(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년07월30일
(11) 등록번호 10-2690145
(24) 등록일자 2024년07월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2818 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
(21) 출원번호 10-2024-7002732
(22) 출원일자(국제) 2022년06월24일
심사청구일자 2024년06월10일
(85) 번역문제출일자 2024년01월24일
(65) 공개번호 10-2024-0024255
(43) 공개일자 2024년02월23일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2022/025222
(87) 국제공개번호 WO 2022/270612
국제공개일자 2022년12월29일
(30) 우선권주장
JP-P-2021-105823 2021년06월25일 일본(JP)
(56) 선행기술조사문헌
KR1020207035121 A
US20170355756 A1
WO2008068048 A2

(73) 특허권자
추가이 세이야쿠 가부시키가이샤
일본국 도쿄도 기타쿠 우키마 5쵸메 5반 1고
오사카 유니버시티
일본, 오사카, 수이타-시, 야마다오카, 1-1
(72) 발명자
가타다 히토시
싱가포르 138623 바이오폴리스 드라이브 3 시냅스 #07-11/16 추가이 파마보디 리서치 피티이 리미티드 내
다쓰미 가나코
일본 시즈오카켄 고템바시 고마카도 1초메 135반치 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

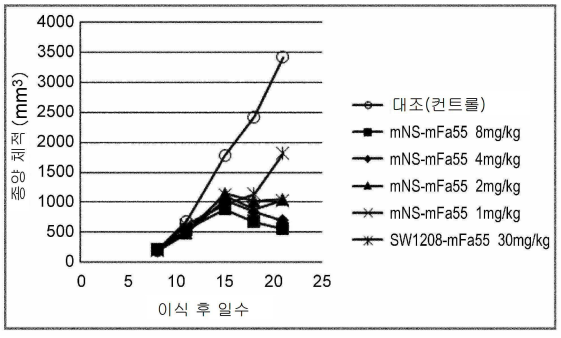
전체 청구항 수 : 총 13 항 심사관 : 나영국

(54) 발명의 명칭 **항CTLA-4 항체의 사용**

(57) 요 약

본 개시는, 항CTLA-4 항체 및 그의 제조 방법 및 사용 방법을 제공한다. 본 개시는 또한, 당해 항CTLA-4 항체를 코드하는 핵산 및 당해 핵산을 포함하는 숙주 세포도 제공한다. 본 개시는 또한, 친Fc 영역에 있어서 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드 및 그의 제조 방법 및 사용 방법도 제공한다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/72 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
(72) 발명자
마쓰다 유타카
일본 도쿄도 주오쿠 니혼바시무로마치 2초메 1반 1고 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
시미즈 슌
일본 시즈오카켄 고템바시 고마카도 1초메 135반치 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
가미무라 마사키
일본 가나가와켄 가마쿠라시 가지와라 200반치 추가이 세이야쿠 가부키가이샤 내
고모리 야스노리
일본 시즈오카켄 고템바시 고마카도 1초메 135반치 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
호리 유지
일본 시즈오카켄 고템바시 고마카도 1초메 135반치 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
이가와 도모유키
일본 도쿄도 주오쿠 니혼바시무로마치 2초메 1반 1고 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
가와우치 히로키
일본 가나가와켄 가마쿠라시 가지와라 200반치 추가이 세이야쿠 가부키가이샤 내
하야시 히로키
일본 가나가와켄 가마쿠라시 가지와라 200반치 추가이 세이야쿠 가부키가이샤 내
사카구치 시몬
일본 오사카후 스이타시 야마다오카 1반 1고 국립대학법인 오사카 대학 내
스스무 히로아키
일본 가나가와켄 가마쿠라시 가지와라 200반치 추가이 세이야쿠 가부키가이샤 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

항CTLA-4 항체를 포함하는, 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한 의약 조성물로서,

해당 항CTLA-4 항체가,

(A) (1) (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과;

(b) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와;

(c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과;

(d) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과;

(e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와;

(f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3,

(2) (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과;

(b) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와;

(c) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과;

(d) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과;

(e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와;

(f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3,

(3) (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과;

(b) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와;

(c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과;

(d) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과;

(e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와;

(f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3, 또는

(4) (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과;

(b) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와;

(c) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과;

(d) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과;

(e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와;

(f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3

을 포함하는 가변 영역, 및

(B) (i) 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되는 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234에 있어서의 Phe, 위치 235에 있어서의 Gln, 위치 236에 있어서의 Trp, 위치 239에 있어서의 Met, 위치 268에 있어서의 Asp, 위치 270에 있어서의 Glu, 위치 298에 있어서의 Ala, 위치 330에 있어서의 Met로의 아미노산 개변, 및

(ii) 해당 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270에 있어서의 Glu, 위

치 298에 있어서의 Ala, 위치 326에 있어서의 Asp, 위치 330에 있어서의 Met, 및 위치 334에 있어서의 Glu로의 아미노산 개변

을 포함하는 변이 Fc 영역

을 포함하는, 의약 조성물.

청구항 2

제 1 항에 있어서,

항CTLA-4 항체가,

(a) 서열 번호: 140 또는 141의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 VH 서열;

(b) 서열 번호: 146 또는 147의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는

(c) 서열 번호: 140 또는 141의 아미노산 서열을 갖는 VH 서열, 및 서열 번호: 146 또는 147의 아미노산 서열을 갖는 VL 서열

을 포함하는, 의약 조성물.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

항CTLA-4 항체가,

(1) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열,

(2) 서열 번호: 141의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열,

(3) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 147의 VL 서열,

(4) 서열 번호: 141의 VH 서열 및 서열 번호: 147의 VL 서열,

(5) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열을 포함하는 제1 가변 영역, 및 서열 번호: 141의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열을 포함하는 제2 가변 영역, 또는

(6) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 147의 VL 서열을 포함하는 제1 가변 영역, 및 서열 번호: 141의 VH 서열 및 서열 번호: 147의 VL 서열을 포함하는 제2 가변 영역

을 포함하는, 의약 조성물.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

변이 Fc 영역이,

(i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250에 있어서의 Val, 및 위치 307에 있어서의 Pro로의 아미노산 개변, 및

(ii) 해당 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250에 있어서의 Val, 및 위치 307에 있어서의 Pro로의 아미노산 개변

을 추가로 포함하는, 의약 조성물.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

변이 Fc 영역이, 이하의 (a)~(f) 중 어느 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 의약 조성물:

(a) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Lys로의 아미노산 개변, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 439에 있어서의 Glu로의 아

미노산 개변,

(b) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 439에 있어서의 Glu로의 아미노산 개변, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Lys로의 아미노산 개변,

(c) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Trp로의 아미노산 개변, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val로의 아미노산 개변,

(d) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val로의 아미노산 개변, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Trp로의 아미노산 개변,

(e) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349에 있어서의 Cys 및 위치 366에 있어서의 Trp로의 아미노산 개변, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Cys, 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val로의 아미노산 개변,

(f) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Cys, 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val로의 아미노산 개변, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349에 있어서의 Cys 및 위치 366에 있어서의 Trp로의 아미노산 개변.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

변이 Fc 영역을 포함하는 중쇄 정상 영역을 포함하는, 의약 조성물.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

중쇄 정상 영역이,

(1) 서열 번호: 350의 제1 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 351의 제2 폴리펩타이드, 또는

(2) 서열 번호: 343의 제1 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 344의 제2 폴리펩타이드

를 포함하는, 의약 조성물.

청구항 8

항CTLA-4 항체를 포함하는, 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한 의약 조성물로서, 항CTLA-4 항체가,

(1) 서열 번호: 352의 제1 H쇄 폴리펩타이드, 서열 번호: 353의 제2 H쇄 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 161의 L쇄 폴리펩타이드, 또는

(2) 서열 번호: 335의 제1 H쇄 폴리펩타이드, 서열 번호: 336의 제2 H쇄 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 161의 L쇄 폴리펩타이드

를 포함하는, 의약 조성물.

청구항 9

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,

종양이, 제어성 T(Treg) 세포가 침윤되어 있는 고형 종양인, 의약 조성물.

청구항 10

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,

종양이, 폐암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐선암, 폐편평상피암, 대장암, 직장암, 결장암, 유방암, 간장암, 위암, 췌암, 신암, 전립선암, 난소암, 갑상선암, 담관암, 복막암, 중피종, 편평상피암, 자궁경암, 자궁내막암, 방광암, 식도암, 두경부암, 비인강암, 타액선 종양, 흉선종, 피부암, 기저 세포종, 흑색종, 악성 흑색종, 항문암, 음경암, 정소암, 윌름스 종양, 뇌종양, 신경아세포종, 망막아세포종, 골육종, 카포지 육종, 유잉 육종, 혈관 육종, 및 혈관 외피 세포종으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 의약 조성물.

청구항 11

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,

약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 의약 조성물.

청구항 12

제 1 항 내지 제 8 항 중 어느 한 항에 있어서,

적어도 1개의 추가의 치료제와 조합하여 이용되는, 의약 조성물.

청구항 13

제 12 항에 있어서,

추가의 치료제가, 면역 체크포인트 저해제, EGFR 저해제, HER2 저해제, 및 화학요법제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 의약 조성물.

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은, 항CTLA-4 항체 및 그의 사용 방법에 관한 것이다. 또한, 본 발명은, 친Fc 영역에 있어서 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드, 및 해당 폴리펩타이드의 제조 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 생체 내에서 유전자 변이 등이 원인이 되어 변이된 세포는, 면역 감시 시스템에 의해 감시되며 배제되고 있다. 한편으로, 과잉한 면역 응답이 지속하는 것은, 자기면역에 의해 정상 조직이 상해되는 등, 자기에 대해서도 유해가 될 수 있다. 그래서, 면역 시스템에는, 일단 활성화된 면역 반응을 억제하기 위한 네거티브 피드백 기구(면역 체크포인트)가 구비되어 있다(예를 들면 비특허문헌 1을 참조). 면역 체크포인트는 면역계에 있어서의 항상성의 유지에 중요한 역할을 하고 있다고 생각된다. 그 한편으로, 일부의 종양에서는 면역 체크포인트를 이용하여 면역 도피를 행하고 있는 것이 밝혀져 왔다. 현재는, 주요한 면역 체크포인트 분자인 cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4(CTLA-4)나 programmed cell death 1(PD-1), programmed cell death ligand 1(PD-L1) 등을 개재시킨 면역 억제 기능의 연구가 널리 진행되고 있다.

[0003] CTLA-4는 1987년에 마우스에서 유래하는 킬러 T 세포 클론의 cDNA 라이브러리로부터 유전자가 클로닝된, 면역글로불린 슈퍼패밀리에 속하는 당단백질이다(예를 들면 비특허문헌 2를 참조). CTLA-4를 개재시켜 T 세포의 면역응답이 억제되는 것이 알려져 있다. CTLA-4의 기능을 억제하여 T 세포의 활성화를 촉진시키는 것이 암의 퇴축으로 이어진다는 생각으로부터, 1996년에는 담암 마우스에의 항CTLA-4 항체의 투여에 의해 종양의 퇴축 효과가 관찰되었던 것이 보고되어 있다(예를 들면 비특허문헌 3을 참조). 2000년부터, 인간에 있어서의 항CTLA-4 항체의 유효성의 평가가 진행되고, 2011년에는 항인간 CTLA-4 모노클로날 항체(이필리무맙)가 미국 Food and Drug Administration(FDA, 식품의약품국)으로부터 세계 최초의 면역 활성화 항체 의약으로서 승인을 받았다. 이필리무맙 이외에도 다수의 항CTLA-4 모노클로날 항체가 제작되고(예를 들면 특허문헌 1, 특허문헌 2, 특허문헌 3,

특허문헌 4를 참조), 그들의 의약품으로서의 개발이 시도되고 있다. 면역 체크포인트를 저해함으로써 그 면역 억제 기구를 해제하고, 결과적으로 면역 활성을 높이는 이러한 약제는, 면역 체크포인트 저해제라고 불리고 있다.

[0004] 한편으로, T 세포 중에는 면역 억제 기능을 갖는 세포가 일부 존재하는 것이 이전부터 알려져 있었는데, 그것이 1995년에 CD25 양성 CD4 양성의 T 세포로서 동정되고, 제어성 T 세포라고 명명되었다(예를 들면 비특허문헌 4를 참조). 2003년에는, 제어성 T 세포에 특이적으로 발현하여, 그 발생 및 기능을 제어하는 마스터 유전자인 Foxp3 유전자가 동정되었다. Foxp3은 전사 인자로서 다양한 면역 응답 관련 유전자의 발현을 제어하고 있다. Foxp3은, 그 중에서도, 제어성 T 세포에 있어서의 CTLA-4의 항상적인 발현에 관여하고 있고, 그것이 제어성 T 세포에 의한 면역 억제 기능에 중요한 역할을 하고 있다고 생각되고 있다(예를 들면 비특허문헌 5를 참조).

[0005] 종양 조직에 제어성 T 세포가 침윤함으로써, 그것이 종양에 대한 면역 감시 기구를 감약 혹은 저해하는 결과로 이어지고 있다고 생각되고 있다. 실제로, 인간의 많은 암종에 있어서 제어성 T 세포가 증가하고 있는 것이 밝혀져 있고(예를 들면 비특허문헌 6을 참조), 제어성 T 세포의 종양의 국소에의 침윤이 암 환자의 예후 불량 인자가 될 수 있는 것이 보고되어 있다. 반대로, 종양 조직으로부터 제어성 T 세포를 제거 혹은 감소시킬 수 있으면, 항종양 면역의 증강으로 이어진다고 기대된다. 현재, 제어성 T 세포를 표적으로 한 암 면역 요법의 개발이 정력적으로 진행되고 있다.

[0006] 항CTLA-4 항체인 이필리무맙의 투여에 의해 항종양 면역은 증강되지만, 한편으로, 면역 활성을 전신적으로 증강하기 때문에 자기면역 질환을 발증하는 것이 보고되어 있다. 어떤 임상 시험에 있어서는 이필리무맙을 투여한 환자의 60%에 유해 사상이 보이고, 그 대부분이 피부 혹은 소화관에 관한 자기면역 질환이었다. 다른 임상 시험에 있어서도 이필리무맙을 투여한 환자 중 약 반수가 마찬가지의 자기면역 질환을 발증했다고 보고되어 있다. 이와 같은 부작용을 억제하기 위해, 이필리무맙을 투여한 환자에게 면역 억제제가 투여되는 경우도 있다. 이러한 면역 체크포인트 저해제의 부작용을 억제하면서 항종양 면역 응답을 유지하는 것이 가능한 새로운 약제의 개발이 요망되고 있다.

[0007] 치료용 항체를 생체 내에 투여한 경우, 그 표적이 되는 항원이 병변 부위에만 특이적으로 발현하고 있는 것이 바람직하지만, 많은 경우, 비병변 부위인 정상 조직에도 동일한 항원이 발현하고 있고, 그것이 치료의 관점에서는 바람직하지 않은 부작용의 원인이 될 수 있다. 예를 들면, 종양 항원에 대한 항체는, ADCC 등에 의해 종양 세포에 대한 상해 활성을 발휘할 수 있는 한편으로, 정상 조직에도 동일한 항원이 발현하고 있었을 경우, 정상 세포도 상해되어 버릴 가능성이 있다. 상기와 같은 문제를 해결하기 위해서, 표적이 되는 조직(예를 들면 종양 조직)에 특정한 화합물이 다량으로 존재하는 현상에 주목하고, 그러한 화합물의 농도에 따라서 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 분자를 창작하는 기술이 개발되었다(예를 들면 특허문헌 11을 참조).

[0008] 항체는 혈중에서의 안정성이 높고, 부작용도 적기 때문에 의약품으로서 주목받고 있다(비특허문헌 12, 비특허문헌 13). 현재 출시되고 있는 항체 의약의 대부분이 인간 IgG1 서브클래스의 항체이다. IgG 클래스의 항체의 이펙터 기능인 항체 의존성 세포장애 활성(이하, ADCC라고 표기한다), 보체 의존성 세포장애 활성(이하, CDC라고 표기한다)에 대해서는, 지금까지 다수의 연구가 행해지고, 인간 IgG 클래스에서는, IgG1 서브클래스의 항체가 가장 높은 ADCC 활성, CDC 활성을 갖는 것이 보고되어 있다(비특허문헌 14). 또한, IgG 클래스의 항체를 개재시킨 표적 세포의 파고사이토시스인 항체 의존성 세포 개재성 파고사이토시스(ADCP)도 항체의 이펙터 기능의 하나로서 나타나 있다(비특허문헌 15, 비특허문헌 16).

[0009] IgG 항체의 ADCC, CDC, ADCP의 발현에는, 항체 Fc 영역과, 킬러 세포, 내추럴 킬러 세포, 활성화된 매크로파지 등의 이펙터 세포 표면 상에 존재하는 항체 리셉터(이하, FcγR이라고 표기한다) 및 각종 보체 성분의 결합이 필요하다. 인간에서는, FcγR의 단백질 패밀리에는, FcγRIa, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, FcγRIIIb의 아이소폼이 보고되어 있고, 각각의 알로타입도 보고되어 있다(비특허문헌 17).

[0010] ADCC, ADCP 및 CDC 등의 세포상해성 이펙터 기능의 증강은, 항체의 항종양 효과를 증강하기 위한 유망한 수단으로서 주목받고 있다. 항체의 항종양 효과를 위한 FcγR을 개재시킨 이펙터 기능의 중요성은, 마우스 모델을 사용하여 보고되어 있다(비특허문헌 7, 비특허문헌 8). 또한, 인간에 있어서의 임상 효과와, FcγRIIIa의 고친화성 다형 알로타입(V158)과 저친화성 다형 알로타입(F158) 사이에는 상관이 관찰되었다(비특허문헌 18). 마찬가지로, FcγRIIa의 알로타입(H131과 R131)에 의해 임상 효과가 상이한 것도 나타나 있다(비특허문헌 19). 이들 보고로부터, 특정한 FcγR에 대한 결합을 최적화한 Fc 영역을 갖는 항체는, 보다 강력한 이펙터 기능을 매개하고, 그에 의해 효과적인 항종양 효과를 발휘하는 것이 나타난다.

[0011] FcγRIa, FcγRIIa, FcγRIIIa, FcγRIIIb로 이루어지는 활성화 수용체, FcγRIIb로 이루어지는 저해성 수용체의 각각에 대한 항체의 결합 활성의 밸런스는, 항체의 이펙터 기능을 최적화함에 있어서 중요한 요소이다. 활성화 수용체에 대한 결합 활성을 증강하고, 저해성 수용체에 대해서는 결합 활성을 저감한 Fc 영역을 이용함으로써, 최적인 이펙터 기능을 항체에 부여할 수 있을 가능성이 있다(비특허문헌 20). Fc 영역과 FcγR의 결합에 대해서는, 항체의 힌지 영역 및 CH2 도메인 내의 몇 개의 아미노산 잔기 및 CH2 도메인에 결합하고 있는 EU 넘버링 297번째의 Asn에 부가되는 당쇄가 중요한 것이 나타나 있다(비특허문헌 14, 비특허문헌 21, 비특허문헌 22). 이 결합 개소를 중심으로, 지금까지 다양한 FcγR 결합 특성을 가지는 Fc 영역의 변이체가 연구되어, 보다 높은 활성화 FcγR 결합 활성을 갖는 Fc 영역 변이체가 얻어지고 있다(특허문헌 5, 특허문헌 6, 비특허문헌 9, 비특허문헌 10). 예를 들면, Lazar 등은, 인간 IgG1의 EU 넘버링 239번째의 Ser, 330번째의 Ala, 332번째의 Ile를 각각 Asp, Leu, Glu로 치환함으로써, 인간 FcγRIIIa(V158)에의 결합을 약 370배까지 증가시키는 것에 성공하고 있다(비특허문헌 9, 특허문헌 6). Shinkawa 등은 EU 넘버링 297번째의 Asn에 부가되는 당쇄의 푸코스를 결손시킴으로써, FcγRIIIa에 대한 결합을 약 100배까지 증가시키는 것에 성공하고 있다(비특허문헌 23). 이들 방법은 항체의 양 H쇄의 Fc 영역에 동일한 개변을 도입하거나, 혹은 동일한 당쇄 수식을 도입하고 있다. 그 한편으로, 항체의 Fc는 호모이량화체임에도 불구하고, FcγR과 1:1로 결합하여, FcγR을 lower hinge 및 CH2 영역에서 비대칭으로 인식하고 있는 것이 보고되어 있다(비특허문헌 11). Fc 영역이 FcγR과 비대칭으로 상호작용하는 것을 고려하면, 각 H쇄에 상이한 개변을 도입한 편이 IgG와 FcγR의 상호작용을 보다 정밀하게 최적화하는 것이 가능하다고 생각된다. 이 착상에 기초하여, 항체의 각 H쇄의 Fc 영역에 상이한 개변을 가하여, 비대칭으로 Fc를 수식하는 것에 의해, FcγR과의 상호작용을 최적화하는 방법도 보고되어 있다(특허문헌 7, 특허문헌 8, 특허문헌 9, 특허문헌 10). 실제로 Fc 영역을 비대칭으로 개변함으로써, 기존의 ADCC 증강 항체인 아푸코실화 항체와 비교해서 높은 ADCC 활성을 나타내는 개변체가 얻어지고 있다(특허문헌 9, 특허문헌 10).

[0012] ADCC 활성에 더하여 ADCP 활성도 항체의 중요한 이펙터 기능이고, 항종양 효과에 기여하는 것이 보고되어 있다(비특허문헌 24). ADCP 활성은 CD47로 대표되는 "Don't eat me" 시그널을 저해하는 것에 의해 증강할 수 있는 것 외에(비특허문헌 24), FcγRIIa에의 결합능을 강하게 하는 것에 의해서도 증강할 수 있다(비특허문헌 25). 그러나, 활성형 FcγR인 FcγRIIa와 억제형 FcγRIIb는 세포외 영역의 아미노산 서열이 매우 높은 상동성을 갖고 있어, FcγRIIa에의 결합능을 선택적으로 증강하는 것은 어렵다(비특허문헌 26). 따라서 FcγRIIa에의 결합능을 증강하면, 억제형 수용체인 FcγRIIb에의 결합능도 증강되어 버려, 이펙터 기능이 감약될 가능성이 있다. 실제로 FcγRIIa에의 결합능을 크게 향상시킨 개변체에서는, FcγRIIb에의 결합능도 천연형 IgG1과 비교해서 증강되어 버리고 있다(특허문헌 9, 특허문헌 10). 따라서, 높은 ADCC/ADCP 활성을 나타내기 위해서는, FcγRIIb에의 결합능은 증강하지 않고, FcγRIIIa, FcγRIIa에의 결합을 가능한 한 증강할 수 있는 것이 바람직하지만, 그와 같은 개변체는 보고되어 있지 않았다.

선행기술문헌

특허문헌

[0013] (특허문헌 0001) WO 2000/037504

(특허문헌 0002) WO 2001/014424

(특허문헌 0003) WO 2012/120125

(특허문헌 0004) WO 2016/196237

(특허문헌 0005) WO 2000/042072

(특허문헌 0006) WO 2006/019447

(특허문헌 0007) WO 2012/058768

(특허문헌 0008) WO 2012/125850

(특허문헌 0009) WO 2013/002362

(특허문헌 0010) WO 2014/104165

(특허문헌 0011) WO 2013/180200

비특허문헌

[0014]

(비특허문헌 0001) Pardoll, Nat Rev Cancer (2012) 12: 252-264

(비특허문헌 0002) Brunet et al., Nature (1987) 328: 267-270

(비특허문헌 0003) Leach et al., Science (1996) 271: 1734-1736

(비특허문헌 0004) Sakaguchi et al., J Immunol (1995) 155: 1151-1164

(비특허문헌 0005) Takahashi et al., J Exp Med (2000) 192: 303-310

(비특허문헌 0006) Nishikawa & Sakaguchi, Int J Cancer (2010) 127: 759-767

(비특허문헌 0007) Clynes et al., Proc Natl Acad Sci U S A (1998) 95: 652-656

(비특허문헌 0008) Clynes et al., Nat Med (2000) 6: 443-446

(비특허문헌 0009) Lazar et al., Proc Natl Acad Sci U S A (2006) 103: 4005-4010

(비특허문헌 0010) Chu et al., Mol Immunol (2008) 45: 3926-3933

(비특허문헌 0011) Radaev et al., J Biol Chem (2001) 276: 16469-16477

(비특허문헌 0012) Reichert et al., Nat Biotechnol (2005) 23: 1073-1078

(비특허문헌 0013) Pavlou & Belsey, Eur J Pharm Biopharm (2005) 59: 389-396

(비특허문헌 0014) Clark, Chem Immunol (1997) 65: 88-110

(비특허문헌 0015) Horton et al., Cancer Res (2008) 68: 8049-8057

(비특허문헌 0016) Zalevsky et al., Blood (2009) 113: 3735-3743

(비특허문헌 0017) Jefferis & Lund, Immunol Lett (2002) 82: 57-65

(비특허문헌 0018) Carton et al., Blood (2002) 99: 754-758

(비특허문헌 0019) Tamura et al., Ann Oncol (2011) 22: 1302-1307

(비특허문헌 0020) Nimmerjahn & Ravetch, Science (2005) 310: 1510-1512

(비특허문헌 0021) Greenwood et al., Eur J Immunol (1993) 23: 1098-1104

(비특허문헌 0022) Morgan et al., Immunology (1995) 86: 319-324

(비특허문헌 0023) Shinkawa et al., J Biol Chem (2003) 278: 3466-3473

(비특허문헌 0024) Tsao et al., JCI Insight (2019) 4: e131882

(비특허문헌 0025) Richards et al., Mol Cancer Ther (2008) 7: 2517-2527

(비특허문헌 0026) Mimoto et al., Protein Eng Des Sel (2013) 26: 589-598

발명의 내용

해결하려는 과제

[0015]

본 발명은, 항CTLA-4 항체 및 그의 사용 방법을 제공한다. 본 발명은 또한, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드 및 그들을 제조하는 방법을 제공한다.

과제의 해결 수단

[0016] 본 발명은, 보다 구체적으로는 이하의 〔1〕 ~ 〔34〕를 제공한다.

[0017] 〔1〕 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한 항CTLA-4 항체로서, 항CTLA-4 항체가,

[0018] (A) 아데노신 함유 화합물의 농도에 의존한 CTLA-4 결합 활성을 갖는 가변 영역, 및

[0019] (B) 친Fc 영역에 있어서 복수의 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역

[0020] 을 포함하고, 친Fc 영역이, 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 상기 사용을 위한 항CTLA-4 항체:

[0021] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 330, 및

[0022] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 330, 및 334.

[0023] 〔2〕 종양이, 제어성 T(Treg) 세포가 침윤되어 있는 고형 종양인, 〔1〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0024] 〔3〕 세포의 상해에 있어서의 사용을 위한 항CTLA-4 항체로서, 항CTLA-4 항체가,

[0025] (A) 아데노신 함유 화합물의 농도에 의존한 CTLA-4 결합 활성을 갖는 가변 영역, 및

[0026] (B) 친Fc 영역에 있어서 복수의 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역

[0027] 을 포함하고, 친Fc 영역이, 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 상기 사용을 위한 항CTLA-4 항체:

[0028] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 330, 및

[0029] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 330, 및 334.

[0030] 〔4〕 상해되는 세포가 Treg 세포인, 〔3〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0031] 〔5〕 세포의 상해가 ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성에 의한, 〔3〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0032] 〔6〕 Treg 세포의 상해에 의해 면역이 활성화되는, 〔3〕 또는 〔4〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0033] 〔7〕 종양이, 암종, 림프종, 아세포종, 육종, 및 백혈병으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 〔1〕 또는 〔2〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0034] 〔8〕 종양이, 폐암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐선암, 폐편평상피암, 대장암, 직장암, 결장암, 유방암, 간장암, 위암, 췌암, 신암, 전립선암, 난소암, 갑상선암, 담관암, 복막암, 중피종, 편평상피암, 자궁경암, 자궁내막암, 방광암, 식도암, 두경부암, 비인강암, 타액선 종양, 흉선종, 피부암, 기저 세포종, 흑색종, 악성 흑색종, 항문암, 음경암, 정소암, 윌름스 종양, 급성 골수성 백혈병(급성 골수구성 백혈병, 급성 골수아구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 골수단구성 백혈병, 및 급성 단구성 백혈병을 포함한다), 만성 골수성 백혈병, 급성 림프아구 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종(버킷 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 균상 식육종, 맨틀 세포 림프종, 소포성 림프종, 미만성 대세포형 림프종, 변연대 림프종, 모양(毛様) 세포 백혈병 플라스마 세포종, 말초 T 세포 림프종, 및 성인 T 세포 백혈병/림프종을 포함한다), 랑게르한스 세포 조직구증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 뇌종양(신경교종, 성세포종, 교아세포종, 수막종, 및 상의세포종을 포함한다), 신경아세포종, 망막아세포종, 골육종, 카포지 육종, 유잉 육종, 혈관 육종, 및 혈관 외피 세포종으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 〔7〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0035] 〔9〕 종양이, 폐암, 대장암, 결장암, 유방암, 간장암, 췌암, 신암, 방광암, 두경부암, 및 흑색종으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 〔8〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0036] 〔10〕 항CTLA-4 항체가 이뮤노콘주게이트인, 〔1〕 내지 〔9〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0037] 〔11〕 1개 또는 복수의 임의의 약학적으로 허용되는 담체와 혼합하여 이용되는, 〔1〕 내지 〔10〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0038] 〔12〕 적어도 1개의 추가의 치료제와 조합하여 이용되는, 〔1〕 내지 〔11〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0039] 〔13〕 추가의 치료제가, 면역 체크포인트 저해제, EGFR 저해제, HER2 저해제, 및 화학요법제로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나인, 〔12〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0040] 〔14〕 가변 영역이, 이하의 (a) 내지 (i)로부터 선택되는 적어도 하나의 특징을 갖는, 〔1〕 내지 〔13〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체:

[0041] (a) 100μM의 아데노신 함유 화합물의 존재하에서의 결합 활성이, 아데노신 함유 화합물의 비존재하에서의 결합 활성과 비교해서, 2배 이상 높다,

[0042] (b) 100μM의 아데노신 함유 화합물의 존재하에서의 KD값이 5×10^{-7}M 이하이다,

[0043] (c) 아데노신 함유 화합물의 비존재하에서의 KD값이 1×10^{-6}M 이상이다,

[0044] (d) 아데노신 함유 화합물 및 CTLA-4와 함께 삼자 복합체를 형성한다,

[0045] (e) 인간 CTLA-4(세포외 도메인, 서열 번호: 28)의 97번째의 아미노산 내지 106번째의 아미노산의 영역에 결합한다,

[0046] (f) CTLA-4에의 결합에 관해서, ABAM004(VH, 서열 번호: 10; 및 VL, 서열 번호: 11)와 경합한다,

[0047] (g) ABAM004(VH, 서열 번호: 10; 및 VL, 서열 번호: 11)에 의해 결합되는 것과 동일한 에피토프에 결합한다,

[0048] (h) CTLA-4 발현 세포에 대해서 세포상해 활성을 나타낸다, 및

[0049] (i) 인간 및 마우스 유래의 CTLA-4에 결합한다.

[0050] 〔15〕 항CTLA-4 항체가 모노클로날 항체인, 〔1〕 내지 〔14〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0051] 〔16〕 항CTLA-4 항체가 인간 항체, 인간화 항체, 또는 키메라 항체인, 〔1〕 내지 〔15〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0052] 〔17〕 항CTLA-4 항체가, (a) 아미노산 서열 SX_1TMN을 포함하고, X_1은 H, A, R, 또는 K인 HVR-H1(서열 번호: 223), (b) 아미노산 서열 $SISX_1X_2SX_3YIYYAX_4SVX_5G$를 포함하고, X_1은 S 또는 T, X_2는 R 또는 Q, X_3은 G 또는 H, X_4는 D, E, 또는 R, X_5는 K 또는 R인 HVR-H2(서열 번호: 224), 및 (c) 아미노산 서열 $YGX_1REDMLWVFDY$를 포함하고, X_1은 K 또는 A인 HVR-H3(서열 번호: 225)을 포함하는, 〔1〕 내지 〔16〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0053] 〔18〕 항CTLA-4 항체가, (a) 아미노산 서열 $X_1GX_2STX_3VGDYX_4X_5VX_6$을 포함하고, X_1은 T, D, Q, 또는 E, X_2는 T 또는 P, X_3은 D 또는 G, X_4는 N 또는 T, X_5는 Y 또는 W, X_6은 S 또는 H인 HVR-L1(서열 번호: 226), (b) 아미노산 서열 $X_1TX_2X_3KPX_4$를 포함하고, X_1은 E, F, 또는 Y, X_2는 S 또는 I, X_3은 K 또는 S, X_4는 S, E, 또는 K인 HVR-L2(서열 번호: 227), 및 (c) 아미노산 서열 $X_1TYAAPLGPX_2$를 포함하고, X_1은 S 또는 Q, X_2는 M 또는 T인 HVR-L3(서열 번호: 228)을 추가로 포함하는, 〔17〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0054] 〔19〕 항CTLA-4 항체가, 서열 번호: 229~232 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 도메인 FR1, 서열 번호: 233의 아미노산 서열을 포함하는 FR2, 서열 번호: 234의 아미노산 서열을 포함하는 FR3, 및 서열 번호: 235의 아미노산 서열을 포함하는 FR4를 추가로 포함하는, 〔17〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0055] 〔20〕 항CTLA-4 항체가, 서열 번호: 236~238 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인 FR1, 서열 번호: 240~241 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하는 FR2, 서열 번호: 242~244 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하는 FR3, 및 서열 번호: 245~246 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하는 FR4를 추가로 포함하는, 〔18〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0056] 〔21〕 항CTLA-4 항체가, (a) 서열 번호: 83~86, 98, 135~141 중 어느 1개의 아미노산 서열과 적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 VH 서열; (b) 서열 번호: 88~95, 97, 99, 134, 144~149 중 어느 1개의 아미노산 서열과

적어도 95%의 서열 동일성을 갖는 VL 서열; 또는 (c) 서열 번호: 83~86, 98, 135~141 중 어느 1개의 아미노산 서열을 갖는 VH 서열, 및 서열 번호: 88~95, 97, 99, 134, 144~149 중 어느 1개의 아미노산 서열을 갖는 VL 서열을 포함하는, 〔1〕 내지 〔16〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0057] 〔22〕 항CTLA-4 항체가,

[0058] (1) 서열 번호: 98의 VH 서열 및 서열 번호: 99의 VL 서열,

[0059] (2) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 88의 VL 서열,

[0060] (3) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 89의 VL 서열,

[0061] (4) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 90의 VL 서열,

[0062] (5) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 91의 VL 서열,

[0063] (6) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 92의 VL 서열,

[0064] (7) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 93의 VL 서열,

[0065] (8) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 94의 VL 서열,

[0066] (9) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 97의 VL 서열,

[0067] (10) 서열 번호: 83의 VH 서열 및 서열 번호: 95의 VL 서열,

[0068] (11) 서열 번호: 84의 VH 서열 및 서열 번호: 97의 VL 서열,

[0069] (12) 서열 번호: 85의 VH 서열 및 서열 번호: 97의 VL 서열,

[0070] (13) 서열 번호: 86의 VH 서열 및 서열 번호: 97의 VL 서열,

[0071] (14) 서열 번호: 86의 VH 서열 및 서열 번호: 134의 VL 서열,

[0072] (15) 서열 번호: 136의 VH 서열 및 서열 번호: 97의 VL 서열,

[0073] (16) 서열 번호: 135의 VH 서열 및 서열 번호: 97의 VL 서열,

[0074] (17) 서열 번호: 136의 VH 서열 및 서열 번호: 95의 VL 서열,

[0075] (18) 서열 번호: 137의 VH 서열 및 서열 번호: 97의 VL 서열,

[0076] (19) 서열 번호: 138의 VH 서열 및 서열 번호: 97의 VL 서열,

[0077] (20) 서열 번호: 138의 VH 서열 및 서열 번호: 144의 VL 서열,

[0078] (21) 서열 번호: 138의 VH 서열 및 서열 번호: 145의 VL 서열,

[0079] (22) 서열 번호: 138의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열,

[0080] (23) 서열 번호: 139의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열,

[0081] (24) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열,

[0082] (25) 서열 번호: 141의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열,

[0083] (26) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 147의 VL 서열,

[0084] (27) 서열 번호: 141의 VH 서열 및 서열 번호: 147의 VL 서열,

[0085] (28) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 148의 VL 서열,

[0086] (29) 서열 번호: 141의 VH 서열 및 서열 번호: 148의 VL 서열,

[0087] (30) 서열 번호: 136의 VH 서열 및 서열 번호: 149의 VL 서열,

[0088] (31) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열을 포함하는 제1 가변 영역, 및 서열 번호: 141의 VH 서열 및 서열 번호: 146의 VL 서열을 포함하는 제2 가변 영역, 또는

[0089] (32) 서열 번호: 140의 VH 서열 및 서열 번호: 147의 VL 서열을 포함하는 제1 가변 영역, 및 서열 번호: 141의

VH 서열 및 서열 번호: 147의 VL 서열을 포함하는 제2 가변 영역

[0090] 을 포함하는, 〔21〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0091] 〔23〕 항CTLA-4 항체가 전장 IgG1 항체인, 〔1〕 내지 〔22〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0092] 〔24〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 332에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔1〕 내지 〔23〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0093] 〔25〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 332에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔1〕 내지 〔24〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0094] 〔26〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔1〕 내지 〔25〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0095] 〔27〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250 및 307에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔1〕 내지 〔26〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0096] 〔28〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250 및 307에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔1〕 내지 〔27〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0097] 〔29〕 변이 Fc 영역이, 이하에 기재된 아미노산 개변 중에서 선택되는 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함하는, 〔1〕 내지 〔28〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체:

[0098] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234에 있어서의 Phe, 위치 235에 있어서의 Gln, 위치 236에 있어서의 Trp, 위치 239에 있어서의 Met, 위치 250에 있어서의 Val, 위치 268에 있어서의 Asp, 위치 270에 있어서의 Glu, 위치 298에 있어서의 Ala, 위치 307에 있어서의 Pro, 위치 330에 있어서의 Met, 위치 332에 있어서의 Glu, 및

[0099] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236에 있어서의 Ala, 위치 250에 있어서의 Val, 위치 270에 있어서의 Glu, 위치 298에 있어서의 Ala, 위치 307에 있어서의 Pro, 위치 326에 있어서의 Asp, 위치 330에 있어서의 Met, 위치 332에 있어서의 Glu, 위치 334에 있어서의 Glu.

[0100] 〔30〕 변이 Fc 영역이, 이하의 (a)~(f)의 어느 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔1〕 내지 〔29〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체:

[0101] (a) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Lys, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 439에 있어서의 Glu,

[0102] (b) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 439에 있어서의 Glu, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Lys,

[0103] (c) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Trp, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val,

[0104] (d) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Trp,

[0105] (e) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349에 있어서의 Cys 및 위치 366에 있어서의 Trp, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Cys, 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val,

[0106] (f) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Cys, 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349에 있어서의 Cys 및 위치 366에 있어서의 Trp.

[0107] 〔31〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드에 있어서의, 이하의 (a)~(d)의 어느 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔1〕 내지 〔30〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체:

[0108] (a) EU 넘버링으로 표시되는 위치 434에 있어서의 Ala,

[0109] (b) EU 넘버링으로 표시되는 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 436에 있어서의 Thr, 위치 438에 있어서의 Arg, 및 위치 440에 있어서의 Glu,

[0110] (c) EU 넘버링으로 표시되는 위치 428에 있어서의 Leu, 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 436에 있어서의 Thr, 위치 438에 있어서의 Arg, 및 위치 440에 있어서의 Glu,

[0111] (d) EU 넘버링으로 표시되는 위치 428에 있어서의 Leu, 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 438에 있어서의 Arg, 및 위치 440에 있어서의 Glu.

[0112] 〔32〕 변이 Fc 영역을 포함하는 중쇄 정상 영역을 포함하는, 〔1〕 내지 〔31〕 중 어느 한 항에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0113] 〔33〕 중쇄 정상 영역이,

[0114] (1) 서열 번호: 350의 제1 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 351의 제2 폴리펩타이드, 또는

[0115] (2) 서열 번호: 343의 제1 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 344의 제2 폴리펩타이드

[0116] 를 포함하는, 〔32〕에 기재된 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0117] 〔34〕 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한 항CTLA-4 항체로서, 항CTLA-4 항체가,

[0118] (1) 서열 번호: 352의 제1 H쇄 폴리펩타이드, 서열 번호: 353의 제2 H쇄 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 161의 L쇄 폴리펩타이드, 또는

[0119] (2) 서열 번호: 335의 제1 H쇄 폴리펩타이드, 서열 번호: 336의 제2 H쇄 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 161의 L쇄 폴리펩타이드

[0120] 를 포함하는, 상기 사용을 위한 항CTLA-4 항체.

[0121] 비한정적인 일 실시태양에 있어서 본 개시는 이하를 제공한다.

[0122] 〔101〕 친Fc 영역에 있어서 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 폴리펩타이드:

[0123] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 및 298, 및

[0124] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 및 334.

[0125] 〔102〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 326에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕에 기재된 폴리펩타이드.

[0126] 〔103〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 또는 〔102〕에 기재된 폴리펩타이드.

[0127] 〔104〕 친Fc 영역에 있어서 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 폴리펩타이드:

[0128] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 326, 및

[0129] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 270, 298, 326, 및 334.

[0130] 〔105〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 332에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 내지 〔104〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0131] 〔106〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 330에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 내지 〔105〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0132] 〔107〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 332에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 내지 〔106〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0133] 〔108〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 330에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 내지 〔107〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0134] 〔109〕 친Fc 영역에 있어서 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 폴리펩타이드:

[0135] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 330, 및 332, 및

[0136] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 270, 298, 326, 330, 332, 및 334.

[0137] 〔110〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250 및 307에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 내지 〔109〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0138] 〔111〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250 및 307에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 내지 〔110〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0139] 〔112〕 친Fc 영역에 있어서 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 폴리펩타이드:

[0140] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 및 307, 및

[0141] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250, 270, 298, 307, 326, 및 334.

[0142] 〔113〕 친Fc 영역에 있어서 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 폴리펩타이드:

[0143] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 및 326, 및

[0144] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 250, 270, 298, 307, 326, 및 334.

[0145] 〔114〕 친Fc 영역에 있어서 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 폴리펩타이드:

[0146] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 330, 및 332, 및

[0147] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 250, 270, 298, 307, 326, 330, 332, 및 334.

[0148] 〔115〕 이하에 기재된 아미노산 개변 중에서 선택되는 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함하는, 〔101〕 내지 〔114〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드:

[0149] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234에 있어서의 Tyr, 혹은 Phe, 위치 235에 있어서의 Gln, 혹은 Tyr, 위치 236에 있어서의 Trp, 위치 239에 있어서의 Met, 위치 250에 있어서의 Val, 위치 268에 있어서의 Asp, 위치 270에 있어서의 Glu, 위치 298에 있어서의 Ala, 위치 307에 있어서의

Pro, 위치 326에 있어서의 Asp, 위치 330에 있어서의 Met, 위치 332에 있어서의 Glu, 및

[0150] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236에 있어서의 Ala, 위치 250에 있어서의 Val, 위치 270에 있어서의 Glu, 위치 298에 있어서의 Ala, 위치 307에 있어서의 Pro, 위치 326에 있어서의 Asp, 위치 330에 있어서의 Met, 혹은 Lys, 위치 332에 있어서의 Asp, 혹은 Glu, 위치 334에 있어서의 Glu.

[0151] 〔116〕 변이 Fc 영역이, 이하의 (a)~(f)의 어느 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 내지 〔115〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드:

[0152] (a) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Lys, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 439에 있어서의 Glu,

[0153] (b) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 439에 있어서의 Glu, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Lys,

[0154] (c) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Trp, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val,

[0155] (d) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Trp,

[0156] (e) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349에 있어서의 Cys 및 위치 366에 있어서의 Trp, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Cys, 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val,

[0157] (f) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Cys, 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349에 있어서의 Cys 및 위치 366에 있어서의 Trp.

[0158] 〔117〕 변이 Fc 영역이, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드에 있어서의, 이하의 (a)~(d)의 어느 아미노산 개변을 추가로 포함하는, 〔101〕 내지 〔116〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드:

[0159] (a) EU 넘버링으로 표시되는 위치 434에 있어서의 Ala,

[0160] (b) EU 넘버링으로 표시되는 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 436에 있어서의 Thr, 위치 438에 있어서의 Arg, 및 위치 440에 있어서의 Glu,

[0161] (c) EU 넘버링으로 표시되는 위치 428에 있어서의 Leu, 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 436에 있어서의 Thr, 위치 438에 있어서의 Arg, 및 위치 440에 있어서의 Glu,

[0162] (d) EU 넘버링으로 표시되는 위치 428에 있어서의 Leu, 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 438에 있어서의 Arg, 및 위치 440에 있어서의 Glu.

[0163] 〔118〕 친Fc 영역에 비해, 변이 Fc 영역에 있어서, FcγRIa, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 Fcγ 수용체에 대한 결합 활성이 증강되어 있는, 〔101〕 내지 〔117〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0164] 〔119〕 친Fc 영역에 비해, 변이 Fc 영역에 있어서, FcγRIIa 및 FcγRIIIa에 대한 결합 활성이 증강되어 있는, 〔118〕에 기재된 폴리펩타이드.

[0165] 〔120〕 친Fc 영역에 비해, 변이 Fc 영역에 있어서, 활성형 Fcγ 수용체와 억제형 Fcγ 수용체 사이의 선택성이 향상되어 있는, 〔101〕 내지 〔119〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0166] 〔120-2〕 친Fc 영역에 비해, 변이 Fc 영역에 있어서, 활성형 Fcγ 수용체에 대한 결합 활성이, 억제형 Fcγ 수용체에 대한 결합 활성에 비해, 선택적으로 증강되어 있는, 〔101〕 내지 〔119〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0167] 〔120-3〕 친Fc 영역에 비해, 변이 Fc 영역에 있어서, 억제형 Fcγ 수용체에의 결합 활성에 대한 활성형 Fcγ

수용체에의 결합 활성의 비율(A/I비)이 큰, 〔101〕 내지 〔119〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0168] 〔120-4〕 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드에 있어서의 상기 비율(A/I비)이, 친Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드와 비교해서, 1.1배 이상, 1.2배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상, 1.5배 이상, 1.6배 이상, 1.7배 이상, 1.8배 이상, 1.9배 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 300배 이상, 400배 이상, 500배 이상, 600배 이상, 700배 이상, 800배 이상, 900배 이상, 1000배 이상, 2000배 이상, 3000배 이상, 4000배 이상, 5000배 이상, 6000배 이상, 7000배 이상, 8000배 이상, 9000배 이상, 또는 10000배 이상, 큰, 〔120-3〕에 기재된 폴리펩타이드.

[0169] 〔120-5〕 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드에 있어서의 상기 비율(A/I비)의 값이, 10 이상, 20 이상, 30 이상, 40 이상, 50 이상, 60 이상, 70 이상, 80 이상, 90 이상, 100 이상, 200 이상, 300 이상, 400 이상, 500 이상, 600 이상, 700 이상, 800 이상, 900 이상, 1000 이상, 2000 이상, 3000 이상, 4000 이상, 5000 이상, 6000 이상, 7000 이상, 8000 이상, 9000 이상, 10000 이상, 11000 이상, 12000 이상, 13000 이상, 14000 이상, 또는 15000 이상인, 〔120-3〕에 기재된 폴리펩타이드.

[0170] 〔121〕 활성형 Fcɣ 수용체가 FcɣRIa, FcɣRIIa, FcɣRIIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 Fcɣ 수용체이고, 억제형 Fcɣ 수용체가 FcɣRIIb인, 〔120〕 ~ 〔120-5〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0171] 〔122〕 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드가 항체인, 〔101〕 내지 〔121〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0172] 〔123〕 친Fc 영역에 아미노산 개변을 도입하는 공정을 포함하는, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제조하는 방법으로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 이하의 위치에 아미노산 개변이 도입되는, 방법:

[0173] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 및 298, 및

[0174] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 및 334.

[0175] 〔124〕 친Fc 영역에 아미노산 개변을 도입하는 공정을 포함하는, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제조하는 방법으로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 이하의 위치에 아미노산 개변이 도입되는, 방법:

[0176] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 326, 및

[0177] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 270, 298, 326, 및 334.

[0178] 〔125〕 친Fc 영역에 아미노산 개변을 도입하는 공정을 포함하는, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제조하는 방법으로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 이하의 위치에 아미노산 개변이 도입되는, 방법:

[0179] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 330, 및 332, 및

[0180] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 270, 298, 326, 330, 332, 및 334.

[0181] 〔126〕 〔101〕 내지 〔122〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드를 코드하는, 단리된 핵산.

[0182] 〔127〕 〔126〕에 기재된 핵산을 포함하는, 숙주 세포.

[0183] 〔128〕 폴리펩타이드를 제조하는 방법으로서, 폴리펩타이드가 제조되도록 〔127〕에 기재된 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, 방법.

[0184] 〔129〕 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한, 〔101〕 내지 〔122〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0185] 〔130〕 세포의 상해에 있어서의 사용을 위한, 〔101〕 내지 〔122〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드.

[0186] 〔131〕 세포의 상해가 ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성에 의한, 〔130〕에 기재된 폴리펩타이드.

[0187] 〔132〕 〔101〕 내지 〔122〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는, 의약 조성물.

[0188] 〔133〕 종양 치료용의 의약 조성물인, 〔132〕에 기재된 의약 조성물.

[0189] 〔134〕 세포상해용의 의약 조성물인, 〔132〕에 기재된 의약 조성물.

[0190] 〔135〕 세포의 상해가 ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성에 의한, 〔134〕에 기재된 의약 조성물.

[0191] 〔136〕 〔101〕 내지 〔122〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드 또는 〔132〕에 기재된 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 종양을 치료하는 방법.

[0192] 〔137〕 〔101〕 내지 〔122〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드 또는 〔132〕에 기재된 의약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 세포를 상해하는 방법.

[0193] 〔138〕 세포의 상해가 ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성에 의한, 〔137〕에 기재된 방법.

[0194] 〔139〕 종양 치료제의 제조에 있어서의, 〔101〕 내지 〔122〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드의 사용.

[0195] 〔140〕 세포상해제의 제조에 있어서의, 〔101〕 내지 〔122〕 중 어느 하나에 기재된 폴리펩타이드의 사용.

[0196] 〔141〕 세포의 상해가 ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성에 의한, 〔140〕에 기재된 사용.

[0197] 〔142〕 친Fc 영역에 아미노산 개변을 도입하는 공정을 포함하는, Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 기능을 개변하는 방법으로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 이하의 위치에 아미노산 개변이 도입되는, 방법:

[0198] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 및 298, 및

[0199] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 및 334.

[0200] 〔143〕 친Fc 영역에 아미노산 개변을 도입하는 공정을 포함하는, Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 기능을 개변하는 방법으로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 이하의 위치에 아미노산 개변이 도입되는, 방법:

[0201] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 326, 및

[0202] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 270, 298, 326, 및 334.

[0203] 〔144〕 친Fc 영역에 아미노산 개변을 도입하는 공정을 포함하는, Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 기능을 개변하는 방법으로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 이하의 위치에 아미노산 개변이 도입되는, 방법:

[0204] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 330, 및 332, 및

[0205] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 270, 298, 326, 330, 332, 및 334.

[0206] 〔145〕 상기 기능의 개변이, FcγRIIa 및 FcγRIIIa에 대한 결합 활성의 증강인, 〔142〕 내지 〔144〕 중 어느 하나에 기재된 방법.

[0207] 〔146〕 상기 기능의 개변이, 활성형 Fcγ 수용체와 억제형 Fcγ 수용체 사이의 선택성의 향상인, 〔142〕 내지 〔144〕 중 어느 하나에 기재된 방법.

[0208] 〔147〕 상기 기능의 개변이, 억제형 Fcγ 수용체에 대한 결합 활성에 비교한 경우의 활성형 Fcγ 수용체에 대한 결합 활성의 선택적인 증강인, 〔142〕 내지 〔144〕 중 어느 하나에 기재된 방법.

[0209] 〔148〕 상기 기능의 개변이, 억제형 Fcγ 수용체에의 결합 활성에 대한 활성형 Fcγ 수용체에의 결합 활성의 비율(A/I비)의 증대인, 〔142〕 내지 〔144〕 중 어느 하나에 기재된 방법.

[0210] 〔149〕 상기 비율(A/I비)이, 친Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드와 비교해서, 1.1배 이상, 1.2배 이상, 1.3배

이상, 1.4배 이상, 1.5배 이상, 1.6배 이상, 1.7배 이상, 1.8배 이상, 1.9배 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 300배 이상, 400배 이상, 500배 이상, 600배 이상, 700배 이상, 800배 이상, 900배 이상, 1000배 이상, 2000배 이상, 3000배 이상, 4000배 이상, 5000배 이상, 6000배 이상, 7000배 이상, 8000배 이상, 9000배 이상, 또는 10000배 이상, 증대되는, 〔148〕에 기재된 방법.

[0211] 〔150〕 활성형 Fcɣ 수용체가 FcɣRIa, FcɣRIIa, FcɣRIIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 Fcɣ 수용체이고, 억제형 Fcɣ 수용체가 FcɣRIIb인, 〔142〕 내지 〔149〕 중 어느 하나에 기재된 방법.

[0212] 〔151〕 상기 기능의 개변이, ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성의 증강인, 〔142〕 내지 〔144〕 중 어느 하나에 기재된 방법.

도면의 간단한 설명

[0213] [도 1] 도 1은, 실시예 2-1-5에 기재되는 바와 같이, CT26 세포주(결장암)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 mNS-mFa55(컨트롤 항체) 및 SW1208-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 컨트롤 항체는 1mg/kg, 2mg/kg, 4mg/kg, 8mg/kg으로, 스위치 항체는 30mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 2] 도 2는, 실시예 2-2-4에 기재되는 바와 같이, MBT2 세포주(방광암)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 mNS-mFa55(컨트롤 항체) 및 SW1208-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 컨트롤 항체는 1mg/kg으로, 스위치 항체는 30mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=5의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 3] 도 3은, 실시예 2-3-5에 기재되는 바와 같이, Colon38 세포주(결장암)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 hNS-mFa55(컨트롤 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 컨트롤 항체는 0.3mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 4] 도 4는, 실시예 2-3-5에 기재되는 바와 같이, Colon38 세포주(결장암)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1610-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 스위치 항체는 0.3mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 5] 도 5는, 실시예 2-3-5에 기재되는 바와 같이, Colon38 세포주(결장암)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1612-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 스위치 항체는 0.3mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 6] 도 6은, 실시예 2-4-5에 기재되는 바와 같이, A755 세포주(유방암)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 hNS-mFa55(컨트롤 항체) 및 SW1610-mFa55, 1389-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 컨트롤 항체는 10mg/kg으로 스위치 항체는 각각 30mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 7] 도 7은, 실시예 2-5-5에 기재되는 바와 같이, B16F1/OVA 세포주(흑색종)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 hNS-mFa55(컨트롤 항체) 및 SW1610-mFa55, 1389-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 컨트롤 항체는 10mg/kg으로 스위치 항체는 각각 100mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 8] 도 8은, 실시예 3에 기재되는 바와 같이, 대장암 환자 유래 PBMC에 있어서의, Ipilimumab 및 SW1610-ART12, SW1389-ART5+ACT1(스위치 항체)에 의한 Treg depletion 활성을 나타내는 도면이다. 각종 항체는 10μg/mL 혹은 50μg/mL로 처치되었다. 각 점은 상이한 환자 유래의 샘플을 나타내고, 그 평균값은 가로선으로 나타난다.

[도 9] 도 9는, 실시예 3에 기재되는 바와 같이, 두경부암 환자 유래 PBMC에 있어서의, Ipilimumab 및 SW1610-ART12, SW1389-ART5+ACT1(스위치 항체)에 의한 Treg depletion 활성을 나타내는 도면이다. 각종 항체는 10μ

g/mL 혹은 50μg/mL로 처치되었다. 각 점은 상이한 환자 유래의 샘플을 나타내고, 그 평균값은 가로선으로 나타난다.

[도 10] 도 10은, 실시예 3에 기재되는 바와 같이, 췌암 환자 유래 PBMC에 있어서의, Ipilimumab 및 SW1610-ART12, SW1389-ART5+ACT1(스위치 항체)에 의한 Treg depletion 활성을 나타내는 도면이다. 각종 항체는 10μg/mL 혹은 50μg/mL로 처치되었다. 각 점은 상이한 환자 유래의 샘플을 나타내고, 그 평균값은 가로선으로 나타난다.

[도 11] 도 11은, 실시예 3에 기재되는 바와 같이, 신암 환자 유래 PBMC에 있어서의, Ipilimumab 및 SW1610-ART12, SW1389-ART5+ACT1(스위치 항체)에 의한 Treg depletion 활성을 나타내는 도면이다. 각종 항체는 10μg/mL 혹은 50μg/mL로 처치되었다. 각 점은 상이한 환자 유래의 샘플을 나타내고, 그 평균값은 가로선으로 나타난다.

[도 12] 도 12는, 실시예 3에 기재되는 바와 같이, 폐암 환자 유래 PBMC에 있어서의, Ipilimumab 및 SW1610-ART12, SW1389-ART5+ACT1(스위치 항체)에 의한 Treg depletion 활성을 나타내는 도면이다. 각종 항체는 10μg/mL 혹은 50μg/mL로 처치되었다.

[도 13] 도 13은, 실시예 5에 기재되는 바와 같이, Colon38 세포주(결장암)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1610-mFa55(스위치 항체) 및 항PD-L1 항체의 병용에 의한 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 스위치 항체는 0.3mg/kg으로 이식 후 14일 후에, 항PD-L1 항체는 10mg/kg으로 이식 후 14, 17, 및 20일 후에 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=5의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 14] 도 14는, 실시예 5에 기재되는 바와 같이, Colon38 세포주(결장암)를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1389-mFa55(스위치 항체) 및 PD-L1 항체의 병용에 의한 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 스위치 항체는 1mg/kg으로 이식 후 14일 후에, 항PD-L1 항체는 10mg/kg으로 이식 후 14 및 17일 후에 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=5의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 15] 도 15는, 참고 실시예 1-9에 기재되는 바와 같이, 항CTLA-4 항체인 ABAM004의 ATP, ADP 또는 AMP 농도에 의존한 CTLA-4에 대한 결합 활성을 나타내는 도면이다.

[도 16] 도 16은, 참고 실시예 1-10에 기재되는 바와 같이, 항CTLA-4 항체인 ABAM004의 AMP 농도에 의존한 CTLA-4 발현 세포에 대한 결합 활성을 나타내는 도면이다.

[도 17] 도 17은, 참고 실시예 1-11에 기재되는 바와 같이, 항CTLA-4 항체인 ABAM004의 AMP 존재하 및 비존재하에 있어서의 CTLA-4 발현 세포에 대한 ADCC 활성을 나타내는 도면이다.

[도 18] 도 18은, 참고 실시예 2-13에 기재되는 바와 같이, ABAM004 Fab 프래그먼트와 AMP의 결합의 양식을 나타내는 도면이다. 도면 중, 당해 항체의 중쇄를 흑색, 경쇄를 회색, AMP를 구봉(球棒) 모델로 나타낸다. AMP와 상호작용을 형성하는 아미노산 잔기를 스틱 모델로 나타냈다. 파선과 그 수치는 각 아미노산 잔기와 AMP 사이의 거리(Å)를 나타낸다.

[도 19] 도 19는, 참고 실시예 2-14에 기재되는 바와 같이, ABAM004 Fab 단편과 AMP, 인간 CTLA4(hCTLA4)의 결합의 양식을 나타내는 도면이다. 도면 중, 당해 항체의 중쇄를 흑색, 경쇄를 회색, hCTLA4를 백색, AMP를 구봉 모델로 나타낸다. 당해 항체 또는 AMP의 어느 부분으로부터 4.2Å 이내의 거리에 위치하는 비수소 원자를 1개 이상 포함하는, hCTLA4의 아미노산 잔기를 에피토프로 하고, 스틱 모델로 나타낸다.

[도 20] 도 20은, 참고 실시예 2-14에 기재되는 바와 같이, ABAM004 Fab 단편의 에피토프를 hCTLA4의 아미노산 서열 중에 매핑한 도면이다. 도면 중, 흑색으로 나타낸 아미노산 잔기는, 결정 구조에 있어서 ABAM004 또는 AMP의 어느 부분으로부터 4.2Å 이내의 거리에 위치하는 비수소 원자를 1개 이상 포함하는, hCTLA4의 아미노산 잔기를 나타낸다. 회색으로 나타낸 아미노산 잔기는, 결정 구조 중에서 디스오더되어 있었기 때문에, 모델이 구축되지 않았던 잔기를 나타낸다.

[도 21] 도 21은, 참고 실시예 2-15에 기재되는 바와 같이, ABAM004 Fab 단편 단독과 AMP와의 복합체, 및 AMP, CTLA4와의 3자 복합체의 결정 구조로부터 당해 항체와 AMP를 추출한 구조를 중첩한 도면이다. 도면 중, 당해 항체의 중쇄를 흑색, 경쇄를 회색, AMP를 구봉 모델로 나타낸다. 가는 선으로 ABAM004 Fab 프래그먼트 단독의 구조를, 중간 굵기선으로 AMP와의 2자 복합체의 구조를, 굵은 선으로 3자 복합체의 구조를 나타낸다.

[도 22] 도 22는, 참고 실시예 3-2에 기재되는 바와 같이, 항CTLA-4 항체 ABAM004 및 그의 개변체인

04H0150/04L0072의 ATP, ADP 또는 AMP 농도에 의존한 CTLA-4에 대한 결합 활성을 나타내는 도면이다. 도면 중의 표기로서, WT는 ABAM004를, H150L072는 04H0150/04L0072를 각각 나타낸다.

[도 23] 도 23은, 참고 실시예 3-6에 기재되는 바와 같이, 항CTLA-4 항체 SW1077의 ATP 농도에 의존한 CTLA-4에 대한 중화 활성을 나타내는 도면이다.

[도 24] 도 24는, 참고 실시예 3-7-4에 기재되는 바와 같이, FM3A 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 mNS-mFa55(컨트롤 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 항체는 0.01mg/kg, 0.1mg/kg, 0.25mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 30mg/kg, 100mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 25] 도 25는, 참고 실시예 3-7-4에 기재되는 바와 같이, FM3A 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1208-mFa55(스위치(switch) 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 항체는 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, 500mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 26] 도 26은, 참고 실시예 3-7-7에 기재되는 바와 같이, FM3A 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 mNS-mFa55(컨트롤 항체) 및 SW1208-mFa55(스위치 항체) 투여 시의 종양 내에서의 effector Treg 세포의 비율의 변화를 나타내는 도면이다. mNS-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg으로 미정맥으로부터 투여하고, SW1208-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, 500mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 투여 후 6일째에서 종양을 채재(採材)하고, FACS 해석으로 effector Treg의 증감을 평가했다. 세로축은 effector Treg($CD4^+$ $FoxP3^+$ $KLRG1^+$)의, $CD45^+$ 세포에 대한 비율이다. n=3의 평균값을 나타낸다.

[도 27] 도 27은, 참고 실시예 3-7-8에 기재되는 바와 같이, FM3A 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 mNS-mFa55(컨트롤 항체) 및 SW1208-mFa55(스위치 항체) 투여 시의 비장에서의 활성화 helper T 세포의 비율의 변화를 나타내는 도면이다. mNS-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg으로 미정맥으로부터 투여하고, SW1208-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, 500mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 투여 후 6일째에서 비장을 채재하고, FACS 해석으로 활성화 helper T 세포의 증감을 평가했다. 세로축은 활성화 helper T 세포($CD4^+$ $Foxp3^-$ $ICOS^+$)의, $CD45^+$ 세포에 대한 비율이다. n=3의 평균값을 나타낸다.

[도 28] 도 28은, 참고 실시예 4-3-5에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1389-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 항체는 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 29] 도 29는, 참고 실시예 4-3-5에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 hNS-mFa55(컨트롤 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 항체는 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 30mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=4의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 30] 도 30은, 참고 실시예 4-3-8에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 hNS-mFa55(컨트롤 항체) 및 SW1389-mFa55(스위치 항체) 투여 시의 종양 내에서의 effector Treg 세포의 비율의 변화를 나타내는 도면이다. hNS-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 30mg/kg, SW1389-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, 500mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 투여 후 6일째에서 종양을 채재하고, FACS 해석으로 effector Treg의 증감을 평가했다. 세로축은 effector Treg($CD4^+$ $FoxP3^+$ $CCR7^{low}$ $KLRG1^+$)의, $CD45^+$ 세포에 대한 비율이다. n=3의 평균값을 나타낸다.

[도 31] 도 31은, 참고 실시예 4-3-9에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 hNS-mFa55(컨트롤 항체) 및 SW1389-mFa55(스위치 항체) 투여 시의 비장에서의 활성화 helper T 세포의 비율의 변화를 나타내는 도면이다. hNS-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 30mg/kg, SW1389-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, 500mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 투여 후 6일째에서 비장을 채재하고, FACS 해석으로 활성화 helper T 세포의 증감을 평가했다. 세로축은 활성화 helper T 세포($CD4^+$ $Foxp3^-$ $ICOS^+$)의, $CD45^+$ 세포에 대한 비율이다. n=3의 평균값을 나타낸다.

[도 32] 도 32는, 참고 실시예 5-4-5에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1610-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 항체는 0.3mg/kg,

1mg/kg, 3mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=5의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 33] 도 33은, 참고 실시예 5-4-5에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1612-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 항체는 0.3mg/kg, 1mg/kg, 3mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=5의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 34] 도 34는, 참고 실시예 5-4-5에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1615-mFa55(스위치 항체)의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 항체는 0.3mg/kg, 1mg/kg, 3mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=5의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 35] 도 35는, 참고 실시예 5-4-8에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1610-mFa55, SW1612-mFa55 및 SW1615-mFa55(모두 스위치 항체) 투여 시의 종양 내에서의 effector Treg 세포의 비율의 변화를 나타내는 도면이다. SW1610-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, SW1612-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, SW1615-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, 400mg/kg, 음성 컨트롤 항체 KLH-mFa55를 400mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 투여 후 6일째에서 종양을 채재하고, FACS 해석으로 effector Treg의 증감을 평가했다. 세로축은 effector Treg($CD4^+$ $FoxP3^+$ $CCR7^{low}$ $KLRG1^+$)의, $CD45^+$ 세포에 대한 비율이다. n=3의 평균값을 나타낸다.

[도 36] 도 36은, 참고 실시예 5-4-9에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hGPC3 세포주를 이식한 마우스 모델에 있어서의, 항CTLA-4 항체 SW1610-mFa55, SW1612-mFa55 및 SW1615-mFa55(모두 스위치 항체) 투여 시의 비장에서의 활성화 helper T 세포의 비율의 변화를 나타내는 도면이다. SW1610-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, SW1612-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, SW1615-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, 400mg/kg, 음성 컨트롤 항체 KLH-mFa55를 400mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 투여 후 6일째에서 비장을 채재하고, FACS 해석으로 활성화 helper T 세포의 증감을 평가했다. 세로축은 활성화 helper T 세포($CD4^+$ $Foxp3^-$ $ICOS^+$)의, $CD45^+$ 세포에 대한 비율이다. n=3의 평균값을 나타낸다.

[도 37] 도 37은, 참고 실시예 6-2에 기재되는 바와 같이, FcγR에의 결합이 증강된 각종 개변 정상 영역을 갖는 항체의 in vitro에서의 ADCC 활성의 비교를 나타내는 도면이다. 도면 중의 표기로서, IgG1은 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT를, GASDALIE는 MDX10D1H-GASDALIE/MDX10D1L-k0MT를, ART6은 MDX10D1H-Kn462/MDX10D1H-H1445/MDX10D1L-k0MT를, ART8은 MDX10D1H-Kn461/MDX10D1H-H1443/MDX10D1L-k0MT를 각각 나타낸다. 여기에서, IgG1은 컨트롤의 정상 영역을 갖는 항체이고, GASDALIE는 선행 문헌에 기재된 정상 영역을 갖는 항체이고, ART6 및 ART8은 참고 실시예 6-1에서 제작된 개변 정상 영역을 갖는 항체이다.

[도 38] 도 38은, 참고 실시예 6-3에 기재되는 바와 같이, FcγR에의 결합이 증강된 각종 개변 정상 영역을 갖는 항체의 in vitro에서의 ADCP 활성의 비교를 나타내는 도면이다. 도면 중의 표기로서, IgG1은 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT를, GASDIE는 MDX10D1H-GASDIE/MDX10D1L-k0MT를, ART6은 MDX10D1H-Kn462/MDX10D1H-H1445/MDX10D1L-k0MT를, ART8은 MDX10D1H-Kn461/MDX10D1H-H1443/MDX10D1L-k0MT를 각각 나타낸다. 여기에서, IgG1은 컨트롤의 정상 영역을 갖는 항체이고, GASDIE는 선행 문헌에 기재된 정상 영역을 갖는 항체이고, ART6 및 ART8은 참고 실시예 6-1에서 제작된 개변 정상 영역을 갖는 항체이다.

[도 39] 도 39는, 참고 실시예 6-4에 기재되는 바와 같이, FcγR에의 결합이 증강된 개변 정상 영역을 갖는 항CTLA4 스위치 항체 SW1389-ART6의 in vitro에서의 ADCC 활성을 나타내는 도면이다.

[도 40] 도 40은, 참고 실시예 6-4에 기재되는 바와 같이, FcγR에의 결합이 증강된 개변 정상 영역을 갖는 항CTLA4 스위치 항체 SW1610-ART6의 in vitro에서의 ADCC 활성을 나타내는 도면이다.

[도 41] 도 41은, 참고 실시예 6-4에 기재되는 바와 같이, FcγR에의 결합이 증강된 개변 정상 영역을 갖는 항CTLA4 스위치 항체 SW1612-ART6의 in vitro에서의 ADCC 활성을 나타내는 도면이다.

[도 42] 도 42는, 참고 실시예 6-5에 기재되는 바와 같이, 항CTLA4 스위치 항체 SW1389의 CTLA4에 대한 중화 활성(이펙터 세포의 활성화에 대해서 억제적으로 작용하는 CTLA4의 시그널을 해제하는 활성)을 나타내는 도면이다.

[도 43] 도 43은, 참고 실시예 6-5에 기재되는 바와 같이, 항CTLA4 스위치 항체 SW1610의 CTLA4에 대한 중화 활성(이펙터 세포의 활성화에 대해서 억제적으로 작용하는 CTLA4의 시그널을 해제하는 활성)을 나타내는 도면이다.

[도 44] 도 44는, 참고 실시예 6-5에 기재되는 바와 같이, 항CTLA4 스위치 항체 SW1612의 CTLA4에 대한 중화 활성(이펙터 세포의 활성화에 대해서 억제적으로 작용하는 CTLA4의 시그널을 해제하는 활성)을 나타내는 도면이다.

[도 45] 도 45는, 참고 실시예 6-5에 기재되는 바와 같이, 항CTLA4 스위치 항체 SW1615의 CTLA4에 대한 중화 활성(이펙터 세포의 활성화에 대해서 억제적으로 작용하는 CTLA4의 시그널을 해제하는 활성)을 나타내는 도면이다.

[도 46] 도 46은, 참고 실시예 6-6에 기재되는 바와 같이, 항CTLA4 스위치 항체 SW1389-ART5+ACT1의 CTLA4 양성 제어성 T 세포에 대한 in vitro 세포상해 활성을 나타내는 도면이다.

[도 47] 도 47은, 참고 실시예 6-6에 기재되는 바와 같이, 항CTLA4 스위치 항체 SW1389-ART6+ACT1의 CTLA4 양성 제어성 T 세포에 대한 in vitro 세포상해 활성을 나타내는 도면이다.

[도 48] 도 48은, 참고 실시예 6-6에 기재되는 바와 같이, 항CTLA4 스위치 항체 SW1610-ART5+ACT1의 CTLA4 양성 제어성 T 세포에 대한 in vitro 세포상해 활성을 나타내는 도면이다.

[도 49] 도 49는, 참고 실시예 6-6에 기재되는 바와 같이, 항CTLA4 스위치 항체 SW1610-ART6+ACT1의 CTLA4 양성 제어성 T 세포에 대한 in vitro 세포상해 활성을 나타내는 도면이다.

[도 50] 도 50은, 참고 실시예 9-2에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hEREG 세포를 타겟 세포로 하고, hFcγRIIIaV를 발현하는 Jurkat 세포를 이펙터 세포로 했을 때의 ADCC reporter gene assay의 결과를 나타내는 도면이다. 각 점은 n=2의 Fold induction값의 평균값을 나타낸다.

[도 51] 도 51은, 참고 실시예 10에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hEREG 세포를 타겟 세포로 하고, hFcγRIIaH를 발현하는 Jurkat 세포를 이펙터 세포로 했을 때의 ADCP reporter gene assay의 결과를 나타내는 도면이다. 각 점은 n=3의 Fold induction값의 평균값을 나타낸다.

[도 52] 도 52는, 참고 실시예 11-5에 기재되는 바와 같이, Hepa1-6/hEREG 세포주를 이식한 인간 FcγR 트랜스제닉 마우스 모델에 있어서의, EGL-G1d, EGL-afucosyl, EGL-ART6의 항종양 효과를 나타내는 도면이다. 항체는 10mg/kg으로 미정맥으로부터 투여되었다. 각 점은 1군 n=5의 종양 체적의 평균값을 나타낸다.

[도 53] 도 53은, 참고 실시예 12에 기재되는 바와 같이, 개변 Fc를 갖는 각 항체의 hC1q에 대한 결합 활성을 나타내는 도면이다. 각 점은 n=2의 ELISA 발색값의 평균값을 나타낸다.

[도 54] 도 54는, 참고 실시예 12에 기재되는 바와 같이, 개변 Fc를 갖는 각 항체의 hC1q에 대한 결합 활성을 나타내는 계속되는 도면이다. 각 점은 n=2의 ELISA 발색값의 평균값을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0214] 본 명세서에 기재 또는 인용되는 수법 및 수순은, 대체로 충분히 이해되고 있고, 예를 들면, Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3rd edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed. (1987)); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney), ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J.E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C.A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory

Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); 및 Cancer: Principles and Practice of Oncology (V.T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993)에 기재된 광범위하게 이용되고 있는 기법 등의 종래의 기법을 이용하여, 당업자에 의해 일반적으로 사용된다.

[0215] I. 정의

[0216] 별도 정의하지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 기술 용어 및 과학 용어는, 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자에 의해 일반적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994), 및 March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)는, 본 출원에 있어서 사용되는 용어의 다수에 대한 일반적 지침을 당업자에게 제공한다. 특허출원 및 간행물을 포함하는, 본 명세서에 인용되는 모든 참고문헌은, 그 전체가 참조에 의해 본 명세서에 원용된다.

[0217] 본 명세서를 해석할 목적을 위해서, 이하의 정의가 적용되고, 해당하는 경우는 언제라도, 단수형으로 사용된 용어는 복수형도 포함하고, 그 반대도 또한 마찬가지이다. 본 명세서에서 사용되는 용어는, 특정한 태양을 설명하는 것만을 목적으로 하고 있고, 한정을 의도한 것은 아닌 것이 이해되어야 한다. 하기의 정의 중 어느 것이, 참조에 의해 본 명세서에 원용된 임의의 문서와 모순되는 경우에는, 하기의 정의가 우선하는 것으로 한다.

[0218] 본 명세서에서 용어 「및/또는」은, 「및/또는」의 전후에 기재되는 각 대상 또는 그들의 임의의 조합을 나타낸다. 예를 들면, 「A, B 및/또는 C」에는, 「A」, 「B」, 「C」의 각 대상 외에, 「A 및 B」, 「A 및 C」, 「B 및 C」, 및 「A 및 B 및 C」 중에서 선택되는 임의의 조합도 포함한다.

[0219] 본 명세서의 취지에서의 「억셉터 인간 프레임워크」는, 아래에서 정의하는 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크에서 유래하는, 경쇄 가변 도메인(VL) 프레임워크 또는 중쇄 가변 도메인(VH) 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는, 프레임워크이다. 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크에서 「유래하는」 억셉터 인간 프레임워크는, 그들의 동일한 아미노산 서열을 포함해도 되고, 또는 아미노산 서열의 변경을 포함하고 있어도 된다. 몇 개의 태양에 있어서, 아미노산의 변경의 수는, 10 이하, 9 이하, 8 이하, 7 이하, 6 이하, 5 이하, 4 이하, 3 이하, 또는 2 이하이다. 몇 개의 태양에 있어서, VL 억셉터 인간 프레임워크는, VL 인간 면역글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 컨센서스 프레임워크 서열과, 서열이 동일하다.

[0220] 「항체 의존성 세포 개재성 세포상해」 또는 「ADCC」(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)는, 분비된 면역글로불린이 특정한 세포상해성 세포(예를 들면, NK 세포, 호중구 및 매크로파지) 상에 존재하는 Fc 수용체(FcR)에 결합하고, 그에 의해 이들 세포상해성 이펙터 세포가 항원을 갖는 표적 세포에 특이적으로 결합할 수 있고, 그리고 그 후에 그 표적 세포를 세포독에 의해 살상할 수 있게 되는, 세포상해의 일 형태를 말한다. ADCC를 매개하는 프라이머리 세포인 NK 세포는 FcγRIII만을 발현하고, 단구는 FcγRI, FcγRII, 및 FcγRIII을 발현한다. 조혈 세포 상의 FcR의 발현은, Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9: 457-92 (1991)의 제464페이지의 표 3에 정리되어 있다. 목적하는 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위해서, 인 비트로 ADCC 측정법, 예를 들면 미국 특허 제5,500,362호 혹은 제5,821,337호 또는 미국 특허 제6,737,056호(Presta)에 기재된 것이 실시될 수 있다. 그와 같은 측정법에 유용한 이펙터 세포는, PBMC 및 NK 세포를 포함한다. 혹은 또는 그에 더하여, 목적하는 분자의 ADCC 활성은, 예를 들면 Clynes et al. PNAS (USA) 95: 652-656 (1998)에 개시되는 동물 모델과 같은 동물 모델에 있어서, 인 비보에서 평가되어도 된다.

[0221] 「세포상해 활성」으로서는, 예를 들면 전술한 항체 의존성 세포 개재성 세포상해(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC) 활성, 후술하는 보체 의존성 세포상해(complement-dependent cytotoxicity: CDC) 활성, 및 T 세포에 의한 세포상해 활성 등을 들 수 있다. CDC 활성이란 보체계에 의한 세포상해 활성을 의미한다. 한편, ADCC 활성이란, 표적 세포의 세포 표면에 존재하는 항원에 항체가 결합하고, 당해 항체에 이펙터 세포가 추가로 결합하는 것에 의해, 당해 이펙터 세포가 표적 세포에 상해를 주는 활성을 의미한다. 목적하는 항체가 ADCC 활성을 갖는지 여부, 또는 CDC 활성을 갖는지 여부는 공지된 방법에 의해 측정될 수 있다(예를 들면, Current Protocols in Immunology, Chapter 7. Immunologic studies in humans, Coligan 등 편(1993) 등).

[0222] 「중화 활성」이란, 어떠한 생물학적 활성에 관여하는 분자에 항체가 결합하는 것에 의해, 당해 생물학적 활성을 저해하는 활성을 말한다. 몇 개의 태양에 있어서, 생물학적 활성은 리간드와 리셉터의 결합에 의해 초래된다. 특정한 태양에 있어서, 항체가 당해 리간드 또는 리셉터에 결합하는 것에 의해, 당해 리간드와 리셉터의 결합을 저해한다. 이와 같은 중화 활성을 갖는 항체는 중화 항체라고 불린다. 어떤 피검 물질의 중화 활성

은, 리간드의 존재하에 있어서의 생물학적 활성을 그 피검 물질의 존재 또는 비존재하의 조건 사이에서 비교하는 것에 의해 측정될 수 있다.

[0223] 「항체 의존성 세포성 식작용」 또는 「ADCP」라는 용어는, 항체로 덮인 세포의 전체 또는 일부 중 어느 것이, 면역글로불린 Fc 영역에 결합하는 식작용성 면역 세포(예를 들면, 매크로파지, 호중구, 및 수상(樹狀) 세포)의 내부에 도입되는 프로세스를 의미한다.

[0224] 용어 「결합 활성(binding activity)」 및 「결합능」은, 본 명세서에서는 서로 교환 가능하게 이용되고, 분자(예를 들면, 항체 혹은 다른 폴리펩타이드)의 1개 또는 그 이상의 결합 부위(예를 들면, 가변 영역 혹은 Fc 영역)와, 분자의 결합 파트너(예를 들면, 항원 혹은 Fcγ 수용체) 사이의, 비공유 결합적인 상호작용의 합계의 강도를 말한다. 여기에서, 「결합 활성(binding activity)」은, 어떤 결합쌍의 멤버(예를 들면, 항체와 항원, 혹은 Fc 영역과 Fcγ 수용체) 사이의 1:1 상호작용에 엄밀히 한정되지 않는다. 예를 들면, 결합쌍의 멤버가 1가에서의 1:1 상호작용을 반영하는 경우, 결합 활성은 고유의 결합 어피니티(「어피니티」)를 말한다. 결합쌍의 멤버가, 1가에서의 결합 및 다가에서의 결합의 양쪽이 가능한 경우, 결합 활성은, 이들의 결합력의 총합이 된다. 분자 X의 그 파트너 Y에 대한 결합 활성은, 일반적으로, 해리 상수(KD) 또는 「단위 리간드양당의 애널라이트 결합량」에 의해 나타낼 수 있다. 결합 활성은, 본 명세서에 기재된 것을 포함하는, 당해 기술 분야에 있어서 알려진 통상의 방법에 의해 측정될 수 있다. 결합 활성을 측정하기 위한 구체적인 실례가 되는 및 예시적인 태양에 대해서는, 아래에서 기술한다.

[0225] 「어피니티 성숙」 항체는, 개변을 구비하고 있지 않은 친항체와 비교해서, 1개 또는 복수의 초가변 영역(hypervariable region: HVR) 중에 항체의 항원에 대한 어피니티의 개선을 초래하는 1개 또는 복수의 개변을 수반하는, 항체를 말한다.

[0226] 용어 「항CTLA-4 항체」 또는 「CTLA-4에 결합하는 항체」는, 충분한 어피니티로 CTLA-4와 결합할 수 있는 항체이고, 그 결과, 그 항체가 CTLA-4를 표적화했을 때에 진단제 및/또는 치료제로서 유용한, 항체를 말한다. 일 태양에 있어서, 무관계한 비CTLA-4 단백질에의 항CTLA-4 항체의 결합의 정도는, (예를 들면, 방사 면역 측정법(radioimmunoassay: RIA)에 의해) 측정했을 때, 항체의 CTLA-4에 대한 결합의 약 10% 미만이다. 특정한 태양에 있어서, CTLA-4에 결합하는 항체는, ≤1μM, ≤100nM, ≤10nM, ≤1nM, ≤0.1nM, ≤0.01nM, 또는 ≤0.001nM(예를 들면, 10^{-8}M 이하, 예를 들면 10^{-8}M~10^{-13}M, 예를 들면, 10^{-9}M~10^{-13}M)의 해리 상수(KD)를 갖는다. 특정한 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 상이한 종으로부터의 CTLA-4 사이에 보존되어 있는 CTLA-4의 에피토프에 결합한다.

[0227] 본 명세서에서 용어 「항체」는, 가장 넓은 의미로 사용되고, 원하는 항원 결합 활성을 나타내는 한은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이성 항체(예를 들면, 이중특이성 항체) 및 항체 단편을 포함하는, 여러 가지 항체 구조를 포함한다.

[0228] 「항체 단편」은, 완전 항체가 결합하는 항원에 결합하는 당해 완전 항체의 일부분을 포함하는, 당해 완전 항체 이외의 분자를 말한다. 항체 단편의 예는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$; 다이아보디; 선상 항체; 단쇄 항체 분자(예를 들면, scFv); 및, 항체 단편으로부터 형성된 다중특이성 항체를 포함한다.

[0229] 참조 항체와 「동일한 에피토프에 결합하는 항체」는, 경합 어세이에 있어서 그 참조 항체가 자신의 항원에 하는 결합을, 예를 들면 50% 이상 저지하는 항체를 말하고, 및/또는, 참조 항체는, 경합 어세이에 있어서 전술한 항체가 자신의 항원에 하는 결합을, 예를 들면 50% 이상 저지한다. 예시적인 경합 어세이가, 본 명세서에서 제공된다.

