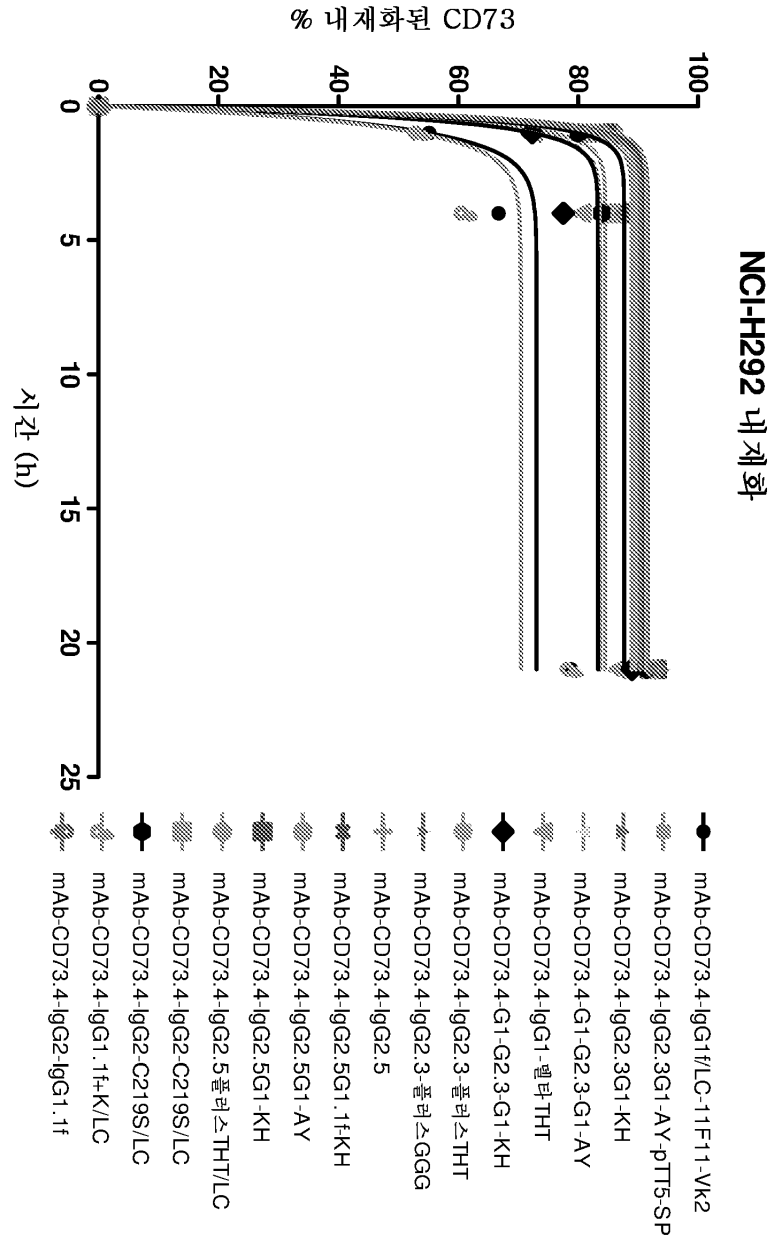
표적	mAb	몰비	[표적] (uM)	[mAb] (uM)	Rh	Rh SD	%PD	C1s %PD SD	% 집합	% 집합 SD
	CD73.1D-IgG1.1f	0:1		4	5.0	0.6	11.0	6.0	100.0	0.0
	CD73.1D-IgG2-C219S	0:1		4	5.7	0.3	11.9	7.3	100.0	0.0
	CD73.3-IgG1.1f	0:1		4	5.1	0.5	11.6	6.9	100.0	0.0
hCD73-his	11F11-Fab	0:1		8	3.4	0.2	22.0	5.3	100.0	0.1
hCD73-his		1:0	4		2.3	0.3	10.6	5.2	99.5	0.2
M-hCD73-his		1:0	8		2.3	0.2	19.3	17.3	99.9	0.2
hCD73-his	CD73.1D-IgG1.1f	1:1	4	4	12.8	0.7	32.4	6.7	100.0	0.0
hCD73-his	CD73.1D-IgG2-C219S	1:1	4	4	2.9	1.5	7.5	0.8	73.9	11.5
hCD73-his	CD73.3-IgG1.1f	1:1	4	4	10.8	0.1	28.2	0.6	100.0	0.0
hCD73-his	11F11-Fab	1:2	4	8	6.4	0.1	15.1	4.3	100.0	0.0
M-hCD73-his	CD73.1D-IgG1.1f	2:1	8	4	8.6	0.3	15.3	6.5	100.0	0.0
M-hCD73-his	CD73.1D-IgG2-C219S	2:1	8	4	6.5	0.2	15.7	5.7	100.0	0.1
M-hCD73-his	CD73.3-IgG1.1f	2:1	8	4	5.8	0.3	12.8	5.3	100.0	0.0
M-hCD73-his	11F11-Fab	1:1	8	8	4.2	0.1	12.6	4.7	100.0	0.0
hCD73		1:0	2.5	0	2.5	0.1	12.3	4.3	99.5	0.7
hCD73	CD73.4-에이브리트	1:0.25	2.5	0.625	13.2	1.7	46.5	5.9	99.9	0.1
hCD73	CD73.4-에이브리트	1:2.5	2.5	1.25	17.5	1.0	31.7	8.8	62.6	25.8
hCD73	CD73.4-에이브리트	1:1	2.5	2.5	29.9	1.0	25.1	7.1	21.3	4.9
hCD73	CD73.4-에이브리트	1:2	2.5	5	14.4	0.1	31.3	5.2	68.7	25.8
hCD73	CD73.4-에이브리트	1:4	2.5	10	11.8	0.9	42.9	3.5	99.2	17.5
hCD73		1:0	2.5	0	4.7	0.1	18.6	3.3	99.8	0.1
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:0.25	2.5	0.625	10.4	1.5	35.6	15.9	51.3	37.1
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:2.5	2.5	1.25	12.9	0.6	35.5	5.4	88.3	23.2
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	2.5	2.5	14.7	0.5	34.3	3.9	100.0	0.0
hCD75	CD73.4-IgG1.1f	1:2	2.5	5	11.6	0.4	24.5	8.5	65.0	32.5
hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:4	2.5	10	8.1	4.0	33.0	15.9	54.2	31.7
M-hCD73	CD73.4-에이브리트	1:1	5	2.5	6.7	0.3	13.0	7.2	100.0	0.0
M-hCD73	CD73.4-IgG1.1f	1:1	5	2.5	6.5	0.1	7.4	3.2	100.0	0.0
	CD73.4-에이브리트	0:1	0	5	5.4	0.2	15.7	5.7	99.3	0.1
	CD73.4-IgG1.1f	0:1	0	5	5.3	0.4	13.6	7.9	100.0	0.0
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S	1:1	2.5	2.5	31.7	2.4	31.6	11.4	19.3	12.2
hCD75	CD73.4-IgG1.1f	1:1	2.5	2.5	31.2	0.9	30.8	3.8	17.5	11.4
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S	1:1	2.5	2.5	15.6	1.2	32.7	8.5	100.0	0.2
hCD73	CD73.1D-IgG2-C219S	1:1	2.5	2.5	23.9	1.2	25.7	4.4	35.3	5.3
hCD73	CD73.1D-IgG2CCS-1.1	1:1	2.5	2.5	25.6	2.3	30.1	8.5	35.9	9.1
hCD73	CD73.1D-IgG1.1f	1:1	2.5	2.5	13.5	1.7	31.6	12.0	33.2	31.5
hCD73		1:0	2.5	0	2.2	0.3	24.4	12.5	99.1	0.7
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	5	2.5	3.8	0.3	35.2	13.9	6.7	4.4
hCD73	CD73.4-IgG2-C219S-IgG1.1f	1:1	1	0.5	25.5	3.2	32.9	2.5	60.7	27.5

*표 농도는 N-hCD73 단량체, 11F11-Fab 단량체, hCD73-his 이량체 및 (2가) mAb로 규정됨.

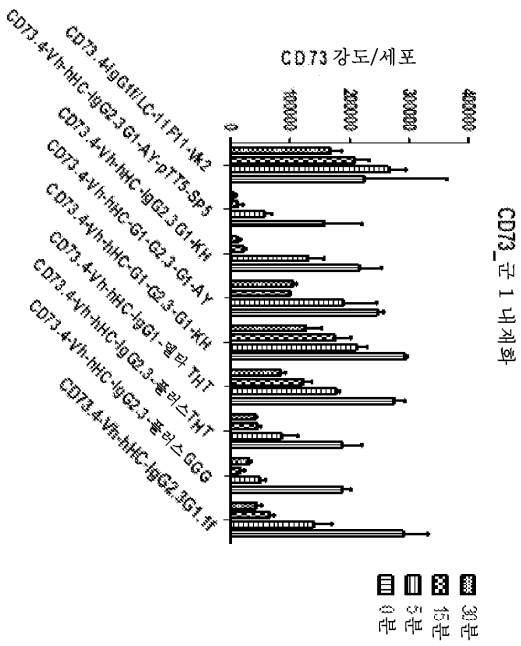
도면8a

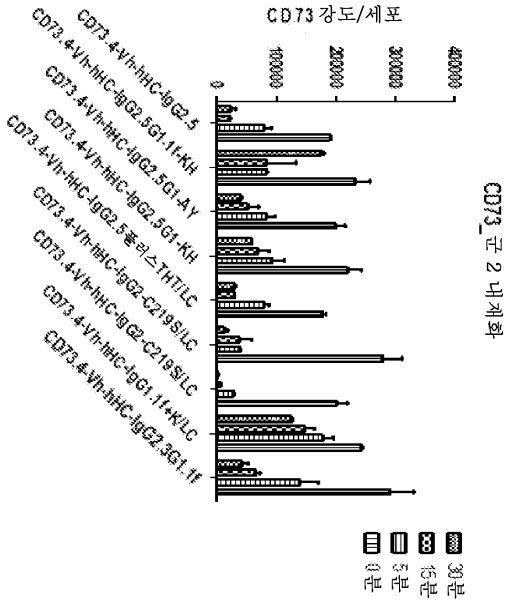

% 내재화된 CD73
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25
시간 (h)
Calu6 내재화
mAb-CD73.4-IgG1f/LC-11F11-Vk2
mAb-CD73.4-IgG2.3G1-AY-pTT5-SP
mAb-CD73.4-IgG2.3G1-KH
mAb-CD73.4-G1-G2.3-G1-AY
mAb-CD73.4-IgG1-엘타 THT
mAb-CD73.4-G1-G2.3-G1-KH
mAb-CD73.4-IgG2.3-폴리스THT
mAb-CD73.4-IgG2.3-폴리스GGG
mAb-CD73.4-IgG2.5
mAb-CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH
mAb-CD73.4-IgG2.5G1-AY
mAb-CD73.4-IgG2.5G1-KH
mAb-CD73.4-IgG2.5폴리스 THT/LC
mAb-CD73.4-IgG2-C219S/LC
mAb-CD73.4-IgG2-C219S/LC
mAb-CD73.4-IgG1.1f+K/LC
mAb-CD73.4-IgG2-IgG1.1f

도면8b

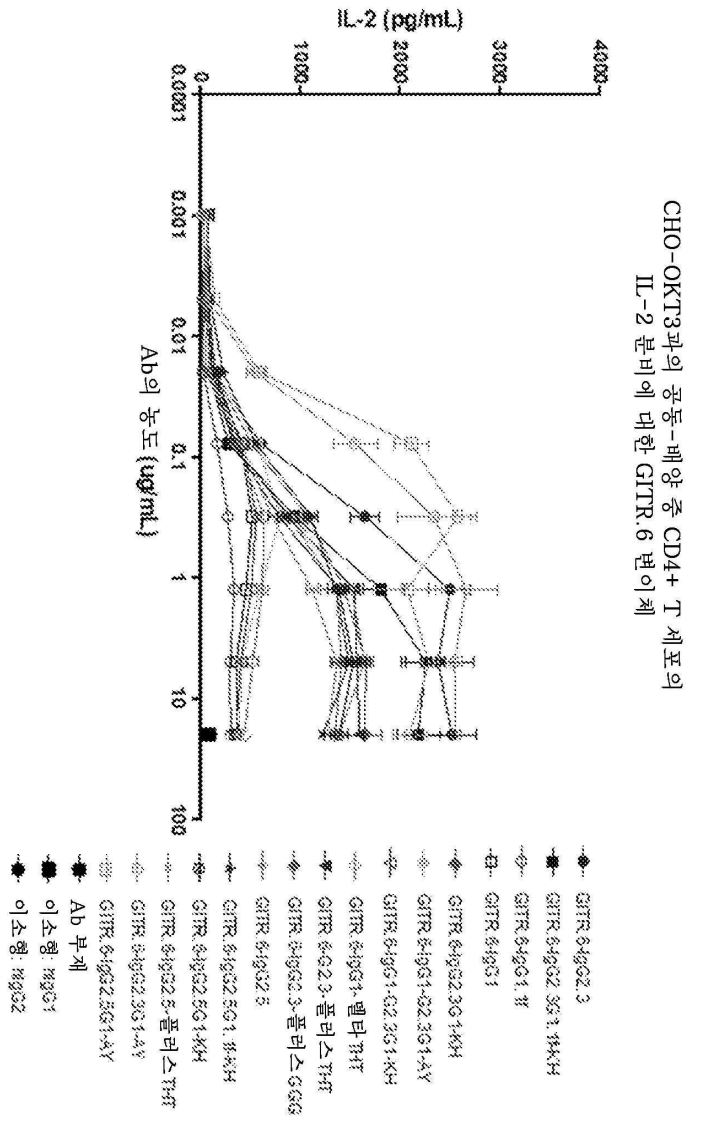

NCI-H292 내재화
% 내재화된 CD73
시간 (h)
0
20
40
60
80
100
0
5
10
15
20
25
mAb-CD73.4-IgG1f/LC-11F11-Vk2
mAb-CD73.4-IgG2.3G1-AY-pTT5-SP
mAb-CD73.4-IgG2.3G1-KH
mAb-CD73.4-G1-G2.3-G1-AY
mAb-CD73.4-IgG1-펠타THT
mAb-CD73.4-G1-G2.3-G1-KH
mAb-CD73.4-IgG2.3-폴리스THT
mAb-CD73.4-IgG2.3-폴리스GGG
mAb-CD73.4-IgG2.5
mAb-CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH
mAb-CD73.4-IgG2.5G1-AY
mAb-CD73.4-IgG2.5G1-KH
mAb-CD73.4-IgG2.5폴리스 THT/LC
mAb-CD73.4-IgG2-C219S/LC
mAb-CD73.4-IgG2-C219S/LC
mAb-CD73.4-IgG1.1f+K/LC
mAb-CD73.4-IgG2-IgG1.1f