[0230] 「자기면역 질환」은, 그 개체 자신의 조직으로부터 생기고, 또한 그 개체 자신의 조직에 대해서 향해지는 비악성 질환 또는 장애를 말한다. 본 명세서에서, 자기면역 질환은, 악성 또는 암성의 질환 또는 상태를 명확하게 제외하는 것이고, 특히 B 세포 림프종, 급성 림프아구성 백혈병(acute lymphoblastic leukemia: ALL), 만성 림프구성 백혈병(chronic lymphocytic leukemia: CLL), 헤어리 백혈병, 및 만성 골수아구성 백혈병을 제외한다. 자기면역 질환 또는 장애의 예는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 이하의 것을 포함한다: 건선 및 피부염(예를 들면, 아토피성 피부염)을 포함하는 염증성 피부 질환 등의 염증성 반응; 전신성 강피증 및 경화증; 염증성 장 질환에 관련하는 반응(예를 들면, 크론병 및 궤양성 대장염); 호흡 궁박 증후군(성인 호흡 궁박 증후군; adult respiratory distress syndrome: ARDS를 포함한다); 피부염; 수막염; 뇌염; 포도막염; 대장염; 사구체 신염; 예를 들면 습진 및 천식, 및 T 세포의 침윤 및 만성 염증 반응을 수반하는 다른 상태 등의 알레르기성 상태; 아

테롬 경화; 백혈구 접착 부전증; 관절 류머티즘; 전신성 에리테마토서스(systemic lupus erythematosus: SLE)(루푸스 신염, 피부 루푸스를 포함하지만 이들로 한정되지 않는다); 당뇨병(예를 들면, I형 당뇨병 또는 인슐린 의존성 당뇨병); 다발성 경화증; 레이노 증후군; 자기면역성 갑상선염; 하시모토 갑상선염; 알레르기성 뇌척수염; 쇼그렌 증후군; 약년 발증 당뇨병; 및 전형적으로 결핵, 사르코이도시스, 다발성 근염, 육아종증, 및 혈관염에 있어서 보이는 사이토카인 및 T 림프구에 의해 매개되는 급성 및 지연형 과민증에 관련하는 면역 반응; 악성 빈혈(애디슨병); 백혈구의 누출을 수반하는 질환; 중추 신경계(central nervous system: CNS) 염증성 장애; 다장기 손상 증후군; 용혈성 빈혈(크라이오글로불린혈증 또는 쿰스 양성 빈혈을 포함하지만 이들로 한정되지 않는다); 중증 근무력증; 항원-항체 복합체 개재성 질환; 항사구체 기저막 질환; 항인지질 증후군; 알레르기성 신경염; 그레이브스병; 램버트-이튼 근무력 증후군; 수포성 유사천포창; 천포창; 자기면역성 다선성 내분비 장애; 라이터병; 스티프-맨 증후군; 베체트병; 거세포성 동맥염; 면역 복합체성 신염; IgA 신증; IgM 다발성 뉴로파시; 면역성 혈소판 감소성 자반병(immune thrombocytopenic purpura: ITP) 또는 자기면역성 혈소판 감소증.

[0231] 용어 「암」 및 「암성」은, 조절되지 않는 세포 성장/증식에 의해 전형적으로 특징지어지는 포유동물에 있어서의 생리학적 상태를 말하거나, 또는 설명하는 것이다. 암의 예는, 유방암 및 간암을 포함한다.

[0232] 「보체 의존성 세포상해」 또는 「CDC」라는 용어는, 표적에 결합한 항체의 Fc 이펙터 도메인이 일련의 효소 반응을 활성화하고, 결과적으로 표적 세포의 막에 구멍을 형성시키는, 세포사를 유도하기 위한 메커니즘을 의미한다. 전형적으로는, 표적 세포 상에서 형성된 항원-항체 복합체가, 보체 성분 C1q에 결합하여 활성화되고, 다음으로, 보체 성분 C1q가, 보체 캐스케이드를 활성화하여, 표적 세포의 죽음을 초래한다. 또한, 보체의 활성화는, 표적 세포의 표면에의 보체 성분의 침착도 초래하는 경우가 있고, 이에 의해, 백혈구 상의 보체 수용체(예를 들면 CR3)에 결합하는 것에 의해 ADCC가 촉진된다.

[0233] 「화학요법제」는, 암의 치료에 유용한 화학적 화합물을 말한다. 화학요법제의 예는, 이하를 포함한다: 싸이오테파 및 사이클로포스파마이드(CYTOXAN(등록상표)) 등의 알킬화제; 부설판, 임프로설판, 및 파이포설판 등의 설폰산 알킬; 벤조도파(benzodopa), 카보쿠온, 메투레도파(meturedopa), 및 유레도파(uredopa) 등의 아지리딘; 알트레타민, 트라이에틸렌멜라민, 트라이에틸렌포스포아마이드, 트라이에틸렌싸이오포스포아마이드, 및 트라이메틸로멜라민을 포함하는 에틸렌이민 및 메틸올 멜라민; 아세토제닌(특히 불라타신 및 불라타신온); 델타-9-테트라하이드로칸나빈올(드로나빈올, MARINOL(등록상표)); 베타-라파콘; 라파콜; 콜히친; 베툴린산; 캄토테신(합성 아날로그인 토포테칸(HYCAMTIN(등록상표)), CPT-11(이리노테칸, CAMPTOSAR(등록상표))), 아세틸캄토테신, 스코폴렉틴(scopolectin), 및 9-아미노캄토테신을 포함한다); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065(그의 아도젤레신, 카젤레신, 및 바이젤레신 합성 아날로그를 포함한다); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포사이드; 크립토파이신(특히, 크립토파이신 1 및 크립토파이신 8); 돌라스타틴; 듀오카마이신(합성 아날로그 KW-2189 및 CB1-TM1을 포함한다); 엘류테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕티인; 스폰기스타틴; 클로람부실, 클로나파진, 클로로포스파마이드(chlorophosphamide), 에스트라무스틴, 아이포스파마이드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥사이드 염산염, 멜팔란, 노벰비킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파마이드, 유라실 머스터드 등의, 나이트로젠 머스터드; 카무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 및 라니무스틴 등의, 나이트로소요소; 엔다이인 항생 물질{예를 들면, 칼리케아마이신, 특히 칼리케아마이신 감마 1I 및 칼리케아마이신 오메가 I1(예를 들면, Nicolaou et al., Angew. Chem Intl. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)를 참조할 것); 경구 알파-4 인테그린 저해제인, CDP323; 다이네마신 A를 포함하는 다이네마신; 에스페라마이신; 및 네오카지노스타틴 크로모포어 및 관련 색소 단백질 엔다이인 항생 물질 크로모포어, 아클라시노마이신, 악티노마이신, 안트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 칵티노마이신, 카루비신, 카미노마이신, 카지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-다이아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신(ADRIAMYCIN(등록상표)), 모폴리노-독소루비신, 사이아노모폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신, 독소루비신 HCl 리포솜 주사용(DOXIL(등록상표)), 리포솜 독소루비신 TCL D-99(MYOCET(등록상표)), 페그화 리포솜 독소루비신(CAELYX(등록상표)), 및 데옥시독소루비신을 포함한다), 에피루비신, 에소루비신, 아이다루비신, 마셀로마이신, 마이토마이신 C 등의 마이토마이신, 마이코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신(quelamycin), 로도루비신(rodorubicin), 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 튜베르시딘, 유베니멕스, 지노스타틴, 조루비신 등의, 항생 물질; 메토트렉세이트, 젬시타빈(GEMZAR(등록상표)), 테가푸르(UFTORAL(등록상표)), 카페시타빈(XELODA(등록상표)), 에포틸론, 및 5-플루오로유라실(5-FU) 등의, 대사 대항 물질; 데노프테린, 메토트렉세이트, 프테로프테린, 트라이메트렉세이트 등의, 엽산 아날로그; 플루다라빈, 6-머캅토퓨린, 싸이아미프린, 싸이오구아닌 등의, 퓨린 아날로그; 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자유리딘, 카모푸르, 사이타라빈, 다이데옥시유리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록스유리딘 등의, 피리미딘 아날로그; 칼루스테론, 프로피온산 드로모스타놀론, 에피싸이오스탄

올, 메피티오스테인, 테스토락톤 등의, 안드로겐; 아미노글루테티미드, 마이토테인, 트라이로스테인 등의, 항부신 물질(anti-adrenals); 폴린산 등의, 엽산 보급 물질; 아세글라톤; 알도포스파마이드 글라이코사이드; 아미노레불린산; 에닐유라실; 암사크린; 베스트라부실; 비스안트렌; 에다트렉세이트; 데포파민(defofamine); 데메콜신; 다이아지쿠온; 엘포니틴(elfornithine); 아세트산 엘립티늄; 에포틸론; 에토글루시드; 질산 갈륨; 하이드록시유레아; 렌티난; 로니다민; 메이탄신 및 안사미토신 등의, 메이탄시노이드; 마이토구아존; 마이토잔트론; 모피다몰; 나이트라에린(nitraerine); 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로소잔트론; 2-에틸하이드라자이드; 프로카바진; PSK(등록상표) 다당 복합체(JHS Natural Products, Eugene, OR); 라족세인; 리족신; 사이조피란; 스파이로저마늄; 테누아존산; 트라이아지쿠온; 2,2',2'-트라이클로로트라이에틸아민; 트라이코테센(특히 T-2 독소, 베라큐린 A(verracurin A), 로리딘 A, 및 안구이딘); 유레탄; 빈데신(ELDISINE(등록상표), FILDESIN(등록상표)); 다카바진; 만노무스틴; 마이토브로니톨; 마이톨락톨; 파이포브로만; 가사이토신(gacytosine); 아라비노사이드(「Ara-C」); 싸이오테파; 탁소이드, 예를 들면 파클리탁셀(TAXOL(등록상표)), 파클리탁셀의 알부민 개변 나노입자 제제(ABRAXANE(상표)), 및 도세탁셀(TAXOTERE(등록상표)); 클로람부실; 6-싸이오구아닌; 머캅토퓨린; 메토트렉세이트; 시스플라틴, 옥살리플라틴(예를 들면, ELOXATIN(등록상표)), 및 카보플라틴 등의, 백금제; 빈블라스틴(VELBAN(등록상표)), 빈크리스틴(ONCOVIN(등록상표)), 빈데신(ELDISINE(등록상표), FILDESIN(등록상표)), 및 비노렐빈(NAVELBINE(등록상표))을 포함하는, 튜불린 중합에 의한 미소관 형성을 방해하는 빈카류; 에토포사이드(VP-16); 아이포스파마이드; 마이토잔트론; 류코보린; 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 아이반드로네이트; 토포아이소머라아제 저해제 RFS 2000; 다이플루오로메틸오니틴(difluoromethylornithine: DMFO); 벡사로텐(TARGRETIN(등록상표))을 포함하는 레티노인산 등의, 레티노이드; 클로드로네이트(예를 들면, BONEFOS(등록상표) 또는 OSTAC(등록상표)), 에티드로네이트(DIDROCAL(등록상표)), NE-58095, 졸레드론산/졸레드로네이트(ZOMETA(등록상표)), 알렌드로네이트(FOSAMAX(등록상표)), 파미드로네이트(AREDIA(등록상표)), 틸루드로네이트(SKELID(등록상표)), 또는 리세드로네이트(ACTONEL(등록상표)) 등의, 비스포스포네이트; 트록사시타빈(a 1,3-다이옥솔레인 뉴클레오사이드 사이토신 아날로그); 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 특히, 이상한 세포 증식에 관련하는 시그널 전달 경로에 있어서의 유전자의 발현을 저해하는 것, 예를 들면 PKC-알파, Raf, H-Ras, 및 상피 성장 인자 수용체(epidermal growth factor receptor: EGF-R); THERATOPE(등록상표) 백신 및 유전자 요법용 백신(예를 들면, ALLOVECTIN(등록상표) 백신, LEUVECTIN(등록상표) 백신, 및 VAXID(등록상표) 백신) 등의, 백신; 토포아이소머라아제 1 저해제(예를 들면, LURTOTECAN(등록상표)); rmRH(예를 들면, ABARELIX(등록상표)); BAY439006(소라페닙; Bayer); SU-11248(수니티닙, SUTENT(등록상표), Pfizer); 페리포신, COX-2 저해제(예를 들면, 셀레콕십 또는 에토리콕십), 프로테오솜 저해제(예를 들면, PS341); 보테조밉(VELCADE(등록상표)); CCI-779; 티피파닙(R11577); 소라페닙, ABT510; 오블리머센 나트륨(GENASENSE(등록상표)) 등의, Bcl-2 저해제; 파이잔트론; EGFR 저해제(후술하는 정의를 참조할 것); 타이로신 키나아제 저해제(후술하는 정의를 참조할 것); 라파마이신(시롤리무스, RAPAMUNE(등록상표)) 등의, 세린-트레오닌 키나아제 저해제; 로나파닙(SCH 6636, SARASAR(상표)) 등의, 파네실트랜스퍼라아제 저해제; 및 상기의 임의의 것의 약학적으로 허용되는 염, 산, 또는 유도체; 및 상기의 2개 또는 그 이상의 조합, 예를 들면 사이클로포스파마이드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니졸론의 병용 요법의 약칭인 CHOP; 및 5-FU 및 류코보린과 조합한 옥살리플라틴(ELOXANTIN(상표))에 의한 처치 레지멘의 약칭인 FOLFOX.

[0234] 용어 「키메라」 항체는, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정한 공급원 또는 종에서 유래하는 한편으로, 중쇄 및/또는 경쇄의 나머지의 부분이 상이한 공급원 또는 종에서 유래하는 항체를 말한다.

[0235] 항체의 「클래스」는, 항체의 중쇄에 구비되는 정상 도메인 또는 정상 영역의 타입을 말한다. 항체에는 5개의 주요한 클래스가 있다: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM이다. 그리고, 이 중 몇 개는 서브클래스(아이소타입)로 더 나누어져도 된다. 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2이다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 대응하는 중쇄 정상 도메인을, 각각, α, δ, ε, γ, 및 μ라고 부른다.

[0236] 본 명세서에서 말하는 용어 「세포상해제」는, 세포의 기능을 저해하거나 또는 방해하고, 및/또는 세포의 죽음 또는 파괴의 원인이 되는 물질을 말한다. 세포상해제는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 방사성 동위체(예를 들면, ^{211}At, ^{131}I, ^{125}I, ^{90}Y, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{153}Sm, ^{212}Bi, ^{32}P, ^{212}Pb 및 Lu의 방사성 동위체); 화학요법제 또는 화학요법약(예를 들면, 메토트렉세이트, 아드리아마이신, 빈카 알칼로이드류(빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토포사이드), 독소루비신, 멜팔란, 마이토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신, 또는 다른 인터칼레이트제); 증식 저해제; 핵산 분해 효소 등의 효소 및 그의 단편; 항생 물질; 예를 들면, 저분자 독소 또는 세균, 진균, 식물, 또는 동물 기원의 효소적으로 활성인 독소(그의 단편 및/또는 변이체를 포함한다) 등의, 독소; 및, 상기에 개시되는 여러 가지 화학요법제를 포함한다.

[0237] 「이펙터 세포」는, 1개 또는 복수의 FcR을 발현하고, 이펙터 기능을 발휘하는 백혈구를 말한다. 특정한 태양에 있어서, 이 세포는, 적어도 FcγRIII을 발현하고, ADCC 이펙터 기능을 발휘한다. ADCC를 매개하는 백혈구의 예는, 말초혈 단핵구(peripheral blood mononuclear cell: PBMC), 내추럴 킬러(NK) 세포, 단구, 세포상해성 T 세포 및 호중구를 포함한다. 이펙터 세포는, 천연의 공급원으로부터, 예를 들면 혈액으로부터 단리될 수 있다. 특정한 태양에 있어서, 이펙터 세포는 인간 이펙터 세포일 수 있다.

[0238] 「이펙터 기능」은, 항체의 Fc 영역에 기인하는, 항체의 아이소타입에 따라 상이한 생물학적 활성을 말한다. 항체의 이펙터 기능의 예에는 다음의 것이 포함된다: C1q 결합 및 보체 의존성 세포상해(complement-dependent cytotoxicity: CDC); Fc 수용체 결합; 항체 의존성 세포 개재성 세포상해(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity: ADCC); 항체 의존성 세포 개재성 탐식 작용(antibody-dependent cell-mediated phagocytosis: ADCP); 세포 표면 수용체(예를 들면, B 세포 수용체)의 하방 제어; 및, B 세포 활성화.

[0239] 용어 「에피토프」는, 항체에 의해 결합될 수 있는 임의의 결정기를 포함한다. 에피토프는, 항원을 표적으로 하는 항체에 의해 결합되는 해당 항원의 영역이고, 항체에 직접 접촉하는 특정한 아미노산을 포함한다. 에피토프 결정기는, 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴기 또는 설폰일기 등의 화학적으로 활성인 표면 분자군을 포함할 수 있고, 또한 특이적인 삼차원 구조 특성 및/또는 특정한 전하 특성을 구비할 수 있다. 일반적으로, 특정한 표적 항원에 특이적인 항체는, 단백질 및/또는 거대 분자의 복잡한 혼합물 중에서 그 표적 항원 상의 에피토프를 우선적으로 인식한다.

[0240] 「Fc 수용체」 또는 「FcR」은, 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 말한다. 몇 개의 태양에 있어서, FcR은, 천연형 인간 FcR이다. 몇 개의 태양에 있어서, FcR은, IgG 항체에 결합하는 것(감마 수용체)이고, FcγRI, FcγRII, 및 FcγRIII 서브클래스의 수용체를, 이들 수용체의 대립 유전자 변이체 및 선택적 스플라이싱에 의한 형태를 포함시켜, 포함한다. FcγRII 수용체는, FcγRIIA(「활성화 수용체」) 및 FcγRIIB(「저해 수용체」)를 포함하고, 이들은 주로 그 세포질 도메인에 있어서 상위한, 유사한 아미노산 서열을 갖는다. 활성화 수용체 FcγRIIA는, 그 세포질 도메인에 면역 수용체 타이로신 활성화 모티프(immunoreceptor tyrosine-based activation motif: ITAM)를 포함한다. 저해 수용체 FcγRIIB는, 그 세포질 도메인에 면역 수용체 타이로신 저해 모티프(immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif: ITIM)를 포함한다(예를 들면, Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15: 203-234 (1997)을 참조할 것). FcR은, 예를 들면, Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9: 457-492 (1991); Capel et al., Immunomethods 4: 25-34 (1994); 및 de Haas et al., J. Lab. Clin. Med 126: 330-341 (1995)에 있어서 총설되어 있다. 장래 동정되는 것을 포함하는 다른 FcR도, 본 명세서의 용어 「FcR」에 포함된다.

[0241] 용어 「Fc 수용체」 또는 「FcR」은 또한, 모체의 IgG의 태아로의 이동(Guyer et al., J. Immunol. 117: 587 (1976) 및 Kim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994)) 및 면역글로불린의 호메오스타시스의 조절을 담당하는, 신생아형 수용체 FcRn을 포함한다. FcRn에의 결합을 측정하는 방법은 공지이다(예를 들면, Ghetie and Ward., Immunol. Today 18(12): 592-598 (1997); Ghetie et al., Nature Biotechnology, 15(7): 637-640 (1997); Hinton et al., J. Biol. Chem. 279(8): 6213-6216 (2004); WO2004/92219 (Hinton et al.)를 참조할 것).

[0242] 인 비보에서의 인간 FcRn에의 결합 및 인간 FcRn 고(高)어피니티 결합 폴리펩타이드의 혈청 반감기는, 예를 들면 인간 FcRn을 발현하는 트랜스제닉 마우스 혹은 트랜스펙트된 인간 세포주에 있어서, 또는 변이 Fc 영역을 수반하는 폴리펩타이드가 투여되는 영장류에 있어서 측정될 수 있다. WO2000/42072 (Presta)는, FcR에 대한 결합이 개선된, 또는 감소한 항체 변이체를 기재하고 있다. 예를 들면, Shields et al. J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)도 참조할 것.

[0243] 본 명세서에서 용어 「Fc 영역」은, 적어도 정상 영역의 일부분을 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 정의하기 위해서 이용된다. 이 용어는, 천연형 서열의 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 포함한다. 일 태양에 있어서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 Cys226으로부터, 또는 Pro230으로부터, 중쇄의 카복실 말단까지 연장된다. 단, Fc 영역의 C 말단의 라이신(Lys447) 또는 글라이신-라이신(Gly446-Lys447)은, 존재하고 있어도 하고 있지 않아도 된다. 본 명세서에서는 별단 특정하지 않는 한, Fc 영역 또는 정상 영역 중의 아미노산 잔기의 번호매김은, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD 1991에 기재된, EU 넘버링 시스템(EU 인덱스라고도 불린다)에 따른다.

[0244] 용어 「Fc 영역 함유 항체」는, Fc 영역을 포함하는 항체를 말한다. Fc 영역의 C 말단 라이신(EU 넘버링 시스템에 따르면 잔기 447) 또는 Fc 영역의 C 말단 글라이신-라이신(잔기 446-447)은, 예를 들면 항체의 정제 동안에, 또는 항체를 코드하는 핵산의 재조합 조작에 의해 제거될 수 있다. 따라서, 본 발명에 의한 Fc 영역을 갖는 항

체를 포함하는 조성물은, G446-K447을 수반하는 항체, G446을 수반하고 K447을 수반하지 않는 항체, G446-K447이 완전히 제거된 항체, 또는 상기 3개의 타입의 항체의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0245] 용어 「가변 영역」 또는 「가변 도메인」은, 항체를 항원에 결합시키는 것에 관여하는, 항체의 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 말한다. 천연형 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인(각각 VH 및 VL)은, 통상, 각 도메인이 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR) 및 3개의 초가변 영역(HVR)을 포함하는, 유사한 구조를 갖는다(예를 들면, Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91 (2007) 참조). 1개의 VH 또는 VL 도메인으로, 항원 결합 특이성을 주기에 충분할 것이다. 또, 어떤 특정한 항원에 결합하는 항체는, 당해 항원에 결합하는 항체로부터의 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 각각 VL 또는 VH 도메인의 상보적 라이브러리를 스크리닝하여, 단리되어도 된다. 예를 들면 Portolano et al., J. Immunol. 150: 880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352: 624-628 (1991) 참조.

[0246] 「프레임워크」 또는 「FR」은, 초가변 영역(HVR) 잔기 이외의, 가변 도메인 잔기를 말한다. 가변 도메인의 FR은, 통상 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3, 및 FR4로 이루어진다. 그에 따라서, HVR 및 FR의 서열은, 통상 다음의 순서로 VH(또는 VL)에 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0247] 용어 「전장 항체」, 「완전 항체」, 및 「전부 항체」는, 본 명세서에서는 서로 교환 가능하게 이용되고, 천연형 항체 구조에 실질적으로 유사한 구조를 갖거나, 또는 본 명세서에서 정의하는 Fc 영역을 포함하는 중쇄를 갖는 항체를 말한다.

[0248] 「기능성 Fc 영역」은, 천연형 서열 Fc 영역의 「이펙터 기능」을 구비한다. 예시적인 「이펙터 기능」은, C1q 결합; CDC; Fc 수용체 결합; ADCC; 탐식 작용; 세포 표면 수용체(예를 들면, B 세포 수용체; B cell receptor: BCR)의 하방 제어 등을 포함한다. 그와 같은 이펙터 기능은 일반적으로, Fc 영역이 결합 도메인(예를 들면, 항체 가변 도메인)과 조합되는 것을 필요로 하고, 그리고, 예를 들면 본 명세서의 정의 중에서 개시되는 다양한 측정법을 이용하여 평가될 수 있다.

[0249] 「인간 항체」는, 인간 혹은 인간 세포에 의해 산생된 항체 또는 인간 항체 레퍼토리 혹은 다른 인간 항체 코드 서열을 이용하는 비인간 공급원에서 유래하는 항체의 아미노산 서열에 대응하는 아미노산 서열을 구비하는 항체이다. 이 인간 항체의 정의는, 비인간 항원 결합 잔기를 포함하는 인간화 항체를 명확히 제외하는 것이다.

[0250] 「인간 컨센서스 프레임워크」는, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선택군에 있어서 가장 공통적으로 생기는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 통상, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열의 선택은, 가변 도메인 서열의 서브그룹으로부터이다. 통상, 서열의 서브그룹은, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), vols. 1-3에 있어서의 서브그룹이다. 일 태양에 있어서, VL에 대하여, 서브그룹은 상기의 Kabat 등에 의한 서브그룹 κI이다. 일 태양에 있어서, VH에 대하여, 서브그룹은 상기의 Kabat 등에 의한 서브그룹 III이다.

[0251] 「인간화」 항체는, 비인간 HVR로부터의 아미노산 잔기 및 인간 FR로부터의 아미노산 잔기를 포함하는, 키메라 항체를 말한다. 어떤 태양에서는, 인간화 항체는, 적어도 1개, 전형적으로는 2개의 가변 도메인의 실질적으로 모두를 포함하고, 당해 가변 영역에 있어서는, 모든 혹은 실질적으로 모든 HVR(예를 들면 CDR)은 비인간 항체의 것에 대응하고, 또한 모든 혹은 실질적으로 모든 FR은 인간 항체의 것에 대응한다. 인간화 항체는, 임의로, 인간 항체에서 유래하는 항체 정상 영역의 적어도 일부분을 포함해도 된다. 항체(예를 들면, 비인간 항체)의 「인간화된 형태」는, 인간화를 거친 항체를 말한다.

[0252] 본 명세서에서 이용되는 용어 「초가변 영역」 또는 「HVR」은, 서열에 있어서 초가변이고(「상보성 결정 영역」 또는 「CDR」(complementarity determining region)), 및/또는 구조적으로 정해진 루프(「초가변 루프」)를 형성하고, 및/또는 항원 접촉 잔기(「항원 접촉」)를 포함하는, 항체의 가변 도메인의 각 영역을 말한다. 통상, 항체는 6개의 HVR을 포함한다: VH에 3개(H1, H2, H3), 및 VL에 3개(L1, L2, L3)이다. 본 명세서에서의 예시적인 HVR은, 이하의 것을 포함한다:

[0253] (a) 아미노산 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2), 91-96 (L3), 26-32 (H1), 53-55 (H2), 및 96-101 (H3)에서 생기는 초가변 루프(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987));

[0254] (b) 아미노산 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2), 89-97 (L3), 31-35b (H1), 50-65 (H2), 및 95-102 (H3)에서 생기는 CDR(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991));

[0255] (c) 아미노산 잔기 27c-36 (L1), 46-55 (L2), 89-96 (L3), 30-35b (H1), 47-58 (H2), 및 93-101 (H3)에서 생기는 항원 접촉(MacCallum et al. J. Mol. Biol. 262: 732-745 (1996)); 및,

[0256] (d) HVR 아미노산 잔기 46-56 (L2), 47-56 (L2), 48-56 (L2), 49-56 (L2), 26-35 (H1), 26-35b (H1), 49-65 (H2), 93-102 (H3), 및 94-102 (H3)을 포함하는, (a), (b), 및/또는 (c)의 조합.

[0257] 별단 나타내지 않는 한, HVR 잔기 및 가변 도메인 중의 다른 잔기(예를 들면, FR 잔기)는, 본 명세서에서는 상기의 Kabat 등에 따라서 번호매겨진다.

[0258] 「이뮤노콘주게이트」는, 1개 또는 복수의 이종의 분자에 콘주게이트된 항체이다(이종의 분자는, 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 세포상해제를 포함한다).

[0259] 「단리된」 항체는, 그 원래의 환경의 성분으로부터 분리된 것이다. 몇 개의 태양에 있어서, 항체는, 예를 들면, 전기영동(예를 들면, SDS-PAGE, 등전점 분리법(isoelectric focusing: IEF), 캐필러리 전기영동) 또는 크로마토그래프(예를 들면, 이온 교환 또는 역상 HPLC)로 측정하여, 95% 또는 99%를 초과하는 순도까지 정제된다. 항체의 순도의 평가를 위한 방법의 총설로서, 예를 들면, Flatman et al., J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007)을 참조할 것.

[0260] 「단리된」 핵산은, 그 원래의 환경의 성분으로부터 분리된 핵산 분자를 말한다. 단리된 핵산은, 그 핵산 분자를 통상 포함하는 세포 중에 포함된 핵산 분자를 포함하지만, 그 핵산 분자는 염색체 외에 존재하고 있거나 또는 본래의 염색체 상의 위치와는 상이한 염색체 상의 위치에 존재하고 있다.

[0261] 「항체를 코드하는 단리된 핵산」은, 항체의 중쇄 및 경쇄(또는 그의 단편)를 코드하는 1개 또는 복수의 핵산 분자를 말하고, 1개의 벡터 또는 각각의 벡터에 올라가 있는 핵산 분자, 및 숙주 세포 중의 1개 또는 복수의 위치에 존재하고 있는 핵산 분자를 포함한다.

[0262] 본 명세서에서 「제1 폴리펩타이드」 및 「제2 폴리펩타이드」란, 항체의 Fc 영역을 구성하는 폴리펩타이드를 의미한다. 「제1 폴리펩타이드」 및 「제2 폴리펩타이드」는 서로 서열이 상이한 것을 의미하고, 바람직하게는 적어도 CH2 영역의 서열이 상이한 것을 의미한다. 추가로 CH3 영역의 서열이 상이해도 된다. 당해 폴리펩타이드로서는, 예를 들면, 천연형 IgG의 Fc 영역을 구성하는 폴리펩타이드여도 되고, 또한 천연형 IgG의 Fc 영역을 구성하는 폴리펩타이드에 개변이 가해진 폴리펩타이드여도 된다.

[0263] 천연형 IgG란 천연으로 발견되는 IgG와 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 면역글로불린 감마 유전자에 의해 실질적으로 코드되는 항체의 클래스에 속하는 폴리펩타이드를 의미한다. 예를 들면 천연형 인간 IgG란 천연형 인간 IgG1, 천연형 인간 IgG2, 천연형 인간 IgG3, 천연형 인간 IgG4 등을 의미한다. 천연형 IgG에는 그것으로부터 자연히 생기는 변이체 등도 포함된다.

[0264] 본 발명에 있어서의 「폴리펩타이드」란, 통상, 10 아미노산 정도 이상의 길이를 갖는 펩타이드, 및 단백질을 가리킨다. 또한, 통상, 생물 유래의 폴리펩타이드이지만, 특별히 한정되지 않고, 예를 들면, 인공적으로 설계된 서열로 이루어지는 폴리펩타이드여도 된다. 또한, 천연 폴리펩타이드, 혹은 합성 폴리펩타이드, 재조합 폴리펩타이드 등의 어느 것이어도 된다. 한편, 본 발명에 있어서의 단백질 분자란 당해 폴리펩타이드를 포함하는 분자를 가리킨다.

[0265] 본 발명의 폴리펩타이드의 바람직한 예로서, 항체를 들 수 있다. 더 바람직한 예로서, 천연형 IgG나 천연형 IgG에 개변이 가해진 항체 등을 들 수 있다. 천연형 IgG의 예로서, 특히 천연형 인간 IgG를 들 수 있다. 천연형 IgG란, 천연으로 발견되는 IgG와 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 면역글로불린 감마 유전자에 의해 실질적으로 코드되는 항체의 클래스에 속하는 폴리펩타이드를 의미한다. 예를 들면 천연형 인간 IgG란 천연형 인간 IgG1, 천연형 인간 IgG2, 천연형 인간 IgG3, 천연형 인간 IgG4 등을 의미한다. 천연형 IgG에는 그것으로부터 자연히 생기는 변이체 등도 포함된다.

[0266] 용어 「Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드」는, Fc 영역을 함유하는 폴리펩타이드이면 특별히 한정되지 않지만, 예를 들면, Fc 영역을 포함하는 항체이다. Fc 영역의 C 말단 라이신(EU 넘버링 시스템에 따르면 잔기 447) 또는 Fc 영역의 C 말단 글라이신-라이신(잔기 446-447)은, 예를 들면 폴리펩타이드(예를 들면 항체)의 정제 동안에, 또는 폴리펩타이드를 코드하는 핵산의 재조합 조작에 의해 제거될 수 있다. 따라서, 본 발명에 의한 Fc 영역을 갖는 폴리펩타이드를 포함하는 조성물은, G446-K447을 수반하는 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드, G446을 수반하고 K447을 수반하지 않는 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드, G446-K447이 완전히 제거된 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드, 또는 상기 3개의 타입의 폴리펩타이드의 혼합물을 포함할 수 있다.

[0267] 「단리된」 폴리펩타이드는, 그 원래의 환경의 성분으로부터 분리된 것이다. 몇 개의 태양에 있어서, 폴리펩타이드는, 예를 들면, 전기영동(예를 들면, SDS-PAGE, 등전점 분리법(isoelectric focusing: IEF), 캐필러리 전기영동) 또는 크로마토그래프(예를 들면, 이온 교환 또는 역상 HPLC)로 측정하여, 95% 또는 99%를 초과하는 순도까지 정제된다. 폴리펩타이드의 순도의 평가를 위한 방법의 총설로서, 예를 들면, Flatman et al., J. Chromatogr. B 848: 79-87 (2007)을 참조할 것,

[0268] 「폴리펩타이드를 코드하는 단리된 핵산」은, 당해 폴리펩타이드(예를 들면, 항체의 Fc 영역, 또는 항체의 중쇄 및 경쇄 혹은 그의 단편)를 코드하는 1개 또는 복수의 핵산 분자를 말하고, 1개의 벡터 또는 각각의 벡터에 올라가 있는 핵산 분자, 및 숙주 세포 중의 1개 또는 복수의 위치에 존재하고 있는 핵산 분자를 포함한다.

[0269] 본 명세서에서 이용되는 용어 「벡터」는, 그것이 연결된 또 다른 1개의 핵산을 증가시킬 수 있는, 핵산 분자를 말한다. 이 용어는, 자기 복제 핵산 구조로서의 벡터, 및 그것이 도입된 숙주 세포의 게놈 중에 도입되는 벡터를 포함한다. 어떤 벡터는, 자신이 동작적으로 연결된 핵산의 발현을 초래할 수 있다. 그와 같은 벡터는, 본 명세서에서는 「발현 벡터」라고도 칭해진다. 벡터는 바이러스를 이용하는 방법이나 일렉트로포레이션법 등에 의해 숙주 세포에 도입할 수 있지만, 벡터의 도입은 생체 외에서의 도입에 한정되는 것은 아니고, 벡터를 직접 생체에 도입하는 것도 가능하다.

[0270] 용어 「숙주 세포」, 「숙주 세포주」, 및 「숙주 세포 배양물」은, 서로 교환 가능하게 이용되고, 외래 핵산이 도입된 세포(그와 같은 세포의 자손을 포함한다)를 말한다. 숙주 세포는 「형질 전환체」 및 「형질 전환 세포」를 포함하고, 이것에는 초대의 형질 전환 세포 및 계대수에 상관없이 그 세포에서 유래하는 자손을 포함한다. 자손은, 친세포와 핵산의 내용에 있어서 완전히 동일하지 않아도 되고, 변이를 포함하고 있어도 된다. 오리지널의 형질 전환 세포가 스크리닝되었거나, 또는 선택되었을 때에 이용된 것과 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 변이체 자손도, 본 명세서에서는 포함된다.

[0271] 본 명세서에서 말하는 용어 「모노클로날 항체」는, 실질적으로 균일한 항체의 집단으로부터 얻어지는 항체를 말한다. 즉, 그 집단을 구성하는 개개의 항체는, 생길 수 있는 변이 항체(예를 들면, 자연히 생기는 변이를 포함하는 변이 항체, 또는 모노클로날 항체 조제물의 제조 중에 발생하는 변이 항체. 그와 같은 변이체는 통상 약간량 존재하고 있다)를 제외하고, 동일하며, 및/또는 동일한 에피토프에 결합한다. 상이한 결정기(에피토프)에 대한 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 폴리클로날 항체 조제물과는 대조적으로, 모노클로날 항체 조제물의 각 모노클로날 항체는, 항원 상의 단일의 결정기에 대한 것이다. 따라서, 수식어 「모노클로날」은, 실질적으로 균일한 항체의 집단으로부터 얻어지는 것이라는 항체의 특징을 나타내고, 어떠한 특정한 방법에 의한 항체의 제조를 요구하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 예를 들면, 본 발명에 따라 이용되는 모노클로날 항체는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 하이브리도마법, 재조합 DNA법, 파지 디스플레이법, 인간 면역글로불린 유전자 자리의 전부 또는 일부를 포함한 트랜스제닉 동물을 이용하는 방법을 포함하는, 다양한 수법에 의해 작성되어도 되고, 모노클로날 항체를 제작하기 위한 그와 같은 방법 및 다른 예시적인 방법은, 본 명세서에 기재되어 있다.

[0272] 「네이키드 항체」는, 이종의 부분(예를 들면, 세포상해 부분) 또는 방사성 표지에 콘주게이트되어 있지 않은 항체를 말한다. 네이키드 항체는, 약학적 제제 중에 존재하고 있어도 된다.

[0273] 「천연형 항체」는, 천연으로 생기는 다양한 구조를 수반하는 면역글로불린 분자를 말한다. 예를 들면, 천연형 IgG 항체는, 다이설파이드 결합하고 있는 2개의 동일한 경쇄와 2개의 동일한 중쇄로 구성되는 약 150,000돌턴의 헤테로사량체 당단백질이다. N 말단으로부터 C 말단을 향해, 각 중쇄는, 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인이라고도 불리는 가변 영역(VH)을 갖고, 그것에 3개의 정상 도메인(CH1, CH2, 및 CH3)이 계속된다. 마찬가지로, N 말단으로부터 C 말단을 향해, 각 경쇄는, 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인이라고도 불리는 가변 영역(VL)을 갖고, 그것에 정상 경쇄(CL) 도메인이 계속된다. 항체의 경쇄는, 그 정상 도메인의 아미노산 서열에 기초하여, 카파(κ) 및 람다(λ)라고 불리는, 2개의 타입 중 1개에 귀속시켜져도 된다.

[0274] 「천연형 서열 Fc 영역」은, 자연계에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 천연형 서열 인간 Fc 영역은, 천연형 서열 인간 IgG1 Fc 영역(비A 및 A 알로타입); 천연형 서열 인간 IgG2 Fc 영역; 천연형 서열 인간 IgG3 Fc 영역; 및 천연형 서열 인간 IgG4 Fc 영역, 및 천연으로 존재하는 그들의 변이체를 포함한다.

[0275] 「변이 Fc 영역」은, 적어도 1개의 아미노산 수식(개변), 바람직하게는 1개 또는 복수의 아미노산 치환에 의해 천연형 서열 Fc 영역의 그것과 상위한 아미노산 서열을 포함한다. 바람직하게는, 변이 Fc 영역은, 천연형 서열 Fc 영역 또는 친Fc 영역과 비교해서, 천연형 서열 Fc 영역 중 또는 친Fc 영역 중에 적어도 1개의 아미노산

치환, 예를 들면 약 1~약 30개의 아미노산 치환, 바람직하게는 약 1~약 20개의 아미노산 치환, 보다 바람직하게는 약 1~약 10개의 아미노산 치환, 가장 바람직하게는 약 1~약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 본 명세서의 변이 Fc 영역은, 바람직하게는, 천연형 서열 Fc 영역 또는 친Fc 영역과 적어도 약 80%의 상동성, 바람직하게는 그들과 적어도 약 85%의 상동성, 보다 바람직하게는 그들과 적어도 약 90%의 상동성, 가장 바람직하게는 그들과 적어도 약 95%의 상동성을 구비한다.

[0276] 참조 폴리펩타이드 서열에 대한 「퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성」은, 최대의 퍼센트 서열 동일성을 얻도록 서열을 정렬시키고 또한 필요하면 갭을 도입한 후의, 또한 어떠한 보존적 치환도 서열 동일성의 일부라고 생각하지 않는다고 했을 때의, 참조 폴리펩타이드 서열 중의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 중의 아미노산 잔기의, 백분율비로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적하는 얼라인먼트는, 당해 기술 분야에 있어서의 기술의 범위 내에 있는 여러 가지 방법, 예를 들면, BLAST, BLAST-2, ALIGN, Megalign(DNASTAR) 소프트웨어, 또는 GENETYX(등록상표)(주식회사 제네틱스) 등의, 공적으로 입수 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하는 것에 의해 달성할 수 있다. 당업자는, 비교되는 서열의 전장에 걸쳐서 최대의 얼라인먼트를 달성하기 위해서 필요한 임의의 알고리즘을 포함하는, 서열의 얼라인먼트를 취하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.

[0277] ALIGN-2 서열 비교 컴퓨터 프로그램은, 제넨테크사의 저작이며, 그 소스 코드는 미국 저작권청(U.S. Copyright Office, Wasington D.C., 20559)에 사용자용 서류와 함께 제출되어, 미국 저작권 등록번호 TXU510087로서 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은, 제넨테크사(Genentech, Inc., South San Francisco, California)로부터 공적으로 입수 가능하고, 소스 코드로부터 컴파일해도 된다. ALIGN-2 프로그램은, Digital UNIX V4.0D를 포함하는 UNIX 오퍼레이팅 시스템 상에서의 사용을 위해서 컴파일된다. 모든 서열 비교 파라미터는, ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되고, 변동되지 않는다.

[0278] 아미노산 서열 비교에 ALIGN-2가 이용되는 상황에서는, 소여의 아미노산 서열 A의, 소여의 아미노산 서열 B에의, 또는 그것과의, 또는 그것에 대한 %아미노산 서열 동일성(혹은, 소여의 아미노산 서열 B에의, 또는 그것과의, 또는 그것에 대한, 어떤 %아미노산 서열 동일성을 갖거나 또는 포함하는 소여의 아미노산 서열 A라고 할 수도 있다)은, 다음과 같이 계산된다: 분율 X/Y의 100배. 여기에서, X는 서열 얼라인먼트 프로그램 ALIGN-2에 의해, 당해 프로그램의 A 및 B의 얼라인먼트에 있어서 동일한 일치로서 스코어된 아미노산 잔기의 수이며, Y는 B 중의 아미노산 잔기의 전체수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 동등하지 않은 경우, A의 B에의 %아미노산 서열 동일성은, B의 A에의 %아미노산 서열 동일성과 동등하지 않은 것이, 이해될 것이다. 별단 특별히 명시하지 않는 한, 본 명세서에서 이용되는 모든 %아미노산 서열 동일성값은, 직전의 단락에서 기술한 대로 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 이용하여 얻어지는 것이다.

[0279] 용어 「약학적 제제」 및 「의약 조성물」은, 서로 교환 가능하게 이용되고, 그 중에 포함된 유효 성분의 생물학적 활성이 효과를 발휘할 수 있는 형태에 있는 조제물이며, 또한 그것이 투여되는 대상에 허용할 수 없을 정도로 독성이 있는 추가의 요소를 포함하고 있지 않은, 조제물을 말한다.

[0280] 「개체」 또는 「대상」은 포유동물이다. 포유동물은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 사육 동물(예를 들면, 소, 양, 고양이, 개, 말), 영장류(예를 들면, 인간, 및 원숭이 등의 비인간 영장류), 토끼, 및 설치류(예를 들면, 마우스 및 래트)를 포함한다. 특정한 태양에서는, 개체 또는 대상은, 인간이다.

[0281] 「약학적으로 허용되는 담체」는, 대상에 대해서 무독한, 약학적 제제 및 의약 조성물 중의 유효 성분 이외의 성분을 말한다. 약학적으로 허용되는 담체는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 완충액, 부형제, 안정화제, 또는 보존제를 포함한다.

[0282] 어떤 제(예를 들면, 약학적 제제)의 「유효량」은, 원하는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하기 위해서 유효한 양, 필요한 용량에 있어서의, 및 필요한 기간에 걸친, 양을 말한다.

[0283] 용어 「첨부 문서」는, 치료용품의 상용 패키지에 통상 포함되고, 그와 같은 치료용품의 사용에 관한, 적응증, 용법, 용량, 투여 방법, 병용 요법, 금기, 및/또는 경고에 대한 정보를 포함하는 사용 설명서를 말하기 위해서 이용된다.

[0284] 본 명세서에서 말하는 용어 「CTLA-4」는, 별단 나타내지 않는 한, 영장류(예를 들면, 인간) 및 설치류(예를 들면, 마우스 및 래트) 등의 포유동물을 포함하는, 임의의 척추동물 공급원으로부터의 임의의 천연형 CTLA-4를 말한다. 이 용어는, 「전장」의 프로세싱을 받고 있지 않은 CTLA-4도, 세포 중에서의 프로세싱의 결과 생기는 어떠한 형태의 CTLA-4도 포함한다. 이 용어는 또한, 자연히 생기는 CTLA-4의 변이체, 예를 들면, 스플라이스 변이

체나 대립 유전자 변이체도 포함한다. 예시적인 인간 CTLA-4의 아미노산 서열을 서열 번호: 214에, 마우스 CTLA-4의 아미노산 서열을 서열 번호: 247에, 원숭이 CTLA-4의 아미노산 서열을 서열 번호: 248에, 인간 CTLA-4의 세포외 도메인의 아미노산 서열을 서열 번호: 28에 나타냈다. 본 명세서에 있어서, CTLA-4는 CTLA4로 표기되는 경우도 있다.

[0285] 용어 「제어성 T(Treg) 세포」는, 면역계를 조절하고, 자기항원에 대한 관용을 유지하며, 자기면역 질환을 억제하는 T 세포의 아집단이다. 이들 세포는 일반적으로, 이펙터 T 세포의 유도 및 증식을 억제하거나, 또는 하향조정한다. Treg 세포로서 가장 잘 이해되고 있는 것은, CD4, CD25, 및 Foxp3을 발현하는 것($CD4^+$ $CD25^+$ Treg 세포)이다. 이들 Treg는 헬퍼 T 세포와는 상이하다. Treg 세포의 동정과 모니터링에는, 몇 개의 상이한 방법이 사용된다. CD4 및 CD25 발현에 의해 규정한 경우($CD4^+$ $CD25^+$ 세포), Treg 세포는 마우스 및 인간에 있어서의 성숙 $CD4^+$ T 세포 아집단의 약 5~10%를 구성하고, 한편, Treg의 약 1~2%는 전혈 중에 측정될 수 있다. Foxp3의 발현을 추가해서 측정되는 경우도 있다($CD4^+$ $CD25^+$ $Foxp3^+$ 세포). 또한, 다른 마커로서, CD127의 비존재 또는 저레벨 발현이, CD4 및 CD25의 존재와 조합하여 사용되는 경우도 있다. 또, Treg 세포에는 고레벨의 CTLA-4 및 GITR도 발현하고 있다. 후술하는 실시예에 기재된 방법에 의해서도 Treg를 동정할 수 있다.

[0286] 본 명세서에서 이용되는 용어 「실질적으로 유사한」, 「실질적으로 동등한」, 또는 「실질적으로 동일한」은, 2개의 수치 사이(예를 들면, 본 발명의 항체에 관한 것과, 참조/비교용 항체에 관한 것 사이)의 유사성이, 당업자가 그들 2개의 수치 사이의 차가 해당 수치(예를 들면, KD값)에 의해 측정되는 생물학적 특징의 관점에서 거의 또는 전혀 생물학적 및/또는 통계학적으로 유의성이 없다고 간주할 정도로, 충분히 높은 것을 말한다.

[0287] 본 명세서에서 이용되는 「치료」(및, 그 문법상의 파생어, 예를 들면 「치료한다」, 「치료하는 것」 등)는, 치료되는 개체의 자연 경과를 개변하는 것을 기도한 임상적 개입을 의미하고, 예방을 위해서도, 임상적 병태의 경과 동안에도 실시될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 질환의 발생 또는 재발의 방지, 증상의 경감, 질환에 의한 임의의 직접적 또는 간접적인 병리적 영향의 감약, 전이의 방지, 질환의 진행 속도의 저감, 질환 상태의 회복 또는 완화, 및 관해 또는 개선된 예후를 포함한다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 항체는, 질환의 발증을 늦추거나, 또는 질환의 진행을 느리게 하기 위해서 이용된다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드는, 질환의 발증을 늦추거나, 또는 질환의 진행을 느리게 하기 위해서 이용된다.

[0288] 용어 「종양」은, 악성인지 양성인지에 상관없이, 모든 신생물성 세포 성장 및 증식, 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 말한다. 용어 「암」, 「암성」, 「세포 증식성 장애」, 「증식성 장애」, 및 「종양」은, 본 명세서에서 말하는 경우, 서로 배타적이지 않다.

[0289] 용어 「종양 조직」이란, 적어도 하나의 종양 세포를 포함하는 조직을 의미한다. 종양 조직은, 통상, 종양의 주체를 이루는 종양 세포의 집단(실질)과, 이들 사이에 존재해서 종양을 지지하는 결합 조직이나 혈관(간질)으로 성립되어 있다. 양자의 구별이 분명한 것도 있으면, 양자가 뒤섞여 있는 것도 있다. 종양 조직 내에는 면역 세포 등이 침윤하고 있는 경우도 있다. 한편, 「비종양 조직」이란, 생체 내에 있어서의 종양 조직 이외의 조직을 의미한다. 질환 상태에 없는 건상 조직/정상 조직은 비종양 조직의 대표적인 예이다.

[0290] II. 조성물 및 방법

[0291] 일 국면에 있어서, 본 발명은, 항CTLA-4 항체 및 그들의 사용에 일부 기초하는 것이다. 특정한 태양에 있어서, CTLA-4에 결합하는 항체가 제공된다. 본 발명의 항체는, 예를 들면, 암의 진단 또는 치료를 위해서, 유용하다.

[0292] A. 예시적 항CTLA-4 항체

[0293] 일 국면에 있어서, 본 발명은 CTLA-4에 결합하는, 단리된 항체를 제공한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 아데노신 함유 화합물의 농도에 의존한 CTLA-4 결합 활성을 갖는다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 비존재하에 비해, 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 CTLA-4에의 결합 활성이 보다 높다. 혹은 다른 태양에 있어서, 저농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 비해, 고농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 CTLA-4에의 결합 활성이 보다 높다. 추가적인 태양에 있어서, CTLA-4에의 결합 활성의 차는, 예를 들면 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 50배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 300배 이상, 500배 이상, 1×10^3배 이상, 2×10^3배 이상, 3×10^3배 이상, 5×10^3배 이상, 1×10^4배 이상, 2×10^4배 이상, 3×10^4배 이상, 5×10^4배 이상, 또는 1×10^5배 이상이다.

[0294] 몇 개의 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체의 결합 활성은 KD(Dissociation constant: 해리 상수)값으로 나타낼 수 있다. 추가적인 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 비존재하에 비해, 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 항CTLA-4 항체의 KD값이 보다 작다. 혹은 다른 태양에 있어서, 저농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 비해, 고농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 항CTLA-4 항체의 KD값이 보다 작다. 추가적인 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체의 KD값의 차는, 예를 들면 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 50배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 300배 이상, 500배 이상, 1×10^{3}배 이상, 2×10^{3}배 이상, 3×10^{3}배 이상, 5×10^{3}배 이상, 1×10^{4}배 이상, 2×10^{4}배 이상, 3×10^{4}배 이상, 5×10^{4}배 이상, 또는 1×10^{5}배 이상이다. 아데노신 함유 화합물의 존재하, 혹은 고농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 항CTLA-4 항체의 KD값은, 예를 들면 9×10^{-7}M 이하, 8×10^{-7}M 이하, 7×10^{-7}M 이하, 6×10^{-7}M 이하, 5×10^{-7}M 이하, 4×10^{-7}M 이하, 3×10^{-7}M 이하, 2×10^{-7}M 이하, 1×10^{-7}M 이하, 9×10^{-8}M 이하, 8×10^{-8}M 이하, 7×10^{-8}M 이하, 6×10^{-8}M 이하, 5×10^{-8}M 이하, 4×10^{-8}M 이하, 3×10^{-8}M 이하, 2×10^{-8}M 이하, 1×10^{-8}M 이하, 9×10^{-9}M 이하, 8×10^{-9}M 이하, 7×10^{-9}M 이하, 6×10^{-9}M 이하, 5×10^{-9}M 이하, 4×10^{-9}M 이하, 3×10^{-9}M 이하, 2×10^{-9}M 이하, 1×10^{-9}M 이하, 9×10^{-10}M 이하, 8×10^{-10}M 이하, 7×10^{-10}M 이하, 6×10^{-10}M 이하, 5×10^{-10}M 이하, 4×10^{-10}M 이하, 3×10^{-10}M 이하, 2×10^{-10}M 이하, 또는 1×10^{-10}M 이하일 수 있다. 아데노신 함유 화합물의 비존재하, 혹은 저농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 항CTLA-4 항체의 KD값은, 예를 들면 1×10^{-8}M 이상, 2×10^{-8}M 이상, 3×10^{-8}M 이상, 4×10^{-8}M 이상, 5×10^{-8}M 이상, 6×10^{-8}M 이상, 7×10^{-8}M 이상, 8×10^{-8}M 이상, 9×10^{-8}M 이상, 1×10^{-7}M 이상, 2×10^{-7}M 이상, 3×10^{-7}M 이상, 4×10^{-7}M 이상, 5×10^{-7}M 이상, 6×10^{-7}M 이상, 7×10^{-7}M 이상, 8×10^{-7}M 이상, 9×10^{-7}M 이상, 1×10^{-6}M 이상, 2×10^{-6}M 이상, 3×10^{-6}M 이상, 4×10^{-6}M 이상, 5×10^{-6}M 이상, 6×10^{-6}M 이상, 7×10^{-6}M 이상, 8×10^{-6}M 이상, 또는 9×10^{-6}M 이상일 수 있다.

[0295] 다른 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체의 결합 활성을, KD값 대신에 kd(Dissociation rate constant: 해리 속도 상수)값으로 나타내도 된다.

[0296] 다른 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체의 결합 활성은, 단위 항체량당의 CTLA-4의 결합량으로 나타내도 된다. 예를 들면, 표면 플라즈몬 공명 어세이에 있어서는, 센서칩 상에 고정된 항체의 결합량, 및 추가로 거기에 결합한 항원의 결합량이 각각 반응 단위(resonance unit: RU)로서 측정된다. 거기서의 항원의 결합량을 항체의 결합량으로 나눈 값을, 단위 항체량당의 항원의 결합량으로서 정의할 수 있다. 그러한 결합량의 측정 및 산출의 구체적인 방법은 후술하는 실시예에 기재되어 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 비존재하에 비해, 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 CTLA-4의 결합량이 보다 크다. 혹은 다른 태양에 있어서, 저농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 비해, 고농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 CTLA-4의 결합량이 보다 크다. 추가적인 태양에 있어서, CTLA-4의 결합량의 차는, 예를 들면 2배 이상, 3배 이상, 5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 50배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 300배 이상, 500배 이상, 1×10^{3}배 이상, 2×10^{3}배 이상, 3×10^{3}배 이상, 5×10^{3}배 이상, 1×10^{4}배 이상, 2×10^{4}배 이상, 3×10^{4}배 이상, 5×10^{4}배 이상, 또는 1×10^{5}배 이상이다. 아데노신 함유 화합물의 존재하, 혹은 고농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 CTLA-4의 결합량의 값은, 예를 들면 0.01 이상, 0.02 이상, 0.03 이상, 0.04 이상, 0.05 이상, 0.06 이상, 0.07 이상, 0.08 이상, 0.09 이상, 0.1 이상, 0.2 이상, 0.3 이상, 0.4 이상, 0.5 이상, 0.6 이상, 0.7 이상, 0.8 이상, 0.9 이상, 또는 1 이상일 수 있다. 아데노신 함유 화합물의 비존재하, 혹은 저농도의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 CTLA-4의 결합량의 값은, 예를 들면 0.5 이하, 0.4 이하, 0.3 이하, 0.2 이하, 0.1 이하, 0.09 이하, 0.08 이하, 0.07 이하, 0.06 이하, 0.05 이하, 0.04 이하, 0.03 이하, 0.02 이하, 0.01 이하, 0.009 이하, 0.008 이하, 0.007 이하, 0.006 이하, 0.005 이하, 0.004 이하, 0.003 이하, 0.002 이하, 또는 0.001 이하일 수 있다.

[0297] 몇 개의 태양에 있어서, 본 명세서에서 표시되는 KD값이나 kd값, 결합량의 값 등은, 표면 플라즈몬 공명 어세이를 25℃ 또는 37℃에서 실시하는 것에 의해, 측정 혹은 산출된다(예를 들면, 본 명세서의 참고 실시예 3을 참조할 것).

[0298] 아데노신 함유 화합물의 농도로서는, 항CTLA-4 항체의 결합 활성에 차가 검출되는 한, 임의의 농도를 선택할 수

있다. 특정한 태양에 있어서, 고농도로서는, 예를 들면 1nM 또는 그보다 높은 농도, 3nM 또는 그보다 높은 농도, 10nM 또는 그보다 높은 농도, 30nM 또는 그보다 높은 농도, 100nM 또는 그보다 높은 농도, 300nM 또는 그보다 높은 농도, 1μM 또는 그보다 높은 농도, 3μM 또는 그보다 높은 농도, 10μM 또는 그보다 높은 농도, 30μM 또는 그보다 높은 농도, 100μM 또는 그보다 높은 농도, 300μM 또는 그보다 높은 농도, 1mM 또는 그보다 높은 농도, 3mM 또는 그보다 높은 농도, 10mM 또는 그보다 높은 농도, 30mM 또는 그보다 높은 농도, 100mM 또는 그보다 높은 농도, 300mM 또는 그보다 높은 농도, 1M 또는 그보다 높은 농도를 들 수 있다. 혹은, 각각의 항CTLA-4 항체가 최대의 결합 활성을 나타내는 충분량을 여기에서의 고농도로 할 수도 있다. 일 태양에 있어서, 1μM, 10μM, 100μM, 1mM, 혹은, 각각의 항CTLA-4 항체가 최대의 결합 활성을 나타내는 충분량을 여기에서의 고농도로서 선택할 수 있다. 특정한 태양에 있어서, 저농도로서는, 예를 들면 1mM 또는 그보다 낮은 농도, 300μM 또는 그보다 낮은 농도, 100μM 또는 그보다 낮은 농도, 30μM 또는 그보다 낮은 농도, 10μM 또는 그보다 낮은 농도, 3μM 또는 그보다 낮은 농도, 1μM 또는 그보다 낮은 농도, 300nM 또는 그보다 낮은 농도, 100nM 또는 그보다 낮은 농도, 30nM 또는 그보다 낮은 농도, 10nM 또는 그보다 낮은 농도, 3nM 또는 그보다 낮은 농도, 1nM 또는 그보다 낮은 농도, 300pM 또는 그보다 낮은 농도, 100pM 또는 그보다 낮은 농도, 30pM 또는 그보다 낮은 농도, 10pM 또는 그보다 낮은 농도, 3pM 또는 그보다 낮은 농도, 1pM 또는 그보다 낮은 농도 등을 들 수 있다. 혹은, 각각의 항CTLA-4 항체가 최소의 결합 활성을 나타낼 때의 농도를 여기에서의 저농도로 할 수도 있다. 실질적인 농도가 제로(아데노신 함유 화합물의 비존재하)인 경우를, 저농도의 일 태양으로서 선택할 수도 있다. 일 태양에 있어서, 1mM, 100μM, 10μM, 1μM, 각각의 항CTLA-4 항체가 최소의 결합 활성을 나타낼 때의 농도, 혹은 아데노신 화합물의 비존재하를 여기에서의 저농도로서 선택할 수 있다. 다른 태양에 있어서, 고농도와 저농도의 비로서는, 예를 들면 3배 또는 그 이상, 10배 또는 그 이상, 30배 또는 그 이상, 100배 또는 그 이상, 300배 또는 그 이상, 1×10^{3}배 또는 그 이상, 3×10^{3}배 또는 그 이상, 1×10^{4}배 또는 그 이상, 3×10^{4}배 또는 그 이상, 1×10^{5}배 또는 그 이상, 3×10^{5}배 또는 그 이상, 1×10^{6}배 또는 그 이상, 3×10^{6}배 또는 그 이상, 1×10^{7}배 또는 그 이상, 3×10^{7}배 또는 그 이상, 1×10^{8}배 또는 그 이상, 3×10^{8}배 또는 그 이상, 1×10^{9}배 또는 그 이상, 3×10^{9}배 또는 그 이상, 1×10^{10}배 또는 그 이상, 3×10^{10}배 또는 그 이상, 1×10^{11}배 또는 그 이상, 3×10^{11}배 또는 그 이상, 1×10^{12}배 또는 그 이상의 값을 선택할 수 있다.

[0299] 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 아데노신 함유 화합물에 대해서도 결합 활성을 갖는다. 전술한 방법을 이용하여, 단위 항체량당의 아데노신 함유 화합물의 결합량을 산출하고, 그것을 항CTLA-4 항체의 아데노신 함유 화합물에 대한 결합 활성으로 할 수 있다. 그러한 결합량의 측정 및 산출의 구체적인 방법은 후술하는 실시예에 기재되어 있다. 본 발명의 항CTLA-4 항체의 단위 항체량당의 아데노신 함유 화합물의 결합량의 값은, 예를 들면 0.0001 이상, 0.0002 이상, 0.0003 이상, 0.0004 이상, 0.0005 이상, 0.0006 이상, 0.0007 이상, 0.0008 이상, 0.0009 이상, 0.001 이상, 0.002 이상, 0.003 이상, 0.004 이상, 0.005 이상, 0.006 이상, 0.007 이상, 0.008 이상, 0.009 이상, 또는 0.01 이상일 수 있다.

[0300] 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 아데노신 함유 화합물 및 CTLA-4와 함께 삼자 복합체를 형성한다. 일 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 중쇄 CDR1, CDR2, CDR3을 개재시켜 아데노신 함유 화합물에 결합한다. 일 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 아데노신 함유 화합물에 대한 결합 모티프를 갖는다. 아데노신 함유 화합물에 대한 결합 모티프는, 예를 들면 Kabat 넘버링으로 표시되는 33위, 52위, 52a위, 53위, 56위, 58위, 95위, 96위, 100a위, 100b위, 100c위에 존재하는 적어도 하나의 아미노산으로 구성될 수 있다. 추가적인 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 예를 들면 Kabat 넘버링으로 표시되는 33위, 52위, 52a위, 53위, 56위, 58위, 95위, 96위, 100a위, 100b위, 100c위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 아미노산을 개재시켜 아데노신 함유 화합물에 결합한다. 특정한 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, Kabat 넘버링으로 표시되는 33위의 Thr, 52위의 Ser, 52a위의 Ser, 53위의 Arg, 56위의 Tyr, 58위의 Tyr, 95위의 Tyr, 96위의 Gly, 100a위의 Met, 100b위의 Leu, 100c위의 Trp로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 아미노산을 갖는다. 항CTLA-4 항체와 아데노신 함유 화합물이 결합하여 형성된 복합체에 대해서, 추가로 CTLA-4가 결합해도 된다. 또한, 아데노신 함유 화합물은, 항CTLA-4 항체와 CTLA-4가 상호작용하는 계면에 존재하고, 그들 양자에 결합하고 있어도 된다. 항CTLA-4 항체가, 아데노신 함유 화합물 및 CTLA-4와 함께 삼자 복합체를 형성하고 있는 것은, 예를 들면 후술하는 결정 구조 해석 등의 수법에 의해 확인할 수 있다(실시예 참조할 것).

[0301] 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 인간 CTLA-4(세포외 도메인, 서열 번호: 28)의 3번째의 아미노산(Met), 33번째의 아미노산(Glu), 35번째의 아미노산(Arg), 53번째의 아미노산(Thr), 97번째의 아미노산(Glu), 99번째의 아미노산(Met), 100번째의 아미노산(Tyr), 101번째의 아미노산(Pro), 102번째의 아미노산

(Pro), 103번째의 아미노산(Pro), 104번째의 아미노산(Tyr), 105번째의 아미노산(Tyr), 및 106번째의 아미노산(Leu)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 아미노산에 결합한다. 이들 아미노산은, 본 발명의 항CTLA-4 항체의 에피토프를 구성할 수 있다. 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 인간 CTLA-4(세포외 도메인, 서열 번호: 28)의 97번째의 아미노산(Glu) 내지 106번째의 아미노산(Leu)의 영역에 결합한다. 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 인간 CTLA-4(세포외 도메인, 서열 번호: 28)의 99번째의 아미노산(Met) 내지 106번째의 아미노산(Leu)의 영역에 결합한다.

[0302] 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, CTLA-4에의 결합에 관해서, ABAM004(VH, 서열 번호: 10; VL, 서열 번호: 11; HVR-H1, 서열 번호: 100; HVR-H2, 서열 번호: 101; HVR-H3, 서열 번호: 102; HVR-L1, 서열 번호: 113; HVR-L2, 서열 번호: 114; HVR-L3, 서열 번호: 115)와 경합한다. 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, ABAM004와 동일한 에피토프에 결합한다. 항CTLA-4 항체가 과잉으로 존재하는 경우, ABAM004의 CTLA-4에의 결합을, 예를 들면 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 또는 95% 이상 저감시킬 수 있다. 예시적인 경합 어세이가, 본 명세서에서 제공된다.

[0303] 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, CTLA-4 발현 세포에 대해서 세포상해 활성을 나타낸다. 표적이 되는 세포의 표면에 CTLA-4가 발현하고 있고, 거기에 항CTLA-4 항체가 결합한 경우, 당해 세포가 상해될 수 있다. 세포에의 상해는, 항체 의존성 세포상해 활성(antibody-dependent cellular cytotoxicity; ADCC)이나 항체 의존성 세포탐식 활성(antibody-dependent cellular phagocytosis; ADCP) 등, 항체에 결합한 이펙터 세포에 의해 야기되는 것이어도 되고, 보체 의존성 세포상해 활성(complement-dependent cytotoxicity; CDC) 등, 항체에 결합한 보체에 의해 야기되는 것이어도 된다. 혹은 이뮤노콘주게이트 등과 같이, 항체에 결합한 세포상해제(예를 들면, 방사성 동위체나 화학요법제 등)에 의해 야기되는 것이어도 된다. 여기에서의 세포상해는, 세포사를 유도하는 작용이나 세포 증식을 억제하는 작용, 세포 기능에 장애를 주는 작용 등을 포함할 수 있다. 항CTLA-4 항체가 충분한 양으로 존재하는 경우, 예를 들면 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 또는 95% 이상의 CTLA-4 발현 세포에 대해서 상해를 야기할 수 있다. 그와 같은 세포상해 활성의 측정은, 항체의 비존재하 혹은 음성 대조 항체의 존재하에서의 측정과 비교해서 행할 수 있다. 예시적인 세포상해 어세이가, 본 명세서에서 제공된다.

[0304] 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, CTLA-4에 대해서 중화 활성을 나타낸다. CTLA-4는, 그의 리간드인 CD80(B7-1) 혹은 CD86(B7-2)과 상호작용하는 것에 의해 기능하는 것이 알려져 있다. 특정한 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, CTLA-4와 CD80(B7-1) 혹은 CD86(B7-2)과의 상호작용을 저해한다. 항CTLA-4 항체가 충분한 양으로 존재하는 경우, CTLA-4와 CD80(B7-1) 혹은 CD86(B7-2)의 상호작용을 예를 들면 10% 이상, 15% 이상, 20% 이상, 25% 이상, 30% 이상, 35% 이상, 40% 이상, 45% 이상, 50% 이상, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 또는 95% 이상 저해할 수 있다. 그와 같은 저해 활성의 측정은, 항체의 비존재하 혹은 음성 대조 항체의 존재하에서의 측정과 비교해서 행할 수 있다. 중화 활성의 측정의 구체적인 방법이 본 명세서에서 제공된다.

[0305] 다른 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 복수의 동물종에서 유래하는 CTLA-4에 결합한다. 예시적인 동물종으로서는, 포유동물, 예를 들면 인간, 원숭이, 마우스, 래트, 햄스터, 기니피그, 토끼, 돼지, 소, 염소, 말, 양, 낙타, 개, 고양이 등을 들 수 있다. 특정한 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 인간 및 비인간(예를 들면, 원숭이, 마우스, 래트 등) 유래의 CTLA-4에 결합한다. 인간 CTLA-4의 아미노산 서열은 서열 번호: 214에, 원숭이 CTLA-4의 아미노산 서열은 서열 번호: 247, 마우스 CTLA-4의 아미노산 서열은 서열 번호: 248에 나타나 있다. 그 밖의 동물종에서 유래하는 CTLA-4의 아미노산 서열도, 당업자에게 공지된 방법에 의해 적절히 결정할 수 있다.

[0306] 특정한 태양에 있어서, 본 발명에 있어서의 아데노신 함유 화합물로서는, 예를 들면, 아데노신(ADO), 아데노신 3인산(ATP), 아데노신 2인산(ADP), 아데노신 1인산(AMP), 환상 아데노신 1인산(cAMP), 데옥시아데노신(dADO), 데옥시아데노신 3인산(dATP), 데옥시아데노신 2인산(dADP), 데옥시아데노신 1인산(dAMP), 아데노신 γ 싸이오 3인산(ATPγS) 등을 들 수 있다.

[0307] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 223의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 224의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 225의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서,

항체는, (a) 서열 번호: 223의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 224의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 225의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0308] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 226의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 227의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 228의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 226의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 227의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 228의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0309] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 223의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 224의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 225의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 226의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 227의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 228의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0310] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 223의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 224의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 225의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 226의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 227의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 228의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0311] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0312] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 113의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 113의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0313] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 113의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0314] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 113의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0315] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 104의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 104의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0316] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0317] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 104의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0318] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 104의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0319] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 106의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 106의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0320] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0321] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 106의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0322] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 106의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0323] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 108의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 108의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0324] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 153의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 153의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0325] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 108의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 153의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0326] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호:

108의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 153의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0327] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0328] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0329] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0330] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0331] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0332] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0333] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0334] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0335] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포

함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0336] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0337] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0338] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0339] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0340] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0341] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0342] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0343] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0344] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0345] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는

HVR-H1, (ii) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0346] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 152의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0347] 일 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0348] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 항체는, (a) 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (b) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0349] 다른 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, (a) VH 도메인으로서, (i) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (ii) 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (iii) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VH HVR 서열을 포함하는, VH 도메인과; (b) VL 도메인으로서, (i) 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (ii) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (iii) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 적어도 1개, 적어도 2개, 또는 3개 모두의 VL HVR 서열을 포함하는, VL 도메인을 포함한다.

[0350] 다른 국면에 있어서, 본 발명은, (a) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1과; (b) 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2와; (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3과; (d) 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1과; (e) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2와; (f) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, 항체를 제공한다.

[0351] 특정한 태양에 있어서, 이하의 HVR 포지션에서, 전술한 항CTLA-4 항체의 임의의 1개 또는 복수의 아미노산이 치환되어 있다:

[0352] -HVR-H1(서열 번호: 223)에 있어서의: 포지션 2

[0353] -HVR-H2(서열 번호: 224)에 있어서의: 포지션 4, 5, 7, 13, 및 16

[0354] -HVR-H3(서열 번호: 225)에 있어서의: 포지션 3

[0355] -HVR-L1(서열 번호: 226)에 있어서의: 포지션 1, 3, 6, 11, 12, 및 14

[0356] -HVR-L2(서열 번호: 227)에 있어서의: 포지션 1, 3, 4, 및 7

[0357] -HVR-L3(서열 번호: 228)에 있어서의: 포지션 1, 및 10

[0358] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 치환은, 보존적 치환이다. 특정한 태양에 있어서, 이하의 어느 1개 또는 복수의 치환이, 임의의 조합으로 행해져도 된다:

[0359] -HVR-H1(서열 번호: 100)에 있어서: H2A, R 또는 K

[0360] -HVR-H2(서열 번호: 101)에 있어서: S4T; R5Q; G7H; D13E 또는 R; K16R

[0361] -HVR-H3(서열 번호: 102)에 있어서: K3A

[0362] -HVR-L1(서열 번호: 113)에 있어서: T1D, Q 또는 E; T3P; D6G; N11T; Y12W; S14H

[0363] -HVR-L2(서열 번호: 114)에 있어서: E1F 또는 Y; S3I; K4S; S7E 또는 K

[0364] -HVR-L3(서열 번호: 115)에 있어서: S1Q; M10T

[0365] 전술한 치환의 가능한 모든 조합은, HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3, HVR-L1, HVR-L2, 및 HVR-L3에 관해서 각각, 서열 번호: 223, 224, 225, 226, 227, 및 228의 컨센서스 서열에 포함된다.

[0366] 전술한 태양의 임의의 것에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 인간화되어 있다. 일 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 전술한 태양의 임의의 것에 있어서의 HVR을 포함하고, 더욱이 또한, 억셉터 인간 프레임워크(예를 들면, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크)를 포함한다. 다른 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는 전술한 태양의 임의의 것에 있어서의 HVR을 포함하고, 더욱이 또한, FR 서열을 포함하는 VH 또는 VL을 포함한다. 추가적인 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 이하의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 도메인 FR 서열을 포함한다: 중쇄 가변 도메인에 대하여, FR1은, 서열 번호: 229~232 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하고, FR2는 서열 번호: 233의 아미노산 서열을 포함하고, FR3은 서열 번호: 234의 아미노산 서열을 포함하고, FR4는 서열 번호: 235의 아미노산 서열을 포함한다. 경쇄 가변 도메인에 대하여, FR1은, 서열 번호: 236~238 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하고, FR2는 서열 번호: 240~241 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하고, FR3은 서열 번호: 242~244 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하고, FR4는 서열 번호: 245~246 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함한다.

[0367] 다른 국면에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 서열 번호: 10의 아미노산 서열에 대해서 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 중쇄 가변 도메인(VH) 서열을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 VH 서열은, 참조 서열에 대해서, 치환(예를 들면, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 포함하지만, 당해 서열을 포함하는 항CTLA-4 항체는, CTLA-4에 결합하는 능력을 유지한다. 특정한 태양에 있어서, 합계 1개 내지 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 또는 15개의 아미노산이, 서열 번호: 10에 있어서, 치환, 삽입, 및/또는 결실된다. 특정한 태양에 있어서, 치환, 삽입, 또는 결실은, HVR의 외측의 영역(즉, FR 중)에서 생긴다. 임의로, 항CTLA-4 항체는, 서열 번호: 10에 있어서의 VH 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 어떤 특정한 태양에서는, VH는, (a) 서열 번호: 100의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 번호: 101의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3으로부터 선택되는, 1개, 2개, 또는 3개의 HVR을 포함한다. 번역 후 수식은, 중쇄 또는 경쇄 N 말단의 글루타민 또는 글루탐산의 파이로글루타밀화에 의한 파이로글루탐산으로의 수식을 포함하지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0368] 다른 국면에 있어서, 서열 번호: 11의 아미노산 서열에 대해서 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는, 항CTLA-4 항체가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 VL 서열은, 참조 서열에 대해서, 치환(예를 들면, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 포함하지만, 당해 서열을 포함하는 항CTLA-4 항체는, CTLA-4에 결합하는 능력을 유지한다. 특정한 태양에 있어서, 합계 1개 내지 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 또는 15개의 아미노산이, 서열 번호: 11에 있어서, 치환, 삽입, 및/또는 결실된다. 특정한 태양에 있어서, 치환, 삽입, 또는 결실은, HVR의 외측의 영역(즉, FR 중)에서 생긴다. 임의로, 항CTLA-4 항체는, 서열 번호: 11에 있어서의 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 어떤 특정한 태양에서는, VL은, (a) 서열 번호: 113의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 1개, 2개, 또는 3개의 HVR을 포함한다. 번역 후 수식은, 중쇄 또는 경쇄 N 말단의 글루타민 또는 글루탐산의 파이로글루타밀화에 의한 파이로글루탐산으로의 수식을 포함하지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0369] 다른 국면에 있어서, 서열 번호: 149의 아미노산 서열에 대해서 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100%의 서열 동일성을 갖는 경쇄 가변 도메인(VL)을 포함하는, 항CTLA-4 항체가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 적어도 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99%의 동일성을 갖는 VL 서열은, 참조 서열에 대해서, 치환(예를 들면, 보존적 치환), 삽입, 또는 결실을 포함하지만, 당해 서열을 포함하는 항CTLA-4 항체는, CTLA-4에 결합하는 능력을 유지한다. 특정한 태양에 있어서, 합계 1개 내지 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 또는 15개의 아미노산이, 서열 번호: 149에 있어서, 치환, 삽입, 및/또는 결실된다. 특정한 태양에 있어서, 치환, 삽입, 또는 결실은, HVR의 외측의 영역(즉, FR 중)에서 생긴다. 임의로, 항CTLA-4 항체는, 서열 번호: 149에 있어서의 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 어떤 특정한 태양에서는, VL은, (a) 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 번호: 117의

아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3으로부터 선택되는, 1개, 2개, 또는 3개의 HVR을 포함한다. 번역 후 수식은, 중쇄 또는 경쇄 N 말단의 글루타민 또는 글루탐산의 파이로글루타밀화에 의한 파이로글루탐산으로의 수식을 포함하지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0370] 다른 국면에 있어서, 전술한 태양의 임의의 것에 있어서의 VH, 및 전술한 태양의 임의의 것에 있어서의 VL을 포함하는, 항CTLA-4 항체가 제공된다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 10 및 서열 번호: 11 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 98 및 서열 번호: 99 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 88 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 89 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 90 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 91 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 92 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 93 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 94 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 97 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 83 및 서열 번호: 95 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 84 및 서열 번호: 97 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 85 및 서열 번호: 97 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 86 및 서열 번호: 97 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 86 및 서열 번호: 134 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 136 및 서열 번호: 97 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 135 및 서열 번호: 97 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 136 및 서열 번호: 95 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 137 및 서열 번호: 97 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 138 및 서열 번호: 97 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 138 및 서열 번호: 144 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 138 및 서열 번호: 145 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 138 및 서열 번호: 146 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 139 및 서열 번호: 146 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 140 및 서열 번호: 146 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 141 및 서열 번호: 146 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 140 및 서열 번호: 147 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 141 및 서열 번호: 147 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 140 및 서열 번호: 148 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 141 및 서열 번호: 148 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 136 및 서열 번호: 149 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 추가적인 국면에 있어서, 전술한 VH 및 VL 서열을 포함하는 가변 영역 중에서 선택되는, 적어도 2개의 상이한 가변 영역을 포함하는 헤테로한 항CTLA-4 항체가 제공된다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 140 및 서열 번호: 146 중의 VH 및 VL 서열, 및 서열 번호: 141 및 서열 번호: 146 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의

번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 일 태양에 있어서, 항체는 각각 서열 번호: 140 및 서열 번호: 147 중의 VH 및 VL 서열, 및 서열 번호: 141 및 서열 번호: 147 중의 VH 및 VL 서열을, 당해 서열의 번역 후 수식을 포함한 것도 포함시켜, 포함한다. 번역 후 수식은, 중쇄 또는 경쇄 N 말단의 글루타민 또는 글루탐산의 파이로글루타밀화에 의한 파이로글루탐산으로의 수식을 포함하지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0371] 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체의 중쇄 또는 경쇄 N 말단의 아미노산이 글루타민인 경우, 당해 아미노산은 글루탐산으로 치환되어도 된다. 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체의 중쇄 또는 경쇄 N 말단의 아미노산이 글루탐산인 경우, 당해 아미노산은 글루타민으로 치환되어도 된다.

[0372] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은, 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 제공한다. 예를 들면, 특정한 태양에 있어서, 표 17, 표 22, 표 27, 및 표 32에 기재된 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 서열 번호: 28의 3번째의 아미노산(Met), 33번째의 아미노산(Glu), 35번째의 아미노산(Arg), 53번째의 아미노산(Thr), 97번째의 아미노산(Glu), 99번째의 아미노산(Met), 100번째의 아미노산(Tyr), 101번째의 아미노산(Pro), 102번째의 아미노산(Pro), 103번째의 아미노산(Pro), 104번째의 아미노산(Tyr), 105번째의 아미노산(Tyr), 및 106번째의 아미노산(Leu)으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 아미노산을 포함하는 CTLA-4의 단편 중의 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 서열 번호: 28의 97번째의 아미노산(Glu) 내지 106번째의 아미노산(Leu)으로 이루어지는 CTLA-4의 단편 중의 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 서열 번호: 28의 99번째의 아미노산(Met) 내지 106번째의 아미노산(Leu)으로 이루어지는 CTLA-4의 단편 중의 에피토프에 결합하는 항체가 제공된다.

[0373] 본 발명의 추가적인 국면에 있어서, 전술한 태양의 임의의 것에 의한 항CTLA-4 항체는, 키메라, 인간화, 또는 인간 항체를 포함하는, 모노클로날 항체이다. 일 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 예를 들면, Fv, Fab, Fab', scFv, 다이아보디, 또는 $F(ab')_2$ 단편 등의, 항체 단편이다. 다른 태양에 있어서, 항체는, 예를 들면, 완전 IgG1 항체나 완전 IgG4 항체, 본 명세서에서 정의된 다른 항체 클래스 또는 아이소타입 등의, 전장 항체이다.

[0374] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는 Fc 영역을 포함한다. 추가적인 국면에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는 정상 영역을 포함한다. 정상 영역은, 중쇄 정상 영역(Fc 영역을 포함한다), 경쇄 정상 영역, 혹은 그 양자여도 된다. 몇 개의 태양에 있어서, Fc 영역은, 천연형 서열의 Fc 영역이다. 천연형 항체에서 유래하는 예시적인 중쇄 정상 영역으로서, 예를 들면 인간 IgG1(서열 번호: 249), 인간 IgG2(서열 번호: 250), 인간 IgG3(서열 번호: 251), 인간 IgG4(서열 번호: 252) 등의 중쇄 정상 영역을 들 수 있다. 또한, 다른 예시적인 중쇄 정상 영역으로서, 서열 번호: 82, 서열 번호: 158, 서열 번호: 334 등의 중쇄 정상 영역을 들 수 있다. 천연형 항체에서 유래하는 예시적인 경쇄 정상 영역으로서, 예를 들면 인간 κ쇄(서열 번호: 33, 서열 번호: 63, 서열 번호: 159), 인간 λ쇄(서열 번호: 53, 서열 번호: 87) 등의 경쇄 정상 영역을 들 수 있다.

[0375] 다른 태양에 있어서, Fc 영역은, 천연형 서열의 Fc 영역에 아미노산 개변을 가하여 제작된 변이 Fc 영역이다. 특정한 태양에 있어서, 변이 Fc 영역은, 천연형 서열의 Fc 영역에 비해, FcγRIa, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 Fcγ 수용체에 대한 결합 활성이 증강되어 있다. 추가적인 태양에 있어서, 변이 Fc 영역은, 천연형 서열의 Fc 영역에 비해, FcγRIIa 및 FcγRIIIa에 대한 결합 활성이 증강되어 있다. 그와 같은 변이 Fc 영역을 포함하는 중쇄 정상 영역의 예로서, 예를 들면 표 39~표 43에 기재된 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 31, 32, 41~46, 65, 66, 81, 207, 239, 253~271, 276, 277, 278, 308, 309, 311~333, 343~348, 350, 351에 기재된 중쇄 정상 영역 등을 들 수 있다.

[0376] 천연형 서열의 Fc 영역은, 통상, 2본의 동일한 폴리펩타이드쇄로 이루어지는 호모이량체로서 구성된다. 특정한 태양에 있어서, 변이 Fc 영역은, 동일한 서열의 폴리펩타이드쇄로 구성되는 호모이량체여도 되고, 서로 서열이 상이한 폴리펩타이드쇄로 구성되는 헤테로이량체여도 된다. 마찬가지로, Fc 영역을 포함하는 중쇄 정상 영역도, 동일한 서열의 폴리펩타이드쇄로 구성되는 호모이량체여도 되고, 서로 서열이 상이한 폴리펩타이드쇄로 구성되는 헤테로이량체여도 된다. 헤테로한 중쇄 정상 영역의 예로서, 예를 들면 서열 번호: 31의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 32의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 43의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 44의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 45의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 46의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 254의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 256의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 257의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 258의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 259의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 260의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 261의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 263의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열

번호: 262의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 264의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 265의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 267의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 266의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 268의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 269의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 270의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 271의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 81의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 65의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 66의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 239의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 207의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 259의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 276의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 65의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 278의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 308의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 309의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 311의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 312의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 313의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 314의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 315의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 316의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 317의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 318의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 319의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 320의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 321의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 322의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 323의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 324의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 325의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 326의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 327의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 328의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 330의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 331의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 332의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 333의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 343의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 344의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 345의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 347의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 346의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 348의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 350의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 351의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역 등을 들 수 있다.

[0377] 추가적인 국면에 있어서, 전술한 태양의 임의의 것에 의한 항CTLA-4 항체는, 단독 또는 조합으로, 이하의 항목 1~7에 기재된 임의의 특징을 도입해도 된다.

[0378] 1. 항체의 결합 활성

[0379] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체의 결합 활성(binding activity)은, ≤10μM, ≤1μM, ≤100nM, ≤10nM, ≤1nM, ≤0.1nM, ≤0.01nM, 또는 ≤0.001nM(예를 들면, 10^{-8}M 이하, 예를 들면 10^{-8}M~10^{-13}M, 예를 들면 10^{-9}M~10^{-13}M)의 해리 상수(KD)이다.