도면8c

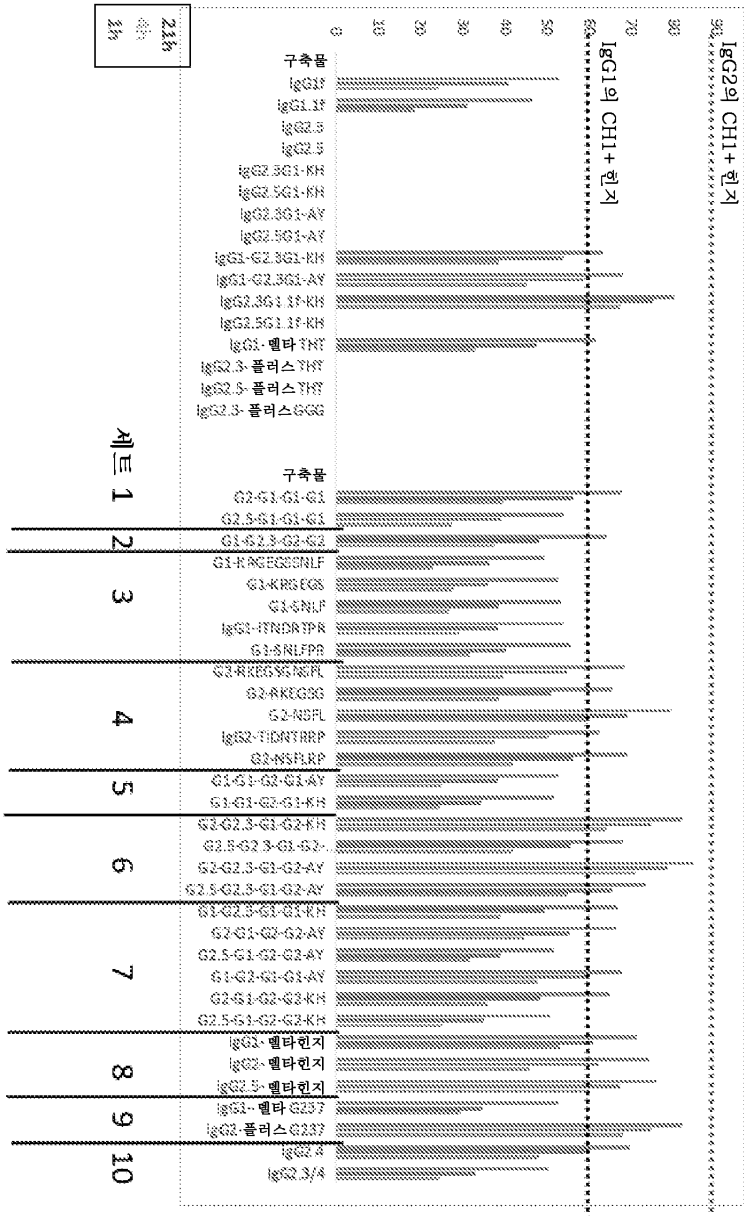

CD73 강도/세포
0
100000
200000
300000
400000
CD73_군 1 내재화
CD73.4-IgG1f/LC-11F11-Vk2
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3G1-AY-pTT5-Sp5
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3G1-KH
CD73.4-Vh-hHC-G1-G2.3-G1-AY
CD73.4-Vh-hHC-G1-G2.3-G1-KH
CD73.4-Vh-hHC-IgG1-델타 THT
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3-폴리스THT
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3-폴리스GGG
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3G1.1f
0분
5분
15분
30분


CD73 강도/세포
0
100000
200000
300000
400000
CD73_군 2 내재화
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1.1f-KH
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1-AY
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5G1-KH
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.5폴리스THT/LC
CD73.4-Vh-hHC-IgG2-C219S/LC
CD73.4-Vh-hHC-IgG2-C219S/LC
CD73.4-Vh-hHC-IgG1.1f+K/LC
CD73.4-Vh-hHC-IgG2.3G1.1f
0분
5분
15분
30분

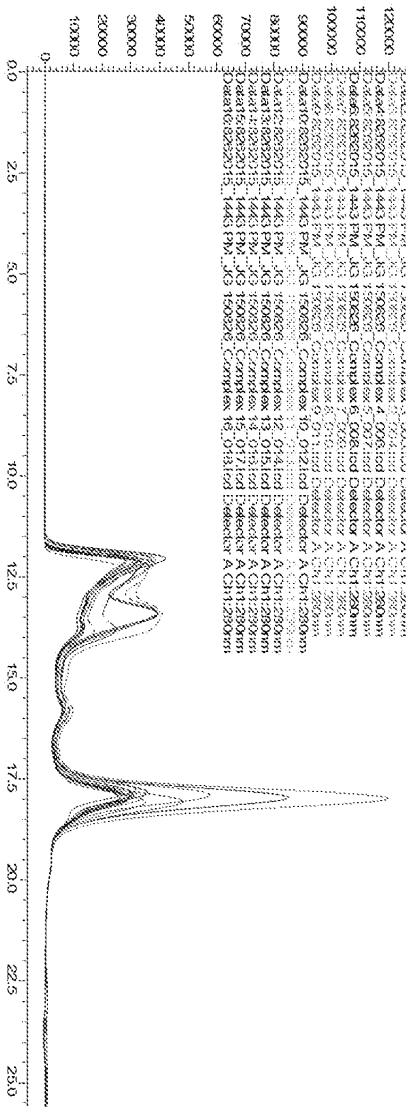
도면9


CHO-OKT3과의 공동-배양 중 CD4+ T 세포의
IL-2 분비에 대한 GITR.6 변이체
IL-2 (pg/mL)
0
1000
2000
3000
4000
Ab의 농도 (ug/mL)
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
GITR.6-IgG2.3
GITR.6-IgG2.3G1.1K/H
GITR.6-IgG1.1f
GITR.6-IgG1
GITR.6-IgG2.3G1.K/H
GITR.6-IgG1-G2.3G1-A/Y
GITR.6-IgG1-G2.3G1-K/H
GITR.6-IgG1-엘타 T/H/T
GITR.6-G2.3-폴리스 T/H/T
GITR.6-IgG2.3-폴리스 G3G3
GITR.6-IgG2.5
GITR.6-IgG2.5G1.1f-K/H
GITR.6-IgG2.5G1.K/H
GITR.6-IgG2.5-폴리스 T/H/T
GITR.6-IgG2.3G1-A/Y
GITR.6-IgG2.5G1-A/Y
Ab 부재
이소형: hIgG1
이소형: hIgG2

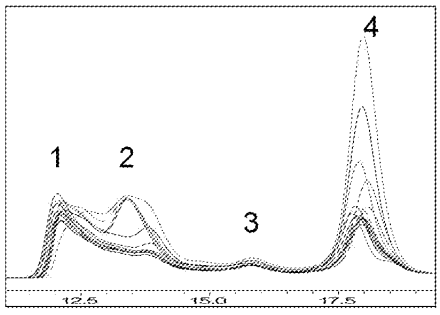
도면10


IgG2의 CH1+힌지
IgG1의 CH1+힌지
구축물
IgG1f
IgG1.1f
IgG2.3
IgG2.5
IgG2.3G1-KH
IgG2.5G1-KH
IgG2.3G1-AY
IgG2.5G1-AY
IgG1-G2.3G1-KH
IgG1-G2.3G1-AY
IgG2.3G1.1f-KH
IgG2.5G1.1f-KH
IgG1-엘타YNT
IgG2.3-플러스YNT
IgG2.5-플러스YNT
IgG2.3-플러스GQG
구축물
G2-G1-G1-G1
G2.5-G1-G1-G1
G1-G2.3-G2-G2
G1-KRGEGSSNLF
G1-KRGEGS
G1-SNLF
IgG1-ITNDRTPR
G1-SNLFPR
G2-RKEGSGSNLPL
G2-RKEGSG
G2-NSFL
IgG2-TIDNTRRP
G2-NSFLRP
G1-G1-G2-G1-AY
G1-G1-G2-G1-KH
G2-G2.3-G1-G2-KH
G2.5-G2.3-G1-G2-...
G2-G2.3-G1-G2-AY
G2.5-G2.5-G1-G2-AY
G1-G2.3-G1-G1-KH
G2-G1-G2-G2-AY
G2.5-G1-G2-G2-AY
G1-G2-G1-G1-AY
G2-G1-G2-G2-KH
G2.5-G1-G2-G2-KH
IgG1-엘타힌지
IgG2-엘타힌지
IgG2.5-엘타힌지
IgG1-엘타G237
IgG2-플러스G237
IgG2.4
IgG2.3/4
세트 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10