[0380] 일 태양에 있어서, 항체의 결합 활성(binding activity)은, 방사성 표지 항원 결합 측정법(radiolabeled antigen binding assay: RIA)에 의해 측정된다. 일 태양에 있어서, RIA는, 목적하는 항체의 Fab 버전 및 그 항원을 이용하여 실시된다. 예를 들면, 항원에 대한 Fab의 용액 중 결합 어피니티는, 비표지 항원의 점증량 계열의 존재하에서 최소 농도의 (^{125}I) 표지 항원에 의해 Fab를 평형화시키고, 이어서 결합한 항원을 항Fab 항체로 코팅된 플레이트에 의해 포착하는 것에 의해 측정된다(예를 들면, Chen et al., J. Mol. Biol. 293: 865-881(1999)를 참조할 것). 측정 조건을 구축하기 위해서, MICROTITER(등록상표) 멀티 웰 플레이트(Thermo Scientific)를 50mM 탄산 나트륨(pH 9.6) 중 5μg/ml의 포착용 항Fab 항체(Cappel Labs)로 하룻밤 코팅하고, 그 후에 실온(대략 23℃)에서 2~5시간, PBS 중 2%(w/v) 소혈청 알부민으로 블록한다. 비흡착 플레이트(Nunc #269620)에 있어서, 100pM 또는 26pM의 [^{125}I]-항원을, (예를 들면, Presta et al., Cancer Res. 57: 4593-4599(1997)에 있어서의 항VEGF 항체, Fab-12의 평가와 동일하도록) 목적하는 Fab의 단계 희석물과 혼합한다. 이어서, 목적하는 Fab를 하룻밤 인큐베이트하지만, 이 인큐베이션은, 평형이 확실히 달성되도록, 보다 장시간(예를 들면, 약 65시간) 계속될 수 있다. 그 후, 혼합물을, 실온에서의 인큐베이션(예를 들면, 1시간)을 위해서 포착 플레이트로 옮긴다. 이어서 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중 0.1%의 폴리소베이트 20(TWEEN-20(등록상표))으로 8회 세정한다. 플레이트가 건조되면, 150μl/웰의 신틸런트(MICROSCINT-20(상표), Packard)를 첨가하고, TOPCOUNT(상표) 감마 카운터(Packard)에 있어서 플레이트를 10분간 카운트한다. 최대 결합의 20% 이하를 주는 각 Fab의 농도를, 경합 결합 어세이에 있어서 사용하기 위해서 선택한다.

[0381] 일 태양에 있어서, 항체의 결합 활성(binding activity)은, 표면 플라즈몬 공명 분석법을 측정 원리로 하는, 예를 들면 BIACORE(상표등록) T200 또는 BIACORE(상표등록) 4000(GE Healthcare, Uppsala, Sweden)을 이용한 리

간드 포착법이 이용된다. 기기 조작에는 BIACORE(상표등록) Control Software가 이용된다. 일 태양에 있어서, 아민 커플링 키트(GE Healthcare, Uppsala, Sweden)를 공급원의 지시에 따라 사용하여, 카복시메틸 덱스트란을 코팅한 센서칩(GE Healthcare, Uppsala, Sweden)에 리간드 포착용 분자, 예를 들면 항태그 항체, 항IgG 항체, 프로테인 A 등을 고상화한다. 리간드 포착 분자는 적절한 pH의 10mM 아세트산 나트륨 용액을 이용하여 희석되고, 적절한 유속 및 주입 시간으로 주입된다. 결합 활성 측정은 0.05% 폴리소베이트 20(그 밖의 명칭으로서 Tween(상표등록)-20) 함유 완충액을 측정용 완충액으로서 사용하고, 유속은 10-30μL/분, 측정 온도는 바람직하게는 25℃나 37℃에서 측정된다. 리간드 포착용 분자에 항체를 리간드로서 포착시켜 측정을 실시하는 경우는, 항체를 주입해서 목적량을 포착시킨 후, 측정용 완충액을 이용하여 조제된 항원 또는 Fc 수용체의 단계 희석물(애널라이트)이 주입된다. 리간드 포착용 분자에 항원 또는 Fc 수용체를 리간드로서 포착시켜 측정을 실시하는 경우는, 항원 또는 Fc 수용체를 주입해서 목적량을 포착시킨 후, 측정용 완충액을 이용하여 조제된 항체의 단계 희석물(애널라이트)이 주입된다.

[0382] 일 태양에 있어서, 측정 결과는, BIACORE(등록상표) Evaluation Software를 이용하여 해석된다. 속도론적 파라미터(kinetics parameter)의 산출은, 1:1 Binding의 모델을 이용하여, 결합 및 해리의 센서그램을 동시에 피팅하는 것에 의해 실시되고, 결합 속도(kon 혹은 ka), 해리 속도(koff 혹은 kd), 평형 해리 상수(KD)가 계산될 수 있다. 결합 활성이 약하고, 특히 해리가 빨라 속도론적 파라미터의 산출이 곤란한 경우는, Steady state 모델을 이용하여 평형 해리 상수(KD)를 계산해도 된다. 결합 활성이 다른 파라미터로서는, 특정한 농도의 애널라이트의 결합량(RU)을 리간드의 포착량(RU)으로 나누어, 「단위 리간드양당의 애널라이트 결합량」을 산출해도 된다.

[0383] 2. 항체 단편

[0384] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체는, 항체 단편이다. 항체 단편은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, Fv, 및 scFv 단편, 및, 후술하는 다른 단편을 포함한다. 특정한 항체 단편에 대한 총설로서, Hudson et al. Nat. Med. 9: 129-134 (2003)을 참조할 것. scFv 단편의 총설로서, 예를 들면, Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315 (1994); 게다가, WO93/16185; 및 미국 특허 제5,571,894호 및 제5,587,458호를 참조할 것. 샐비지 수용체 결합 에피토프 잔기를 포함하고 인 비보(in vivo)에 있어서의 반감기가 길어진 Fab 및 $F(ab')_2$ 단편에 대한 논설로서 미국 특허 제5,869,046호를 참조할 것.

[0385] 다이아보디는, 2가 또는 이중특이적이어도 되는, 항원 결합 부위를 2개 수반하는 항체 단편이다. 예를 들면, EP404,097호; WO1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9: 129-134 (2003); Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993) 참조. 트라이아보디(triabody)나 테트라보디(tetrabody)도, Hudson et al., Nat. Med. 9: 129-134 (2003)에 기재되어 있다.

[0386] 싱글 도메인 항체는, 항체의 중쇄 가변 도메인의 모두 혹은 일부분, 또는 경쇄 가변 도메인의 모두 혹은 일부분을 포함하는, 항체 단편이다. 특정한 태양에 있어서, 싱글 도메인 항체는, 인간 싱글 도메인 항체이다(Domantis, Inc., Waltham, MA; 예를 들면, 미국 특허 제6,248,516호 B1 참조).

[0387] 항체 단편은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 본 명세서에 기재된, 완전 항체의 단백질 분해적 소화, 재조합 숙주 세포(예를 들면, 대장균(E. coli) 또는 파지)에 의한 산생을 포함하는, 여러 가지 수법에 의해 만들 수 있다.

[0388] 3. 키메라 및 인간화 항체

[0389] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체는, 키메라 항체이다. 특정한 키메라 항체가, 예를 들면, 미국 특허 제4,816,567호; 및, Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855 (1984)에 기재되어 있다. 일례에서는, 키메라 항체는, 비인간 가변 영역(예를 들면, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼, 또는 원숭이 등의 비인간 영장류에서 유래하는 가변 영역) 및 인간 정상 영역을 포함한다. 추가적인 예에 있어서, 키메라 항체는, 친항체의 것으로부터 클래스 또는 서브클래스가 변경된 「클래스 스위치」 항체이다. 키메라 항체는, 그의 항원 결합 단편도 포함한다.

[0390] 특정한 태양에 있어서, 키메라 항체는, 인간화 항체이다. 전형적으로는, 비인간 항체는, 친비인간 항체의 특이성 및 어피니티를 유지한 그대로 인간에의 면역원성을 감소시키기 위해서, 인간화된다. 통상, 인간화 항체는 1개 또는 복수의 가변 도메인을 포함하고, 당해 가변 도메인 중, HVR(예를 들면 CDR(또는 그의 부분))은 비인간 항체에서 유래하고, FR(또는 그의 부분)은 인간 항체 서열에서 유래한다. 인간화 항체는, 임의로, 인간 정상 영

역의 적어도 일부분을 포함한다. 몇 개의 태양에 있어서, 인간화 항체 중의 몇 개의 FR 잔기는, 예를 들면, 항체의 특이성 또는 어피니티를 회복 또는 개선하기 위해서, 비인간 항체(예를 들면, HVR 잔기의 유래가 된 항체)로부터의 대응하는 잔기로 치환되어 있다.

[0391] 인간화 항체 및 그 제작 방법은, Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008)에 있어서 총설되어 있고, 또한, 예를 들면, Riechmann et al., Nature 332: 323-329 (1988); Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 10029-10033 (1989); 미국 특허 제5,821,337호, 제7,527,791호, 제6,982,321호, 및 제7,087,409호; Kashmiri et al., Methods 36: 25-34 (2005)(특이성 결정 영역(specificity determining region: SDR) 그래프팅을 기재); Padlan, Mol. Immunol. 28: 489-498 (1991)(리서페이싱을 기재); Dall'Acqua et al., Methods 36: 43-60 (2005)(FR 셔플링을 기재); 및, Osbourn et al., Methods 36: 61-68 (2005) 및 Klimka et al., Br. J. Cancer, 83: 252-260 (2000)(FR 셔플링을 위한 「가이드 셀렉션」 어프로치를 기재)에 있어서, 추가로 기재되어 있다.

[0392] 인간화에 사용될 수 있는 인간 프레임워크 영역은, 이들로 한정되는 것은 아니지만: 「베스트 피트」법(Sims et al. J. Immunol. 151: 2296 (1993) 참조)을 이용하여 선택된 프레임워크 영역; 경쇄 또는 중쇄 가변 영역의 특정한 서브그룹의 인간 항체의 컨센서스 서열에서 유래하는 프레임워크 영역(Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 4285 (1992) 및 Presta et al. J. Immunol., 151: 2623 (1993) 참조); 인간 성숙(체세포 변이) 프레임워크 영역 또는 인간 생식 세포계 프레임워크 영역(예를 들면, Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13: 1619-1633 (2008) 참조); 및, FR 라이브러리의 스크리닝에서 유래하는 프레임워크 영역(Baca et al., J. Biol. Chem. 272: 10678-10684 (1997) 및 Rosok et al., J. Biol. Chem. 271: 22611-22618 (1996) 참조)을 포함한다.

[0393] 4. 인간 항체

[0394] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체는, 인간 항체이다. 인간 항체는, 당해 기술 분야에 있어서 알려진 여러 가지 수법에 의해 제조될 수 있다. 인간 항체는, van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-374 (2001) 및 Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20: 450-459 (2008)에 개설되어 있다.

[0395] 인간 항체는, 항원 챌린지(부하)에 응답하여 완전 인간 항체 또는 인간 가변 영역을 수반하는 완전 항체를 산생하도록 개변된 트랜스제닉 동물에 면역원을 투여하는 것에 의해, 조제되어도 된다. 그와 같은 동물은, 전형적으로는 인간 면역글로불린 유전자 자리의 전부 혹은 일부분을 포함하고, 인간 면역글로불린 유전자 자리의 전부 혹은 일부분은, 내인성의 면역글로불린 유전자 자리를 치환하거나, 또는 염색체 외에 혹은 당해 동물의 염색체 내에 랜덤으로 도입된 상태로 존재한다. 그와 같은 트랜스제닉 마우스에 있어서, 내인성의 면역글로불린 유전자 자리는, 통상 불활성화되어 있다. 트랜스제닉 동물로부터 인간 항체를 얻는 방법의 총설로서, Lonberg, Nat. Biotech. 23: 1117-1125 (2005)를 참조할 것. 또한, 예를 들면, XENOMOUSE(상표) 기술을 기재한 미국 특허 제6,075,181호 및 제6,150,584호; HUMAB(등록상표) 기술을 기재한 미국 특허 제5,770,429호; K-M MOUSE(등록상표) 기술을 기재한 미국 특허 제7,041,870호; 및, VELOCIMOUSE(등록상표) 기술을 기재한 미국 특허 출원 공개 제2007/0061900호를, 아울러 참조할 것. 이와 같은 동물에 의해 생성된 완전 항체로부터의 인간 가변 영역은, 예를 들면, 상이한 인간 정상 영역과 조합 등을 해서, 더 수식되어도 된다.

[0396] 인간 항체는, 하이브리도마에 기초한 방법으로도 만들 수 있다. 인간 모노클로날 항체의 제조를 위한, 인간 미엘로마 및 마우스-인간 헤테로미엘로마 세포주는, 이미 기술되어 있다(예를 들면, Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991) 참조). 인간 B 세포 하이브리도마 기술을 통해 생성된 인간 항체도, Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103: 3557-3562 (2006)에 기술되어 있다. 추가적인 방법으로서는, 예를 들면, 미국 특허 제7,189,826호(하이브리도마 세포주로부터의 모노클로날 인간 IgM 항체의 제조를 기재), 및, Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4): 265-268 (2006)(인간-인간 하이브리도마를 기재)에 기재된 것을 포함한다. 인간 하이브리도마 기술(트라이오마 기술)도, Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3): 927-937 (2005) 및 Vollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3): 185-191 (2005)에 기재되어 있다.

[0397] 인간 항체는, 인간 유래 파지 디스플레이 라이브러리로부터 선택된 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리하는 것으로도 생성할 수 있다. 이와 같은 가변 도메인 서열은, 다음에 원하는 인간 정상 도메인과 조합할 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하는 수법을, 이하에 기술한다.

[0398] 5. 라이브러리 유래 항체

[0399] 본 발명의 항체는, 원하는 1개 또는 복수의 활성을 수반하는 항체에 대하여 콤비나토리얼 라이브러리를 스크리닝하는 것에 의해 단리해도 된다. 예를 들면, 파지 디스플레이 라이브러리의 생성이나, 원하는 결합 특성을 구비하는 항체에 대하여 그와 같은 라이브러리를 스크리닝하기 위한, 다양한 방법이 당해 기술 분야에 있어서 알려져 있다. 그와 같은 방법은, Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)에 있어서 총설되어 있고, 또 예를 들면, McCafferty et al., Nature 348: 552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248: 161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 및 Lee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132 (2004)에 기재되어 있다.

[0400] 특정한 파지 디스플레이법에 있어서, VH 및 VL 유전자의 레퍼토리는, 폴리머라아제 연쇄 반응(polymerase chain reaction: PCR)에 의해 따로따로 클로닝되고, 무작위로 파지 라이브러리 중에서 재결합되고, 당해 파지 라이브러리는, Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)에 기술되어 있는 바와 같이 해서, 항원 결합 파지에 대하여 스크리닝될 수 있다. 파지는, 전형적으로는, 단쇄 Fv(scFv) 단편으로서 또는 Fab 단편으로서 중 어느 것으로, 항체 단편을 제시한다. 면역화된 공급원으로부터의 라이브러리는, 하이브리도마를 구축하는 것을 필요로 하지 않고서, 면역원에 대한 고어피니티 항체를 제공한다. 혹은, Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)에 기재되는 바와 같이, 나이브 레퍼토리를(예를 들면, 인간으로부터) 클로닝하고, 면역화하는 일 없이, 광범위한 비자기 및 자기항원에의 항체의 단일의 공급원을 제공할 수도 있다. 마지막으로, 나이브 라이브러리는, Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)에 기재되는 바와 같이, 줄기세포로부터 재편성 전의 V-유전자 세그먼트를 클로닝하고, 초가변 CDR3 영역을 코드하고 또한 인 비트로(in vitro)에서 재구성을 달성하기 위한 무작위 서열을 포함한 PCR 프라이머를 이용하는 것에 의해, 합성적으로 만들 수도 있다. 인간 항체 파지 라이브러리를 기재한 특허문헌은, 예를 들면: 미국 특허 제5,750,373호, 및, 미국 특허출원 공개 제2005/0079574호, 제2005/0119455호, 제2005/0266000호, 제2007/0117126호, 제2007/0160598호, 제2007/0237764호, 제2007/0292936호, 및 제2009/0002360호를 포함한다

[0401] 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은, 본 명세서에서는 인간 항체 또는 인간 항체 단편이라고 간주한다.

[0402] 6. 다중특이성 항체

[0403] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체는, 다중특이성 항체(예를 들면, 이중특이성 항체)이다. 다중특이성 항체는, 적어도 2개의 상이한 부위에 결합 특이성을 갖는, 모노클로날 항체이다. 특정한 태양에 있어서, 결합 특이성의 1개는, CTLA-4에 대한 것이고, 또 다른 1개는 다른 임의의 항원에 대한 것이다. 특정한 태양에 있어서, 이중특이성 항체는, CTLA-4의 상이한 2개의 에피토프에 결합해도 된다. 이중특이성 항체는, CTLA-4를 발현하는 세포에 세포상해제를 국재화하기 위해서 사용되어도 된다. 이중특이성 항체는, 전장 항체로서 또는 항체 단편으로서 조제될 수 있다.

[0404] 다중특이성 항체를 제작하기 위한 수법은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 페어의 재조합 공발현(Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983), WO93/08829, 및 Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991) 참조), 및 knob-in-hole 기술(예를 들면, 미국 특허 제5,731,168호 참조)을 포함한다. 다중특이성 항체는, Fc 헤테로이량체 분자를 제작하기 위해서 정전 스티어링 효과(electrostatic steering effects)를 조작하는 것(WO2009/089004A1); 2개 이상의 항체 또는 단편을 가교하는 것(미국 특허 제4,676,980호 및 Brennan et al., Science, 229: 81 (1985) 참조); 류신 지퍼를 이용하여 2개의 특이성을 갖는 항체를 작성하는 것(Kostelny et al., J. Immunol., 148(5): 1547-1553 (1992) 참조); 「다이아보디」 기술을 이용하여 이중특이성 항체 단편을 제작하는 것(Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90: 6444-6448 (1993) 참조); 및, 단쇄 Fv(scFv) 이량체를 이용하는 것(Gruber et al., J. Immunol., 152: 5368 (1994) 참조); 및, 예를 들면 Tutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)에 기재되는 바와 같이 삼중특이성 항체를 조제하는 것에 의해 제작해도 된다.

[0405] 「옥토퍼스 항체」를 포함하는, 3개 이상의 기능적 항원 결합 부위를 수반하는 개변 항체도, 본 명세서에서는 포함된다(예를 들면, 미국 특허출원 공개 제2006/0025576호 A1 참조).

[0406] 본 명세서에서 항체 또는 단편은, CTLA-4와 다른 상이한 항원에 결합하는 1개의 항원 결합 부위를 포함하는, 「듀얼 액팅 Fab」 또는 「DAF」도 포함한다(예를 들면, 미국 특허출원 공개 제2008/0069820호 참조).

[0407] 7. 항체 변이체

[0408] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체의 아미노산 서열 변이체도, 고려 내이다. 예를 들면, 항체의 결합 어피니티 및/또는 다른 생물학적 특성을 개선하는 것이, 바람직한 경우도 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는, 항체를 코드하는 뉴클레오타이드 서열에 적절한 수식을 도입하는 것, 또는, 펩타이드 합성에 의해, 조제되어도 된다. 그와 같은 수식은, 예를 들면, 항체의 아미노산 서열로부터의 결실, 및/또는 항체의 아미노산 서열 중에의 삽입, 및/또는 항체의 아미노산 서열 중의 잔기의 치환을 포함한다. 최종 구축물이 원하는 특징(예를 들면, 항원 결합성)을 구비하는 것을 전제로, 결실, 삽입, 및 치환의 임의의 조합이, 최종 구축물에 이르기 위해서 행해질 수 있다.

[0409] a) 치환, 삽입, 및 결실 변이체

[0410] 특정한 태양에 있어서, 1개 또는 복수의 아미노산 치환을 갖는 항체 변이체가 제공된다. 치환적 변이도입의 목적 부위는, HVR 및 FR을 포함한다. 보존적 치환을, 표 1의 「바람직한 치환」의 표제 아래에 나타낸다. 보다 실질적인 변경을, 표 1의 「예시적인 치환」의 표제 아래에 제공함과 함께, 아미노산 측쇄의 클래스에 언급하면서 아래에서 상세히 기술한다. 아미노산 치환은 목적하는 항체에 도입되어도 되고, 산물은, 예를 들면, 유지/개선된 항원 결합성, 감소한 면역원성, 또는 개선된 ADCC 또는 CDC 등의, 원하는 활성에 대하여 스크리닝되어도 된다.

표 1

[0411]

원래의 잔기	예시적인 치환	바람직한 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신 ; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신	Leu

[0412] 아미노산은, 공통의 측쇄 특성에 따라 군으로 나눌 수 있다:

[0413] (1) 소수성: 노르류신, 메싸이오닌(Met), 알라닌(Ala), 발린(Val), 류신(Leu), 아이소류신(Ile);

[0414] (2) 중성의 친수성: 시스테인(Cys), 세린(Ser), 트레오닌(Thr), 아스파라긴(Asn), 글루타민(Gln);

[0415] (3) 산성: 아스파르트산(Asp), 글루탐산(Glu);

[0416] (4) 염기성: 히스티딘(His), 라이신(Lys), 아르기닌(Arg);

[0417] (5) 쇄 배향에 영향을 주는 잔기: 글라이신(Gly), 프롤린(Pro);

[0418] (6) 방향족성: 트립토판(Trp), 타이로신(Tyr), 페닐알라닌(Phe).

[0419] 비보존적 치환은, 이들 클래스 중 1개의 멤버를, 다른 클래스의 것으로 교환하는 것을 말한다.

[0420] 치환 변이체의 1개의 타입은, 친항체(예를 들면, 인간화 또는 인간 항체)의 1개 또는 복수의 초가변 영역 잔기의 치환을 포함한다. 통상, 그 결과로서 생기고, 추가적인 연구를 위해서 선택된 변이체는, 친항체와 비교해서 특정한 생물학적 특성에 있어서의 수식(예를 들면, 개선)(예를 들면, 증가한 어피니티, 감소한 면역원성)을 갖고, 및/또는 친항체의 특정한 생물학적 특성을 실질적으로 유지하고 있을 것이다. 예시적인 치환 변이체는, 어피니티 성숙 항체이고, 이것은, 예를 들면 파지 디스플레이 베이스의 어피니티 성숙 기술(예를 들면 본 명세서에 기재되는 것)을 이용하여 적절히 제작될 수 있다. 간결하게 설명하면, 1개 또는 복수의 HVR 잔기를 변이시키고, 그리고 변이 항체를 파지 상에 제시시키고, 특정한 생물학적 활성(예를 들면, 결합 어피니티)에 관해서 스크리닝을 행한다.

[0421] 개변(예를 들면, 치환)은, 예를 들면 항체의 어피니티를 개선하기 위해서, HVR에 있어서 행해질 수 있다. 그와 같은 개변은, HVR의 「핫스폿」, 즉, 체세포 성숙 프로세스 사이에서 고빈도로 변이가 일어나는 코돈에 의해 코드되는 잔기(예를 들면, Chowdhury, Methods Mol. Biol. 207: 179-196 (2008)을 참조할 것) 및/또는 항원에 접촉하는 잔기에 있어서 행해질 수 있고, 얻어진 변이 VH 또는 VL이 결합 어피니티에 관해서 시험될 수 있다. 2차 라이브러리로부터의 구축 및 재선택에 의한 어피니티 성숙이, 예를 들면, Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178: 1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001))에 기재되어 있다. 어피니티 성숙의 몇 개의 태양에 있어서, 다양성은, 임의의 다양한 방법(예를 들면, 에러 프론 PCR, 체인 셔플링 또는 올리고뉴클레오타이드 지향 변이도입)에 의해 성숙을 위해서 선택된 가변 유전자에 도입된다. 이어서, 2차 라이브러리가 제작된다. 이어서, 이 라이브러리는, 원하는 어피니티를 갖는 임의의 항체 변이체를 동정하기 위해서 스크리닝된다. 다양성을 도입하는 다른 방법은, 몇 개의 HVR 잔기(예를 들면, 한번에 4~6잔기)를 무작위화하는 HVR 지향 어프로치를 포함한다. 항원 결합에 관여하는 HVR 잔기는, 예를 들면 알라닌 스캐닝 변이도입 또는 모델링을 이용하여, 구체적으로 특정될 수 있다. 특히, CDR-H3 및 CDR-L3이 종종 표적화된다.

[0422] 특정한 태양에 있어서, 치환, 삽입, 또는 결실은, 그와 같은 개변이 항원에 결합하는 항체의 능력을 실질적으로 감소시키지 않는 한, 1개 또는 복수의 HVR 내에서 행해질 수 있다. 예를 들면, 결합 어피니티를 실질적으로 감소시키지 않는 보존적 개변(예를 들면, 본 명세서에서 제공되는 보존적 치환)이, HVR에 있어서 행해질 수 있다. 그와 같은 개변은, 예를 들면, HVR의 항원 접촉 잔기의 외측일 수 있다. 상기의 변이 VH 및 VL 서열의 특정한 태양에 있어서, 각 HVR은 개변되어 있지 않거나, 불과 1개, 2개, 혹은 3개의 아미노산 치환을 포함한다.

[0423] 변이도입을 위해서 표적화될 수 있는 항체의 잔기 또는 영역을 동정하는 데에 유용한 방법은, Cunningham and Wells (1989) Science, 244: 1081-1085에 의해 기재되는, 「알라닌 스캐닝 변이도입」이라고 불리는 것이다. 이 방법에 있어서, 1잔기 또는 1군의 표적 잔기(예를 들면, 하전(荷電) 잔기, 예를 들면 아르기닌, 아스파르트산, 히스티딘, 라이신, 및 글루탐산)가 동정되고, 중성 또는 음으로 하전된 아미노산(예를 들면, 알라닌 혹은 폴리알라닌)으로 치환되어, 항체와 항원의 상호작용이 영향을 받는지 여부가 결정된다. 이 초기 치환에 대해서 기능적 감수성을 나타낸 아미노산 위치에, 추가적인 치환이 도입될 수 있다. 혹은 또는 그에 더하여, 항체와 항원 사이의 접촉점을 동정하기 위해서, 항원 항체 복합체의 결정 구조를 해석해도 된다. 그와 같은 접촉 잔기 및 근린의 잔기를, 치환 후보로서 표적화해도 되고, 또는 치환 후보로부터 제외해도 된다. 변이체는, 그들이 원하는 특성을 포함하는지 여부를 결정하기 위해서 스크리닝될 수 있다.

[0424] 아미노산 서열의 삽입은, 서열 내부에의 단일 또는 복수의 아미노산 잔기의 삽입과 마찬가지로, 아미노 말단 및/또는 카복실 말단에 있어서의 1잔기 내지 100 잔기 이상을 포함하는 폴리펩타이드의 길이의 범위에서의 융합도 포함한다. 말단의 삽입의 예는, N 말단에 메싸이오닐 잔기를 수반하는 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는, 항체의 N- 또는 C-말단에, 효소(예를 들면, ADEPT를 위한) 또는 항체의 혈장 반감기를 증가시키는 폴리펩타이드를 융합시킨 것을 포함한다.

[0425] b) 글라이코실화 변이체

[0426] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체는, 항체가 글라이코실화되는 정도를 증가시키거나 또는 감소시키도록 개변되어 있다. 항체에의 글라이코실화 부위의 추가 또는 삭제는, 1개 또는 복수의 글라이코실화 부

위를 만들어 내거나 또는 제거하도록 아미노산 서열을 개변하는 것에 의해, 간편하게 달성 가능하다.

[0427] 항체가 Fc 영역을 포함하는 경우, 거기에 부가되는 탄수화물이 개변되어도 된다. 포유동물 세포에 의해 산생되는 천연형 항체는, 전형적으로는, 분기된 2분기의 올리고당을 포함하고, 당해 올리고당은 통상 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 N-링키지에 의해 부가되어 있다. 예를 들면, Wright et al. TIBTECH 15: 26-32 (1997) 참조. 올리고당은, 예를 들면, 만노스, N-아세틸 글루코사민(GlcNAc), 갈락토스, 및 시알산 등의 여러 가지 탄수화물, 또한, 2분기의 올리고당 구조의 「줄기」 중의 GlcNAc에 부가된 푸코스를 포함한다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 항체 중의 올리고당의 수식은, 특정한 개선된 특성을 수반하는 항체 변이체를 만들어 내기 위해서 행해져도 된다.

[0428] 일 태양에 있어서, Fc 영역에(직접적 또는 간접적으로) 부가된 푸코스를 결여하는 탄수화물 구조체를 갖는 항체 변이체가 제공된다. 예를 들면, 그와 같은 항체에 있어서의 푸코스의 양은, 1%~80%, 1%~65%, 5%~65% 또는 20%~40%일 수 있다. 푸코스의 양은, 예를 들면 WO2008/077546에 기재되는 바와 같이 MALDI-TOF 질량 분석에 의해 측정되는, Asn297에 부가된 모든 당 구조체(예를 들면, 복합, 하이브리드, 및 고만노스 구조체)의 합에 대한, Asn297에 있어서의 당쇄 내의 푸코스의 평균량을 계산하는 것에 의해 결정된다. Asn297은, Fc 영역의 297위의 근처에 위치하는 아스파라긴 잔기를 나타낸다(Fc 영역 잔기의 EU 넘버링). 그러나, 복수의 항체 사이의 근소한 서열의 다양성에 기인하여, Asn297은, 297위의 ±3 아미노산 상류 또는 하류, 즉 294위~300위 사이에 위치하는 경우도 있을 수 있다. 그와 같은 푸코실화 변이체는, 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 예를 들면, 미국 특허출원 공개 제2003/0157108호(Presta, L.); 제2004/0093621호(Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd)를 참조할 것. 「탈푸코실화」 또는 「푸코스 결손」 항체 변이체에 관한 간행물의 예는, US2003/0157108; WO2000/61739; WO2001/29246; US2003/0115614; US2002/0164328; US2004/0093621; US2004/0132140; US2004/0110704; US2004/0110282; US2004/0109865; WO2003/085119; WO2003/084570; WO2005/035586; WO2005/035778; WO2005/053742; WO2002/031140; Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336: 1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614(2004)를 포함한다. 탈푸코실화 항체를 산생할 수 있는 세포주의 예는, 단백질의 푸코실화를 결여하는 Lec13 CHO 세포(Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249: 533-545 (1986); 미국 특허출원 공개 제US2003/0157108호 A1, Presta, L; 및 WO2004/056312 A1, Adams et al., 특히 실시예 11) 및 녹아웃 세포주, 예를 들면 알파-1,6-푸코실트랜스퍼라아제 유전자 FUT8 녹아웃 CHO 세포(예를 들면, Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614(2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4): 680-688 (2006); 및 WO2003/085107을 참조할 것)를 포함한다.

[0429] 예를 들면 항체의 Fc 영역에 부가된 2분기형 올리고당이 GlcNAc에 의해 2분되어 있는, 2분된 올리고당을 갖는 항체 변이체가 추가로 제공된다. 그와 같은 항체 변이체는, 감소한 푸코실화 및/또는 개선된 ADCC 기능을 가질 수 있다. 그와 같은 항체 변이체의 예는, 예를 들면, WO2003/011878(Jean-Mairet et al.); 미국 특허 제6,602,684호(Umana et al.); 및 US2005/0123546(Umana et al.)에 기재되어 있다. Fc 영역에 부가된 올리고당 중에 적어도 1개의 갈락토스 잔기를 갖는 항체 변이체도 제공된다. 그와 같은 항체 변이체는, 개선된 CDC 기능을 가질 수 있다. 그와 같은 항체 변이체는, 예를 들면, WO1997/30087(Patel et al.); WO1998/58964(Raju, S.); 및 WO1999/22764(Raju, S.)에 기재되어 있다.

[0430] c) Fc 영역 변이체

[0431] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체의 Fc 영역에 1개 또는 복수의 아미노산 수식을 도입하고, 그에 의해 Fc 영역 변이체를 생성해도 된다. Fc 영역 변이체는, 1개 또는 복수의 아미노산 포지션에서 아미노산 수식(예를 들면, 치환)을 포함하는, 인간 Fc 영역 서열(예를 들면, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4의 Fc 영역)을 포함해도 된다.

[0432] 특정한 태양에 있어서, 모두는 아니지만 몇 개의 이펙터 기능을 구비하는 항체 변이체도, 본 발명의 고려 내이고, 당해 이펙터 기능은, 항체를, 그 인 비보에서의 반감기가 중요하지만, 특정한 이펙터 기능(보체 및 ADCC 등)은 불요 또는 유해인 경우의 적용에 바람직한 후보로 하는 것이다. CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/결핍을 확인하기 위해서, 인 비트로 및/또는 인 비보의 세포상해 측정을 행할 수 있다. 예를 들면, Fc 수용체(FcR) 결합 측정은, 항체가 FcγR 결합성을 결여하는(따라서 ADCC 활성을 결여할 개연성이 높은) 한편으로 FcRn 결합능을 유지하는 것을 확인하기 위해서 행해질 수 있다. ADCC를 매개하는 프라이머리 세포인 NK 세포는 FcγRIII만을 발현하지만, 한편 단구는 FcγRI, FcγRII, FcγRIII을 발현한다. 조혈 세포 상의 FcR의 발현은, Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-492 (1991)의 제464페이지의 Table 3에 정리되어 있다. 목적하는 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 인 비트로 측정법(어세이)의 비한정적인 예는, 미국 특허 제5,500,362호(예를 들면,

Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83: 7059-7063 (1986) 참조) 및 Hellstrom, I et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82: 1499-1502 (1985); 미국 특허 제5,821,337호(Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166: 1351-1361(1987) 참조)에 기재되어 있다. 혹은, 비방사성의 측정법을 이용해도 된다(예를 들면, ACT1(상표) non-radioactive cytotoxicity assay for flow cytometry(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA); 및, CytoTox 96(등록상표) non-radioactive cytotoxicity assays법(Promega, Madison, WI) 참조). 이와 같은 측정법에 유용한 이펙터 세포는, 말초혈 단핵 세포(peripheral blood mononuclear cell: PBMC) 및 내추럴 킬러(natural killer: NK) 세포를 포함한다. 혹은 또는 그에 더하여, 목적하는 분자의 ADCC 활성은, 예를 들면, Clynes et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 95: 652-656 (1998)에 기재되는 동물 모델에 있어서, 인 비보에서 평가되어도 된다. 또한, 항체가 C1q에 결합할 수 없는 것, 따라서 CDC 활성을 결여하는 것을 확인하기 위해서, C1q 결합 측정을 행해도 된다. 예를 들면, WO2006/029879 및 WO2005/100402의 C1q 및 C3c 결합 ELISA를 참조할 것. 또한, 보체 활성화를 평가하기 위해서, CDC 측정을 행해도 된다(예를 들면, Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 및 Cragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103: 2738-2743 (2004) 참조). 또, FcRn 결합성 및 인 비보에서의 클리어런스/반감기의 결정도, 당해 기술 분야에 있어서 알려진 방법을 이용하여 행할 수 있다(예를 들면 Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12): 1759-1769 (2006) 참조).

[0433] 감소한 이펙터 기능을 수반하는 항체는, Fc 영역 잔기 238, 265, 269, 270, 297, 327, 및 329의 1개 또는 복수의 치환을 수반하는 것을 포함한다(미국 특허 제6,737,056호). 이와 같은 Fc 변이체는, 잔기 265 및 297의 알라닌에의 치환을 수반하는 이른바 「DANA」 Fc 변이체(미국 특허 제7,332,581호)를 포함하는, 아미노산 포지션 265, 269, 270, 297, 및 327의 2개 이상의 치환을 수반하는 Fc 변이체를 포함한다.

[0434] FcRs에의 증가 또는 감소한 결합성을 수반하는 특정한 항체 변이체가, 기술되어 있다(미국 특허 제6,737,056호; WO2004/056312, 및 Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604(2001)을 참조할 것).

[0435] 특정한 태양에 있어서, 항체 변이체는, ADCC를 개선하는 1개 또는 복수의 아미노산 치환(예를 들면, Fc 영역의 포지션 298, 333, 및/또는 334(EU 넘버링에서의 잔기)에서의 치환)을 수반하는 Fc 영역을 포함한다.

[0436] 몇 개의 태양에 있어서, 예를 들면 미국 특허 제6,194,551호, WO99/51642, 및 Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184(2000)에 기재되는 바와 같이, 개변된(즉, 증가했거나 감소했거나 중 어느 것인) C1q 결합성 및/또는 보체 의존성 세포상해(CDC)를 초래하는 개변이, Fc 영역에 있어서 이루어진다.

[0437] 증가한 반감기, 및 신생아형 Fc 수용체(FcRn: 모체의 IgG류를 태아로 이행시키는 역할을 담당한다(Guyer et al., J. Immunol. 117: 587 (1976); Kim et al., J. Immunol. 24: 249 (1994)))에 대한 증가한 결합성을 수반하는 항체가, 미국 특허출원 공개 제2005/0014934호 A1(Hinton et al.)에 기재되어 있다. 이들 항체는, Fc 영역의 FcRn에의 결합성을 증가시키는 1개 또는 복수의 치환을 그 중에 수반하는 Fc 영역을 포함한다. 이와 같은 Fc 변이체는, Fc 영역 잔기: 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 또는 434의 1개 또는 복수에서의 치환(예를 들면, Fc 영역 잔기 434의 치환(미국 특허 제7,371,826호))을 수반하는 것을 포함한다.

[0438] Fc 영역 변이체의 다른 예에 대해서는, Duncan & Winter, Nature 322: 738-740 (1988); 미국 특허 제5,648,260호; 미국 특허 제5,624,821호; 및 WO94/29351도 참조할 것.

[0439] d) 시스테인 개변 항체 변이체

[0440] 특정한 태양에 있어서, 항체의 1개 또는 복수의 잔기가 시스테인 잔기로 치환된, 시스테인 개변 항체(예를 들면, 「thioMAbs」)를 만들어 내는 것이 바람직할 것이다. 특정한 태양에 있어서, 치환을 받는 잔기는, 항체의, 액세스 가능한 부위에 생긴다. 그들 잔기를 시스테인으로 치환하는 것에 의해, 반응성의 싸이올기가 항체의 액세스 가능한 부위에 배치되고, 당해 반응성의 싸이올기는, 당해 항체를 다른 부분(약제 부분 또는 링커-약제 부분 등)에 콘주게이트하여 본 명세서에서 더 상세히 기술하는 바와 같이 이뮤노콘주게이트를 만들어 내는 데에 사용되어도 된다. 특정한 태양에 있어서, 이하의 잔기의 임의의 1개 또는 복수가, 시스테인으로 치환되어도 된다: 경쇄의 V205(Kabat 넘버링); 중쇄의 A118(EU 넘버링); 및 중쇄 Fc 영역의 S400(EU 넘버링). 시스테인 개변 항체는, 예를 들면, 미국 특허 제7,521,541호에 기재되는 바와 같이 해서 생성되어도 된다.

[0441] e) 항체 유도체

[0442] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항체는, 당해 기술 분야에 있어서 알려져 있고 또한 용이하게 입수 가능한 추가의 비단백질 부분을 포함하도록, 더 수식되어도 된다. 항체의 유도체화에 적합한 부분은, 이것

으로 한정되는 것은 아니지만, 수용성 폴리머를 포함한다. 수용성 폴리머의 비한정적인 예는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 폴리에틸렌 글라이콜(PEG), 에틸렌 글라이콜/프로필렌 글라이콜의 코폴리머, 카복시메틸셀룰로스, 덱스트란, 폴리바이닐 알코올, 폴리바이닐 피롤리돈, 폴리-1,3-다이옥솔레인, 폴리-1,3,6-트라이옥세인, 에틸렌/무수 말레산 코폴리머, 폴리아미노산(호모폴리머 또는 랜덤 코폴리머 중 어느 것이나), 및, 덱스트란 또는 폴리(n-바이닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글라이콜, 폴리프로필렌 글라이콜 호모폴리머, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 코폴리머, 폴리옥시에틸화 폴리올류(예를 들면 글리세롤), 폴리바이닐 알코올, 및 이들의 혼합물을 포함한다. 폴리에틸렌 글라이콜 프로피온알데하이드는, 그의 물에 대한 안정성 때문에, 제조에 있어서 유리할 것이다. 폴리머는, 어떠한 분자량이어도 되고, 분기되어 있어도 되어 있지 않아도 된다. 항체에 부가되는 폴리머의 수에는 폭이 있어도 되고, 1개 이상의 폴리머가 부가된다면 그들은 동일한 분자여도 되고, 상이한 분자여도 된다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 폴리머의 수 및/또는 타입은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 개선되어야 할 항체의 특정한 특성 또는 기능, 항체 유도체가 규정된 조건하에서의 요법에 사용되는지 여부 등에 대한 고려에 기초하여, 결정할 수 있다.

[0443] 다른 태양에 있어서, 항체와, 방사선에 폭로하는 것에 의해 선택적으로 가열될 수 있는 비단백질 부분의, 콘주게이트가 제공된다. 일 태양에 있어서, 비단백질 부분은, 카본 나노튜브이다(Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)). 방사선은 어떠한 파장이어도 되고, 또한 이들로 한정되는 것은 아니지만, 통상의세포에는 해를 주지 않지만 항체-비단백질 부분에 근접한 세포를 사멸시키는 온도까지 비단백질 부분을 가열하는 파장을 포함한다.

[0444] 본 명세서의 항CTLA-4 항체는, 다양한 기존의 기술과 조합하는 것이 가능하다. 그와 같은 기술의 조합의 비한정적인 일 태양으로서, 항CTLA-4 항체를 이용한 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현시킨 세포의 작성이 예시된다. 여기에서 세포로서는 예를 들면, T 세포, γδT 세포, NK 세포, NKT 세포, 사이토카인 유도 킬러(CIK) 세포, 매크로파지를 들 수 있다(Int J Mol Sci. (2019) 20(11), 2839, Nat Rev Drug Discov. (2020) 19(5), 308). 당해 CAR을 발현시킨 T 세포(CAR-T)의 비한정적인 작성 방법의 하나로서는, 항CTLA-4 항체의 항원 결합 도메인(예를 들면, scFv), TCR의 막 관통 도메인, 및 T 세포의 활성화를 증강하기 위한 CD28 등의 공자극 분자의 시그널 도메인을 포함하는 CAR을 유전자 개변 기술에 의해 T 세포 등의 이펙터 세포에 도입하는 수법을 들 수 있다.

[0445] 본 명세서의 항CTLA-4 항체와 조합 가능한 기술의 비한정적인 예로서, 항CTLA-4 항체를 이용한, T 세포 리다이렉팅 항체의 작성이 예시된다(Nature (1985) 314 (6012), 628-31, Int J Cancer (1988) 41 (4), 609-15, Proc Natl Acad Sci USA (1986) 83 (5), 1453-7). 당해 T 세포 리다이렉팅 항체의 비한정적인 일 태양으로서는, T 세포 상의 T 세포 리셉터(TCR) 복합체의 구성 서브유닛의 어느 것에 대한 결합 도메인, 특히 CD3 중에서도 CD3 입실론쇄에 대한 결합 도메인과, 항CTLA-4 항체의 항원 결합 도메인을 포함하는 이중특이성 항체를 들 수 있다.

[0446] B. 재조합의 방법 및 구성

[0447] 예를 들면, 미국 특허 제4,816,567호에 기재되는 대로, 항체는 재조합의 방법이나 구성을 이용하여 제조할 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 명세서에 기재된 항CTLA-4 항체를 코드하는, 단리된 핵산이 제공된다. 그와 같은 핵산은, 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 VH를 포함하는 아미노산 서열(예를 들면, 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 코드해도 된다. 추가적인 태양에 있어서, 이와 같은 핵산을 포함하는 1개 또는 복수의 벡터(예를 들면, 발현 벡터)가 제공된다. 추가적인 태양에 있어서, 이와 같은 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 이와 같은 태양의 하나에서는, 숙주 세포는, (1) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코드하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는, (2) 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열을 코드하는 핵산을 포함하는 제1 벡터와 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열을 코드하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함한다(예를 들면, 형질 전환되어 있다). 일 태양에 있어서, 숙주 세포는, 진핵성이다(예를 들면, 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포) 또는 림프액계의 세포(예를 들면, Y0, NS0, Sp2/0 세포)). 일 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체의 발현에 적합한 조건하에서, 전술한 대로 당해 항체를 코드하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 것, 및 임의로, 당해 항체를 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 회수하는 것을 포함하는, 항CTLA-4 항체를 제작하는 방법이 제공된다.

[0448] 항CTLA-4 항체의 재조합 제조를 위해서, (예를 들면, 전술한 것 등의) 항체를 코드하는 핵산을 단리하고, 추가적인 클로닝 및/또는 숙주 세포 중에서의 발현을 위해서, 1개 또는 복수의 벡터에 삽입한다. 그와 같은 핵산은, 종래의 수순을 이용하여 용이하게 단리 및 서열 결정될 것이다(예를 들면, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코드하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써).

[0449] 항체를 코드하는 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는, 본 명세서에 기재된 원핵 세포 또는 진핵 세

포를 포함한다. 예를 들면, 항체는, 특히 글라이코실화 및 Fc 이펙터 기능이 필요시되지 않는 경우는, 세균에서 제조해도 된다. 세균에서의 항체 단편 및 폴리펩타이드의 발현에 관해서, 예를 들면, 미국 특허 제5,648,237호, 제5,789,199호, 및 제5,840,523호를 참조할 것(게다가, 대장균에 있어서의 항체 단편의 발현에 대하여 기재한 Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248(B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254도 참조할 것). 발현 후, 항체는 세균 세포 페이스트로부터 가용성 프랙션 중에 단리되어도 되고, 또한 더 정제할 수 있다.

[0450] 원핵생물에 더하여, 부분적인 또는 완전한 인간의 글라이코실화 패턴을 수반하는 항체의 산생을 초래하는, 글라이코실화 경로가 「인간화」되어 있는 균류 및 효모의 주를 포함하는, 사상균 또는 효모 등의 진핵성의 미생물은, 항체 코드 벡터의 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. Gerngross, Nat. Biotech. 22: 1409-1414(2004) 및 Li et al., Nat. Biotech. 24: 210-215 (2006)을 참조할 것.

[0451] 다세포 생물(무척추 생물 및 척추 생물)에서 유래하는 것도 또한, 글라이코실화된 항체의 발현을 위해서 적합한 숙주 세포이다. 무척추 생물 세포의 예는, 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 곤충 세포와의 접합, 특히 Spodoptera frugiperda 세포의 형질 전환에 이용되는, 수많은 바큘로바이러스주가 동정되어 있다.

[0452] 식물 세포 배양물도, 숙주로서 이용할 수 있다. 예를 들면, 미국 특허 제5,959,177호, 제6,040,498호, 제6,420,548호, 제7,125,978호, 및 제6,417,429호(트랜스제닉 식물로 항체를 산생하기 위한, PLANTIBODIES(상표) 기술을 기재)를 참조할 것.

[0453] 척추동물 세포도 또한 숙주로서 사용할 수 있다. 예를 들면, 부유 상태에서 증식하도록 적응된 포유동물 세포주는, 유용할 것이다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는, SV40으로 형질 전환된 원숭이 신(腎) CV1주(COS-7); 인간 태아성 신주(Graham et al., J. Gen Virol. 36: 59 (1977) 등에 기재된 293 또는 293 세포); 새끼 햄스터 신세포(BHK); 마우스 서톨리 세포(Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251(1980) 등에 기재된 TM4 세포); 원숭이 신세포(CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신세포(VERO-76); 인간 자궁경부암 세포(HELA); 개 신세포(MDCK); Buffalo계 래트 간세포(BRL 3A); 인간 폐세포(W138); 인간 간세포(Hep G2); 마우스 유방암(MMT 060562); TRI 세포(예를 들면, Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383: 44-68 (1982)에 기재); MRC5 세포; 및, FS4 세포 등이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는, DHFR-CHO 세포(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980))를 포함하는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포; 및 Y0, NS0, 및 Sp2/0 등의 골수종 세포주를 포함한다. 항체 산생에 적합한 특정한 포유동물 숙주 세포주의 총설로서, 예를 들면, Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)을 참조할 것.

[0454] 폴리클로날 항체는 바람직하게는, 관련하는 항원 및 아쥬반트의 복수회의 피하(sc) 또는 복강내(ip) 주사에 의해 동물에 있어서 산생된다. 관련하는 항원을, 면역화되는 종에 있어서 면역원성인 단백질에, 예를 들면, 키홀 림펫 헤모사이아닌, 혈청 알부민, 소 타이로글로불린, 또는 대두 트립신 저해 인자에, 이작용성 물질 또는 유도체화제, 예를 들면, 말레이미도벤조일 설포석신이미드 에스터(시스테인 잔기를 개재시키는 콘주게이션), N-하이드록시석신이미드(라이신 잔기를 개재시킨다), 글루타르알데하이드, 무수 석신산, $SOCl_2$, 또는 $R^1N=C=NR$(여기에서 R 및 R^1은 상이한 알킬기이다)을 이용하여, 콘주게이트하는 것이 유용할 수 있다.

[0455] 동물(통상은 비인간 포유동물)은, 예를 들면, (토끼 또는 마우스에 대하여 각각) 100㎍ 또는 5㎍의 단백질 또는 콘주게이트를 3배 용량의 프로인트 완전 아쥬반트와 조합하고 그 용액을 복수 부위에 피내(皮內) 주사하는 것에 의해, 항원, 면역원성 콘주게이트, 또는 유도체에 대해서 면역화된다. 1개월 후, 복수 부위에 피하 주사하는 것에 의해, 최초의 양의 1/5~1/10의, 프로인트 완전 아쥬반트 중의 펩타이드 또는 콘주게이트로 해당 동물을 추가 면역한다. 7~14일 후, 해당 동물로부터 채혈하고, 혈청을 항체 역가에 대하여 어세이한다. 역가가 플래토에 달할 때까지 동물을 추가 면역한다. 바람직하게는, 동일 항원이지만 다른 단백질에 콘주게이트된 콘주게이트 및/또는 다른 가교 시약을 개재시켜 콘주게이트된 콘주게이트를 이용하여, 해당 동물을 추가 면역한다. 콘주게이트는, 재조합 세포 배양물 중에서 단백질 융합체로서 조제하는 것도 가능하다. 또한, 면역 응답을 증강하기 위해서, 명반(明礬) 등의 응집제도 적합하게 사용된다.

[0456] 모노클로날 항체는, 실질적으로 균일한 항체의 집단으로부터 얻어지고, 즉, 해당 집단을 구성하는 개개의 항체는, 약간량 존재할 수 있는 자연히 생기는 잠재적인 돌연변이 및/또는 번역 후 수식(예를 들면, 이성화, 아마이드화)을 제외하고 동일하다. 따라서, 수식어 「모노클로날」은, 별개의 항체의 혼합물은 아니라는 항체의 특징을 나타내고 있다.

[0457] 예를 들면, 모노클로날 항체는, Kohler et al., Nature 256(5517): 495-497 (1975)에 최초로 기재된 하이브리도마법을 이용하여 제작할 수 있다. 하이브리도마법에서는, 마우스 또는 다른 적절한 숙주 동물, 예를 들면 햄스터를 본 명세서에 상기한 바와 같이 면역화하고, 면역화에 사용된 단백질에 특이적으로 결합하는 항체를 제조하거나 제조할 능력이 있는 림프구를 유도한다. 혹은, 림프구를 인 비트로에서 면역화할 수도 있다.

[0458] 면역화제는, 전형적으로는, 항원 단백질 또는 그의 융합 변이체를 포함한다. 일반적으로, 인간 기원의 세포가 요망되는 경우에는 말초혈 림프구(PBL)가 사용되고, 비인간 포유동물원이 요망되는 경우에는 비장 세포 또는 림프절 세포가 사용된다. 그 후, 림프구는, 폴리에틸렌 글라이콜 등의 적절한 융합제를 이용하여 불사화 세포주와 융합되어, 하이브리도마 세포를 형성한다(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press (1986), pp. 59-103).

[0459] 불사화 세포주는 통상, 형질 전환된 포유동물 세포, 특히, 설치류, 소 및 인간 기원의 미엘로마 세포이다. 통상은, 래트 또는 마우스의 미엘로마 세포주가 이용된다. 이와 같이 해서 제작된 하이브리도마 세포를, 미융합 친미엘로마 세포의 증식 또는 생존을 저해하는 1종 이상의 물질을 바람직하게는 함유하는 적절한 배양 배지 중에 파종하여 증식시킨다. 예를 들면, 친미엘로마 세포가 효소 하이포잔틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라아제(HGPRT 또는 HPRT)를 결여하는 경우, 하이브리도마용의 배양 배지는, 전형적으로는, HGPRT 결손 세포의 증식을 방해하는 물질인 하이포잔틴, 아미노프테린, 및 티미딘(HAT 배지)을 포함할 것이다.

[0460] 바람직한 불사화 미엘로마 세포란, 효율적으로 융합하여, 선택된 항체 산생세포에 의한 항체의 안정된 고레벨의 제조를 보조하고, 또한 HAT 배지와 같은 배지에 대해서 감수성인, 세포이다. 이들 중에서도, 마우스 미엘로마주, 예를 들면, 미국 캘리포니아주 샌디에고의 Salk Institute Cell Distribution Center로부터 입수할 수 있는 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양에서 유래하는 것, 및 미국 버지니아주 매나사스의 American Type Culture Collection으로부터 입수할 수 있는 SP-2 세포(및 그의 유도체, 예를 들면 X63-Ag8-653)가 바람직하다. 인간 모노클로날 항체의 제조에 대하여, 인간 미엘로마 세포주 및 마우스-인간 헤테로미엘로마 세포주도 또한, 기재되어 있다(Kozbor et al., J Immunol. 133(6): 3001-3005 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 51-63 (1987)).

[0461] 하이브리도마 세포가 증식하고 있는 배양 배지를, 항원에 대한 모노클로날 항체의 제조에 대하여 어세이한다. 바람직하게는, 하이브리도마 세포에 의해 제조된 모노클로날 항체의 결합 특이성은, 면역 침강에 의해, 또는 인 비트로 결합 측정법, 예를 들면 방사 면역 측정법(RIA) 혹은 효소 결합 면역 흡착 측정법(ELISA)에 의해 결정된다. 이와 같은 기술 및 측정법은 당 기술 분야에서 공지이다. 예를 들면, 결합 어피니티는, Munson, Anal Biochem. 107(1): 220-239 (1980)의 스캐차드(Scatchard) 해석에 의해 구할 수 있다.

[0462] 원하는 특이성, 어피니티, 및/또는 활성의 항체를 제조하는 하이브리도마 세포가 특정된 후, 해당 클론을 한계희석법에 의해 서브클로닝하고, 표준적인 방법(Goding, 전술)에 의해 증식시킬 수 있다. 이 목적을 위한 적절한 배양 배지로서는, 예를 들면, D-MEM 또는 RPMI-1640 배지를 들 수 있다. 또한, 하이브리도마 세포는 포유동물 내의 종양으로서 인 비보에서 증식시킬 수 있다.

[0463] 서브클론에 의해 분비된 모노클로날 항체는, 배양 배지, 복수, 또는 혈청으로부터, 예를 들면, 프로테인 A-세파로스, 하이드록시아파타이트 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석, 또는 어피니티 크로마토그래피 등의 종래의 면역글로불린 정제법에 의해, 적절히 분리된다.

[0464] 항체는, 적절한 숙주 동물을 항원에 대해서 면역화하는 것에 의해 산생해도 된다. 일 태양에 있어서, 항원은, 전장 CTLA-4를 포함하는 폴리펩타이드이다. 일 태양에 있어서, 항원은, 가용형 CTLA-4를 포함하는 폴리펩타이드이다. 일 태양에 있어서, 항원은, 인간 CTLA-4(세포외 도메인, 서열 번호: 28)의 97번째의 아미노산(Glu) 내지 106번째의 아미노산(Leu)에 대응하는 영역을 포함하는 폴리펩타이드이다. 일 태양에 있어서, 항원은, 인간 CTLA-4(세포외 도메인, 서열 번호: 28)의 99번째의 아미노산(Met) 내지 106번째의 아미노산(Leu)에 대응하는 영역을 포함하는 폴리펩타이드이다. 본 발명에는 또한, 항원에 대해서 동물을 면역화하는 것에 의해 산생되는 항체도 포함된다. 항체는, 전술한 예시적 항CTLA-4 항체에 기재된 임의의 특징을, 단독 또는 조합으로, 도입하고 있어도 된다.

[0465] C. 측정법(어세이)

[0466] 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체는, 당해 기술 분야에 있어서 알려져 있는 여러 가지 측정법에 의해, 동정되거나, 스크리닝되거나, 또는 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 대하여 밝혀져도 된다.

[0467] 1. 결합 측정법 및 그 밖의 측정법

[0468] 일 국면에 있어서, 본 발명의 항체는, 예를 들면 ELISA, 웨스턴 블롯, 표면 플라즈몬 공명 어세이 등의 공지된 방법에 의해, 그 항원 결합 활성에 관해서 시험된다.

[0469] 다른 국면에 있어서, CTLA-4에의 결합에 관해서, 본 명세서에 기재된 항CTLA-4 항체(예를 들면, 표 17, 표 22, 표 27, 및 표 32에 기재된 항CTLA-4 항체)와 경합하는 항체를 동정하기 위해서, 경합 어세이가 사용될 수 있다. 특정한 태양에 있어서, 그와 같은 경합 항체가 과잉으로 존재하는 경우, 적어도 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 또는 그것을 초과하여, CTLA-4에의 참조 항체의 결합이 저지된다(예를 들면, 저감된다). 몇 개의 예에 있어서, 결합은, 적어도 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 그것을 초과하여 저해된다. 특정한 태양에 있어서, 그와 같은 경합 항체는, 본 명세서에 기재된 항CTLA-4 항체(예를 들면, 표 17, 표 22, 표 27, 및 표 32에 기재된 항CTLA-4 항체)에 의해 결합되는 것과 동일한 에피토프(예를 들면, 선상 또는 입체 구조 에피토프)에 결합한다. 항체가 결합하는 에피토프를 매핑하는, 상세한 예시적 방법은, Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ)에 제공되어 있다.

[0470] 예시적인 경합 어세이에 있어서, 고정화된 CTLA-4는, CTLA-4에 결합하는 제1 표지된 항체, 및 CTLA-4에의 결합에 관해서 제1 항체와 경합하는 능력에 관해서 시험되는 제2 미표지된 항체를 포함하는 용액 중에서 인큐베이트된다. 제2 항체는, 하이브리도마 상청에 존재할 수 있다. 대조로서, 고정화된 CTLA-4가, 제1 표지된 항체를 포함하지만 제2 미표지된 항체를 포함하지 않는 용액 중에서 인큐베이트된다. 제1 항체의 CTLA-4에 대한 결합을 허용하는 조건하에서의 인큐베이션 후, 여분의 미결합 항체가 제거되고, 고정화된 CTLA-4에 결합한 표지의 양이 측정된다. 고정화된 CTLA-4에 결합한 표지의 양이 대조 샘플과 비교해서 시험 샘플에 있어서 실질적으로 감소하고 있는 경우, 그것은 제2 항체가 CTLA-4에의 결합에 관해서 제1 항체와 경합하고 있는 것을 나타낸다. Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch. 14(Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)를 참조할 것.

[0471] 2. 활성 측정법

[0472] 일 국면에 있어서, 생물학적 활성을 갖는 항CTLA-4 항체의 그것을 동정하기 위한 측정법이 제공된다. 생물학적 활성은, 예를 들면, 세포 증식 저해 활성, 세포상해 활성(예를 들면, ADCC/CDC 활성, ADCP 활성), 면역 활력화 활성, CTLA-4 저해 활성을 포함해도 된다. 또한, 이와 같은 생물학적 활성을 인 비보 및/또는 인 비트로에서 갖는 항체가, 제공된다.

[0473] 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 항체는, 이와 같은 생물학적 활성에 대하여 시험된다.

[0474] 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 항체는, 인 비트로에서 세포 성장 또는 증식을 저해하는 그 능력에 관해서 시험된다. 세포 성장 또는 증식의 저해의 측정법은, 당 기술 분야에서 주지이다. 본 명세서에 기재되는 「세포 살상」 측정법에 의해 예시되는, 특정한 세포 증식 측정법은, 세포 생존도를 측정한다. 1개의 그와 같은 측정법은, Promega(Madison, WI)로부터 시판되고 있는 CellTiter-Glo(상표) Luminescent Cell Viability Assay이다. 이 측정법은, 대사적으로 활성인 세포의 지표인 ATP의 존재량에 기초하여, 배양물 중의 생세포의 수를 결정한다. Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160: 81-88, 미국 특허 제6,602,677호를 참조할 것. 측정법을, 자동화된 하이 스루풋 스크리닝(high-throughput screening: HTS)에 대응 가능해지는 96 또는 384웰 형식에서 행해도 된다. Cree et al (1995) AntiCancer Drugs 6: 398-404를 참조할 것. 어세이 수순은, 배양 세포에 직접, 단일의 시약(CellTiter-Glo(등록상표) 시약)을 첨가하는 것을 포함한다. 이에 의해 세포가 용해되고, 루시퍼라아제 반응에 의해 발광 시그널이 생긴다. 발광 시그널은, 배양물 중에 존재하는 생세포의 수에 정비례하는 ATP의 존재량에 비례한다. 데이터는, 루미노미터 또는 CCD 카메라 촬상 장치에 의해 기록될 수 있다. 발광값은, 상대 발광량(relative light unit: RLU)에 의해 나타내진다.

[0475] 다른 세포 증식 측정법은, 마이토콘드리얼 리덕타아제에 의한 3-(4,5-다이메틸싸이아졸-2-일)-2,5-다이페닐테트라졸륨 브로마이드로부터 포마잔으로의 산화를 측정하는 비색 측정법인, 「MTT」 어세이이다. CellTiter-Glo(상표) 어세이와 마찬가지로, 이 측정법은, 세포 배양물 중에 존재하는 대사적으로 활성인 세포의 수를 나타낸다. 예를 들면, Mosmann (1983) J. Immunol. Meth. 65: 55-63 및 Zhang et al. (2005) Cancer Res. 65: 3877-3882를 참조할 것.

[0476] 상기의 인 비트로 측정법의 임의의 것에 있어서 사용하는 세포는, 천연에 CTLA-4를 발현하거나 또는 CTLA-4를 발현하도록 조작된 세포 또는 세포주를 포함한다. 그와 같은 세포는 또한, CTLA-4를 발현하는 세포주 및 통상은

CTLA-4를 발현하지 않지만 CTLA-4를 코드하는 핵산으로 트랜스펙트된 세포주를 포함한다.

[0477] 일 국면에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 인 비보에서 세포 성장 또는 증식을 저해하는 그 능력에 관해서 시험된다. 특정한 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 인 비보에서 종양 성장을 저해하는 그 능력에 관해서 시험된다. 이종 이식 모델 등의 인 비보 모델 시스템이, 그와 같은 시험에 사용될 수 있다. 예시적인 이종 이식 시스템에 있어서, 인간 종양 세포를, 적절히 면역 부전화된 비인간 동물, 예를 들면 무흉선 「누드」 마우스에 도입한다. 본 발명의 항체를, 이 동물에 투여한다. 종양 성장을 저해하거나 또는 감소시키는 항체의 능력을 측정한다. 상기의 이종 이식 시스템의 특정한 태양에 있어서, 인간 종양 세포는, 인간 환자 유래의 종양 세포이다. 그와 같은 이종 이식 모델은, Oncotest GmbH(Frieberg, Germany)로부터 시판되고 있다. 특정한 태양에 있어서, 인간 종양 세포는, 피하 주사에 의해 또는 유방 지방 패드 등의 적절한 부위에의 이식에 의해, 적절히 면역 부전화된 비인간 동물에 도입된다.

[0478] 상기의 측정법의 어느 것도, 항CTLA-4 항체 대신에 또는 항CTLA-4 항체에 더하여 본 발명의 이뮤노콘주게이트를 이용하여 실시될 수 있는 것이 이해된다.

[0479] 치료용 항체의 ADCC 활성을 측정하기 위한 대표적 어세이는, ^{51}Cr 방출 어세이에 기초하는 것이고, 다음의 스텝을 포함한다: 표적 세포를 [^{51}Cr]Na_2CrO_4로 표지하는 스텝; 세포 표면 상에 항원을 발현하는 표적 세포를 항체에 의해 옵소닌화하는 스텝; 피험 항체의 존재하 또는 비존재하에서, 마이크로타이터 플레이트에 있어서, 옵소닌화된 방사성 표지 표적 세포와 이펙터 세포를 적합한 비로 조합하는 스텝; 세포의 혼합물을 바람직하게는 16~18시간, 바람직하게는 37℃에서 인큐베이트하는 스텝; 상청을 회수하는 스텝; 및 상청 샘플 중의 방사 활성을 분석하는 스텝. 그 후, 피험 항체의 세포상해성을, 예를 들면, 다음 식에 의해 결정한다: 비세포상해율(%)=(항체 존재하에서의 방사 활성-항체 비존재하에서의 방사 활성)/(최대 방사 활성-항체 비존재하에서의 방사 활성)×100. 표적 세포: 이펙터 세포비 또는 항체 농도를 바꾸는 것에 의해 그래프를 작성할 수 있다.

[0480] 보체의 활성화를 평가하기 위해서, 보체 의존성 세포 독성(CDC) 어세이를, 예를 들면 Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202: 163 (1996)에 기재되어 있는 바와 같이 실시할 수 있다. 간결하게 말하면, 다양한 농도의 폴리펩타이드 변이체와 인간 보체가 버퍼로 희석된다. 폴리펩타이드 변이체가 결합하는 항원을 발현하는 세포를 1×10^6세포/ml의 밀도까지 희석한다. 폴리펩타이드 변이체, 희석 인간 보체 및 항원 발현 세포의 혼합물을 평저 조직 배양 96웰 플레이트에 첨가하고, 37℃와 5%의 CO_2로 2시간 인큐베이트시켜, 보체 매개 세포 용해를 촉진한다. 이어서, 50㎕의 알라마 블루(Accumed International)를 각 웰에 첨가하고 37℃에서 하룻밤 인큐베이트한다. 530㎚에서의 여기와 590㎚에서의 발광을 수반하는 96웰의 플루오로미터를 사용하여 흡광도를 측정한다. 결과는 상대 형광 단위(RFU)로 표현된다. 시료 농도는 표준 곡선으로부터 산정할 수 있고, 비변이체 폴리펩타이드와 비교한 활성 퍼센트가 흥미있는 폴리펩타이드 변이체에 대해서 보고된다.

[0481] ADCP 활성의 예시적인 어세이법은, 이하를 포함할 수 있다: 대장균-표지 FITC(Molecular Probes) 또는 황색 포도구균-FITC 등의 표적 생체 입자를, 피험 항체로 피복한다; 옵소닌화한 입자를 형성한다; 전술한 옵소닌화 입자를 THP-1 이펙터 세포(단구세포계, ATCC로부터 입수 가능)에 1:1, 10:1, 30:1, 60:1, 75:1, 또는 100:1의 비로 첨가하여, FcγR 개재 식작용을 발생시킨다; 바람직하게는 해당 세포와 대장균-FITC/항체를 37℃에서 1.5시간 인큐베이트한다; 인큐베이션 후, 세포에 트라이판 블루를 첨가하여(바람직하게는 실온에서 2~3분), 내부에 도입되지 않고서 세포 표면의 외측에 부착된 세균의 형광을 소실시킨다; 세포를 FACS 버퍼(예를 들면, PBS 중의 0.1% BSA, 0.1% 아자이드화 나트륨) 중으로 옮기고, FACS(예를 들면, BD FACS Calibur)를 이용하여 THP-1 세포의 형광을 어세이한다. ADCP의 정도를 어세이하기 위해, 게이트를 바람직하게는 THP-1 세포 상에 설정하고, 형광 강도의 중앙값을 측정한다. 가장 바람직한 실시형태에서는, ADCP 어세이를, 배지 중의 대장균-FITC(대조), 대장균-FITC 및 THP-1 세포(FcγR 비의존성 ADCP 활성으로서 사용한다), 대장균-FITC, THP-1 세포 및 피험 항체(FcγR 의존성 ADCP 활성으로서 사용한다)를 이용하여 실시한다.

[0482] 항체에 의한 세포상해 활성에는, 통상, 세포 표면에의 항체의 결합이 수반한다. 표적이 되는 세포의 표면에 항원이 발현하고 있는지 여부는, FACS 등 당업자 공지된 수법에 의해 적절히 확인할 수 있다.

[0483] 면역의 활성화는, 세포성 면역 반응 혹은 체액성 면역 반응을 지표로 검출할 수 있다. 구체적으로는, 사이토카인(예를 들면, IL-6, G-CSF, IL-12, TNFα 및 IFNγ 등) 혹은 그들의 수용체의 발현량의 증대, 면역 세포(예를 들면, B 세포, T 세포, NK 세포, 매크로파지, 단구 등)의 증식 촉진, 활성화 상태의 항진, 기능 항진, 또는 세포상해 활성의 증강 등을 포함한다. 특히, T 세포의 활성화는, CD25, CD69 및 ICOS 등의 활성화 마커의 발현 항

진을 측정하는 것에 의해 검출될 수 있다. 예를 들면, 항CTLA-4 항체인 ipilimumab이 투여된 환자는, 투여 후에 말초혈 중의 $ICOS^+$ $CD4^+$ T 세포가 증가하는 것이 알려져 있고, 이것은 항CTLA-4 항체 투여에 의한 전신의 면역 상태의 활성화의 영향이라고 생각된다(Cancer Immunol. Res. (2013) 1(4): 229-234).

[0484] T 세포의 활성화에는, 항원 리셉터(TCR)를 개재시킨 자극뿐만 아니라, CD28을 개재시킨 보조 자극이 필요해진다. T 세포 표면의 CD28이, 항원 제시 세포의 표면에 존재하는 B7-1(CD80) 혹은 B7-2(CD86)과 결합하면, T 세포내에 보조 시그널이 전해지고, T 세포는 활성화된다. 한편으로, 활성화된 T 세포의 표면에는 CTLA-4가 발현한다. CTLA-4는 CD28보다 강한 친화성을 가지고 CD80이나 CD86과 결합하기 때문에, CD28보다도 우선적으로 CD80이나 CD86과 상호작용하고, 결과적으로 T 세포의 활성화를 억제한다.

[0485] 그와 같은 작용 메커니즘으로부터, CTLA-4에 대한 저해 활성은, CTLA-4와 CD80 혹은 CD86의 결합을 저해하는 활성으로서 측정할 수 있다. 일 태양에 있어서, CTLA-4에 대한 저해 활성을 측정하기 위한 어세이는 이하의 스텝을 포함한다: 정제 CTLA-4 단백질을 마이크로타이터 플레이트나 자성 비드 등의 지지체에 결합시키는 공정, 피험 항체 및 표지한 가용성 CD80 또는 CD86을 첨가하는 스텝, 미결합 성분을 흘려보내는 스텝, 및 결합한 표제 CD80 또는 CD86을 정량하는 스텝. 피험 항체가 CD28과 교차 반응하는지 여부는, CTLA-4를 CD28로 치환한 마찬가지인 어세이를 실시해서 확인할 수 있다. 또한, 다른 태양에 있어서, 전술한 바와 같은 T 세포의 활성화를 검출하는 기능 어세이를 이용하더라도, CTLA-4에 대한 저해 활성을 측정할 수 있다. 예를 들면, CD80 또는 CD86을 발현하고 있는 세포로 T 세포 집단을 자극하여 T 세포의 활성화를 측정하는 계에 있어서, 거기에 CTLA-4 저해 활성을 갖는 피험 항체가 첨가된 경우, T 세포의 활성화의 추가적인 증강이 초래된다.

[0486] D. 이뮤노콘주게이트

[0487] 본 발명은 또한, 1개 또는 복수의 세포상해제(예를 들면 화학요법제 또는 화학요법약, 증식 저해제, 독소(예를 들면 세균, 진균, 식물 혹은 동물 기원의 단백질 독소, 효소적으로 활성인 독소, 혹은 그들의 단편) 또는 방사성 동위체)에 콘주게이트된 본 명세서의 항CTLA-4 항체를 포함하는 이뮤노콘주게이트를 제공한다.

[0488] 일 태양에 있어서, 이뮤노콘주게이트는, 항체가, 이들로 한정되는 것은 아니지만 이하를 포함하는 1개 또는 복수의 약제에 콘주게이트된, 항체-약제 콘주게이트(antibody-drug conjugate: ADC)이다: 메이탄시노이드(미국 특허 제5,208,020호, 제5,416,064호, 및 유럽 특허 제0,425,235호 B1 참조); 예를 들면 모노메틸오리스타틴 약제 부분 DE 및 DF(MMAE 및 MMAF)(미국 특허 제5,635,483호 및 제5,780,588호 및 제7,498,298호 참조) 등의 오리스타틴; 돌라스타틴; 칼리케아마이신 또는 그의 유도체(미국 특허 제5,712,374호, 제5,714,586호, 제5,739,116호, 제5,767,285호, 제5,770,701호, 제5,770,710호, 제5,773,001호, 및 제5,877,296호; Hinman et al., Cancer Res. 53: 3336-3342 (1993); 및 Lode et al., Cancer Res. 58: 2925-2928 (1998) 참조); 다우노마이신 또는 독소루비신 등의 안트라사이클린(Kratz et al., Current Med. Chem. 13: 477-523 (2006); Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16: 358-362 (2006); Torgov et al., Bioconj. Chem. 16: 717-721(2005); Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 829-834(2000); Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12: 1529-1532 (2002); King et al., J. Med. Chem. 45: 4336-4343 (2002); 및 미국 특허 제6,630,579호 참조); 메토트렉세이트; 빈데신; 도세탁셀, 파클리탁셀, 라로탁셀, 테세탁셀, 및 오르타탁셀 등의 탁세인; 트라이코테센; 및 CC1065.

[0489] 다른 태양에 있어서, 이뮤노콘주게이트는, 이들로 한정되는 것은 아니지만 이하를 포함하는 효소적으로 활성인 독소 또는 그의 단편에 콘주게이트된, 본 명세서에 기재된 항체를 포함한다: 디프테리아 A쇄, 디프테리아 독소의 비결합 활성 단편, 외독소 A쇄(녹농균(Pseudomonas aeruginosa) 유래), 리신 A쇄, 아브린 A쇄, 모데신 A쇄, 알파-사르신, 유동(Aleurites fordii) 단백질, 다이안틴 단백질, 미국자리공(Phytolacca americana) 단백질(PAPI, PAPII 및 PAP-S), 여주(momordica charantia) 저해제, 큐신(curcin), 크로틴, 비누풀(saponaria officinalis) 저해제, 젤로닌, 마이토젤린(mitogellin), 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 및 트라이코테센.

[0490] 다른 태양에 있어서, 이뮤노콘주게이트는, 방사성 콘주게이트를 형성하기 위해서 방사성 원자에 콘주게이트된 본 명세서에 기재된 항체를 포함한다. 다양한 방사성 동위체가 방사성 콘주게이트의 제조에 이용 가능하다. 예는, ^{211}At, ^{131}I, ^{125}I, ^{90}Y, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{153}Sm, ^{212}Bi, ^{32}P, ^{212}Pb 및 Lu의 방사성 동위체를 포함한다. 방사성 콘주게이트를 검출을 위해서 사용하는 경우, 방사성 콘주게이트는, 신티그래피 검사용의 방사성 원자(예를 들면 Tc-99m 혹은 ^{123}I), 또는, 핵자기 공명(NMR) 이매징(자기 공명 이매징, MRI로서도 알려짐)용의 스핀 표지(예를 들면 여기에서도 아이오딘-123, 아이오딘-131, 인듐-111, 불소-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가돌리늄, 망가니즈,

또는 철)를 포함할 수 있다.

[0491] 항체 및 세포상해제의 콘주게이트는, 다양한 이작용성 단백질 연결제를 이용하여 제작될 수 있다. 예를 들면 N-석신이미딜-3-(2-피리딜다이싸이오) 프로피오네이트(SPDP), 석신이미딜-4-(N-말레이미도메틸) 사이클로헥세인-1-카복실레이트(SMCC), 이미노싸이올레인(IT), 이미도에스터의 이작용성 유도체(예를 들면, 아디프이미드산 다이메틸 HCl), 활성 에스터(예를 들면, 수베르산 다이석신이미딜), 알데하이드(예를 들면, 글루타르알데하이드), 비스-아자이도 화합물(예를 들면, 비스(p-아자이도벤조일) 헥세인다이아민), 비스-다이아조늄 유도체(예를 들면, 비스-(p-다이아조늄벤조일)-에틸렌다이아민), 다이아이소사이아네이트(예를 들면, 톨루엔 2,6-다이아이소사이아네이트), 및 비스 활성 불소 화합물(예를 들면, 1,5-다이플루오로-2,4-다이나이트로벤젠)이다. 예를 들면, 리신 면역 독소는, Vitetta et al., Science 238: 1098 (1987)에 기재되는 바와 같이 해서 조제될 수 있다. 탄소-14 표지된 1-아이소싸이오사이아네이토벤질-3-메틸다이에틸렌 트라이아민오아세트산(MX-DTPA)은, 항체에의 방사성 핵종의 콘주게이션을 위한 예시적인 킬레이트제이다. WO94/11026을 참조할 것. 링커는, 세포내에서의 세포상해약의 방출을 촉진하는 「절단 가능한 링커」일 수 있다. 예를 들면, 산 불안정성 링커, 펩티다아제 감수성 링커, 광 불안정성 링커, 다이메틸 링커, 또는 다이설파이드 함유 링커(Chari et al., Cancer Res. 52: 127-131(1992); 미국 특허 제5,208,020호)가 사용될 수 있다.

[0492] 본 명세서의 이뮤노콘주게이트 또는 ADC는, (예를 들면, Pierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL., U.S.A로부터) 시판되고 있는 BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 설포-EMCS, 설포-GMBS, 설포-KMUS, 설포-MBS, 설포-SIAB, 설포-SMCC, 및 설포-SMPB, 및 SVSB(석신이미딜-(4-바이닐설폰)벤조에이트)를 포함하지만 이들로 한정되지 않는 가교 시약을 이용하여 조제되는 콘주게이트를 명시적으로 고려하지만, 이들로 한정되지 않는다.

[0493] E. 진단 및 검출을 위한 방법 및 조성물

[0494] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체 모두, 생물학적 샘플에 있어서의 CTLA-4의 존재를 검출하는 데에 유용하다. 본 명세서에서 이용되는 용어 「검출」은, 정량적 또는 정성적인 검출을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 생물학적 샘플은, 세포 또는 조직, 예를 들면, 혈청, 전혈, 혈장, 생검 시료, 조직 시료, 세포 현탁액, 타액, 가래, 구강액, 뇌척수액, 양수, 복수, 유즙, 초유, 유선 분비물, 림프액, 소변, 땀, 누액, 위액, 관절액, 복수, 안액, 또는 점액을 포함한다.

[0495] 일 태양에 있어서, 진단 방법 또는 검출 방법에 있어서 사용하기 위한 항CTLA-4 항체가 제공된다. 추가적인 국면에 있어서, 생물학적 샘플 중의 CTLA-4의 존재를 검출하는 방법이 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 이 방법은, CTLA-4에의 항CTLA-4 항체의 결합이 허용되는 조건하에서 본 명세서에 기재된 항CTLA-4 항체와 생물학적 샘플을 접촉시키는 것, 및 항CTLA-4 항체와 CTLA-4 사이에서 복합체가 형성되었는지 여부를 검출하는 것을 포함한다. 그와 같은 방법은, 인 비트로의 방법 또는 인 비보의 방법일 수 있다. 일 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체는, 예를 들면 CTLA-4가 환자를 선택하기 위한 바이오 마커인 경우, 항CTLA-4 항체를 이용하는 치료에 적합한 대상을 선택하기 위해서 사용된다.

[0496] 본 발명의 항체를, 예를 들면 면역 응답의 상태의 체크나 면역계의 기능 부전의 진단 등에 사용할 수 있다.

[0497] 특정한 태양에 있어서, 표지된 항CTLA-4 항체가 제공된다. 표지는, 직접적으로 검출되는 표지 또는 부분(예를 들면, 형광 표지, 발색 표지, 고전자 밀도 표지, 화학 발광 표지, 및 방사성 표지), 및 예를 들면 효소 반응 또는 분자간 상호작용을 통해서 간접적으로 검출되는 부분(예를 들면 효소 또는 리간드)을 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다. 예시적인 표지는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 이하를 포함한다: 방사성 동위체 ^{32}P, ^{14}C, ^{125}I, ^{3}H 및 ^{131}I, 희토류 킬레이트 등의 발형광단 또는 플루오레세인 및 그의 유도체, 로다민 및 그의 유도체, 단실, 움벨리페론, 반딧불이 루시퍼라아제 및 세균 루시퍼라아제(미국 특허 제4,737,456호) 등의 루시퍼라아제, 루시페린, 2,3-다이하이드로프탈라진다이온, 서양고추냉이 퍼옥시다아제(horseradish peroxidase: HRP), 알칼리 포스파타아제, β-갈락토시다아제, 글루코아밀라아제, 리소자임, 단당 옥시다아제(예를 들면 글루코스 옥시다아제, 갈락토스 옥시다아제 및 글루코스-6-인산 데하이드로제나아제), 유리카아제 및 잔틴 옥시다아제 등의 헤테로환 옥시다아제, 과산화 수소를 이용하여 색소 전구체를 산화하는 효소(예를 들면 HRP, 락토퍼옥시다아제, 또는 마이크로퍼옥시다아제)와 연결된 것, 비오틴/아비딘, 스핀 표지, 박테리아파지 표지, 안정된 프리 라디칼류, 및 이들과 비슷한 것.

[0498] F. 약학적 제제

[0499] 본 명세서에 기재된 항CTLA-4 항체의 약학적 제제는, 원하는 순도를 갖는 항체를, 1개 또는 복수의 임의의 약학적으로 허용되는 담체(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980))와 혼합하는 것에 의해, 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로, 조제된다. 약학적으로 허용되는 담체는, 대체로, 이용될 때의 용량 및 농도에서는 리시피엔트에 대해서 비독성이고, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 이하의 것을 포함한다: 인산염, 시트르산염, 및 다른 유기산 등의 완충액; 아스코르브산 및 메싸이오닌을 포함하는, 항산화제; 보존료(옥타데실다이메틸벤질 염화 암모늄; 염화 헥사메토늄; 염화 벤잘코늄; 염화 벤제토늄; 페놀, 뷰틸, 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤 등의 알킬 파라벤; 카테콜; 레조시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸 등); 저분자(약 10잔기 미만) 폴리펩타이드; 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린 등의 단백질; 폴리바이닐피롤리돈 등의 친수성 폴리머; 글라이신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 라이신 등의 아미노산; 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린을 포함하는, 단당, 이당, 및 다른 탄수화물; EDTA 등의 킬레이트제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스, 소르비톨 등의, 설탕류; 나트륨 등의 염 형성 짝이온류; 금속 착체(예를 들면, Zn-단백질 착체); 및/또는 폴리에틸렌 글라이콜(PEG) 등의 비이온계 표면 활성제. 본 명세서의 예시적인 약학적으로 허용되는 담체는, 추가로, 가용성 중성 활성형 히알루로니다아제 당단백질(sHASEGP) 등의 간질성(間質性) 약제 분산제를 포함한다. 특정한 예시적 sHASEGP 및 그 사용 방법은, 미국 특허출원 공개 제2005/0260186호 및 제2006/0104968호에 기재되어 있다. 일 국면에 있어서, sHASEGP는, 콘드로이티나아제 등의 1개 또는 복수의 추가적인 글루코사미노글라이카나아제와 조합된다.

[0500] 예시적인 동결건조 항체 제제는, 미국 특허 제6,267,958호에 기재되어 있다. 수용액 항체 제제는, 미국 특허 제6,171,586호 및 WO2006/044908에 기재된 것을 포함하고, 후자의 제제는 히스티딘-아세테이트 완충액을 포함하고 있다.

[0501] 본 명세서의 제제는, 치료되는 특정한 적응증을 위해서 필요하면 1개보다 많은 유효 성분을 포함해도 된다. 서로 악영향을 주고 받지 않는 상보적인 활성을 수반하는 것이 바람직하다. 이와 같은 유효 성분은, 의도된 목적을 위해서 유효한 양으로, 적합하게 조합되어 존재한다.

[0502] 유효 성분은, 예를 들면 액적 형성(코아서베이션) 수법에 의해 또는 계면 중합에 의해 조제된 마이크로캡슐(각각, 예를 들면, 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴 마이크로캡슐, 및 폴리(메타크릴산 메틸) 마이크로캡슐)에 도입되어도 되고, 콜로이드상 약제 송달 시스템(예를 들면, 리포솜, 알부민 소구체, 마이크로에멀션, 나노입자, 및 나노캡슐)에 도입되어도 되고, 마크로에멀션에 도입되어도 된다. 이와 같은 수법은, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)에 개시되어 있다.

[0503] 서방성 제제를 조제해도 된다. 서방성 제제의 적합한 예는, 항체를 포함한 고체 소수성 폴리머의 반투과성 매트릭스를 포함하고, 당해 매트릭스는 예를 들면 필름 또는 마이크로캡슐 등의 조형품의 형태이다.

[0504] 생체 내(in vivo) 투여를 위해서 사용되는 제제는, 통상 무균이다. 무균 상태는, 예를 들면 멸균 여과막을 통해서 여과하는 것 등에 의해, 용이하게 달성된다.

[0505] G. 치료적 방법 및 치료용 조성물

[0506] 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체 모두, 치료적인 방법에 있어서 사용되어도 된다.

[0507] 일 국면에 있어서, 의약품으로서의 사용을 위한, 항CTLA-4 항체가 제공된다. 추가적인 국면에 있어서, 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한, 항CTLA-4 항체가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 치료 방법에 있어서의 사용을 위한, 항CTLA-4 항체가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명은, 종양을 갖는 개체를 치료하는 방법으로서, 당해 개체에 항CTLA-4 항체의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한, 항CTLA-4 항체를 제공한다. 이와 같은 태양의 하나에 있어서, 방법은, 당해 개체에 적어도 1개의 (예를 들면 후술하는 바와 같은) 추가 치료제의 유효량을 투여하는 공정을, 추가로 포함한다. 추가적인 태양에 있어서, 본 발명은, 세포의 상해에 있어서의 사용을 위한 항CTLA-4 항체를 제공한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명은, 개체에 있어서 세포를 상해하는 방법으로서, 세포를 상해하기 위해서 당해 개체에 항CTLA-4 항체의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한, 항CTLA-4 항체를 제공한다. 추가적인 태양에 있어서, 본 발명은, 면역의 활성화에 있어서의 사용을 위한 항CTLA-4 항체를 제공한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명은, 개체에 있어서 면역을 활성화하는 방법으로서, 면역을 활성화하기 위해서 당해 개체에 항CTLA-4 항체의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한, 항CTLA-4 항체를 제공한다. 상기 태양의 임의의 것에 의한 「개체」는, 적합하게는 인간이다.