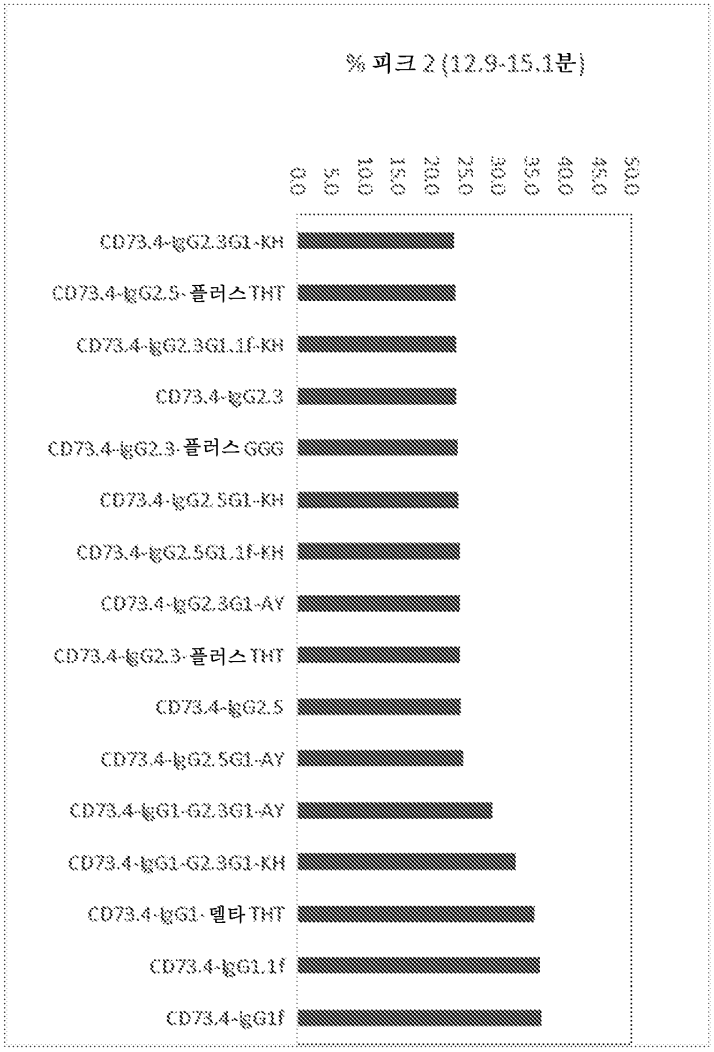
도면11a



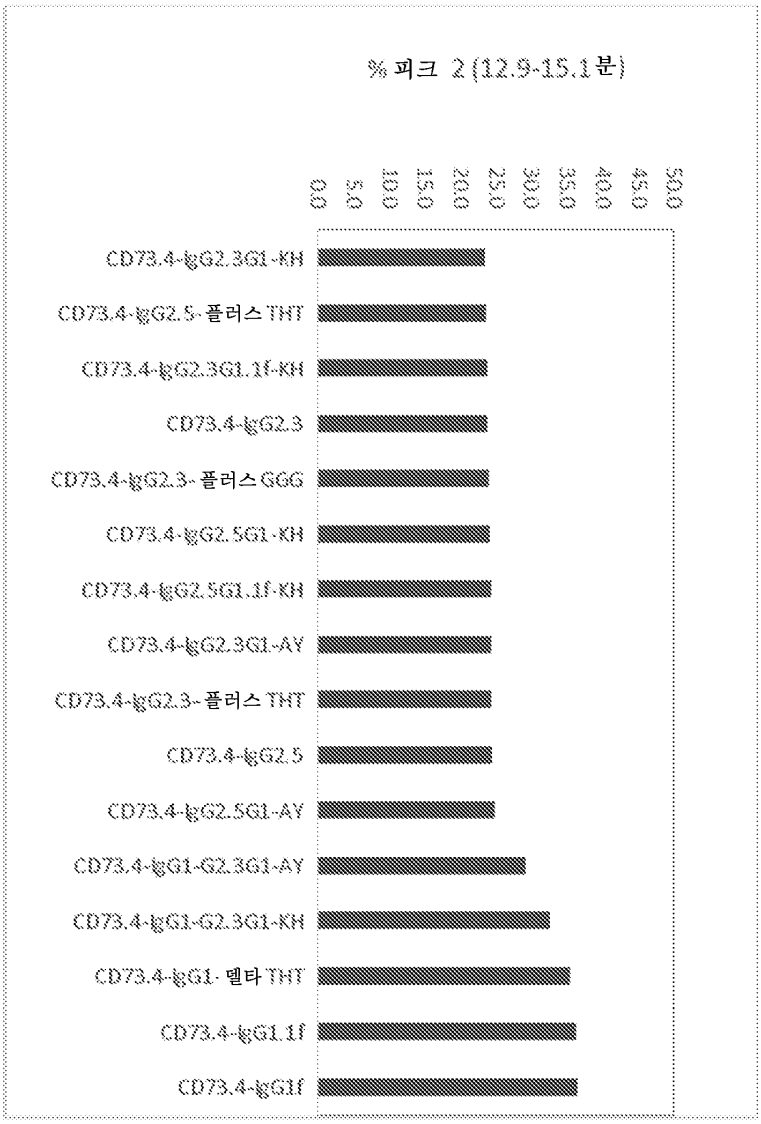
도면11b



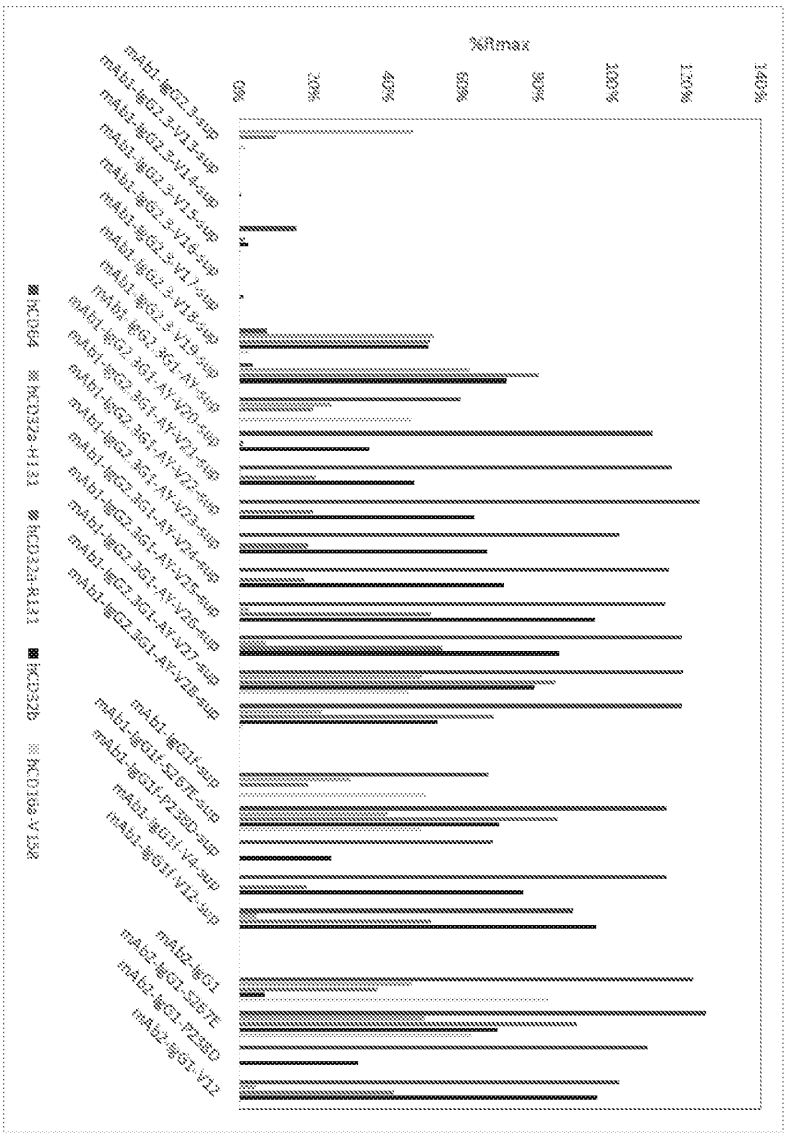
도면11c


% 피크 2 (12.9-15.1분)
0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0
30.0
35.0
40.0
45.0
50.0
CD73.4-IgG2.3G1-KH
CD73.4-IgG2.5-플러스TNT
CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH
CD73.4-IgG2.3
CD73.4-IgG2.3-플러스GGG
CD73.4-IgG2.5G1-KH
CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH
CD73.4-IgG2.3G1-AY
CD73.4-IgG2.3-플러스TNT
CD73.4-IgG2.5
CD73.4-IgG2.5G1-AY
CD73.4-IgG1-G2.3G1-AY
CD73.4-IgG1-G2.3G1-KH
CD73.4-IgG1-멜타TNT
CD73.4-IgG1.1f
CD73.4-IgG1f

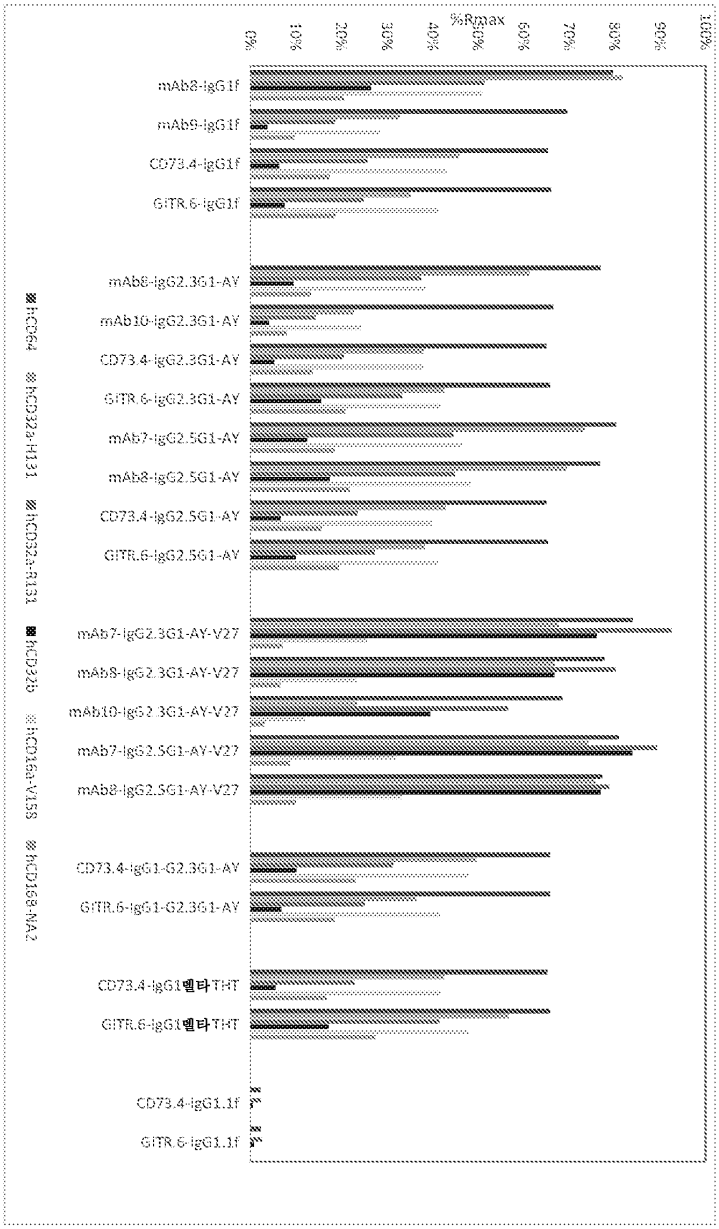
도면12


% 피크 2 (12.9-15.1분)
0.0
5.0
10.0
15.0
20.0
25.0
30.0
35.0
40.0
45.0
50.0
CD73.4-IgG2.3G1-KH
CD73.4-IgG2.5-플러스 TNT
CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH
CD73.4-IgG2.3
CD73.4-IgG2.3-플러스 GGG
CD73.4-IgG2.5G1-KH
CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH
CD73.4-IgG2.3G1-AY
CD73.4-IgG2.3-플러스 TNT
CD73.4-IgG2.5
CD73.4-IgG2.5G1-AY
CD73.4-IgG1-G2.3G1-AY
CD73.4-IgG1-G2.3G1-KH
CD73.4-IgG1-델타 TNT
CD73.4-IgG1.1f
CD73.4-IgG1f

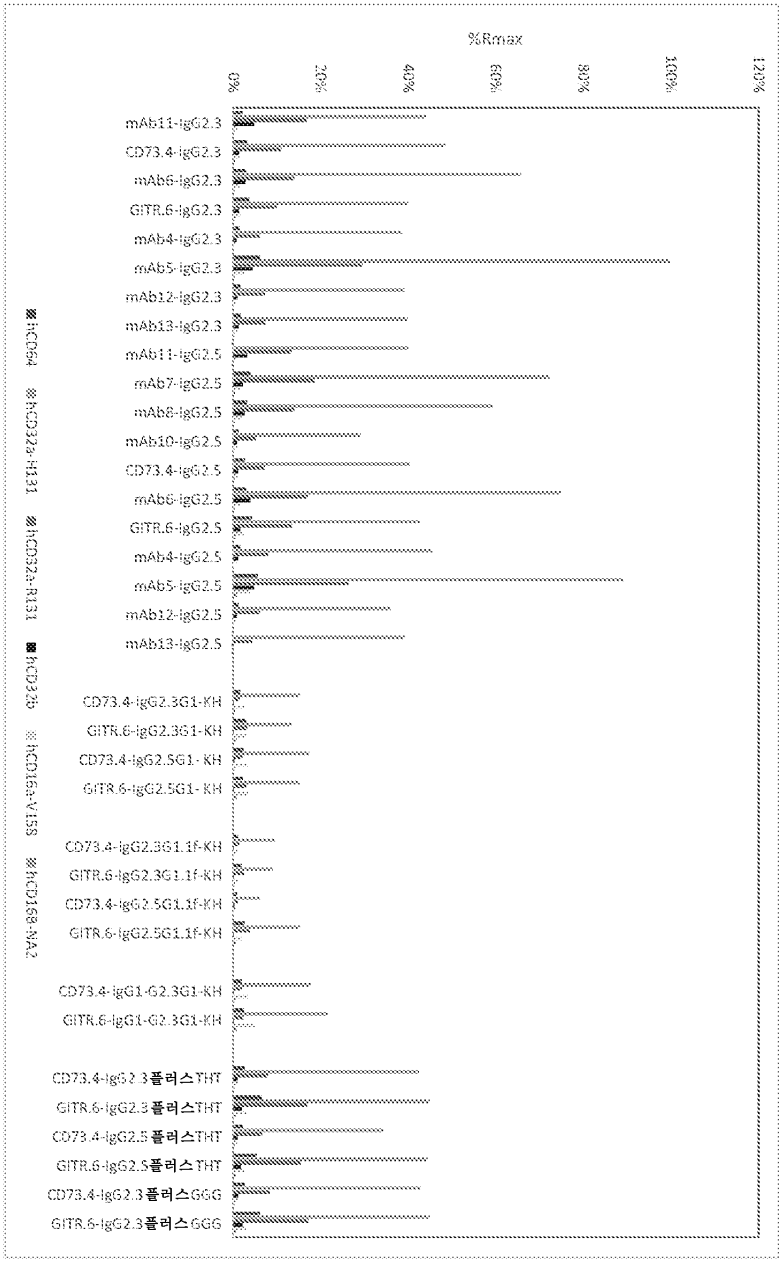
도면13


%Rmax
0%
20%
40%
60%
80%
100%
120%
140%
hCD64
hCD32a-H131
hCD32a-R131
hCD32b
hCD16a-V158
mAb1-IgG2.3-sup
mAb1-IgG2.3-V13-sup
mAb1-IgG2.3-V14-sup
mAb1-IgG2.3-V15-sup
mAb1-IgG2.3-V16-sup
mAb1-IgG2.3-V17-sup
mAb1-IgG2.3-V18-sup
mAb1-IgG2.3-V19-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V20-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V21-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V22-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V23-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V24-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V25-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V26-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V27-sup
mAb1-IgG2.3G1.AY-V28-sup
mAb1-IgG1f-sup
mAb1-IgG1f-S267E-sup
mAb1-IgG1f-PZ39D-sup
mAb1-IgG1f.V4-sup
mAb2-IgG1.V12-sup
mAb2-IgG1
mAb2-IgG1-S267E
mAb2-IgG1.PZ39D
mAb2-IgG1.V12

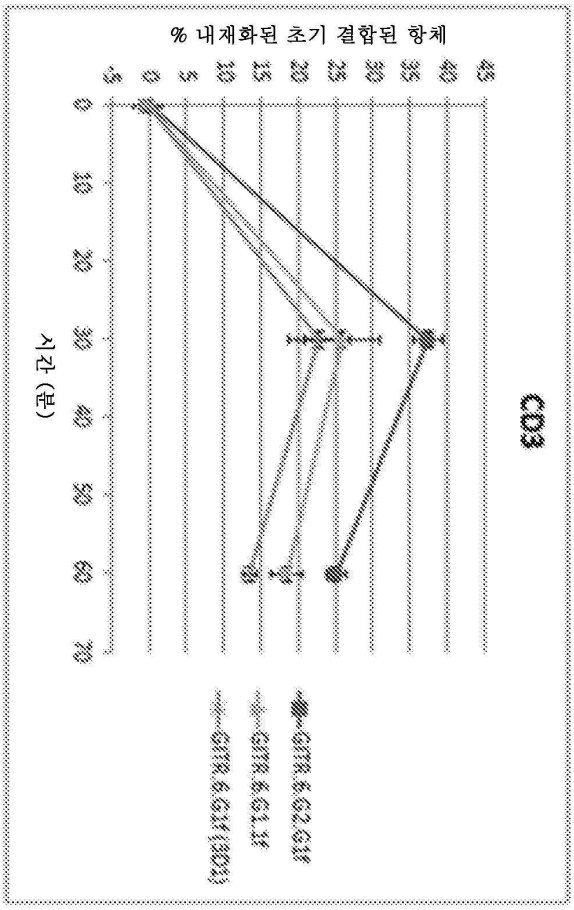
도면14a


%Rmax
0%
10%
20%
30%
40%
50%
60%
70%
80%
90%
100%
mAb8-IgG1f
mAb9-IgG1f
CD73.4-IgG1f
GITR.6-IgG1f
mAb8-IgG2.3G1-AY
mAb10-IgG2.3G1-AY
CD73.4-IgG2.3G1-AY
GITR.6-IgG2.3G1-AY
mAb7-IgG2.5G1-AY
mAb8-IgG2.5G1-AY
CD73.4-IgG2.5G1-AY
GITR.6-IgG2.5G1-AY
mAb7-IgG2.3G1-AY-V27
mAb8-IgG2.3G1-AY-V27
mAb10-IgG2.3G1-AY-V27
mAb7-IgG2.5G1-AY-V27
mAb8-IgG2.5G1-AY-V27
CD73.4-IgG1-G2.3G1-AY
GITR.6-IgG1-G2.3G1-AY
CD73.4-IgG1델타THT
GITR.6-IgG1델타THT
CD73.4-IgG1.1f
GITR.6-IgG1.1f
hCD64
hCD32a-H131
hCD32a-R131
hCD32b
hCD16a-V158
hCD16B-NA2

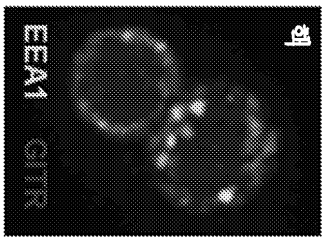
도면14b


%Rmax
0%
20%
40%
60%
80%
100%
120%
mAb11-IgG2.3
CD73.4-IgG2.3
mAb6-IgG2.3
GITR.6-IgG2.3
mAb4-IgG2.3
mAb5-IgG2.3
mAb12-IgG2.3
mAb13-IgG2.3
mAb11-IgG2.5
mAb7-IgG2.5
mAb8-IgG2.5
mAb10-IgG2.5
CD73.4-IgG2.5
mAb6-IgG2.5
GITR.6-IgG2.5
mAb4-IgG2.5
mAb5-IgG2.5
mAb12-IgG2.5
mAb13-IgG2.5
CD73.4-IgG2.3G1-KH
GITR.6-IgG2.3G1-KH
CD73.4-IgG2.5G1- KH
GITR.6-IgG2.5G1- KH
CD73.4-IgG2.3G1.1f-KH
GITR.6-IgG2.3G1.1f-KH
CD73.4-IgG2.5G1.1f-KH
GITR.6-IgG2.5G1.1f-KH
CD73.4-IgG1-G2.3G1-KH
GITR.6-IgG1-G2.3G1-KH
CD73.4-IgG2.3플러스THT
GITR.6-IgG2.3플러스THT
CD73.4-IgG2.5플러스THT
GITR.6-IgG2.5플러스THT
CD73.4-IgG2.3플러스GGG
GITR.6-IgG2.3플러스GGG
hCD64
hCD32a-H131
hCD32a-R131
hCD32b
hCD16a-V158
hCD16a-NA2

도면15

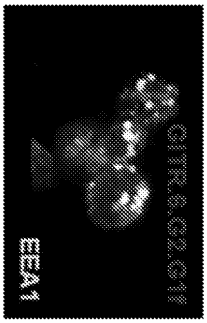


도면16

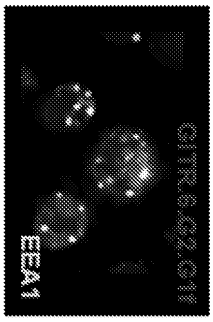


도 16a

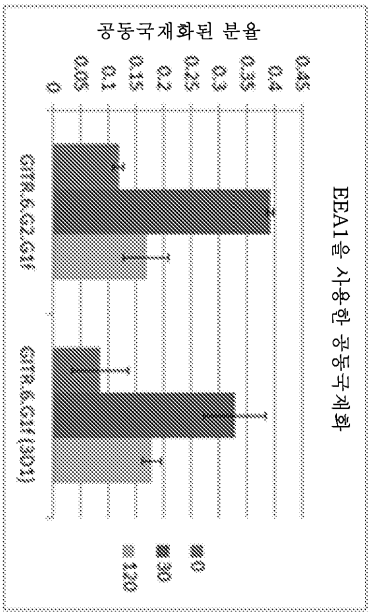
30분



120분



도 16b

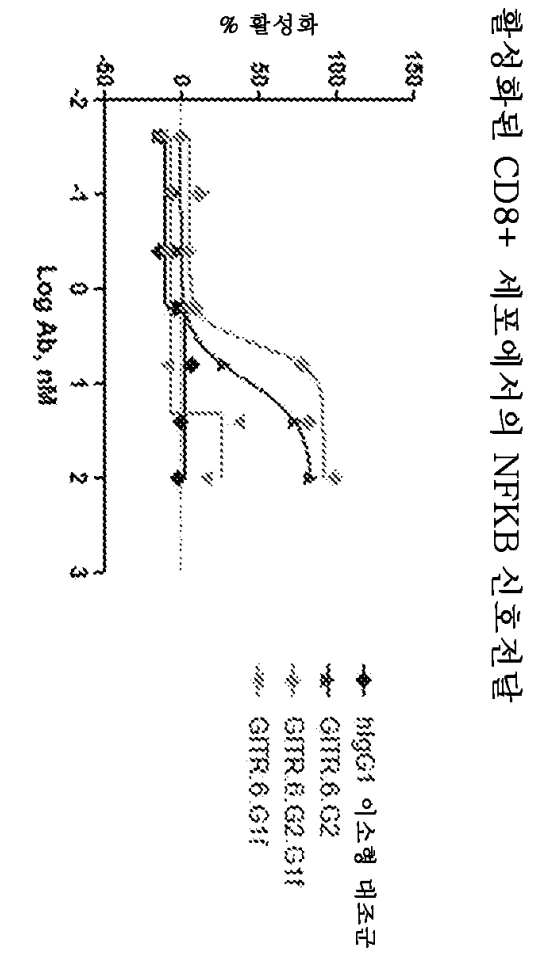


정량화

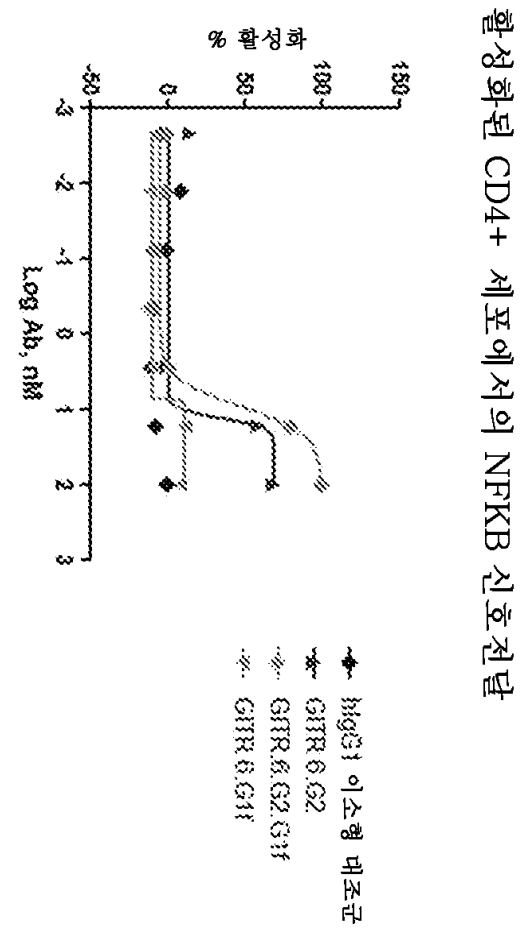
$$m_1 = \frac{\sum_i x_{i,\,color}}{\sum_i x_i}$$

도 16c

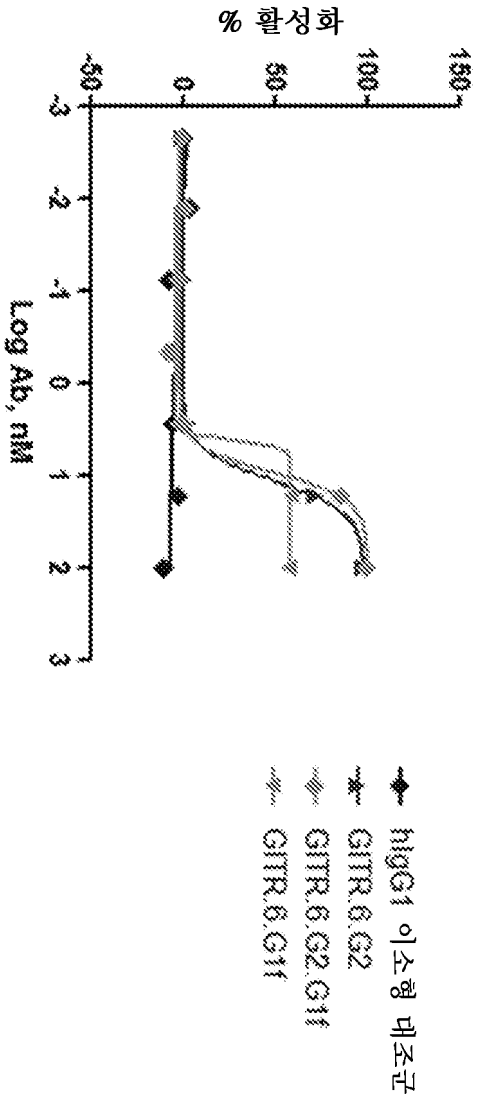
도면17a


활성화된 CD8+ 세포에서의 NFKB 신호전달
% 활성화
150
100
50
0
-50
-2
-1
0
1
2
3
Log Ab, nM
hIgG1 이소형 대조군
GITR.6.G2
GITR.6.G2.G1f
GITR.6.G1f

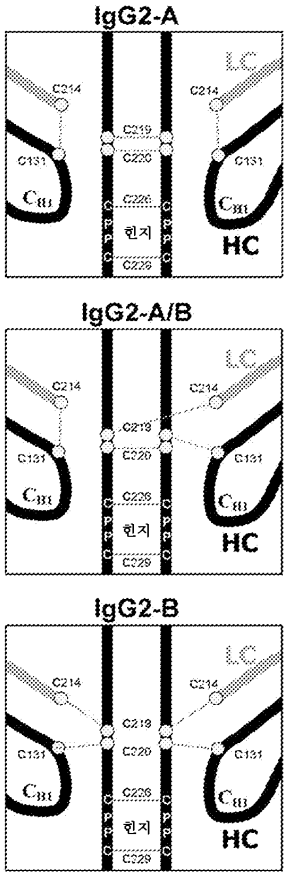
도면17b


활성화된 CD4+ 세포에서의 NFKB 신호전달
% 활성화
150
100
50
0
-50
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log Ab, nM
hIgG1 이소형 대조군
GITR 6.G2
GITR.6.G2.G1f
GITR 6.G1f

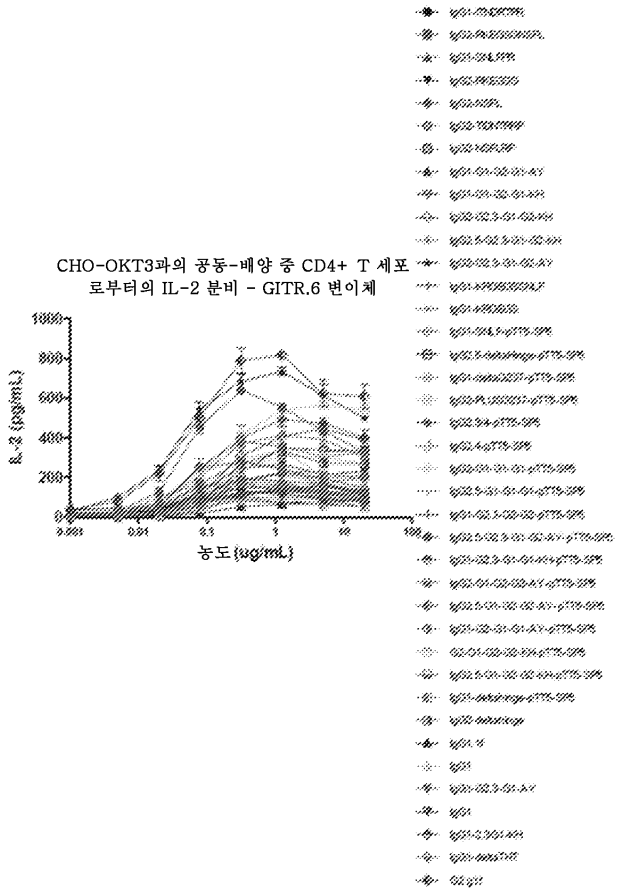
도면18


% 활성화
-50
0
50
100
150
-3
-2
-1
0
1
2
3
Log Ab, nM
hIgG1 이소형 대조군
GITR.6.G2
GITR.6.G2.G1f
GITR.6.G1f

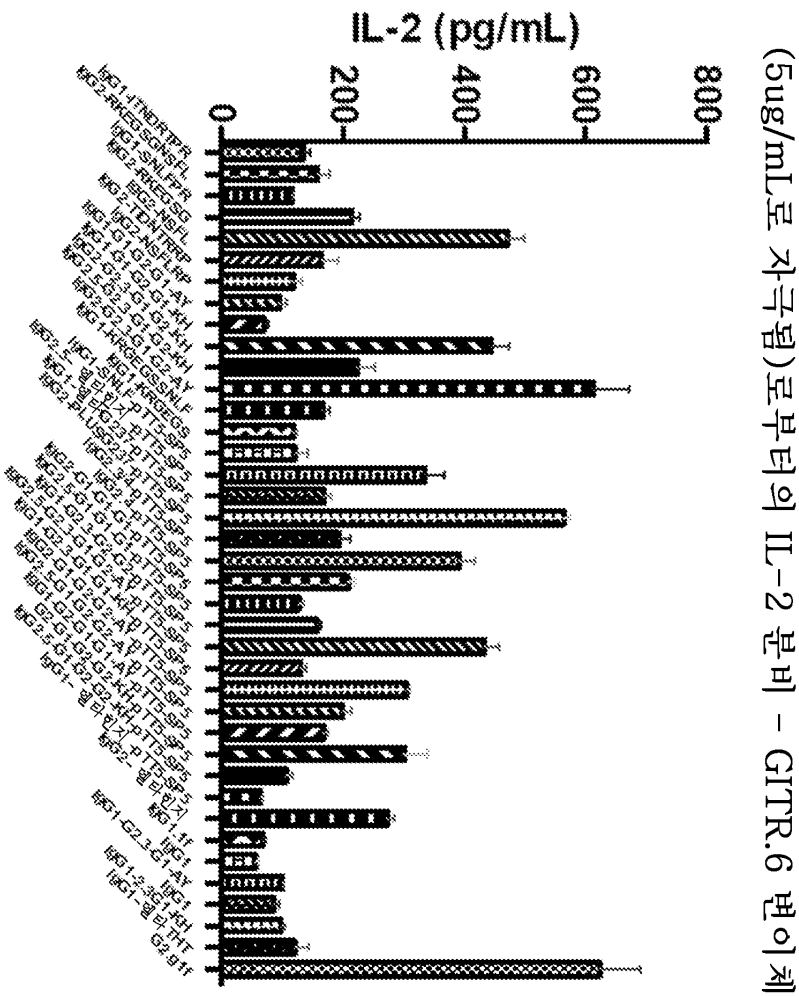
도면19


IgG2-A
LC
C214
C219
C220
C131
C226
힌지
C229
HC
IgG2-A/B
LC
C214
C219
C220
C131
C226
힌지
C229
HC
IgG2-B
LC
C214
C219
C220
C131
C226
힌지
C229
HC