[0508] 몇 개의 태양에 있어서, 종양은 고형 종양이다. 고형 종양에 있어서는, 통상, 종양 세포가 증식하여 집단이 되

고, 그들이 주체가 되어 종양 조직이 형성된다. 또한, 생체 내의 종양 조직에는, 많은 경우, 림프구 등의 면역 세포가 침윤하고 있고, 그들도 또한 종양 조직의 일부를 구성하고 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 종양 조직 내에 면역 세포, 특히 제어성 T(Treg) 세포가 침윤하고 있다. 일 태양에 있어서, 세포에의 상해는 ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성에 의해 야기된다. 일 태양에 있어서, CTLA-4를 세포 표면에 발현하는 세포가 상해된다. 추가적인 태양에 있어서, 상해되는 세포는 Treg 세포이다. 특정한 태양에 있어서, 종양 조직 내에 침윤하고 있는 Treg 세포가 상해된다. 일 태양에 있어서, Treg 세포가 상해되는 것에 의해 면역이 활성화된다(Treg 세포에 의한 면역 억제가 해제된다). 추가적인 태양에 있어서, 종양 조직에 있어서의 면역(특히 항종양 면역)이 활성화된다. 몇 개의 태양에 있어서, 면역의 활성화는 T 세포의 활성화이다.

[0509] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체에 의해 초래되는 의약품으로서의 효과의 정도는, 개체 내의 조직에 따라서 상이하다. 특정한 태양에 있어서, 조직 내의 아데노신 함유 화합물의 농도에 따라서, 그 정도가 변화한다. 추가적인 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 조직에 비해, 아데노신 함유 화합물의 농도가 높은 조직에 있어서, 그 효과가 증대된다. 아데노신 함유 화합물의 농도가 높은 조직으로서, 예를 들면 종양 조직을 들 수 있다. 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 조직으로서, 예를 들면 정상 조직 등의 비종양 조직을 들 수 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 비종양 조직에 비해, 종양 조직에 있어서 보다 강하게 면역이 활성화된다. 이와 같은 반응의 차이는, 항CTLA-4 항체의 모든 용량에서 관찰될 필요는 없고, 어떤 특정한 범위의 용량에서 관찰되면 된다. 다른 태양에 있어서, 비종양 조직에 비해, 종양 조직에 있어서 보다 낮은 용량에서 면역이 활성화된다. 또한, 다른 태양에 있어서, 부작용이 관찰되는 것보다도 낮은 용량에서, 치료 효과가 관찰된다. 특정한 태양에 있어서, 치료 효과란 항종양 효과(예를 들면, 종양의 퇴축, 종양 세포에 대한 세포사의 유도 혹은 증식 억제 등)의 발현이고, 부작용이란 자기면역 질환(과잉한 면역 응답에 의한 정상 조직에의 상해를 포함한다)의 발증이다.

[0510] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체에 의해 초래되는 의약품으로서의 효과의 정도는, 아데노신 함유 화합물 의존적인(즉, 아데노신 함유 화합물의 농도에 따라서 변화하는) CTLA-4에 대한 결합 활성을 갖고 있는지 여부에 따라서 상이하다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 아데노신 함유 화합물의 농도가 높아짐에 따라 CTLA-4에 대한 결합 활성이 증대하는 항체이다. 몇 개의 태양에 있어서, 대조가 되는 항CTLA-4 항체는, 아데노신 함유 화합물의 농도에 의존한 CTLA-4 결합 활성을 갖고 있지 않은 항체이다. 특정한 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도에 의존한 CTLA-4 결합 활성을 갖고 있지 않은 항체란, 당해 화합물의 존재하와 비존재하에 있어서의 CTLA-4 결합 활성의 차가, 예를 들면 2배보다 작거나, 1.8배보다 작거나, 1.5배보다 작거나, 1.3배보다 작거나, 1.2배보다 작거나, 또는 1.1배보다 작은 항체를 의미한다. 본 발명의 항CTLA-4 항체와, 대조가 되는 항CTLA-4 항체에서는, 충분량의 아데노신 함유 화합물의 존재하에 있어서의 CTLA-4 결합 활성이 서로 실질적으로 동등한 것이 바람직하다.

[0511] 특정한 국면에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체와, 대조가 되는 항CTLA-4 항체에서는, 각 항체에 의해 초래되는 의약품으로서의 효과가 상이하다. 특정한 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 조직에 있어서, 의약품으로서의 효과가 상이하다. 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 조직으로서, 예를 들면 정상 조직 등의 비종양 조직을 들 수 있다. 항CTLA-4 항체는, 그것을 포함하는 약학적 제제로서도 제공될 수 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 조직에 있어서는, 대조가 되는 항CTLA-4 항체와 비교해서, 본 발명의 항CTLA-4 항체에서는, 면역의 활성화의 레벨이 낮다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 조직에 있어서는, 대조가 되는 항CTLA-4 항체와 비교해서, 본 발명의 항CTLA-4 항체에서는, 면역을 활성화하기 위해서 필요한 용량이 높다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 조직에 있어서는, 대조가 되는 항CTLA-4 항체와 비교해서, 본 발명의 항CTLA-4 항체에서는, 부작용의 레벨이 낮다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 조직에 있어서는, 대조가 되는 항CTLA-4 항체와 비교해서, 본 발명의 항CTLA-4 항체에서는, 부작용이 관찰될 때의 용량이 높다. 이와 같은 반응의 차이는, 모든 조직(예를 들면, 아데노신 함유 화합물의 농도가 낮은 모든 조직)에서 관찰될 필요는 없고, 몇 개의 조직에서 관찰되면 된다. 특정한 태양에 있어서, 부작용은 자기면역 질환(과잉한 면역 응답에 의한 정상 조직에의 상해를 포함한다)이다.

[0512] 특정한 국면에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체와, 대조가 되는 항CTLA-4 항체에서는, 각 항체에 의해 초래되는 의약품으로서의 효과가 실질적으로 동등하다. 특정한 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 높은 조직에 있어서, 의약품으로서의 효과가 실질적으로 동등하다. 아데노신 함유 화합물의 농도가 높은 조직으로서, 예를 들면 종양 조직을 들 수 있다. 항CTLA-4 항체는, 그것을 포함하는 약학적 제제로서 제공될 수 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 높은 조직에 있어서는, 본 발명의 항CTLA-4 항체와, 대조가

되는 항CTLA-4 항체에서는, 면역의 활성화의 레벨이 실질적으로 동등하다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 높은 조직에 있어서는, 본 발명의 항CTLA-4 항체와, 대조가 되는 항CTLA-4 항체에서는, 면역을 활성화하기 위해서 필요한 용량이 실질적으로 동등하다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 높은 조직에 있어서는, 본 발명의 항CTLA-4 항체와, 대조가 되는 항CTLA-4 항체에서는, 치료 효과의 레벨이 실질적으로 동등하다. 몇 개의 태양에 있어서, 아데노신 함유 화합물의 농도가 높은 조직에 있어서는, 본 발명의 항CTLA-4 항체와, 대조가 되는 항CTLA-4 항체에서는, 치료 효과가 관찰될 때의 용량이 실질적으로 동등하다. 특정한 태양에 있어서, 치료 효과란 항종양 효과(예를 들면, 종양의 퇴축, 종양 세포에 대한 세포사의 유도 혹은 증식 억제 등)의 발현이다.

[0513] 몇 개의 태양에 있어서, 종양은, 암종, 림프종, 아세포종, 육종, 및 백혈병으로 이루어지는 군으로부터 임의로 선택할 수 있다. 추가적인 태양에 있어서, 종양은, 폐암, 소세포 폐암, 비소세포 폐암, 폐선암, 폐편평상피암, 대장암, 직장암, 결장암, 유방암, 간장암, 위암, 췌암, 신암, 전립선암, 난소암, 갑상선암, 담관암, 복막암, 중피종, 편평상피암, 자궁경암, 자궁내막암, 방광암, 식도암, 두경부암, 비인강암, 타액선 종양, 흉선종, 피부암, 기저 세포종, 흑색종, 악성 흑색종, 항문암, 음경암, 정소암, 윌름스 종양, 급성 골수성 백혈병(급성 골수구성 백혈병, 급성 골수아구성 백혈병, 급성 전골수구성 백혈병, 급성 골수단구성 백혈병, 및 급성 단구성 백혈병을 포함한다), 만성 골수성 백혈병, 급성 림프아구 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종(버킷 림프종, 만성 림프구성 백혈병, 균상 식육종, 맨틀 세포 림프종, 여포성 림프종, 미만성 대세포형 림프종, 변연대 림프종, 모양 세포 백혈병 플라스마 세포종, 말초 T 세포 림프종, 및 성인 T 세포 백혈병/림프종을 포함한다), 랑게르한스 세포 조직구증, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 뇌종양(신경교종, 성세포종, 교아세포종, 수막종, 및 상의세포종을 포함한다), 신경아세포종, 망막아세포종, 골육종, 카포지 육종, 유잉 육종, 혈관 육종, 및 혈관 외피 세포종으로 이루어지는 군으로부터 임의로 선택할 수 있다. 특정한 태양에 있어서, 종양은, 폐암, 대장암, 결장암, 유방암, 간장암, 췌암, 신암, 방광암, 두경부암, 및 흑색종으로 이루어지는 군으로부터 임의로 선택할 수 있다.

[0514] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은 의약품의 제조 또는 조제에 있어서의 항CTLA-4 항체의 사용을 제공한다. 일 태양에 있어서, 의약품은, 종양의 치료를 위한 것이다. 추가적인 태양에 있어서, 의약품은, 종양을 치료하는 방법으로서, 종양을 갖는 개체에 의약품의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한 것이다. 이와 같은 태양의 하나에 있어서, 방법은, 당해 개체에 적어도 1개의 (예를 들면 후술하는 바와 같은) 추가 치료제의 유효량을 투여하는 공정을, 추가로 포함한다. 추가적인 태양에 있어서, 의약품은, 세포의 상해를 위한 것이다. 추가적인 태양에 있어서, 의약품은, 개체에 있어서 세포를 상해하는 방법으로서, 세포를 상해하기 위해서 당해 개체에 의약품의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한 것이다. 추가적인 태양에 있어서, 의약품은, 면역의 활성화를 위한 것이다. 추가적인 태양에 있어서, 의약품은, 개체에 있어서 면역을 활성화하는 방법으로서, 면역을 활성화하기 위해서 당해 개체에 의약품의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한 것이다. 상기 태양의 임의의 것에 의한 「개체」는, 인간이어도 된다.

[0515] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 일 태양에 있어서, 방법은, 그와 같은 종양을 갖는 개체에 항CTLA-4 항체의 유효량을 투여하는 공정을 포함한다. 그와 같은 태양의 하나에 있어서, 방법은, 당해 개체에 적어도 1개의 (후술하는 바와 같은) 추가 치료제의 유효량을 투여하는 공정을, 추가로 포함한다. 상기 태양의 임의의 것에 의한 「개체」는, 인간이어도 된다.

[0516] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은 개체에 있어서 세포를 상해하기 위한 방법을 제공한다. 일 태양에 있어서, 방법은, 세포를 상해하기 위해서 개체에 항CTLA-4 항체의 유효량을 투여하는 공정을 포함한다. 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은 개체에 있어서 면역을 활성화하기 위한 방법을 제공한다. 일 태양에 있어서, 방법은, 면역을 활성화하기 위해서 개체에 항CTLA-4 항체의 유효량을 투여하는 공정을 포함한다. 일 태양에 있어서, 「개체」는, 인간이다.

[0517] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은, 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체의 임의의 것을 포함하는, 약학적 제제(의약 조성물)를 제공한다(예를 들면 전술한 치료적 방법의 임의의 것에 있어서의 사용을 위한). 일 태양에 있어서, 약학적 제제(의약 조성물)는, 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체의 임의의 것과, 약학적으로 허용되는 담체를 포함한다. 일 태양에 있어서, 본 발명은, 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한 약학적 제제(의약 조성물)를 제공한다. 일 태양에 있어서, 본 발명은, 세포의 상해에 있어서의 사용을 위한 약학적 제제(의약 조성물)를 제공한다. 일 태양에 있어서, 본 발명은, 면역의 활성화에 있어서의 사용을 위한 약학적 제제(의약 조성물)를 제공한다. 다른 태양에 있어서, 약학적 제제(의약 조성물)는, 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체의

임의의 것과, 적어도 1개의 (예를 들면 후술하는 바와 같은) 추가 치료제를 포함한다.

[0518] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은, 본 명세서에서 제공되는 항CTLA-4 항체의 임의의 것을, 약학적으로 허용되는 담체와 혼합하는 공정을 포함하는, 의약품 또는 약학적 제제를 조제하기 위한 방법을 제공한다(예를 들면 전술한 치료적 방법의 임의의 것에 있어서의 사용을 위한). 일 태양에 있어서, 의약품 또는 약학적 제제를 조제하기 위한 방법은, 적어도 1종의 추가의 치료제를 의약품 또는 약학적 제제에 첨가하는 공정을, 추가로 포함한다.

[0519] 본 발명의 항체는, 요법에 있어서, 단독 또는 다른 제와의 조합의 어느 쪽으로도 사용될 수 있다. 예를 들면, 본 발명의 항체는, 적어도 1개의 추가의 치료제와 동시 투여되어도 된다. 특정한 태양에 있어서, 추가 치료제는, 면역 체크포인트 저해제, EGFR 저해제, HER2 저해제, 또는 화학요법제이다. 면역 체크포인트 저해제로서는, 예를 들면 항CTLA-4 저해제, 항PD-1 저해제, 항PD-L1 저해제, 항PD-L2 저해제, 항TIM-3 저해제, 항LAG-3 저해제, 항TIGIT 저해제, 항BTLA 저해제, 항VISTA 저해제 등을 들 수 있다. 항CTLA-4 저해제로서는, 예를 들면 ipilimumab, tremelimumab 등을 들 수 있다. 항PD-1 저해제로서는, 예를 들면 nivolumab, pembrolizumab 등을 들 수 있다. 항PD-L1 저해제로서는, 예를 들면 atezolizumab, durvalumab, avelumab 등을 들 수 있다. 항PD-L2 저해제로서는, 예를 들면 항PD-L2 저해 항체를 들 수 있다. 항TIM-3 저해제로서는, 예를 들면 항TIM-3 저해 항체를 들 수 있다. 항LAG-3 저해제로서는, 예를 들면 항LAG-3 저해 항체를 들 수 있다. 항TIGIT 저해제로서는, 예를 들면 항TIGIT 저해 항체를 들 수 있다. 항BTLA 저해제로서는, 예를 들면 항BTLA 저해 항체를 들 수 있다. 항VISTA 저해제로서는, 예를 들면 항VISTA 저해 항체를 들 수 있다. EGFR 저해제로서는, 예를 들면 cetuximab, panitumumab, nimotuzumab, necitumumab, zalutumumab 등을 들 수 있다. HER2 저해제로서는, 예를 들면 trastuzumab, trastuzumab emtansine, pertuzumab 등을 들 수 있다.

[0520] 전술한 바와 같은 병용 요법은, 병용 투여(2개 이상의 치료제가, 동일 또는 각각의 제제에 포함된다), 및 개별 투여를 포함하고, 개별 투여의 경우, 본 발명의 항체의 투여가 추가 치료제의 투여에 앞서, 추가 치료제의 투여와 동시에, 및/또는, 추가 치료제의 투여에 이어, 행해질 수 있다. 일 태양에 있어서, 항CTLA-4 항체의 투여 및 추가 치료제의 투여는, 각각의 약 1개월 이내, 또는 약 1, 2, 또는 3주간 이내, 또는 약 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6일 이내에 행해진다. 본 발명의 항체는, 방사선 요법과 조합하여 사용될 수도 있다.

[0521] 본 발명의 항체(및, 임의의 추가 치료제)는, 비경구 투여, 폐내 투여, 및 경비 투여, 또한 국소적 처치를 위해서 요망되는 경우는 병소내 투여를 포함하는, 임의의 적합한 수단에 의해 투여될 수 있다. 비경구 주입은, 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내, 또는 피하 투여를 포함한다. 투약은, 투여가 단기인지 장기인지에 일부 따라서, 예를 들면, 정맥내 주사 또는 피하 주사 등의 주사에 의하는 등, 임의의 적합한 경로에 의해 행해질 수 있다. 이들로 한정되는 것은 아니지만, 단회 투여 또는 여러 가지 시점에 걸친 반복 투여, 볼러스 투여, 및 펄스 주입을 포함하는, 여러 가지 투약 스케줄이 본 명세서의 고려 내이다.

[0522] 본 발명의 항체는, 우량 의료 규범(good medical practice)에 일치한 방식으로, 제제화되고, 투약되고, 또한 투여된다. 이 관점에서 고려되어야 할 팩터는, 치료되고 있는 그 특정한 장애, 치료되고 있는 그 특정한 포유동물, 개개의 환자의 임상 증상, 장애의 원인, 제를 송달하는 부위, 투여 방법, 투여의 스케줄, 및 의료 종사자에게 공지된 다른 팩터를 포함한다. 항체는, 반드시 그렇지 않아도 되지만, 임의로, 문제의 장애를 예방하거나 또는 치료하기 위해서 현재 사용되고 있는 1개 또는 복수의 제와 함께, 제제화된다. 그와 같은 다른 제의 유효량은, 제제 중에 존재하는 항체의 양, 장애 또는 치료의 타입, 및 위에서 논한 다른 팩터에 의존한다. 이들은 통상, 본 명세서에서 기술한 것과 동일한 용량 및 투여 경로로, 또는 본 명세서에서 기술한 용량의 약 1 내지 99%로, 또는 경험적/임상적으로 적절하다고 판단되는 임의의 용량 및 임의의 경로로, 사용된다.

[0523] 질환의 예방 또는 치료를 위해서, 본 발명의 항체의 적절한 용량(단독으로 이용될 때 또는 1개 또는 복수의 다른 추가 치료제와 함께 이용될 때)은, 치료되는 질환의 타입, 항체의 타입, 질환의 중증도 및 경과, 항체가 예방적 목적으로 투여되는지 치료적 목적으로 투여되는지, 약력, 환자의 임상력 및 항체에 대한 응답, 및 주치의의 재량에 의존할 것이다. 항체는, 환자에 대해서, 1회로, 또는 일련의 처치에 걸쳐서, 적합하게 투여된다. 질환의 타입 및 중증도에 따라서, 예를 들면, 1회 또는 복수회의 개별 투여에 의한다고 하더라도 연속 주입에 의한다고 하더라도, 약 1㎍/kg 내지 15mg/kg(예를 들면, 0.1mg/kg~10mg/kg)의 항체가, 환자에 대한 투여를 위한 최초의 후보 용량이 될 수 있다. 1개의 전형적인 1일 용량은, 전술한 팩터에 의존하고, 약 1㎍/kg으로부터 100mg/kg 이상까지, 폭이 있어도 된다. 수 일 또는 보다 길게 걸친 반복의 투여의 경우, 상황에 따라, 치료는 통상 질환 증상의 원하는 억제가 일어날 때까지 유지된다. 항체의 1개의 예시적인 용량은, 약 0.05mg/kg 내지 약 10mg/kg의 범위 내이다. 따라서, 약 0.5mg/kg, 2.0mg/kg, 4.0mg/kg, 혹은 10mg/kg의 1개 또는 복수의 용량(또는 이들의 임의의 조합)이, 환자에게 투여되어도 된다. 이와 같은 용량은, 단속적으로, 예를 들면 1주간마다

또는 3주간마다(예를 들면, 환자가 약 2 내지 약 20, 또는 예를 들면 약 6용량의 항체를 받도록), 투여되어도 된다. 높은 초회 부하 용량 후에, 1회 또는 복수회의 저용량이 투여되어도 된다. 이 요법의 경과는, 종래의 수법 및 측정법에 의해, 용이하게 모니터링된다.

[0524] 전술한 제제 또는 치료적 방법의 어느 것에 대해서도, 항CTLA-4 항체 대신에 또는 그것에 추가하여, 본 발명의 이뮤노콘주게이트를 이용하여 실시해도 된다는 것이, 이해될 것이다.

[0525] 본 명세서의 항CTLA-4 항체는 벡터 등을 이용하여 항CTLA-4 항체를 코드하는 핵산을 생체 내에 투여 혹은 짜넣어, 항CTLA-4 항체를 직접 생체 내에서 발현시키는 방법에 의해 투여될 수 있지만, 벡터를 이용하는 일 없이 투여되어도 된다. 벡터로서, 바이러스 벡터, 플라스미드 벡터가 예시되고, 나아가서는 아데노바이러스 벡터가 예시된다. 항CTLA-4 항체를 코드하는 핵산은 직접 생체에 투여해도 되고, 또한 항CTLA-4 항체를 코드하는 핵산을 도입한 세포를 생체에 투여해도 된다. 예를 들면, 항CTLA-4 항체를 코드하는 mRNA에 생체 내에서의 mRNA의 안정성을 높이기 위한 화학수식을 실시하고, 당해 mRNA를 인간에 직접 투여하여, 생체 내에서 항CTLA-4 항체를 발현시키는 방법에 의해 항CTLA-4 항체를 투여할 수 있다(EP2101823B, WO2013/120629 참조). 또한, 항CTLA-4 항체를 코드하는 핵산을 도입한 B 세포를 투여해도 된다(Sci Immunol. (2019) 4(35), eaax0644). 또한, 항CTLA-4 항체를 코드하는 핵산을 도입한 세균을 투여해도 된다(Nature Reviews Cancer (2018) 18, 727-743).

[0526] 본 명세서의 항CTLA-4 항체와 조합 가능한 기술의 비한정적인 예로서, 항CTLA-4 항체를 이용한, T 세포 리다이렉팅 항체를 분비하는 T 세포의 작성이 예시된다(Trends Immunol. (2019) 40(3) 243-257). 비한정적인 작성 방법의 하나로서는, T 세포 상의 T 세포 리셉터(TCR) 복합체의 구성 서브유닛의 어느 것에 대한 결합 도메인, 특히 CD3 중에서도 CD3 입실론쇄에 대한 결합 도메인과, 항CTLA-4 항체의 항원 결합 도메인을 포함하는 이중특이성 항체를 코드하는 핵산을 유전자 개변 기술에 의해 T 세포 등의 이펙터 세포에 도입하는 수법을 들 수 있다.

[0527] H. 제품

[0528] 본 발명의 다른 국면에 있어서, 전술한 장애의 치료, 예방, 및/또는 진단에 유용한 기재를 포함한 제품이, 제공된다. 제품은, 용기, 및 당해 용기상의 라벨 또는 당해 용기에 부속되는 첨부 문서를 포함한다. 바람직한 용기로서는, 예를 들면, 보틀, 바이알, 시린지, IV(intravenous) 용액 백(bag) 등이 포함된다. 용기류는, 유리나 플라스틱 등의, 다양한 재료로부터 형성되어 있어도 된다. 용기는 조성물을 단체(單體)로 유지해도 되고, 증상의 치료, 예방, 및/또는 진단을 위해서 유효한 다른 조성물과 조합하여 유지해도 되고, 또한, 무균적인 액세스 포트를 갖고 있어도 된다(예를 들면, 용기는, 피하 주사침에 의해 꿰뚫을 수 있는 스토퍼를 갖는 정맥내 투여용 용액 백 또는 바이알이어도 된다). 조성물 중의 적어도 1개의 유효 성분은, 본 발명의 항체이다. 라벨 또는 첨부 문서는, 조성물이 선택된 증상을 치료하기 위해서 사용되는 것인 것을 나타낸다. 더욱이 제품은, (a) 제1 용기로서, 그 중에 수납된 본 발명의 항체를 포함하는 조성물을 수반하는, 제1 용기; 및, (b) 제2 용기로서, 그 중에 수납된 추가적인 세포상해제 또는 그 이외에 치료적인 제를 포함하는 조성물을 수반하는, 제2 용기를 포함해도 된다. 본 발명의 이 태양에 있어서의 제품은, 조성물이 특정한 증상을 치료하기 위해서 사용될 수 있는 것을 나타내는, 첨부 문서를 추가로 포함해도 된다. 혹은 또는 그에 더하여, 제품은 추가로, 주사용 제균수(BWFI), 인산 완충 생리 식염수, 링거 용액, 및 덱스트로스 용액 등의, 약학적으로 허용되는 완충액을 포함하는, 제2(또는 제3) 용기를 포함해도 된다. 다른 완충액, 희석제, 필터, 침, 및 시린지 등의, 다른 상업적 관점 또는 유저의 입장에서 바람직한 기재를 추가로 포함해도 된다.

[0529] 전술한 제품의 어느 것에 대해서도, 항CTLA-4 항체 대신에 또는 그것에 추가하여, 본 발명의 이뮤노콘주게이트를 포함해도 되는 것이, 이해될 것이다.

[0530] <변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드>

[0531] 일 국면에 있어서, 본 발명은, 변이 Fc 영역을 포함하는 단리된 폴리펩타이드를 제공한다. 몇 개의 국면에 있어서, 폴리펩타이드는 항체이다. 몇 개의 국면에 있어서, 폴리펩타이드는 Fc 융합 단백질이다. 특정한 태양에 있어서, 변이 Fc 영역은, 천연형 서열 또는 참조 변이체 서열(본 명세서에 있어서는 「친」 Fc 영역이라고 총칭하는 경우가 있다)의 Fc 영역에 있어서의 대응 서열과 비교해서, 적어도 1개의 아미노산 잔기 개변(예를 들면 치환)을 포함한다. 천연형 서열의 Fc 영역은, 통상, 2본의 동일한 폴리펩타이드쇄로 이루어지는 호모이량체로서 구성된다. 본 발명의 변이 Fc 영역에 있어서의 아미노산 개변은, 친Fc 영역의 2본의 폴리펩타이드쇄의 어느 한쪽에 도입되어도 되고, 2본의 폴리펩타이드쇄의 양쪽에 도입되어도 된다.

[0532] 몇 개의 국면에 있어서, 본 발명은, 친Fc 영역과 비교해서, 기능이 개변된 변이 Fc 영역을 제공한다. 특정한 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역에 비해, Fcɣ 수용체에 대한 결합 활성이 증강되어 있다.

특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역에 비해, FcγRIa, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 하나의 Fcγ 수용체에 대한 결합 활성이 증강되어 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, FcγRIIa에 대한 결합 활성이 증강되어 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, FcγRIIIa에 대한 결합 활성이 증강되어 있다. 추가적인 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, FcγRIIa 및 FcγRIIIa에 대한 결합 활성이 증강되어 있다. 다른 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역에 비해, ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성이 증강되어 있다.

[0533] 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 298, 330, 332, 및 334로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 위치의 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함한다. 혹은, 국제 공개 WO2013/002362나 WO2014/104165에 기재된 아미노산 개변 등도 본 발명에 있어서 마찬가지로 이용될 수 있다.

[0534] 특정한 태양에 있어서, 친Fc 영역 및 변이 Fc 영역의 결합 활성은 KD(Dissociation constant: 해리 상수)값으로 나타낼 수 있다. 일 태양에 있어서, [FcγRIIa에 대한 친Fc 영역의 KD값]/[FcγRIIa에 대한 변이 Fc 영역의 KD값]의 비의 값은, 예를 들면 1.5 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 15 이상, 20 이상, 25 이상, 30 이상, 40 이상, 또는 50 이상이다. 추가적인 태양에 있어서, FcγRIIa는, FcγRIIa R이어도 되고, FcγRIIa H여도 된다. 또한 그 양쪽이어도 된다. 따라서, FcγRIIa에 대한 Fc 영역의 KD값은, FcγRIIa R에 대한 Fc 영역의 KD값이어도 되고, FcγRIIa H에 대한 Fc 영역의 KD값이어도 된다. 또한 그 양쪽의 합계 혹은 평균값이어도 된다. 일 태양에 있어서, [FcγRIIIa에 대한 친Fc 영역의 결합 활성]/[FcγRIIIa에 대한 변이 Fc 영역의 결합 활성]의 비의 값은, 예를 들면, 2 이상, 3 이상, 5 이상, 10 이상, 20 이상, 30 이상, 50 이상, 100 이상, 200 이상, 300 이상, 500 이상, 1×10^{3} 이상, 2×10^{3} 이상, 3×10^{3} 이상, 또는 5×10^{3} 이상이다. 추가적인 태양에 있어서, FcγRIIIa는, FcγRIIIa F여도 되고, FcγRIIIa V여도 된다. 또한 그 양쪽이어도 된다. 따라서, FcγRIIIa에 대한 Fc 영역의 KD값은, FcγRIIIa F에 대한 Fc 영역의 KD값이어도 되고, FcγRIIIa V에 대한 Fc 영역의 KD값이어도 된다. 또한 그 양쪽의 합계 혹은 평균값이어도 된다.

[0535] 일 태양에 있어서, FcγRIIa에 대한 변이 Fc 영역의 KD값은, 예를 들면, 1.0×10^{-6}M 이하, 5.0×10^{-7}M 이하, 3.0×10^{-7}M 이하, 2.0×10^{-7}M 이하, 1.0×10^{-7}M 이하, 5.0×10^{-8}M 이하, 3.0×10^{-8}M 이하, 2.0×10^{-8}M 이하, 1.0×10^{-8}M 이하, 5.0×10^{-9}M 이하, 3.0×10^{-9}M 이하, 2.0×10^{-9}M 이하, 또는 1.0×10^{-9}M 이하이다. 추가적인 태양에 있어서, FcγRIIa는, FcγRIIa R이어도 되고, FcγRIIa H여도 된다. 또한 그 양쪽이어도 된다. 일 태양에 있어서, FcγRIIIa에 대한 변이 Fc 영역의 KD값은, 예를 들면, 1.0×10^{-6}M 이하, 5.0×10^{-7}M 이하, 3.0×10^{-7}M 이하, 2.0×10^{-7}M 이하, 1.0×10^{-7}M 이하, 5.0×10^{-8}M 이하, 3.0×10^{-8}M 이하, 2.0×10^{-8}M 이하, 1.0×10^{-8}M 이하, 5.0×10^{-9}M 이하, 3.0×10^{-9}M 이하, 2.0×10^{-9}M, 1.0×10^{-9}M 이하, 5.0×10^{-10}M 이하, 3.0×10^{-10}M 이하, 2.0×10^{-10}M, 또는 1.0×10^{-10}M 이하이다. 추가적인 태양에 있어서, FcγRIIIa는, FcγRIIIa F여도 되고, FcγRIIIa V여도 된다. 또한 그 양쪽이어도 된다.

[0536] 다른 태양에 있어서, 친Fc 영역 및 변이 Fc 영역의 결합 활성을, KD값 대신에 kd(Dissociation rate constant: 해리 속도 상수)값으로 나타내도 된다.

[0537] 다른 태양에 있어서, 친Fc 영역 및 변이 Fc 영역의 결합 활성은, 단위량당의 Fc 영역의 Fcγ 수용체에 대한 결합량으로 나타내도 된다. 예를 들면, 표면 플라즈몬 공명 어세이에 있어서는, 센서칩 상에 고정된 Fc 영역의 결합량, 및 거기에 추가로 결합한 Fcγ 수용체의 결합량이 각각 반응 단위(resonance unit: RU)로서 측정된다. 거기에서의 Fcγ 수용체의 결합량을 Fc 영역의 결합량으로 나눈 값을, 단위량당의 Fc 영역의 Fcγ 수용체에 대한 결합량으로서 정의할 수 있다. 그러한 결합량의 측정 및 산출의 구체적인 방법은 후술하는 실시예에 기재되어 있다. 몇 개의 태양에 있어서, [변이 Fc 영역의 FcγRIIa에 대한 결합량]/[친Fc 영역의 FcγRIIa에 대한 결합량]의 비의 값이, 예를 들면 1.5 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 15 이상, 20 이상, 25 이상, 30 이상, 40 이상, 또는 50 이상이다. 몇 개의 태양에 있어서, [변이 Fc 영역의 FcγRIIIa에 대한 결합량]/[친Fc 영역의 FcγRIIIa에 대한 결합량]의 비의 값이, 예를 들면 2 이상, 3 이상, 5 이상, 10 이상, 20 이상, 30 이상, 50 이상, 100 이상, 200 이상, 300 이상, 500 이상, 1×10^{3} 이상, 2×10^{3} 이상, 3×10^{3} 이상, 또는 5×10^{3} 이상이다.

[0538] 특정한 태양에 있어서, 본 명세서에서 표시되는 KD값이나 kd값, 결합량의 값 등은, 표면 플라즈몬 공명 어세이를 25℃ 또는 37℃에서 실시하는 것에 의해, 측정 혹은 산출된다(예를 들면, 본 명세서의 실시예 6을 참조할 것).

[0539] 특정한 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역에 비해, 활성형 FcγR 수용체와 저해형 FcγR 수용체 사이의 선택성이 향상되어 있다. 바꾸어 말하면, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역에 비해, 활성형 FcγR 수용체에 대한 결합 활성이 저해형 FcγR 수용체에 대한 결합 활성보다도 크게 증강되어 있다. 특정한 태양에 있어서, 활성형 FcγR 수용체는, FcγRIa, FcγRIIa R, FcγRIIa H, FcγRIIIa F, FcγRIIIa V로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 FcγR 수용체이고, 저해형 FcγR 수용체는 FcγRIIb이다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, FcγRIIa와 FcγRIIb 사이의 선택성이 향상되어 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, FcγRIIIa와 FcγRIIb 사이의 선택성이 향상되어 있다. 추가적인 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, FcγRIIa와 FcγRIIb 사이의 선택성 및 FcγRIIIa와 FcγRIIb 사이의 선택성이 향상되어 있다.

[0540] 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 239, 268, 270, 및 326으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 위치의 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함한다. 혹은, 국제 공개 WO2013/002362나 WO2014/104165에 기재된 아미노산 개변도 본 발명에 있어서 마찬가지로 이용될 수 있다.

[0541] 특정한 태양에 있어서, 친Fc 영역 및 변이 Fc 영역의 결합 활성은 KD(Dissociation constant: 해리 상수)값으로 나타낼 수 있다. FcγRIIa 및 FcγRIIIa에 대한 결합 활성의 태양에 대해서는 전술한 대로이다. 일 태양에 있어서, [FcγRIIb에 대한 친Fc 영역의 KD값]/[FcγRIIb에 대한 변이 Fc 영역의 KD값]의 비의 값은, 예를 들면, 10 이하, 5 이하, 3 이하, 2 이하, 1 이하, 0.5 이하, 0.3 이하, 0.2 이하, 또는 0.1 이하이다. 다른 태양에 있어서, 친Fc 영역 및 변이 Fc 영역의 결합 활성을, KD값 대신에 kd(Dissociation rate constant: 해리 속도 상수)값으로 나타내도 된다.

[0542] 다른 태양에 있어서, 친Fc 영역 및 변이 Fc 영역의 결합 활성은, 전술된 단위량당의 Fc 영역의 FcγR 수용체에 대한 결합량으로 나타내도 된다. 몇 개의 태양에 있어서, [변이 Fc 영역의 FcγRIIb에 대한 결합량]/[친Fc 영역의 FcγRIIb에 대한 결합량]의 비의 값이, 예를 들면 10 이하, 5 이하, 3 이하, 2 이하, 1 이하, 0.5 이하, 0.3 이하, 0.2 이하, 또는 0.1 이하이다. 몇 개의 태양에 있어서, 변이 Fc 영역의 FcγRIIb에 대한 결합량은, 예를 들면 0.5 이하, 0.3 이하, 0.2 이하, 0.1 이하, 0.05 이하, 0.03 이하, 0.02 이하, 0.01 이하, 0.005 이하, 0.003 이하, 0.002 이하, 또는 0.001 이하이다.

[0543] 특정한 태양에 있어서, 활성형 FcγR 수용체와 억제형 FcγR 수용체 사이의 선택성의 향상은, 억제형 FcγR 수용체에 대한 결합 활성에 비교한 경우의 활성형 FcγR 수용체에 대한 결합 활성의 선택적인 증강이고, 바꾸어 말하면, 억제형 FcγR 수용체에의 결합 활성에 대한 활성형 FcγR 수용체에의 결합 활성의 비율(A/I비)의 증대이다. 이와 같은 비율(A/I비)은, 우수한 이펙터 기능을 발휘하기 위한 지표이고, A/I비가 큰 폴리펩타이드는 우수한 이펙터 기능을 갖는다고 평가할 수 있다. 친Fc 영역 및 변이 Fc 영역의 FcγR 수용체에 대한 결합 활성은, KD값, kd값, 또는 단위량당의 Fc 영역의 FcγR 수용체에 대한 결합량으로 나타낼 수 있다. A/I비는, KD값, kd값, 또는 결합량을 이용하여, 각각 이하와 같이 나타낼 수 있다: [억제형 FcγR 수용체에 대한 KD값]/[활성형 FcγR 수용체에 대한 KD값], [억제형 FcγR 수용체에 대한 kd값]/[활성형 FcγR 수용체에 대한 kd값], 또는 [활성형 FcγR 수용체에 대한 결합량]/[억제형 FcγR 수용체에 대한 결합량].

[0544] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역의 A/I비는, 친Fc 영역에 비해, 1.1배 이상, 1.2배 이상, 1.3배 이상, 1.4배 이상, 1.5배 이상, 1.6배 이상, 1.7배 이상, 1.8배 이상, 1.9배 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 300배 이상, 400배 이상, 500배 이상, 600배 이상, 700배 이상, 800배 이상, 900배 이상, 1000배 이상, 2000배 이상, 3000배 이상, 4000배 이상, 5000배 이상, 6000배 이상, 7000배 이상, 8000배 이상, 9000배 이상, 또는 10000배 이상, 증대되어 있다. 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역의 A/I비의 값은, 10 이상, 20 이상, 30 이상, 40 이상, 50 이상, 60 이상, 70 이상, 80 이상, 90 이상, 100 이상, 200 이상, 300 이상, 400 이상, 500 이상, 600 이상, 700 이상, 800 이상, 900 이상, 1000 이상, 2000 이상, 3000 이상, 4000 이상, 5000 이상, 6000 이상, 7000 이상, 8000 이상, 9000 이상, 10000 이상, 11000 이상, 12000 이상, 13000 이상, 14000 이상, 또는 15000 이상이다. 일 태양에 있어서, A/I비는, FcγRIIb에의 결합 활성에 대한 FcγRIa에의 결합 활성의 비율, FcγRIIb에의 결합 활성

에 대한 FcγRIIa에의 결합 활성의 비율, FcγRIIb에의 결합 활성에 대한 FcγRIIIa에의 결합 활성의 비율, 또는 FcγRIIb에의 결합 활성에 대한 [FcγRIa에 대한 결합 활성, FcγRIIa에 대한 결합 활성, 및 FcγRIIIa에 대한 결합 활성 중의 2개 혹은 3개의 합계 혹은 평균값]의 비율이다. 특정한 태양에 있어서, FcγRIIa는, FcγRIIa R, FcγRIIa H, 또는 그 양쪽이며, 따라서, FcγRIIa에 대한 결합 활성은, FcγRIIa R에 대한 결합 활성, FcγRIIa H에 대한 결합 활성, 또는 그 양쪽의 합계 혹은 평균값이다. 특정한 태양에 있어서, FcγRIIIa는, FcγRIIIa F, FcγRIIIa V, 또는 그 양쪽이며, 따라서, FcγRIIIa에 대한 결합 활성은, FcγRIIIa F에 대한 결합 활성, FcγRIIIa V에 대한 결합 활성, 또는 그 양쪽의 합계 혹은 평균값이다.

[0545] 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다:

[0546] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 및 298, 및

[0547] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 및 334.

[0548] 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 326에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 332에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 330에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 332에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 330에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 혹은, 국제 공개 WO2013/002362나 WO2014/104165에 기재된 아미노산 개변도 본 발명에 있어서 마찬가지로 이용될 수 있다.

[0549] 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다:

[0550] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 330, 및

[0551] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 330, 및 334.

[0552] 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 326에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 332에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 332에 있어서의 아미노산 개변을 추가로 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 혹은, 국제 공개 WO2013/002362나 WO2014/104165에 기재된 아미노산 개변도 본 발명에 있어서 마찬가지로 이용될 수 있다.

[0553] 특정한 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역에 비해 안정성이 향상되어 있다. 특정한 태양에 있어서, 안정성은 열역학적인 안정성이다. 폴리펩타이드의 열역학적인 안정성은, 예를 들면 Tm값 등을 지표로 해서 판단할 수 있다. Tm값은, 예를 들면 CD(원이색성)나 DSC(시차 주사형 열량계), DSF(시차 주사형 형광 정량법) 등의 당업자에게 공지된 수법을 이용하여 측정할 수 있다. 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역에 비해, CH2 영역의 Tm값이 0.1도 이상, 0.2도 이상, 0.3도 이상, 0.4도 이상, 0.5도 이상, 1도 이상, 2도 이상, 3도 이상, 4도 이상, 5도 이상, 10도 이상 상승되어 있다.

[0554] 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250 및 307로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 위치의 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함한다. 혹은, 국제 공개 WO2013/118858에 기재된 아미노산 개변도 본 발명에 있어서 마찬가지로 이용될 수 있다.

[0555] 특정한 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 서로 서열이 상이한 2본의 폴리펩타이드쇄로 구성되어 있다. 추가적인 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 제1 폴리펩타이드와 제2 폴리펩타이드 사이의 헤테로이량

화가 촉진되어 있다. 재조합의 방법을 이용하여 헤테로이량체 단백질을 제조하는 경우, 동일한 폴리펩타이드쇄가 회합하여 호모이량체를 형성하는 것보다도, 서로 상이한 펩타이드쇄가 우선적으로 회합하여 헤테로이량체를 형성하는 것이 바람직하다. 변이 Fc 영역의 헤테로이량화가 촉진되어 있는지 여부는, 예를 들면, 제조된 변이 Fc 영역 중에서 호모이량체와 헤테로이량체를 크로마토그래피 등의 수법에 의해 분리하고, 각각의 성분비를 구함으로써 판단할 수 있다.

[0556] 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349, 356, 366, 368, 407, 및 439로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 위치의 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함한다. 혹은, 국제 공개 WO2006/106905나 WO1996/027011에 기재된 아미노산 개변도 본 발명에 있어서 마찬가지로 이용될 수 있다.

[0557] 특정한 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 산성 pH하에서의 FcRn에 대한 결합 활성이 증강되어 있다. 몇 개의 태양에 있어서, 산성 pH는 pH 4.0~6.5를 의미한다. 추가적인 태양에 있어서, 산성 pH는, pH 4.0, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5.0, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6.0, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 및 6.5로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개이다. 특정한 태양에 있어서, 산성 pH는 pH 5.8이다.

[0558] 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 428, 434, 436, 438, 및 440으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 위치의 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함한다. 혹은, 국제 공개 WO2016/125495에 기재된 아미노산 개변도 본 발명에 있어서 마찬가지로 이용될 수 있다.

[0559] 일 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 326, 330, 332, 334, 349, 356, 366, 368, 407, 428, 434, 436, 438, 439, 및 440으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 위치의 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함한다.

[0560] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 326, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 및 298, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 다른 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 326, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 270, 298, 326, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다.

[0561] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 326, 330, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 330, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 330, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다.

[0562] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 326, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 및 307, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250, 270, 298, 307, 326, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 다른 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 및 326, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 250, 270, 298, 307, 326, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다.

[0563] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 326, 330, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 330, 및 332, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 270, 298, 326, 330, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다.

[0564] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 326, 330, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 330, 및 332, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 250, 270, 298, 307, 326, 330, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 다른 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 및 326, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 250, 270, 298, 307, 326, 330, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다.

[0565] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 326, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 326, 및 332 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236, 250, 270, 298, 307, 326, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다.

[0566] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 326, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 및 332 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250, 270, 298, 307, 326, 332, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다.

[0567] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 326, 330, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 250, 268, 270, 298, 307, 및 330, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 250, 270, 298, 307, 326, 330, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함한다.

[0568] 추가적인 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234에 있어서의 Tyr, 혹은 Phe, 위치 235에 있어서의 Gln, 혹은 Tyr, 위치 236에 있어서의 Trp, 위치 239에 있어서의 Met, 위치 250에 있어서의 Val, 위치 268에 있어서의 Asp, 위치 270에 있어서의 Glu, 위치 298에 있어서의 Ala, 위치 307에 있어서의 Pro, 위치 326에 있어서의 Asp, 위치 330에 있어서의 Met, 위치 332에 있어서의 Glu, 및 (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 236에 있어서의 Ala, 위치 250에 있어서의 Val, 위치 270에 있어서의 Glu, 위치 298에 있어서의 Ala, 위치 307에 있어서의 Pro, 위치 326에 있어서의 Asp, 위치 330에 있어서의 Met, 혹은 Lys, 위치 332에 있어서의 Asp, 혹은 Glu, 위치 334에 있어서의 Glu로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 아미노산 개변을 포함한다.

[0569] 추가적인 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 이하의 (a)~(f)의 어느 아미노산 개변을 추가로 포함한다:

[0570] (a) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Lys, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 439에 있어서의 Glu,

[0571] (b) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 439에 있어서의 Glu, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Lys,

[0572] (c) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Trp, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val,

[0573] (d) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 366에 있어서의 Trp,

[0574] (e) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349에 있어서의 Cys 및 위치 366

에 있어서의 Trp, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Cys, 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val,

[0575] (f) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 356에 있어서의 Cys, 위치 366에 있어서의 Ser, 위치 368에 있어서의 Ala, 및 위치 407에 있어서의 Val, 및 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 349에 있어서의 Cys 및 위치 366에 있어서의 Trp.

[0576] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역은, 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드 및/또는 제2 폴리펩타이드에 있어서의, 이하의 (a)~(d)의 어느 아미노산 개변을 추가로 포함한다:

[0577] (a) EU 넘버링으로 표시되는 위치 434에 있어서의 Ala,

[0578] (b) EU 넘버링으로 표시되는 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 436에 있어서의 Thr, 위치 438에 있어서의 Arg, 위치 440에 있어서의 Glu,

[0579] (c) EU 넘버링으로 표시되는 위치 428에 있어서의 Leu, 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 436에 있어서의 Thr, 위치 438에 있어서의 Arg, 위치 440에 있어서의 Glu,

[0580] (d) EU 넘버링으로 표시되는 위치 428에 있어서의 Leu, 위치 434에 있어서의 Ala, 위치 438에 있어서의 Arg, 위치 440에 있어서의 Glu.

[0581] 특정한 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드는, 항체의 중쇄 정상 영역이다.

[0582] 추가적인 태양에 있어서, 본 발명은, 서열 번호: 280, 281, 283~305, 308, 309, 311~333 중 어느 1개의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩타이드를 제공한다.

[0583] 추가적인 태양에 있어서, 본 발명은, 서열 번호: 308의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 309의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 311의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 312의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 313의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 314의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 315의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 316의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 317의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 318의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 319의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 320의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 321의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 322의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 323의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 324의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 325의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 326의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 327의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 328의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 330의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 331의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 332의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 333의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 343의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 344의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 345의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 347의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 346의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 348의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역, 서열 번호: 350의 폴리펩타이드쇄 및 서열 번호: 351의 폴리펩타이드쇄를 포함하는 중쇄 정상 영역을 제공한다.

[0584] 「Fcγ 수용체」(본 명세서에 있어서, Fcγ 수용체, FcγR, 또는 FcgR이라고 칭한다)란, IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4 모노클로날 항체의 Fc 영역에 결합할 수 있는 수용체를 가리키고, Fcγ 수용체 유전자에 코드되는 단백질 패밀리의 임의의 멤버를 사실상 의미한다. 인간에서는, 이 패밀리에게는, 아이소폼 FcγRIa, FcγRIb, 및 FcγRIc를 포함하는 FcγRI(CD64); 아이소폼 FcγRIIa(알로타입 H131(H형)과 R131(R형)을 포함한다), FcγRIIb(FcγRIIb-1과 FcγRIIb-2를 포함한다), 및 FcγRIIc를 포함하는 FcγRII(CD32); 및, 아이소폼 FcγRIIIa(알로타입 V158과 F158을 포함한다) 및 FcγRIIIb(알로타입 FcγRIIIb-NA1과 FcγRIIIb-NA2를 포함한다)를 포함하는 FcγRIII(CD16), 추가로, 미발견된 모든 인간 FcγR, FcγR 아이소폼 또는 알로타입이 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. FcγRIIb1 및 FcγRIIb2는, 인간 FcγRIIb의 스플라이싱 변이체로서 보고되어 있다. 게다가, FcγRIIb3이라고 칭하는 스플라이싱 변이체가 보고되어 있다(J Exp Med, 1989, 170: 1369-1385). 이들 스플라이싱 변이체에 더하여, 인간 FcγRIIb는, NCBI에 등록된 모든 스플라이싱 변이체, NP_001002273.1, NP_001002274.1, NP_001002275.1, NP_001177757.1, 및 NP_003992.3을 포함한다. 더욱이, 인간 FcγRIIb는, FcγRIIb에 더하여, 과거에 보고된 모든 유전적 다형(Arthritis Rheum. 48: 3242-3252(2003); Kono et al., Hum. Mol. Genet. 14: 2881-2892(2005); 및 Kyogoju et al., Arthritis Rheum. 46: 1242-1254(2002))과, 장래 보고될 것인 모든 유전적 다형을 포함한다.

[0585] FcγRIIa에는 2개의 알로타입이 존재하며, 한쪽은, FcγRIIa의 위치 131의 아미노산이 히스티딘이고(H형), 다른 쪽은, 위치 131의 아미노산이 아르기닌으로 치환되어 있다(R형)(Warrmerdam, J. Exp. Med. 172: 19-25(1990)).

[0586] FcγR은, 인간, 마우스, 래트, 토끼, 및 원숭이 유래의 FcγR을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니고, 임의의 생물체에서 유래해도 된다. 마우스 FcγR은, FcγRI(CD64), FcγRII(CD32), FcγRIII(CD16), 및 FcγRIII-2(CD16-2), 및 임의의 마우스 FcγR 또는 FcγR 아이소폼을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.

[0587] 인간 FcγRI의 아미노산 서열은 서열 번호: 131(NP_000557.1)에 기재되고; 인간 FcγRIIa의 아미노산 서열은 서열 번호: 132(AAH20823.1), 서열 번호: 142, 서열 번호: 143, 또는 서열 번호: 150에 기재되고; 인간 FcγRIIb의 아미노산 서열은 서열 번호: 151(AAI46679.1), 서열 번호: 169, 또는 서열 번호: 172에 기재되고; 인간 FcγRIIIa의 아미노산 서열은 서열 번호: 174(AAH33678.1), 서열 번호: 175, 서열 번호: 176, 또는 서열 번호: 177에 기재되고; 또한 인간 FcγRIIIb의 아미노산 서열은 서열 번호: 178(AAI28563.1)에 기재되어 있다.

[0588] 면역글로불린 슈퍼패밀리에 속하는 Fcγ 리셉터와 달리, 인간 FcRn은 주요 조직 적합성 복합체(MHC) 클래스 I의 폴리펩타이드에 구조적으로 유사하고, 클래스 I의 MHC 분자와 22~29%의 서열 동일성을 갖는다(Ghetie 등, Immunol. Today (1997) 18(12), 592-598). FcRn은, 가용성 β쇄 또는 경쇄(β2 마이크로글로불린)와 복합체화된 막 관통 α쇄 또는 중쇄로 이루어지는 헤테로다이머로서 발현된다. MHC와 같이, FcRn의 α쇄는 3개의 세포외 도메인(α1, α2, α3)으로 이루어지고, 짧은 세포질 도메인은 단백질을 세포 표면에 계류한다. α1 및 α2 도메인이 항체의 Fc 영역 중의 FcRn 결합 도메인과 상호작용한다(Raghavan 등(Immunity (1994) 1, 303-315). 인간 FcRn의 아미노산 서열은 서열 번호: 179(NP_004098.1)에, β2 마이크로글로불린의 아미노산 서열은 서열 번호: 180(NP_004039.1)에 기재되어 있다.

[0589] 본 명세서에서 이용되는 「친Fc 영역」이란, 본 명세서에 기재된 아미노산 개변의 도입 전의 Fc 영역을 가리킨다. 몇 개의 태양에 있어서, 친Fc 영역은, 천연형 서열의 Fc 영역(혹은 천연형 항체의 Fc 영역)이다. 항체는, 예를 들면, IgA(IgA1, IgA2), IgD, IgE, IgG(IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), 및 IgM 등을 포함한다. 항체는, 인간 또는 원숭이(예를 들면, 필리핀원숭이, 히말라야원숭이, 마모셋, 침팬지, 또는 개코원숭이)에서 유래할 수 있다. 천연형 항체는, 천연으로 존재하는 변이를 포함하고 있어도 된다. 유전자 다형에 의한 IgG의 복수의 알로타입 서열이, 「Sequences of proteins of immunological interest」, NIH Publication No. 91-3242에 기재되어 있지만, 그 어느 것이나, 본 발명에 있어서 사용될 수 있다. 특히, 인간 IgG1에 대해서는, 위치 356~358(EU 넘버링)의 아미노산 서열은 DEL 또는 EEM의 어느 것일 수 있다. 또한, 인간 IgG1에 대해서는, 위치 214(EU 넘버링)의 아미노산은 K 또는 R의 어느 것일 수 있다. 특정한 태양에 있어서, 친Fc 영역은, 인간 IgG1(서열 번호: 249), 인간 IgG2(서열 번호: 250), 인간 IgG3(서열 번호: 251), 또는 인간 IgG4(서열 번호: 252)의 중쇄 정상 영역에서 유래하는 Fc 영역이다. 다른 태양에 있어서, 친Fc 영역은, 서열 번호: 82, 서열 번호: 158, 또는 서열 번호: 334의 중쇄 정상 영역에서 유래하는 Fc 영역이다. 추가적인 태양에 있어서, 친Fc 영역은, 본 명세서에 기재되는 아미노산 개변 이외의 아미노산 개변을 천연형 서열의 Fc 영역에 가하는 것에 의해 제작되는 Fc 영역(참조 변이체 서열의 Fc 영역)이어도 된다. 천연형 서열의 Fc 영역은, 통상, 2본의 동일한 폴리펩타이드쇄로 이루어지는 호모이량체로서 구성된다.

[0590] 더욱이, 다른 목적을 위해서 실시되는 아미노산 개변을, 본 명세서에 기재된 변이 Fc 영역에 있어서 조합할 수 있다. 예를 들면, FcRn 결합 활성을 증강시키는 아미노산 치환(Hinton et al., J. Immunol. 176(1): 346-356 (2006); Dall'Acqua et al., J. Biol. Chem. 281(33): 23514-23524 (2006); Petkova et al., Intl. Immunol. 18(12): 1759-1769 (2006); Zalevsky et al., Nat. Biotechnol. 28(2): 157-159 (2010); WO2006/019447; WO2006/053301; 및 WO2009/086320), 및 항체의 헤테로지니어티 또는 안정성을 개선하기 위한 아미노산 치환(WO2009/041613)을 가해도 된다. 혹은, WO2011/122011, WO2012/132067, WO2013/046704, 또는 WO2013/180201에 기재되는 항원 클리어런스를 촉진하는 특성을 갖는 폴리펩타이드, WO2013/180200에 기재되는 표적 조직에의 특이적 결합 특성을 갖는 폴리펩타이드, WO2009/125825, WO2012/073992, 또는 WO2013/047752에 기재되는 복수의 항원 분자에 대해서 반복해서 결합하는 특성을 갖는 폴리펩타이드를, 본 명세서에 기재된 변이 Fc 영역과 조합할 수 있다. 혹은, 다른 항원에 대한 결합능을 부여할 목적으로, EP1752471 및 EP1772465에 개시된 아미노산 개변을, 본 명세서에 기재된 변이 Fc 영역의 CH3에 있어서 조합해도 된다. 혹은, 혈장 중 체류성을 증대시킬 목적으로, 정상 영역의 pI를 저하시키는 아미노산 개변(WO2012/016227)을, 본 명세서에 기재된 변이 Fc 영역에 있어서 조합해도 된다. 혹은, 세포에의 도입을 촉진할 목적으로, 정상 영역의 pI를 상승시키는 아미노산 개변(WO2014/145159)을, 본 명세서에 기재된 변이 Fc 영역에 있어서 조합해도 된다. 혹은, 표적 분자의 혈장으로부터의 소실을 촉진할 목적으로, 정상 영역의 pI를 상승시키는 아미노산 개변(WO2016/125495)을, 본 명세서에 기재된 변이 Fc 영역에 있어서 조합해도 된다. 일 태양에 있어서, 그와 같은 개변은, 예를 들면, EU 넘버링으로

표시되는, 위치 311, 343, 384, 399, 400, 및 413으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 위치에서의 치환을 포함해도 된다. 추가적인 태양에 있어서, 그와 같은 치환은, 각 위치의 아미노산의 Lys 또는 Arg에 의한 치환일 수 있다.

[0591] 헤테로이량화 항체를 제작하기 위한 수법은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, knob-in-hole 기술(예를 들면, Nat. Biotechnol., (16);677-681 (1998)이나 미국 특허 제5,731,168호 참조)이나 정전 스티어링 효과(electrostatic steering effects)를 조작하는 것(WO2006/106905, WO2009/089004 A1, J. Biol. Chem., (285), 19637-19646 (2010) 등)에 의해 제작해도 된다.

[0592] 변이 Fc 영역을 포함하는 비(非)상동 폴리펩타이드의 결합에 관해서, WO2006/106905에 기재되는 바와 같은, Fc 영역의 CH2 또는 CH3 도메인의 계면에 정전 반발력을 도입하는 것에 의해 변이 Fc 영역을 포함하는 상동 폴리펩타이드의 의도하지 않는 결합을 억제하는 기술을 적용할 수 있다.

[0593] Fc 영역의 CH2 또는 CH3 도메인의 계면과 접촉하고 있는 아미노산 잔기의 예에는, CH3 도메인 중의 위치 356(EU 넘버링)의 잔기, 위치 439(EU 넘버링)의 잔기, 위치 357(EU 넘버링)의 잔기, 위치 370(EU 넘버링)의 잔기, 위치 399(EU 넘버링)의 잔기, 및 위치 409(EU 넘버링)의 잔기가 포함된다.

[0594] 보다 구체적으로는, 예를 들면, 이하에 나타내는 (1)~(3)으로부터 선택되는 1~3쌍의 아미노산 잔기가 동일한 전하를 갖는 Fc 영역을 제작할 수 있다: (1) CH3 도메인 중의 위치 356 및 439(EU 넘버링)의 아미노산 잔기; (2) CH3 도메인 중의 위치 357 및 370(EU 넘버링)의 아미노산 잔기; 및 (3) CH3 도메인 중의 위치 399 및 409(EU 넘버링)의 아미노산 잔기.

[0595] 더욱이, 전술한 (1)~(3)으로부터 선택되는 1~3쌍의 아미노산 잔기가 제1 Fc 영역의 CH3 도메인 중에서 동일한 전하를 갖고, 상기의 제1 Fc 영역에 있어서 선택된 아미노산 잔기의 해당 쌍이 제2 Fc 영역의 CH3 도메인 중에서 동일한 전하를 갖지만, 단 제1과 제2 Fc 영역의 전하는 정반대인, 변이 Fc 영역을 포함하는 비상동 폴리펩타이드를 제작할 수 있다.

[0596] 상기의 Fc 영역에 있어서, 예를 들면, 음전하를 갖는 아미노산 잔기는, 글루탐산(E) 및 아스파르트산(D)으로부터 바람직하게는 선택되고, 양전하를 갖는 아미노산 잔기는, 라이신(K), 아르기닌(R), 및 히스티딘(H)으로부터 바람직하게는 선택된다.

[0597] 변이 Fc 영역을 포함하는 비상동 폴리펩타이드의 결합을 위해서, 다른 공지된 기술을 추가로 사용할 수 있다. 구체적으로는, 그와 같은 기술은, 한쪽 Fc 영역에 존재하는 아미노산 측쇄를 보다 큰 측쇄(knob; 「돌기」의 뜻)로 치환하고, 또한 Fc 영역에 존재하는 아미노산 측쇄를 보다 작은 측쇄(hole; 「공극」의 뜻)로 치환하여, knob을 hole 내에 배치하는 것에 의해 실시된다. 이에 의해, 서로 상이한 아미노산 서열을 갖는 Fc 영역 함유 폴리펩타이드 사이의 효율적인 결합이 촉진된다(WO1996/027011; Ridgway et al., Prot. Eng. 9:617-621(1996); Merchant et al., Nat.Biotech. 16, 677-681(1998)).

[0598] 더욱이, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 비상동 결합을 위해서, 다른 공지된 기술을 사용할 수도 있다. Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 결합은, 쇄 교환 재조합 도메인 CH3 헤테로이량체를 이용하여, 효율적으로 유발할 수 있다(Davis et al., Prot. Eng. Des. & Sel., 23:195-202(2010)). 이 기술도 또한, 상이한 아미노산 서열을 갖는 Fc 영역 함유 폴리펩타이드 사이의 결합을 효율적으로 유발하기 위해서 사용할 수 있다.

[0599] 게다가, WO2011/028952에 기재되는, 항체 CH1과 CL의 결합 및 VH와 VL의 결합을 사용하는 헤테로이량화 항체 제작 기술도 사용할 수 있다.

[0600] WO2008/119353 및 WO2011/131746에 기재되는 방법과 마찬가지로, 미리 2종류의 호모이량화 항체를 제작하고, 해당 항체를 환원 조건하에서 인큐베이트해서 해리시키고, 그들을 재차 결합시키는 것에 의한, 헤테로이량화 항체 제작 기술을 사용하는 것도 가능하다.

[0601] 더욱이, WO2012/058768에 기재되는 방법과 마찬가지로, CH2 및 CH3 도메인에 개변을 가하는 것에 의한 헤테로이량화 항체 제작 기술을 사용하는 것도 가능하다.

[0602] 비상동 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제작하기 위해서, 상이한 아미노산 서열을 갖는 변이 Fc 영역을 포함하는 2개의 폴리펩타이드를 동시에 발현시키는 경우, 통상, 불순물로서의 상동 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드도 또한, 제작된다. 그와 같은 경우, 비상동 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를, 공지된 기술을 이용하여, 상동 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드로부터 분리 및 정제하는 것에 의해, 효율적으로 입수할 수 있다. 호모이량화 항체와 헤테로이량화 항체 사이에서 등전점에 차이를 일으키는 아미노산 개변을 해당

2종류의 항체 중쇄의 가변 영역에 도입하는 것에 의해, 이온 교환 크로마토그래피를 이용하여 호모이량화 항체로부터 헤테로이량화 항체를 효율적으로 분리 및 정제하기 위한 방법이 보고되어 있다(WO2007/114325). 프로테인 A에 결합하는 마우스 IgG2a 및 프로테인 A에 결합하지 않는 래트 IgG2b에서 유래하는 2종류의 중쇄를 포함하는 헤테로이량화 항체를 구축하는 것에 의해, 프로테인 A 크로마토그래피를 이용하여 헤테로이량화 항체를 정제하기 위한 다른 방법이 보고되어 있다(WO1998/050431 및 WO1995/033844).

[0603] 더욱이, 상이한 프로테인 A 결합 어피니티를 초래하도록, 항체 중쇄의 프로테인 A 결합 부위에 위치하는 위치 435 및 436(EU 넘버링)의 아미노산 잔기를 Tyr 또는 His 등의 아미노산으로 치환하는 것에 의해, 프로테인 A 크로마토그래피를 이용하여 헤테로이량화 항체를 효율적으로 정제할 수 있다.

[0604] 본 발명에 있어서, 아미노산 개변이란, 임의의 치환, 결실, 부가, 삽입, 및 수식, 또는 그들의 조합을 의미한다. 본 발명에 있어서, 아미노산 개변은, 아미노산 변이라고 바꾸어 말할 수 있다.

[0605] Fc 영역에 도입되는 아미노산 개변의 수는 한정되지 않는다. 특정한 태양에 있어서, 1, 2 이하, 3 이하, 4 이하, 5 이하, 6 이하, 8 이하, 10 이하, 12 이하, 14 이하, 16 이하, 18 이하, 20 이하, 22 이하, 24 이하, 26 이하, 28 이하, 또는 30 이하일 수 있다.

[0606] 일 국면에 있어서, 본 발명은, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제조하는 방법을 제공한다. 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은, 기능이 개변된 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제조하는 방법을 제공한다. 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은, Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 기능을 개변하는 방법을 제공한다. 몇 개의 국면에 있어서, 폴리펩타이드는 항체이다. 몇 개의 국면에 있어서, 폴리펩타이드는 Fc 융합 단백질이다. 특정한 태양에 있어서, 그들 방법은, 친Fc 영역에 적어도 1개의 아미노산 개변을 도입하는 공정을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 그들 방법은, (i) 친Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제공하는 공정, 및 (ii) 친Fc 영역에 적어도 1개의 아미노산 개변을 도입하는 공정을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 그들 방법은, (iii) 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 기능을 측정하는 공정을 추가로 포함하고 있어도 된다. 천연형의 Fc 영역은 통상, 2본의 동일한 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되어 있다. 친Fc 영역에 대한 아미노산 개변은, 친Fc 영역의 2본의 폴리펩타이드쇄의 어느 한쪽에 도입되어도 되고, 2본의 폴리펩타이드쇄의 양쪽에 도입되어도 된다.

[0607] 다른 태양에 있어서, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제조하는 방법은, (i) 친Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 코드하는 1 이상의 핵산을 제공하는 공정, (ii) 당해 핵산의 친Fc 영역을 코드하는 영역에 적어도 1개의 변이를 도입하는 공정, (iii) (ii)에서 제작된 핵산을 숙주 세포에 도입하는 공정, 및 (iv) 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드가 발현하도록 (iii)에 기재된 세포를 배양하는 공정을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 상기의 방법은, (v) (iv)에 기재된 숙주 세포 배양물로부터 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 회수하는 공정을 추가로 포함하고 있어도 된다.

[0608] 특정한 태양에 있어서, (ii)에서 제작된 핵산은 1 이상의 벡터(예를 들면, 발현 벡터 등)에 포함되어 있어도 된다.

[0609] 몇 개의 태양에 있어서, 본 제조 방법에 있어서 이용되는 아미노산 개변은, 전술한 변이 Fc 영역에 포함될 수 있는 아미노산 개변 중에서 선택되는 임의의 단일의 개변, 단일의 개변의 조합, 또는 표 39~표 44에 기재된 조합 개변으로부터 선택된다.

[0610] Fc 영역은, 펩신 등의 프로테아제를 이용하여, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 모노클로날 항체 등을 부분적으로 소화한 후에, 프로테인 A 칼럼에 흡착한 프랙션을 재차 용출하는 것에 의해, 얻어도 된다. 프로테아제는, 그것이 전장 항체를 소화할 수 있고, 그에 의해 Fab 및 F(ab')2가, pH 등의 효소 반응 조건을 적절히 설정하는 것에 의해 제한적인 양식에서 산생되는 한, 특별히 한정되지 않고, 예로서 펩신 및 파파인이 포함된다.

[0611] 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드는, 전술한 제조 방법 이외에도, 당해 기술 분야에서 공지된 다른 방법에 의해 제조되어도 된다. 본 명세서에 기재된 제조 방법에 의해 제조된 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드도, 본 발명에 포함된다.

[0612] 일 태양에 있어서, 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 코드하는, 단리된 핵산이 제공된다. 그와 같은 핵산은, 변이 Fc 영역의 제1 폴리펩타이드를 포함하는 아미노산 서열 및/또는 제2 폴리펩타이드를 포함하는 아미노산 서열을 코드해도 된다. 추가적인 태양에 있어서, 이와 같은 핵산을 포함하는 1개 또는 복수의 벡터(예를 들면, 발현 벡터)가 제공된다. 추가적인 태양에 있어서, 이와 같은 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 이와 같은 태양의 하나에서는, 숙주 세포는, (1) 변이 Fc 영역의 제1 폴리펩타이드를 포함하는 아미노산 서열 및 변이 Fc 영역의 제2 폴리펩타이드를 포함하는 아미노산 서열을 코드하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는,

(2) 변이 Fc 영역의 제1 폴리펩타이드를 포함하는 아미노산 서열을 코드하는 핵산을 포함하는 제1 벡터와 변이 Fc 영역의 제2 폴리펩타이드를 포함하는 아미노산 서열을 코드하는 핵산을 포함하는 제2 벡터를 포함한다(예를 들면, 형질 전환되어 있다). 일 태양에 있어서, 숙주 세포는, 진핵성이다(예를 들면, 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포) 또는 림프액계의 세포(예를 들면, Y0, NS0, Sp2/0 세포). 일 태양에 있어서, 폴리펩타이드의 발현에 적합한 조건하에서, 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 코드하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 배양하는 것, 및 임의로, 당해 폴리펩타이드를 숙주 세포(또는 숙주 세포 배양 배지)로부터 회수하는 것을 포함하는, 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제조하는 방법이 제공된다.

[0613] 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 재조합 제조를 위해서, 당해 폴리펩타이드를 코드하는 핵산을 단리하고, 추가적인 클로닝 및/또는 숙주 세포 중에서의 발현을 위해서, 1개 또는 복수의 벡터에 삽입한다. 그와 같은 핵산은, 종래의 수순을 이용하여 용이하게 단리 및 서열 결정될 것이다(예를 들면, 항체의 Fc 영역을 코드하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써).

[0614] 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 코드하는 벡터의 클로닝 또는 발현에 적합한 숙주 세포는, 원핵 세포 또는 진핵 세포를 포함한다.

[0615] 원핵생물에 더하여, 부분적인 또는 완전한 인간의 글라이코실화 패턴을 수반하는 항체의 Fc 영역의 산생을 초래하는, 글라이코실화 경로가 「인간화」되어 있는 균류 및 효모의 주를 포함하는, 사상균 또는 효모 등의 진핵성의 미생물은, 본 발명의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 코드하는 벡터의 적합한 클로닝 또는 발현 숙주이다. Gerngross, Nat. Biotech. 22: 1409-1414 (2004) 및 Li et al., Nat. Biotech. 24: 210-215 (2006)을 참조할 것.

[0616] 다세포 생물(무척추 생물 및 척추 생물)에서 유래하는 것도 또한, 글라이코실화된 항체의 Fc 영역의 발현을 위해서 적합한 숙주 세포이다. 무척추 생물 세포의 예는, 식물 및 곤충 세포를 포함한다. 곤충 세포와의 접합, 특히 Spodoptera frugiperda 세포의 형질 전환에 이용되는, 수많은 바큘로바이러스주가 동정되어 있다.

[0617] 식물 세포 배양물도, 숙주로서 이용할 수 있다. 예를 들면, 미국 특허 제5,959,177호, 제6,040,498호, 제6,420,548호, 제7,125,978호, 및 제6,417,429호를 참조할 것.

[0618] 척추동물 세포도 또한 숙주로서 사용할 수 있다. 예를 들면, 부유 상태에서 증식하도록 적응된 포유동물 세포주는, 유용할 것이다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 다른 예는, SV40으로 형질 전환된 원숭이 신 CV1주(COS-7); 인간 태아성 신주(Graham et al., J. Gen Virol. 36: 59 (1977) 등에 기재된 293 또는 293 세포); 새끼 햄스터 신세포(BHK); 마우스 서톨리 세포(Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251 (1980) 등에 기재된 TM4 세포); 원숭이 신세포(CV1); 아프리카 녹색 원숭이 신세포(VERO-76); 인간 자궁경부암 세포(HELA); 개 신세포(MDCK); Buffalo계 래트 간세포(BRL 3A); 인간 폐세포(W138); 인간 간세포(Hep G2); 마우스 유방암(MMT 060562); TRI 세포(예를 들면, Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383: 44-68 (1982)에 기재); MRC5 세포; 및, FS4 세포 등이다. 다른 유용한 포유동물 숙주 세포주는, DHFR-CHO 세포(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980))를 포함하는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포; 및 Y0, NS0, 및 Sp2/0 등의 골수종 세포주를 포함한다.

[0619] 본 명세서에서 제공되는 변이 Fc 영역을 동정 혹은 스크리닝할 목적으로, 혹은 그의 물리적 혹은 화학적 특성, 또는 생물학적 활성을 분명히 할 목적으로, 본 명세서에 기재된 측정법 또는 당해 기술 분야에서 공지된 여러 가지 측정법을 이용해도 된다.

[0620] 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의, 1개 또는 복수의 FcR 패밀리 멤버에 대한 결합 활성을 결정하기 위한 측정법이, 본 명세서에 기재되어 있거나, 혹은 당해 기술 분야에 있어서 알려져 있다. 그와 같은 결합 측정법은, 이하로 한정되지 않지만, 표면 플라즈몬 공명 어세이, 증폭 루미네선스 근접 호모지니어스 어세이(ALPHA) 스크리닝, ELISA, 및 형광 활성화 세포 선별(FACS) 등을 포함한다(Lazar et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2006) 103(11): 4005-4010).

[0621] 일 태양에 있어서, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 FcR 패밀리 멤버에 대한 결합 활성을, 표면 플라즈몬 공명 어세이를 이용하여 측정할 수 있다. 예를 들면, 공지된 방법 및 시약(예를 들면 프로테인 A, 프로테인 L, 프로테인 A/G, 프로테인 G, 항λ쇄 항체, 항κ쇄 항체, 항원 펩타이드, 항원 단백질 등)을 이용하여 센서칩 상에 고정화 또는 포착된 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드에 대해서, 분석물로서 다양한 FcR을 상호작용시킨다. 혹은, FcR을 센서칩 상에 고정화 또는 포착하고, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 분석물로서 사용해도 된다. 그와 같은 상호작용의 결과, 결합의 센서그램이 취득되고, 그들을 분석하는 것에 의해, 당해 결

합의 해리 상수(KD)값을 산출할 수 있다. 또한, FcR과의 상호작용에 제공하기 전과 후에서의, 센서그램에 있어서의 레저넌스 유닛(RU)값의 차(즉, FcR의 결합량)를, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 당해 FcR에 대한 결합 활성의 지표로 할 수도 있다. 더욱이, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드가 센서칩 상에 고정화 또는 포착되기 전과 후에서의, 센서그램에 있어서의 RU값의 차(즉, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 결합량)로 상기의 FcR의 결합량을 제산하여 얻어진 보정값(즉, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 단위량당의 FcR의 결합량)을 결합 활성의 지표로 해도 된다.

[0622] 본 명세서에서 제공되는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드 모두, 치료적인 방법에 있어서 사용되어도 된다.

[0623] 일 국면에 있어서, 의약품으로서의 사용을 위한, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드가 제공된다. 추가적인 국면에 있어서, 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 치료 방법에 있어서의 사용을 위한, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드가 제공된다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명은, 종양을 갖는 개체를 치료하는 방법으로서, 당해 개체에 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제공한다. 이와 같은 태양의 하나에 있어서, 방법은, 당해 개체에 적어도 1개의 추가 치료제의 유효량을 투여하는 공정을, 추가로 포함한다. 추가적인 태양에 있어서, 본 발명은, 세포의 상해에 있어서의 사용을 위한, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제공한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명은, 개체에 있어서 세포를 상해하는 방법으로서, 세포를 상해하기 위해서 당해 개체에 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한, 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 제공한다. 상기 태양의 임의의 것에 의한 「개체」는, 적합하게는 인간이다.

[0624] 몇 개의 태양에 있어서, 종양은 고형 종양이다. 고형 종양에 있어서는, 통상, 종양 세포가 증식하여 집단이 되고, 그들이 주체가 되어 종양 조직이 형성된다. 또한, 생체 내의 종양 조직에는, 많은 경우, 림프구 등의 면역 세포가 침윤하고 있고, 그들도 또한 종양 조직의 일부를 구성하고 있다. 일 태양에 있어서, 세포에의 상해는 ADCC 활성, CDC 활성, 또는 ADCP 활성에 의해 야기된다.

[0625] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은 의약품의 제조 또는 조제에 있어서의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 사용을 제공한다. 일 태양에 있어서, 의약품은, 종양의 치료를 위한 것이다. 추가적인 태양에 있어서, 의약품은, 종양을 치료하는 방법으로서, 종양을 갖는 개체에 의약품의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한 것이다. 이와 같은 태양의 하나에 있어서, 방법은, 당해 개체에 적어도 1개의 추가 치료제의 유효량을 투여하는 공정을, 추가로 포함한다. 추가적인 태양에 있어서, 의약품은, 세포의 상해를 위한 것이다. 추가적인 태양에 있어서, 의약품은, 개체에 있어서 세포를 상해하는 방법으로서, 세포를 상해하기 위해서 당해 개체에 의약품의 유효량을 투여하는 공정을 포함하는 방법에 있어서의 사용을 위한 것이다. 상기 태양의 임의의 것에 의한 「개체」는, 인간이어도 된다.

[0626] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은 종양을 치료하는 방법을 제공한다. 일 태양에 있어서, 방법은, 그와 같은 종양을 갖는 개체에 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 유효량을 투여하는 공정을 포함한다. 그와 같은 태양의 하나에 있어서, 방법은, 당해 개체에 적어도 1개의 추가 치료제의 유효량을 투여하는 공정을, 추가로 포함한다. 상기 태양의 임의의 것에 의한 「개체」는, 인간이어도 된다.

[0627] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은 개체에 있어서 세포를 상해하기 위한 방법을 제공한다. 일 태양에 있어서, 방법은, 세포를 상해하기 위해서 개체에 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 유효량을 투여하는 공정을 포함한다. 일 태양에 있어서, 「개체」는, 인간이다.

[0628] 추가적인 국면에 있어서, 본 발명은, 본 명세서에서 제공되는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드를 포함하는, 약학적 제제(의약 조성물)를 제공한다. 일 태양에 있어서, 상기의 약학적 제제(의약 조성물)는, 약학적으로 허용되는 담체를 추가로 포함한다. 일 태양에 있어서, 본 발명은, 종양의 치료에 있어서의 사용을 위한 약학적 제제(의약 조성물)를 제공한다. 일 태양에 있어서, 본 발명은, 세포의 상해에 있어서의 사용을 위한 약학적 제제(의약 조성물)를 제공한다. 다른 태양에 있어서, 약학적 제제(의약 조성물)는, 본 명세서에서 제공되는 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드와, 적어도 1개의 추가 치료제를 포함한다.

[0629] <변이 Fc 영역을 포함하는 항CTLA-4 항체>

[0630] 일 국면에 있어서, 본 발명은, 변이 Fc 영역을 포함하고, CTLA-4에 결합하는, 단리된 항체를 제공한다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 아데노신 함유 화합물의 농도에 의존한 CTLA-4 결합 활성을 갖는

가변 영역을 포함한다. 몇 개의 태양에 있어서, 본 발명의 항CTLA-4 항체는, 친Fc 영역에 있어서 복수의 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역이고, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 326, 330, 및 334에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역을 포함한다. 특정한 태양에 있어서, 본 발명은,

[0631] (A) 아데노신 함유 화합물의 농도에 의존한 CTLA-4 결합 활성을 갖는 가변 영역, 및

[0632] (B) 친Fc 영역에 있어서 복수의 아미노산 개변을 포함하는 변이 Fc 영역

[0633] 을 포함하는 항CTLA-4 항체로서, 친Fc 영역이 2본의 폴리펩타이드쇄에 의해 구성되고, 또한 변이 Fc 영역이, 이하의 위치에 있어서의 아미노산 개변을 포함하는, 항CTLA-4 항체:

[0634] (i) 친Fc 영역의 제1 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 234, 235, 236, 239, 268, 270, 298, 및 330, 및

[0635] (ii) 친Fc 영역의 제2 폴리펩타이드에 있어서의, EU 넘버링으로 표시되는 위치 270, 298, 326, 330, 및 334

[0636] 를 제공한다.

[0637] 일 태양에 있어서, 본 발명은, 서열 번호: 352의 제1 H쇄 폴리펩타이드, 서열 번호: 353의 제2 H쇄 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 161의 L쇄 폴리펩타이드를 포함하는, 항CTLA-4 항체를 제공한다. 일 태양에 있어서, 본 발명은, 서열 번호: 335의 제1 H쇄 폴리펩타이드, 서열 번호: 336의 제2 H쇄 폴리펩타이드, 및 서열 번호: 161의 L쇄 폴리펩타이드를 포함하는, 항CTLA-4 항체를 제공한다.

[0638] **실시예**

[0639] 이하는, 본 발명에 포함되는 태양을 예시적으로 나타내는 실시예이다. 전술한 일반적인 기재에 비추어, 여러 가지 다른 태양이 실시될 수 있는 것이, 이해될 것이다.

[0640] 〔실시예 0〕 암 미소환경하에서만 제어성 T 세포의 세포 표면 마커에 대한 항체 의존적 세포상해 활성을 발휘하는 스위치 항체의 콘셉트

[0641] 이필리무맙은 이펙터 T 세포 표면에 발현하는 CTLA4에 의한 이펙터 T 세포의 활성화 억제를 저해함으로써 항종양 효과가 발휘되고 있다고 생각되고 있었지만, 최근, CTLA4 발현 T 세포에 대한 항체 의존적 세포상해 활성(ADCC 활성)도 중요하다는 것이 보고되어, 종양 중의 제어성 T 세포의 제거와 ADCC 활성이 항CTLA4 항체의 항종양 효과의 중요한 작용 기서인 것이 발견되었다.

[0642] 또한, IgG1 항체에 의한 ADCC 활성은 항체의 정상 영역이 NK 세포나 매크로파지의 FcγR과 결합함으로써 세포상해 활성이 유도되고, 그 결합을 증강하는 개변을 가한 정상 영역을 갖는 항체는, 보다 강한 세포상해 활성을 유도하여, 항종양 효과를 발휘하는 것도 알려져 있다.

[0643] 한편으로, 전신에 있어서의 제어성 T 세포를 제거함으로써, 자기면역 질환양(様)의 전신 반응을 야기하는 것도 보고되어 있어, 항종양 효과를 발휘하기 위한 세포장애 활성과 전신 반응의 제어 밸런스가 매우 중요하다고 생각된다.

[0644] 즉 암 미소환경에 있어서 제어성 T 세포 혹은 피폐 T 세포에 강력하게 결합하여, 세포상해 활성에 의해 제어성 T 세포 혹은 피폐 T 세포를 제거함으로써 강한 항종양 효과를 발휘할 수 있고, 또한 그 반응을 암 미소환경하만으로 제한하는 것이 가능해지면, 보다 강한 세포상해 활성을 발휘하여, 전신 반응을 억제할 수 있을 것이 기대된다. 이와 같은 작용 기서의 항체는 지금까지 보고가 없다. 그래서 우리는 실제로 CTLA4에 대한 종양 국소에서만 작용하는 항체(CTLA4 스위치 항체)이고 또한, NK 세포 및 매크로파지 상에 발현하는 FcγR의 결합을 증강한 정상 영역을 갖는 항체를 제작하여 검증했다.

[0645] 〔실시예 1〕 각종 in vitro 시험에 이용된, 개변된 Fc 영역을 갖는 항인간 CTLA4 스위치 항체의 조제

[0646] 참고 실시예 6 및 7에서 발견된 개변을 도입한 Fc 영역과, 참고 실시예 4에서 제작된 항CTLA4 스위치 항체의 가변 영역을 조합함으로써, 개변된 Fc 영역을 갖는 항CTLA4 스위치 항체(04H1654-KT498/04L1610-1am1//04H1656-HT518/04L1610-1am1약명: SW1610-ART12 및 04H1389-Kp473/04L1305-k0MT//04H1389-Hp451/04L1305-k0MT 약명 SW1389-ART5+ACT1)가 각종 제작되었다.

[0647] SW1610-ART12 항체는, 한쪽의 중쇄로서 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거되고, CH2 영역에 참고 실시예 7에 기재된 Kn498과 동일한 개변을 갖고, CH3 영역에 WO2006/106905에 기재된 헤테로이량화를 촉진

하는 개변 E356K를 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1654(서열 번호: 140)를 가지는 항체 중쇄 04H1654-KT498(서열 번호: 335)의 유전자가 제작되었다. 마찬가지로, 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거되고, CH2 영역에 참고 실시예 7에 기재된 H1518과 동일한 개변을 갖고, CH3 영역에 WO2006/106905에 기재된 헤테로이량화를 촉진하는 개변 K439E를 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1656(서열 번호: 141)을 가지는 항체 중쇄 04H1656-HT518(서열 번호: 336)의 유전자가 제작되었다. 또 경쇄로서 04L1610-lam1(서열 번호: 161)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0648] SW1389-ART5+ACT1 항체는, 한쪽의 중쇄로서 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거되고, CH2 영역에 참고 실시예 7에 기재된 Kn462와 동일한 개변을 갖고, CH3 영역에 헤테로이량화를 촉진하는 개변 S354C/T366W를 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1389(서열 번호: 29)를 가지는 항체 중쇄 04H1389-Kp462(서열 번호: 337)의 유전자가 제작되고, 추가로 Mabs, 2017, 9, 844-853에 기재되어 있는 항체의 혈중 동태를 개선하는 개변의 조합이 도입되었다. 구체적으로는 04H1389-Kp462의 CH3 영역에 대해서, 산성 조건하에 있어서 인간 FcRn에 대한 결합을 증강하는 개변 및 Rheumatoid factor에 대한 결합을 저감하는 개변의 조합인 N434A/Y436T/Q438R/S440E가 도입된 04H1389-Kp473(서열 번호: 338)의 유전자가 제작되었다. 마찬가지로, 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거되고, CH2 영역에 참고 실시예 7에 기재된 H1441과 동일한 개변을 갖고, CH3 영역에 헤테로이량화를 촉진하는 개변 Y349C/T366S/L368A/Y407V를 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1389(서열 번호: 29)를 가지는 항체 중쇄 04H1389-Hp441(서열 번호: 339)에도 마찬가지의 개변이 도입된, 04H1389-Hp451(서열 번호: 340)의 유전자가 제작되었다. 또 경쇄로서 04L1305-kOMT(서열 번호: 275)를 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0649] 또한 컨트롤 항체로서 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-kOMT 약명 Ipilimumab 및 생체 내의 IgG1을 모방한 IC17HdK-G1m/IC17L-k0 약명 KLH-G1m이 작성되었다. Ipilimumab은 중쇄로서 MDX10D1H-G1m(서열 번호: 210), 및 경쇄로서 MDX10D1L-kOMT(서열 번호: 211)를 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다. KLH-G1m은 중쇄로서 IC17HdK-G1m(서열 번호: 341), 및 경쇄로서 IC17L-k0(서열 번호: 342)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0650] 한편, 본 명세서에 있어서의 헤테로이량화 항체(2본의 상이한 중쇄 폴리펩타이드, 및/또는 2본의 상이한 경쇄 폴리펩타이드를 갖는, 항체)는, 이하의 규칙에 따라 명명되고 있다; (제1 중쇄 가변 영역)-(제1 중쇄 정상 영역)/(제1 경쇄 가변 영역)-(제1 경쇄 정상 영역)/(제2 중쇄 가변 영역)-(제2 중쇄 정상 영역)/(제2 경쇄 가변 영역)-(제2 경쇄 정상 영역). 예를 들면, 04H1654-KT456/04L1610-lam1//04H1656-HT446/04L1610-lam1이라는 항체명이면, 본 항체의 제1 중쇄 가변 영역은 04H1654, 제1 중쇄 정상 영역은 KT456, 제1 경쇄 가변 영역은 04L1610, 제1 경쇄 정상 영역은 lam1, 제2 중쇄 가변 영역은 04H1656, 제2 중쇄 정상 영역은 HT446, 제2 경쇄 가변 영역은 04L1610, 제2 경쇄 정상 영역은 lam1인 것을 의미한다.

[0651] 여기에서 이용되는 각 중쇄 정상 영역의 명칭과 서열 번호의 대응은 이하와 같다: KT498(서열 번호: 343), HT518(서열 번호: 344), Kp462(서열 번호: 345), Kp473(서열 번호: 346), Hp441(서열 번호: 347), Hp451(서열 번호: 348), KT456(서열 번호: 350), HT446(서열 번호: 351)

[0652] SW1610-ART4 항체는, 한쪽의 중쇄로서 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거되고, CH2 영역에 참고 실시예 7에 기재된 Kn456과 동일한 개변을 갖고, CH3 영역에 WO2006/106905에 기재된 헤테로이량화를 촉진하는 개변 E356K를 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1654(서열 번호: 140)를 가지는 항체 중쇄 04H1654-KT456(서열 번호: 352)의 유전자가 제작되었다. 마찬가지로, 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거되고, CH2 영역에 참고 실시예 7에 기재된 H1446과 동일한 개변을 갖고, CH3 영역에 WO2006/106905에 기재된 헤테로이량화를 촉진하는 개변 K439E를 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1656(서열 번호: 141)을 가지는 항체 중쇄 04H1656-HT446(서열 번호: 353)의 유전자가 제작되었다. 또 경쇄로서 04L1610-lam1(서열 번호: 161)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0653] [실시예 2] 항CTLA4 스위치 항체의 각종 동계 종양주 이식 마우스 모델에 있어서의 in vivo 약효 평가

[0654] (2-1) 야생형 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(결장암 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체의 약효 평가

[0655] (2-1-1) 세포주 및 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0656] 마우스 결장암주 CT26 세포는 ATCC로부터 구입되어, 실험에 사용되었다. CT26 세포는 10% FBS(SIGMA), 1mM Sodium Pyruvate(GIBCO), 10mM HEPES(SIGMA), 및 0.45% D-glucose(SIGMA)를 포함하는 RPMI1640 배지(SIGMA)에

서 유지 계대되었다. 마우스는 일본 찰스 리버사로부터 구입한 BALB/c 마우스(7주령, ♀)를 이용했다.

[0657] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0658] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0659] (2-1-2) 투여 약제의 조제

[0660] 투여 약제로서, 참고 실시예 3-4에서 조제된 항마우스 CTLA4 컨트롤 항체(mNS-mFa55) 및 항CTLA4 스위치 항체(SW1208-mFa55)가 CT26 세포 이식 모델에 투여되었다. mNS-mFa55는 0.1mg/mL, 0.2mg/mL, 0.4mg/mL, 0.8mg/mL가 되도록, SW1208-mFa55는 3mg/mL가 되도록, 각각 His-buffer(20mM His-HCl, 150mM NaCl, pH 6.0)를 이용하여 조제되었다.

[0661] (2-1-3) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0662] 이식 후 8일째에, mNS-mFa55는 1mg/kg, 2mg/kg, 4mg/kg, 8mg/kg의 용량으로, SW1208-mFa55는 30mg/kg의 용량으로, 각각 마우스에 투여되었다. 조제된 투여액은, 20mL/kg의 용량으로, 미정맥 투여되었다.

[0663] 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세가 표 2에 나타났다.

표 2

[0664]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	4	Vehicle	-	미정맥	이식 후 8일 후
2	4	mNS-mFa55	1	미정맥	이식 후 8일 후
3	4	mNS-mFa55	2	미정맥	이식 후 8일 후
4	4	mNS-mFa55	4	미정맥	이식 후 8일 후
5	4	mNS-mFa55	8	미정맥	이식 후 8일 후
6	4	SW1208-mFa55	30	미정맥	이식 후 8일 후

[0665] (2-1-5) 항종양 효과의 평가

[0666] 항종양 효과에 대해서는, 실시예 2-1-1에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0667] 종양 증식 억제율(TGI: Tumor Growth Inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0668] TGI(%)=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시의 control군의 종양 체적의 평균값))×100

[0669] 그 결과, mNS-mFa55는 1, 2, 4, 8mg/kg, SW1208-mFa55 30mg/kg의 dose에 있어서, 투여 후 13일째에 TGI=50% 이상의 약효가 나타났다(도 1).

[0670] (2-2) 야생형 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(방광암 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체의 약효 평가

[0671] (2-2-1) 세포주 및 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0672] 마우스 방광암주 MBT2 세포는 JCRB 세포 뱅크로부터 구입되어, 실험에 사용되었다. MBT2 세포는 10% FBS(SIGMA)를 포함하는 E-MEM 배지(SIGMA)에서 유지 계대되었다. 마우스는 일본 찰스 리버사로부터 구입된 C3H/HeN(7주령, ♀)을 이용했다.

[0673] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0674] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0675] (2-2-2) 투여 약제의 조제

[0676] 투여 약제로서, 참고 실시예 3-4에서 조제된 항마우스 CTLA4 컨트롤 항체(mNS-mFa55) 및 항CTLA4 스위치 항체(SW1208-mFa55)가 MBT2 세포 이식 모델에 투여되었다. mNS-mFa55는 0.1mg/mL가 되도록, SW1208-mFa55는 3mg/mL

가 되도록, 각각 His-buffer(20mM His-HCl, 150mM NaCl, pH 6.0)를 이용하여 조제되었다.

[0677] (2-2-3) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0678] 이식 후 8일째에, mNS-mFa55는 1mg/kg의 용량으로, SW1208-mFa55는 30mg/kg의 용량으로, 각각 마우스에 투여되었다. 조제된 투여액은, 20mL/kg의 용량으로, 미정맥 투여되었다.

[0679] 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세가 표 3에 나타났다.

표 3

[0680]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	4	Vehicle	-	미정맥	이식 후 8일 후
2	4	mNS-mFa55	1	미정맥	이식 후 8일 후
3	4	SW1208-mFa55	30	미정맥	이식 후 8일 후

[0681] (2-2-4) 항종양 효과의 평가

[0682] 항종양 효과에 대해서는, 실시예 2-2-1에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0683] 종양 증식 억제율(TGI: Tumor Growth Inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0684] TGI(%)=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시의 control군의 종양 체적의 평균값))×100

[0685] 그 결과, mNS-mFa55 1mg/kg 및 SW1208-mFa55 30mg/kg의 dose에 있어서, 투여 후 9일째에서 TGI=51% 및 37%의 약효가 나타났다(도 2).

[0686] (2-3) Human CTLA4 knock-in, human CD3 transgenic 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(결장암 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체의 약효 평가

[0687] (2-3-1) 세포주

[0688] 마우스 결장암주 Colon 38 세포는 NCI(National Cancer Institute)로부터의 승낙에 기초하여, 공익재단법인 암연구회로부터 공여되어, 실험에 사용되었다. Colon 38 세포는 10% FBS(SIGMA)를 포함하는 RPMI-1640 배지(SIGMA)에서 유지 계대되었다.

[0689] (2-3-2) 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0690] Human CTLA4 knock-in 마우스(Blood (2005) 106(9): 3127-3133)와 사내에서 제작된 human CD3 EDG replaced mouse(Sci Rep (2017) 7: 45839)의 교잡 계통인, human CTLA4 KI, human CD3 EDG replaced 마우스(hCTLA4 KI hCD3 EDG replaced 마우스)(12주령, ♂)가 이용되었다.

[0691] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0692] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0693] (2-3-3) 투여 약제의 조제

[0694] 투여 약제로서, 참고 실시예 5-2에서 조제된 항CTLA4 스위치 항체(SW1610-mFa55, 1612-mFa55), 또는 참고 실시예 4-2에서 조제된 항인간 CTLA4 컨트롤 항체(hNS-mFa55)가 Colon 38 세포 이식 모델에 투여되었다. 스위치 항체(SW1610-mFa55, 1612-mFa55) 또는 컨트롤 항체는 각각 0.03, 0.1, 1mg/mL, 0.03, 0.1, 1mg/mL, 및 0.01, 0.03, 0.1mg/mL가 되도록 His buffer(150mM NaCl/20mM His-HCl buffer pH 6.0)를 이용하여 조제되었다.

[0695] (2-3-4) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0696] 이식 후 10일째에 SW1610-mFa55를 0.3mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, SW1612-mFa55를 0.3mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, hNS-mFa55를 0.1mg/kg, 0.3mg/kg, 1mg/kg으로 마우스에 미정맥 투여했다. 항종양 효과 측정에 있어서의 약제

처치에 관한 상세가 표 4에 나타났다.

표 4

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	4	His-buffer	-	미정맥	이식 후 10일 후
2	4	hNS-mFa55	0.1	미정맥	이식 후 10일 후
3	4	hNS-mFa55	0.3	미정맥	이식 후 10일 후
4	4	hNS-mFa55	1	미정맥	이식 후 10일 후
5	4	SW1610-mFa55	0.3	미정맥	이식 후 10일 후
6	4	SW1610-mFa55	1	미정맥	이식 후 10일 후
7	4	SW1610-mFa55	10	미정맥	이식 후 10일 후
8	4	SW1612-mFa55	0.3	미정맥	이식 후 10일 후
9	4	SW1612-mFa55	1	미정맥	이식 후 10일 후
10	4	SW1612-mFa55	10	미정맥	이식 후 10일 후

[0697]

[0698] (2-3-5) 항종양 효과의 평가

[0699] 항종양 효과에 대해서는, 실시예 2-3-2에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0700] TGI(tumor growth inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0701] TGI=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값))×100

[0702] 그 결과, hNS-mFa55는 0.3mg/kg, SW1610-mFa55, 1612-mFa55 쌍방 모두 1mg/kg 이상의 dose에 있어서, 투여 후 21일째에서 TGI=55% 이상의 약효가 나타났다. 결과는 각각 hMS-mFa55가 도 3, SW1610-mFa55가 도 4, SW1612-mFa55가 도 5에 나타났다.

[0703] (2-4) Human CTLA4 knock-in, human CD3 transgenic 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(유방암 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체의 약효 평가

[0704] (2-4-1) 세포주

[0705] 마우스 유방암 암주 A755 세포는 국립 암연구센터 이이고 선생으로부터 공여되어, 실험에 사용되었다. A755 세포는 in vivo 계대로 유지 계대되었다.

[0706] (2-4-2) 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0707] Human CTLA4 knock-in 마우스(Blood (2005) 106(9): 3127-3133)와 사내에서 제작한 human CD3 EDG replaced mouse(Sci Rep (2017) 7: 45839)의 교잡 계통인, human CTLA4 KI, human CD3 EDG replaced 마우스(hCTLA4 KI hCD3 EDG replaced 마우스)(19주령, ♀)가 이용되었다.

[0708] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0709] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0710] (2-4-3) 투여 약제의 조제

[0711] 투여 약제로서, 참고 실시예 3-4 및 참고 실시예 5-2에서 조제된 항CTLA4 스위치 항체(SW1610-mFa55, 1389-mFa55) 또는 참고 실시예 4-2에서 조제된 항인간 CTLA4 컨트롤 항체(hNS-mFa55)가 A755 세포 이식 모델에 투여되었다. 스위치 항체(SW1610-mFa55, 1389-mFa55) 또는 컨트롤 항체는 각각 3mg/mL, 3mg/mL, 및 1mg/mL가 되도록 His buffer(150mM NaCl/20mM His-HCl buffer pH 6.0)를 이용하여 조제되었다.

[0712] (2-4-4) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0713] 이식 후 7일째에 SW1610-mFa55를 30mg/kg, SW1389-mFa55를 10mg/kg, hNS-mFa55를 10mg/kg으로 마우스에 미정맥

투여되었다. 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세가 표 5에 나타났다.

표 5

[0714]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	4	Vehicle	-	미정맥	이식 후 7일 후
2	4	SW1389-mFa55	30	미정맥	이식 후 7일 후
3	4	SW1610-mFa55	30	미정맥	이식 후 7일 후
4	4	h NS-mFa55	10	미정맥	이식 후 7일 후

[0715] (2-4-5) 항종양 효과의 평가

[0716] 항종양 효과는, 실시예 2-4-2에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0717] TGI(tumor growth inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0718] TGI=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값))×100

[0719] 그 결과, hNS-mFa55는 10mg/kg, SW1610-mFa55 30mg/kg, 및 1389-mFa55는 각각 30mg/kg의 dose에 있어서, 투여 후 10일째에서 TGI=46% 이상의 약효가 나타났다(도 6).

[0720] (2-5) Human CTLA4 knock-in, human CD3 transgenic 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(흑색종 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체의 약효 평가

[0721] (2-5-1) 세포주

[0722] 마우스 흑색종주 B16F1은 ATCC(CRL-6323)로부터 구입되어, 닭 Ovalbumin (OVA, 서열 번호: 349) 유전자를 트랜스펙션에 의해 항상 발현시키고, 클론화된 것이 실험에 사용되었다. B16F1/OVA 세포는 10% FBS(SIGMA), 0.5mg/mL G-418(나칼라이 테스크)을 포함하는 D-MEM(high glucose) 배지(SIGMA)에서 유지 계대되었다.

[0723] (2-5-2) 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0724] Human CTLA4 knock-in 마우스(Blood (2005) 106(9): 3127-3133)와 사내에서 제작한 human CD3 EDG replaced mouse(Sci Rep (2017) 7: 45839)의 교잡 계통인, human CTLA4 KI, human CD3 EDG replaced 마우스(hCTLA4 KI hCD3 EDG replaced 마우스)(17주령, ♀)가 이용되었다.

[0725] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0726] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0727] (2-5-3) 투여 약제의 조제

[0728] 투여 약제로서, 참고 실시예 3-4 및 참고 실시예 5-2에서 조제된 항CTLA4 스위치 항체(SW1610-mFa55, 1389-mFa55), 또는 참고 실시예 4-2에서 조제된 항인간 CTLA4 컨트롤 항체(hNS-mFa55)가 B16F1/OVA 세포 이식 모델에 투여되었다. 스위치 항체(SW1610-mFa55, 1389-mFa55) 또는 컨트롤 항체는 각각 10mg/mL, 10mg/mL, 및 1mg/mL가 되도록 His buffer(150mM NaCl/20mM His-HCl buffer pH 6.0)를 이용하여 조제되었다.

[0729] (2-5-4) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0730] 이식 후 7일째에 SW1610-mFa55를 100mg/kg, SW1389-mFa55를 100mg/kg, hNS-mFa55를 10mg/kg으로 마우스에 미정맥 투여되었다. 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세가 표 6에 나타났다.

표 6

[0731]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	4	Vehicle	-	미정맥	이식 후 7일 후
2	4	SW1389-mFa55	100	미정맥	이식 후 7일 후
3	4	SW1610-mFa55	100	미정맥	이식 후 7일 후
4	4	hNS-mFa55	10	미정맥	이식 후 7일 후

[0732] (2-5-5) 항종양 효과의 평가

[0733] 항종양 효과는, 실시예 2-5-2에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0734] TGI(tumor growth inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0735] TGI=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값))×100

[0736] 그 결과, hNS-mFa55는 10mg/kg, SW1610-mFa55 30mg/kg, 및 1389-mFa55는 30mg/kg의 dose에 있어서, 투여 후 11일째에서 TGI=47% 이상의 약효가 나타났다(도 7).

[0737] 〔실시예 3〕 개변된 Fc 영역을 갖는 항CTLA4 스위치 항체의, 인간 환자 PBMC를 이용한 in vitro Treg depletion 활성 평가

[0738] 실시예 1에서 제작된 개변 Fc를 갖는 항CTLA4 스위치 항체(SW1610-ART12 및 SW1389-ART5+ACT1), 또는 Ipilimumab의 CTLA4 양성 제어성 T 세포(CD3+ CD4+ FoxP3high CD45RA- CTLA4high)에 대한 In vitro 세포상해 활성이 평가되었다. 우선, 암 환자 유래 PBMC(Peripheral Blood Mononuclear Cells, Discovery Life Sciences)가 동결 융해되고, 200U/ml 인터류킨 2(IL-2)/RPMI/10% FBS 중에 세포 밀도가 5×10^6세포/mL가 되도록 현탁되고, 5% CO_2 인큐베이터 내에서 4일간 37℃에서 배양되었다. 4일 후, 세포를 회수하고 RPMI/10% FBS로 재현탁한 후에, 96웰 V저 플레이트의 각 웰 중에 50μL씩 파종되고($3\text{-}10\times10^5$세포/웰), 4mg/ml로 RPMI/10% FBS에서 조정된 항KLH 항체(KLH-G1m) 용액이 각 웰에 50μL씩 첨가되고, 계속해서 각 농도(0, 40, 200μg/mL)로 RPMI/10% FBS에서 조제한 항체 용액이 96웰 V저 플레이트의 각 웰 중에 50μL씩 첨가되었다. 추가로, 400μM로 RPMI/10% FBS에서 조정된 ATP 용액이 50μL씩 첨가되고, 잘 현탁된 후에 CO_2 인큐베이터 내에서 6시간 37℃에서 정치되었다(2시간 간격으로 계 2회, 4000μM로 조정된 ATP 용액이 5μL씩 첨가되었다). 6시간 후에 PBMC를 회수하고, auto MACS Rinsing Solution(Milteny)으로 세정한 후에, 이하의 항체와 반응시키고, FACS 해석에 의해 존재하는 면역 세포의 획분이 해석되었다. 생사 판정용 시약(Biolegend, Zombie NIR), 항CD3 항체(BD, 클론: UCHT1), 항CD4 항체(BD, 클론: RPA-T4), 항CD45RA 항체(Biolegend, 클론: HI100), 항FoxP3 항체(eBioscience, 클론: 236A/E7), 항CTLA4 항체(BD, 클론: BNI3). FACS 해석은 BD FACSCelesta(BD)로 행해졌다. 각각의 항체 농도에서의 생세포 중 CD45RA-FoxP3high 획분에 상당하는 제어성 T 세포 중 CTLA4 발현 강도가 높은 상위 약 10%가 게이팅되고, 각 항체의 세포상해 활성을 평가할 때의 지표로 했다. 얻어진 결과를 도 8(대장암 환자), 도 9(두경부암 환자), 도 10(췌암 환자), 도 11(신암 환자), 도 12(폐암 환자)에 나타낸다.

[0739] 이 결과로부터, 암 환자 유래 PBMC에 있어서 ATP 존재하에서, 개변된 Fc를 갖는 항CTLA4 스위치 항체는 CTLA4 고발현 제어성 T 세포에 대한 세포상해 활성을 갖는 것이 확인되었다.

[0740] 〔실시예 4〕 항CTLA4 스위치 항체와 각종 화학요법제의 각종 동계 종양주 이식 마우스 모델에 있어서의 in vivo 병용 약효 평가

[0741] (4-1) 야생형 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(결장암 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체와 각종 화학요법제의 병용 약효 평가

[0742] (4-1-1) 세포주 및 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0743] 마우스 결장암주 CT26.WT 세포는 ATCC로부터 구입되어, 실험에 사용되었다. CT26.WT 세포는 10% FBS(CORNING), 1mM Sodium Pyruvate(GIBCO), 10mM HEPES(SIGMA) 및 0.45% D-glucose(SIGMA)를 포함하는 RPMI1640 배지(나칼라

이 테스크)에서 유지 계대되었다. 마우스는 잭슨 래버러토리 재팬사로부터 구입한 BALB/c 마우스(7주령, 우)를 이용했다.

[0744] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0745] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0746] (4-1-2) 투여 약제의 조제

[0747] 투여 약제로서, 참고 실시예 3-4에서 조제된 항마우스 CTLA4 스위치 항체(SW1208-mFa55)와 화학요법제로서 카보플라틴, 파클리탁셀 혹은 젬시타빈이 CT26 세포 이식 모델에 투여되었다. SW1208-mFa55는 10mg/mL가 되도록, D-PBS를 이용하여 조제되었다. 카보플라틴은, 생리 식염수를 이용하여 8mg/mL가 되도록, 젬시타빈은, 생리 식염수를 이용하여 12mg/mL가 되도록, 파클리탁셀은, 에탄올, 크레모포르 EL 및 생리 식염수(1:1:18)를 이용하여 2mg/mL가 되도록 조제되었다.

[0748] (4-1-3) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0749] 이식 후 9일째에, 화학요법제가 투여되고, 이식 후 10일 후에 SW1208-mFa55가 투여되었다. SW1208-mFa55는 100mg/kg의 용량으로, 카보플라틴은 80mg/kg의 용량으로, 젬시타빈은 120mg/kg의 용량으로, 파클리탁셀은 20mg/kg의 용량으로, 각각 마우스에 투여되었다. 조제된 투여액은, 10mL/kg의 용량으로, 미정맥 투여되었다.

[0750] 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세가 표 7에 나타났다.

표 7

[0751]

군	마리수	약제 1	용량 (mg/kg)	투여일 (이식 후)	약제 2	용량 (mg/kg)	투여일 (이식 후)
1	5	Vehicle	-	10일	-	-	9일
2	5	SW1208-mFa55	100	10일	-	-	9일
3	5	-	-	10일	Carboplatin	80	9일
4	5	SW1208-mFa55	100	10일	Carboplatin	80	9일
5	5	-	-	10일	Paclitaxel	20	9일
6	5	SW1208-mFa55	100	10일	Paclitaxel	20	9일
7	5	-	-	10일	Gemcitabine	120	9일
8	5	SW1208-mFa55	100	10일	Gemcitabine	120	9일

[0752] (4-1-4) 항종양 효과의 평가

[0753] 항종양 효과에 대해서는, 실시예 4-1-1에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0754] 종양 증식 억제율(TGI: Tumor Growth Inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0755] TGI(%)=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시의 control군의 종양 체적의 평균값))×100

[0756] 그 결과, SW1208-mFa55 100mg/kg과 카보플라틴 80mg/kg, 젬시타빈 120mg/kg 및 파클리탁셀 20mg/kg의 병용 요법에 의해 단제 요법보다도 강한 항종양 효과가 나타났다(표 8).

표 8

약제	투여 개시 9일 후의 TGI(%)
SW1208-mFa55	3
Carboplatin	46
Carboplatin + SW1208-mFa55 병용	72
Paclitaxel	0
Paclitaxel + SW1208-mFa55 병용	14
Gemcitabine	70
Gemcitabine + SW1208-mFa55 병용	92

[0757]

[0758] (4-2) 야생형 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(흑색종 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체와 각종 화학요법제의 병용 약효 평가

[0759] (4-2-1) 세포주 및 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0760] 마우스 흑색종주 B16F1은 ATCC(CRL-6323)로부터 구입되어, 닭 Ovalbumin (OVA, 서열 번호: 349) 유전자를 transfection에 의해 항상 발현시키고, 클론화된 것이 실험에 사용되었다. B16F1/OVA 세포는 10% FBS(CORNING), 0.5mg/mL G-418(나칼라이 테스크)을 포함하는 D-MEM(high glucose) 배지(나칼라이 테스크)에서 유지 계대되었다. 마우스는 잭슨 래버러토리 재팬사로부터 구입한 C57BL/6J(7주령, ♀)를 이용했다.

[0761] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0762] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0763] (4-2-2) 투여 약제의 조제

[0764] 투여 약제로서, 참고 실시예 3-4에서 조제된 항마우스 CTLA4 스위치 항체(SW1208-mFa55)와 화학요법제로서 카보플라틴, 파클리탁셀 혹은 젬시타빈이 B16F1/OVA 세포 이식 모델에 투여되었다. SW1208-mFa55는 10mg/mL가 되도록, D-PBS를 이용하여 조제되었다. 카보플라틴은, 생리 식염수를 이용하여 6mg/mL가 되도록, 젬시타빈은, 생리 식염수를 이용하여 12mg/mL가 되도록, 파클리탁셀은, 에탄올, 크레모포르 EL 및 생리 식염수(1:1:18)를 이용하여 2mg/mL가 되도록 조제되었다.

[0765] (4-2-3) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0766] 이식 후 8일째에, 화학요법제가 투여되고, 이식 후 9일 후에 SW1208-mFa55가 투여되었다. SW1208-mFa55는 100mg/kg의 용량으로, 카보플라틴은 60mg/kg의 용량으로, 젬시타빈은 120mg/kg의 용량으로, 파클리탁셀은 20mg/kg의 용량으로, 각각 마우스에 투여되었다. 조제된 투여액은, 10mL/kg의 용량으로, 미정맥 투여되었다.

[0767] 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세가 표 9에 나타났다.

표 9

군	마리수	약제 1	용량 (mg/kg)	투여일 (이식 후)	약제 2	용량 (mg/kg)	투여일 (이식 후)
1	5	Vehicle	-	9일	-	-	8일
2	5	SW1208-mFa55	100	9일	-	-	8일
3	5	-	-	9일	Carboplatin	60	8일
4	5	SW1208-mFa55	100	9일	Carboplatin	60	8일
5	5	-	-	9일	Paclitaxel	20	8일
6	5	SW1208-mFa55	100	9일	Paclitaxel	20	8일
7	5	-	-	9일	Gemcitabine	120	8일
8	5	SW1208-mFa55	100	9일	Gemcitabine	120	8일

[0768]

[0769] (4-2-4) 항종양 효과의 평가

[0770] 항종양 효과에 대해서는, 실시예 4-2-1에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0771] 종양 증식 억제율(TGI: Tumor Growth Inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0772] TGI(%)=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시의 control군의 종양 체적의 평균값))×100

[0773] 그 결과, SW1208-mFa55 100mg/kg과 젬시타빈 120mg/kg의 병용 요법에 의해 단제 요법보다도 강한 항종양 효과가 나타났다(표 10).

표 10

약제	투여 개시 9일 후의 TGI(%)
SW1208-mFa55	24
Carboplatin	18
Carboplatin + SW1208-mFa55 병용	23
Paclitaxel	-1
Paclitaxel + SW1208-mFa55 병용	11
Gemcitabine	18
Gemcitabine + SW1208-mFa55 병용	36

[0774]

[0775] (4-3) 야생형 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(폐암 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체와 각종 화학요법제의 병용 약효 평가

[0776] (4-3-1) 세포주 및 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0777] 마우스 폐암주 LL/2(LLC1)는 ATCC(CRL-1642)로부터 구입되어, 닭 Ovalbumin (OVA, 서열 번호: 349) 유전자를 transfection에 의해 항상 발현시키고, 클론화된 것이 실험에 사용되었다. LLC1/OVA 세포는 10% FBS(CORNING), 0.5mg/mL G-418(나칼라이 테스크)을 포함하는 D-MEM(high glucose) 배지(나칼라이 테스크)에서 유지 계대되었다. 마우스는 잭슨 래버러토리 재팬사로부터 구입한 C57BL/6J(6주령, ♀)를 이용했다.

[0778] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0779] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0780] (4-3-2) 투여 약제의 조제

[0781] 투여 약제로서, 참고 실시예 3-4에서 조제된 항마우스 CTLA4 스위치 항체(SW1208-mFa55)와 화학요법제로서 카보플라틴, 파클리탁셀 혹은 젬시타빈이 LLC1/OVA 세포 이식 모델에 투여되었다. SW1208-mFa55는 10mg/mL가 되도록, D-PBS를 이용하여 조제되었다. 카보플라틴은, 생리 식염수를 이용하여 8mg/mL가 되도록, 젬시타빈은, 생리 식염수를 이용하여 12mg/mL가 되도록, 파클리탁셀은, 에탄올, 크레모포르 EL 및 생리 식염수(1:1:18)를 이용하여 2mg/mL가 되도록 조제되었다.

[0782] (4-3-3) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0783] 이식 후 11일째에, 화학요법제가 투여되고, 이식 후 12일 후에 SW1208-mFa55가 투여되었다. SW1208-mFa55는 100mg/kg의 용량으로, 카보플라틴은 80mg/kg의 용량으로, 젬시타빈은 120mg/kg의 용량으로, 파클리탁셀은 20mg/kg의 용량으로, 각각 마우스에 투여되었다. 조제된 투여액은, 10mL/kg의 용량으로, 미정맥 투여되었다.

[0784] 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세가 표 11에 나타났다.

표 11

[0785]

군	마리수	약제 1	용량 (mg/kg)	투여일 (이식 후)	약제 2	용량 (mg/kg)	투여일 (이식 후)
1	5	Vehicle	-	12일	-	-	11일
2	5	SW1208-mFa55	100	12일	-	-	11일
3	5	-	-	12일	Carboplatin	80	11일
4	5	SW1208-mFa55	100	12일	Carboplatin	80	11일
5	5	-	-	12일	Paclitaxel	20	11일
6	5	SW1208-mFa55	100	12일	Paclitaxel	20	11일
7	5	-	-	12일	Gemcitabine	120	11일
8	5	SW1208-mFa55	100	12일	Gemcitabine	120	11일

[0786] (4-3-4) 항종양 효과의 평가

[0787] 항종양 효과에 대해서는, 실시예 4-3-1에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0788] 종양 증식 억제율(TGI: Tumor Growth Inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0789] TGI(%)=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시의 control군의 종양 체적의 평균값))×100

[0790] 그 결과, SW1208-mFa55 100mg/kg과 카보플라틴 80mg/kg, 젬시타빈 120mg/kg의 병용 요법에 의해 단제 요법보다도 강한 항종양 효과가 나타났다(표 12).

표 12

[0791]

약제	투여 개시 15일 후의 TGI(%)
SW1208-mFa55	23
Carboplatin	34
Carboplatin + SW1208-mFa55 병용	50
Paclitaxel	14
Paclitaxel + SW1208-mFa55 병용	22
Gemcitabine	36
Gemcitabine + SW1208-mFa55 병용	51

[0792] 〔실시예 5〕 항CTLA4 스위치 항체와 면역 체크포인트 저해제의 동계 종양주 이식 마우스 모델에 있어서의 in vivo 병용 약효 평가

[0793] (5-1) Human CTLA4 knock-in, human CD3 transgenic 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델(결장암 모델)에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체와 항마우스 PDL1 항체의 병용 약효 평가

[0794] (5-1-1) 세포주

[0795] 마우스 결장암주 Colon 38 세포는 NCI(National Cancer Institute)로부터의 승낙에 기초하여, 공익재단법인 암연구회로부터 공여되어, 실험에 사용되었다. Colon 38 세포는 10% FBS(CORNING)를 포함하는 RPMI-1640 배지(나칼라이 테스크)에서 유지 계대되었다.

[0796] (5-1-2) 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0797] Human CTLA4 knock-in 마우스(Blood (2005) 106(9): 3127-3133)와 사내에서 제작된 human CD3 EDG replaced mouse(Sci Rep (2017) 7: 45839)의 교잡 계통인, human CTLA4 KI, human CD3 EDG replaced 마우스(hCTLA4 KI hCD3 EDG replaced 마우스)(12주령, ♂ 혹은 7주령, ♀)가 이용되었다.

[0798] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출되었다.

[0799] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0800] (5-1-3) 투여 약제의 조제

[0801] 투여 약제로서, 참고 실시예 3-4 및 참고 실시예 5-2에서 조제된 항CTLA4 스위치 항체(SW1610-mFa55 또는 SW1389-mFa55)가 Colon 38 세포 이식 모델에 투여되었다. 스위치 항체(SW1610-mFa55, SW1389-mFa55)는 각각 0.03mg/mL 및 0.1mg/mL가 되도록, anti-mouse PDL1 항체(Bio X Cell, InVivoMAb anti-mouse PD-L1 (B7-H1), #BE0101)는 1mg/mL가 되도록 D-PBS를 이용하여 조제되었다.

[0802] (5-1-4) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0803] 이식 후 14일째에 SW1610-mFa55가 0.3mg/kg, SW1389-mFa55가 1mg/kg으로 마우스에 미정맥 투여되었다. 이식 후 14일째, 17일째 및 20일째 혹은 14일째 및 17일째에 Anti-PDL1 항체 단제 투여군 및 병용 투여군은 Anti-PDL1 항체(aPDL1)가 10mg/kg으로 마우스에 미정맥 투여되었다.

[0804] 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세가 표 13, 14에 나타났다.

표 13

[0805]

군	마리수	약제 1	용량	투여일 (이식 후)	약제 2	용량	투여일 (이식 후)
1	5	Vehicle	-	14일	Vehicle	-	14, 17 및 20일
2	5	SW1610-mFa55	0.3	14일	Vehicle	-	14, 17 및 20일
3	5	Vehicle	-	14일	aPDL1	10	14, 17 및 20일
4	5	SW1610-mFa55	0.3	14일	aPDL1	10	14, 17 및 20일

표 14

[0806]

군	마리수	약제 1	용량	투여일 (이식 후)	약제 2	용량	투여일 (이식 후)
1	5	Vehicle	-	14일	Vehicle	-	14 및 17일
2	5	SW1389-mFa55	1	14일	Vehicle	-	14 및 17일
3	5	Vehicle	-	14일	aPDL1	10	14 및 17일
4	5	SW1389-mFa55	1	14일	aPDL1	10	14 및 17일

[0807] (5-1-5) 항종양 효과의 평가

[0808] 항종양 효과에 대해서는, 실시예 5-1-2에 기재한 계산식으로 산출된 종양 체적으로 평가되었다.

[0809] TGI(tumor growth inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출되었다.

[0810] TGI=(1-(측정 시에 있어서의 대상군의 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값))×100

[0811] 그 결과, SW1610-mFa55, 1389-mFa55 쌍방 모두 anti-PDL1 항체와의 병용 요법에서 단제 요법보다도 강한 항종양 효과가 나타났다. 결과는 각각 SW1610-mFa55가 도 13, SW1389-mFa55가 도 14에 나타났다.

[0812] [참고 실시예 1] 파지 디스플레이 기술을 이용한 나이브 라이브러리 및 래셔널 디자인 항체 라이브러리로부터의 ATP 또는 그 대사물 존재하에 있어서 항원에 결합하는 항체의 취득

[0813] (1-1) 저분자 존재하에 있어서 항원에 결합하는 항체의 취득을 위한 항원 조제

[0814] 항원으로서, 비오틴화된 마우스 CTLA4 세포외 영역(mCTLA4), 인간 CTLA4 세포외 영역(hCTLA4), 아바타셉트가 조제되었다. 구체적으로는 hCTLA4 세포외 영역은 C 말단에 His 태그 및 BAP 태그가 융합한 것 hCTLA4-His-BAP(서열 번호: 1)가 유전자 합성되고, 동물 발현용 플라스미드에 삽입되었다. 항원 단백질은 이하의 방법을 이용하여 발현, 정제되었다. FreeStyle 293 Expression Medium 배지(Invitrogen)에 1.33×10^6세포/mL의 세포 밀도로 현탁되어, 플라스크에 파종된 인간 태아 신세포 유래 FreeStyle 293-F주(Invitrogen)에 대해서, 조제된 플라스미드가 리포펙션법에 의해 도입되었다. 플라스미드 도입 후 3시간 후에 비오틴이 종농도 100μM이 되도록 첨가되고, CO_2 인큐베이터(37℃, 8% CO_2, 125rpm)에서 4일간 배양된 배양 상청으로부터, 당업자 공지된 방법으로 항원이 정제되었다. 분광 광도계를 이용하여, 정제된 항원 용액의 280nm에서의 흡광도가 측정되었다. 얻어진 측정값으로부터 PACE법에 의해 산출된 흡광 계수를 이용하여 정제된 항원의 농도가 산출되었다(Protein Science (1995) 4, 2411-2423). 한편 mCTLA4의 세포외 영역에 His 태그가 융합된 mCTLA4-His(Sino Biologics Inc. 50503-M08H, Accession No. NP_033973.2) 및 hCTLA4에 인간 IgG1 정상 영역이 융합한 아바타셉트(알프레사 주식회사)는, 아민 커플링법에 의해 비오틴화되었다(PIERCE Cat. No. 21329).

[0815] (1-2) 비드 패닝에 의한 나이브 인간 항체 라이브러리로부터의 저분자 존재하에 있어서 마우스 CTLA4에 결합하는 항체의 취득

[0816] 인간 PBMC로부터 작성한 폴리 A RNA나, 시판되고 있는 인간 폴리 A RNA 등을 주형으로 해서 당업자에게 공지인 방법에 따라, 서로 상이한 인간 항체 서열의 Fab 도메인을 제시하는 복수의 파지로 이루어지는 인간 항체 파지 디스플레이 라이브러리가 구축되었다.

[0817] 구축된 나이브 인간 항체 파지 디스플레이 라이브러리로부터, 저분자 존재하 및 비존재하에서 마우스 CTLA4 세포외 영역(mCTLA4)에 대한 결합 활성이 변화하는 항체가 스크리닝되었다. 즉, 비드에 캡처된 mCTLA4에 대해서 저분자 존재하에서 결합 활성을 나타내는 항체를 제시하고 있는 파지가 모아졌다. 저분자 비존재의 조건에서 비드로부터 용출된 파지 용출액으로부터 파지가 회수되었다. 본 취득 방법에서는, 항원으로서 비오틴 표지된 mCTLA4(mCTLA4-His-Biotin)가 이용되었다.

[0818] 구축된 파지 디스플레이용 파지미드를 보유한 대장균으로부터 산생된 파지는 일반적인 방법에 의해 정제되었다. 그 후 TBS로 투석 처리된 파지 라이브러리액이 얻어졌다. 자기 비드에 고정화된 항원을 이용한 패닝이 실시되었다. 자기 비드로서, NeutrAvidin coated beads(Sera-Mag SpeedBeads NeutrAvidin-coated) 혹은 Streptavidin coated beads(Dynabeads M-280 Streptavidin)가 이용되었다.

[0819] 암 조직에 있어서 스위치의 역할을 할 수 있는 저분자에 의존적인 저분자 스위치 항체를 효율적으로 취득하기 위해서, 아데노신 3인산(adenosine 5'-triphosphate; ATP) 및 ATP 대사물 존재하에서 항원에 결합하고, ATP 비존재하에서는 항원에 결합하지 않는 항체를 농축하는 패닝이 선행 특허 WO2013/180200에 나타난 방법을 참고로 실시되었다.

[0820] (1-3) 파지 ELISA에 의한 저분자 존재하 및 비존재하에 있어서의 결합 활성의 평가

[0821] (1-2)에서 얻어진 대장균의 싱글 콜로니로부터, 통상적 방법(Methods Mol. Biol. (2002) 178, 133-145)을 따라서, 파지 함유 배양 상청이 회수되었다. NucleoFast 96(MACHERY-NAGEL)을 이용하여 회수된 배양 상청이 한외 여과되었다. 배양 상청 각 100μL가 NucleoFast 96의 각 웰에 어플라이되고, 4,500g, 45분간 원심분리를 행하여 플로 스루가 제거되었다. H_2O 100μL를 가하고, 재차 4,500g, 30분간 원심분리에 의한 세정이 행해졌다. 그 후, TBS 100μL를 가하고, 실온에서 5분간 정치한 후, 상청에 포함되는 파지액이 회수되었다.

[0822] TBS가 가해진 정제 파지가 이하의 수순으로 ELISA에 제공되었다. StreptaWell 96 마이크로타이터 플레이트(Roche)가 mCTLA4-His-Biotin을 포함하는 100μL의 TBS로 하룻밤 코팅되었다. 당해 플레이트의 각 웰을 TBST로 세정하는 것에 의해 플레이트에 결합하고 있지 않는 mCTLA4-His-Biotin이 제거된 후, 당해 웰이 250μL의 2% 스킴 밀크-TBS로 1시간 이상 블로킹되었다. 2% 스킴 밀크-TBS를 제거하고, 그 후, 각 웰에 조제된 정제 파지가 가해진 당해 플레이트를 실온에서 1시간 정치하는 것에 의해, 항체를 제시하는 파지를 각 웰에 존재하는 mCTLA4-His-Biotin에 ATP 비존재 혹은 존재하에 있어서 결합시켰다. TBST 혹은 ATP/TBST로 세정된 각 웰에, TBS 혹은 ATP/TBS에 의해 희석된 HRP 결합 항M13 항체(Amersham Pharmacia Biotech)가 첨가된 플레이트를 1시간 인큐베이트시켰다. TBST 혹은 ATP/TBST로 세정 후, TMB single 용액(ZYMED)이 첨가된 각 웰 중의 용액의 발색 반응이 황산의 첨가에 의해 정지된 후, 450nm의 흡광도에 의해 당해 발색이 측정되었다. 그 결과, mCTLA4에 대해서, ATP 존재하에서만 결합하는 항체가 복수 확인되었다. 파지 ELISA의 결과를 표 15에 나타냈다. 여기에서, ATP 존재하에 있어서의 흡광도가 0.2보다 높은 클론이 양성으로 판정되고, ATP 존재하/비존재하에 있어서의 흡광도의 비가 2보다 높은 것이 ATP 의존적인 항원 결합능을 갖는 클론(스위치 클론)으로 판정되었다. 한편, 본 실시예에 있어서, SM은 ATP 등의 소분자/저분자(Small Molecule)를 나타내는 약칭으로서 이용되는 경우가 있다.

표 15

	총수
ELISA 실시 클론수	192
양성 클론수(흡광도 > 0.2)	103
스위치 클론수(SM+/-비>2)	28

[0823]

[0824] (1-4) ATP 또는 그 대사물을 이용한 래셔널 디자인 라이브러리로부터의 저분자 존재하에 있어서 항원에 결합하는 항체의 취득

[0825] 선행 특허 WO2015/083764에 있어서 구축된 래셔널 디자인 항체 파지 디스플레이 라이브러리로부터, ATP 또는 ATP 대사물(예를 들어 ADP, AMP, 아데노신(ADO) 등) 존재 조건하에서 항원에 대한 결합 활성을 나타내는 항체가 취득되었다. 취득을 위해서, ATP 또는 ATP 대사물 존재하에서 비드에 캡쳐된 항원에 대해서 결합능을 나타내는 항체를 제시하고 있는 파지가 회수되고, 그 후 ATP 또는 ATP 대사물의 비존재 조건하에서 비드로부터 용출된 용출액으로부터 파지가 회수되었다.

[0826] 구축된 파지 디스플레이용 파지미드를 보유하는 대장균으로부터 파지가 일반적인 방법으로 산생되었다. 파지 산생이 행해진 대장균의 배양액에 2.5M NaCl/10% PEG를 첨가하는 것에 의해 침전시킨 파지의 집단을 TBS로 희석하는 것에 의해 파지 라이브러리액이 얻어졌다. 다음으로, 당해 파지 라이브러리액에 종농도 4%가 되도록 BSA가 첨가되었다. 자기 비드에 고정화된 항원을 이용하여 패닝이 실시되었다. 자기 비드로서, NeutrAvidin coated beads(Sera-Mag SpeedBeads NeutrAvidin-coated) 혹은 Streptavidin coated beads(Dynabeads M-280Streptavidin)가 이용되었다. 항원으로서, 비오틴화된 아바타셉트(Abatacept-Biotin)가 사용되었다.

[0827] 암 조직에 있어서 스위치의 역할을 할 수 있는 저분자에 의존적인 저분자 스위치 항체를 효율적으로 취득하기 위해서, 아데노신 3인산(adenosine 5'-triphosphate; ATP) 혹은 ATP 대사물 존재하에서 항원에 결합하고, ATP 혹은 ATP 대사물 비존재하에서는 항원에 결합하지 않는 항체를 농축하는 패닝이 선행 특허 WO2015/083764에 나타난 방법을 참고로 실시되었다.

[0828] (1-5) 파지 ELISA에 의한 ATP 혹은 그 대사물의 존재하 및 비존재하에 있어서의 결합 활성 평가

[0829] 상기의 방법에 의해 얻어진 대장균의 싱글 콜로니로부터, 통상적 방법(Methods Mol. Biol. (2002) 178, 133-145)을 따라서, 파지 함유 배양 상청이 회수되었다. NucleoFast 96(MACHEREY-NAGEL)을 이용하여, 회수된 배양 상청이 한외 여과되었다. 배양 상청 각 100μL가 각 웰에 어플라이된 NucleoFast 96을 원심분리(4,500g, 45분간)하는 것에 의해 플로 스루가 제거되었다. 100μL의 H_2O가 각 웰에 가해진 당해 NucleoFast 96이, 재차 원심분리(4,500g, 30분간)에 의해 세정되었다. 마지막으로 TBS 100μL가 가해지고, 실온에서 5분간 정치된 당해 NucleoFast 96의 각 웰 상청에 포함되는 파지액이 회수되었다.

[0830] TBS, 또는 ATP 혹은 그 대사물 함유 TBS(SM/TBS)가 가해진 정제 파지가 이하의 수순으로 ELISA에 제공되었다. StreptaWell 96 마이크로타이터 플레이트(Roche)가 참고 실시예 1-1에서 제작된 비오틴 표지 항원(Abatacept-Biotin)을 포함하는 100μL의 TBS로 하룻밤 코팅되었다. 당해 플레이트의 각 웰을 TBST로 세정하는 것에 의해 프리 Abatacept-Biotin이 제거된 후, 당해 웰이 250μL의 2% SkimMilk-TBS로 1시간 이상 블로킹되었다. 2% SkimMilk-TBS를 제거하고, 그 후, 각 웰에 조제된 정제 파지가 가해진 당해 플레이트를 37℃에서 1시간 정치하는 것에 의해, 항체를 제시한 파지를 각 웰에 존재하는 Abatacept-Biotin에 ATP 혹은 그 대사물의 비존재하 및 존재하에 있어서 결합시켰다. TBST 또는 ATP 혹은 그 대사물 함유 TBST(SM/TBST)로 세정된 각 웰에, TBS 또는 SM/TBS에 의해 희석된 HRP 결합 항M13 항체(Amersham Pharmacia Biotech)가 첨가된 플레이트를 1시간 인큐베이트시켰다. TBST 또는 SM/TBST로 세정 후, TMB single 용액(ZYMED)이 첨가된 각 웰 중의 용액의 발색 반응이 황산의 첨가에 의해 정지된 후, 450nm의 흡광도에 의해 당해 발색이 측정되었다. 그 결과, Abatacept에 대해서, ATP 또는 그 대사물 존재하 및 비존재하에서 결합 활성이 변화하는 항체가 복수 확인되었다. 파지 ELISA의 결과를 표 16에 나타냈다. 여기에서, ATP 또는 그 대사물의 존재하에 있어서의 흡광도의 S/N비가 2보다 높은 클론이 양성으로 판정되고, ATP 또는 그 대사물의 존재하/비존재하에 있어서의 흡광도의 비가 2보다 높은 것이 ATP 또는 그 대사물에 의존적인 항원 결합능을 갖는 클론(스위치 클론)으로 판정되었다.

표 16

	시험 4회째	시험 5회째	총수
ELISA 실시 클론수	288	288	576
양성 클론수(S/N 비>2)	157	159	316
스위치 클론수(SM+/-비>2)	6	16	22

[0831]

[0832] (1-6) ATP 및 그 대사물의 유무에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 스위치 항체의 서열 해석

[0833] 파지 ELISA의 결과, ATP 및 그 대사물이 존재하는 조건하에서 항원에 대한 결합 활성이 있다고 판단된 클론으로부터 특이적인 프라이머 lacPF(서열 번호: 2), G1seqR(서열 번호: 3)을 이용하여 증폭된 유전자의 염기 서열이 해석되었다. 해석의 결과, ATP 및 그 대사물 존재하에서 비오틴 표지 아바타셉트에 대한 결합 활성을 갖는다고 판단된 클론 ABADh11-4_020, ABADh11-4_086, ABADh12-4_014, ABADh12-5_001, ABADh12-5_046, ABADh5-5_041이 취득되고, 각각 ABAM001, ABAM002, ABAM003, ABAM004, ABAM005, ABAM006으로 클론명이 재부여되었다(표 17).

표 17

클론명	항체 명칭	VH 서열 번호	VL 서열 번호
ABADh11-4_020	ABAM001	4	5
ABADh11-4_086	ABAM002	6	7
ABADh12-4_014	ABAM003	8	9
ABADh12-5_001	ABAM004	10	11
ABADh12-5_046	ABAM005	12	13
ABADh5-5_041	ABAM006	14	15

[0834]

[0835] (1-7) ATP 및 그 대사물의 유무에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 스위치 항체의 발현과 정제

[0836] 인간 래셔널 디자인 파지 라이브러리로부터 취득된 ABAM001, ABAM002, ABAM003, ABAM004, ABAM005, ABAM006의 가변 영역을 코드하는 유전자는 인간 IgG1/Lambda의 동물 발현용 플라스미드에 삽입되었다. 이하의 방법을 이용하여 항체가 발현되었다. FreeStyle 293 Expression Medium 배지(Invitrogen)에 1.33×10^{6}세포/mL의 세포 밀도로 현탁되어, 6well plate의 각 웰에 3mL씩 파종된 인간 태아 신세포 유래 FreeStyle 293-F주(Invitrogen)에 대해서, 조제된 플라스미드가 리포펙션법에 의해 도입되었다. CO_2 인큐베이터(37℃, 8% CO_2, 90rpm)에서 4일간 배양된 배양 상청으로부터, rProtein A Sepharose™ Fast Flow(Amersham Biosciences)를 이용하여 당업자 공지된 방법으로 항체가 정제되었다. 분광 광도계를 이용하여, 정제된 항체 용액의 280nm에서의 흡광도가 측정되었다. 얻어진 측정값으로부터 PACE법에 의해 산출된 흡광 계수를 이용하여 정제된 항체의 농도가 산출되었다(Protein Science (1995) 4, 2411-2423).

[0837] (1-8) 취득된 항체의 hCTLA4에 대한 IgG ELISA에 의한 AMP의 존재하 및 비존재하에 있어서의 결합 활성 평가

[0838] 취득된 ABAM001, ABAM002, ABAM003, ABAM004, ABAM005, ABAM006의 6항체가 IgG ELISA에 제공되었다. 또한 표 18에 나타내는 Buffer가 적절히 조제되었다. 항원으로서 비오틴 표지된 인간 CTLA4(hCTLA4-His-Biotin)가 이용되었다.

표 18

버퍼	조성
Wash Buffer	TBS, 0.1% Tween20
Blocking Buffer	TBS, 2% BSA
Sample Buffer	TBS, 1mM AMP

[0839]

[0840] 처음에, StreptaWell 96 마이크로타이터 플레이트(Roche)가 hCTLA4-His-Biotin을 포함하는 100μL의 TBS로 실온에서 1시간 이상 코팅되었다. 당해 플레이트의 각 웰을 Wash buffer로 세정하는 것에 의해 플레이트에 결합하고 있지 않는 hCTLA4-His-Biotin이 제거된 후, 당해 웰이 Blocking Buffer 250μL로 1시간 이상 블로킹되었다. Blocking Buffer가 제거된 각 웰에, 1mM 의 종농도로 AMP를 포함하는 Sample Buffer에서 2.5μg/mL로 조제된 정제 IgG의 각 100μL가 가해진 당해 플레이트를 실온에서 1시간 정치하는 것에 의해, 각 IgG를 각 웰에 존재하는 hCTLA4-His-Biotin에 결합시켰다. 1mM의 종농도로 AMP를 포함하는 Wash Buffer로 세정된 후에, Sample Buffer에 의해 희석된 HRP 결합 항인간 IgG 항체(BIOSOURCE)가 각 웰에 첨가된 플레이트가 1시간 인큐베이트되었다. 각 저분자를 포함하는 Wash Buffer로 세정 후, TMB single 용액(ZYMED)이 첨가된 각 웰 중의 용액의 발색반응이, 황산의 첨가에 의해 정지된 후, 450nm의 흡광도에 의해 당해 발색이 측정되었다. 한편 Buffer로서는 표 18에 기재된 조성을 포함하는 Buffer가 사용되었다.

[0841] 측정된 결과를 표 19에 나타냈다. 한편 값이 Overflow된 웰에 관해서는 임시로 5.00으로 했다. ABAM001, ABAM002, ABAM003, ABAM004, ABAM005, ABAM006의 모든 클론에 있어서, AMP 존재하에 있어서의 흡광도와 비교해서, AMP 비존재하에 있어서의 흡광도는, 현저하게 낮다는 결과가 얻어졌다. 이 결과로부터, ABAM001, ABAM002, ABAM003, ABAM004, ABAM005, ABAM006의 모든 클론은 저분자의 유무에 따라 항원과의 결합이 변화하는 성질을 갖는 것이 확인되었다.

표 19

항체 명칭	450nm 흡광도		
	저분자 존재하	저분자 비존재하	S/N
ABAM001	5.000	3.455	1.45
ABAM002	5.000	0.139	35.97
ABAM003	5.000	3.180	1.57
ABAM004	5.000	0.643	7.78
ABAM005	0.303	0.069	4.46
ABAM006	2.995	0.776	3.86

[0842]

[0843] (1-9) 표면 플라즈몬 공명에 의한 인간 CTLA4에 대한 결합의 ATP 및 그 대사물의 영향의 평가

[0844] CTLA4 스위치 항체로서 ABAM004의 추가적인 평가가 행해졌다.

[0845] Biacore T200(GE Healthcare)을 이용하여, ABAM004와 hCTLA4-His-BAP의 항원 항체 반응의 상호작용이 해석되었다. 아민 커플링법으로 protein A/G(Pierce)가 적당량 고정화된 Sensor chip CM5(GE Healthcare)에 ABAM004를 캡쳐시키고, 항원인 참고 실시예 1-1에서 조제된 hCTLA4-His-BAP를 상호작용시켰다. 러닝 버퍼에는 TBS가 이용되고, 재생 용액으로서는 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)이 이용되었다.

[0846] TBS에 현탁한 1μg/mL의 ABAM004가 캡쳐된 후에, 500nM의 hCTLA4-His-BAP 및 4000μM로부터 공비 4로 희석한 10 농도의 ATP, ADP 또는 AMP, 및 2mM $MgCl_2$를 포함하는 용액이 각 flow cell에 유속 10μL/min으로 3분간 인젝트되었다. 이 3분간이 hCTLA4-His-BAP의 결합상이 되고, 결합상 종료 후, 러닝 버퍼로 전환된 2분간이 hCTLA4-His-BAP의 해리상으로 되었다. 해리상 종료 후, 재생 용액이 유속 30μl/min으로 30초간 인젝트되었다. 이상이 ABAM004의 결합 활성 측정 사이클로 되었다. 결합상에 있어서 ABAM004에 상호작용한 hCTLA-4-His-BAP의 결합량은 캡쳐된 항체량에 대해서 보정되었다. 데이터의 해석 및 작도에는 Biacore T200 Evaluation Software Version: 2.0 및 Microsoft Excel 2013(Microsoft)이 사용되었다.

[0847] 이 측정으로 취득된 ATP 및 그 대사물 존재하에 있어서의 ABAM004와 hCTLA4-His-BAP의 결합량을 도 15에 나타냈다.

[0848] 도 15에 나타난 바와 같이, ABAM004는 ATP뿐만 아니라, ATP 대사물을 스위치로 해서 hCTLA4에 결합하는 성질을 갖는 것이 확인되었다. 또한, 그 중에서도 특히 AMP 존재하에서의 결합 활성이 가장 강한 항체인 것이 나타났다.

[0849] (1-10) 인간 CTLA4 발현 세포에 대한 항체 결합성의 평가

[0850] Flow cytometer를 이용하여, ABAM004와 인간 CTLA4의 항원 항체 상호작용이 AMP 존재하, 비존재하에서 어떻게 변화하는지 평가되었다. 인간 CTLA4를 안정 발현하는 CHO 세포(hCTLA4-CHO 세포)가 적절한 농도로 준비되었다. 이때 현탁에는 0.1% BSA 함유 PBS(FACS Buffer)가 이용되었다. 당해 세포 용액 100μL에 대해, 종농도 10mg/mL가 되도록 항체가 첨가된 후, AMP가 종농도 0, 0.4, 4, 40, 200, 1000μM이 되도록 첨가되고, 4℃에서 30분간 정치되었다. 그 후 FACS Buffer에 AMP가 종농도 0, 0.4, 4, 40, 200, 1000μM이 되도록 첨가된 것을 Wash Buffer로서 사용하여, 당해 세포주가 세정된 후, FITC 표지된 2차 항체(Goat F(ab'2) Anti-Human IgG Mouse ads-FITC, Beckman 732598)가 첨가되고, 다시 4℃에서 30분간 차광하에 정치되었다. 재차 세정 조작이 행해진 후, Flow cytometer(FACS CyAn™ ADP)로 측정, 해석되었다. 결과를 도 16에 나타낸다.

[0851] 이상의 결과로부터, ABAM004는 AMP의 농도 의존적인 hCTLA4 발현 세포에의 결합 활성을 나타내고, 가용형 항원뿐만 아니라 막형 항원에도 AMP 농도 의존적인 결합 활성을 나타내는 것이 나타났다.

[0852] (1-11) 인간 말초혈 단핵구를 이펙터 세포로서 이용한 피험 항체의 ADCC 활성

[0853] ATP 의존적으로 항원에 결합하는 항체는 이하의 방법에 따라 항체 농도 의존적인 ADCC 활성이 측정되었다. 이때, 인간 말초혈 단핵구(이하, 인간 PBMC라고 지칭한다.)를 이펙터 세포로서 이용하여 피험 항체의 ADCC 활성이 이하와 같이 측정되었다.

[0854] 우선 처음에 인간 PBMC 용액이 조제되었다. 1000단위/mL의 헤파린 용액(노보ㆍ헤파린주 5천 단위, 노보 노르디스크)이 미리 200μL 주입된 주사기를 이용하여, 건상인 볼런티어(성인 남성)로부터 말초혈 50mL를 채취했다. PBS(-)를 이용하여 2배로 희석된 당해 말초혈을 4등분하고, 15ml의 Ficoll-Paque PLUS가 미리 주입되어 원심 조작이 행해진 Leucosep 림프구 분리관(Greiner bio-one)에 가했다. 당해 말초혈을 분주한 분리관을 2150rpm의 속도에 의해 10분간 실온에서 원심분리의 조작을 한 후, 단핵구 획분층을 분취했다. 10% FBS를 포함하는 RPMI-1640(나칼라이 테스크)(이하 10% FBS/RPMI라고 칭한다.)에 의해 1회 당해 획분층에 포함되는 세포를 세정한 후, 당해 세포가 10% FBS/RPMI 중에 그 세포 밀도가 1×10^7세포/mL가 되도록 현탁했다. 당해 세포 현탁액을 인간 PBMC 용액으로서 이후의 실험에 제공했다.

[0855] 다음으로 표적 세포로서 CHO 세포에 인간 CTLA4 세포외 영역을 강제 발현시킨 hCTLA4-CHO 세포가 10% FBS/RPMI 중에 2×10^5세포/mL가 되도록 현탁되어 조제되었다. 추가로 RPMI를 이용하여 4mM로 희석한 AMP(sigma)를 AMP 용액으로서 이후의 시험에 제공했다.

[0856] ADCC 활성은 LDH(lactate dehydrogenase; 락트산 탈수소 산소) 릴리스로 평가되었다. 우선, 각 농도(0, 0.04, 0.4, 4, 40μg/mL)로 조제한 항체 용액이 96웰 U저 플레이트의 각 웰 중에 50μL씩 첨가되고, 표적 세포가 50μL씩 파종되었다(1×10^4cells/웰). 추가로, AMP 용액이 50μl씩 첨가되고, 실온에서 15분간 정치되었다. 각 웰 중에 인간 PBMC 용액 각 50μL(5×10^5cells/웰)를 가한 당해 플레이트가, 원심 조작된 후 5% 탄산 가스 인큐베이터 중에 있어서 37℃에서 4시간 정치되었다. 반응 종료 후, 배양 상청이 100μL 회수되고, 측정용의 96웰 플레이트에 옮겨진 후, LDH detection Kit(TaKaRa) 부속의 Catalyst(C) 및 Dye solution(D)를 1:45로 혼합한 것

이 100μL 첨가되었다. 실온에서 15분 반응된 후, 1N의 HCl이 50μL 첨가되어 반응이 정지되었다. 492nm의 흡광도가 측정되고 LDH 릴리스에 의한 ADCC 활성이 측정되었다. ADCC 활성은 아래 식에 기초하여 구해졌다.

[0857] ADCC 활성(%)={(A-D)-(C-D)}×100/{(B-D)-(C-D)

[0858] 위 식에 있어서, A는 각 피험 항체가 첨가된 웰 중의 LDH 활성(OD 492nm)의 평균값을 나타낸다. 또한, B는 반응 후의 웰에 10μL의 20% Triton-X 수용액을 첨가한 웰 중의 LDH 활성(OD 492nm)의 평균값을 나타낸다. 또, C는 표적 세포에 150μL의 10% FBS/RPMI 또는 100μL의 10% FBS/RPMI 및 50μL의 AMP 용액을 첨가한 웰 중의 LDH 활성(OD 492nm)의 평균값을 나타낸다. D는 10% FBS/RPMI만을 넣은 웰 중의 LDH 활성(OD 492nm)의 평균값을 나타낸다. 시험은 duplicate로 실시하고, 피험 항체의 ADCC 활성이 반영되는 상기 시험에 있어서의 ADCC 활성(%)의 평균값을 산출했다. 결과를 도 17에 나타낸다.

[0859] 이상의 결과로부터, 당해 항체 ABAM004는 AMP 존재하에 있어서 항원 결합 활성을 갖고, 또한 ADCC 활성을 발휘함으로써 표적 세포를 살상하는 능력이 있는 것이 나타났다.

[0860] [참고 실시예 2] ATP 의존적 결합 특성을 갖는 항CTLA4 항체의 결정 구조 해석

[0861] (2-1) AMP를 스위치로 하는 항CTLA4 결합 항체 ABAM004의 X선 결정 구조 해석

[0862] 참고 실시예 1에 있어서 라이브러리로부터 취득된 AMP를 스위치로 하는 hCTLA4 결합 항체 ABAM004의 Fab 단편 단독, ABAM004의 Fab 단편과 AMP의 복합체, 및 ABAM004의 Fab 단편과 AMP, hCTLA4의 세포외 도메인의 복합체의 결정 구조가 해석되었다.

[0863] (2-2) 결정화용 ABAM004 전장 항체의 조제

[0864] 결정화용 ABAM004 전장 항체의 조제 및 정제는 당업자 공지된 방법에 의해 행해졌다.

[0865] (2-3) ABAM004 Fab 단편의 결정 구조 해석을 위한 Fab 단편의 조제

[0866] ABAM004의 Fab 단편을, rLys-C(Promega, 카탈로그 번호 V1671)에 의한 제한 소화, 계속해서, Fc 단편을 제거하기 위한 프로테인 A 칼럼(MabSelect SuRe, GE Healthcare), 양이온 교환 칼럼(HiTrap SP HP, GE Healthcare), 및 겔 여과 칼럼(Superdex200 16/60, GE Healthcare)으로의 로딩을 이용한다는, 종래의 방법에 의해 조제되었다. Fab 단편을 포함하는 획분은 풀드되고, -80℃에서 보존되었다.

[0867] (2-4) ABAM004 Fab 단편의 결정의 제작

[0868] 2-3의 방법으로 정제한 결정화용 ABAM004의 Fab 단편을 약 13mg/mL로 농축하고, 시팅 드롭 증기 확산법에 의해 20℃에서 결정화를 행했다. 리저버 용액은, 0.1M MES pH 6.5, 25% w/v 폴리에틸렌 글라이콜 4000으로 이루어지는 것이었다. 이에 의해 얻어진 결정을 0.08M MES pH 6.5, 20% w/v 폴리에틸렌 글라이콜 4000, 20% 에틸렌 글라이콜의 용액에 침지했다.

[0869] (2-5) ABAM004 Fab 단편의 결정으로부터의 X선 회절 데이터의 수집 및 구조 결정

[0870] X선 회절 데이터를, 고에너지 가속기 연구 기구의 방사광 시설 포톤 팩토리의 BL-17A로 측정했다. 측정 중, 결정을 항상 -178℃의 질소 유하에 두어 동결 상태를 유지하고, 빔 라인에 접속된 Quantum 270 CCD 검출기(ADSC)를 이용하여, 결정을 1회에 0.5° 회전시키면서, 합계 360매의 X선 회절 화상을 수집했다. 셀 파라미터의 결정, 회절 스폿의 인덱싱 및 회절상으로부터 얻어진 회절 데이터의 처리를, Xia2 프로그램(J. Appl. Cryst. 43: 186-190 (2010)), XDS 패키지(Acta. Cryst. D66: 125-132 (2010)), 및 Scala(Acta. Cryst. D62: 72-82 (2006))를 이용하여 행하고, 최종적으로 분해능 1.70Å까지의 회절 강도 데이터를 취득했다. 결정학적 데이터 통계값이 표 20에 나타난다.

[0871] 구조를, 프로그램 Phaser(J. Appl. Cryst. (2007) 40, 658-674)를 이용하여 분자 치환법에 의해 결정했다. Fab 단편의 서치 모델은, 공개된 Fab의 결정 구조(PDB 코드: 4NKI)에서 유래하는 것이었다. 모델을 Coot 프로그램(Acta Cryst. D66: 486-501(2010))으로 구축하고, 프로그램 Refmac5(Acta Cryst. D67: 355-467 (2011))로 정밀화했다. 52.92-1.70Å으로부터의 회절 강도 데이터의 결정학적 신뢰도 인자(R)는 16.92%이고, Free R값은 21.22%였다. 구조 정밀화 통계값은, 표 20에 나타난다.

표 20

X선 데이터 수집 및 정밀화 통계값

데이터 수집	ABAM004fab	ABAM004fab-AMP	ABAM004fab-AMP-CTLA4
공간군	$P2_12_12_1$	$P42_12$	$P4_12_12$
단위 격자			
a, b, c (Å)	64.27, 70.86, 79.59	135.75, 135.75, 66.04	72.29, 72.29, 309.31
α, β, γ (°)	90.00, 90.00, 90.00	90.00, 90.00, 90.00	90.00, 90.00, 90.00
분해능(Å)	52.92-1.70	47.33-2.89	52.81-3.09
전반사수	296585	181799	157732
독립 반사수	40500	14366	16037
완전성(최외각)(%)	99.6 (98.8)	100.0 (100.0)	99.9 (99.9)
R_{merge}[a](최외각)(%)	5.8 (67.6)	17.3 (88.7)	14.1 (65.2)
정밀화			
분해능(Å)	52.92-1.70	47.33-2.89	52.81-3.09
반사수	38523	13658	15145
R 인자[b] (R_{free}[c])(%)	16.92 (21.22)	19.97 (25.62)	23.49 (31.02)
이상값으로부터의 rms 편차			
결합 거리(Å)	0.0128	0.0037	0.0038
결합 각(°)	1.7102	0.9275	0.8442

a; $R_{merge} = \Sigma hkl \Sigma j | Ij(hkl) - \langle I(hkl) \rangle | / \Sigma hkl \Sigma j | Ij(hkl) |$, 여기에서 $Ij(hkl)$ 및 $\langle I(hkl) \rangle$은, 각각, 지수 hkl을 갖는 측정 j의 강도 및 반사의 평균 강도이다.

b; R 인자= $\Sigma hkl | F_{calc}(hkl) | - | F_{obs}(hkl) | / \Sigma hkl | F_{obs}(hkl) |$, 여기에서 F_{obs} 및 F_{calc}는, 각각, 관측된 및 계산된 구조 인자의 진폭이다.

c; R_{free}는, 랜덤으로 제외해 둔 반사의 5%를 이용하여 산출된다.

[0872]

[0873] (2-6) ABAM004 Fab 단편과 AMP 복합체, 및 AMP, hCTLA4 복합체의 결정 구조 해석을 위한 전장 항체로부터의 ABAM004 Fab 단편의 조제

[0874] ABAM004의 Fab 단편을, 파파인(Roche Diagnostics, 카탈로그 번호 1047825)에 의한 제한 소화, 계속해서, Fc 단편을 제거하기 위한 프로테인 A 칼럼(MabSelect SuRe, GE Healthcare), 양이온 교환 칼럼(HiTrap SP HP, GE Healthcare), 및 겔 여과 칼럼(Superdex200 16/60, GE Healthcare)으로의 로딩을 이용한다는, 종래의 방법에 의해 조제했다. Fab 단편을 포함하는 획분을 풀드하고, -80℃에서 보존했다.

[0875] (2-7) ABAM004 Fab 단편과 AMP 복합체의 결정의 제작

[0876] 2-6의 방법으로 정제한 결정화용 ABAM004의 Fab 단편을 약 13mg/mL로 농축한 것에 대해서, 종농도가 2mM이 되도록 AMP를 첨가하고, 시팅 드롭 증기 확산법에 의해 20℃에서 결정화를 행했다. 리저버 용액은, 0.1M Morpheus buffer 2 pH 7.5, 37.5% w/v MPD_P1K_P3350, 10% Morpheus Carboxylic acids(Morpheus, Molecular Dimensions)로 이루어지는 것이었다.

[0877] (2-8) ABAM004 Fab 단편과 AMP 복합체의 결정으로부터의 X선 회절 데이터의 수집 및 구조 결정

[0878] X선 회절 데이터를, 고에너지 가속기 연구 기구의 방사광 시설 포톤 팩토리의 BL-1A로 측정했다. 측정 중, 결정을 항상 -178℃의 질소 유하에 두어 동결 상태를 유지하고, 빔 라인에 접속된 Pilatus 2M 검출기(DECTRIS)를 이용하여, 결정을 1회에 0.25° 회전시키면서, 합계 720매의 X선 회절 화상을 수집했다. 셀 파라미터의 결정, 회절 스폿의 인덱싱 및 회절상으로부터 얻어진 회절 데이터의 처리를, Xia2 프로그램(J. Appl. Cryst. 43: 186-190 (2010)), XDS 패키지(Acta. Cryst. D66: 125-132 (2010)), 및 Scala(Acta. Cryst. D62: 72-82 (2006))를 이용하여 행하고, 최종적으로 분해능 1.70Å까지의 회절 강도 데이터를 취득했다. 결정학적 데이터 통계값이 표 20에 나타난다.

[0879] 구조를, 프로그램 Phaser(J. Appl. Cryst. (2007) 40, 658-674)를 이용하여 분자 치환법에 의해 결정했다. Fab 단편의 서치 모델은, 공개된 Fab의 결정 구조(PDB 코드: 4NKI)에서 유래하는 것이었다. 모델을 Coot 프로그램(Acta Cryst. D66: 486-501(2010))으로 구축하고, 프로그램 Refmac5(Acta Cryst. D67: 355-367 (2011))로 정밀화했다. 47.33-2.89Å으로부터의 회절 강도 데이터의 결정학적 신뢰도 인자(R)는 19.97%이고, Free R값은 25.62%였다. 구조 정밀화 통계값은, 표 20에 나타난다.

[0880] (2-9) hCTLA4 세포외 도메인의 조제

[0881] hCTLA4의 세포외 도메인은, 아바타셉트에 Endoproteinase Lys-C(Roche, 카탈로그 번호 11047825001)에 의한 제한 소화, 계속해서, Fc 단편을 제거하기 위한 프로테인 A 칼럼(MabSelect SuRe, GE Healthcare), 및 겔 여과 칼럼(Superdex200 10/300, GE Healthcare)으로의 로딩을 이용한다는 방법에 의해 조제했다. hCTLA4의 세포외 도메인을 포함하는 획분을 풀드하고, -80℃에서 보존했다.

[0882] (2-10) ABAM004 Fab 단편과 AMP 및 hCTLA4 세포외 도메인 복합체의 조제

[0883] 2-9의 방법으로 정제한 hCTLA4 세포외 도메인을, 2-6의 방법으로 정제한 ABAM004의 Fab 단편과 1.5:1의 몰비로 혼합하고, 종농도가 2mM이 되도록 AMP를 첨가했다. 복합체를, 25mM HEPES pH 7.5, 100mM NaCl, 2mM AMP로 평형화한 칼럼을 이용한 겔 여과 크로마토그래피(Superdex200 10/300, GE Healthcare)에 의해 정제했다.

[0884] (2-11) ABAM004 Fab 단편과 AMP 및 hCTLA4 세포외 도메인 복합체의 결정의 제작

[0885] 정제한 복합체를 약 8mg/mL로 농축하고, 시딩법과 조합한 시팅 드롭 증기 확산법에 의해 20℃에서 결정화를 행했다. 리저버 용액은, 0.1M Morpheus buffer 1 pH 6.5, 37.5% w/v M1K3350, 10% halogens(Morpheus, Molecular Dimensions)로 이루어지는 것이었다.

[0886] (2-12) ABAM004 Fab 단편과 AMP 및 hCTLA4 세포외 도메인 복합체의 결정으로부터의 X선 회절 데이터의 수집 및 구조 결정

[0887] X선 회절 데이터를, SPring-8의 BL32XU로 측정했다. 측정 중, 결정을 항상 -178℃의 질소 유하에 두어 동결 상태를 유지하고, 빔 라인에 접속된 MX-225HS CCD 검출기(RAYONIX)를 이용하여, 결정을 1회에 1.0° 회전시키면서, 합계 180매의 X선 회절 화상을 수집했다. 셀 파라미터의 결정, 회절 스폿의 인덱싱, 및 회절상으로부터 얻어진 회절 데이터의 처리를, Xia2 프로그램(J. Appl. Cryst. 43: 186-190 (2010)), XDS 패키지(Acta. Cryst. D66: 125-132 (2010)), 및 Scala(Acta. Cryst. D62: 72-82 (2006))를 이용하여 행하고, 최종적으로 분해능 1.70Å까지의 회절 강도 데이터를 취득했다. 결정학적 데이터 통계값이 표 20에 나타난다.

[0888] 구조를, 프로그램 Phaser(J. Appl. Cryst. (2007) 40, 658-674)를 이용하여 분자 치환법에 의해 결정했다. Fab 단편의 서치 모델은, 공개된 Fab의 결정 구조(PDB 코드: 4NKI)에서 유래하고, hCTLA4의 세포외 도메인의 서치 모델은, 공개된 인간 CTLA4의 결정 구조(PDB 코드: 3OSK, J. Biol. Chem. 286: 6685-6696 (2011))에서 유래하는 것이었다. 모델을 Coot 프로그램(Acta Cryst. D66: 486-501(2010))으로 구축하고, 프로그램 Refmac5(Acta Cryst. D67: 355-367 (2011))로 정밀화했다. 52.81-3.09Å으로부터의 회절 강도 데이터의 결정학적 신뢰도 인자(R)는 23.49%이고, Free R값은 31.02%였다. 구조 정밀화 통계값은, 표 20에 나타난다.

[0889] (2-13) ABAM004와 AMP의 상호작용 부위의 동정

[0890] 본 결정 구조로부터, AMP는, 주로 당해 항체의 중쇄에 의해 인식되는 것을 알 수 있었다.

[0891] AMP의 아데닌환 부분은 중쇄 CDR1, 3에 의해, 리보스 부분 및 인산기 부분은, CDR1, 2에 의해 인식된다.

[0892] 구체적으로는, 도 18에 나타내는 바와 같이, AMP의 아데닌환 부분은, 당해 항체의 중쇄 CDR1에 속하는 T33, CDR3에 속하는 Y95, L100B, W100C의 각 측쇄, 및 G96, M100A의 각 주쇄에 의해 인식된다. 특히, G96 및 M100A의 주쇄의 카보닐 산소는 AMP의 6위의 N과 수소 결합을 형성하고, W100C의 주쇄 아마이드 NH기는 1위의 N과 수소 결합을 형성하고, Y95, L100B, W100C의 측쇄는 아데닌환 부분이 갖는 파이 전자를 이용한 상호작용을 형성함으로써, 당해 항체는 강고하게 아데닌환 부분을 인식하는 것을 알 수 있었다. 리보스 부분은 중쇄 CDR1에 속하는 T33, CDR2에 속하는 Y56 및 Y58의 각 측쇄에 의해 반 데르 발스 상호작용이나 Y56이 갖는 파이 전자에 의한 상호작용에 의해 인식된다. 또한, 인산기 부분은 중쇄 CDR1에 속하는 T33, CDR2에 속하는 S52, S52A, R53의 각 측쇄, 및 S52A의 주쇄에 의해 인식된다. 특히, T33의 측쇄, 및 S52A의 주쇄 아마이드 NH기가 인산기 부분과 형성하는 수소 결합과, S52와 R53에 의한 반 데르 발스 상호작용이, 인산기 부분의 인식에 중요한 역할을 하고 있다고 생각된다. 한편, Fab의 아미노산의 잔기 번호매김은, Kabat 번호매김 스킴에 기초한다.

[0893] (2-14) ABAM004의 에피토프의 동정

[0894] 도 19, 및 도 20에서는, ABAM004 Fab 접촉 영역의 에피토프가, 각각, hCTLA4 결정 구조 중 및 아미노산 서열 중에 매핑되어 있다. 에피토프는, 결정 구조에 있어서 ABAM004 Fab 또는 AMP의 어느 부분으로부터 4.2Å 이내의 거리에 위치하는 비수소 원자를 1개 이상 포함하는 hCTLA4의 아미노산 잔기를 포함하고 있다.

[0895] 적어도, 항원의 M3, E33, R35, T53, E97, M99, Y100, P101, P102, P103, Y104, Y105, L106은, 당해 항체의 중쇄 CDR2, CDR3, 경쇄 CDR1, CDR3, 및 AMP에 의해 인식되는 것이 결정 구조로부터 밝혀졌다. 특히, 항원의 M99 내지 Y104로 이루어지는 루프가, 당해 항체의 CDR 루프 중에 묻히도록 당해 항체에 강하게 인식되고 있고, 항체에 의한 항원 인식에 큰 역할을 하고 있다고 생각된다.

[0896] (2-15) AMP 의존적인 항원 결합의 기구

[0897] 도 21은, ABAM004 Fab 단독의 결정 구조, ABAM004 Fab와 AMP의 복합체의 결정 구조, 및 ABAM004 Fab와 AMP 및 CTLA4로 이루어지는 3자 복합체의 결정 구조로부터, 당해 항체의 가변 영역을 추출하고, 중쇄를 중심으로 해서 중첩시킨 도면이다. AMP 의존적인 항원 결합은, 참고 실시예 2-14에서 나타낸 AMP와 CTLA4 사이의 직접적인 상호작용뿐만 아니라, AMP의 결합에 수반하는 당해 항체의 구조 변화가 중요하다고 생각된다.

[0898] 도 21에서 나타내는 바와 같이, 당해 항체의 단독의 결정 구조와, 당해 항체에 AMP가 결합한 결정 구조를 비교함으로써, 중쇄 CDR3과 경쇄 CDR3의 루프 구조, 및, 당해 항체의 가변 영역에 있어서의 중쇄와 경쇄 사이의 비틀림각도 변화하고 있는 것이 밝혀졌다. 더욱이, 당해 항체에 AMP가 결합한 결정 구조와, 당해 항체와 AMP와 CTLA4로 이루어지는 3자 복합체의 결정 구조를 비교하면, 중쇄 CDR3 및 경쇄 CDR1은, 항원의 결합에 의해 구조가 더 변화되어 있어, 항원 의존적인 구조 변화도 확인된다. 한편으로, 경쇄 CDR3의 루프 구조, 및 중쇄와 경쇄 사이의 비틀림각에는 변화가 없기 때문에, AMP의 결합이 당해 항체의 구조를, 항원 결합 시의 구조에 가까운 상태로 변화시킨 것은 아닐까 생각된다. 따라서, AMP의 결합에 수반하는 구조 변화는, 항원의 결합에 대비한 적절한 구조를 형성하기 위해서 필요하고, AMP 의존적인 항원 결합에 중요한 역할을 하고 있다고 생각된다.

[0899] 〔참고 실시예 3〕 개변된 CTLA4 항체의 제작, 및 그의 활성 평가

[0900] (3-1) ABAM004 항체의 CTLA4 결합 활성 증강 개변체의 제작

[0901] 참고 실시예 1에 기재된 인간 래셔널 디자인 파지 라이브러리로부터 취득된 ABAM004(VH 서열 번호: 10, VL 서열 번호: 11)는 아미노산 서열이 개변되어, 당해 서열과 ATP 유사체 비존재하의 CTLA4 결합 활성이 저하되고, ATP 유사체 존재하에서의 인간 CTLA4 결합 활성이 향상되고, ATP 및 ATP 유사체에의 결합이 향상되었다. 이 때문에 참고 실시예 2에 기재된 방법으로 취득된 ABAM004와 AMP의 공결정 구조 및 ABAM004와 AMP, 인간 CTLA4의 공결정 구조를 기초로 당해 결합에 관여할 것이 예상되는 잔기의 점변이체가 제작되었다. 추가로, CDR에 포함되는 전체 아미노산을 Ala 혹은 Pro로 치환한 개변체도 제작되었다. 당해 점변이체는 Biacore T200 혹은 Biacore 4000(GE Healthcare)에 의해 ATP 비존재하 및 ATP, ADP 혹은 AMP 존재하의 인간 CTLA4(Abatacept와 hCTLA4-His-BAP) 결합 활성이 측정되고, 당해 결합 활성을 향상시키는 변이가 스크리닝되었다. 결합 활성을 향상시킨 변이를 조합한 변이체가 제작되고, Biacore에 의해 KD값 산출이 행해졌다. 그 결과, ABAM004의 중쇄를 H32A, S52aT, 경쇄를 T24D, T26P, E50F(번호는 Kabat 번호)로 치환하면 ABAM004의 당해 결합 특성을 향상시키는 것이 밝혀졌다. 당해 변이체를 04H0150/04L0072(VH 서열 번호: 47, VL 서열 번호: 48)라고 호칭한다.

[0902] (3-2) 표면 플라즈몬 공명에 의한 ABAM004 및 04H0150/04L0072의 인간 CTLA4 결합 활성에 대한 ATP 및 그 대사물의 영향의 측정

[0903] 최초로 Biacore T200 측정용으로 칩이 작성되었다. Biacore T200의 설정 온도는 25℃, 유속은 10μL/min으로 되었다. 러닝 버퍼에는 HBS-EP+가 이용되었다. Sensor chip CM5(GE Healthcare)에 대해, NHS(N-hydroxysuccinimide)와 EDC(N-ethyl-N'-(dimethylaminopropyl) carbodiimide)의 등량 혼합액이 유속 10μL/min으로 10분간 첨가되어 flow cell이 활성화되었다. 다음으로 10mM sodium acetate pH 4.0에 현탁한 25μg/mL의 Protein A/G(Pierce)가 10μL/min으로 30분간 첨가되고 결합되었다. 그 후, flow cell 상의 과잉한 활성기는 1M ethanolamine-HCl이 10μL/min으로 10분간 첨가되어 블록되었다.

[0904] 다음으로 목적 항체의 인간 CTLA4에 대한 결합에 있어서의 ATP 및 그 대사물의 영향이 측정되었다. 설정 온도는 25℃이고, 러닝 버퍼에는 TBS가 이용되었다. 재생 용액에는 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)이 이용되었다. TBS에 현탁한 항체가 캡처된 후에, 500nM의 hCTLA4-His-BAP, 4000μM로부터 공비 4로 희석한 10 농도의 ATP, ADP 또는 AMP, 및 2mM $MgCl_2$를 포함하는 TBS 용액이 각 flow cell에 유속 10μL/min으로 3분간 인젝트되었다. 이 3분간을 hCTLA4-His-BAP의 결합상으로 했다. 결합상 종료 후, 러닝 버퍼로 전환된 2분간이 해리상으로 되었다. 해리상 종료 후, 재생 용액이 유속 30μL/min으로 30초간 인젝트되고, 이상이 결합 활성 측정 사이클로 되었다. 결합상에 있어서 ABAM004 및 04H0150/04L0072에 상호작용한 hCTLA4-His-BAP의 결합량은 캡처된 항체량으로 보정되어 도 22에 나타났다. 또한, ABAM004 및 04H0150/04L0072의 결합 측정에 있어서 결합상에 있어서의 소분자 농도가 62.5μM 혹은 1mM로 유지되고, 2000nM로부터 공비 2로 희석한 8 농도의 hCTLA4-His-BAP가 결합상에 이용되었다.

hCTLA4-His-BAP의 결합량의 해석으로부터 얻어진 KD값은 표 21에 나타난다. 데이터의 해석 및 작도에는 Biacore T200 Evaluation Software Version: 2.0 및 Microsoft Excel 2013(Microsoft)이 사용되었다. KD값의 산출에는 steady state affinity 모델이 이용되었다.