도면20a

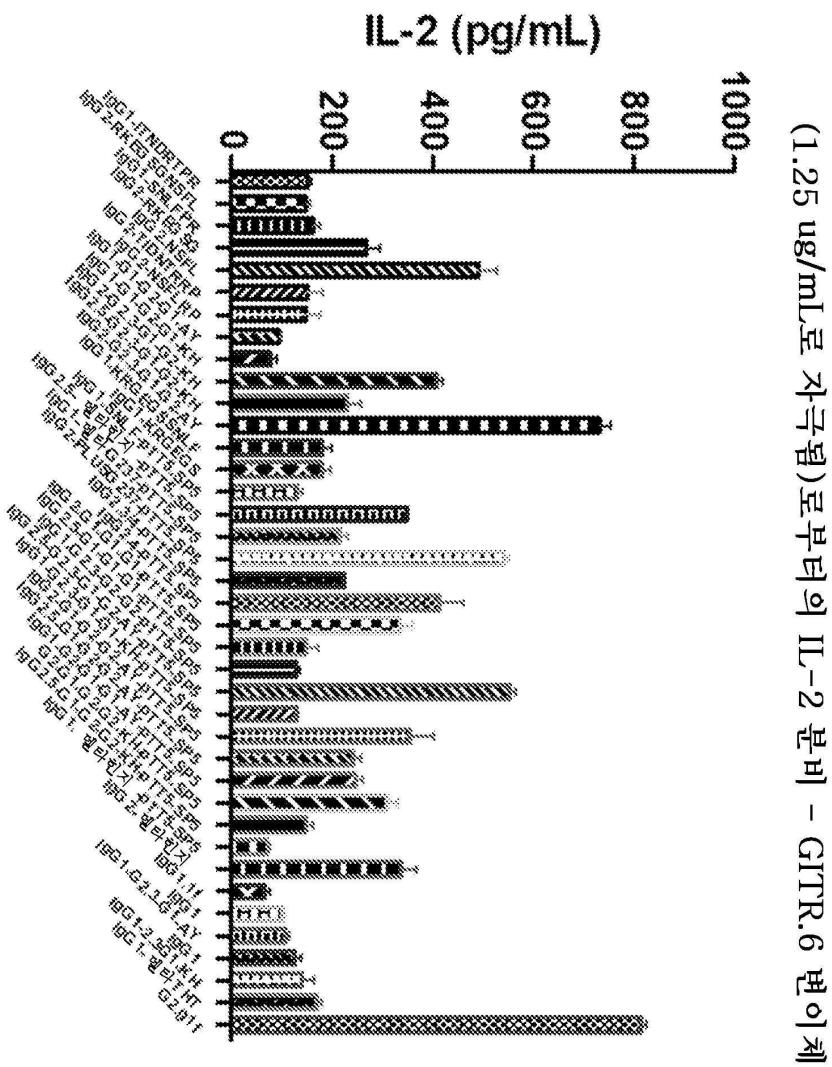

CHO-OKT3과의 공동-배양 중 CD4+ T 세포
로부터의 IL-2 분비 - GITR.6 변이체
IL-2 (pg/mL)
농도(ug/mL)

도면20b



CHO-OKT3과의 공동-배양 중 CD4+ T 세포
(5ug/mL로 자극됨)로부터의 IL-2 분비 - GITR.6 변이체

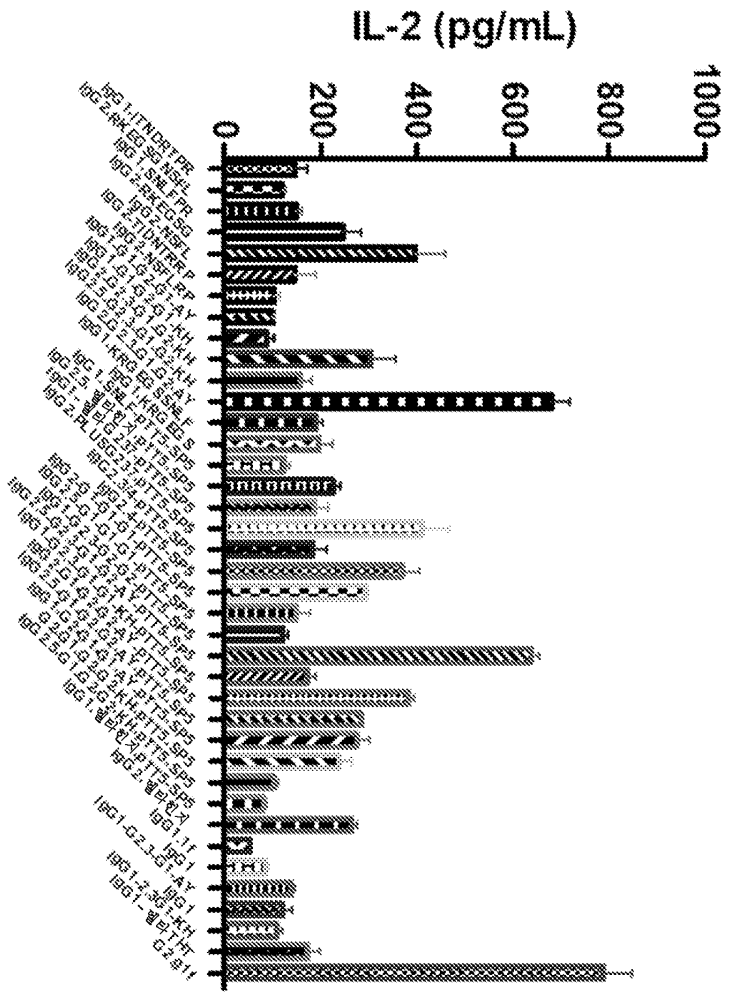
도면20c



CHO-OKT3과의 공동-배양 중 CD4+ T 세포
(1.25 ug/mL로 자극됨)로부터의 IL-2 분비 - GITR.6 변이체

도면20d

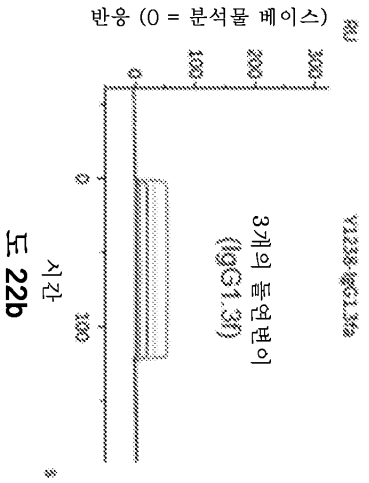
CHO-OKT3과의 공동-배양 중 CD4+ T 세포
(0.313 ug/mL로 자극됨)로부터의 IL-2 분비 - GITR.6 변이체



도면21

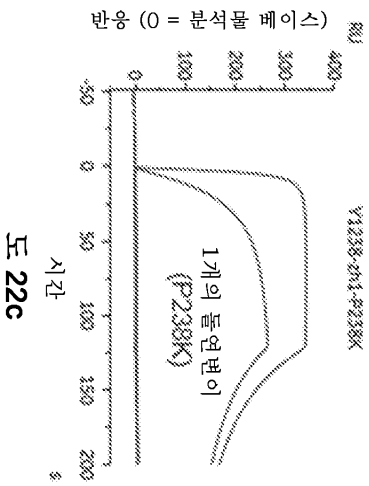
hIgG1f
hIgG1f
hIgG1.1f
hIgG1.3f
hIgG1-P238K
L234
L235
G237
P238
K322
A330
P331

도면22abc

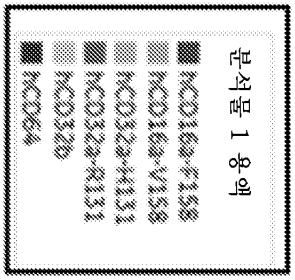


도 22a

도 22b

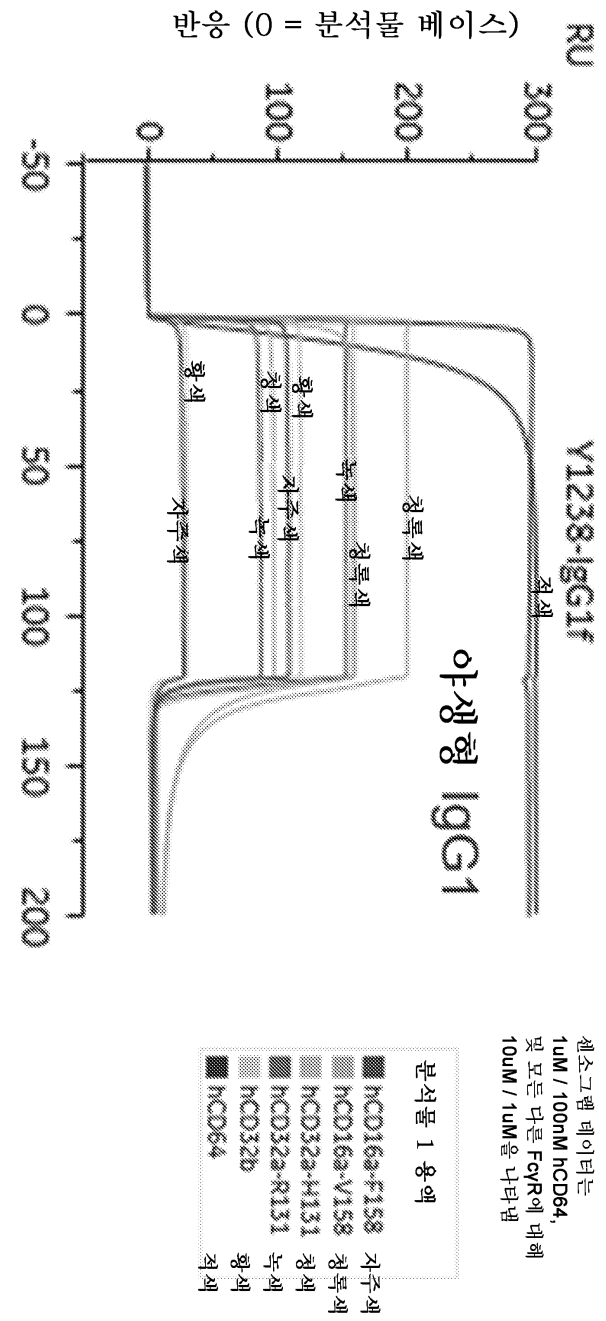


도 22c

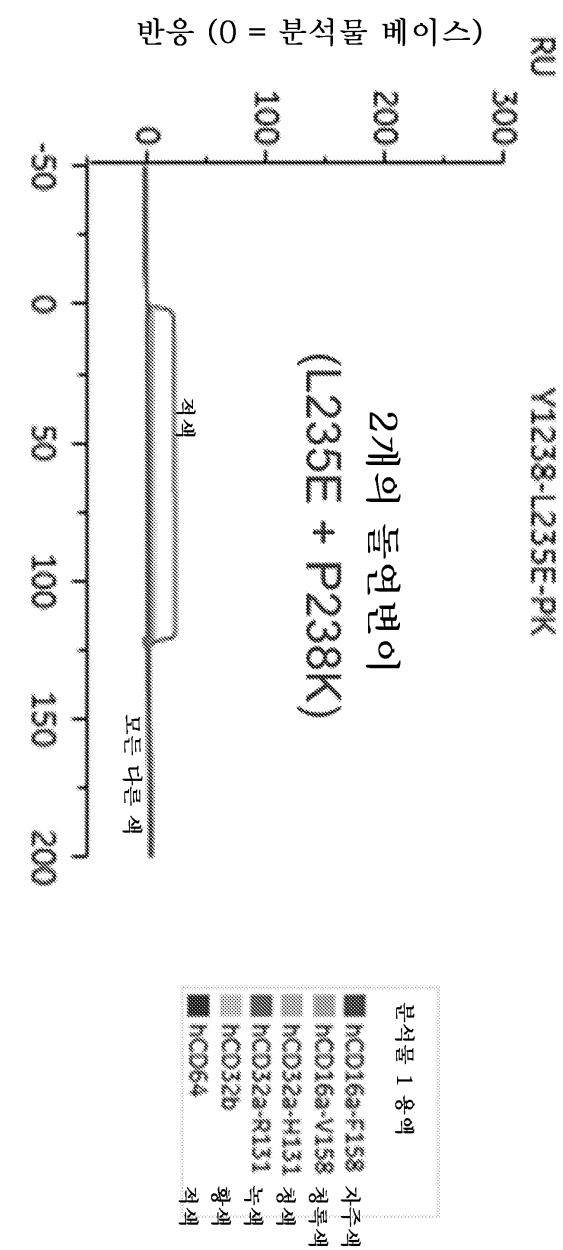


셀소그램 데이터는
1uM / 100nM hCD64, 및
모든 다른 **FcγR**에 대해
10uM / 1uM을 나타냄

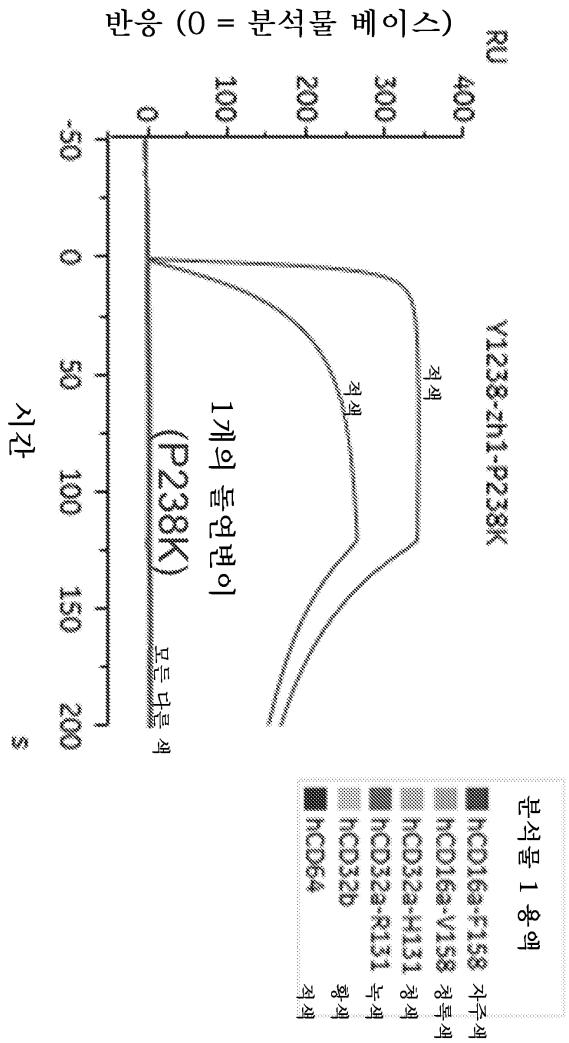
도면22d


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
300
200
100
0
-50
0
50
100
150
200
Y1238-IgG1f
야생형 IgG1
적색
청록색
녹색
청록색
황색
청색
자주색
녹색
황색
자주색
분석물 1 용액
hCD16a-F158
hCD16a-V158
hCD32a-H131
hCD32a-R131
hCD32b
hCD64
자주색
청록색
청색
녹색
황색
적색
센소그램 데이터는
1uM / 100nM hCD64,
및 모든 다른 FcγR에 대해
10uM / 1uM을 나타냄