표 21

[0905]

리간드	피험 시료	KD (M)	
		SM 62.5 μM	SM 1 mM
04H0150/04L0072	hCTLA4_AMP	6.9E-07	2.3E-07
	hCTLA4_ADP	4.2E-07	3.2E-07
	hCTLA4_ATP	8.1E-07	3.2E-07
ABAM004	hCTLA4_AMP	4.3E-06	1.4E-06
	hCTLA4_ADP	2.5E-06	1.5E-06
	hCTLA4_ATP	5.5E-06	2.3E-06

[0906] SM은, 각각의 측정에서 이용된 소분자(ATP, ADP 또는 AMP)를 나타낸다.

[0907] (3-3) 망라적 개변의 도입에 의한 결합능의 증강

[0908] 보다 우수한 항CTLA4 항체를 제작하기 위해, 참고 실시예 3-1에 있어서 제작된 항인간 CTLA4 항체의 가변 영역인 04H0150/04L0072에 대해서 아미노산 개변이 망라적으로 도입되었다. PCR 등 당업자 공지된 방법에 의해 04H0150 및 04L0072의 모든 CDR에 대해서 시스테인을 제외한 전체 18 아미노산으로의 치환체가 제작되었다. 제작된 약 1200개의 개변체의 인간 CTLA4에 대한 결합 측정이 Biacore 4000을 이용하여 실시되었다. Series S Sensor Chip CM5(GE Healthcare)에 Protein A/G(Thermo Fisher Scientific)를 고정화한 칩에 대해서, 항체 개변체의 배양 상청을 상호작용시켜 항체가 캡쳐되었다. 다음으로 소분자(ATP, ADP, 혹은 AMP)를 첨가한 인간 CTLA4 용액, 혹은 소분자를 첨가하고 있지 않는 인간 CTLA4 용액을 상호작용시켜, 소분자 존재하, 및 소분자 비존재하에서의 항체와 인간 CTLA4의 결합능이 평가되었다. 러닝 버퍼로서 Tris buffered saline, 0.02% PS20을 이용하여, 25℃에서 측정이 행해졌다.

[0909] 상기의 방법을 이용하여 발견된, 소분자 존재하에서의 인간 CTLA4에 대한 결합을 증강하는 개변, 및 소분자가 존재하지 않는 조건하에서의 인간 CTLA4에 대한 결합을 저감하는 개변이 조합되어, 보다 우수한 프로파일을 나타내는 항인간 CTLA4 항체가 제작되었다. 중쇄 가변 영역으로서 04H0150을 갖고, 중쇄 정상 영역으로서 인간 IgG1의 C 말단의 Gly 및 Lys를 제거한 G1m(서열 번호: 82)을 갖는 항체 중쇄 04H0150-G1m(서열 번호: 209)의 유전자에 대해서, 망라적 개변 도입에 의해 발견된 개변 및 Framework에의 개변을 조합하여 항체 중쇄 유전자가 제작되었다. 또한 경쇄 가변 영역으로서 04L0072를 갖고, 경쇄 정상 영역으로서 인간 λ쇄 lam1(서열 번호: 87)을 갖는 항체 경쇄 04L0072-lam1(서열 번호: 208)에 대해서 발견된 개변을 조합한 항체 경쇄 유전자가 제작되었다. 추가로 경쇄 가변 영역의 Framework 및 정상 영역을 인간 κ쇄의 서열로 치환한 개변체도 아울러 제작되었다. 또한 비교 대상으로서 WO0114424에 기재된 기존의 항인간 CTLA4 항체의 중쇄 가변 영역 MDX10D1H(서열 번호: 154)를 갖는 항체 중쇄 MDX10D1H-G1m(서열 번호: 210)의 유전자와, 경쇄 가변 영역 MDX10D1L(서열 번호: 155)을 갖는 항체 경쇄 MDX10D1L-kOMT(서열 번호: 211)의 유전자가 제작되었다. 이들 유전자를 조합하여 당업자 공지된 방법으로 항체가 발현, 정제되어, 목적으로 하는 항CTLA4 항체가 제작되었다. 표 22는 제작된 항체의 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역, 중쇄 정상 영역, 경쇄 정상 영역, 및 초가변 영역(Hyper Variable Region)의 서

열 번호의 일람이다.

[0910] 한편, 본 명세서에 있어서의 항체는, 이하의 규칙에 따라 명명되고 있다; (중쇄 가변 영역)-(중쇄 정상 영역)/(경쇄 가변 영역)-(경쇄 정상 영역). 예를 들면, 04H0150-G1m/04L0072-lam1이라는 항체명이면, 본 항체의 중쇄 가변 영역은 04H0150, 중쇄 정상 영역은 G1m, 경쇄 가변 영역은 04L0072, 경쇄 정상 영역은 lam1인 것을 의미한다.

[0911] 중쇄, 경쇄, 및 그들의 초가변 영역의 아미노산 서열(서열 번호로 나타낸다)

표 22

[0912]

항체 명칭	가변 영역		정상 영역		초가변 영역 (Hyper Variable Region; HVR)					
	중쇄	경쇄	중쇄	경쇄	H1	H2	H3	L1	L2	L3
04H0150-G1m/04L0072-lam1	98	99	82	87	103	104	102	116	117	115
04H1077-G1m/04L1041-lam1	83	88	82	87	105	106	102	118	117	115
04H1077-G1m/04L1063-lam1	83	89	82	87	105	106	102	116	117	133
04H1077-G1m/04L1027-lam1	83	90	82	87	105	106	102	119	117	115
04H1077-G1m/04L1034-lam1	83	91	82	87	105	106	102	120	117	115
04H1077-G1m/04L1066-lam1	83	92	82	87	105	106	102	121	117	115
04H1077-G1m/04L1067-lam1	83	93	82	87	105	106	102	122	117	115
04H1077-G1m/04L1068-lam1	83	94	82	87	105	106	102	118	117	133
04H1077-G1m/04L1086-lam1	83	97	82	87	105	106	102	122	117	133
04H1077-G1m/04L1305-k0MT	83	95	82	96	105	106	102	122	117	133
04H1206-G1m/04L1086-lam1	84	97	82	87	105	106	102	122	117	133
04H1207-G1m/04L1086-lam1	85	97	82	87	107	106	102	122	117	133
04H1208-G1m/04L1086-lam1	86	97	82	87	107	108	102	122	117	133
04H1208-G1m/04L1407-k0MT	86	134	82	96	107	108	102	121	123	153

[0913] 제작된 항체의 인간 CTLA4에 대한 결합 측정이 Biacore T200을 이용하여 실시되었다. 러닝 버퍼로서 20mM ACES(pH 7.4), 150mM NaCl, 2mM $MgCl_2$, 0.05% Tween20에 대해서 목적하는 농도가 되도록 ATP를 첨가한 것이 이용되고, 37℃에서 측정이 행해졌다. 우선 Series S Sensor Chip CM3(GE Healthcare)에 Protein G(CALBIOCHEM)를 고정화한 칩에 대해서, ATP를 포함하지 않는 러닝 버퍼에서 조제한 항체 용액을 상호작용시킴으로써, 항체가 캡처되었다. 다음으로 목적하는 농도가 되도록 ATP가 첨가된 러닝 버퍼에서 조제된 인간 CTLA4 용액, 혹은 ATP를 포함하지 않는 러닝 버퍼에서 조제된 인간 CTLA4 용액을 상호작용시킴으로써, ATP 존재하, 및 ATP 비존재하에서의 항체와 인간 CTLA4의 결합능이 평가되었다. 칩은 25mM NaOH와 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)에 의해 재생되고, 반복해서 항체를 캡처하여 측정이 행해졌다. 각 항체의 CTLA4에 대한 해리 상수는, Biacore T200 Evaluation Software 2.0을 이용하여 산출되었다. 구체적으로는, 측정에 의해 얻어진 센서그램을 1:1 Langmuir binding model로 global fitting시킴으로써 결합 속도 상수 ka(L/mol/s), 해리 속도 상수 kd(1/s)가 산출되고, 그 값으로부터 해리 상수 KD(mol/L)가 산출되었다. 혹은 steady state model에 의해 해리 상수 KD(mol/L)가 산출되었다. 또한 측정에 의해 얻어진 센서그램으로부터 구해진 CTLA4의 결합량을 칩 표면에 포착한 항체의 양으로 보정함으로써, 단위 항체량당의 CTLA4의 결합량이 산출되었다. 표 23은 이들 측정 결과를 나타낸다.

[0914] 개변 항체의 인간 CTLA4에 대한 결합 해석

표 23

항체 명칭	인간 CTLA4에 대한 결합				인간 CTLA4에 대한 K_D (M)			
	ATP 없음	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM	ATP 없음	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM
MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT	0.189	0.189	0.181	0.170	4.8E-08	4.9E-08	4.5E-08
04H0150-G1m/04L0072-lam1	0.001	0.001	0.010	0.056	N.A.	N.A.	1.9E-06
04H1077-G1m/04L1041-lam1	0.006	0.023	0.094	0.172	N.A.	7.3E-07	1.4E-07
04H1077-G1m/04L1063-lam1	0.001	0.003	0.029	0.105	N.A.	N.A.	5.8E-07
04H1077-G1m/04L1027-lam1	0.000	0.001	0.024	0.099	N.A.	N.A.	6.7E-07
04H1077-G1m/04L1034-lam1	0.004	0.007	0.041	0.114	N.A.	N.A.	3.2E-07
04H1077-G1m/04L1066-lam1	0.020	0.057	0.142	0.185	*6.9E-06	2.8E-07	4.8E-08
04H1077-G1m/04L1067-lam1	0.012	0.041	0.131	0.192	N.A.	4.0E-07	7.6E-08
04H1077-G1m/04L1068-lam1	0.005	0.018	0.080	0.165	N.A.	8.8E-07	1.5E-07
04H1077-G1m/04L1086-lam1	0.010	0.031	0.106	0.181	N.A.	6.9E-07	1.1E-07
04H1077-G1m/04L1305-k0MT	0.018	0.046	0.128	0.185	*6.5E-06	3.6E-07	5.6E-08
04H1206-G1m/04L1086-lam1	0.010	0.029	0.103	0.179	N.A.	6.8E-07	1.2E-07
04H1207-G1m/04L1086-lam1	0.013	0.047	0.137	0.196	N.A.	3.3E-07	5.9E-08
04H1208-G1m/04L1086-lam1	0.005	0.030	0.108	0.170	N.A.	4.5E-07	7.4E-08
04H1208-G1m/04L1407-k0MT	0.138	0.175	0.200	0.214	*4.3E-07	2.3E-08	6.2E-09

N.A.; KD값의 결정에는 극히 약하다

*KD값은 정상 상태 모델(steady state model)로 결정했다.

[0915]

[0916] 표 중의 「인간 CTLA4에 대한 결합」의 값은, 기재되어 있는 각 ATP 농도 조건에 있어서 인간 CTLA4를 1000nM로 상호작용시켰을 때의 단위 항체량당의 인간 CTLA4의 결합량을 나타내고, 「인간 CTLA4에 대한 KD(M)」는 각 ATP 농도 조건에 있어서의 인간 CTLA4에 대한 해리 상수를 나타낸다. 표 중의 * 표시를 붙인 KD값은, steady state model로 산출되었다. 04H0150-G1m/04L0072-lam1을 친항체로 해서 제작된 개변체는 모두, ATP 존재하에서의 결합이 04H0150-G1m/04L0072-lam1과 비교해서 증강되어 있는 것이 나타났다. 또한 04H0150-G1m/04L0072-lam1 및 이들 개변체는, ATP가 1μM로 존재하는 조건하보다도 10μM 존재하에 있어서의 결합량이 많고, 100μM 존재하에 있어서의 결합량이 더 많았기 때문에, ATP 농도 의존적으로 인간 CTLA4에 결합하는 것이 나타났다. 한편, 비교 대상인 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT는 그와 같은 ATP 농도 의존적인 인간 CTLA4에의 결합을 나타내지 않았다. 04H1077-G1m/04L1086-lam1의 경쇄 Framework 및 정상 영역을 인간 κ쇄로 치환한 04H1077-G1m/04L1305-k0MT는 04H1077-G1m/04L1086-lam1과 비교해서 ATP 비존재하에서의 인간 CTLA4에 대한 결합이 증강되어 있었지만, ATP 농도 의존적인 결합도 증강되어 있었다. 이들 결과로부터, 인간 κ쇄 서열로의 치환을 행하더라도 ATP 의존적으로 인간 CTLA4에 결합하는 성질이 유지되는 것이 나타났다. 여기에서 제작된 항체 중, 04H1077-G1m/04L1066-

lam1, 04H1077-G1m/04L1305-k0MT, 04H1207-G1m/04L1086-lam1은, ATP가 100μM 존재하는 조건에 있어서 기존의 항인간 CTLA4 항체인 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT와 거의 동등한 결합 활성을 나타내고, 04H1208-G1m/04L1407-k0MT는 ATP가 10μM 이상 존재하는 조건하에서 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT보다도 강한 결합 활성을 나타냈다.

[0917] 다음으로, 표 23에 있어서 제작된 항체 중에서 04H1077-G1m/04L1086-lam1과 04H1208-G1m/04L1407-k0MT의 마우스 CTLA4에의 결합이 평가되었다. 비교 대상으로서 항마우스 CTLA4 항체의 중쇄 가변 영역 hUH02(서열 번호: 156)를 갖는 항체 중쇄 hUH02-G1d(서열 번호: 212)의 유전자와, 경쇄 가변 영역 hUL01(서열 번호: 157)을 갖는 항체 경쇄 hUL01-k0(서열 번호: 213)의 유전자가 제작되고, 발현, 정제하여 이용되었다. 인간 CTLA4에의 결합 측정과 마찬가지의 조건에서, 샘플로서 마우스 CTLA4를 이용하고, Biacore T200을 이용하여 측정이 실시되었다(표 24). 마우스 CTLA4의 조제는 이하와 같이 행해졌다.

[0918] 마우스 CTLA4 세포외 영역에 His 태그가 연결된 것(mCTLA4-His)(서열 번호: 49)이 유전자 합성되고, 동물 발현용 플라스미드에 삽입되었다. FreeStyle 293 Expression Medium 배지(Invitrogen)에 1.33×10^{6}세포/mL의 세포 밀도로 현탁되어, 플라스크에 파종된 인간 태아 신세포 유래 FreeStyle 293-F주(Invitrogen)에 대해서, 조제된 플라스미드가 리포펙션법에 의해 도입되었다. 분광 광도계를 이용하여, 정제된 항원 용액의 280nm에서의 흡광도가 측정되었다. 얻어진 측정값으로부터 PACE법에 의해 산출된 흡광 계수를 이용하여 정제된 항원의 농도가 산출되었다(Protein Science (1995) 4, 2411-2423).

[0919] 개변 항체의 마우스 CTLA4에 대한 결합 해석

표 24

	마우스 CTLA4에의 결합				마우스 CTLA4에 대한 K_D (M)	
항체 명칭	ATP없음	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM
hUH02-G1d/hUL01-k0	0.155	0.160	0.159	0.157	1.1E-07	1.1E-07
04H1077-G1m/04L1086-lam1	N.D.	0.001	0.024	0.093	4.1E-06	5.9E-07
04H1208-G1m/04L1407-k0MT	0.023	0.099	0.153	0.175	8.4E-08	1.6E-08

N.D.; 결합의 검출에는 극히 약하다

[0920]

[0921] 표 중의 「마우스 CTLA4에의 결합」의 값은, 기재되어 있는 각 ATP 농도 조건에 있어서 마우스 CTLA4를 1000nM에서 상호작용시켰을 때의 단위 항체량당의 마우스 CTLA4의 결합량을 나타내고, 「마우스 CTLA4에 대한 KD(M)」는 각 ATP 농도 조건에 있어서의 마우스 CTLA4에 대한 해리 상수를 나타낸다. hUH02-G1d/hUL01-k0이 ATP의 농도에 상관없이 마우스 CTLA4에 대해서 동일한 정도로 결합하는 데 비해, 04H1077-G1m/04L1086-lam1과 04H1208-G1m/04L1407-k0MT는 어느 쪽도 ATP 농도 의존적으로 마우스 CTLA4에 결합하는 것이 나타났다. 표 23에 나타낸 인간 CTLA4에의 결합능과 비교하면, 100μM의 ATP 존재하에서, 4H1077-G1m-04L1086-lam1의 마우스 CTLA4에의 결합능은 인간 CTLA4에의 결합능과 비교해서 약 5배 약하고, 04H1208-G1m/04L1407-k0MT의 마우스 CTLA4에의 결합능은 인간 CTLA4에의 결합능과 비교해서 약 2배 약했다.

[0922] (3-4) 항mCTLA4 컨트롤 항체 및 항mCTLA4 스위치 항체의 제작

[0923] 항mCTLA4 컨트롤 항체(hUH02-mFa55/hUL01-mk1 약명: mNS-mFa55) 및 항CTLA4 스위치(04H1077-mFa55/04L1086-m10r 약명: SW1077-mFa55, 04H1208-mFa55/04L1407s-mk1 약명: SW1208-mFa55)가 제작되었다. mNS-mFa55 항체는, 중쇄 가변 영역 hUH02(서열 번호: 16) 및 경쇄 가변 영역 hUL01(서열 번호: 17)을 이용하고, 정상 영역은 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55(서열 번호: 18) 및 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 mk1(서열 번호: 19)을 사용했다. 이때 Fcγ 수용체에의 결합을 증강하도록 개변을 가한 마우스 중쇄 정상 영역을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0924] SW1077-mFa55 항체는, 중쇄 가변 영역 04H1077(서열 번호: 20) 및 경쇄 가변 영역 04L1086(서열 번호: 21)을 이용하고, 정상 영역은 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55(서열 번호: 18) 및 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 m10r(서열 번호: 22)을 사용했다. 이때 Fcγ 수용체에의 결합을 증강하도록 개변을 가한 마우스 중쇄 정상 영역을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0925] SW1208-mFa55 항체는, 중쇄 가변 영역 04H1208(서열 번호: 23) 및 경쇄 가변 영역 04L1407s(서열 번호: 24)를 이용하고, 정상 영역은 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55(서열 번호: 18) 및 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 mk1(서열 번호: 19)을 사용했다. 이때 Fcγ 수용체에의 결합을 증강하도록 개변을 가한 마우스 중쇄 정상 영역을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0926] (3-6) CTLA4 스위치 항체의 중화 활성 평가

[0927] 참고 실시예 3-4에서 조제된 항CTLA4 스위치 항체(SW1077-mFa55)의 중화 활성은 경합 ELISA법에 의해 평가되었다. 96웰의 플레이트에, mCTLA4에 인간 정상 영역을 연결한 mCTLA4-Fc(서열 번호: 25)를 0.1M $NaHCO_3$, 0.05% NaN_3으로 5μg/mL(55nM)로 희석하고, 제작된 mCTLA4-Fc 용액을 100μL씩 가하고, 4℃에서 하룻밤 정치하여, 플레이트 표면에 고정화했다. TBS, 0.1% Tween20으로 3회 wash한 후에, TBS로 2%로 희석한 BSA 용액을 각 웰에 250μL 가하여, 플레이트 표면을 블로킹했다. 그 후, 3회 wash했다. 최종 농도가 55nM이 되도록 TBS로 희석한 마우스 CD86에 인간 정상 영역 및 His 태그가 융합된 mCD86-Fc-His(Sino Biologics Inc. 50068-M03H, Accession No. NP_062261.3), 최종 농도가 6.25, 1.56, 0.390, 0.0977, 0.0061, 0μg/mL가 되도록 희석한 SW1077-mFa55 항체 용액, 및 최종 농도가 0, 1, 10, 100μM이 되도록 희석한 ATP 용액을 각각 합계 100μL가 되도록 혼합하여, 각 웰에 가하고, 1시간 37℃에서 정치했다. 그 후, 각 웰에 가해진 용액의 ATP 농도와 동일한 ATP 농도를 포함하도록 조제된 TBS, 0.1% Tween20으로 각 웰을 3회 wash했다. 각 웰에 가해진 용액의 ATP 농도와 동일한 ATP 농도를 포함하도록 블로킹 버퍼로 10000배로 희석한 anti-His-tag mAb-HRP-Direct(MBL 라이프사이언스)를 각 웰에 100μL 가하고 1시간 37℃에서 정치했다. 그 후, 각 웰에 가해진 용액의 ATP 농도와 동일한 ATP 농도를 포함하도록 조제된 TBS, 0.1% Tween20으로 각 웰을 3회 wash했다. 거기에 TMB 용액을 각 웰에 100μL 가하고 1시간 37℃에서 정치하고, 1M H_2SO_4를 각 웰에 50μL 가하여 반응을 정지하고, 흡광 마이크로플레이트 리더(Wako Sunrise)로 450nm의 흡광도를 검출했다.

[0928] 동 ATP 농도 조건하에서의, 항체 미첨가 웰의 흡광도의 값을 mCTLA4-mCD86 결합률 100%로 하고, 항체 첨가로 그 결합률이 어느 정도 저하되는지를 평가했다. 그 결과를 도 23에 나타낸다.

[0929] 이 결과로부터 SW1077 항체의 mCTLA4-mCD86의 상호작용에 대한 중화 활성은 어세이 중에 있어서의 ATP 농도가 높으면 높을수록 강해지는 것이 나타났다. 이 결과로부터, SW1077 항체에는 ATP 의존적인 중화 활성이 있는 것이 확인되었다.

[0930] (3-7) 동계 종양 세포 이식 마우스 모델에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체의 약효, 종양 내의 제어성 T(Treg) 세포의 증감, 및 비장에 있어서의 전신 반응 마커의 동향

[0931] (3-7-1) 세포주 및 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0932] 세포는 리카가쿠 연구소로부터 구입한 마우스 유방암주 FM3A 세포를 이용했다. FM3A 세포는 10% Bovine serum(Thermo Fisher Scientific)을 포함하는 RPMI1640 배지(SIGMA)에서 유지 계대했다. 마우스는 일본 찰스리버사로부터 구입한 C3H/HeN 마우스(7주령, ♀)를 이용했다. 마우스의 복부 피하에 FM3A 세포를 이식하고, 이식 종양의 체적이 대략 150mm^3에서 300mm^3가 된 시점에서 모델 성립으로 했다.

[0933] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출했다.

[0934] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0935] (3-7-2) 투여 약제의 조제

[0936] FM3A 세포 이식 모델에의 투여 약제는, 참고 실시예 3-4에서 조제된 항마우스 CTLA4 컨트롤 항체(mNS-mFa55) 및 항CTLA4 스위치 항체(SW1208-mFa55)로 했다. mNS-mFa55는 0.0005mg/mL, 0.005mg/mL, 0.0125mg/mL, 0.05mg/mL, 0.5mg/mL, 1.5mg/mL, 5mg/mL가 되도록, SW1208-mFa55는 0.005mg/mL, 0.05mg/mL, 0.5mg/mL, 5mg/mL, 25mg/mL가 되도록, 각각 His-buffer(20mM His-HCl, 150mM NaCl, pH 6.0)를 이용하여 조제했다.

[0937] (3-7-3) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0938] 이식 후 9일째에, mNS-mFa55는 0.01mg/kg, 0.1mg/kg, 0.25mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 30mg/kg, 100mg/kg의 용량으로, SW1208-mFa55는 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, 500mg/kg의 용량으로, 각각 마우스에 투여했다. 투여는, 조제한 투여액을 20mL/kg의 용량으로, 미정맥으로부터 행했다.

[0939] 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세를 표 25에 나타냈다.

[0940] FM3A 세포 이식 모델에서의 항종양 효과 측정

표 25

[0941]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	4	His-buffer	–	미정맥	이식 후 9일
2	4	mNS-mFa55	0.01 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
3	4	mNS-mFa55	0.1 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
4	4	mNS-mFa55	0.25 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
5	4	mNS-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
6	4	mNS-mFa55	10 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
7	4	mNS-mFa55	30 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
8	4	mNS-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
9	4	SW1208-mFa55	0.1 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
10	4	SW1208-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
11	4	SW1208-mFa55	10 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
12	4	SW1208-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 9일
13	4	SW1208-mFa55	500 mg/kg	미정맥	이식 후 9일

[0942] (3-7-4) 항종양 효과의 평가

[0943] 항종양 효과에 대해서는, (3-7-1)에 기재한 계산식으로 산출한 종양 체적으로 평가했다.

[0944] 종양 증식 억제율(TGI: Tumor Growth Inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출했다.

[0945] TGI(%)=(1-(측정 시에 있어서의 주목하는 군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시에 있어서의 주목하는 군의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시의 control군의 종양 체적의 평균값))×100

[0946] 그 결과, mNS-mFa55는 0.1mg/kg 이상의 용량에 있어서, SW1208-mFa55는 1mg/kg 이상의 용량에 있어서, 투여 후 13일째에서 TGI=60% 이상의 약효를 나타냈다(도 24 및 도 25).

[0947] (3-7-5) 종양 내의 Treg 세포의 평가 및 비장에서의 전신성 작용 검증에 있어서의 약제 투여

[0948] 이식 후 7일째에 항마우스 CTLA4 컨트롤 항체(mNS-mFa55)를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg으로 미정맥으로부터 투여하고, 항CTLA4 스위치 항체(SW1208-mFa55)를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, 500mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 종양 내의 Treg 세포의 평가 및 비장에서의 전신성 작용 검증에 있어서의 약제 처치에 관한 상세를 표 26에 나타냈다.

[0949] FM3A 세포 이식 모델에서의 종양 내·전신성 작용 검증(mNS-mFa55 및 SW1208-mFa55)

표 26

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	3	His buffer	–	미정맥	이식 후 7일
2	3	mNS-mFa55	0.1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
3	3	mNS-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
4	3	mNS-mFa55	10 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
5	3	mNS-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
6	3	SW1208-mFa55	0.1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
7	3	SW1208-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
8	3	SW1208-mFa55	10 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
9	3	SW1208-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
10	3	SW1208-mFa55	500 mg/kg	미정맥	이식 후 7일

[0950]

[0951] (3-7-6) FM3A 세포 이식 모델 마우스로부터의 종양·비장의 적출

[0952] 항체 투여 후 6일째에, 마취하에서 마우스를 안락사 처치하고, 종양과 비장을 적출했다. 적출한 비장으로부터, 10% FBS(SIGMA)를 포함하는 RPMI-1640 배지(SIGMA)를 이용하여 세포 현탁액을 조제한 후, Mouse Erythrocyte Lysing kit(R&D)를 이용하여 용혈 처리하여, 비장 세포를 조제했다. 적출한 종양은, Tumor dissociation kit, mouse(miltenyi)를 이용하여 파쇄했다. 비장 세포, 종양을 파쇄한 것을 함께 이하의 항체와 반응시키고, FACS 해석에 의해 존재하는 면역 세포의 획분을 해석했다. 항CD45 항체(BD, 클론: 30-F11), 항CD3 항체(BD, 클론: 145-2 C11), 항CD4 항체(BD, 클론: RM4-5), 항FoxP3 항체(eBioscience, 클론: FJK-16s), 항ICOS 항체(eBioscience, 클론: 7E17G9), 항KLRG1 항체(Biolegend, 클론: 2F1/KLRG1). FACS 해석은 BD LSRFortessa X-20(BD)으로 행했다.

[0953] (3-7-7) FM3A 세포 이식 모델에서의 종양의 Treg 평가

[0954] 항마우스 CTLA4 컨트롤 항체(mNS-mFa55) 및 항CTLA4 스위치 항체(SW1208-mFa55) 투여 시의 종양 내의 effector Treg 세포($CD4^+$ $FoxP3^+$ $KLRG1^+$)의 변화를 평가했다. 그 결과, mNS-mFa55도 SW1208-mFa55도, 1mg/kg 이상의 dose에 있어서, effector Treg의 비율이 CD45 양성 세포의 0.2% 미만까지 감소했다(도 26).

[0955] (3-7-8) FM3A 세포 이식 모델에서의 비장의 전신 작용 평가

[0956] mNS-mFa55 및 SW1208-mFa55 투여 시의 비장 내의 활성화 helper T 세포($CD4^+$ $Foxp3^-$ $ICOS^+$)의 변화를, FACS 해석으로 평가했다. 그 결과, mNS-mFa55 투여 시에는 비장에서의 활성화 helper T 세포의 CD45 양성 세포에 대한 비율이 현저하게 증가했지만, SW1208-mFa55는 투여 dose를 올려가도, 비장에서의 활성화 helper T 세포의 CD45 양성 세포에 대한 비율을 현저하게 증가시키는 경우는 없었다(도 27). 당해 스위치 항체는 컨트롤 항체와 동등한 약효를 나타내는 한편으로, 종양 이외의 조직에서는 반응을 일으키지 않는 것이 확인되어, 종양 국소에서만 활성을 나타낸다는 콘셉트가 마우스 생체 내에서 증명되었다.

[0957] 〔참고 실시예 4〕 개변된 CTLA4 항체의 제작, 및 그의 활성 평가

[0958] 참고 실시예 3에 있어서 제작된 항CTLA4 스위치 항체의 추가적인 개변과 평가가 실시되었다.

[0959] (4-1) ATP에의 결합 증강 개변에 의한 CTLA4에의 결합능의 증강

[0960] 참고 실시예 2-1에 있어서 실시된 구조 해석의 결과로부터, 항체 중쇄의 CDR2가 AMP의 인산기와 상호작용하고 있는 것이 나타났다. 소분자가 ATP인 경우에는, γ 인산기가 중쇄 CDR2와 입체 장애를 일으킬 가능성이 생각되었기 때문에, 이 영역의 아미노산을 치환하여, ATP와의 결합능의 증강이 검토되었다. 구체적으로는, 참고 실시예 3에 있어서 제작된 04H1207-G1m/04L1086-1am1 및 04H1208-G1m/04L1086-1am1의 중쇄 가변 영역에 대해서 R53Q와 G55H의 개변을 도입한 04H1389-G1m/04L1086-1am1과, 04H1382-G1m/04L1086-1am1이 제작되었다. 또한 04H1389-G1m/04L1086-1am1의 경쇄를 인간 κ쇄의 서열로 치환한 04H1389-G1m/04L1305-kOMT가 제작되었다. 표

27은 이들 항체의 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역, 중쇄 정상 영역, 경쇄 정상 영역, 및 초가변 영역(Hyper Variable Region)의 서열 번호의 일람을 나타낸다.

[0961] 중쇄, 경쇄, 및 그들의 초가변 영역의 아미노산 서열(서열 번호로 나타낸다)

표 27

[0962]

항체 명칭	가변 영역		정상 영역		초가변 영역 (Hyper Variable Region; HVR)					
	중쇄	경쇄	중쇄	경쇄	H1	H2	H3	L1	L2	L3
04H1389-G1m/04L1086-lam1	136	97	82	87	107	110	102	122	117	133
04H1382-G1m/04L1086-lam1	135	97	82	87	107	109	102	122	117	133
04H1389-G1m/04L1305-k0MT	136	95	82	96	107	110	102	122	117	133

[0963] 제작된 개변체의 ATP에 대한 결합 및 인간 CTLA4에 대한 결합이 Biacore T200으로 평가되었다. ATP에 대한 결합 측정은, 러닝 버퍼로서 20mM ACES(pH 7.4), 150mM NaCl, 2mM $MgCl_2$, 0.05% Tween20이 이용되어, 37℃에서 실시되었다. 우선 Series S Sensor Chip CM3(GE Healthcare)에 Sure Protein A(GE Healthcare)를 고정화한 칩에 대해서, 러닝 버퍼에서 조제한 항체 용액을 상호작용시킴으로써, 항체가 캡처되었다. 다음으로 러닝 버퍼에서 조제된 ATP 용액을 상호작용시킴으로써, 항체와의 결합능이 평가되었다. 칩은 25mM NaOH와 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)을 이용하여 재생되고, 반복해서 항체를 캡처하여 측정이 행해졌다. 각 항체의 ATP에 대한 결합량은, ATP를 100nM의 농도로 인젝트했을 때의 결합량을 칩 표면에 포착한 항체의 양으로 보정함으로써, 단위 항체량당의 ATP의 결합량이 산출되었다. 인간 CTLA4에 대한 결합 측정은 참고 실시예 3-3에 기재된 방법으로 Biacore T200을 이용하여 실시되었다. 표 28은 이들 측정 결과를 나타낸다.

[0964] ATP 및 인간 CTLA4에 대한 결합 해석

표 28

항체 명칭	ATP에 대한 결합	인간 CTLA4에 대한 결합				인간 CTLA4에 대한 K_D (M)			
		ATP 없음	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM	ATP 없음	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM
04H1207-G1m/04L1086-lam1	0.00013	0.010	0.037	0.111	0.166	N.A.	4.0E-07	7.6E-08
04H1208-G1m/04L1086-lam1	0.00018	0.003	0.022	0.084	0.139	N.A.	5.1E-07	9.1E-08
04H1389-G1m/04L1086-lam1	0.00243	0.022	0.138	0.189	0.193	*5.1E-06	4.3E-08	2.1E-08
04H1382-G1m/04L1086-lam1	0.00204	0.008	0.090	0.152	0.159	N.A.	4.6E-08	1.4E-08
04H1389-G1m/04L1305-kOMT	0.00190	0.030	0.120	0.154	0.151	*3.2E-06	1.9E-08	5.4E-09

N.A.: KD값의 결정에는 극히 약하다
* KD값은 정상 상태 모델(steady state model)로 결정했다.

[0965]

[0966] 04H1389-G1m/04L1086-lam1과, 04H1382-G1m/04L1086-lam1은 R53Q/G55H 도입 전의 친항체 04H1207-G1m/04L1086-lam1 및 04H1208-G1m/04L1086-lam1과 비교해서 ATP에 대한 결합능이 증강되어 있었다. 04H1389-G1m/04L1086-lam1과, 04H1382-G1m/04L1086-lam1의 인간 CTLA4에 대한 결합능은, R53Q/G55H 도입 전의 친항체 04H1207-G1m/04L1086-lam1 및 04H1208-G1m/04L1086-lam1과 비교해서 10μM의 ATP 존재하에서 약 10배 증강되어 있었다. 결합량에서의 비교로부터, 보다 낮은 ATP 농도에서의 인간 CTLA4에의 결합능이 증강되어 있는 것이 나타났다. 04H1389-G1m/04L1086-lam1의 경쇄를 인간 κ쇄의 서열로 치환한 04H1389-G1m/04L1305-kOMT도, 04H1389-G1m/04L1086-lam1과 동등한 ATP 결합능, 및 ATP 의존적인 인간 CTLA4에의 결합능을 갖는 것이 나타났다.

[0967] (4-2) 항인간 CTLA4 컨트롤 항체 및 항CTLA4 스위치 항체의 제작과 결합능의 평가

[0968] 항인간 CTLA4 컨트롤 항체(MDX10D1H-mFa55/MDX10D1L-mk1 약명: hNS-mFa55) 및 항CTLA4 스위치 항체(04H1389-mFa55/04L1305-mk1 약명: SW1389-mFa55)가 제작되었다. hNS-mFa55 항체는, 중쇄 가변 영역 MDX10D1H(서열 번호: 26) 및 경쇄 가변 영역 MDX10D1L(서열 번호: 27)을 이용하고, 정상 영역은 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55(서열 번호: 18) 및 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 mk1(서열 번호: 19)을 사용하고 있다. 이때 Fcγ 수용체에의 결합을 증강하도록 개변을 가한 마우스 중쇄 정상 영역을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0969] SW1389-mFa55 항체는, 중쇄 가변 영역 04H1389(서열 번호: 29) 및 경쇄 가변 영역 04L1305(서열 번호: 30)를 이용하고, 정상 영역은 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55(서열 번호: 18) 및 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 mk1(서열 번호: 19)을 사용하고 있다. 이때 Fcγ 수용체에의 결합을 증강하도록 개변을 가한 마우스 중쇄 정상 영역을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[0970] 제작된 hNS-mFa55, SW1389-mFa55의 인간 CTLA4에 대한 결합이 평가되었다. 러닝 버퍼로서 20mM ACES(pH 7.4), 150mM NaCl, 2mM $MgCl_2$, 0.05% Tween20에 대해서 목적하는 농도가 되도록 ATP를 첨가한 것이 이용되고, 37℃에서 측정이 행해졌다. 우선 Series S Sensor Chip CM5(GE Healthcare)에 Rabbit Anti-Mouse IgG(Thermo Fisher Scientific)를 고정화한 칩에 대해서, ATP를 포함하지 않는 러닝 버퍼에서 조제한 항체 용액을 상호작용시킴으로써, 항체가 캡쳐되었다. 다음으로 목적하는 농도가 되도록 ATP가 첨가된 러닝 버퍼에서 조제된 인간 CTLA4 용액, 혹은 ATP를 포함하지 않는 러닝 버퍼에서 조제된 인간 CTLA4 용액을 상호작용시킴으로써, ATP 존재하, 및 ATP 비존재하에서의 항체와 인간 CTLA4의 결합능이 평가되었다. 칩은 25mM NaOH와 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)에 의해 재생되고, 반복해서 항체를 캡쳐하여 측정이 행해졌다. 각 항체의 CTLA4에 대한 해리 상수는, Biacore T200 Evaluation Software 2.0을 이용하여 산출되었다. 구체적으로는, 측정에 의해 얻어진 센서그램을 1:1 Langmuir binding model로 global fitting시킴으로써 결합 속도 상수 ka(L/mol/s), 해리 속도 상수 kd(1/s)가 산출되고, 그 값으로부터 해리 상수 KD(mol/L)가 산출되었다. 표 29는 이들 측정 결과를 나타낸다.

[0971] 마우스 정상 영역을 갖는 개변체의 인간 CTLA4에 대한 결합 해석

표 29

[0972]

항체 명칭	인간 CTLA4에 대한 K_D (M)		
	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM
MDX10D1H-mFa55/MDX10D1L-mk1	3.2E-08	3.8E-08	3.6E-08
04H1389-mFa55/04L1305-mk1	5.1E-08	1.8E-08	8.9E-09

[0973] 마우스 정상 영역으로 제작된 2항체는 모두, 인간 CTLA4에 결합하는 것이 확인되었다. 또한 SW1389-mFa55는, 표 28에 기재되어 있는 동일한 가변 영역과 인간 정상 영역으로 제작된 04H1389-G1m/04L1305-k0MT와 동등하게, ATP 의존적으로 인간 CTLA4에 결합하는 것이 나타났다.

[0974] (4-3) Human CTLA4 knock-in, human CD3 transgenic 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체, 항CTLA4 비스위치(non-switch) 항체 각각의 약효, 종양 내의 Treg 세포의 증감, 및 비장에 있어서의 전신 반응 마커의 동향

[0975] (4-3-1) 세포주

[0976] Hepa1-6/hGPC3 세포를 이용했다. 이 세포주는, 마우스 간암주 Hepa1-6 세포를 ATCC로부터 구입하고, human Glypican 3(hGPC3, 서열 번호: 181) 유전자를 transfection에 의해 항상 발현시키고, 클론화한 것이다. Hepa1-6/hGPC3 세포를 10% FBS(SIGMA) 및 600μg/mL GENETICIN(gibco)을 포함하는 D-MEM(high glucose) 배지(SIGMA)에서 유지 계대했다.

[0977] (4-3-2) 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[0978] Human CTLA4 knock-in 마우스(Blood (2005) 106(9): 3127-3133)와 사내에서 제작한 human CD3 EDG replaced mouse(Sci Rep (2017) 7: 45839)의 교잡 계통인, human CTLA4 KI, human CD3 EDG replaced 마우스(hCTLA4 KI hCD3 EDG replaced 마우스)를 이용했다. hCTLA4 KI hCD3 EDG replaced 마우스의 피하에 Hepa1-6/hGPC3 세포를 이식하고, 이식 종양의 체적의 평균이 대략 200mm^3에서 400mm^3가 된 시점에서 모델 성립으로 했다.

[0979] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출했다.

[0980] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[0981] (4-3-3) 투여 약제의 조제

[0982] Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에의 투여 약제로서는, 참고 실시예 4-2에서 조제된 항CTLA4 스위치 항체(SW1389-mFa55), 또는 항인간 CTLA4 컨트롤 항체(hNS-mFa55)를 각각 0.01, 0.1, 1, 5, 10, 20mg/mL, 0.01, 0.1, 1, 3mg/mL가 되도록 His buffer(150mM NaCl/20mM His-HCl buffer pH 6.0)를 이용하여 조제했다.

[0983] (4-3-4) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[0984] 이식 후 7일째에 SW1389-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, hNS-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 30mg/kg으로 마우스에 미정맥으로부터 투여했다. 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세를 표 30에 나타냈다.

[0985] Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에서의 항종양 효과 측정

표 30

[0986]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	4	His buffer	–	미정맥	이식 후 7일
2	4	hNS-mFa55	0.1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
3	4	hNS-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
4	4	hNS-mFa55	10 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
5	4	hNS-mFa55	30 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
6	4	SW1389-mFa55	0.1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
7	4	SW1389-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
8	4	SW1389-mFa55	10 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
9	4	SW1389-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 7일

[0987] (4-3-5) 항종양 효과의 평가

[0988] 항종양 효과에 대해서는, (4-3-2)에 기재한 계산식으로 산출한 종양 체적으로 평가했다. 통계 해석에는 JMP 11.2.1(SAS Institute Inc.)을 이용했다.

[0989] TGI(tumor growth inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출했다.

[0990] TGI=(1-(측정 시에 있어서의 주목하는 군의 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값))×100

[0991] 그 결과, hNS-mFa55, SW1389-mFa55 쌍방 모두 1mg/kg 이상의 dose에 있어서, 투여 후 18일째에서 TGI=60 이상의 약효를 나타냈다(도 28 및 도 29).

[0992] (4-3-6) 종양 내의 Treg 세포의 평가 및 비장에서의 전신성 작용 검증에 있어서의 약제 투여

[0993] 이식 후 7일째에 SW1389-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 100mg/kg, 500mg/kg으로 마우스에 미정맥으로부터 투여하고, hNS-mFa55를 0.1mg/kg, 1mg/kg, 10mg/kg, 30mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 종양 내의 Treg 세포의 평가 및 비장에서의 전신성 작용 검증에 있어서의 약제 처치에 관한 상세를 표 31에 나타냈다.

[0994] Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에서의 종양 내·전신성 작용 검증(hNS-mFa55 및 SW1389-mFa55)

표 31

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	3	His buffer	–	미정맥	이식 후 7일
2	3	hNS-mFa55	0.1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
3	3	hNS-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
4	3	hNS-mFa55	10 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
5	3	hNS-mFa55	30 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
6	3	SW1389-mFa55	0.1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
7	3	SW1389-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
8	3	SW1389-mFa55	10 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
9	3	SW1389-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 7일
10	3	SW1389-mFa55	500 mg/kg	미정맥	이식 후 7일

[0995]

[0996] (4-3-7) Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델 마우스로부터의 종양·비장의 적출

[0997] 항체 투여 후 6일째에, 마취하에서 마우스를 안락사 처치하고, 종양과 비장을 적출했다. 적출한 비장으로부터, 10% FBS(SIGMA)를 포함하는 RPMI-1640 배지(SIGMA)를 이용하여 세포 현탁액을 조제한 후, Mouse Erythrocyte Lysing kit(R&D)를 이용하여 용혈 처리하여, 비장 세포를 조제했다. 적출한 종양은, Tumor dissociation kit, mouse(miltenyi)를 이용하여 파쇄했다. 비장 세포, 종양을 파쇄한 것을 함께 이하의 항체와 반응시키고, FACS 해석에 의해 존재하는 면역 세포의 획분을 해석했다. 항CD45 항체(BD, 클론: 30-F11), 항CD3 항체(BD, 클론: UCHT1), 항CD4 항체(BD, 클론: RM4-5), 항FoxP3 항체(eBioscience, 클론: FJK-16s), 항ICOS 항체(eBioscience, 클론: 7E17G9), 항CCR7 항체(Biolegend, 클론: 4B12), 항KLRG1 항체(Biolegend, 클론: 2F1/KLRG1). FACS 해석은 BD LSRFortessa X-20(BD)으로 행했다.

[0998] (4-3-8) Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에서의 종양의 Treg 평가

[0999] SW1389-mFa55 투여 시, 및 hNS-mFa55 투여 시의 종양 내의 effector Treg 세포($CD4^+$ $FoxP3^+$ $CCR7^{low}$ $KLRG1^+$)의 변화를 평가했다. 그 결과, hNS-mFa55도 SW1389-mFa55도, 1mg/kg 이상의 dose에 있어서, effector Treg의 비율이 CD45 양성 세포의 0.2% 미만까지 감소했다(도 30).

[1000] (4-3-9) Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에서의 비장의 전신 작용 평가

[1001] hNS-mFa55 또는 SW1389-mFa55 투여 시의, 비장 내의 활성화 helper T 세포($CD4^+$ $Foxp3^-$ $ICOS^+$)의 변화를, FACS 해석으로 평가했다. 그 결과, hNS-mFa55 투여 시에는 비장에서의 활성화 helper T 세포의 CD45 양성 세포에 대한 비율이 현저하게 증가했지만, SW1389-mFa55 투여 시에는 투여 dose를 올려가도 비장에 있어서의 활성화 helper T 세포의 현저한 증가는 보이지 않았다(도 31). 당해 스위치 항체는 컨트롤 항체와 동등한 약효를 나타내는 한편으로, 종양 이외의 조직에서는 반응을 일으키지 않는 것이 확인되어, 종양 국소에서만 활성을 나타낸다는 콘셉트가 인간 CTLA4 KI 마우스 생체 내에서 증명되었다.

[1002] [참고 실시예 5] 개변된 CTLA4 항체의 제작, 및 그의 활성 평가

[1003] 참고 실시예 4에 있어서 제작된 항CTLA4 스위치 항체의 추가적인 개변과 평가가 실시되었다.

[1004] (5-1) 망라적 개변의 도입 및 Framework의 치환에 의한 항체의 최적화

[1005] 04H1389-G1m/04L1086-1am1의 CDR에 대해서, 아미노산 개변이 망라적으로 도입되고, 보다 우수한 프로파일을 갖는 개변이 탐색되었다. 아미노산 개변의 망라적 도입 및 평가는 참고 실시예 3-3에 기재된 방법을 이용하여 행해졌다. 여기에서 발견된 개변의 조합 및 Framework를 치환한 개변체가 제작되었다. 표 32는 이들 항체의 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역, 중쇄 정상 영역, 경쇄 정상 영역, 및 초가변 영역(Hyper Variable Region)의 서열번호의 일람을 나타낸다. 표 32 중의 경쇄 04L1594-1am1, 04L1581-1am1, 04L1610-1am1, 04L1612-1am1,

04L1610-lam1은 친항체의 경쇄 04L1086-lam1에 대해서 CDR 및 framework에의 개변이 도입되어 있고, 인간 λ쇄의 germline 서열의 framework와 정상 영역을 갖는다. 또한 04L1615-kOMT, 04L1616-kOMT, 04L1617-kOMT는, 04L1086-lam1에 대해서 CDR에의 개변이 도입되고, 또한 인간 κ쇄의 germline 서열의 framework와 정상 영역을 갖는다. 중쇄 가변 영역 04H1389v373은 친항체의 중쇄 가변 영역 04H1389의 CDR에의 개변이 도입된 것, 04H1637, 04H1643, 04H1654, 04H1656, 04H1642, 04H1735는 04H1389의 CDR에 개변이 도입됨과 함께, Framework의 서열을 상이한 germline으로 치환한 중쇄 가변 영역이다.

[1006] 중쇄, 경쇄, 및 그들의 초가변 영역의 아미노산 서열(서열 번호로 나타낸다)

표 32

항체 명칭	가변 영역		정상 영역		초가변 영역 (Hyper Variable Region; HVR)					
	중쇄	경쇄	중쇄	경쇄	H1	H2	H3	L1	L2	L3
04H1389v373-G1m/04L1086-lam1	137	97	82	87	107	111	102	122	117	133
04H1637-G1m/04L1086-lam1	138	97	82	87	107	111	102	122	117	133
04H1637-G1m/04L1594-lam1	138	144	82	87	107	111	102	124	125	133
04H1637-G1m/04L1581-lam1	138	145	82	87	107	111	102	126	127	133
04H1637-G1m/04L1610-lam1	138	146	82	87	107	111	102	128	117	133
04H1643-G1m/04L1610-lam1	139	146	82	87	107	111	102	128	117	133
04H1654-G1m/04L1610-lam1	140	146	82	87	107	112	102	128	117	133
04H1656-G1m/04L1610-lam1	141	146	82	87	107	111	152	128	117	133
04H1654-G1m/04L1612-lam1	140	147	82	87	107	112	102	129	117	133
04H1656-G1m/04L1612-lam1	141	147	82	87	107	111	152	129	117	133
04H1654-G1m/04L1606-lam1	140	148	82	87	107	112	102	124	117	133
04H1656-G1m/04L1606-lam1	141	148	82	87	107	111	152	124	117	133
04H1389-G1m/04L1615-kOMT	136	149	82	96	107	110	102	130	117	133

[1007]

[1008] 제작된 개변체의 인간 CTLA4에의 결합 활성이 참고 실시예 3-3에 기재된 방법으로 평가되었다(표 33).

[1009] 인간 CTLA4에 대한 결합 해석

표 33

항체 명칭	인간 CTLA4에 대한 K_D (M)		
	ATP 없음	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM
MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT	4.8E-08	5.0E-08	4.9E-08
04H1389-G1m/04L1086-lam1	*5.7E-06	1.8E-07	3.7E-08
04H1389v373-G1m/04L1086-lam1	*5.3E-06	1.4E-07	2.8E-08
04H1637-G1m/04L1086-lam1	*5.3E-06	1.6E-07	3.0E-08
04H1637-G1m/04L1594-lam1	*4.3E-06	1.4E-07	2.8E-08
04H1637-G1m/04L1581-lam1	*3.2E-06	8.9E-08	1.7E-08
04H1637-G1m/04L1610-lam1	*3.3E-06	1.0E-07	1.8E-08
04H1643-G1m/04L1610-lam1	*2.8E-06	8.9E-08	1.4E-08
04H1654-G1m/04L1610-lam1	*5.3E-06	1.2E-07	1.9E-08
04H1656-G1m/04L1610-lam1	*2.2E-06	9.8E-08	1.9E-08
04H1654-G1m/04L1612-lam1	*4.8E-06	2.0E-07	3.3E-08
04H1656-G1m/04L1612-lam1	*7.6E-06	1.6E-07	3.2E-08
04H1654-G1m/04L1606-lam1	*6.8E-06	1.4E-07	2.5E-08
04H1656-G1m/04L1606-lam1	*2.3E-06	9.5E-08	1.9E-08
04H1389-G1m/04L1305-k0MT	*2.4E-06	8.2E-08	1.5E-08
04H1389-G1m/04L1615-k0MT	*2.0E-06	7.2E-08	1.5E-08

*: KD값은 정상 상태 모델(steady state model)로 결정했다.

[1010]

[1011] 표 중의 *표를 붙인 KD값은, steady state model로 산출되었다. 04H1389-G1m/04L1086-lam1을 친항체로 해서 제작된 개변체는 모두, ATP 의존적으로 인간 CTLA4에 결합하고, ATP가 10μM 존재하는 조건하에서 3.7×10^{-8}M의 KD를 나타내는 친항체보다도 강한 결합능을 갖는 것이 나타났다. 또한 이들 항체는 모두 ATP가 10μM 존재하는 조건하에서 기존의 항인간 CTLA4 항체 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT보다도 강한 결합능을 갖는 것이 나타났다.

[1012] 제작된 개변체의, ADP, AMP 존재하에서의 인간 CTLA4에의 결합능이 Biacore T200으로 평가되고, ATP 존재하에서의 결합능과 비교되었다. ADP, AMP 존재하에서의 인간 CTLA4에의 결합능은, ATP 존재하에서의 결합능의 평가와 동일하게, 참고 실시예 3-3에 기재되어 있는 방법을 이용하여 행해지고, ATP 대신에 ADP, 혹은 AMP를 이용하여 실시되었다(표 34).

[1013] ATP, ADP 및 AMP 의존성의 평가

표 34

[1014]

인간 CTLA4에 대한 속도론적 파라미터										
항체 명칭	ATP = 10 μM			ADP = 10 μM			AMP = 10 μM			
	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (M)	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (M)	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (M)
MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-kOMT	2.9E+05	1.3E-02	4.6E-08	3.6E+05	1.3E-02	3.6E-08	3.4E+05	1.3E-02	3.9E-08
04H1389-G1m/04L1086-lam1	1.0E+05	3.2E-03	3.2E-08	1.4E+05	6.1E-03	4.4E-08	1.4E+05	1.8E-02	1.3E-07
04H1637-G1m/04L1610-lam1	1.2E+05	1.9E-03	1.5E-08	1.6E+05	3.5E-03	2.2E-08	1.5E+05	1.0E-02	7.0E-08
04H1654-G1m/04L1610-lam1	7.1E+04	1.4E-03	1.9E-08	8.8E+04	2.8E-03	3.2E-08	8.9E+04	8.9E-03	1.0E-07
04H1656-G1m/04L1610-lam1	1.3E+05	1.9E-03	1.5E-08	1.7E+05	4.3E-03	2.5E-08	1.7E+05	1.4E-02	8.2E-08
04H1654-G1m/04L1612-lam1	7.4E+04	2.7E-03	3.6E-08	8.9E+04	5.0E-03	5.6E-08	9.4E+04	1.6E-02	1.7E-07
04H1656-G1m/04L1612-lam1	1.1E+05	2.9E-03	2.6E-08	1.5E+05	6.4E-03	4.2E-08	1.5E+05	2.0E-02	1.3E-07
04H1654-G1m/04L1606-lam1	6.5E+04	1.3E-03	2.1E-08	8.0E+04	2.8E-03	3.5E-08	8.1E+04	9.0E-03	1.1E-07
04H1656-G1m/04L1606-lam1	1.2E+05	2.2E-03	1.9E-08	1.6E+05	4.8E-03	3.0E-08	1.6E+05	1.6E-02	1.0E-07
04H1389-G1m/04L1305-kOMT	1.1E+05	1.9E-03	1.7E-08	1.6E+05	3.8E-03	2.5E-08	1.5E+05	1.2E-02	7.9E-08
04H1389-G1m/04L1615-kOMT	1.3E+05	1.5E-03	1.1E-08	1.8E+05	3.0E-03	1.7E-08	1.7E+05	9.7E-03	5.5E-08

[1015] 기존의 인간 CTLA4 항체인 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-kOMT가 소분자의 종류나 유무에 관계없이 동일한 정도의 속도론적 파라미터(kinetic parameter)를 나타낸 것에 비해, ATP 의존성 항CTLA4 항체는 모두 ATP뿐만 아니라 ADP, AMP 존재하에서도 인간 CTLA4에 대해서 결합하고, 이들 소분자가 존재하는 조건에서의 결합능은, 표 33에 나타나는 소분자가 존재하지 않는 조건에서의 결합능보다도 높았다. 따라서 이들 항체는 ATP, ADP, AMP 의존적으로 CTLA4에 결합하는 항체인 것이 나타났다. 이들 항체는 ATP 존재하에서 가장 결합능이 높고, 계속해서 ADP 존재하에서의 결합능이 높고, AMP 존재하에서의 결합능이 가장 낮았다. 모두 AMP 존재하에서의 결합능보다도 ADP 존재하에서의 결합능이 약 3배 강하고, AMP 존재하에서의 결합능보다도 ATP 존재하에서의 결합능이 약 5배 강했다. 어느 소분자 존재하에서도 ka의 값은 동일한 정도였지만, kd의 값에 차가 보이고, ATP 존재하보다도 ADP 존재하에서의 해리가, 더욱이 ADP 존재하보다도 AMP 존재하에서의 해리가 빨랐기 때문에, 소분자의 종류에 따른 KD값의 차는 해리 속도의 차에서 유래하는 것이 나타났다.

[1016] 다음으로 몇 개의 개변체에 대하여 마우스 CTLA4 및 필리핀원숭이 CTLA4에의 결합능이 평가되었다. 참고 실시예 3-3에 기재된 방법으로, Biacore T200을 이용하여 인간 CTLA4, 마우스 CTLA4, 필리핀원숭이 CTLA4에 대한 결합

활성이 평가되었다(표 35). 필리핀원숭이 CTLA4는 이하의 방법으로 조제되었다.

[1017] 필리핀원숭이 CTLA4 세포외 영역 C 말단에 His 태그 및 BAP 태그가 융합한 것 cyCTLA4-His-BAP(서열 번호: 50)가 유전자 합성되고, 동물 발현용 플라스미드에 삽입되었다. FreeStyle 293 Expression Medium 배지(Invitrogen)에 1.33×10^{6}세포/mL의 세포 밀도로 현탁되어, 플라스크에 파종된 인간 태아 신세포 유래 FreeStyle 293-F주(Invitrogen)에 대해서, 조제된 플라스미드가 리포펙션법에 의해 도입되고, 플라스미드 도입 후 3시간 후에 비오틴이 종농도 100μM이 되도록 첨가되고, CO_2 인큐베이터(37℃, 8% CO_2, 125rpm)에서 4일간 배양되었다. 각 검체의 배양 상청으로부터, 당업자 공지된 방법으로 항원이 정제되었다. 분광 광도계를 이용하여, 정제된 항원 용액의 280nm에서의 흡광도가 측정되었다. 얻어진 측정값으로부터 PACE법에 의해 산출된 흡광계수를 이용하여 정제된 항원의 농도가 산출되었다(Protein Science (1995) 4, 2411-2423).

[1018] 인간, 마우스, 및 필리핀원숭이 CTLA4에 대한 결합 해석

표 35

항체 명칭	인간 CTLA4에 대한 K_D (M)			마우스 CTLA4에 대한 K_D (M)			원숭이 CTLA4에 대한 K_D (M)		
	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM
MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-k0MT	4.7E-08	5.3E-08	5.4E-08	N.T.	N.T.	N.T.	1.6E-07	1.2E-07	1.2E-07
04H1389-G1m/04L1305-k0MT	7.2E-08	1.4E-08	4.6E-09	2.1E-07	3.2E-08	1.2E-08	1.4E-07	2.6E-08	1.2E-08
04H1654-G1m/04L1610-lam1	1.1E-07	1.5E-08	4.4E-09	1.8E-07	2.7E-08	1.0E-08	1.8E-07	2.8E-08	8.1E-09
04H1656-G1m/04L1610-lam1	7.9E-08	1.6E-08	6.2E-09	2.3E-07	3.7E-08	1.4E-08	1.2E-07	2.6E-08	1.0E-08
04H1654-G1m/04L1612-lam1	1.7E-07	3.0E-08	1.1E-08	3.9E-07	4.8E-08	1.8E-08	3.1E-07	5.4E-08	2.1E-08
04H1656-G1m/04L1612-lam1	9.5E-08	2.5E-08	7.8E-09	3.2E-07	5.4E-08	2.1E-08	1.6E-07	4.1E-08	1.6E-08
04H1389-G1m/04L1615-k0MT	5.8E-08	1.2E-08	5.0E-09	1.6E-07	2.6E-08	1.0E-08	1.1E-07	2.1E-08	9.3E-09

N.T.; 미시험

[1019]

[1020] 평가된 6종류의 소분자 의존성 CTLA4 항체는 모두, 인간 CTLA4뿐만 아니라 마우스 CTLA4 및 필리핀원숭이 CTLA4

에 대해서도 ATP 의존적으로 결합하는 것이 나타났다.

[1021] (5-2) 개변된 항CTLA4 스위치 항체 및 음성 컨트롤 항체의 제작

[1022] 개변된 항CTLA4 스위치 항체(04H1654-mFa55m2P1/04L1610-m10r//04H1656-mFa55m2N1/04L1610-m10r 약명: SW1610-mFa55, 04H1654-mFa55m2P1/04L1612-m10r//04H1656-mFa55m2N1/04L1612-m10r 약명: SW1612-mFa55, 및 04H1389-mFa55/04L1615-mk1 약명: SW1615-mFa55), 및 음성 컨트롤 항체(IC17Hdk-mFa55/IC17L-mk1 약명: KLH-mFa55)가 제작되었다.

[1023] SW1615-mFa55 항체는, 중쇄 가변 영역 04H1389(서열 번호: 29) 및 경쇄 가변 영역 04L1615(서열 번호: 34)를 이용하고, 정상 영역은 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55(서열 번호: 18) 및 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 mk1(서열 번호: 19)을 사용하고 있다. 이때 Fcγ 수용체에의 결합을 증강하도록 개변을 가한 마우스 중쇄 정상 영역을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1024] SW1610-mFa55 항체는, 한쪽의 중쇄 가변 영역 04H1654(서열 번호: 35)는 정상 영역으로서 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55m2P1(서열 번호: 36)을, 다른 한쪽의 중쇄 가변 영역 04H1656(서열 번호: 37)은 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55m2N1(서열 번호: 38)을 연결하고, 또 경쇄 가변 영역 04L1610(서열 번호: 39)은 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 m10r(서열 번호: 22)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1025] SW1612-mFa55 항체는, 한쪽의 중쇄 가변 영역 04H1654(서열 번호: 35)는 정상 영역으로서 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55m2P1(서열 번호: 36)을, 다른 한쪽의 중쇄 가변 영역 04H1656(서열 번호: 37)은 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55m2N1(서열 번호: 38)을 연결하고, 또 경쇄 가변 영역 04L1612(서열 번호: 40)는 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 m10r(서열 번호: 22)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1026] 음성 컨트롤 항체는, 중쇄 가변 영역 IC17Hdk(서열 번호: 51)는 정상 영역으로서 마우스 중쇄 정상 영역 mFa55(서열 번호: 18)를 연결하고, 또 경쇄 가변 영역 IC17L(서열 번호: 52)은 야생형 마우스 경쇄 정상 영역 mk1(서열 번호: 19)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1027] (5-3) 마우스 정상 영역을 갖는 항체의 인간 CTLA4에의 결합능의 평가

[1028] 마우스 정상 영역을 갖는 항CTLA4 항체의 항원에의 결합능이 참고 실시예 4-2에 기재된 방법으로 평가되었다(표 36). 마우스 정상 영역을 갖는 이들 항체는 모두, 동일한 가변 영역이고 또한 인간 정상 영역을 갖는 표 35에 기재된 항체와 동등한 ATP 의존적인 인간 CTLA4에의 결합능을 갖는 것이 나타났다.

[1029] 마우스 정상 영역을 갖는 개변체의 인간 CTLA4에 대한 결합 해석

표 36

[1030]

	인간 CTLA4에 대한 K_D (M)		
항체 명칭	ATP = 1 μM	ATP = 10 μM	ATP = 100 μM
MDX10D1H-mFa55/MDX10D1L-mk1	3.2E-08	3.8E-08	3.6E-08
04H1654-mFa55m2P1/04L1610-m10r	5.8E-08	1.7E-08	8.5E-09
04H1656-mFa55m2N1/04L1610-m10r	4.7E-08	1.3E-08	7.4E-09
04H1654-mFa55m2P1/04L1612-m10r	9.4E-08	2.9E-08	1.2E-08
04H1656-mFa55m2N1/04L1612-m10r	6.7E-08	2.0E-08	1.0E-08
04H1389-mFa55/04L1615-mk1	4.5E-08	1.5E-08	8.7E-09

[1031] (5-4) Human CTLA4 knock-in, human CD3 transgenic 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델에 있어서의 항CTLA4 스위치 항체의 약효, 종양 내의 Treg 세포의 증감, 및 비장에 있어서의 전신 반응 마커의 동향

[1032] (5-4-1) 세포주

[1033] Hepa1-6/hGPC3 세포를 이용했다. 이 세포주는, 마우스 간암주 Hepa1-6 세포를 ATCC로부터 구입하고, human Glypican 3(hGPC3) 유전자를 transfection에 의해 항상 발현시키고, 클론화한 것이다. Hepa1-6/hGPC3 세포는

10% FBS(SIGMA) 및 0.6mg/mL G418(나칼라이 테스크)을 포함하는 D-MEM(high glucose) 배지(SIGMA)에서 유지 계대했다.

[1034] (5-4-2) 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[1035] Human CTLA4 knock-in 마우스(Blood (2005) 106(9): 3127-3133)와 사내에서 제작한 human CD3 EDG replaced mouse(Sci Rep (2017) 7: 45839)의 교잡 계통인, human CTLA4 KI, human CD3 EDG replaced 마우스(hCTLA4 KI hCD3 EDG replaced 마우스)를 이용했다. hCTLA4 KI hCD3 EDG replaced 마우스의 피하에 Hepa1-6/hGPC3 세포를 이식하고, 이식 종양의 체적의 평균이 대략 200mm^3에서 400mm^3가 된 시점에서 모델 성립으로 했다.

[1036] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출했다.

[1037] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[1038] (5-4-3) 투여 약제의 조제

[1039] Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에의 투여 약제는, 참고 실시예 5-2에서 조제된 항CTLA4 스위치 항체(SW1610-mFa55, SW1612-mFa55, SW1615-mFa55)로 했다. 투여 약제는 0.03mg/mL, 0.1mg/mL, 0.3mg/mL가 되도록 His-buffer(20mM His-HCl, 150mM NaCl, pH 6.0)를 이용하여 조제했다.

[1040] (5-4-4) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[1041] 이식 후 8일째에 항CTLA4 스위치 항체 3검체를 각각 0.3mg/kg, 1mg/kg, 3mg/kg으로 마우스에 미정맥으로부터 투여했다. 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세를 표 37에 나타냈다.

[1042] Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에서의 항종양 효과 측정(항CTLA4 스위치 항체)

표 37

[1043]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	5	His-buffer	–	미정맥	이식 후 8일
2	5	SW1610-mFa55	0.3 mg/kg	미정맥	이식 후 8일
3	5	SW1610-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 8일
4	5	SW1610-mFa55	3 mg/kg	미정맥	이식 후 8일
5	5	SW1612-mFa55	0.3 mg/kg	미정맥	이식 후 8일
6	5	SW1612-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 8일
7	5	SW1612-mFa55	3 mg/kg	미정맥	이식 후 8일
8	5	SW1615-mFa55	0.3 mg/kg	미정맥	이식 후 8일
9	5	SW1615-mFa55	1 mg/kg	미정맥	이식 후 8일
10	5	SW1615-mFa55	3 mg/kg	미정맥	이식 후 8일

[1044] (5-4-5) 항종양 효과의 평가

[1045] 항종양 효과에 대해서는, (5-4-2)에 기재한 계산식으로 산출한 종양 체적으로 평가했다.

[1046] 종양 증식 억제율(TGI: Tumor Growth Inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출했다.

[1047] TGI(%)=(1-(측정 시에 있어서의 주목하는 군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시에 있어서의 주목하는 군의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군의 종양 체적의 평균값-초회 투여 시의 control군의 종양 체적의 평균값))×100

[1048] 그 결과, SW1610-mFa55 및 SW1612-mFa55는 1mg/kg 이상의 dose에 있어서, SW1615-mFa55는 3mg/kg 이상의 dose에 있어서, 투여 후 16일째에서 TGI=60% 이상의 약효를 나타냈다(도 32~도 34).

[1049] (5-4-6) 종양 내의 Treg 세포의 평가 및 비장에서의 전신성 작용 검증에 있어서의 약제 투여

[1050] 이식 후 10일째에 SW1610-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, SW1612-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, SW1615-mFa55를 50mg/kg, 100mg/kg, 200mg/kg, 400mg/kg으로 마우스에 미정맥으로부터 투여했다. 또한, 컨트롤군에는, 음성 컨트롤 항체인 IC17Hdk-mFa55/IC17L-mk1(약명: KLH-mFa55)을 400mg/kg으로 미정맥으로부터 투여했다. 종양 내의 Treg 세포의 평가 및 비장에서의 전신성 작용 검증에 있어서의 약제 처치에 관한 상세를 표 38에 나타냈다.

[1051] Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에서의 종양 내·전신성 작용 검증(항CTLA4 스위치 항체)

표 38

[1052]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	3	KLH-mFa55	400 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
2	3	SW1610-mFa55	50 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
3	3	SW1610-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
4	3	SW1610-mFa55	200 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
5	3	SW1612-mFa55	50 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
6	3	SW1612-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
7	3	SW1612-mFa55	200 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
8	3	SW1615-mFa55	50 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
9	3	SW1615-mFa55	100 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
10	3	SW1615-mFa55	200 mg/kg	미정맥	이식 후 10일
11	3	SW1615-mFa55	400 mg/kg	미정맥	이식 후 10일

[1053] (5-4-7) Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델 마우스로부터의 종양·비장의 적출

[1054] 항체 투여 후 6일째에, 마취하에서 마우스를 안락사 처치하고, 종양과 비장을 적출했다. 적출한 비장으로부터, 10% FBS(SIGMA)를 포함하는 RPMI-1640 배지(SIGMA)를 이용하여 세포 현탁액을 조제한 후, Mouse Erythrocyte Lysing kit(R&D)를 이용하여 용혈 처리하여, 비장 세포를 조제했다. 적출한 종양은, Tumor dissociation kit, mouse(miltenyi)를 이용하여 파쇄했다. 비장 세포, 종양을 파쇄한 것을 함께 이하의 항체와 반응시키고, FACS 해석에 의해 존재하는 면역 세포의 획분을 해석했다. 항CD45 항체(BD, 클론: 30-F11), 항CD3 항체(BD, 클론: UCHT1), 항CD4 항체(BD, 클론: RM4-5), 항FoxP3 항체(eBioscience, 클론: FJK-16s), 항ICOS 항체(eBioscience, 클론: 7E17G9), 항CCR7 항체(Biolegend, 클론: 4B12), 항KLRG1 항체(Biolegend, 클론: 2F1/KLRG1). FACS 해석은 BD LSRFortessa X-20(BD)으로 행했다.

[1055] (5-4-8) Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에서의 종양의 Treg 평가

[1056] 항CTLA4 스위치 항체 투여 시의 종양 내의 effector Treg 세포($CD4^+$ $FoxP3^+$ $CCR7^{low}$ $KLRG1^+$)의 변화를 평가했다. 그 결과, SW1610-mFa55, SW1612-mFa55 및 SW1615-mFa55는 투여한 모든 dose에 있어서, effector Treg의 비율이 CD45 양성 세포의 0.2% 미만까지 감소했다(도 35).

[1057] (5-4-9) Hepa1-6/hGPC3 세포 이식 모델에서의 비장의 전신 작용 평가

[1058] 항CTLA4 스위치 항체 투여 시의 비장 내의 활성화 helper T 세포($CD4^+$ $Foxp3^-$ $ICOS^+$)의 변화를, FACS 해석으로 평가했다. 그 결과, SW1610-mFa55 및 SW1612-mFa55는 평가한 dose 중, 50mg/kg의 dose에 있어서, SW1615-mFa55는 평가한 dose 중, 200mg/kg 이하의 dose에 있어서 비장에서의 활성화 helper T 세포의 CD45 양성 세포에 대한 비율을, 유의하게 증가시키는 경우는 없었다. 유의차 검정은 JMP 11.2.1(SAS Institute Inc.)을 이용하여, KLH-mFa55 투여군에 대해서 Dunnett의 검정을 행했다(도 36). 당해 스위치 항체는 모두 약효를 나타내는 한편으로, 종양 이외의 조직에서는 반응을 일으키지 않는 것이 확인되어, 종양 국소에서만 활성을 나타낸다는 성질을 갖는 것이 확인되었다.

[1059] 〔참고 실시예 6〕 ADCC/ADCP 활성 증강을 가능하게 하는 개변 Fc의 제작

[1060] 세포상해성 이펙터 기능인 ADCC 및 ADCP를 증강한 항체를 제작하기 위해, 활성형 FcγR인 FcγRIIIa 및 FcγRIIa에 대한 결합능을 증강한 Fc 영역 개변체의 제작이 검토되었다.

[1061] (6-1) FcγR에의 결합을 증강한 개변체의 제작과 평가

[1062] WO2013/002362에 기재되어 있는 FcγR에의 결합능을 증강한 중쇄 정상 영역 Kn125 및 H1076을 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1637을, 경쇄로서 04L1610-lam1을 갖는 헤테로이량화 항체, 04H1637-Kn125/04L1610-lam1//04H1637-H1076/04L1610-lam1이 제작되었다. 구체적으로는, 한쪽의 중쇄 가변 영역으로서 04H1637(서열 번호: 138)을 갖고, 인간 IgG1 중쇄 정상 영역의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거된 G1d(서열 번호: 158)에 대해서, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A가 도입되고, 추가로 CH3 영역에 헤테로이량화를 촉진하는 개변 Y349C/T366W를 갖는 항체 중쇄 04H1637-Kn125(서열 번호: 162)의 유전자가 제작되었다. 마찬가지로, 다른 한쪽의 중쇄 가변 영역으로서 04H1637(서열 번호: 138)을 갖고, 인간 IgG1 중쇄 정상 영역 G1d(서열 번호: 158)에 대해서, D270E/K326D/A330M/K334E가 도입되고, 추가로 CH3 영역에 헤테로이량화를 촉진하는 개변 D356C/T366S/L368A/Y407V를 갖는 항체 중쇄 04H1637-H1076(서열 번호: 163)의 유전자가 제작되었다. 항체 경쇄로서 04L1610-lam1(서열 번호: 161)을 이용하여, 당업자 공지된 방법에 의해 헤테로이량체 04H1637-Kn125/04L1610-lam1//04H1637-H1076/04L1610-lam1이 제작되었다. 여기에서 CH2 영역에 도입되어 있는 개변 중, L235Q, G236W, S239M, H268D, D270E, S298A, K326D, K334E에 더하여, WO2013/002362에 있어서 FcγR에의 결합을 변화시키는 개변으로서 보고되어 있는 L234F, A330K, Mol. Cancer Ther., 2008, 7, 2517-2527 및 WO2004/029207에 보고되어 있는 G236A, I332E, I332D, WO2013/118858에 있어서 안정성을 향상시키는 개변으로서 보고되어 있는 T250V, T307P를 조합한 항체 중쇄 04H1637-Kn462(서열 번호: 164), 04H1637-H1441(서열 번호: 165), 04H1637-H1445(서열 번호: 166), 04H1637-Kn461(서열 번호: 167), 04H1637-H1443(서열 번호: 168)의 유전자가 제작되었다. 또한, 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거되고, CH2 영역에 Kn462와 동일한 개변을 갖고, CH3 영역에 WO2006/106905에 기재된 헤테로이량화를 촉진하는 개변 E356K를 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1654(서열 번호: 140)를 갖는 항체 중쇄 04H1654-KT462(서열 번호: 182)의 유전자가 제작되었다. 마찬가지로, 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거되고, CH2 영역에 H1441과 동일한 개변을 갖고, CH3 영역에 WO2006/106905에 기재된 헤테로이량화를 촉진하는 개변 K439E를 갖고, 중쇄 가변 영역으로서 04H1656(서열 번호: 141)을 갖는 항체 중쇄 04H1656-HT441(서열 번호: 170)의 유전자가 제작되었다. 이하 마찬가지로, 04H1656-HT445(서열 번호: 171), 04H1654-KT461(서열 번호: 183), 04H1656-HT443(서열 번호: 173)의 유전자가 제작되었다. 추가로, Mabs, 2017, 9, 844-853에 기재되어 있는 항체의 혈중 동태를 개선하는 개변의 조합이 검토되었다. 구체적으로는, 04H1654-KT462(서열 번호: 182)의 CH3 영역에 대해서, 산성 조건하에 있어서 인간 FcRn에 대한 결합을 증강하는 개변 및 Rheumatoid factor에 대한 결합을 저감하는 개변의 조합인 N434A/Y436T/Q438R/S440E가 도입된 04H1654-KT473(서열 번호: 184)의 유전자가 제작되었다. 마찬가지로, 04H1656-HT445(서열 번호: 171)에 대해서, N434A/Y436T/Q438R/S440E가 도입된 04H1656-HT482(서열 번호: 185)의 유전자가 제작되었다. 마찬가지로, 04H1654-KT461, 04H1656-HT443에 대해서 동일한 개변을 도입한 항체 중쇄 04H1654-KT481(서열 번호: 186), 항체 중쇄 04H1656-HT498(서열 번호: 187)가 각각 제작되었다. 이들 중쇄를 조합하고, 04L1610-lam1 혹은 04L1612-lam1(서열 번호: 188)이 경쇄로서 이용되어, 목적으로 하는 헤테로이량화 항체가 제작되었다.

[1063] FcγR의 세포외 도메인이 이하의 방법으로 조제되었다. 우선 FcγR의 세포외 도메인의 유전자의 합성이 당업자 공지된 방법으로 실시되었다. 그때, 각 FcγR의 서열은 NCBI에 등록되어 있는 정보에 기초하여 제작되었다. 구체적으로는, FcγRI에 대해서는 NCBI의 accession # NM_000566.3의 서열, FcγRIIa에 대해서는 NCBI의 accession # NM_001136219.1의 서열, FcγRIIb에 대해서는 NCBI의 accession # NM_004001.3의 서열, FcγRIIIa에 대해서는 NCBI의 accession # NM_001127593.1의 서열에 기초하여 제작되고, C 말단에 His 태그가 부가되었다. 또한 FcγRIIa의 다형 부위에 대해서는 J. Exp. Med., 1990, 172, 19-25를, FcγRIIIa의 다형 부위에 대해서는 J. Clin. Invest., 1997, 100, 1059-1070을 참고로 해서 제작되었다. 얻어진 유전자 단편을 동물 세포 발현 벡터에 삽입함으로써, 발현 벡터가 제작되었다. 제작된 발현 벡터가 인간 태아 신암 세포 유래 FreeStyle293 세포(Invitrogen)에, 일과성으로 도입되어, 목적 단백질이 발현되었다. 배양 상청은 회수된 후, 0.22μm 필터에 통과되고, 원칙으로서 다음의 4스텝에서 정제되었다. 제1 스텝은 양이온 교환 칼럼 크로마토그래피(SP Sepharose FF), 제2 스텝은 His 태그에 대한 어피니티 칼럼 크로마토그래피(HisTrap HP), 제3 스텝은 겔 여과 칼럼 크로마토그래피(Superdex200), 제4 스텝은 무균 여과가 실시되었다. 단, FcγRI에 대해서는, 제1 스텝에 Q sepharose FF를 이용한 음이온 교환 칼럼 크로마토그래피가 실시되었다. 정제된 단백질의 농도는, 분광 광도계를 이용하여 280nm에서의 흡광도를 측정하고, 얻어진 값으로부터 PACE 등의 방법에 의해 산출된 흡광 계수를 이

용함으로써 산출되었다(Protein Science, 1995, 4, 2411-2423). 인간 FcRn은 WO2010/107110에 기재된 방법으로 조제되었다.

[1064] 제작된 항체와 인간 FcγR의 상호작용 해석은 Biacore T200을 이용하여 이하의 방법으로 실시되었다. 러닝 버퍼에는 50mM Na-Phosphate, 150mM NaCl, 0.05% Tween20(pH 7.4)이 이용되고, 25℃에서 측정이 실시되었다. 센서칩에는 Series S SA(GE Healthcare)에 대해, CaptureSelect Human Fab-lambda Kinetics Biotin Conjugate(Thermo Fisher Scientific)가 고상된 칩이 이용되었다. 이 칩에 대해서 목적하는 항체가 캡쳐되고, 러닝 버퍼에서 희석한 각 FcγR이 상호작용되었다. 칩은 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)과 25mM NaOH를 이용하여 재생되고, 반복해서 항체를 캡쳐하여 측정이 행해졌다. 각 항체의 FcγR에 대한 해리 상수 KD(mol/L)는, Biacore T200 Evaluation Software 2.0을 이용하고, FcγRIa와 FcγRIIIa에 대한 해리 상수는 1:1 Langmuir binding model, FcγRIIa에 대한 해리 상수는 Steady state affinity model을 이용하여 산출되었다. 또한 FcγRIIb에 대해서는 측정에 의해 얻어진 센서그램으로부터 구해지는 FcγRIIb의 결합량을 칩 표면에 포착한 항체의 양으로 보정함으로써, 단위 항체량당의 FcγRIIb의 결합량이 산출되었다.

[1065] 제작된 항체와 인간 FcRn의 상호작용 해석은 Biacore T200을 이용하여 이하의 방법으로 실시되었다. 러닝 버퍼에는 50mM Na-Phosphate, 150mM NaCl, 0.05% Tween20(pH 6.0)이 이용되고, 25℃에서 측정이 실시되었다. 센서칩에는 Series S SA(GE Healthcare)에 대해, CaptureSelect Human Fab-lambda Kinetics Biotin Conjugate(Thermo Fisher Scientific)가 고상된 칩이 이용되었다. 이 칩에 대해서 목적하는 항체가 캡쳐되고, 러닝 버퍼에서 희석된 FcRn이 상호작용되었다. 칩은 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)과 25mM NaOH를 이용하여 재생되고, 반복해서 항체를 캡쳐하여 측정되었다. 각 항체의 FcRn에 대한 해리 상수는, Biacore T200 Evaluation Software 2.0을 이용하여 Steady state model로 산출되었다.

[1066] 표 39는 이들 측정 결과를 나타낸다.