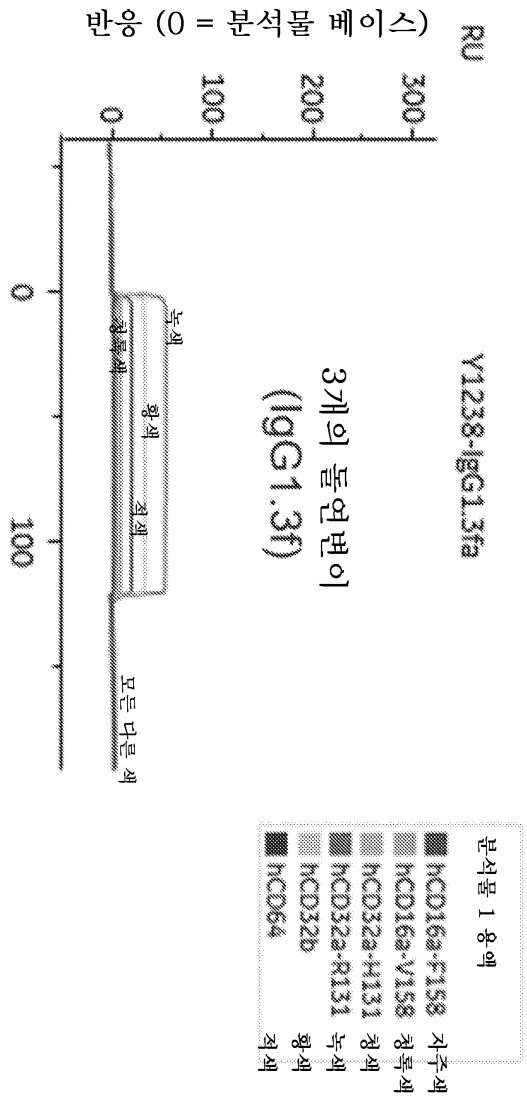
도면22e


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
300
200
100
0
-50
0
50
100
150
200
V1238-L235E-PK
2개의 돌연변이
(L235E + P238K)
적색
모든 다른 색
분석물 1 용액
hCD16a-F158 자주색
hCD16a-V158 청록색
hCD32a-H131 청색
hCD32a-R131 녹색
hCD32b 황색
hCD64 적색

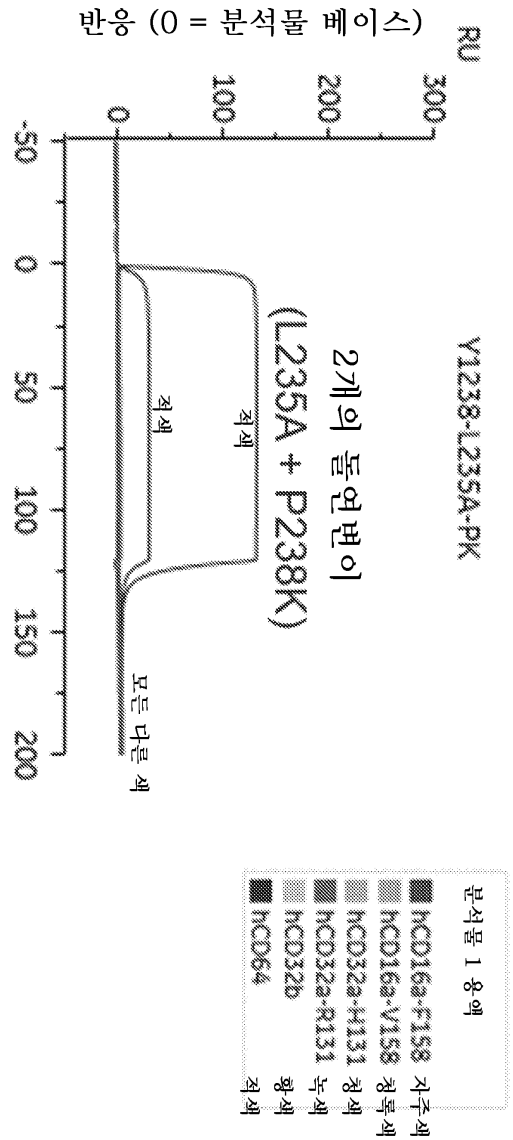
도면22f


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
400
300
200
100
0
-50
0
50
100
150
200
s
시간
Y1238-zh1-P238K
적색
적색
1개의 돌연변이
(P238K)
모든 다른 색
분석물 1 용액
hCD16a-F158 자주색
hCD16a-V158 청록색
hCD32a-H131 청색
hCD32a-R131 녹색
hCD32b 황색
hCD64 적색

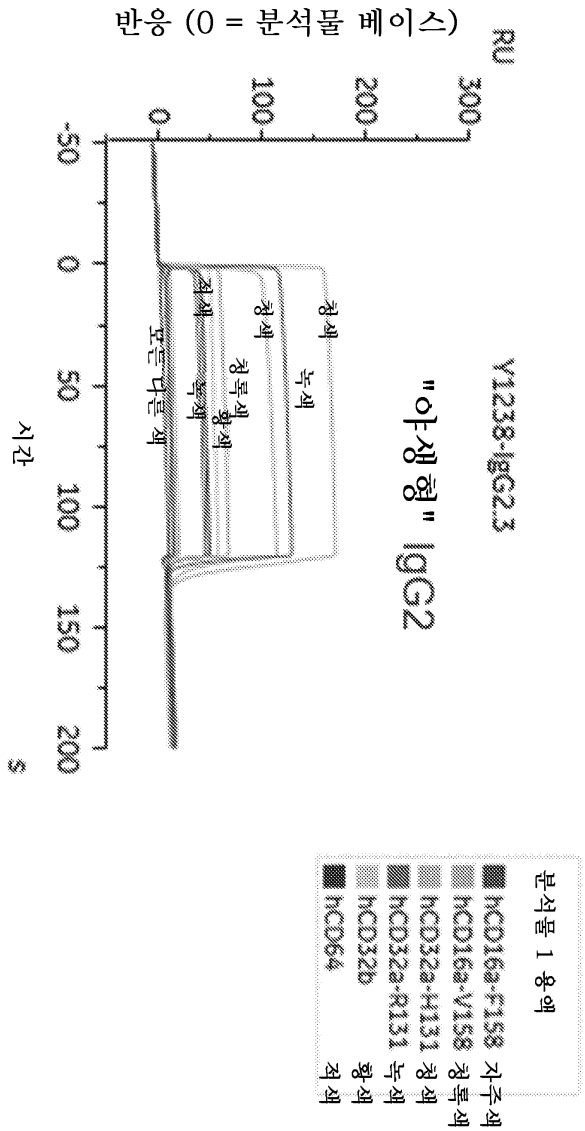
도면22g


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
300
200
100
0
0
100
Y1238-IgG1.3fa
3개의 돌연변이
(IgG1.3f)
녹색
청록색
황색
적색
모든 다른 색
분석물 1 용액
hCD16a-F158 자주색
hCD16a-V158 청록색
hCD32a-H131 청색
hCD32a-R131 녹색
hCD32b 황색
hCD64 적색

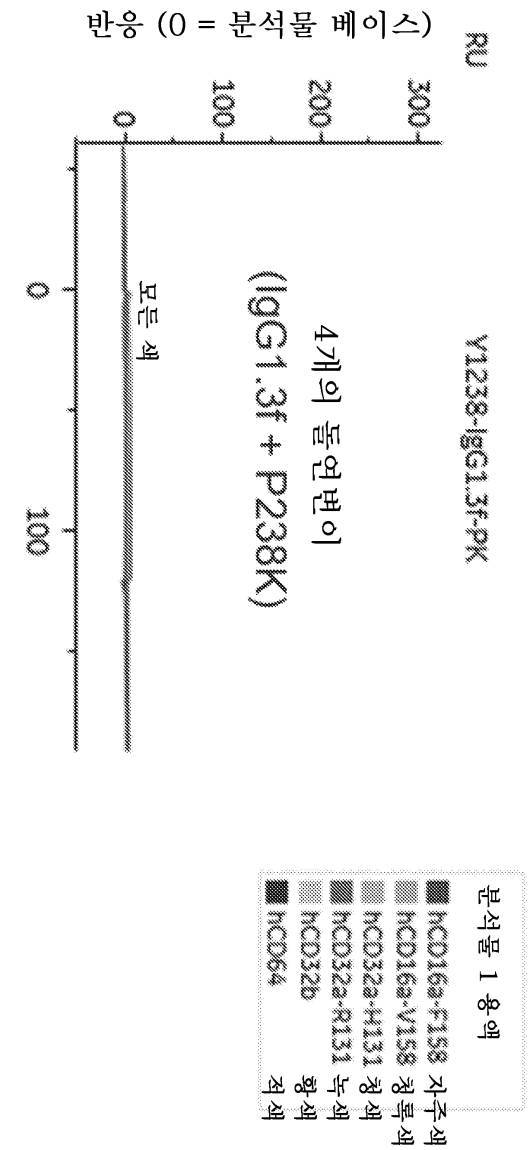
도면22h


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
300
200
100
0
-50
0
50
100
150
200
Y1238-L235A-PK
2개의 돌연변이
(L235A + P238K)
적색
적색
모든 다른 색
분석물 1 용액
hCD16a-F158 자주색
hCD16a-V158 청록색
hCD32a-H131 청색
hCD32a-R131 녹색
hCD32b 황색
hCD64 적색

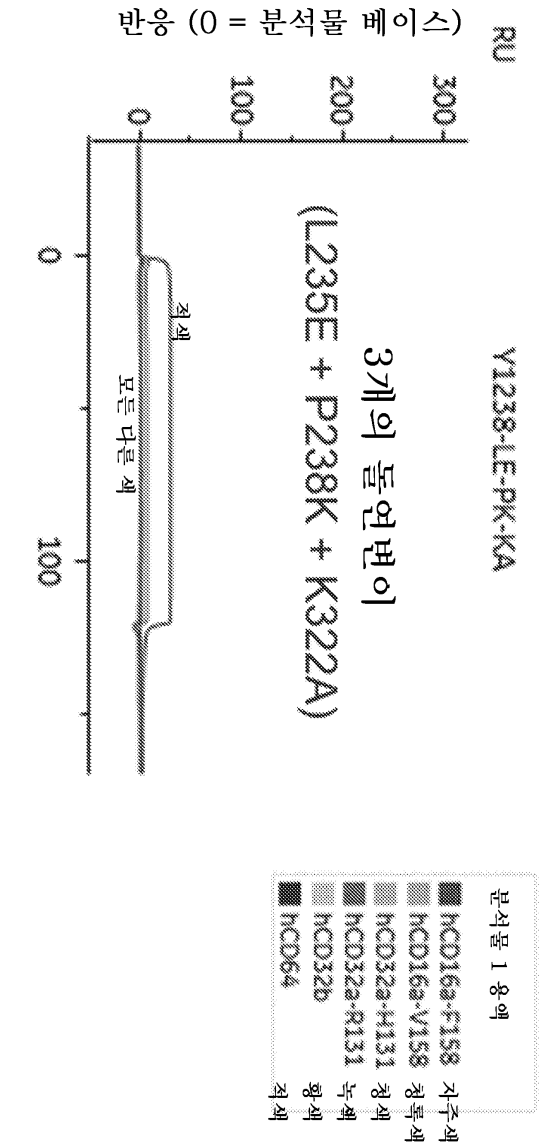
도면22i


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
300
200
100
0
-50
0
50
100
150
200
s
시간
Y1238-IgG2.3
"야생형" IgG2
청색
녹색
청색
청록색
황색
적색
녹색
모든 다른 색
분석물 1 용액
hCD16a-F158 자주색
hCD16a-V158 청록색
hCD32a-H131 청색
hCD32a-R131 녹색
hCD32b 황색
hCD64 적색

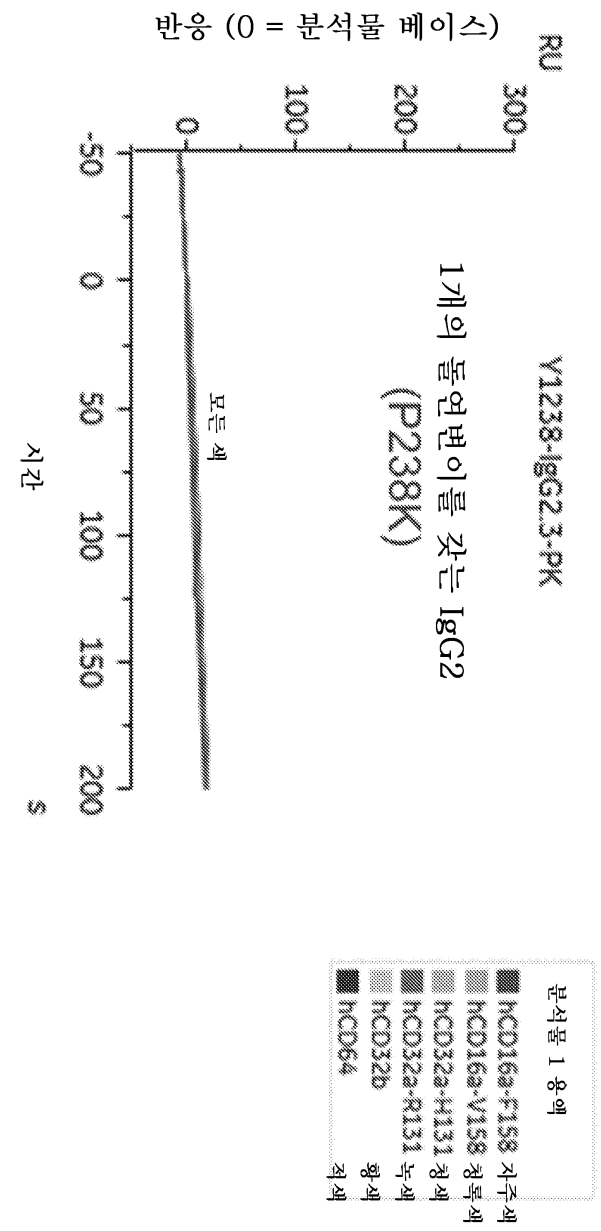
도면22j


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
300
200
100
0
V1238-IgG1.3f-PK
4개의 돌연변이
(IgG1.3f + P238K)
모든 색
0
100
분석물 1 용액
hCD16a-F158 자주색
hCD16a-V158 청록색
hCD32a-H131 청색
hCD32a-R131 녹색
hCD32b 황색
hCD64 적색