[1067] Fc 영역 개변체의 인간 FcγR 및 FcRn에 대한 결합 해석

표 39

항체 명칭	Kn 또는 KT 중쇄 정상 영역의 CH2 도메인에 도입한 치환	H1 또는 HT 중쇄 정상 영역의 CH2 도메인에 도입한 치환	hFcRn에 대한 K_D (M)	G1m과 hFcRn의 K_D에 대한 상대값	hFcγRs에 대한 K_D (M)					결합량	G1m과 hFcγRs의 K_D에 대한 상대값					상대적 결합량
					hFcγR Ia	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR IIb	hFcγR Ia	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR IIb
04H1637-G1m/04L1610-lam1			1.3E-06	1.0	4.9E-11	2.0E-06	1.5E-06	1.4E-06	2.4E-07	0.008	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
04H1637-Kn125/04L1610-lam1//04H1637-H1076/04L1610-lam1	L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A	D270E/K326D/A330M/K334E	N.T	N.T	4.0E-11	1.2E-06	4.1E-07	3.4E-09	1.9E-09	0.007	1.2	1.6	3.6	406.3	125.6	0.9
04H1637-Kn462/04L1610-lam1//04H1637-H1441/04L1610-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/K334E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/K334E	N.T	N.T	1.5E-10	2.2E-07	7.0E-08	1.7E-08	5.2E-09	0.013	0.3	9.2	20.9	79.5	45.8	1.6
04H1637-Kn462/04L1610-lam1//04H1637-H1445/04L1610-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/A330K/I332D/K334E	N.T	N.T	7.6E-11	1.1E-07	3.9E-08	3.6E-09	1.8E-09	0.030	0.6	18.7	37.5	382.2	130.7	3.7
04H1637-Kn461/04L1610-lam1//04H1637-H1443/04L1610-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E/K334E	N.T	N.T	4.2E-11	1.9E-07	1.3E-07	2.2E-09	1.1E-09	0.025	1.2	10.7	11.1	616.5	225.7	3.1
04H1654-KT462/04L1610-lam1//04H1656-HT445/04L1610-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/A330K/I332D/K334E	1.5E-06	0.9	3.0E-11	1.6E-07	1.1E-07	3.3E-09	2.2E-09	0.025	1.6	13.0	13.9	414.7	109.6	3.1
04H1654-KT461/04L1610-lam1//04H1656-HT443/04L1610-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E/K334E	1.5E-06	0.9	3.2E-11	2.4E-07	2.0E-07	2.6E-09	1.5E-09	0.025	1.5	8.4	7.3	525.5	156.1	3.1
04H1654-KT473/04L1610-lam1//04H1656-HT482/04L1610-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/A330K/I332D/K334E	5.8E-07	2.3	4.6E-11	1.5E-07	8.1E-08	3.8E-09	2.1E-09	0.026	1.1	13.9	18.0	363.4	114.6	3.2
04H1654-KT481/04L1610-lam1//04H1656-HT498/04L1610-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E/K334E	5.7E-07	2.3	3.3E-11	2.6E-07	2.3E-07	2.8E-09	1.6E-09	0.022	1.5	7.7	6.5	495.2	152.0	2.7
04H1654-KT462/04L1612-lam1//04H1656-HT445/04L1612-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/A330K/I332D/K334E	1.6E-06	0.8	4.1E-11	1.4E-07	9.1E-08	3.4E-09	2.3E-09	0.028	1.2	14.2	16.1	408.0	105.7	3.4
04H1654-KT461/04L1612-lam1//04H1656-HT443/04L1612-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E/K334E	1.6E-06	0.8	3.9E-11	2.5E-07	2.1E-07	2.6E-09	1.5E-09	0.025	1.3	8.2	7.1	536.8	158.8	3.1
04H1654-KT473/04L1612-lam1//04H1656-HT482/04L1612-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/A330K/I332D/K334E	6.2E-07	2.1	4.8E-11	1.5E-07	9.1E-08	3.9E-09	2.2E-09	0.026	1.0	13.8	16.2	354.6	110.0	3.2
04H1654-KT481/04L1612-lam1//04H1656-HT498/04L1612-lam1	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E/K334E	6.0E-07	2.2	4.3E-11	2.7E-07	2.3E-07	2.9E-09	1.7E-09	0.022	1.1	7.6	6.4	479.2	145.2	2.8

N.T.: 미시험

[1068]

[1069] 표 중의 「hFcRn에 대한 KD(M)」 및 「hFcγRs에 대한 KD(M)」의 값은 각각, hFcRn 및 각 FcγR에 대한 해리 상수를 나타내고, 「결합량」은 FcγRIIb를 1000nM로 상호작용시켰을 때의 단위 항체량당의 FcγRIIb의 결합량을 나타낸다. 「G1m과 hFcRn의 KD에 대한 상대값」 및 「G1m과 hFcγRs의 KD에 대한 상대값」은 각각, hFcRn 및 각 FcγR에 대한 04H1637-G1m/04L1610-lam1의 KD값을 각 개변체의 KD값으로 나눈 값을 나타내고, 「상대적 결합량」은 FcγRIIb에 대한 각 개변체의 결합량을 04H1637-G1m/04L1610-lam1의 결합량으로 나눈 값을 나타낸다. 항체 중쇄 04H1637-G1m 및 항체 경쇄 04L1610-lam1의 아미노산 서열을 서열 번호: 160 및 161에 각각 나타낸다. 제작된 헤테로이량화 항체는 모두 천연형 인간 IgG1의 정상 영역을 가지는 04H1637-G1m/04L1610-lam1과 비교해서 FcγRIIa, FcγRIIIa에의 결합이 증강되어 있는 것이 나타났다. 또한 04H1637-Kn462/04L1610-lam1//04H1637-H1441/04L1610-lam1, 04H1637-Kn462/04L1610-lam1//04H1637-H1445/04L1610-lam1, 04H1637-Kn461/04L1610-lam1//04H1637-H1443/04L1610-lam1은 모두 WO2013/002362에 있어서 보고되어 있는 Fc 영역 개변

체를 갖는 04H1637-Kn125/04L1610-lam1//04H1637-H1076/04L1610-lam1과 비교해서, FcγRIIa에의 결합이 증강되어 있는 것이 나타났다. 또한 04H1637-Kn462/04L1610-lam1//04H1637-H1445/04L1610-lam1의 FcγRIIIa에의 결합능은 04H1637-Kn125/04L1610-lam1//04H1637-H1076/04L1610-lam1과 동등하고, 04H1637-Kn461/04L1610-lam1//04H1637-H1443/04L1610-lam1의 FcγRIIIa에의 결합능은 04H1637-Kn125/04L1610-lam1//04H1637-H1076/04L1610-lam1보다도 증강되어 있는 것이 나타났다. 마찬가지로, IGHG1*03의 정상 영역 및 CH3 영역에 상이한 헤테로이량화 개변을 갖는 04H1654-KT462/04L1610-lam1//04H1656-HT445/04L1610-lam1 및 04H1654-KT462/04L1612-lam1//04H1656-HT445/04L1610-lam1은 04H1637-Kn462/04L1610-lam1//04H1637-H1445/04L1610-lam1과 04H1654-KT461/04L1610-lam1//04H1656-HT443/04L1610-lam1 및 04H1654-KT461/04L1612-lam1//04H1656-HT443/04L1610-lam1은 04H1637-Kn461/04L1610-lam1//04H1637-H1443/04L1610-lam1과 동등한 FcγR에의 결합 프로파일을 갖는 것이 나타났다. 또한 혈중 동태를 개선하는 개변이 도입된 04H1654-KT473/04L1610-lam1//04H1656-HT482/04L1610-lam1, 04H1654-KT481/04L1610-lam1//04H1656-HT498/04L1610-lam1, 04H1654-KT473/04L1612-lam1//04H1656-HT482/04L1612-lam1, 04H1654-KT481/04L1612-lam1//04H1656-HT498/04L1612-lam1은, 혈중 동태를 개선하는 개변이 도입되기 전의 항체와 비교해서 인간 FcRn에 대한 결합능이 향상되어 있고, 또한 FcγR에 대한 결합능은 동등하다는 것이 나타났다.

[1070] 추가로, 04H1656-HT441에 대해서, 산성 조건하에 있어서 인간 FcRn에 대한 결합을 증강하는 개변 및 Rheumatoid factor에 대한 결합을 저감하는 개변의 조합인 N434A/Y436T/Q438R/S440E가 도입된 04H1656-HT451(서열 번호: 272)의 유전자가 제작되었다. 항체 중쇄 HT451의 아미노산 서열을 서열 번호: 276에 나타낸다. 04H1654-KT473과 04H1656-HT451을 조합하고, 항체 경쇄로서 04L1610-lam1을 이용하여 헤테로이량화 항체가 제작되었다. 제작된 항체와 인간 FcRn 및 인간 FcγR의 상호작용 해석 결과를 표 40에 나타낸다.

[1071] Fc 영역 개변체의 인간 FcγR 및 FcRn에 대한 결합 해석

표 40

항체 명칭	hFcRn 에 대한 K_D (M)	G1m과hFcRn 의 KD 에 대한 상대값	hFcγRs 에 대한 K_D (M)					결합량	G1m과 hFcγRs의 K_D 에 대한 상대값					상대적 결합량
			hFcγR Ia	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR IIb	hFcγR Ia	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR IIb
04H1656-G1m/04L1610-lam1	1.7E-06	1.0	9.2E-11	1.6E-06	1.3E-06	1.0E-06	*9.7E-07	0.008	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
04H1654-KT462/04L1610-lam1//04H1656-HT441/04L1610-lam1	2.0E-06	0.9	1.2E-10	1.8E-07	9.9E-08	1.7E-08	4.4E-09	0.014	0.8	9.0	13.5	58.1	218.3	1.7
04H1654-KT473/04L1610-lam1//04H1656-HT451/04L1610-lam1	5.4E-07	3.2	1.4E-10	1.8E-07	9.2E-08	2.0E-08	5.1E-09	0.012	0.6	8.9	14.5	50.8	190.3	1.5

* KD값은 정상 상태 모델(steady state model)로 결정했다.

[1072]

[1073] 제작된 헤테로이량화 항체 04H1654-KT462/04L1610-lam1//04H1656-HT441/04L1610-lam1, 및 04H1654-KT473/04L1610-lam1//04H1656-HT451/04L1610-lam1은 모두, 천연형 인간 IgG1의 정상 영역을 갖는 04H1656-G1m/04L1610-lam1과 비교해서 활성형 FcγR인 FcγRIIa와 FcγRIIIa에 대한 결합이 증강되어 있는 것이 나타났다. 또한 이들 항체는 모두 억제형 FcγR인 FcγRIIb에 대한 결합이, 04H1656-G1m/04L1610-lam1과 동일한 정도로 유지되어 있었다. 04H1654-KT462/04L1610-lam1//04H1656-HT441/04L1610-lam1에 대해서 N434A/Y436T/Q438R/S440E가 도입된 04H1654-KT473/04L1610-lam1//04H1656-HT451/04L1610-lam1은 도입 전과 비교해서 인간 FcRn에 대한 결합능이 증강되어 있는 것이 나타났다.

[1074] 다음으로, Nat. Biotechnol., 1998, 16, 677-681에 기재되어 있는 상이한 헤테로이량화 개변을 이용하여 제작된 FcγR 결합 증강 개변체에 대하여, 인간 FcRn 및 FcγR에 대한 결합 활성이 평가되었다. 중쇄 가변 영역으로서 04H1389(서열 번호: 136)를 갖고, 중쇄 정상 영역으로서 인간 IgG1(IGHG1*03)의 C 말단의 Gly 및 Lys가 제거된

정상 영역의 CH2 영역에 KT462와 동일한 개변이 도입되고, CH3 영역에 헤테로이량화 개변으로서 T366W가 도입된 항체 중쇄 04H1389-Ks462(서열 번호: 191), 헤테로이량화 개변으로서 Y349C/T366W가 이용된 04H1389-Km462(서열 번호: 199)의 유전자가 제작되었다. 또한 CH2 영역에 HT445와 동일한 개변이 도입되고, CH3 영역에 헤테로이량화 개변으로서 T366S/L368A/Y407V가 도입된 항체 중쇄 04H1389-Hs445(서열 번호: 192), 헤테로이량화 개변으로서 E356C/T366S/L368A/Y407V가 이용된 04H1389-Hm445(서열 번호: 200)의 유전자가 제작되었다. 마찬가지로 CH2 영역의 개변으로서 KT461 및 HT443과 동일한 개변을 갖는 04H1389-Ks461(서열 번호: 193), 04H1389-Km461(서열 번호: 201), 04H1389-Hs443(서열 번호: 194), 04H1389-Hm443(서열 번호: 202)이 제작되었다. 또한 이들 항체 중쇄 정상 영역 Ks462, Hs445, Ks461, Hs443, Km462, Hm445, Km461, Hm443에 대해서 혈중 동태를 개선하는 개변 N434A/Y436T/Q438R/S440E가 도입되고, 가변 영역으로서 04H1389를 갖는 항체 중쇄 04H1389-Ks473(서열 번호: 195), 04H1389-Hs482(서열 번호: 196), 04H1389-Ks481(서열 번호: 197), 04H1389-Hs498(서열 번호: 198), 04H1389-Km473(서열 번호: 203), 04H1389-Hm482(서열 번호: 204), 04H1389-Km481(서열 번호: 205), 04H1389-Hm498(서열 번호: 206)의 유전자가 제작되었다. 04L1615-k0MT(서열 번호: 190)가 경쇄로서 이용되어, 목적하는 헤테로이량체가 제작되었다. 또한 비교 대상으로서 04H1389-G1m(서열 번호: 189)을 갖는 호모이량체 04H1389-G1m/04L16150k0MT가 제작되었다. 제작한 항체와 인간 FcγR의 상호작용 해석이 Biacore T200을 이용하여 실시되었다. 러닝 버퍼에는 50mM Na-Phosphate, 150mM NaCl, 0.05% Tween20(pH 7.4)이 이용되고, 25℃에서 측정이 실시되었다. 센서칩에는 Series S SA(GE Healthcare)에 대해, CaptureSelect Human Fab-kappa Kinetics Biotin Conjugate(Thermo Fisher Scientific)가 고상된 칩이 이용되었다. 이 칩에 대해서 목적하는 항체가 캡처되고, 러닝 버퍼에서 희석된 각 FcγR이 상호작용되었다. 칩은 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)과 25mM NaOH를 이용하여 재생되고, 반복해서 항체를 캡처하여 측정이 행해졌다. 각 항체의 FcγR에 대한 해리 상수 KD(mol/L)는, Biacore T200 Evaluation Software 2.0을 이용하고, FcγRIa와 FcγRIIIa에 대한 해리 상수는 1:1 Langmuir binding model, FcγRIIa에 대한 해리 상수는 Steady state affinity model을 이용하여 산출되었다. 또한 FcγRIIb에 대해서는 측정에 의해 얻어진 센서그램으로부터 구해지는 FcγRIIb의 결합량을 칩 표면에 포착한 항체의 양으로 보정함으로써, 단위 항체량당의 FcγRIIb의 결합량이 산출되었다. FcRn에의 결합 측정은, 러닝 버퍼로서 50mM Na-Phosphate, 150mM NaCl, 0.05% Tween20(pH 6.0)이 이용되고, steady state model에 의해 해리 상수 KD(mol/L)가 산출되었다(표 41). 한편, 표 41 중의 FcγRIIIa에 대한 해리 상수 중, 「*」로 나타낸 값은 Steady state affinity model로 산출된 값이다.

[1075] Fc 영역 개변체의 인간 FcγR 및 FcRn에 대한 결합 해석

표 41

항체 명칭	hFcRn에 대한 K_D (M)	G1m과hFcRn의 K_D에 대한 상대값	hFcγRs 에 대한 K_D (M)						결합량		G1m과 hFcγRs의 K_D에 대한 상대값				상대적 결합량	
			hFcγ RIa	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V		hFcγR IIb	hFcγR Ia	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa V		hFcγR IIb	
04H1389-G1m/04L1615-kOMT	1.3E-06	1.0	4.5E-11	1.5E-06	1.1E-06	N.T.	* 9.1E-07		0.011	1.0	1.0	1.0	1.0		1.0	
04H1389-Ks462/04L1615-kOMT//04H1389-Hs445/04L1615-kOMT	1.6E-06	0.8	4.7E-11	1.6E-07	6.7E-08	2.1E-09	1.1E-09		0.030	1.0	9.1	15.8	829.9		2.6	
04H1389-Ks461/04L1615-kOMT//04H1389-Hs443/04L1615-kOMT	1.7E-06	0.8	3.0E-11	2.5E-07	1.6E-07	1.2E-09	5.6E-10		0.024	1.5	5.9	6.7	1627.2		2.1	
04H1389-Ks473/04L1615-kOMT//04H1389-Hs482/04L1615-kOMT	4.5E-07	2.9	5.1E-11	1.6E-07	7.5E-08	2.3E-09	1.2E-09		0.026	0.9	9.0	14.1	760.2		2.3	
04H1389-Ks481/04L1615-kOMT//04H1389-Hs498/04L1615-kOMT	4.6E-07	2.8	2.8E-11	2.6E-07	1.9E-07	1.3E-09	6.0E-10		0.023	1.6	5.6	5.6	1500.7		2.0	
04H1389-Km462/04L1615-kOMT//04H1389-Hm445/04L1615-kOMT	1.7E-06	0.8	4.8E-11	1.6E-07	7.4E-08	2.2E-09	1.1E-09		0.029	0.9	9.5	14.4	810.6		2.6	
04H1389-Km461/04L1615-kOMT//04H1389-Hm443/04L1615-kOMT	1.7E-06	0.7	2.5E-11	2.6E-07	1.9E-07	1.2E-09	5.6E-10		0.024	1.8	5.8	5.7	1620.3		2.1	
04H1389-Km473/04L1615-kOMT//04H1389-Hm482/04L1615-kOMT	4.6E-07	2.8	6.2E-11	1.8E-07	8.7E-08	2.6E-09	1.3E-09		0.024	0.7	8.2	12.3	705.1		2.1	
04H1389-Km481/04L1615-kOMT//04H1389-Hm498/04L1615-kOMT	4.7E-07	2.8	4.2E-11	2.9E-07	2.1E-07	1.4E-09	6.2E-10		0.021	1.1	5.1	5.0	1469.1		1.9	

*: KD값은 정상 상태 모델(steady state model)로 결정했다.
NT: 미시험

[1076]

[1077] 여기에서 제작된 헤테로이량화 항체는 모두 04H1389-G1m/04L1615-kOMT와 비교해서 FcγRIIa, FcγRIIIa에의 결합 활성이 증강되어 있었다. 또한 항체의 혈중 동태를 개선하는 개변이 도입된 04H1389-Ks473/04L1615-kOMT//04H1389-Hs482/04L1615-kOMT, 04H1389-Ks481/04L1615-kOMT//04H1389-Hs498/04L1615-kOMT, 04H1389-Km473/04L1615-kOMT//04H1389-Hm482/04L1615-kOMT, 04H1389-Km481/04L1615-kOMT//04H1389-Hm498/04L1615-kOMT는 모두, 개변 도입 전의 친항체와 비교해서 인간 FcRn에의 결합 활성이 증강되어 있고, FcγR 결합 활성에 대해서는 친항체와 동등한 결합 프로파일이었다.

[1078] 추가로, 중쇄 가변 영역으로서 04H1389(서열 번호: 136)를 갖고, 중쇄 CH2 영역에 HT441과 동일한 개변이 도입되고, CH3 영역에 헤테로이량화 개변으로서 Y349C/T366W가 이용된 04H1389-Hm441(서열 번호: 273)의 유전자가 제작되었다. 이에 대해서, 산성 조건하에 있어서 인간 FcRn에 대한 결합을 증강하는 개변 및 Rheumatoid factor에 대한 결합을 저감하는 개변의 조합인 N434A/Y436T/Q438R/S440E가 도입된 04H1389-Hm451이 제작되었다(서열

번호: 274). 항체 중쇄 Hm441 및 Hm451의 아미노산 서열을 서열 번호: 277 및 278에 각각 나타낸다. 항체 중쇄로서 04H1389-Km473, 04H1389-Hm451 혹은 04H1389-Hm482를, 항체 경쇄로서 04L1305-k0MT를 이용하여 헤테로이량화 항체를 제작했다. 제작된 항체와 인간 FcRn 및 인간 FcγR의 상호작용 해석 결과를 표 42에 나타낸다.

[1079] Fc 영역 개변체의 인간 FcγR 및 FcRn에 대한 결합 해석

표 42

항체 명칭	hFcRn에 대한 K_D (M)	G1m과 hFcRn의 KD에 대한 상대값	hFcγRs에 대한 K_D (M)						결합량	G1m과 hFcγRs의 K_D에 대한 상대값					상대적 결합량
			hFcγR Ia	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR IIb	hFcγR IIb	hFcγR Ia	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR IIb
04H1389-G1m/04L1305-k0MT	1.0E-06	1.0	6.9E-11	1.6E-06	1.1E-06	6.9E-07	*8.8E-07	0.011	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
04H1389-Km473/04L1305-k0MT//04H1389-Hm451/04L1305-k0MT	3.3E-07	3.0	1.5E-10	1.6E-07	5.3E-08	1.7E-08	3.9E-09	0.015	0.5	9.7	20.0	41.3	224.7	1.3
04H1389-Km473/04L1305-k0MT//04H1389-Hm482/04L1305-k0MT	3.7E-07	2.7	6.1E-11	8.6E-08	3.5E-08	2.7E-09	9.5E-10	0.034	1.1	18.5	30.8	258.1	930.5	3.0

* KD값은 정상 상태 모델(steady state model)로 결정했다.

[1080]

[1081] 제작된 헤테로이량화 항체 04H1389-Km473/04L1305-k0MT//04H1389-Hm451/04L1305-k0MT, 및 04H1389-Km473/04L1305-k0MT//04H1389-Hm482/04L1305-k0MT는 모두, 천연형 인간 IgG1의 정상 영역을 갖는 04H1389-G1m/04L1305-k0MT와 비교해서 활성형 FcγR인 FcγRIIa와 FcγRIIIa에 대한 결합이 증강되어 있는 것이 나타났다. 또한 이들 항체는 모두 04H1389-G1m/04L1305-k0MT와 비교해서 인간 FcRn에 대한 결합능이 증강되어 있는 것이 나타났다.

[1082] 다음으로, 여기에서 발견된 FcγR에의 결합을 증강한 정상 영역 개변체와, 기존의 FcγR 결합 증강 개변체의 비교를 행했다. 중쇄 가변 영역으로서 MDX10D1H(서열 번호: 154)를 갖고 표 39에 기재되어 있는 중쇄 정상 영역을 갖는 항체 중쇄 MDX10D1H-Kn125(서열 번호: 217), MDX10D1H-H1076(서열 번호: 218), MDX10D1H-Kn462(서열 번호: 219), MDX10D1H-H1445(서열 번호: 220), MDX10D1H-Kn461(서열 번호: 221), MDX10D1H-H1443(서열 번호: 222), 및 천연형 인간 IgG1의 CH2 영역을 갖는 MDX10D1H-G1m(서열 번호: 210)의 유전자가 제작되었다. FcγRIIa에의 결합이 증강된 개변체로서 Mol. Cancer Ther., 2008, 7, 2517-2527에 기재되어 있는 개변 G236A/S239D/I332E를 CH2 영역에 갖는 항체 중쇄 MDX10D1H-GASDIE(서열 번호: 215)의 유전자가 제작되었다. 또한 FcγRIIIa에의 결합이 증강된 개변체로서 J. Struct. Biol., 2016, 194, 78-89에 기재되어 있는 G236A/S239D/A330L/I332E를 CH2 영역에 갖는 항체 중쇄 MDX10D1H-GASDALIE(서열 번호: 216)의 유전자가 제작되었다. 항체 경쇄로서 MDX10D1L-k0MT(서열 번호: 211)가 이용되어, 목적으로 하는 항체가 제작되었다. 이들 인간 FcγR에 대한 결합 활성은 전술한 CaptureSelect Human Fab-kappa Kinetics Biotin Conjugate를 이용한 방법으로 측정되었다(표 43).

[1083] Fc 영역 개변체의 인간 FcγR에 대한 결합 해석

표 43

항체 명칭	hFcγRs 에 대한 K_D (M)				결합량	G1m과 hFcγRs의 K_D 에 대한 상대값				상대적 결합량
	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR IIb	hFcγR IIa R	hFcγR IIa H	hFcγR IIIa V	hFcγR IIb
MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-kOMT	1.5E-06	1.0E-06	N.T.	*9.5E-07	0.012	1.0	1.0	1.0	1.0
MDX10D1H-GASDIE/MDX10D1L-kOMT	6.1E-08	5.5E-08	2.3E-08	1.4E-08	0.072	24.2	18.9	68.2	5.8
MDX10D1H-GASDALIE/MDX10D1L-kOMT	7.9E-07	9.7E-07	1.2E-08	6.9E-09	0.044	1.9	1.1	138.1	3.6
MDX10D1H-Kn125/MDX10D1H-H1076/MDX10D1L-kOMT	9.6E-07	2.7E-07	1.9E-09	1.1E-09	0.009	1.5	3.8	898.8	0.7
MDX10D1H-Kn462/MDX10D1H-H1445/MDX10D1L-kOMT	1.0E-07	2.8E-08	2.7E-09	1.2E-09	0.037	14.9	37.3	807.1	3.0
MDX10D1H-Kn461/MDX10D1H-H1443/MDX10D1L-kOMT	1.7E-07	8.8E-08	1.4E-09	5.7E-10	0.031	9.0	11.8	1676.4	2.5

* KD값은 정상 상태 모델(steady state model)로 결정했다.
N.T.; 미시험

[1084]

[1085] 표 중의 「hFcγR에 대한 KD(M)」의 값은, 기재되어 있는 각 FcγR에 대한 해리 상수를 나타내고, 「결합량」은 FcγRIIb를 1000nM로 상호작용시켰을 때의 단위 항체량당의 FcγRIIb의 결합량을 나타낸다. 「G1m과 hFcγRs의 KD에 대한 상대값」은 각 FcγR에 대한 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-kOMT의 KD값을 각 개변체의 KD값으로 나눈 값을 나타내고, 「상대적 결합량」은 FcγRIIb에 대한 각 개변체의 결합량을 MDX10D1H-G1m/MDX10D1L-kOMT의 결합량으로 나눈 값을 나타낸다.

[1086] 제작된 헤테로이량체, MDX10D1H-Kn125/MDX10D1H-H1076/MDX10D1L-kOMT, MDX10D1H-Kn462/MDX10D1H-H1445/MDX10D1L-kOMT, MDX10D1H-Kn461/MDX10D1H-H1443/MDX10D1L-kOMT는 모두 기존의 FcγR 결합 증강 항체인 MDX10D1H-GASDIE/MDX10D1L-kOMT, MDX10D1H-GASDALIE/MDX10D1L-kOMT와 비교해서 FcγRIIIa에의 결합이 증강되어 있었다. 또한 MDX10D1H-Kn462/MDX10D1H-H1445/MDX10D1L-kOMT는 기존의 FcγRIIa 증강 항체인 MDX10D1H-GASDIE/MDX10D1L-kOMT와 비교해서, FcγRIIaH에의 결합이 약 2배 증강되어 있는 것이 나타났다.

[1087] (6-2) 개변된 정상 영역을 갖는 각종 항체의 in vitro ADCC 활성의 평가

[1088] In vitro ADCC 활성 측정에는 hFcγRIIIaV ADCC Reporter Bioassay, Core Kit(Promega)가 이용되었다. 96웰 플레이트의 각 웰에, 배지에 의해 2×10^6/mL로 농도를 조제한 hCTLA4-CHO 세포를 타겟 세포로서 25μL씩 가하고, 배지에는 Assay Buffer(90% RPMI1640, 10% FBS)가 사용되었다. 다음으로 최종 농도가 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1μg/mL가 되도록 assay buffer로 희석한 각 항체 용액이 각각 25μL 가해지고, 마지막으로 이펙터 세포 용액으로서 배지에 의해 6×10^6/mL로 조제된 hFcγRIIIaV 발현 Jurkat 세포(키트에 부속)가 25μL 가해져, 합계 75μL가 되도록 혼합된 후, 5% CO_2 인큐베이터 내에서 37℃에서 하룻밤 정치되었다. 그 후 플레이트는 실온에서 15분 정치되고, 각 웰에 Bio-Glo reagent가 75μL씩 가해졌다. Bio-Glo reagent에는 Bio-glo Luciferase Assay System(Buffer and Substrate)이 사용되었다. 그 후 각 웰의 발광은 플레이트 리더로 측정되었다. 각 웰의 발광의 값을 항체 미첨가 웰의 발광의 값으로 나눈 값을 Fold induction으로 하고, 각 항체의 ADCC를 평가하는 지표로 했다. 얻어진 결과를 도 37에 나타낸다. 도면 중에서는, Fold induction을 상대 발광량(RLU)이라고 표기한다.

[1089] 이 결과로부터 개변된 Fc를 갖는 항체의 hCTLA4-CHO 세포에 대한 ADCC 활성은 야생형의 인간 IgG1 정상 영역과 비교해서 강력한 ADCC 활성을 갖는 것이 나타났다.

[1090] (6-3) 개변된 정상 영역을 갖는 각종 항체의 in vitro ADCP 활성의 평가

[1091] In vitro ADCP 활성 측정에는 hFcγRIIaH ADCP Reporter Bioassay, Core Kit(Promega)를 이용했다. 96웰 플레이트의 각 웰에, 배지에 의해 1×10^6/mL로 농도를 조제한 hCTLA4-CHO 세포를 타겟 세포로서 25μL씩 가하고, 배지에는 Assay Buffer(4% Low IgG serum in RPMI1640)가 사용되었다. 다음으로 최종 농도가 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1μg/mL가 되도록 assay buffer로 희석한 각 항체 용액이 각각 25μL 가해지고, 마지막으로 이펙터 세포 용액으로서 키트에 부속된 hFcγRIIaH 발현 Jurkat 세포가 25μL 가해져, 합계 75μL가 되도록 혼합된 후, 5% CO_2 인큐베이터 내에서 37℃에서 하룻밤 정치되었다. hFcγRIIaH 발현 Jurkat 세포는 그 세포액 밀도가 8.25×10^5/mL였다. 그 후 플레이트는 실온에서 15분 정치되고, 각 웰에 Bio-Glo reagent가 75μl씩 가해졌다. Bio-Glo reagent에는 Bio-glo Luciferase Assay System(Buffer and Substrate)이 사용되었다. 그 후 각 웰의 발광은 플레이트 리더로 측정되었다. 각 웰의 발광의 값을 항체 미첨가 웰의 발광의 값으로 나눈 값을 Fold induction으로 하고, 각 항체의 ADCP를 평가하는 지표로 했다. 얻어진 결과를 도 38에 나타낸다. 도면 중에서는, Fold induction을 상대 발광량(RLU)이라고 표기한다.

[1092] 이 결과로부터 개변된 Fc를 갖는 항체의 hCTLA4-CHO 세포에 대한 ADCP 활성은 야생형의 인간 IgG1 정상 영역과 비교해서 강력한 ADCP 활성을 갖는 것이 나타났다.

[1093] (6-4) 개변된 Fc를 갖는 항CTLA4 스위치 항체의 in vitro ADCC 활성의 평가

[1094] 개변된 Fc를 갖는 항CTLA4 스위치 항체(04H1654-Kn462/04L1610-lam1//04H1656-H1445/04L1610-lam1 약명: SW1610-ART6, 04H1654-Kn462/04L1612-lam1//04H1656-H1445/04L1612-lam1 약명: SW1612-ART6, 및 04H1389-Kn462/04L1305-k0MT//04H1389-H1445/04L1305-k0MT 약명: SW1389-ART6)가 제작되었다.

[1095] SW1610-ART6 항체는, 한쪽의 중쇄 가변 영역 04H1654(서열 번호: 35)는 정상 영역으로서 인간 중쇄 정상 영역 Kn462(서열 번호: 43)를, 다른 한쪽의 중쇄 가변 영역 04H1656(서열 번호: 37)은 인간 중쇄 정상 영역 H1445(서열 번호: 44)를 연결하고, 또 경쇄 가변 영역 04L1610(서열 번호: 39)은 야생형 인간 경쇄 정상 영역 lam1(서열 번호: 53)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1096] SW1612-ART6 항체는, 한쪽의 중쇄 가변 영역 04H1654(서열 번호: 35)는 정상 영역으로서 인간 중쇄 정상 영역 Kn462(서열 번호: 43)를, 다른 한쪽의 중쇄 가변 영역 04H1656(서열 번호: 37)은 인간 중쇄 정상 영역 H1445(서열 번호: 44)를 연결하고, 또 경쇄 가변 영역 04L1612(서열 번호: 40)는 야생형 인간 경쇄 정상 영역 lam1(서열 번호: 53)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1097] SW1389-ART6 항체는, 2개의 중쇄 가변 영역 04H1389(서열 번호: 29)는 정상 영역으로서 인간 중쇄 정상 영역 Kn462(서열 번호: 43) 및 인간 중쇄 정상 영역 H1445(서열 번호: 44)를 각각 연결하고, 또 경쇄 가변 영역 04L1305(서열 번호: 30)는 야생형 인간 경쇄 정상 영역 k0MT(서열 번호: 33)를 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1098] In vitro ADCC 활성 측정에는 hFcγRIIIaV ADCC Reporter Bioassay, Core Kit(Promega)가 이용되었다. 96웰 플레이트의 각 웰에, 배지에 의해 2×10^6/mL로 농도를 조제한 hCTLA4-CHO 세포를 타겟 세포로서 12.5μL씩 가하고, 배지에는 Assay Buffer(4% Low IgG Serum in RPMI1640)가 사용되었다. 다음으로 최종 농도가 0, 100μM이 되도록 assay buffer로 희석한 ATP 용액, 최종 농도가 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10μg/mL가 되도록 assay buffer로 희석한 SW1389-ART6, SW1610-ART6 및 SW1612-ART6의 항체 용액이 순차적으로 가해지고, 마지막으로 이펙터 세포 용액으로서 배지에 의해 3×10^6/mL로 조제된 hFcγRIIIaV 발현 Jurkat 세포(키트에 부속)가 25μL 가해져, 합계 75μL가 되도록 혼합된 후, 5% CO_2 인큐베이터 내에서 6시간 37℃에서 정치되었다. 그 후 플레이트는 실온에서 15분 정치되고, 각 웰에 Bio-Glo reagent가 75μL씩 가해졌다. Bio-Glo reagent에는 Bio-glo Luciferase Assay System(Buffer and Substrate)이 사용되었다. 그 후 각 웰의 발광은 플레이트 리더로 측정되었다. 각 웰의 발광의 값을 항체 미첨가 웰의 발광의 값으로 나눈 값을 Fold induction으로 하고, 각 항체의 ADCC를 평가하는 지표로 했다. 얻어진 결과를 도 39(SW1389-ART6), 도 40(SW1610-ART6), 및 도 41(SW1612-ART6)에 나타낸다. 도면 중에서는, Fold induction을 상대 발광량(RLU)이라고 표기한다.

[1099] 이 결과로부터 개변된 Fc를 갖는 항CTLA4 스위치 항체의 hCTLA4-CHO 세포에 대한 ADCC 활성은 ATP 존재하·비존재하에서 상이하여, ATP 의존적인 hCTLA4-CHO 세포에 대한 세포상해 활성이 존재하는 것이 확인되었다.

[1100] (6-5) 항CTLA4 스위치 항체의 in vitro 중화 활성의 평가

[1101] 개변된 항CTLA4 스위치 항체로서, SW1389, SW1610, SW1612, SW1615의 가변 영역을 가지는 인간 항체가 작성되었다.

[1102] SW1389 항체는, 중쇄 가변 영역으로서 04H1389(서열 번호: 29), 경쇄 가변 영역으로서 04L1305(서열 번호: 30)가 사용되고, 인간 정상 영역에 연결된 후, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1103] SW1610 항체는, 중쇄 가변 영역으로서 04H1654(서열 번호: 35) 및 04H1656(서열 번호: 37), 경쇄 가변 영역으로서 04L1610(서열 번호: 39)이 사용되고, 인간 정상 영역에 연결된 후, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1104] SW1612 항체는, 중쇄 가변 영역으로서 04H1654(서열 번호: 35) 및 04H1656(서열 번호: 37), 경쇄 가변 영역으로서 04L1612(서열 번호: 40)가 사용되고, 인간 정상 영역에 연결된 후, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1105] SW1615 항체는, 중쇄 가변 영역으로서 04H1389(서열 번호: 29), 경쇄 가변 영역으로서 04L1615(서열 번호: 34)가 사용되고, 인간 정상 영역에 연결된 후, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1106] In vitro 중화 활성 측정에는 CTLA-4 Blockade Bioassay(Promega)가 이용되었다. 96웰 플레이트의 각 웰에, 배지에 의해 1×10^6/mL로 농도를 조제한 Kit 부속의 aAPC-Raji 세포가 타겟 세포로서 25μL씩 가해지고, 배지에는 Assay Buffer(10% FBS in RPMI1640)가 사용되었다. 다음으로 최종 농도가 0, 100μM이 되도록 assay buffer로 희석한 ATP 용액, 최종 농도가 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10μg/mL가 되도록 assay buffer로 희석한 SW1389, SW1610, SW1612 및 SW1615의 가변 영역을 가지는 항체 용액이 순차적으로 가해지고, 마지막으로 이펙터 세포 용액으로서 배지에 의해 2×10^6/mL로 조제된 IL2-luc2-CTLA4-Jurkat 세포(키트에 부속)가 25μL 가해져, 합계 75μL가 되도록 혼합된 후, 5% CO_2 인큐베이터 내에서 6시간 37℃에서 정치되었다. 그 후 플레이트는 실온에서 15분 정치되고, 각 웰에 Bio-Glo reagent가 75μL씩 가해졌다. Bio-Glo reagent에는 Bio-glo Luciferase Assay System(Buffer and Substrate)이 사용되었다. 그 후 각 웰의 발광은 플레이트 리더로 측정되었다. 각 웰의 발광의 값을 항체 미첨가 웰의 발광의 값으로 나눈 값을 Fold induction으로 하고, 각 항체의 중화 활성을 평가하는 지표로 했다. 얻어진 결과를 도 42(SW1389), 도 43(SW1610), 도 44(SW1612) 및 도 45(SW1615)에 나타낸다. 도면 중에서는, Fold induction을 상대 발광량(RLU)이라고 표기한다.

[1107] 이 결과로부터 항CTLA4 스위치 항체의 hCTLA4 발현 세포에 대한 중화 활성은 ATP 존재하·비존재하에서 상이하여, ATP 의존적인 중화 활성이 존재하는 것이 확인되었다.

[1108] (6-6) 항CTLA4 스위치 항체의 CTLA4 양성 제어성 T 세포에 대한 In vitro 세포상해 활성 평가

[1109] 개변된 Fc를 갖는 항CTLA4 스위치 항체(04H1654-KT473/04L1610-lam1//04H1656-HT451/04L1610-lam1 약명: SW1610-ART5+ACT1, 04H1654-KT473/04L1610-lam1//04H1656-HT482/04L1610-lam1 약명: SW1610-ART6+ACT1,

04H1389-Km473/04L1305-kOMT//04H1389-Hm451/04L1305-kOMT 약명: SW1389-ART5+ACT1), 04H1389-Km473/04L1305-kOMT//04H1389-Hm482/04L1305-kOMT 약명: SW1389-ART6+ACT1)가 제작되었다.

[1110] SW1610-ART5+ACT1 항체는, 한쪽의 중쇄로서 04H1654-KT473(서열 번호: 184), 다른 한쪽의 중쇄로서 04H1656-HT451(서열 번호: 272), 또 경쇄로서 04L1610-lam1(서열 번호: 161)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1111] SW1610-ART6+ACT1 항체는, 한쪽의 중쇄로서 04H1654-KT473(서열 번호: 184), 다른 한쪽의 중쇄로서 04H1656-HT482(서열 번호: 185), 또 경쇄로서 04L1610-lam1(서열 번호: 161)을 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1112] SW1389-ART5+ACT1 항체는, 한쪽의 중쇄로서 04H1389-Km473(서열 번호: 203), 다른 한쪽의 중쇄로서 04H1389-Hm451(서열 번호: 274), 또 경쇄로서 04L1305-kOMT(서열 번호: 275)를 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1113] SW1389-ART6+ACT1 항체는, 한쪽의 중쇄로서 04H1389-Km473(서열 번호: 203), 다른 한쪽의 중쇄로서 04H1389-Hm482(서열 번호: 204), 또 경쇄로서 04L1305-kOMT(서열 번호: 275)를 사용하고, 당업자 공지된 방법으로 발현, 정제되었다.

[1114] 제작된 개변 Fc를 갖는 항CTLA4 스위치 항체의 CTLA4 양성 제어성 T 세포($CD3^+$ $CD4^+$ $CD25^+$ $CD45RA^-$ $CTLA4^+$)에 대한 In vitro 세포상해 활성이 평가되었다. 우선 인간 PBMC(CTL Cryopreserved Human PBMC, CTL)가 동결 융해되고, 50U/ml 인터류킨 2(IL-2)/RPMI/10% FBS 중에 세포 밀도가 2×10^6세포/mL가 되도록 현탁되고, 5% CO_2 인큐베이터 내에서 4일간 37℃에서 배양되었다. 4일 후, 세포를 회수하고 RPMI/10% FBS로 2회 세정된 후에, 96웰 U저 플레이트의 각 웰 중에 100μL씩 파종되고(8×10^5cells/웰, 혹은 5×10^5cells/웰), 8mg/ml로 RPMI/10% FBS에서 조정된 KLH-G1m 용액이 각 웰에 25μL씩 첨가되고, 계속해서 각 농도(0, 2.4, 8, 24, 80μg/mL, 혹은 0, 0.8, 8, 80, 800μg/mL)로 RPMI/10% FBS에서 조제한 항체 용액이 96웰 U저 플레이트의 각 웰 중에 25μL씩 첨가되었다. 추가로, 0 혹은 400μM로 RPMI/10% FBS에서 조정된 ATP 용액이 50μL씩 첨가되고, 잘 현탁된 후에 CO_2 인큐베이터 내에서 6시간 37℃에서 정치되었다(2시간 간격으로 계 2회, 0 혹은 4000μM로 조정된 ATP 용액이 5μL씩 첨가되었다). 6시간 후에 PBMC를 회수하고, auto MACS Rinsing Solution(Milteny)으로 2회 세정한 후에, 이하의 항체와 반응시키고, FACS 해석에 의해 존재하는 면역 세포의 획분이 해석되었다. 생사 판정용 시약(Biolegend, Zombie Aqua), 항CD3 항체(BD, 클론: UCHT1), 항CD4 항체(BD, 클론: RPA-T4), 항CD8 항체(BD, 클론: SK1), 항CD45RA 항체(Biolegend, 클론: HI100), 항CD25 항체(BD, 클론: 2A3), 항CD16 항체(Biolegend, 클론: 3G8), 항CD56 항체(Biolegend, 클론: HCD56), 항CTLA4 항체(Biolegend, 클론: BNI3). FACS 해석은 BD LSR Fortessa X-20(BD)으로 행해졌다. 각각의 항체 농도에서의 생세포 중의 CTLA4 양성 제어성 T 세포의 비율을 산출하고, 항체 농도 0일 때의 값을 100%로 한 상대값을 CTLA4 양성 제어성 T 세포의 생존율(%)이라고 정의하고, 각 항체의 세포상해 활성을 평가할 때의 지표로 했다. 얻어진 결과를 도 46(SW1389-ART5+ACT1), 도 47(SW1389-ART6+ACT1), 도 48(SW1610-ART5+ACT1) 및 도 49(SW1610-ART6+ACT1)에 나타낸다.

[1115] 이 결과로부터 개변된 Fc를 갖는 항CTLA4 스위치 항체의 CTLA4 양성 제어성 T 세포에 대한 세포상해 활성은 ATP 존재하·비존재하에서 상이하여, ATP 의존적인 CTLA4 양성 제어성 T 세포에 대한 세포상해 활성이 존재하는 것이 확인되었다.

[1116] 〔참고 실시예 7〕 FcγR에의 결합능을 증강한 Fc 영역 개변체의 제작

[1117] 지금까지 세포상해성 이펙터 기능인 ADCC 및 ADCP를 증강하는 Fc 개변체는 보고되어 있지만, CH2 영역을 대칭으로 엔지니어링한 개변체나, 당쇄 개변에 의해 만들어진 저푸코스 항체는 모두 FcγR에의 결합을 더 증강할 여지가 남아 있었다. 또한 WO2013002362, WO2014104165에 기재되어 있는, CH2 영역이 비대칭으로 엔지니어링된 개변체는, 대칭으로 엔지니어링된 Fc 영역 개변체와 비교해서 크게 FcγR에의 결합능이 증강되어 있었지만, 추가적인 개선의 여지가 있었다. 구체적으로는, WO2013002362, WO2014104165에 기재되어 있는 Fc 영역 개변체 Kn125/H1076(본 명세서 중에서의 약칭: ART1)은, FcγRIIIa에의 결합능이 강하게 증강되어 있지만, FcγRIIa에의 결합능이 IgG1과 비교해서 수 배밖에 증강되어 있지 않아, 강한 ADCP 활성을 나타내기 위해서는 추가적인 증강이 필요하다고 생각되었다. 또한 Kn120/H1068(본 명세서 중에서의 약칭: ART2)은 FcγRIIa, FcγRIIIa 양쪽에의 결합이 증강되어 있어, ADCC, ADCP 모두 강한 활성이 기대되지만, 억제형의 FcγRIIb에의 결합능도 증강되어 있어, 우수한 이펙터 기능을 발휘하기 위한 지표인 A/I비가 작다는 과제가 있었다. 즉 기존의 방법에서는, 가장

이상적인 프로파일인, 「보다 강하게 활성형 FcγRIIa 및 FcγRIIIa에 결합하고, 또한 억제형 FcγRIIb에의 결합이 억제된 항체 개변 기술」은 달성되어 있지 않다. 그래서 본 발명에서는 추가적인 조합 개변을 검토하고, 이들 과제를 극복하는 우수한 프로파일의 Fc 영역 개변체의 제작이 검토되었다.

[1118] 비교 대상이 되는 기존의 Fc 영역 개변체는 다음과 같이 제작되었다. 우선 WO2014104165에 기재되어 있는 인간 Epiregulin에 대한 중쇄 가변 영역과, 인간 IgG1의 중쇄 정상 영역 서열을 갖는 항체 중쇄 유전자 H240-G1d(서열 번호: 279)가 제작되었다. G1d는 천연형 인간 IgG1의 중쇄 정상 영역 서열로부터 C 말단의 Lys와 Gly를 제거한 서열이다. H240-G1d의 CH3 영역에 대해서 헤테로이량화를 촉진하기 위한 개변인 Knobs-into-holes 개변(Nat. Biotechnol., 1998, 16, 677)을 도입하고, CH2 영역에 대해서 비대칭으로 FcγR에의 결합 증강 개변을 도입함으로써, 비교 대상이 되는 Fc 영역 개변체 ART1 및 ART2가 제작되었다. WO2013002362, WO2014104165에 기재된, FcγRIIIa에의 결합이 증강된 Fc 영역 개변체인 ART1은, 이하와 같이 제작되었다. H240-G1d의 CH2 영역에 대해서 FcγR에의 결합 증강 개변인, L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A를 도입하고, CH3 영역에 대해서 Y349C/T366W를 도입함으로써 H240-Kn125(서열 번호: 280)가 제작되었다. 또한 H240-G1d의 CH2 영역에 대해서 D270E/K326D/A330M/K334E를 도입하고, CH3 영역에 대해서 D356C/T366S/L368A/Y407V를 도입함으로써 H240-H1076(서열 번호: 281)이 제작되었다. H240-Kn125와 H240-H1076, 및 항인간 Epiregulin 항체의 경쇄인 L73-k0(서열 번호: 282)의 유전자를 갖는 플라스미드를 혼합하고, 리포펙션법에 의해 인간 태아 신세포 유래 Expi 293주(Invitrogen)에 도입했다. 4일간 배양된 상청으로부터, rProtein A Sepharose™ Fast Flow(Amersham Biosciences)를 이용하여 당업자 공지된 방법으로 정제함으로써, 인간 Epiregulin에 대한 Fc 개변 항체(H240-Kn125/L73-k0//H240-H1076/L73-k0: 항체 약칭 EGL-ART1)가 얻어졌다. 분광 광도계를 이용하여, 정제된 항체 용액의 280nm에서의 흡광도가 측정되었다. 얻어진 측정값으로부터 PACE법에 의해 산출된 흡광 계수를 이용하여 정제된 항체의 농도가 산출되었다(Protein Science (1995) 4, 2411-2423).

[1119] 마찬가지로, WO2013002362, WO2014104165에 기재되어 있는 FcγRIIa 및 FcγRIIIa의 양쪽에 대한 결합이 증강된 Fc 영역 개변체인 EGL-ART2(H240-Kn120/L73-k0//H240-H1068/L73-k0)가 제작되었다. 또한 FcγR에의 결합 증강 개변인 G236A, S239D, A330L, I332E를 상이한 조합으로 CH2 영역에 대칭으로 도입함으로써, 기존의 FcγR 결합 증강 항체 EGL-SDALIE(H240-Kn032/L73-k0//H240-H1032/L73-k0), EGL-GASDIE(H240-Kn037/L73-k0//H240-H1036/L73-k0), EGL-GASDALIE(H240-GASDALIE/L73-k0)가 제작되었다. 이들에 더하여, FcγRIIIa에 대한 결합을 증강한다(Glycobiol. Vol17 no1 pp. 104-118 (2006) 등)고 보고가 있는 아푸코실화 항체 EGL-afucosyl을 비교 대상으로서 제작했다. 상동 염색체 상의 양쪽의 푸코스 트랜스포터 유전자의 발현이 인위적으로 억제되어 있는 세포에서는 푸코스 트랜스포터의 기능이 저해된다. 이 세포를 이용함으로써 푸코스가 결손한 항체를 얻는 것이 가능하다(WO2006/067913 등). 또한 beta 1,4-N-acetylglucosaminyltransferase III과 Golgi alpha-mannosidae II가 강제 발현되는 세포에서 항체를 산생시켜도 푸코스가 결손한 항체를 얻는 것이 가능하다(Biotechnol, Bioeng. (2006) 93 (5), 851-861). 이들 당업자 공지된 방법에 의해 EGL-afucosyl(H240-G1d/L73-k_glycomab)이 제작되었다.

[1120] 이들 기존의 Fc 영역 개변체보다도 우수한 개변체를 제작하기 위해, 표 44에 기재되어 있는 새로운 Fc 영역 개변체 ART3, ART4, ART5, ART6, ART8, ART10, ART11, ART12가 제작되었다. 이들 개변체는, 한쪽의 중쇄에 L234F, L235Q, G236W, S239M, H268D, D270E, S298A가, 다른 한쪽의 중쇄에 D270E, S298A, K326D, K334E가 공통적으로 도입되어 있고, 이 코어가 되는 비대칭 개변군에 대해서 추가로 FcγR에의 결합을 변화시키는 개변을 조합하여 도입함으로써 제작되었다. 구체적으로는, L234F/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A가 도입된 쪽의 쇄에 대해서 추가로 K326D, A330M, I332E의 도입이 검토되었다. 또한 D270E/S298A/K326D/K334E가 도입된 쪽의 쇄에 대해서 추가로, G236A, I332E, I332D, A330M의 도입이 검토되었다. 또한 이들 FcγR 결합 증강 개변에 더하여, ART4, ART5, ART6, ART8, ART10, ART11, ART12의 양 쇄에는, WO2013118858에 기재되어 있는 항체의 안정성을 향상시키는 개변인 T250V, T307P가 도입되었다.

[1121] 여기에서 이용되는 각 중쇄 정상 영역의 명칭과 서열 번호의 대응은 이하와 같다: G1d(서열 번호: 307), Kn125(서열 번호: 308), H1076(서열 번호: 309), k0(서열 번호: 310), Kn120(서열 번호: 311), H1068(서열 번호: 312), Kn443(서열 번호: 313), H1408(서열 번호: 314), Kn456(서열 번호: 315), H1446(서열 번호: 316), Kn462(서열 번호: 317), H1441(서열 번호: 318), Kn462(서열 번호: 319), H1445(서열 번호: 320), Kn461(서열 번호: 321), H1443(서열 번호: 322), Kn494(서열 번호: 323), H1514(서열 번호: 324), Kn496(서열 번호: 325), H1516(서열 번호: 326), Kn498(서열 번호: 327), H1518(서열 번호: 328), GASDALIE(서열 번호: 329), Kn032(서열 번호: 330), H1032(서열 번호: 331), Kn037(서열 번호: 332), H1036(서열 번호: 333), G4d(서열 번호: 334)

[1122] 제작된 Fc 영역 개변체와 도입된 개변

표 44

항체 약칭	중쇄 명칭	서열 번호	G1d의 CH2 도메인에 도입된 개변	G1d의 CH3 도메인에 도입된 개변
EGL-G1d	H240-G1d	279		
EGL-ART1	H240-Kn125	280	L234Y/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A	Y349C/T366W
	H240-Hl076	281	D270E/K326D/A330M/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART2	H240-Kn120	283	L234Y/L235Y/G236W/S239M/H268D/S298A/A327D	Y349C/T366W
	H240-Hl068	284	D270E/K326D/A330K/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART3	H240-Kn443	285	L234F/L235Q/G236W/S239M/H268D/D270E/S298A/K326D	Y349C/T366W
	H240-Hl408	286	G236A/D270E/S298A/K326D/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART4	H240-Kn456	287	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/A330M/I332E	Y349C/T366W
	H240-Hl446	288	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/A330M/I332E/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART5	H240-Kn462	289	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D	Y349C/T366W
	H240-Hl441	290	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART6	H240-Kn462	291	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D	Y349C/T366W
	H240-Hl445	292	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/A330K/I332D/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART8	H240-Kn461	293	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E	Y349C/T366W
	H240-Hl443	294	G236A/T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART10	H240-Kn494	295	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/I332E	Y349C/T366W
	H240-Hl514	296	T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/I332E/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART11	H240-Kn496	297	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P	Y349C/T366W
	H240-Hl516	298	T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-ART12	H240-Kn498	299	L234F/L235Q/G236W/S239M/T250V/H268D/D270E/S298A/T307P/A330M	Y349C/T366W
	H240-Hl518	300	T250V/D270E/S298A/T307P/K326D/A330M/K334E	D356C/T366S/L368A/Y407V

[1123]

EGL-GASDALIE	H240-GASDALIE	301	G236A/S239D/A330L/I332E	
EGL-SDALIE	H240-Kn032	302	S239D/A330L/I332E	Y349C/T366W
	H240-H1032	303	S239D/A330L/I332E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-GASDIE	H240-Kn037	304	G236A/S239D/I332E	Y349C/T366W
	H240-H1036	305	G236A/S239D/I332E	D356C/T366S/L368A/Y407V
EGL-afucosyl	H240-G1d	1		

[1124]

[1125] 〔참고 실시예 8〕 Fc 영역 개변체의 FcγR에의 결합 평가

[1126] FcγR의 세포외 도메인은 WO2014104165에 기재된 방법으로 조제되었다. 제작된 항체와 인간 FcγR의 상호작용 해석은 Biacore 8K+를 이용하여 이하의 방법으로 실시되었다. 러닝 버퍼에는 50mM Na-Phosphate, 150mM NaCl, 0.05% Tween20(pH 7.4)이 이용되고, 25℃에서 측정이 실시되었다. 센서칩에는, Series S SA(GE Healthcare)에 대해 CaptureSelect Human Fab-kappa Kinetics Biotin Conjugate(Thermo Fisher Scientific)가 고정화된 칩이 이용되었다. 이 칩에 대해서 목적하는 항체가 캡쳐되고, 러닝 버퍼로 희석한 각 FcγR이 상호작용되었다. 칩은 10mM Glycine-HCl(pH 1.5)을 이용하여 재생되고, 반복 항체를 캡쳐하여 측정이 행해졌다. 각 항체의 FcγR에 대한 해리 상수 KD(mol/L)는, Biacore Insight Evaluation Software를 이용하고, FcγRIIb에 대한 해리 상수는 Steady state affinity model, 그 밖의 FcγR에 대한 해리 상수는 1:1 Langmuir binding model을 이용하여 산출되었다(표 45).

[1127] 제작된 개변체와 인간 FcγR의 결합 측정

표 45

정상 영역 약칭	항체명	hFcγRs 에 대한 K_D (M)							G1d와 hFcgRs의 K_D에 대한 상대값							A/I 비 (FcγRIIb 에 대한 K_D 를 각 FcγR에의 K_D 로 나눈 값)					
		hFcγR Ia	hFcγR IIa H	hFcγR IIa R	hFcγR IIb	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR Ia	hFcγR IIa H	hFcγR IIa R	hFcγR IIb	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V	hFcγR IIa H	hFcγR IIa R	hFcγR IIIa F	hFcγR IIIa V
G1d	H240-G1d/L73-k0	9.01E-11	1.12E-06	1.66E-06	1.01E-05	2.96E-06	3.58E-07	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.9	6.1	3.4	28.1
ART1	H240-Kn125/L73-k0//H240-HI076/L73-k0	3.02E-11	2.64E-07	1.01E-06	1.25E-05	2.53E-09	1.11E-09	3.0	4.3	1.6	0.8	1170.2	322.8	47.4	12.4	4947.2	11261.3
ART2	H240-Kn120/L73-k0//H240-HI068/L73-k0	2.64E-11	7.64E-08	3.38E-08	4.40E-07	6.43E-09	1.67E-09	3.4	14.7	49.0	22.8	459.6	214.6	5.8	13.0	68.4	263.7
ART3	H240-Kn443/L73-k0//H240-HI408/L73-k0	1.72E-10	3.50E-08	1.21E-07	6.33E-06	1.60E-08	3.16E-09	0.5	32.1	13.7	1.6	185.2	113.5	180.7	52.4	396.1	2003.7
ART4	H240-Kn456/L73-k0//H240-HI446/L73-k0	3.05E-11	1.79E-07	5.18E-07	1.17E-05	1.17E-09	7.75E-10	2.9	6.3	3.2	0.9	2519.9	462.2	65.2	22.5	9943.2	15047.3
ART5	H240-Kn462/L73-k0//H240-HI441/L73-k0	1.69E-10	3.32E-08	1.60E-07	7.96E-06	2.00E-08	3.86E-09	0.5	33.9	10.4	1.3	148.1	92.9	240.1	49.9	398.8	2064.8
ART6	H240-Kn462/L73-k0//H240-HI445/L73-k0	7.37E-11	9.52E-09	6.89E-08	2.92E-06	3.00E-09	1.11E-09	1.2	118.0	24.1	3.4	986.7	321.9	307.0	42.4	975.5	2625.7
ART8	H240-Kn461/L73-k0//H240-HI443/L73-k0	2.80E-11	7.49E-08	1.26E-07	3.53E-06	1.50E-09	5.16E-10	3.2	15.0	13.2	2.8	1966.7	694.9	47.2	28.1	2350.3	6852.0
ART10	H240-Kn494/L73-k0//H240-HI514/L73-k0	2.67E-11	4.20E-07	1.10E-06	7.25E-06	2.29E-09	6.34E-10	3.4	2.7	1.5	1.4	1289.2	565.5	17.3	6.6	3159.9	11436.1

[1128]

ART11	H240-Kn496/L73-k0//H240-Hl516/L73-k0	3.81E-11	2.31E-07	1.27E-06	1.46E-05	2.10E-08	3.67E-09	2.4	4.9	1.3	0.7	140.6	97.5	63.3	11.5	694.1	3974.6
ART12	H240-Kn498/L73-k0//H240-Hl518/L73-k0	2.61E-11	3.66E-07	1.72E-06	2.21E-05	5.12E-09	2.27E-09	3.4	3.1	1.0	0.5	577.5	157.9	60.3	12.8	4309.9	9721.0
GASDALIE	H240-GASDALIE/L73-k0	4.23E-12	1.62E-07	1.61E-07	2.67E-06	2.98E-08	1.52E-08	21.3	6.9	10.3	3.8	99.1	23.6	16.5	16.5	89.3	175.7
SDALIE	H240-Kn032/L73-k0//H240-Hl032/L73-k0	1.66E-12	1.18E-06	9.35E-07	2.59E-06	2.62E-08	9.73E-09	54.3	1.0	1.8	3.9	112.7	36.8	2.2	2.8	98.7	266.1
GASDIE	H240-Kn037/L73-k0//H240-Hl036/L73-k0	1.45E-11	6.86E-08	6.70E-08	1.25E-06	6.61E-08	2.38E-08	6.2	16.4	24.7	8.0	44.7	15.1	18.2	18.6	18.9	52.6
Afucosyl	H240-G1d/L73-k_glycomab	6.51E-11	9.99E-07	9.46E-07	5.65E-06	1.23E-07	1.90E-08	1.4	1.1	1.8	1.8	24.0	18.9	5.7	6.0	46.0	298.1

[1129]

[1130] 표 중의 「G1d와 hFcγRs의 KD에 대한 상대값」이란, G1d의 각 FcγR에 대한 KD값을 각 항체의 각 FcγR에 대한 KD값으로 나눈 값이며, 각 항체가 G1d에 대해서 얼마나 증강되어 있는지를 나타내는 값이다. 또한 「A/I비」란 각 항체의 FcγRIIb에 대한 KD를 각 FcγR에의 KD로 나눈 값이며, 억제형 FcγR에의 결합에 대해서 활성형 FcγR에의 결합이 얼마나 선택적으로 증강되어 있는지를 나타내는 값이다.

[1131] 본 발명에 있어서 제작된 ART3, ART4, ART5, ART6, ART8, ART10, ART11, ART12는 모두 FcγRIIIaF, FcγRIIIaV에 대해서 G1d보다도 증강되어 있었다. 이들 개변체는, 대칭으로 개변이 도입된 기존의 FcγR 증강 항체인 GASDALIE, SDALIE, GASDIE 및 Afucosyl 항체와 비교하더라도 FcγRIIIaF, FcγRIIIaV의 양쪽의 FcγR에 대해서 보다 증강되어 있었다. 또한 ART4(2519.9배), ART6(986.7배), ART8(1966.7배), ART10(1289.2배), ART12(577.5배)는, WO2014104165에 기재되어 있는 ART2(459.6배)와 비교해서 FcγRIIIaF에의 결합이 증강되어 있었다. 나아가 ART4, ART8, ART10은, ART2보다도 FcγRIIIaF에의 결합이 강한 ART1(1170.2배)과 비교하더라도, FcγRIIIaF에의 결합이 증강되어 있었다. 마찬가지로 FcγRIIIaV에 관해서도, ART4(462.2배), ART6(321.9배), ART8(694.9

배), ART10(565.5배)은, ART2(214.6배)와 비교해서 보다 결합이 증강되어 있고, ART4, ART8, ART10은 ART1(322.8배)과 비교하더라도 결합이 더 증강되어 있었다. ART6은 ART1과 동일한 정도의 FcγRIIIaV에의 증강이었다.

[1132] ART3(32.1배), ART4(6.3배), ART5(33.9배), ART6(118.0배), ART8(15.0배), ART10(2.7배), ART11(4.9배), ART12(3.1배)는 모두 G1d와 비교해서 FcγRIIaH에 대해서 증강되어 있고, 특히 ART3, ART5, ART6, ART8은 WO2014104165에 기재되어 있는 CH2 영역을 비대칭으로 개변한 FcγRIIa 증강 항체인 ART2(14.7배)와 비교하더라도 더 증강되어 있었다. 나아가 ART3, ART5, ART6은 기존의 대칭으로 개변이 도입된 FcγRIIa 증강 항체인 GASDIE(16.4배)와 비교하더라도 보다 강하게 증강되어 있어, 어느 기존의 개변체보다도 강한 ADCP 활성을 나타낼 것이 기대된다. FcγRIIaR에의 결합에 대해서는, ART3(13.7배), ART4(3.2배), ART5(10.4배), ART6(24.1배), ART8(13.2배), ART10(1.5배), ART11(1.3배)은 모두 G1d와 비교해서 증강되어 있었지만, 이들 개변체와 비교해서 기존의 개변체인 GASDIE(24.7배)와 ART2(49.0배) 쪽이 보다 크게 증강되어 있었다. 그러나 여기에서 주목해야 할 것은, 활성형 FcγR에 대한 선택성이다. 억제형의 리셉터인 FcγRIIb는, 활성형 FcγR과는 대조적으로 면역 반응을 억제하는 세포내 시그널을 유발하기 때문에, 활성형 FcγR로부터의 시그널을 저해할 것이 예상된다. 실제로 FcγRIIb를 녹아웃한 마우스에 있어서는 항체의 항종양 효과가 항진하는 것이 보고되어 있다(Nature Medicine 2000, 6, 443-436). 또한 마우스 IgG 서브클래스의 항종양 효과의 차이와 활성형 FcγR과 억제형 FcγR에 대한 결합의 비율(A/I비) 사이에는 상관이 관찰되고 있다(Science 2005, 310, 1510-1512). 따라서 보다 강한 이펙터 기능을 발휘하기 위해서는, FcγRIIb에의 결합이 저감되면서, 활성형 FcγR에의 결합이 증강된 항체가 필요하다고 생각된다. 그러나, FcγRIIaR은 FcγRIIb와의 서열 상동성이 높기 때문에 선택성을 부여하는 것이 어렵고, 실제로 지금까지 보고되어 있는 개변체는 우수한 선택성을 갖고 있다고는 말하기 어렵다. 본 발명에 있어서 새로이 제작된 개변체 ART10(A/I비 6.6), ART11(A/I비 11.5), ART12(A/I비 12.8), ART4(A/I비 22.5), ART8(A/I비 28.1), ART6(A/I비 42.4), ART5(A/I비 49.9), ART3(A/I비 52.4)은 모두, FcγRIIaR의 A/I비에 관해서 G1d(A/I비 6.1)보다도 우수하고, 그 중에서도 ART4, ART8, ART6, ART5, ART3은 ART2(A/I비 13.0) 및 GASDIE(A/I비 18.6)보다도 우수한 것이 나타났다. 마찬가지로 FcγRIIaH의 A/I비에 관해서, ART10(A/I비 17.3), ART8(A/I비 47.2), ART12(A/I비 60.3), ART11(A/I비 63.3), ART4(A/I비 65.2), ART3(A/I비 180.7), ART5(A/I비 240.1), ART6(A/I비 307.0)은 G1d(A/I비 8.9)와 비교해서 우수하고, 그 중에서도 ART8, ART12, ART11, ART4, ART3, ART5, ART6은, ART2(A/I비 5.8)나 GASDIE(A/I비 18.2)와 비교해서 보다 우수한 A/I비를 나타냈다. 이상의 결과로부터, ART4, ART8, ART3, ART5, ART6은, 기존의 FcγRIIaR에 대한 증강 항체보다도 우수한 A/I비를 갖는 항체라고 말할 수 있다. 또한 ART3, ART5, ART6은, 기존의 FcγRIIaH에 대한 증강 항체보다도 우수한 결합능과 A/I비를 갖는 항체라고 말할 수 있다.

[1133] FcγRIIIaF의 A/I비에서는, ART3(A/I비 396.1), ART5(A/I비 398.8), ART11(A/I비 694.1), ART6(A/I비 975.5), ART8(A/I비 2350.3), ART10(A/I비 3159.9), ART12(A/I비 4309.9), ART4(A/I비 9943.2)가 되어, 모두 G1d(A/I비 3.4)보다도 우수했다. 그 중에서도 ART4는 WO2014104165에 기재되어 있는 FcγRIIIa 특이적 증강 개변체인 ART1(A/I비 4947.2)보다도 우수한 A/I비를 나타냈다. 마찬가지로 FcγRIIIaV의 A/I비에서는 ART3(A/I비 2003.7), ART5(A/I비 2064.8), ART6(A/I비 2625.7), ART11(A/I비 3974.6), ART8(A/I비 6852.0), ART12(A/I비 9721.0), ART10(A/I비 11436.1), ART4(A/I비 15047.3)가 되어, 모두 G1d(A/I비 28.1)나 기존의 증강 개변체 Afucosyl(A/I비 298.1)과 비교해서 우수했다. 그 중에서도 ART4와 ART10은 WO2014104165에 기재되어 있는 FcγRIIIa 특이적 증강 개변체인 ART1(A/I비 11261.3)보다도 우수한 A/I비를 나타냈다. 이상의 결과로부터 ART4는 FcγRIIIaF, FcγRIIIaV의 양쪽에 관해서, 기존의 증강 항체 ART1보다도 더 우수한 결합능과 A/I비를 갖는 항체라고 말할 수 있다.

[1134] 〔참고 실시예 9〕 개변된 Fc 영역을 갖는 항체의 ADCC reporter bioassay에 의한 평가

[1135] (9-1) 인간 Epiregulin 발현 세포(Hepa1-6/hEREG)의 제작

[1136] 마우스 간암주 Hepa1-6 세포는 ATCC사로부터 구입되고, 인간 EREG(hEREG) 유전자를 트랜스펙션에 의해 도입하고, 항상 발현하는 클론이 선발되었다. hEREG 유전자는 Zeocin으로 선발된다. Hepa1-6/hEREG 세포는 10% FBS(SIGMA사제), 400μg/mL Zeocin을 포함하는 D-MEM(high glucose) 배지(SIGMA사제)에서 유지 계대되었다.

[1137] (9-2) ADCC Reporter Bioassay에 의한 평가

[1138] In vitro ADCC 활성 측정에는 hFcγRIIIaV ADCC Reporter Bioassay, Effector cells, Propagation Model(Promega)이 이용되었다. 384웰 플레이트의 각 웰에, 배지에 의해 5×10^5/mL로 농도를 조제한 Hepa1-6/hEREG 세포를 타겟 세포로서 10μL씩 가하고, 배지에는 Assay Buffer(96% RPMI, 4% FBS)가 사용되었다. 다음

으로 참고 실시예 7에서 제작된 항체 및 음성 대조로서 인간 IgG4의 서열을 갖는 EGL-G4d(중쇄 서열 번호: 306, 경쇄 서열 번호: 282)가 각각, 최종 농도가 1㎍/mL로부터 공비 10으로 11점이 되도록 assay buffer로 희석된 후 10㎕ 가해지고, 마지막으로 이펙터 세포 용액으로서 배지에 의해 3×10^6/mL로 조제된 hFcγRIIIaV 발현 Jurkat 세포가 10㎕ 가해져, 합계 30㎕가 되도록 혼합된 후, 5% CO_2 인큐베이터 내에서 37℃에서 하룻밤 정치되었다. 그 후 플레이트는 실온에서 15분 정치되고, 각 웰에 Bio-Glo reagent가 30㎕씩 가해졌다. Bio-Glo reagent에는 Bio-glo Luciferase Assay System(Buffer and Substrate)이 사용되었다. 그 후 각 웰의 발광은 플레이트 리더로 측정되었다.

[1139] 각 웰의 발광의 값을 항체 미첨가 웰의 발광의 값으로 나눈 값을 Fold induction으로 하고, 각 항체의 ADCC를 평가하는 지표로 여겼다. 얻어진 결과는 도 50에 나타났다. 또한 각 검체의 EC50값은 JMP 11.2.1(SAS Institute Inc.)로 산출되고, 표 46에 나타났다.

[1140] 각 개변 Fc를 갖는 항체의 hFcγRIIIaV를 개재시킨 리포터 유전자 유도 활성의 EC50값

표 46

항체 약칭	EC50 값 (μg/mL)
EGL-G1d	4.63E-02
EGL-ART1	7.16E-04
EGL-ART2	1.35E-03
EGL-ART3	1.53E-03
EGL-ART4	7.89E-04
EGL-ART5	1.67E-03
EGL-ART6	1.50E-03
EGL-ART8	1.07E-03
EGL-ART10	1.07E-04
EGL-ART11	4.13E-04
EGL-ART12	3.04E-04
EGL-GASDALIE	2.08E-03
EGL-SDALIE	1.78E-03
EGL-GASDIE	3.70E-03
EGL-G4d	N/A
EGL-afucosyl	5.16E-03

[1141]

[1142] 이 결과로부터 금회 제작된 개변 Fc를 갖는 항체의 Hepa1-6/hEREG 세포에 대한 리포터 유전자 유도 활성은, 야생형의 인간 IgG1 정상 영역과 비교해서 강력한 활성을 갖는 것이 나타났다. 또한 표 46의 결과로부터, 이들 개변체는 모두 CH2 영역을 대칭으로 엔지니어링한 개변체나, 당쇄 개변에 의해 만들어진 저푸코스 항체와 비교해서, 보다 저농도로 활성을 나타냈다. 금회 제작된 개변체 중 ART3, ART4, ART5, ART6, ART8, ART10, ART11, ART12는 ART2와 비교해서 동일한 정도 이하의 농도로 활성을 갖는 것이 나타났다. 그 중에서도 ART4, ART10, ART11, ART12는, ART2보다도 hFcγRIIIaV에의 결합이 더 증강된 ART1과 비교하더라도, 보다 저농도에서 활성을 나타냈다.

[1143] 〔참고 실시예 10〕 개변된 Fc 영역을 갖는 항체의 ADCP Reporter Bioassay에 의한 평가

[1144] In vitro ADCP 활성 측정에는 hFcγRIIaH ADCP Reporter Bioassay, Core Kit(Promega)를 이용했다. 384웰 플레이트의 각 웰에, 배지에 의해 1×10^6/mL로 농도를 조제한 Hepa1-6/hEREG 세포를 타겟 세포로서 10㎕씩 가하고, 배지에는 Assay Buffer(96% RPMI, 4% FBS)가 사용되었다. 다음으로 참고 실시예 7에서 제작된 항체가 각각, 최종 농도가 0, 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10㎍/mL가 되도록 assay buffer로 희석된 후 10㎕ 가해지고, 마지막으로 이펙터 세포 용액으로서 키트에 부속된 hFcγRIIaH 발현 Jurkat 세포가 10㎕ 가해져, 합계 30㎕가 되도록 혼

합된 후, 5% CO_2 인큐베이터 내에서 37℃에서 6시간 정치되었다. hFcγRIIaH 발현 Jurkat 세포는 그 세포액 밀도가 9.68×10^5/mL였다. 그 후 플레이트는 실온에서 15분 정치되고, 각 웰에 Bio-Glo reagent가 30μL씩 가해졌다. Bio-Glo reagent에는 Bio-glo Luciferase Assay System(Buffer and Substrate)이 사용되었다. 그 후 각 웰의 발광은 플레이트 리더로 측정되었다. 각 웰의 발광의 값을 항체 미첨가 웰의 발광의 값으로 나눈 값을 Fold induction으로 하고, 각 항체의 ADCP를 평가하는 지표로 여겼다. 얻어진 결과는 도 51에 나타났다. 또한 각 검체의 EC50값은 JMP 11.2.1(SAS Institute Inc.)로 산출되고, 표 47에 나타났다.

[1145] 각 개변 Fc를 갖는 항체의 hFcγRIIaH를 개재시킨 리포터 유전자 유도 활성의 EC50값

표 47

[1146]

항체 약칭	EC50 값 (μg/mL)
EGL-G1d	N/A
EGL-ART1	3.53E-02
EGL-ART2	2.18E-02
EGL-ART3	1.58E-02
EGL-ART4	4.32E-02
EGL-ART5	2.45E-02
EGL-ART6	1.92E-02
EGL-ART8	1.71E-02
EGL-ART10	4.19E-02
EGL-ART11	3.67E-02
EGL-ART12	8.50E-02
EGL-GASDALIE	3.24E-02
EGL-SDALIE	N/A
EGL-GASDIE	1.49E-02
EGL-G4d	N/A
EGL-afucosyl	N/A

[1147] 이 결과로부터 금회 제작된 개변 Fc를 갖는 항체의 Hepa1-6/hEREG 세포에 대한 리포터 유전자 유도 활성은, 야생형의 인간 IgG1 정상 영역과 비교해서 강력한 활성을 갖는 것이 나타났다. 또한 표 47의 결과로부터, CH2 영역을 대칭으로 엔지니어링한 개변체나, 당쇄 개변에 의해 만들어진 저푸코스 항체와 비교해서 보다 저농도에서 활성을 나타내는 것이 나타났다. 나아가 금회 제작된 개변체 중 ART2, ART3, ART5, ART6, ART8은 ART1과 비교해서 보다 저농도에서 활성을 갖는 것이 나타났다. 그 중에서도 ART3, ART6, ART8은, hFcγRIIaH에 대해서 결합이 더 증강된 ART2와 비교하더라도 보다 저농도에서 활성을 나타냈다.

[1148] 〔참고 실시예 11〕 인간 FcγR 트랜스제닉 마우스를 이용한 동계 종양 세포 이식 모델에 있어서의 개변된 Fc 영역을 갖는 항체의 항종양 효과의 평가

[1149] (11-1) 세포주

[1150] 참고 실시예 9-1에서 제작된 Hepa1-6/hEREG 세포를 10% FBS(SIGMA), 400μg/mL Zeocin을 포함하는 D-MEM(high glucose) 배지(SIGMA)에서 유지 계대했다.

[1151] (11-2) 동계 종양주 이식 마우스 모델의 제작

[1152] 약효 시험에는 인간 FcγR 트랜스제닉 마우스(Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Apr 17; 109(16): 6181-6186.)가 이용되었다. 16주령의 수컷 마우스에 세포의 생착률을 향상시킬 목적으로 항아시알로 GM1 항체(aGM1, WAKO)가 100μL/head로 복강내 투여되었다. aGM1 투여 다음날, 피하에 Hepa1-6/hEREG 세포와 matrigel(CORNING)이 1:1로 혼합된 세포 용액이, 세포수로서 1×10^7cells 이식되고, 이식 종양의 체적의 평균이

대략 300㎣에서 500㎣이 된 시점에서 모델 성립으로 했다.

[1153] 이식 종양의 체적은 이하의 식으로 산출했다.

[1154] 종양 체적=장경×단경×단경/2

[1155] (11-3) 투여 약제의 조제

[1156] 본 발명에서 제작된 EGL-ART6은 참고 실시예 8의 A/I비의 결과 및 참고 실시예 9, 10의 리포터 유전자 유도 활성의 강도로부터, 가장 강한 항종양 활성이 기대되었다. 그래서, Hepa1-6/hEREG 세포 이식 모델에의 투여 약제로서는, 참고 실시예 7과 동일한 방법으로 조제된 항hEREG 컨트롤 항체(EGL-G1d) 및 FcγR 결합을 증강한 Fc를 갖는 항hEREG 항체(EGL-afucosyl, EGL-ART6)가 각각 1mg/mL가 되도록 His buffer(150mM NaCl, 20mM His-HCl buffer pH 6.0)를 이용하여 조제되었다.

[1157] (11-4) 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 투여

[1158] 이식 후 7일째에 EGL-G1d, EGL-afucosyl, EGL-ART6이 10mg/kg이 되도록 미정맥으로부터 투여되었다.

[1159] 항종양 효과 측정에 있어서의 약제 처치에 관한 상세를 표 48에 나타냈다.

[1160] Hepa1-6/hEREG 세포 이식 모델에서의 항종양 효과 측정

표 48

[1161]

군	마리수	약제	용량	투여법	투여일
1	5	His buffer	-	미정맥	이식 후 7일
2	5	EGL-G1d	10 mg/kg		
3	5	EGL-afucosyl	10 mg/kg		
4	5	EGL-ART6	10 mg/kg		

[1162] (11-5) 항종양 효과의 평가

[1163] 항종양 효과에 대해서는, (11-2)에 기재한 계산식으로 산출한 종양 체적으로 평가했다.

[1164] TGI(tumor growth inhibition)값에 대해서는, 이하의 계산식으로부터 산출했다.

[1165] TGI=(1-(측정 시에 있어서의 주목하는 군의 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값)÷(측정 시에 있어서의 control군 종양 체적의 평균값-항체 투여 전의 시점에서의 종양 체적의 평균값))×100

[1166] 그 결과, EGL-afucosyl, EGL-ART6의 FcγR 결합 증강 양 항체는 쌍방 모두 10mg/kg의 투여로, 투여 후 19일째에서 TGI=80 이상의 약효를 나타냈다. 한편으로, 컨트롤 항체인 EGL-G1d는 TGI=31이었다(도 52). 이것으로부터, 본 발명에서 제작된 EGL-ART6은, EGL-afucosyl에 대해, 생체 내에 있어서의 항종양 효과도 기대대로 증강되는 것이 확인되었다.

[1167] [참고 실시예 12] 개변된 Fc 영역을 갖는 항체의 C1q에 대한 결합 활성 평가

[1168] 항체의 CDC 활성은 항종양 효과에 기여한다는 보고가 있는 한편으로(Nat. Immunol., 2017, 18, 889), infusion-related reaction으로 대표되는 CDC 활성 유래의 부작용을 야기하는 것이 알려져 있다(J. Immunol. 2008, 180, 2294-2298 및 Br. J. Haematol. 2001, 115, 807-811). 따라서 ADCC 활성이나 ADCP 활성을 증강한 항체 의약품을 개발하는 경우여도, 표적 질환에 따라 CDC 활성의 정도를 선택할 수 있는 것이 바람직하다. 보체와 Fc의 상호작용은 C1q에 의해 중개된다. C1q와 Fc의 상호작용을 해석한 보고에 의하면(Science, 2018, 359, 794-797 및 Molecular Immunology 2012, 51, 66-72), Fc 영역 상의 FcγR과 C1q의 상호작용 부위는 일부 중복되고 있다고 생각된다. 이들 문헌에 있어서, Fc 상의 포지션 중, EU 넘버링 329번째, 330번째, 331번째의 잔기가 C1q와의 상호작용에 중요하고, 그 밖에도 EU 넘버링 268번째나 270번째, 298번째의 잔기도 C1q와의 결합에 기여하고 있다고 보고되어 있다. 이들 포지션 및 그 주변 잔기는, 본 발명에서 FcγR에의 결합을 증강하기 위해서 개변되고 있는 부위이기 때문에, 제작된 Fc 영역 개변체는 C1q에의 결합도 증강 혹은 감약되어 있을 가능성이 높아, 항체 의약품의 개발에 있어서 CDC 활성을 제어할 수 있을 가능성이 있다. 그래서 제작된 Fc 영역 개변

체의 C1q에의 결합 평가가 실시되었다.

[1169] 참고 실시예 7 및 참고 실시예 9에서 제작된 항인간 Epiregulin 항체가 ELISA에 제공되었다. 또한 표 49에 나타내는 Buffer가 적절히 조제되었다. 항원으로서 인간 C1q 단백질(hC1q)이 이용되었다.

[1170] 인간 C1q ELISA에 사용된 buffer의 조성

표 49

[1171]

버퍼	조성
Blocking/dilution buffer:	TBS, 0.1% Tween20, 0.5%BSA, 1x Block ace powder
Wash Buffer	PBST, pH7.4
Stop Buffer	0.5 mol/L sulfuric acid

[1172] 처음에, 96well maxisorp 플레이트(Thermo fisher)가 30, 10, 3, 1, 0.3, 0.1, 0.03μg/mL로 PBS에서 조제된 각 항체를 포함하는 50μL의 용액으로 4℃에서 하룻밤 코팅되었다. 당해 플레이트의 각 웰이 Wash buffer로 세정되어, 플레이트에 결합하고 있지 않는 각 항체가 제거된 후, 당해 웰이 Blocking/dilution Buffer 200μL로 실온에서 2시간 이상 블로킹되었다. Blocking/dilution Buffer가 제거된 각 웰에, Blocking/dilution Buffer로 3μg/mL의 종농도가 되도록 조제된 hC1q(Calbiochem)의 50μL가 가해졌다. 당해 플레이트를 실온에서 1시간 정치하는 것에 의해, hC1q를 각 웰에 존재하는 각 항체에 결합시켰다. Wash Buffer로 세정된 후에, Blocking/dilution Buffer에 의해 희석된 HRP 결합 항hC1q 항체(AbDSerotec)가 각 웰에 50μL 첨가되고, 플레이트가 1시간 정치로 인큐베이트되었다. Wash Buffer로 세정 후, TMB single 용액(Invitrogen)이 첨가되었다. 각 웰 중의 용액의 발색 반응이 Stop Buffer의 첨가에 의해 정지된 후, 450nm 및 690nm의 흡광도에 의해 당해 발색이 측정되었다. 한편, Buffer로서는 표 49에 기재된 조성을 포함하는 Buffer가 사용되었다. 측정된 결과를 도 53 및 도 54에 나타냈다.

[1173] 도 53 및 도 54에 나타나는 바와 같이, 평가된 개변체 중, ART3, ART5, ART11의 C1q에의 결합능은 G1d보다도 증강되어 있었다. 또한 Afucosyl 및 ART8은 G1d와 동일한 정도의 결합능이었다. 또한 ART1, ART2, ART4, ART6, ART10, ART12, GASDALIE, SDALIE, GASDIE는 C1q에의 결합이 G1d보다도 저감되어 있었다. 이들 중에서도 ART1, ART2, ART4, ART6, ART12, GASDALIE, SDALIE, GASDIE의 C1q에의 결합능은, 인간 IgG4의 서열을 갖는 G4d와 동일한 정도로까지 감약되어 있었다. 인간 IgG4는 CDC 활성을 거의 가지지 않는다고 여겨지고 있기 때문에(J. Immunol. Methods 2005, 306, 151-160), G4d와 동일한 정도까지 C1q에의 결합이 감약되어 있는 이들 개변체는, IgG4와 마찬가지로 CDC 활성을 거의 갖지 않는다고 생각된다. 이들 C1q에의 결합이 대폭으로 저감된 개변체에 공통되는 아미노산 개변으로서, Ala330에의 개변 혹은 Ile332에의 개변을 들 수 있다. 이들 영역, 특히 Ala330은 C1q와의 상호작용에 있어서 극히 중요한 영역이기 때문에, 이 부위에의 개변 도입이 C1q와의 결합을 대폭으로 저감한 것이 고찰되었다. 한편으로, G1d와 비교해서 C1q에의 결합이 증강되어 있던 ART3, ART5, ART11은 330위나 332위에의 개변이 도입되어 있지 않아, C1q에의 결합을 향상시킨다고 여겨지고 있는 S298A 개변이나 326위에의 개변(Science, 2018, 359, 794-797)의 효과에 의해 결합이 증강된 것이라고 생각된다.

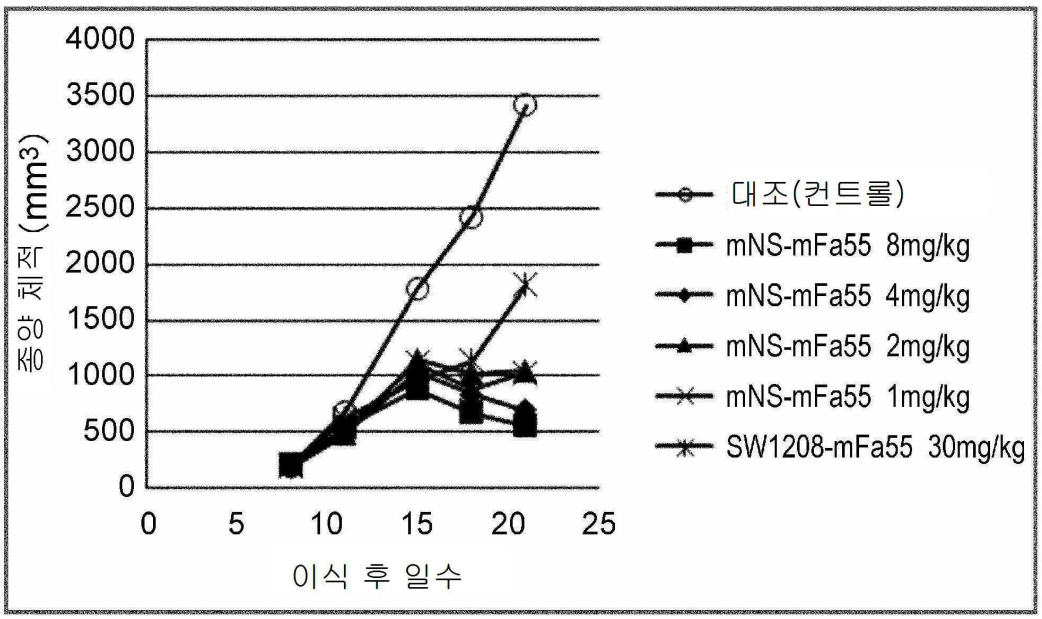
[1174] 전술한 발명은, 명확한 이해를 도울 목적 아래, 실례 및 예시를 이용하여 상세히 기재했지만, 본 명세서에 있어서의 기재 및 예시는, 본 발명의 범위를 한정하는 것으로 해석되어서는 안 된다. 본 명세서에서 인용한 모든 특허문헌 및 과학문헌의 개시는, 그 전체에 걸쳐서, 참조에 의해 명시적으로 본 명세서에 원용된다.