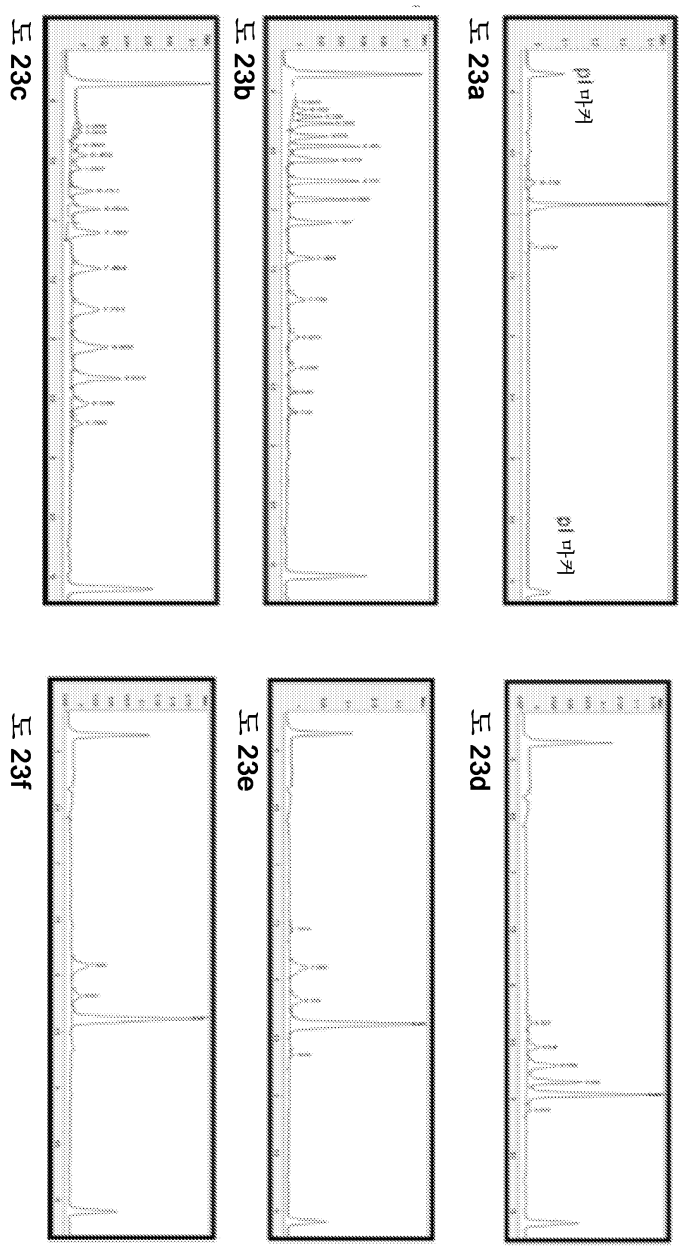
도면22k


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
300
200
100
0
0
100
적색
모든 다른 색
3개의 돌연변이
(L235E + P238K + K322A)
Y1238-LE-PK-KA
분석물 1 용액
hCD16a-F158 자주색
hCD16a-V158 청록색
hCD32a-H131 청색
hCD32a-R131 녹색
hCD32b 황색
hCD64 적색

도면221


반응 (0 = 분석물 베이스)
RU
300
200
100
0
-50
0
50
100
150
200
s
시간
모든 쌍
1개의 돌연변이를 갖는 IgG2
(P238K)
V1238-IgG2.3-PK
분석물 1 용액
hCD16a-F158 자주색
hCD16a-V158 청록색
hCD32a-H131 청색
hCD32a-R131 녹색
hCD32b 황색
hCD64 적색

도면23



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

<120> ANTIBODIES COMPRISING MODIFIED HEAVY CONSTANT REGIONS

<130> MXI-551PC

<140> PCT/US2018/034446

<141> 2018-05-24

<150> US 62/511,178

<151> 2017-05-25

<150> US 62/599,221

<151> 2017-12-15

<160> 275

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length IgG1 wild-type

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

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

260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 2
<211> 98
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: CH1 IgG1 wild-type
<400> 2
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

<210> 3
<211> 22
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Hinge IgG1 wild-type

<400> 3
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
Pro Glu Leu Leu Gly Gly
20
<210> 4
<211> 103
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: CH2 IgG1 wild-type
<400> 4
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
1 5 10 15
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CH3 IgG1 wild-type

<400> 5

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

1 5 10 15

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

100 105

<210> 6

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length IgG2 wild-type

<400> 6

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

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

290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 7
<211> 98
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: CH1 IgG2 wild-type
<400> 7
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

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

85 90 95
Thr Val

<210> 8

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Hinge IgG2 wild-type

<400> 8

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

1 5 10 15

Ala Gly

<210> 9

<211> 103

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CH2 IgG2 wild-type

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys

100

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CH3 IgG2 wild-type

<400> 10

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 11

<211> 377

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length IgG3 wild-type

<400> 11

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

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

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

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
325 330 335
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile

340 345 350
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
355 360 365
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
370 375

<210> 12
<211> 98
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: CH1 IgG3 wild-type
<400> 12
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

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

<210> 13
<211> 18
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Hinge IgG3 wild-type

<400> 13

Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
1 5 10 15
Pro Glu

<210> 14

<211> 154

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CH2 IgG3 wild-type

<400> 14

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

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

Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala
130 135 140
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys
145 150

<210> 15

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CH3 IgG3 wild-type

<400> 15

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

20 25 30

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu
35 40 45

Asn Asn Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
50 55 60

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
65 70 75 80

Asn Ile Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
100 105

<210> 16

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length IgG4 wild-type

<400> 16

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

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

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

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

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

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

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

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 17

<211> 98

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CH1 IgG4 wild-type

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val

<210> 18

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Hinge IgG4 wild-type

<400> 18

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe

1 5 10 15

Leu Gly Gly

<210> 19

<211> 103
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: CH2 IgG4 wild-type
<400> 19

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

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

<210> 20
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: CH3 IgG4 wild-type
<400> 20

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

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

100 105

<210> 21

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Modified IgG2 Hinge (C219S)

<400> 21

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly

<210> 22

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid hinge

<400> 22

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly Gly

<210> 23

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 C219S/IgG1 hybrid hinge

<400> 23

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly Gly

<210> 24

<211> 103

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Modified CH2 IgG1 (A330S/P331S)

<400> 24

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

100

<210> 25

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1.1 Hinge (L234A/L235E/G237A)

<400> 25

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

1 5 10 15

Pro Glu Ala Glu Gly Ala

20

<210> 26

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1-IgG2-IgG1 (IgG1-IgG2/IgG1(SEQ#22)-IgG1-IgG1)

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 27

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1-IgG2-IgG12 (IgG1-IgG2(SEQ#8)-IgG1-IgG1)

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 28
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2-IgG1 (IgG2-IgG2/IgG1(SEQ#22)-IgG1-IgG1)
<400> 28
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

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

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 29

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2-IgG12 (IgG2-IgG2(SEQ#8)-IgG1-IgG1)

<400> 29

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

1 5 10 15

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

```
            20                  25                  30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
        35                  40                  45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60

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

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

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

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
            260                 265                 270
```

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

Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 30
<211> 325
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1-IgG2-IgG1.1
(IgG1-IgG2(SEQ#8)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)
<400> 30
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

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

100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 31

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2-IgG1.1 (IgG2-IgG2(SEQ#8)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)

<400> 31

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

1 5 10 15

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

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

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

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

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

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

<210> 32
<211> 325
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1-IgG2CS-IgG1 (IgG1-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)
<400> 32
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 33

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1-IgG2CS-IgG12 (IgG1-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)

<400> 33

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

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

Lys Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

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

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 34
<211> 325
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2CS-IgG1 (IgG2-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)
<400> 34
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

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

65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

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

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

260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210
> 35
<211> 325
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2CS-IgG12 (IgG2-IgG2(C219S)-IgG1-IgG1)

<400> 35

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

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

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

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

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

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

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

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

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

225 230 235 240

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 36
<211> 325
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1-IgG2CS-IgG1.1
(IgG1-IgG2(C219S)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)
<400> 36
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

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

85 90 95

Lys Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 37

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2CS-IgG1.1
(IgG2-IgG2(C219S)-IgG1(A330S/P331S)-IgG1)

<400> 37

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

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

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

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

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

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

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

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 38

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Ab 11F11 VH

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 39

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Ab 4C3 VH

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Lys Gly Tyr Tyr Val Ile Leu Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 40

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Ab CD73.10 VH

<400> 40

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

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

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

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Glu Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Ser Ser Trp Tyr Pro Asp Ser Phe Asp Ile Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 41

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Ab CD73.3 VH (4C3 / V94A)

<400> 41

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

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

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

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

50 55 60

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

85 90 95
Val Lys Gly Tyr Tyr Val Ile Leu Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 42
<211> 121
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Ab 6E11 VH
<400> 42
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15

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

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

<210> 43

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Ab CD73.4 VH

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 44

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Ab 11F11 full-length HC

<400> 44

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

```
        35                  40                  45
Ala Val Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
    50                  55                  60

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

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

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
            260                 265                 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
        275                 280                 285
```

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

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

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

<210> 45
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Ab 4C3 full-length HC
<400> 45
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

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

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly Lys
450

<210> 46
<211> 451
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Ab 6E11 full-length HC
<400> 46
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Ala Leu Val Gln Pro Gly Arg
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

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

Ala Lys Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Trp Leu Leu Phe Asp Asn Trp Gly
100 105 110
Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
115 120 125
Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala
130 135 140
Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val
145 150 155 160

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

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

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285

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

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415

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

<210> 47
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Ab CD73.10-IgG2-C219S full-length HC
<400> 47
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

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

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

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

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

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

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

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

<210> 48

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Ab CD73.10-IgG2-C219S-IgG1.1 full-length HC

<400> 48

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

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

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

<210> 49
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Ab CD73.10-IgG1.1 full-length HC (IgG1.1
IgG1.1(L234A/L235E/G237A)-IgG1.1(A330S/P331S)-IgG1.1)
<400> 49
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
260 265 270
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
275 280 285
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

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

355 360 365
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
370 375 380
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
385 390 395 400
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
405 410 415
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

420 425 430
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
435 440 445
Pro Gly
450

<210> 50
<211> 446
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Ab CD73.4-IgG2-C219S full-length HC
<400> 50

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

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

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

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

210 215 220
Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
225 230 235 240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 51

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Ab CD73.3-IgG1.1 full-length HC (IgG1.1 IgG1.1(L234A/L235E/G237A)-IgG1.1(A330S/P331S)-IgG1.1)

<400> 51

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

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

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

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

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

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

Val Lys Gly Tyr Tyr Val Ile Leu Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

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

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

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala
225 230 235 240

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

245 250 255

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

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

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

Gly

<210> 52
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length heavy chain constant region
IgG2-IgG2-IgG2-IgG2

<400> 52

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

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

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

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

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 53

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length heavy chain constant region IgG1-IgG1-IgG1-IgG1

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

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

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

<210> 54

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length heavy chain constant region IgG1-IgG1.1(L234A/L235E/G237A)-IgG1.1 (A330S/P331S)-IgG1

<400> 54

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 55

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length heavy chain constant region IgG2-IgG2/IgG1 hybrid-IgG1-IgG1

<400> 55

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

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

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

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

50 55 60

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

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

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

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 56
<211> 325
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Full-length heavy chain constant region IgG2-IgG2-IgG1.1(A330/P331S)-IgG1

<400> 56
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

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

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

165 170 175

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

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

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 57
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain
<400> 57
Val Asp Lys Arg Val
1 5
<210> 58
<211> 5
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 58

Val Asp Lys Thr Val

1 5

<210> 59

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 59

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

1 5 10

<210> 60

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 60

Glu Arg Lys

1

<210> 61

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 61

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

1 5 10

<210> 62

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 62

Glu Pro Lys Ser

1

<210> 63

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 63

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

1 5

<210> 64

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400

> 64

Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 65

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 65

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro

1 5

<210> 66

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 66

Cys Pro Arg Cys Pro

1 5

<210> 67

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 67

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

1 5 10 15

<210> 68

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 68

Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro

1 5 10

<210> 69

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 69

Cys Pro Ser Cys Pro

1 5

<210> 70

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 70

Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

1 5

<210> 71

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Table 2 hinge domain

<400> 71

Ala Pro Pro Val Ala Gly

1 5

<210> 72

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Light chain 11F11

<400> 72

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 73

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Light chain 4C3

<400> 73

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

35 40 45

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

50 55 60

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 74

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Light chain 6D11

<400> 74

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Gly Ser Ser Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 75

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Anti-GITR AbVH

<400> 75

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Ser Met Val Arg Gly Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 76

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Anti-GITR Ab VL

<400> 76

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 77

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Anti-GITR Ab LC

<400> 77

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 78

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1f

<400> 78

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 79
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3
<400> 79
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

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

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 80

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-AY

<400> 80

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

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

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

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

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

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

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

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 81

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-KH

<400> 81

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 82

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 83
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1.1f
<400> 83
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

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

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

305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 84

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1.1f-KH

<400> 84

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

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

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 85

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1-deltaTHT

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

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

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

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

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

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 86

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-plusTHT

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 87

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-plusGGG

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Gly Gly Gly Cys Pro Pro Cys
100 105 110

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

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

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

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

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
180 185 190

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205

Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
210 215 220

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 88

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1.1f-KH

<400> 88

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

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

260 265 270
Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 89
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-AY
<400> 89
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

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

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

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 90
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-KH
<400> 90
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

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

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

145 150 155 160

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

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

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 91
<211> 329
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.5-plusTHT
<400> 91
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

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

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

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

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

260 265 270

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

<210> 92
<211> 327
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1-G2.3G1-AY
<400> 92
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

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

115 120 125

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

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

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

305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 93
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1-G2.3G1-KH
<400> 93

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 94

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2-G1-G1-G1

<400> 94

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 95

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2.5-G1-G1-G1

<400> 95

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

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

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

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 96

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G1-G2.3-G2-G2

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 97

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G1-KRGEGSSNLF

<400> 97

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

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

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

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

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 98

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G1-KRGEGS

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 99

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G1-SNLF

<400> 99

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

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

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

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

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 100

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1-ITNDRTPR

<400> 100

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 101

<211> 329

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G1-SNLFPR

<400> 101

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 102

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2-RKEGSGNSFL

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 103
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: G2-RKEGSG
<400> 103

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

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

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

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

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

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

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

<210> 104
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2-NSFL
<400> 104
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

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

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

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

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 105

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2-TIDNTRRP

<400> 105

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 106

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2-NSFLRP

<400> 106

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

Thr Val Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

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

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

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 107
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: G1-G1-G2-G1-AY
<400> 107
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

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

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

130 135 140

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

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

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

<210> 108
<211> 329
<212>
PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: G1-G1-G2-G1-KH
<400> 108

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

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

115 120 125
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175
Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 109

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2-G2.3-G1-G2-KH

<400> 109

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 110

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2.5-G2.3-G1-G2-KH

<400> 110

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 111
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2-G2.3-G1-G2-AY
<400> 111
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 112

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2.5-G2.3-G1-G2-AY

<400> 112

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 113

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G1-G2.3-G1-G1-KH

<400> 113

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 114

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2-G1-G2-G2-AY

<400> 114

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 115
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: G2.5-G1-G2-G2-AY
<400> 115
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 116

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G1-G2-G1-G1-AY

<400> 116

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 117

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: G2-G1-G2-G2-KH

<400> 117

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
180 185 190
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205
Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln
210 215 220
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 118
<211> 329
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: G2.5-G1-G2-G2-KH
<400> 118

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140
Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr

145 150 155 160
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His
180 185 190
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205
Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln

210 215 220
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270
Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

275 280 285
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 119
<211> 323
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1-deltaHinge

<400> 119
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
100 105 110
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
115 120 125

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
130 135 140
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
145 150 155 160
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
165 170 175
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
180 185 190

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
195 200 205
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
210 215 220
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
225 230 235 240
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
245 250 255

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
260 265 270
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
275 280 285
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

290 295 300

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
305 310 315 320

Pro Gly Lys

<210> 120
<211> 322
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2-deltaHinge
<400> 120

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
100 105 110

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
115 120 125
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
130 135 140
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
145 150 155 160
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg

165 170 175

Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
180 185 190
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
195 200 205
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
210 215 220
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
225 230 235 240

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
245 250 255
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
260 265 270
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
275 280 285
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
290 295 300

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
305 310 315 320
Gly Lys

<210> 121
<211> 322
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.5-deltaHinge
<400> 121
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly
100 105 110
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
115 120 125
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
130 135 140
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
145 150 155 160

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg
165 170 175
Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
180 185 190
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu
195 200 205
Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
210 215 220

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
225 230 235 240
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
245 250 255
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met
260 265 270
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

275 280 285

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
290 295 300
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
305 310 315 320
Gly Lys

<210> 122
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1-deltaG237
<400> 122
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
115 120 125
Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
130 135 140

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr
145 150 155 160
Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
165 170 175
Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
180 185 190
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
210 215 220
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met
225 230 235 240
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
245 250 255
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
275 280 285
Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val
290 295 300
Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
305 310 315 320
Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 123
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2-plusG237
<400> 123
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175
Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp

180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 124

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.4

<400> 124

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 125

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3/4

<400> 125

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 126

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Hinge IgG2 C220S

<400> 126

Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly

<210> 127

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid hinge C220S

<400> 127

Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly Gly

<210> 128

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Wildtype IgG2 hinge portion

<400> 128

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 129

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 hinge portion C219X

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is any amino acid except cysteine

<400> 129

Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 130

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 hinge portion C220X

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is any amino acid except cysteine

<400> 130

Glu Arg Lys Cys Xaa Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 131

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 hinge portion C219S

<400> 131

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10

<210> 132
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2 hinge portion C220S
<400> 132
Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10
<210> 133
<211> 116
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2 CH1+IgG2 hinge (wildtype)
<400> 133
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly
115

<210> 134

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 with C219X

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400

> 134

Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly

<210> 135

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 with C220X

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 135

Glu Arg Lys Cys Xaa Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly

<210> 136

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid with C219X

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 136

Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
1 5 10 15

Leu Gly Gly

<210> 137

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid with C220X

<400> 137

Glu Arg Lys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
1 5 10 15

Gly Gly

<210> 138

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid deltaG

<400> 138

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu
1 5 10 15

Leu Gly

<210> 139

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid with C219S deltaG

<400> 139

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 140

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid with C220S deltaG

<400> 140

Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 141

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid with C219X deltaG

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 141

Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 142

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2/IgG1 hybrid with C220X deltaG

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 142

Glu Arg Lys Cys Xaa Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu

1 5 10 15

Leu Gly

<210> 143

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: Wildtype IgG2 with C-terminal X

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 143

Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Xaa

<210> 144

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 with C219S with C-terminal X

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 144

Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Xaa

<210> 145

<

211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 with C220S with C-terminal X

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 145

Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Xaa

<210> 146

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 with C219X with C-terminal X

<220><221> misc_feature

<222> (4)..(4)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 146

Glu Arg Lys Xaa Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Xaa

<210> 147

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 with C220X with C-terminal X

<220><221>

misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (19)..(19)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 147

Glu Arg Lys Cys Xaa Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val

1 5 10 15

Ala Gly Xaa

<210> 148

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2 hinge portion

<400> 148

Pro Val Ala Gly

1

<210> 149

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1 hinge portion

<400> 149

Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

1 5

<210> 150

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1 hinge portion 1

<400> 150

Glu Leu Leu Gly

1

<210> 151

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1 hinge portion 2

<400> 151

Glu Leu Leu Gly Gly

1 5

<210> 152

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-V13

<400> 152

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 153

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-V14

<400> 153

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Gly Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 154
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-V15
<400> 154
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 155
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-V16

<400> 155

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Gly Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 156

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-V17

<400> 156

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 157

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-V18

<400> 157

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 158
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-V19
<400> 158
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140
Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Phe Pro

195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 159

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1

<400> 159

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 160

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V20

<400> 160

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 161

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V21

<400> 161

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 162
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V22
<400> 162
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 163

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V23

<400> 163

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 164

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V24

<400> 164

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 165
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V25
<400> 165

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Asp Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 166
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V26
<400> 166

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Asp Leu Leu Gly Asp Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 167
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V27
<400> 167
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 168
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-V28
<400> 168
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Phe
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 169
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-AY-V9-D270E
<400> 169
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Asp Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Glu Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 170
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-AY-V11
<400> 170

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Asp Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 171

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-AY-V9-D270E

<400> 171

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Gly Asp Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Glu Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 172

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-AY-V11

<400> 172

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Asp Asp Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Asp Glu Asp Gly Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Arg Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 173
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1f-GASDALIE
<400> 173
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 174

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1f-G236A

<400> 174

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 175

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-AY-G236A

<400> 175

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 176

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-AY-GASDALIE

<400> 176

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Leu Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 177
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-AY-G236A
<400> 177
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 178

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-AY-GASDALIE

<400> 178

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg Ser

1 5 10 15

Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe

20 25 30

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly

35 40 45

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu

50 55 60

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr

65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr

85 90 95

Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu

100 105 110

Leu Leu Ala Gly Pro Asp Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn

165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro

195 200 205

Leu Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 179

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1.1f-AY

<400> 179

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 180
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1.3f-AY
<400> 180
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 181

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-AY-D265A

<400> 181

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

```
        35                  40                  45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
    50                  55                  60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
                85                  90                  95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
            100                 105                 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
        115                 120                 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
    130                 135                 140
Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145                 150                 155                 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
                165                 170                 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
            180                 185                 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
        195                 200                 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
    210                 215                 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225                 230                 235                 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
                245                 250                 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
            260                 265                 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
        275                 280                 285
```

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 182
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-AY-N297A
<400> 182

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 183
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.5G1.1f-AY
<400> 183
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 184

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1.3f-AY

<400> 184

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 185

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-AY-D265A

<400> 185

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 186

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-AY-N297A

<400> 186

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175
Ala Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 187
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: CT
<400> 187

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 188

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: CTf

<400> 188

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 189
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-CT

<400> 189

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 190

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5-CT

<400> 190

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 191

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa-C226S

<400> 191

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 192
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1fa-C229S
<400> 192
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Ser
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 193

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa-C226S,C229S

<400> 193

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 194
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1fa-P238S

<400> 194
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 195

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa-C226A

<400> 195

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ala Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 196

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa-C229A

<400> 196

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Ala
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 197

<211> 330

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa-C226A,C229A

<400> 197

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Ala Pro Pro Ala

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 198

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa-P238K

<400> 198

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 199
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-R133K
<400> 199
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Lys

1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 200
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-E137G
<400> 200
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 201

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-S138G

<400> 201

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 202
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-E137G-S138G
<400> 202
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 203
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-T214R
<400> 203
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 204
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-R217P
<400> 204

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Pro Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 205

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-R217S

<400> 205

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Ser Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 206

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-V224A

<400> 206

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Ala Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 207
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-E225A
<400> 207

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Ala Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 208
<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-R133A

<400> 208

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Ala
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 209
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-E137D
<400> 209
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Asp Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 210

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-E137Q

<400> 210

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gln Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 211

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-S138T

<400> 211

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Thr Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 212

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-S138E

<400> 212

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Glu Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 213

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-E137A-S138I

<400> 213

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Ala Ile Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 214

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-E137I-S138A

<400> 214

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Ile Ala Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 215
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-R217G
<400> 215
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Gly Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 216

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-R217A

<400> 216

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Ala Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 217

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-R217I

<400> 217

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Ile Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 218
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-R217E
<400> 218
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Glu Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 219

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-R217K

<400> 219

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Lys Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 220

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-V224I

<400> 220

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Ile Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 221

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3-E225D

<400> 221

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Asp Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 222

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2-G4.1-G4-G4

<400> 222

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 223

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG4-G2.3-G2-G2

<400> 223

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 224

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2-G4.1-G2-G2

<400> 224

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 225

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG4-G2.3-G4-G4

<400> 225

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 226

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2-G2.3-G4-G4

<400> 226

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 227

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG4-G4.1-G2-G2

<400> 227

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 228
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG4-G4.1-G1-G1
<400> 228
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 229

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG4.1

<400> 229

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 230
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG4.1-R214T
<400> 230
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205
Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 231

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG4.1-S217R

<400> 231

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Arg Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 232

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG4.1-S217P

<400> 232

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 233

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa

<400> 233

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 234
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1.3fa
<400> 234
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110
Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 235

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa-P238K

<400> 235

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 236

<211> 330

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1.3fa-P238K

<400> 236

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 237
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1fa-L235E-P238K
<400> 237
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Glu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 238
<211> 330
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG1fa-L235A-P238K
<400> 238
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 239

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG1fa-L235E-P238K-K322A

<400> 239

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Glu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Ala Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 240
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3
<400> 240
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
260 265 270
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 241
<211> 326
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3-P238K
<400> 241
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Pro Val Ala Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn
165 170 175
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn
225 230 235 240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
245 250 255
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
290 295 300
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
305 310 315 320
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 242
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1

<400> 242

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 243
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-P238K
<400> 243
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 244

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-L235E-P238K

<400> 244

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Glu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 245

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-P238K

<400> 245

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 246

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: hIgG1f

<400> 246

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 247

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: hIgG1f-P238K

<400> 247

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 248

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: hIgG1.3f

<400> 248

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 249

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: hIgG1.3f-P238K

<400> 249

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 250

<211> 330

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: hIgG1f-L235E-P238K

<400> 250

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Glu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 251

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: hIgG1f-L235E-P238K-K322A

<400> 251

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Glu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Ala Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 252

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1.3f

<400> 252

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 253
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.3G1.3f-P238K
<400> 253
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Ala Glu Gly Ala Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 254

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.3G1-L235E-P238K-K322A

<400> 254

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Glu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 255

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5

<400> 255

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 256

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5-P238K

<400> 256

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp

115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn

225 230 235 240

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

245 250 255

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 257

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1

<400> 257

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 258
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-P238K
<400> 258
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Leu Leu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 259
<211> 327
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1.3f

<400> 259

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 260
<211> 327
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: IgG2.5G1.3f-P238K
<400> 260
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Ala Glu Gly Ala Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
225 230 235 240
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
245 250 255
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
260 265 270
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
290 295 300
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325

<210> 261

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-L235E-P238K

<400> 261

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg
1 5 10 15
Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110
Glu Leu Glu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
165 170 175
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
195 200 205
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 262

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: IgG2.5G1-L235E-P238K-K322A

<400> 262

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Leu Glu Gly Gly Lys Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Ala Val Ser Asn Lys Ala Leu

195 200 205

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys

260 265 270

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser

275 280 285

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 263

<211> 348

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3h56-269-IgG4.1 OR BMS-986090

<400> 263

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
20 25 30

Glu Met Trp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Arg Val
35 40 45

Ser Ala Ile Asn Pro Gln Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Leu Pro Phe Arg Phe Ser Asp Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
115 120 125

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
130 135 140

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
145 150 155 160

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
165 170 175

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
180 185 190

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

195 200 205

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
210 215 220
Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
225 230 235 240
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
245 250 255
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
260 265 270

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
275 280 285
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
290 295 300
Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
305 310 315 320
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
325 330 335

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
340 345

<210> 264
<211> 351
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: 3h56-269-CT
<400> 264
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
20 25 30
Glu Met Trp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Arg Val

35 40 45

Ser Ala Ile Asn Pro Gln Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Lys Leu Pro Phe Arg Phe Ser Asp Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
115 120 125
Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val
130 135 140
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
145 150 155 160
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

165 170 175
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
180 185 190
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
195 200 205
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
210 215 220
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

225 230 235 240
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
245 250 255
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
260 265 270
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
275 280 285
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

290 295 300

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

305 310 315 320

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

325 330 335

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340 345 350

<210> 265

<211> 351

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3h56-269-IgG1.1f

<400> 265

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr

20 25 30

Glu Met Trp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Arg Val

35 40 45

Ser Ala Ile Asn Pro Gln Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Leu Pro Phe Arg Phe Ser Asp Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

115 120 125

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val

130 135 140

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

145 150 155 160

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

165 170 175

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

180 185 190

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

195 200 205

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

210 215 220

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

225 230 235 240

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

245 250 255

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

260 265 270

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

275 280 285

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

290 295 300

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

305 310 315 320

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

325 330 335

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340 345 350

<210> 266

<211> 351

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3h56-269-IgG1.3f

<400> 266

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr

20 25 30

Glu Met Trp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Arg Val

35 40 45

Ser Ala Ile Asn Pro Gln Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Leu Pro Phe Arg Phe Ser Asp Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

115 120 125

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val

130 135 140

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

145 150 155 160

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

165 170 175

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

180 185 190

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

195 200 205

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

210 215 220

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

225 230 235 240

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

245 250 255

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

260 265 270

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

275 280 285

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

290 295 300

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

305 310 315 320

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

325 330 335

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340 345 350

<210> 267

<211> 351

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 3h56-269-IgG1-D265A

<400> 267

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr

20 25 30

Glu Met Trp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Arg Val

35 40 45

Ser Ala Ile Asn Pro Gln Gly Thr Arg Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Leu Pro Phe Arg Phe Ser Asp Arg Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
115 120 125
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
130 135 140
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

145 150 155 160
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu
165 170 175
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
180 185 190
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
195 200 205
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

210 215 220
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
225 230 235 240
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
245 250 255
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
260 265 270
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

275 280 285
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
290 295 300
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
305 310 315 320
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
325 330 335
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

340 345 350

<210> 268

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1F4 Heavy chain variable region and CH1

<400> 268

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Asp Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Val Asp Tyr Ser Asn Tyr Leu Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val

210 215

<210> 269

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1F4 Light chain variable region and CL

<400> 269

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 270

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1F4-IgG1f heavy chain

<400> 270

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Asp Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val
50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Asp Tyr Ser Asn Tyr Leu Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 271

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1F4-IgG4.1 heavy chain

<400> 271

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Asp Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Asp Tyr Ser Asn Tyr Leu Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro

340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435 440 445

<210> 272

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1F4-IgG1.1f heavy chain

<400> 272

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Asp Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Asp Tyr Ser Asn Tyr Leu Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly

<210> 273

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1F4-IgG1.3f heavy chain

<400> 273

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Asp Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Asp Tyr Ser Asn Tyr Leu Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
Gly

<210> 274
<211> 448
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetic: 1F4-D265A heavy chain
<400> 274
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr

20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser
35 40 45
Ala Ile Ser Asp Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val Arg
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser Leu
65 70 75 80
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95
Lys Val Asp Tyr Ser Asn Tyr Leu Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 275

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic: 1F4-CT heavy chain

<400> 275

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Asp Ser Gly Gly Arg Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Ser

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Lys Val Asp Tyr Ser Asn Tyr Leu Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220
Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
225 230 235 240
Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450