산업상 이용가능성

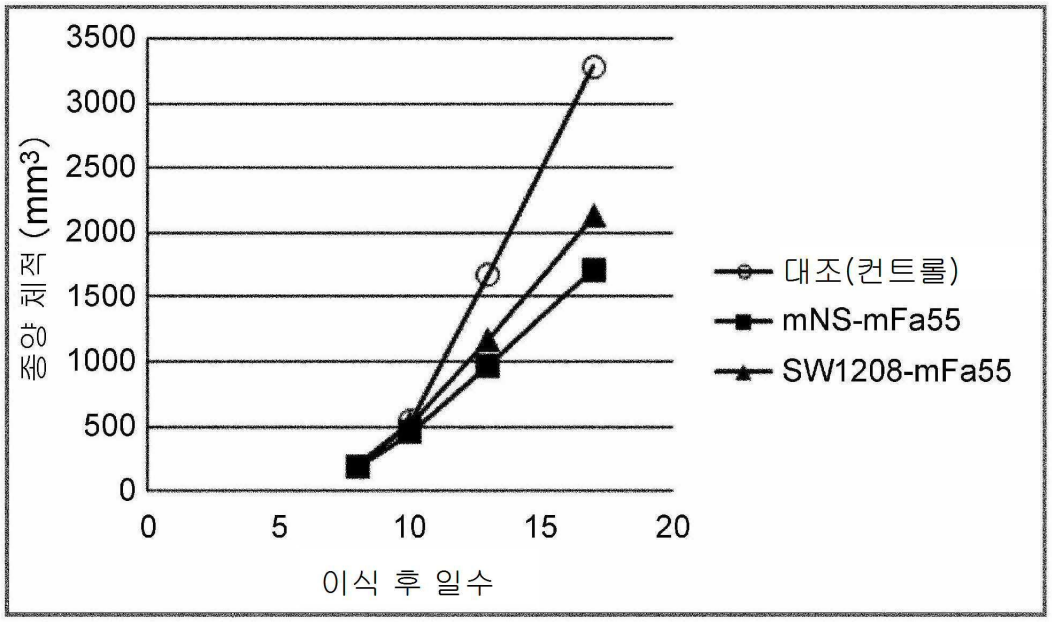
[1175] 본 개시의 항CTLA-4 항체, 및 그들을 사용하는 방법은, 면역 세포의 활성화 작용, 세포상해 활성, 및/또는 항종양 활성을 가지면서, 정상 조직 등의 비종양 조직에 대한 작용이 낮고, 부작용이 적은 의약의 개발, 제조, 제공, 사용 등에 있어서 이용 가능하다. 또한, 본 개시의 변이 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드 및 그의 제조 방법 및 사용 방법은, 활성형 FcγRIIa 및 FcγRIIIa에 강하게 결합하고, 또한 억제형 FcγRIIb에의 결합이 낮게 억제됨으로써, 높은 ADCC/ADCP 활성 및/또는 항종양 활성을 갖는 의약의 개발, 제조, 제공, 사용 등에 있어서 이용 가능하다.

도면

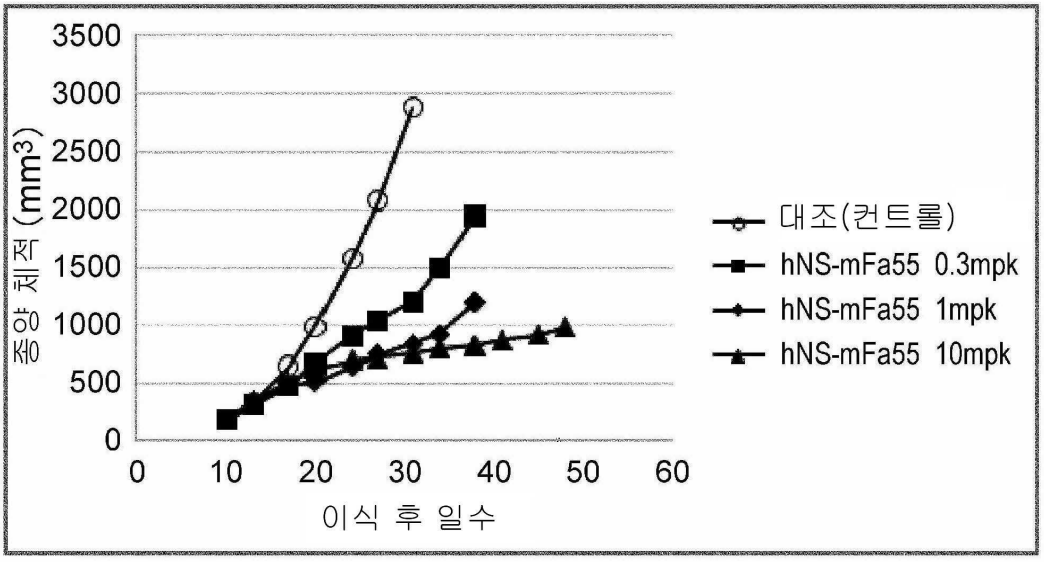
도면1


4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
종양 체적 (mm3)
이식 후 일수
대조(컨트롤)
mNS-mFa55 8mg/kg
mNS-mFa55 4mg/kg
mNS-mFa55 2mg/kg
mNS-mFa55 1mg/kg
SW1208-mFa55 30mg/kg

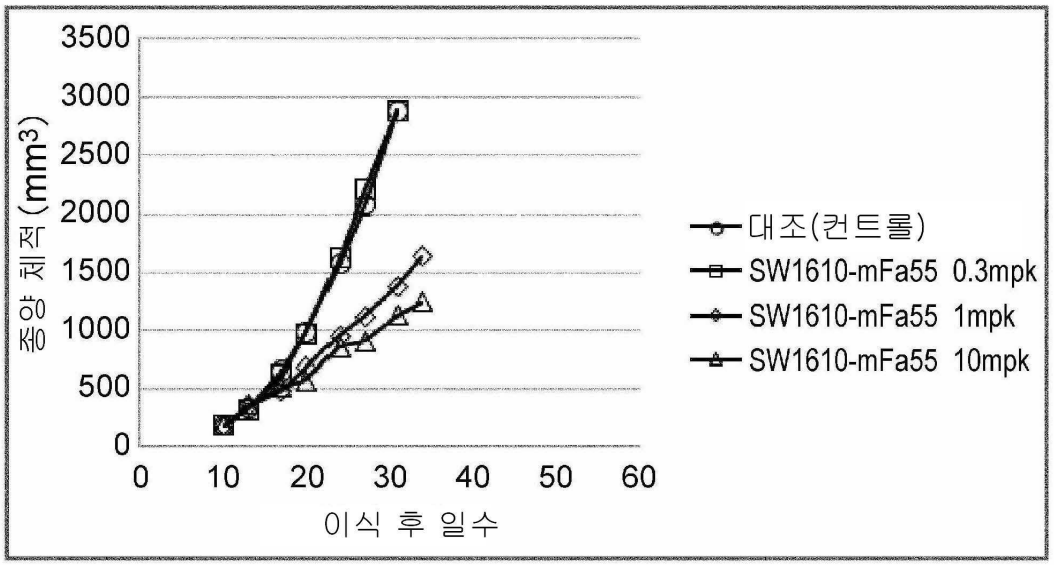
도면2


3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
종양 체적 (mm3)
이식 후 일수
대조(컨트롤)
mNS-mFa55
SW1208-mFa55

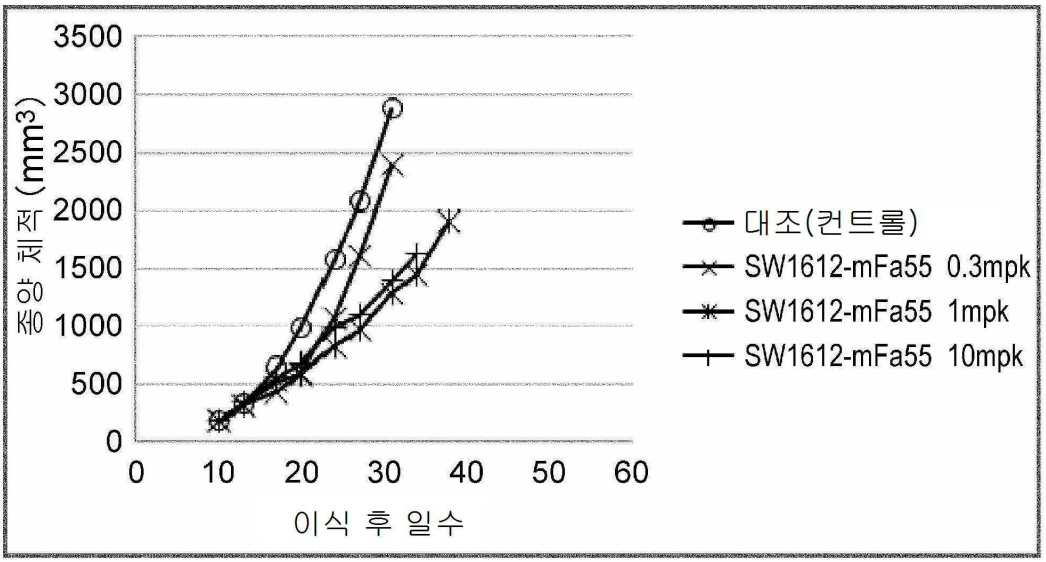
도면3


종양 체적 (mm3)
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
40
50
60
이식 후 일수
대조(컨트롤)
hNS-mFa55 0.3mpk
hNS-mFa55 1mpk
hNS-mFa55 10mpk

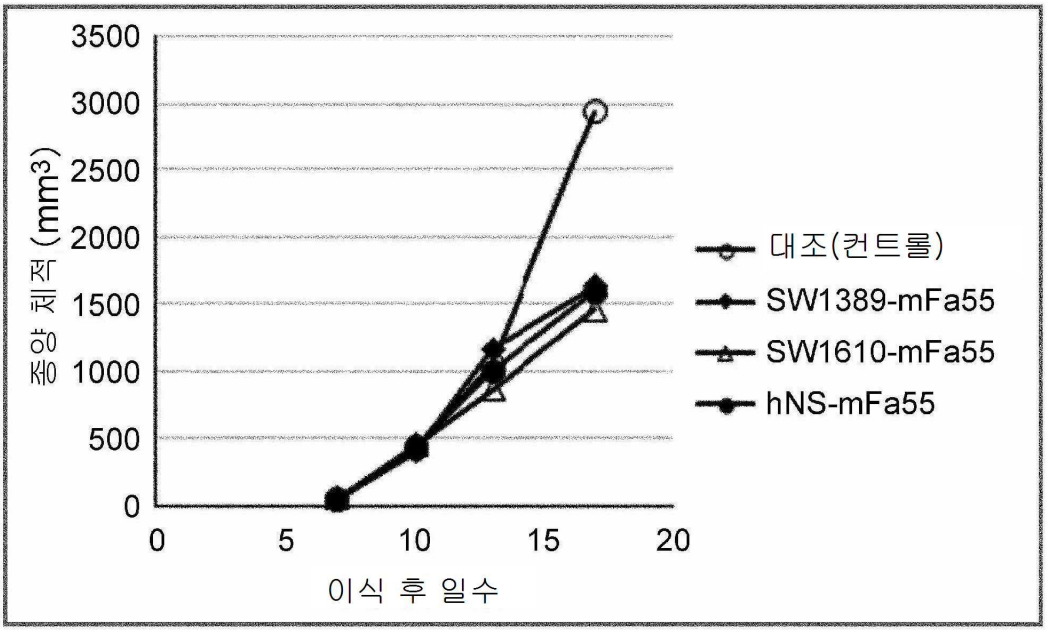
도면4


종양 체적 (mm3)
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
10
20
30
40
50
60
이식 후 일수
대조(컨트롤)
SW1610-mFa55 0.3mpk
SW1610-mFa55 1mpk
SW1610-mFa55 10mpk

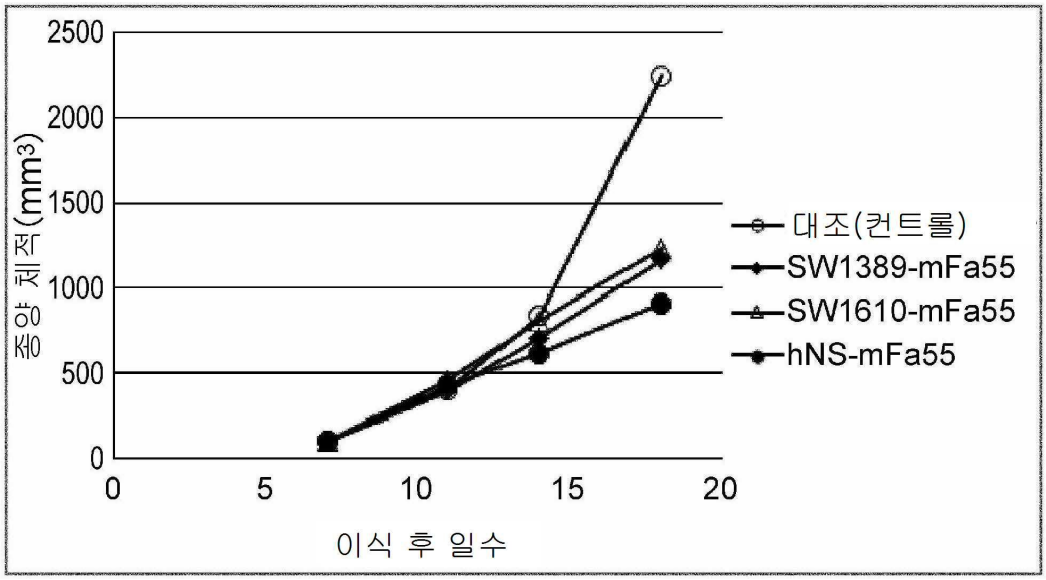
도면5


3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
종양 체적 (mm3)
0
10
20
30
40
50
60
이식 후 일수
대조(컨트롤)
SW1612-mFa55 0.3mpk
SW1612-mFa55 1mpk
SW1612-mFa55 10mpk

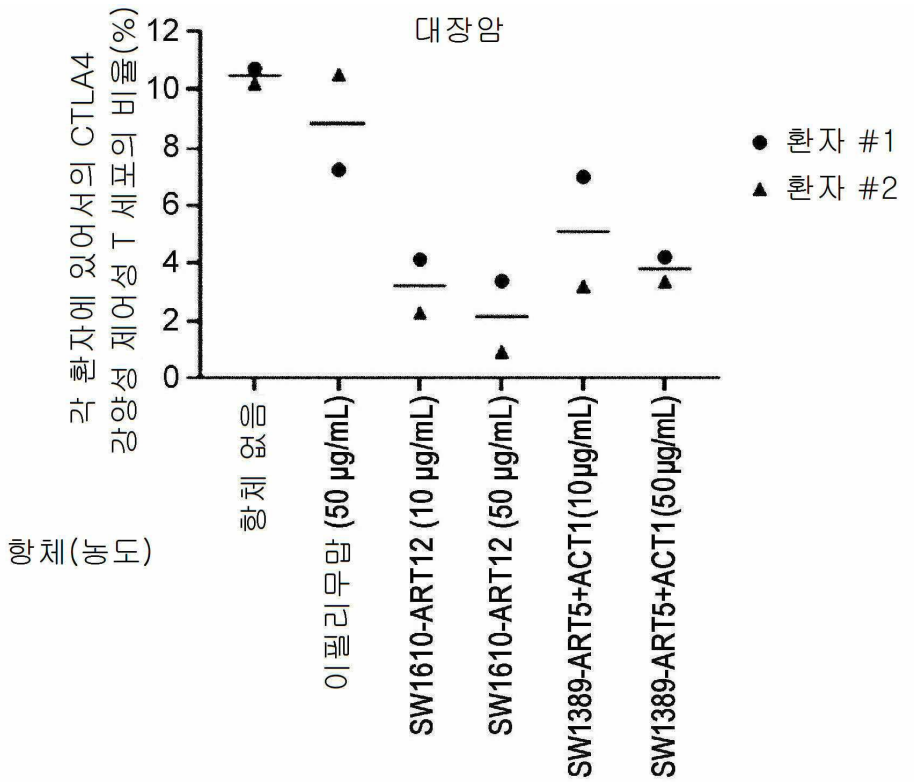
도면6


3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
종양 체적 (mm3)
0
5
10
15
20
이식 후 일수
대조(컨트롤)
SW1389-mFa55
SW1610-mFa55
hNS-mFa55

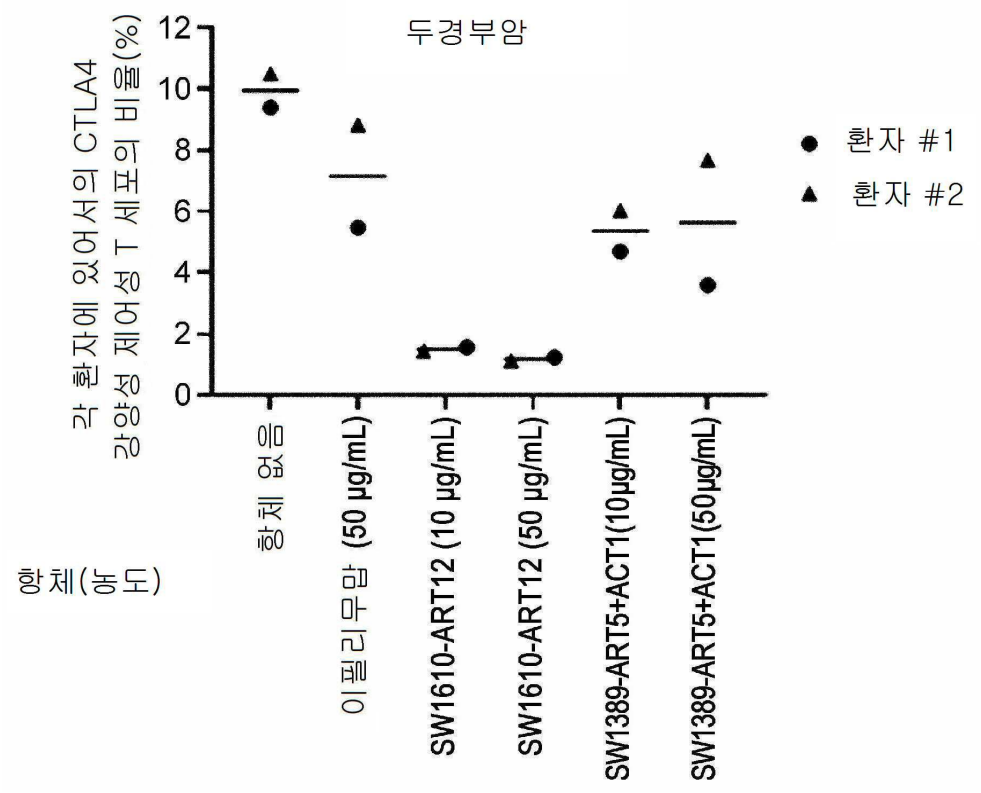
도면7


종양 체적(mm³)
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
이식 후 일수
대조(컨트롤)
SW1389-mFa55
SW1610-mFa55
hNS-mFa55

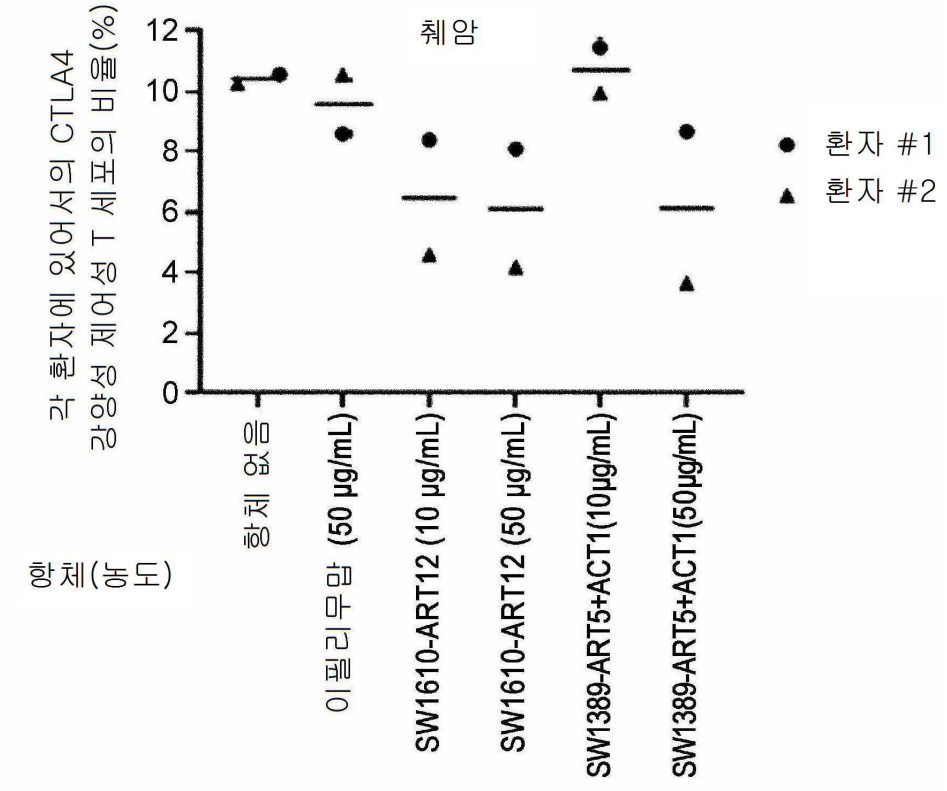
도면8


대장암
각 환자에 있어서의 CTLA4 강양성 제어성 T 세포의 비율(%)
12
10
8
6
4
2
0
환자 #1
환자 #2
항체 없음
이필리무맙 (50 μg/mL)
SW1610-ART12 (10 μg/mL)
SW1610-ART12 (50 μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(10μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(50μg/mL)
항체(농도)

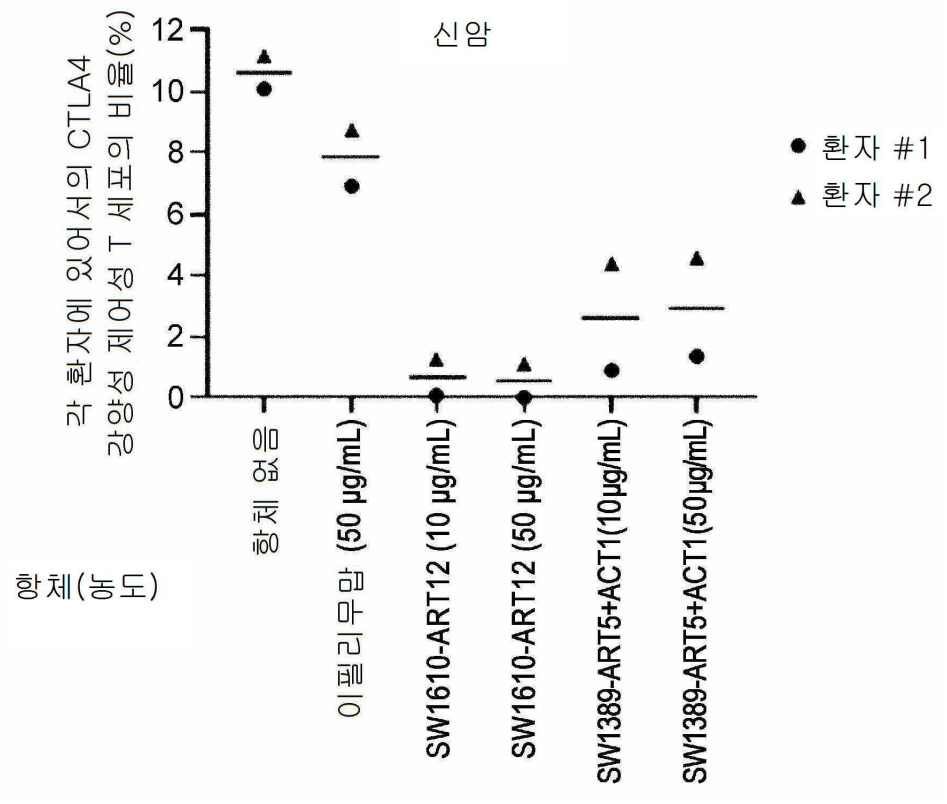
도면9


두경부암
각 환자에 있어서의 CTLA4 강양성 제어성 T 세포의 비율(%)
12
10
8
6
4
2
0
환자 #1
환자 #2
항체 없음
이필리무맙 (50 μg/mL)
SW1610-ART12 (10 μg/mL)
SW1610-ART12 (50 μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(10μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(50μg/mL)
항체(농도)

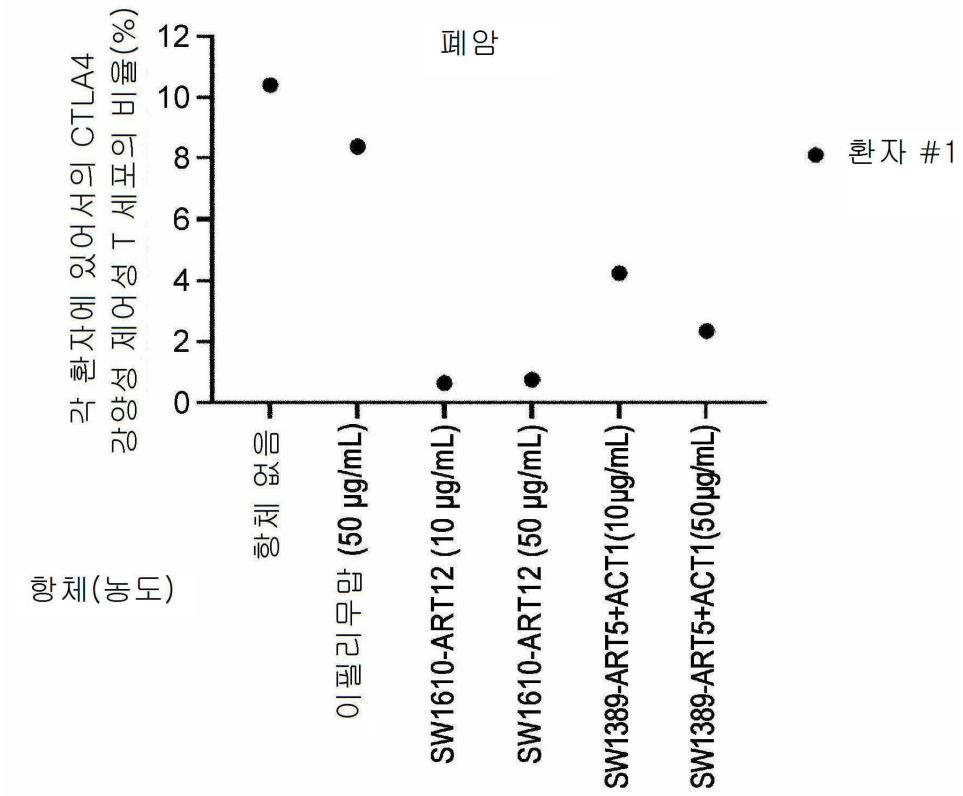
도면10


췌암
각 환자에 있어서의 CTLA4 강양성 제어성 T 세포의 비율(%)
12
10
8
6
4
2
0
환자 #1
환자 #2
항체 없음
이필리무맙 (50 μg/mL)
SW1610-ART12 (10 μg/mL)
SW1610-ART12 (50 μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(10μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(50μg/mL)
항체(농도)

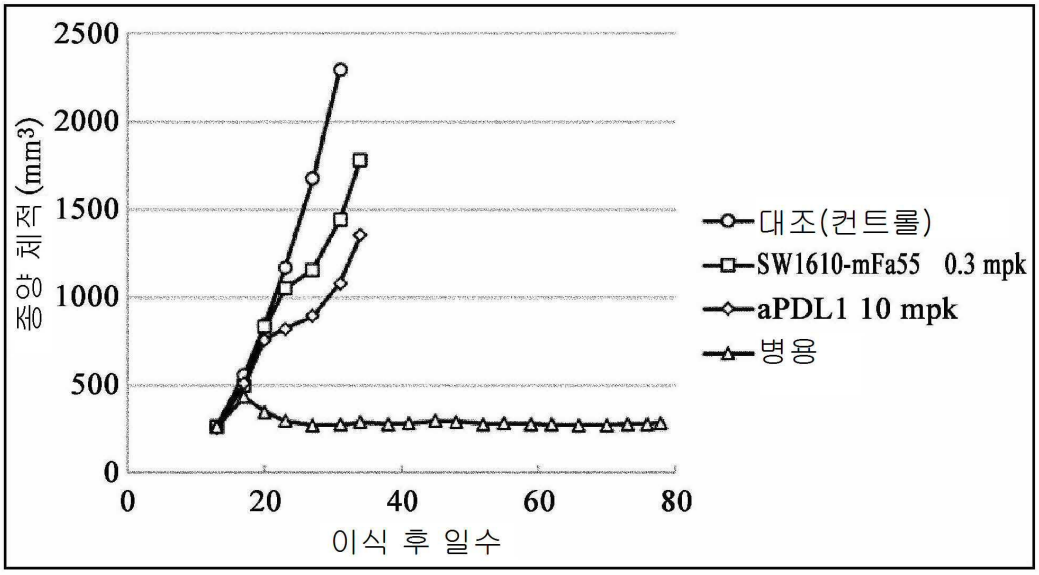
도면11


신암
각 환자에 있어서의 CTLA4 강양성 제어성 T 세포의 비율(%)
12
10
8
6
4
2
0
환자 #1
환자 #2
항체 없음
이필리무맙 (50 μg/mL)
SW1610-ART12 (10 μg/mL)
SW1610-ART12 (50 μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(10μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(50μg/mL)
항체(애노)

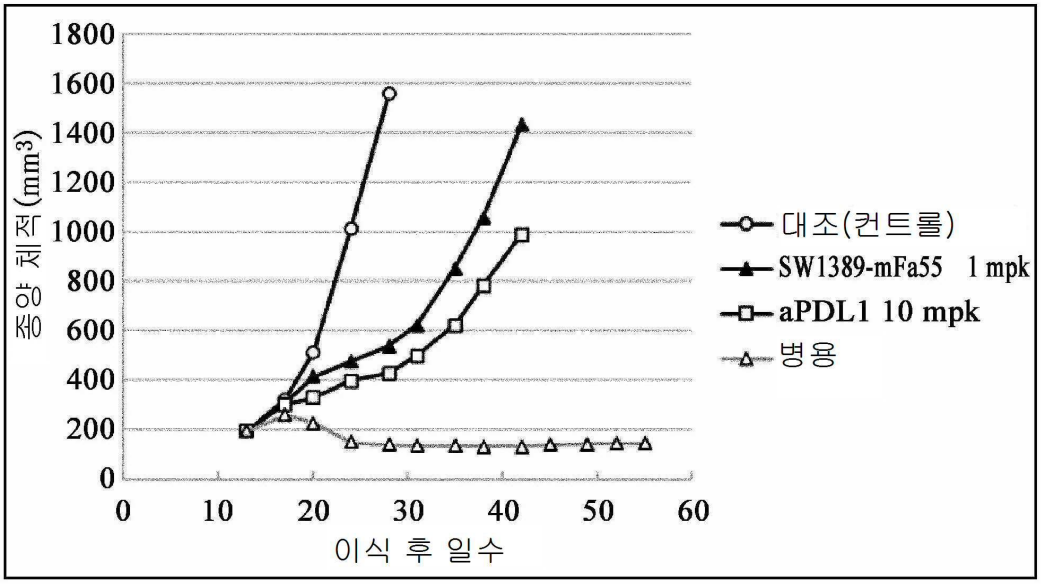
도면12


폐암
각 환자에 있어서의 CTLA4 강양성 제어성 T 세포의 비율(%)
12
10
8
6
4
2
0
환자 #1
항체 없음
이필리무맙 (50 μg/mL)
SW1610-ART12 (10 μg/mL)
SW1610-ART12 (50 μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(10μg/mL)
SW1389-ART5+ACT1(50μg/mL)
항체(애노)

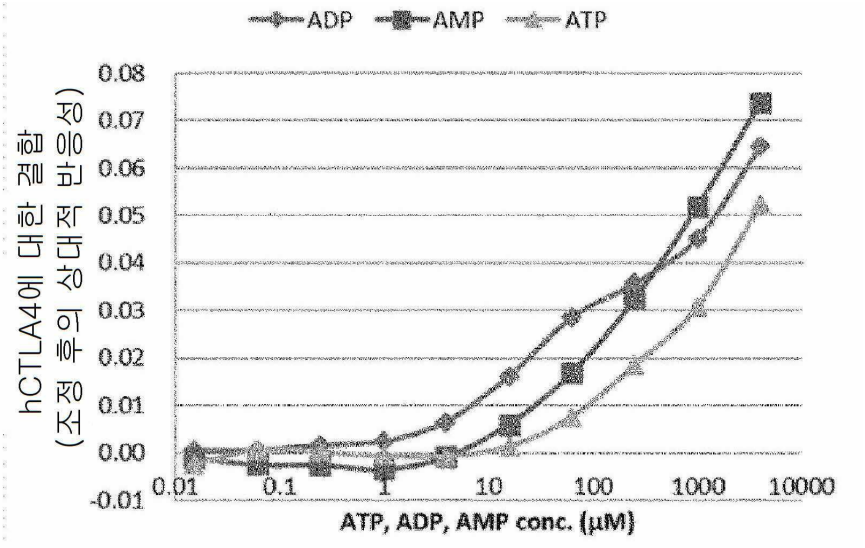
도면13


2500
2000
1500
1000
500
0
종양 체적 (mm³)
0
20
40
60
80
이식 후 일수
대조(컨트롤)
SW1610-mFa55 0.3 mpk
aPDL1 10 mpk
병용

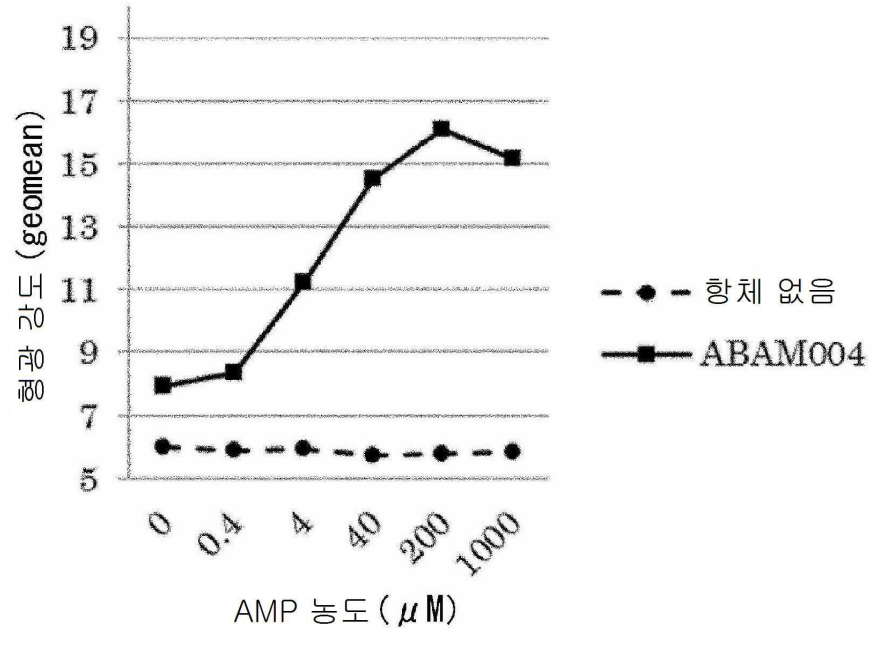
도면14


1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
종양 체적 (mm³)
0
10
20
30
40
50
60
이식 후 일수
대조(컨트롤)
SW1389-mFa55 1 mpk
aPDL1 10 mpk
병용

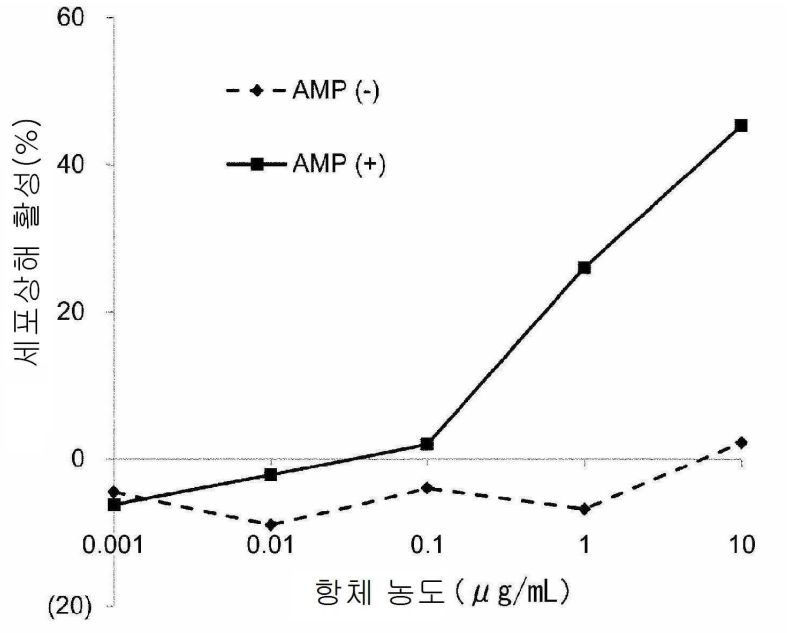
도면15


ADP
AMP
ATP
hCTLA4에 대한 결합
(조정 후의 상대적 반응성)
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
-0.01
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
ATP, ADP, AMP conc. (μM)

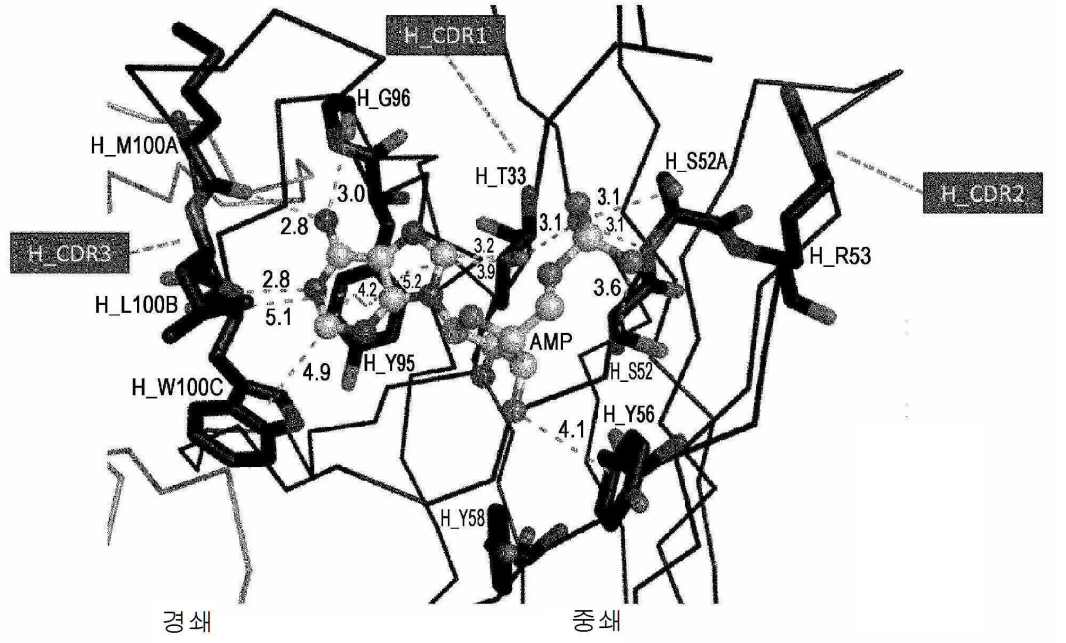
도면16


형광 강도 (geomean)
19
17
15
13
11
9
7
5
0
0.4
4
40
200
1000
AMP 농도 (μM)
항체 없음
ABAM004

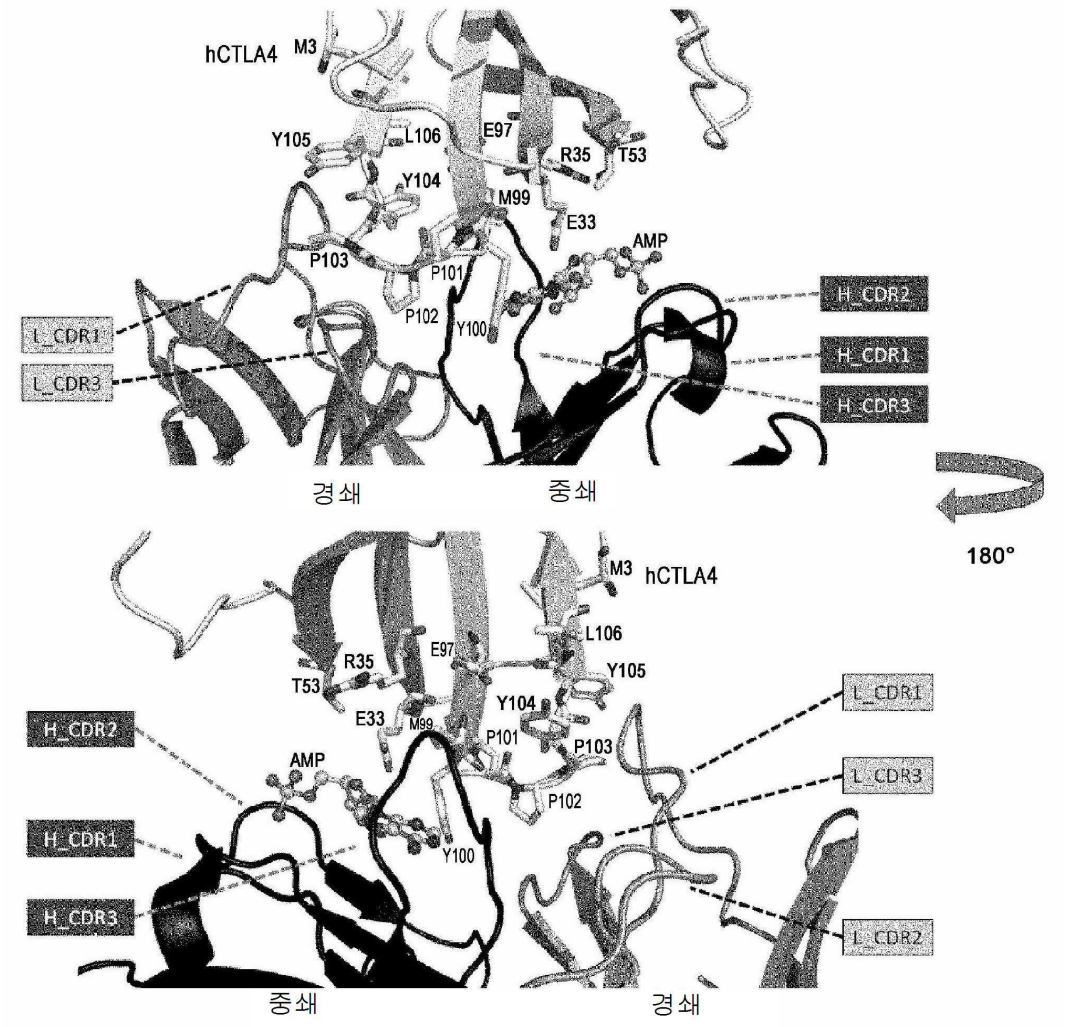
도면17


60
40
20
0
(20)
AMP (-)
AMP (+)
세포상해 활성(%)
0.001
0.01
0.1
1
10
항체 농도 (μg/mL)

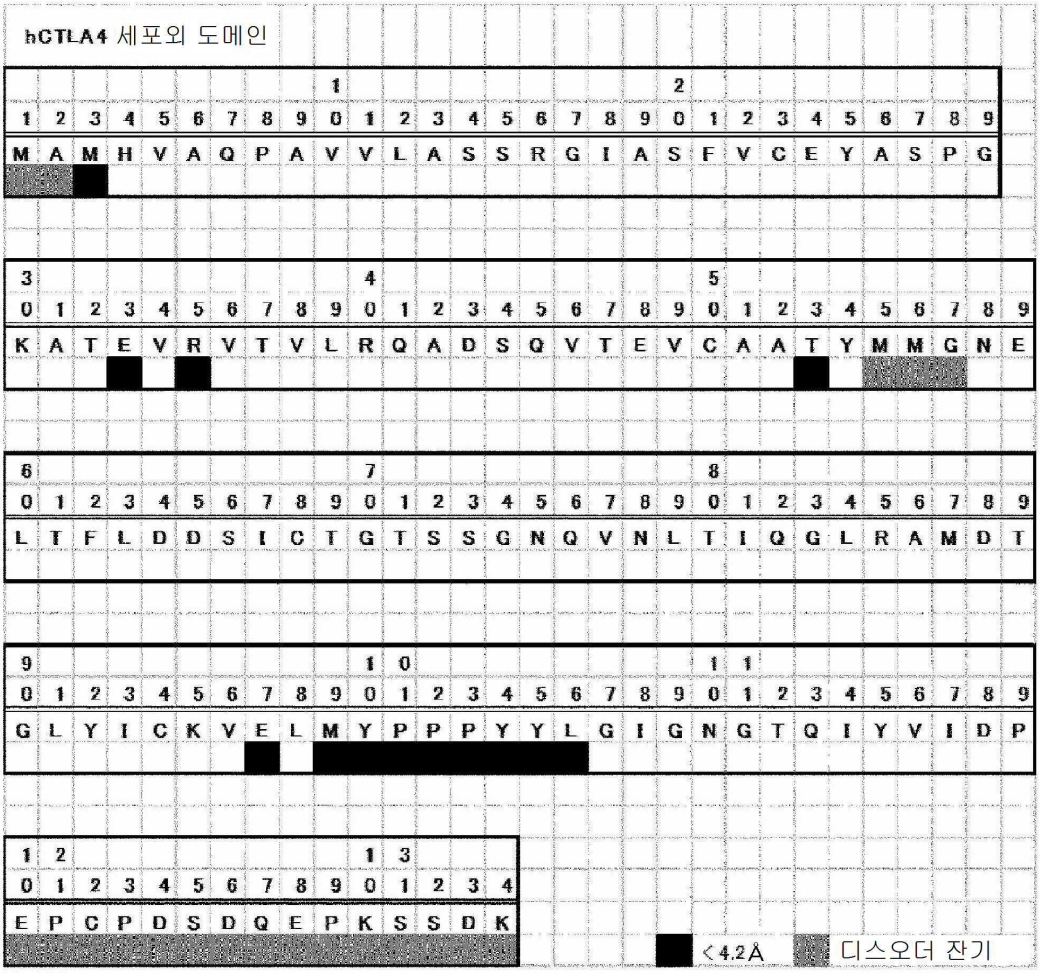
도면18


H_CDR1
H_G96
H_M100A
H_T33
H_S52A
H_CDR2
H_CDR3
H_R53
H_L100B
AMP
H_Y95
H_S52
H_W100C
H_Y56
H_Y58
경쇄
중쇄

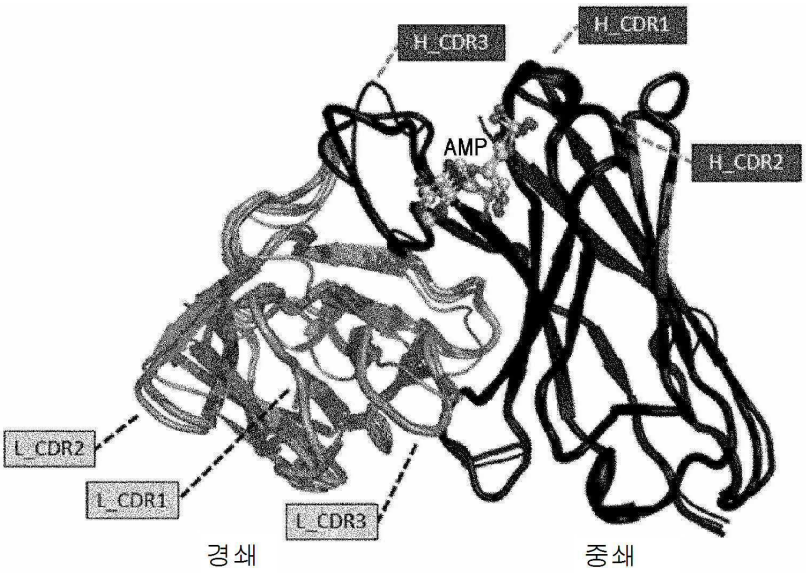
도면19


hCTLA4
M3
Y105
L106
E97
R35
T53
Y104
M99
E33
AMP
P103
P101
P102
Y100
L_CDR1
L_CDR3
H_CDR2
H_CDR1
H_CDR3
경쇄
중쇄
180°
M3
hCTLA4
L106
R35
E97
T53
Y105
E33
Y104
M99
P101
P103
AMP
P102
Y100
H_CDR2
H_CDR1
H_CDR3
L_CDR1
L_CDR3
L_CDR2
중쇄
경쇄

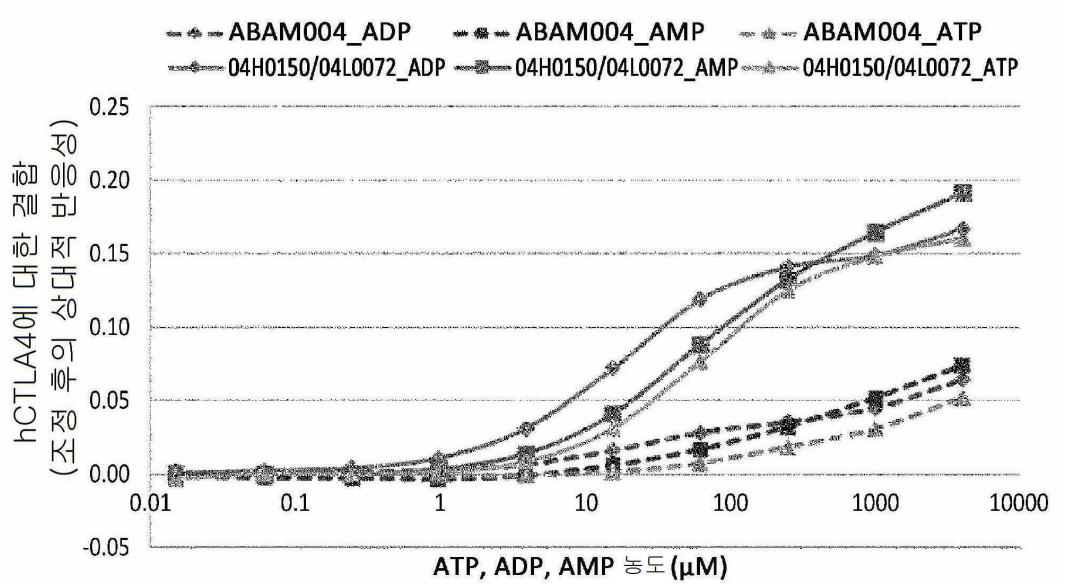
도면20


hCTLA4 세포외 도메인
M A M H V A Q P A V V L A S S R G I A S F V C E Y A S P G
K A T E V R V T V L R Q A D S Q V T E V C A A T Y M M G N E
L T F L D D S I C T G T S S G N Q V N L T I Q G L R A M D T
G L Y I C K V E L M Y P P P Y Y L G I G N G T Q I Y V I D P
E P C P D S D Q E P K S S D K
< 4.2Å
디스오더 잔기

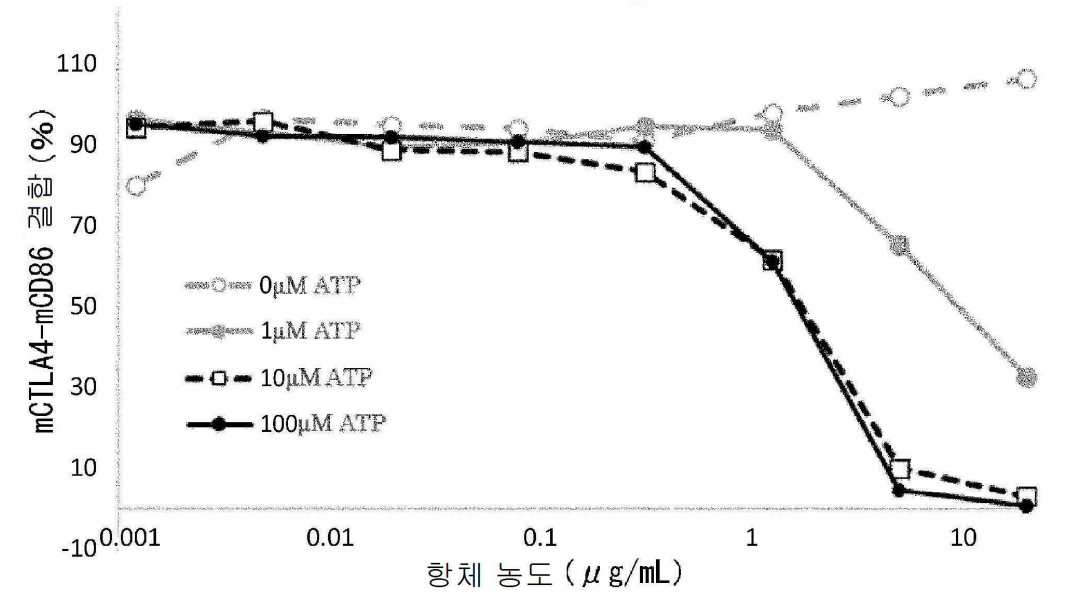
도면21


H_CDR3
H_CDR1
AMP
H_CDR2
L_CDR2
L_CDR1
L_CDR3
경쇄
중쇄

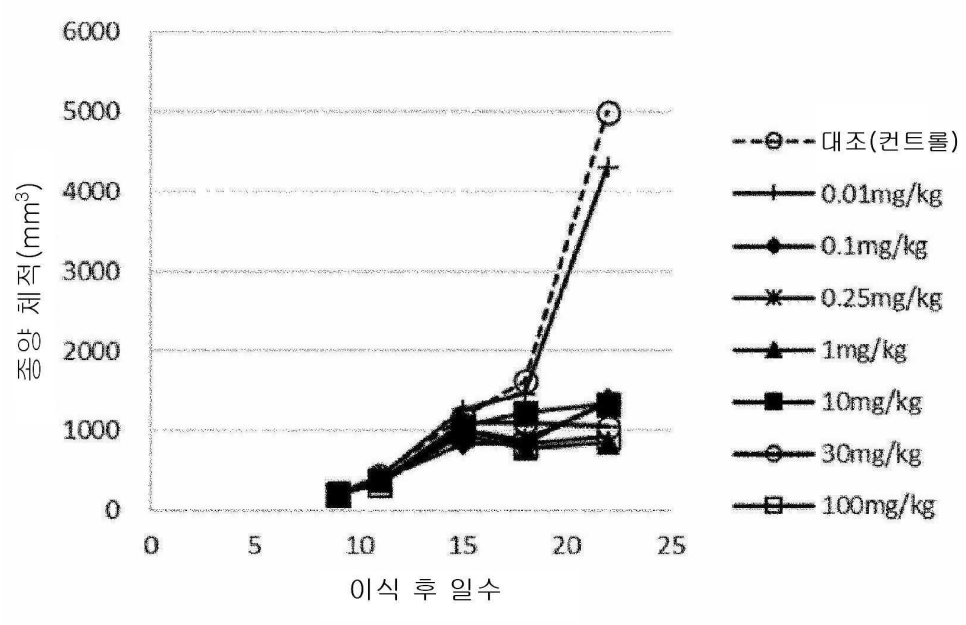
도면22


ABAM004_ADP
ABAM004_AMP
ABAM004_ATP
04H0150/04L0072_ADP
04H0150/04L0072_AMP
04H0150/04L0072_ATP
hCTLA4에 대한 결합
(조정 후의 상대적 반응성)
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
-0.05
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
ATP, ADP, AMP 농도(μM)

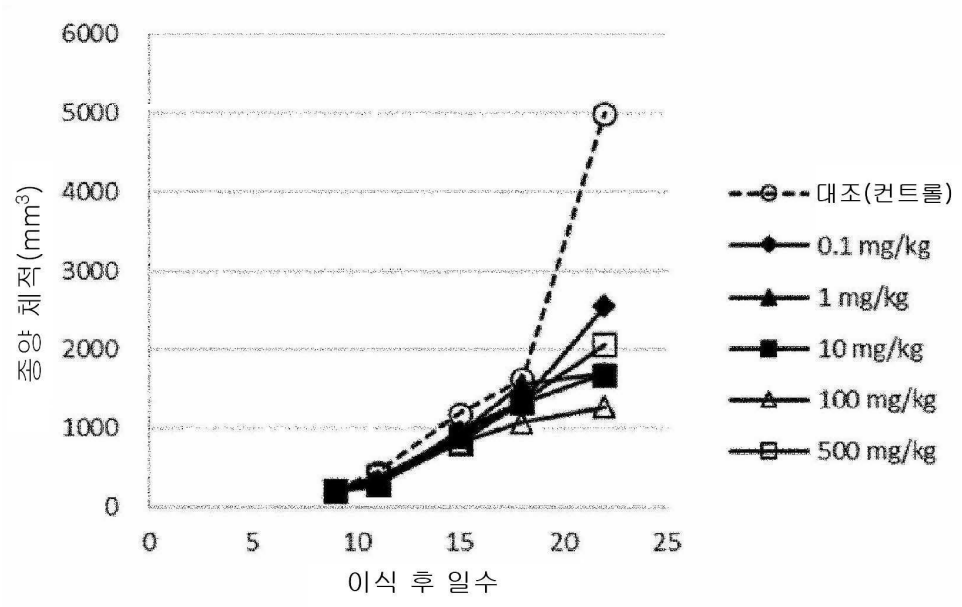
도면23


mCTLA4-mCD86 결합 (%)
110
90
70
50
30
10
-10
0μM ATP
1μM ATP
10μM ATP
100μM ATP
0.001
0.01
0.1
1
10
항체 농도 (μg/mL)

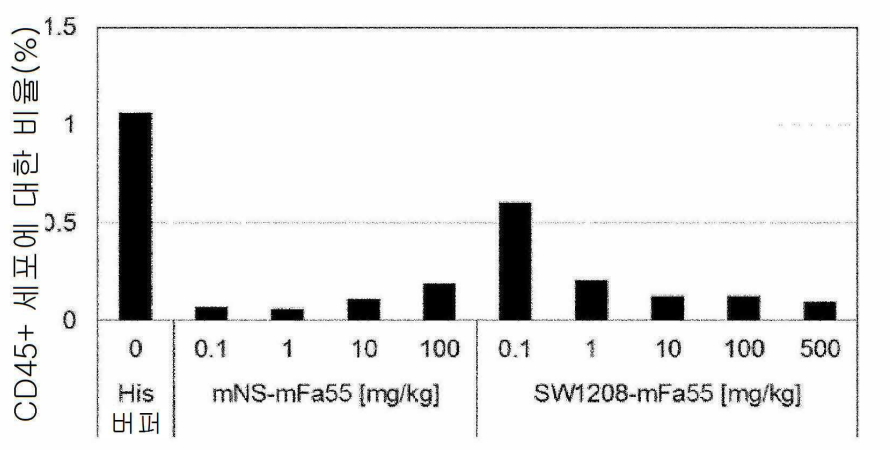
도면24


6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
종양 체적 (mm3)
0
5
10
15
20
25
이식 후 일수
대조(컨트롤)
0.01mg/kg
0.1mg/kg
0.25mg/kg
1mg/kg
10mg/kg
30mg/kg
100mg/kg

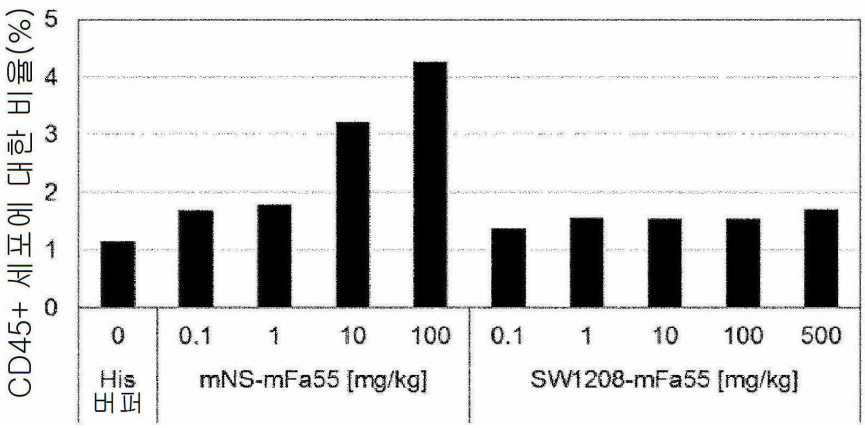
도면25


6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
종양 체적 (mm3)
0
5
10
15
20
25
이식 후 일수
대조(컨트롤)
0.1 mg/kg
1 mg/kg
10 mg/kg
100 mg/kg
500 mg/kg

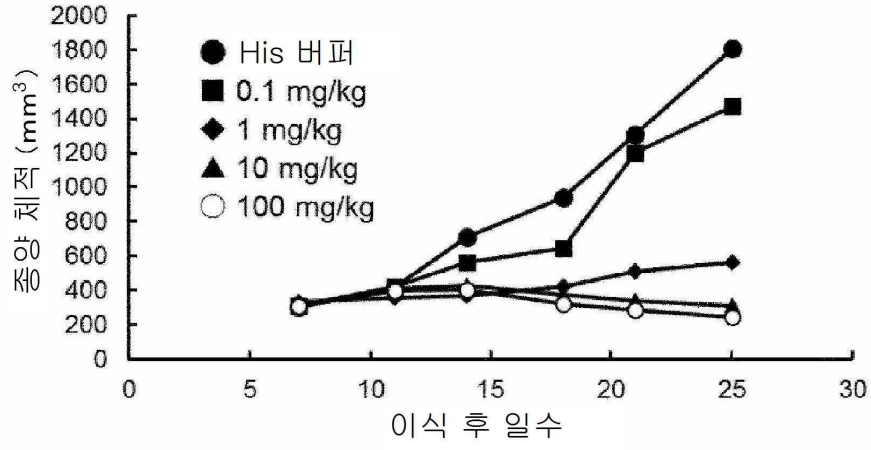
도면26



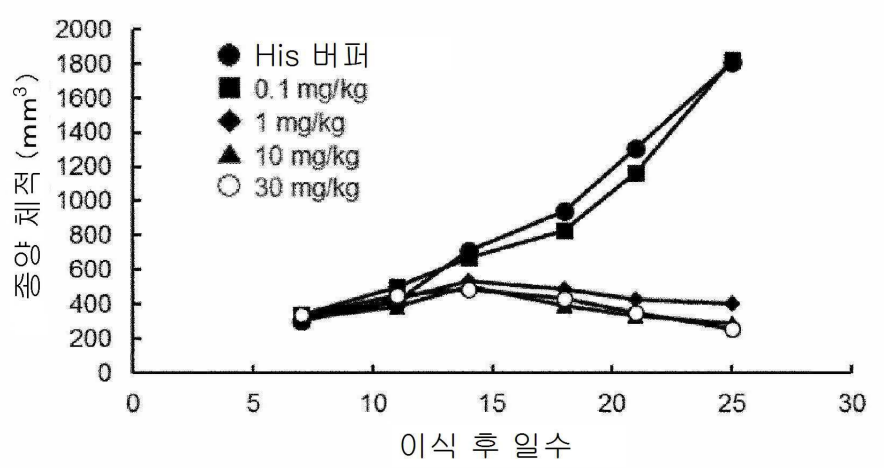
도면27



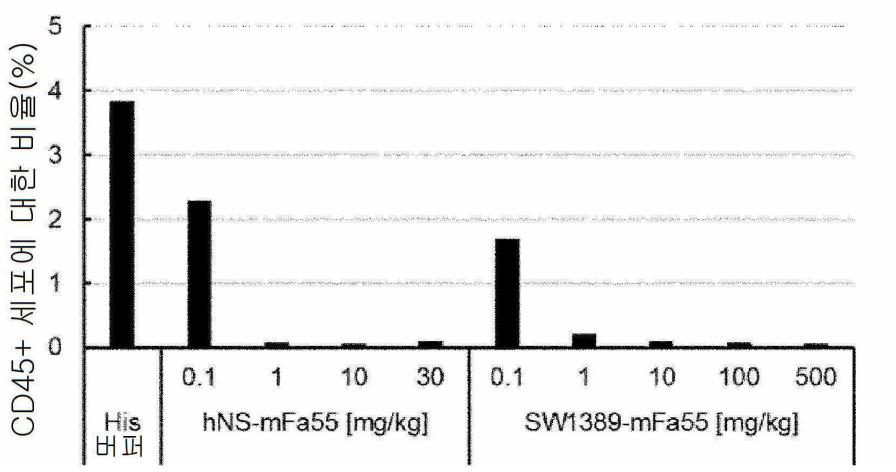
도면28



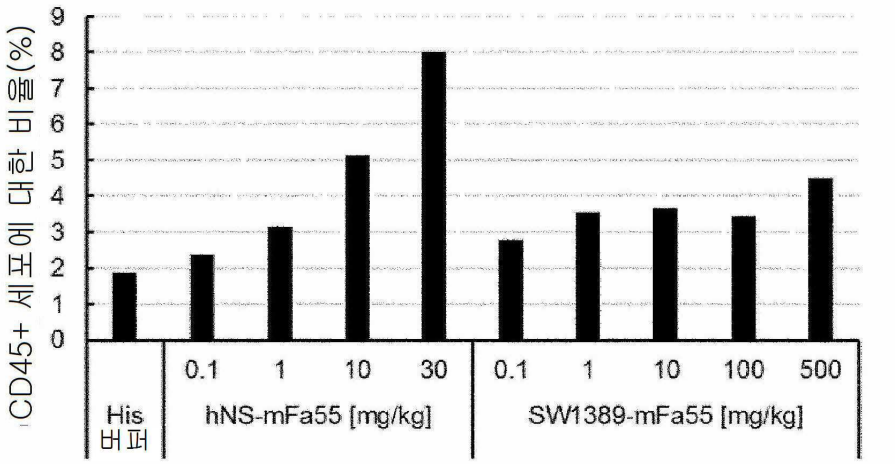
도면29



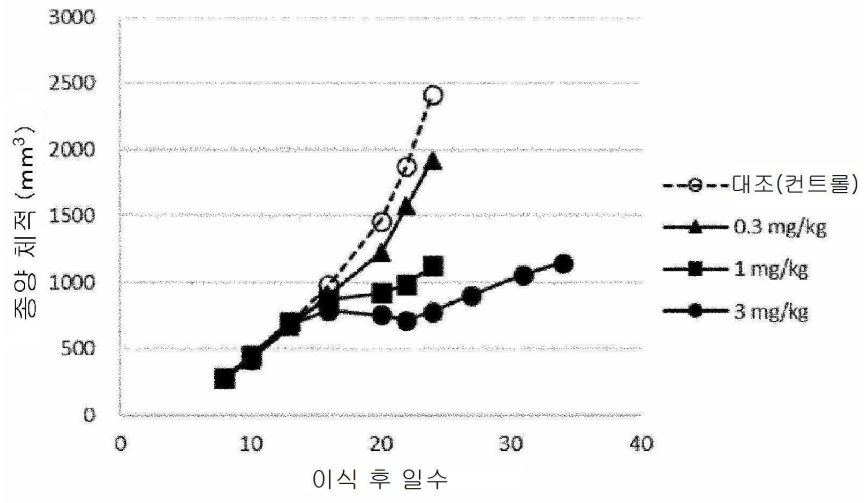
도면30



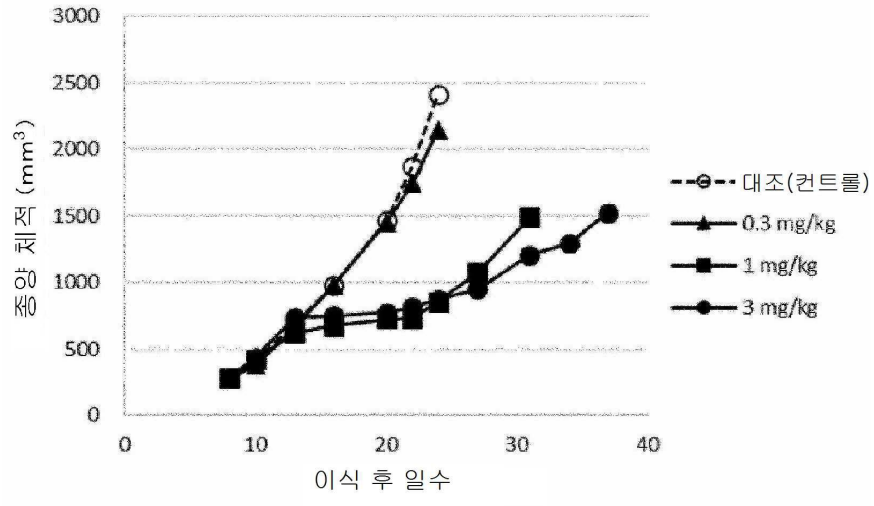
도면31



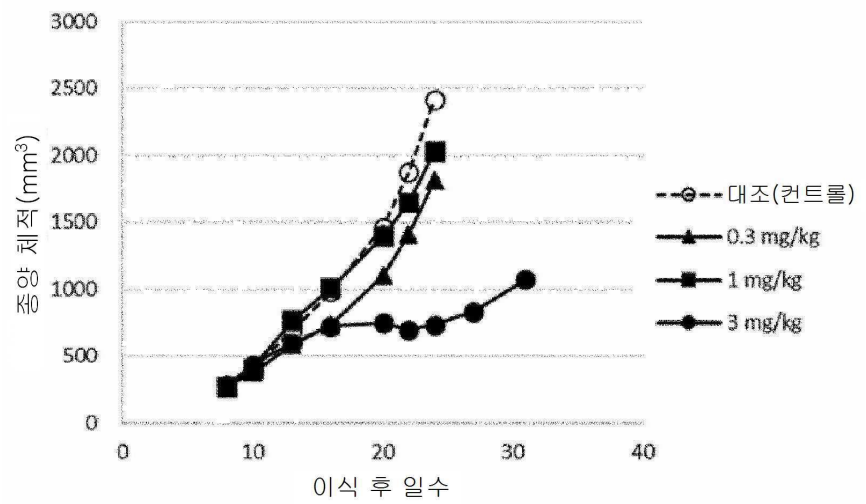
도면32



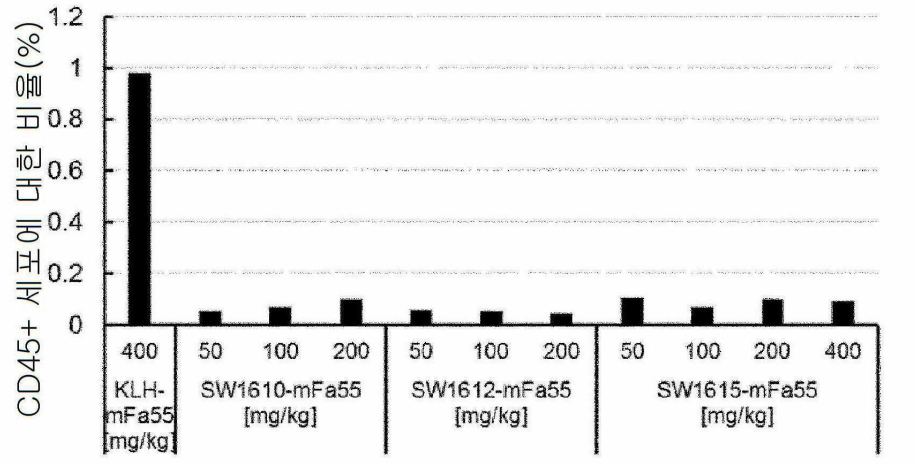
도면33



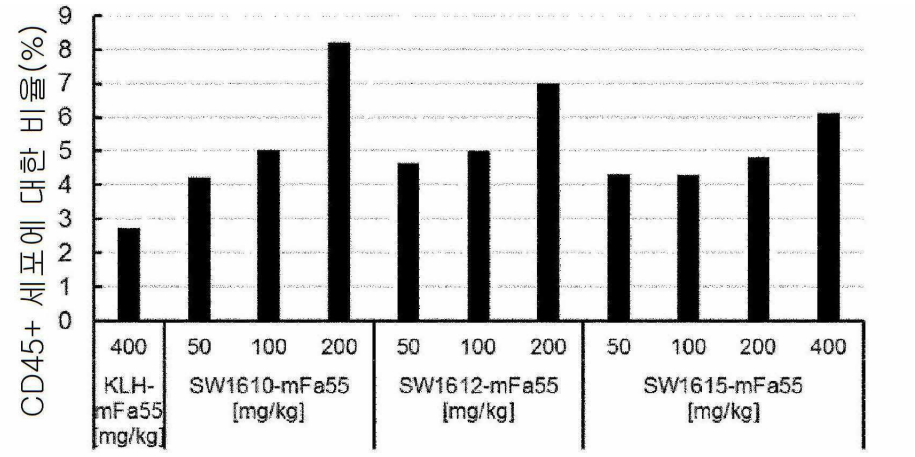
도면34



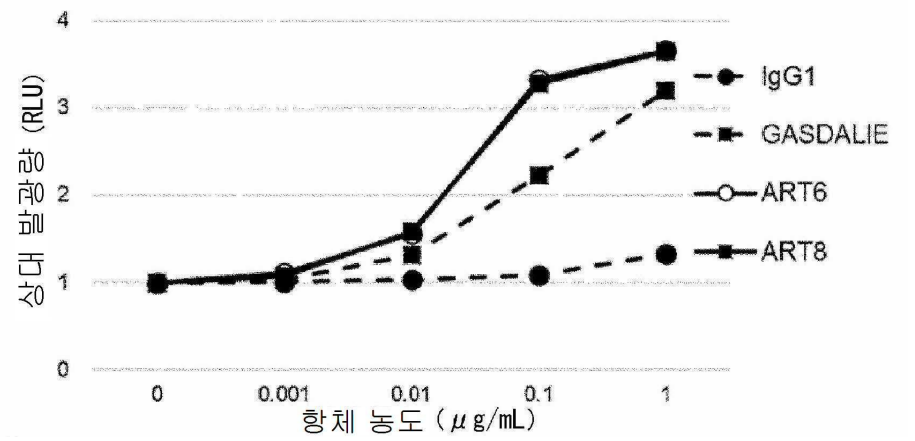
도면35



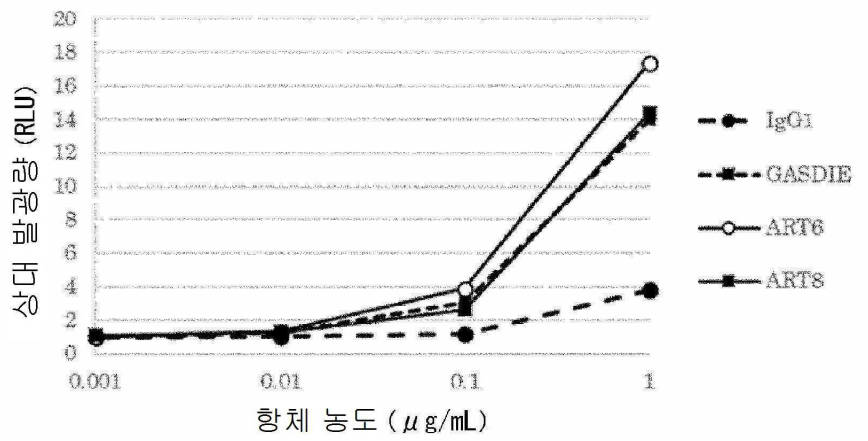
도면36



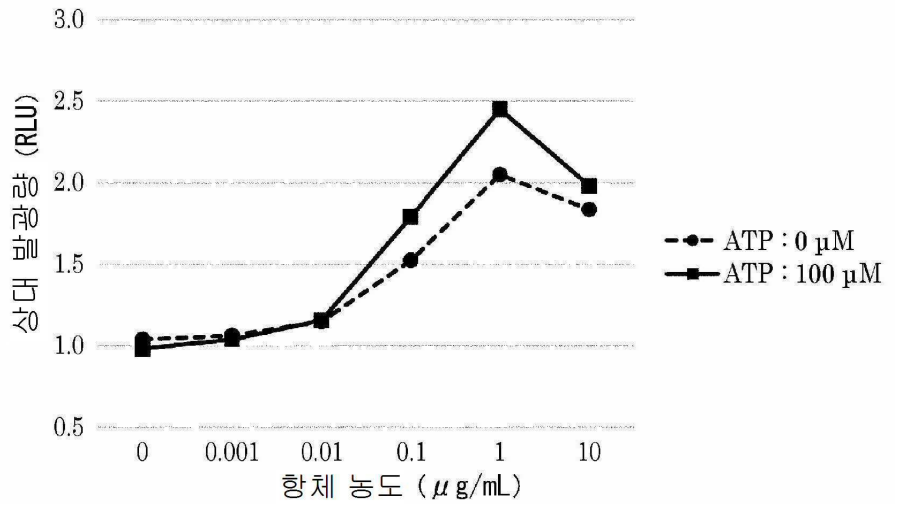
도면37



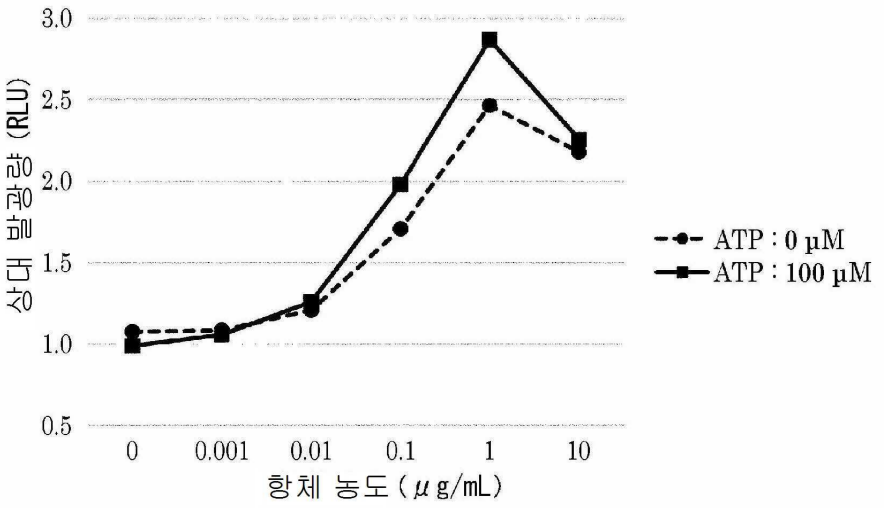
도면38



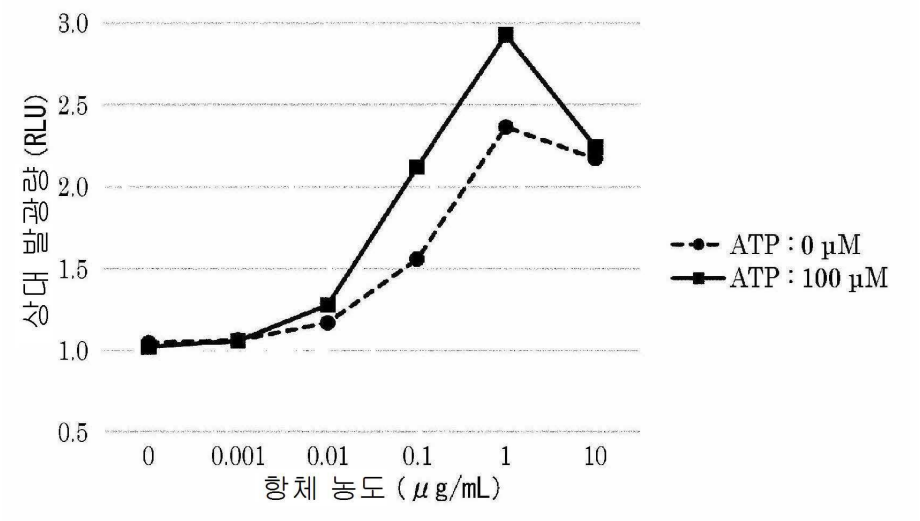
도면39



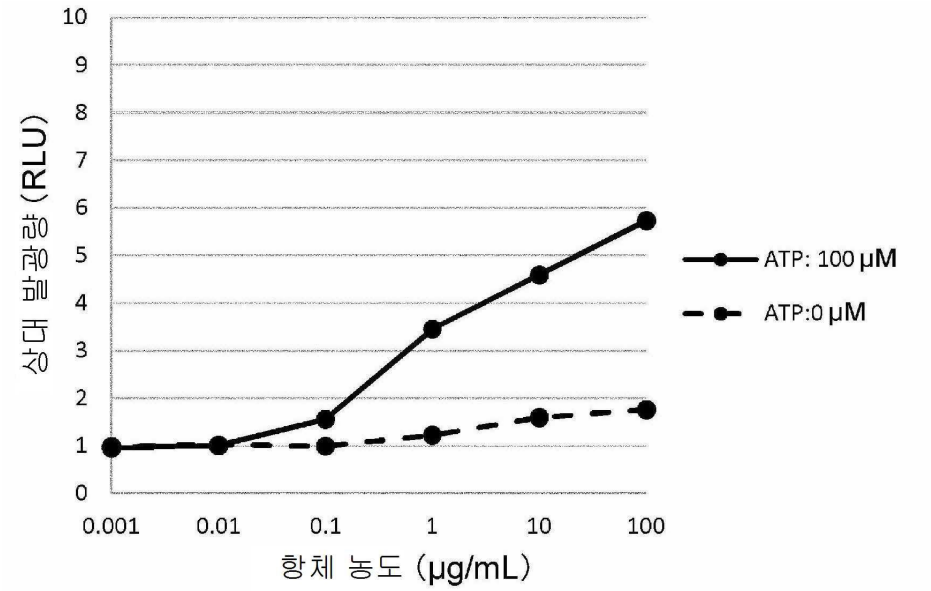
도면40



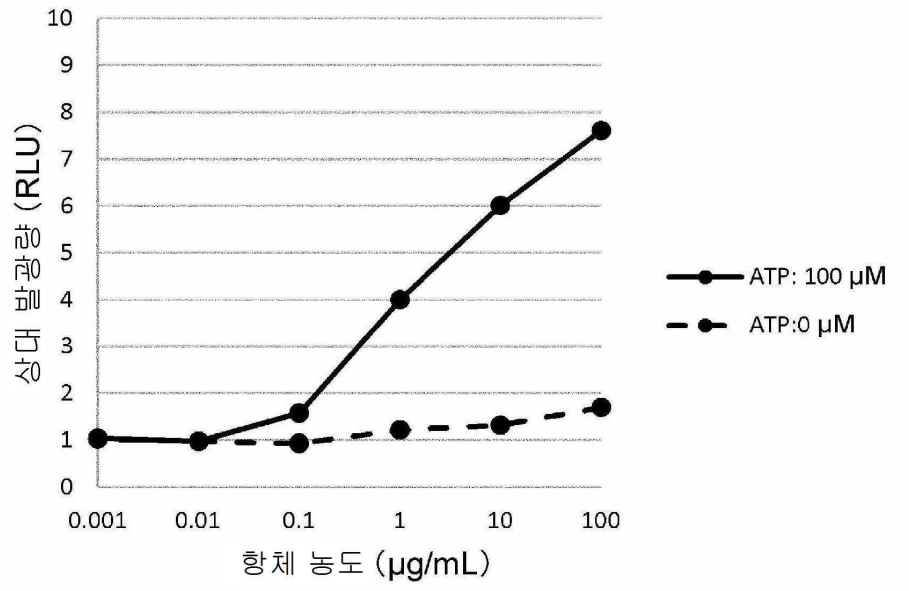
도면41


3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
상대 발광량 (RLU)
0
0.001
0.01
0.1
1
10
항체 농도 (μg/mL)
ATP : 0 μM
ATP : 100 μM

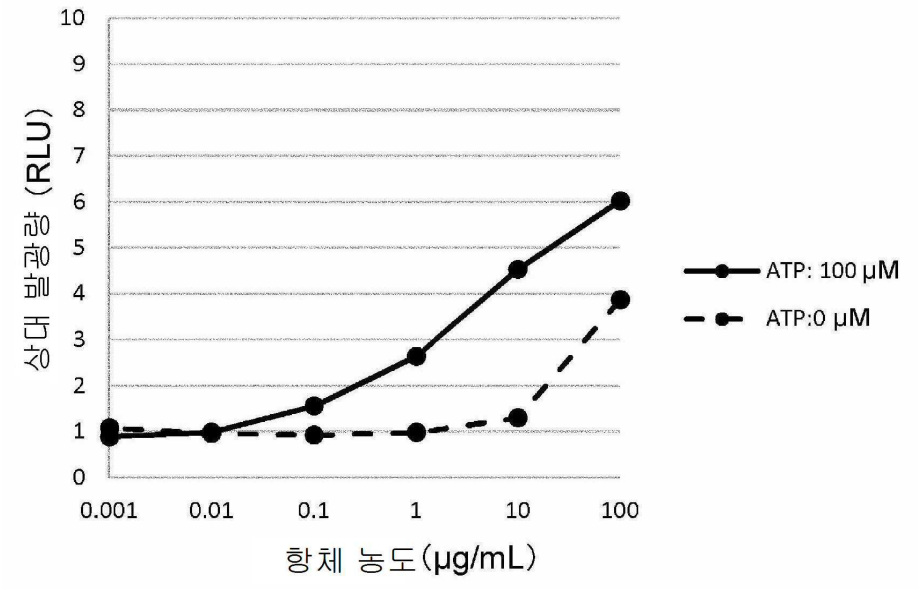
도면42


10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
상대 발광량 (RLU)
0.001
0.01
0.1
1
10
100
항체 농도 (μg/mL)
ATP: 100 μM
ATP:0 μM

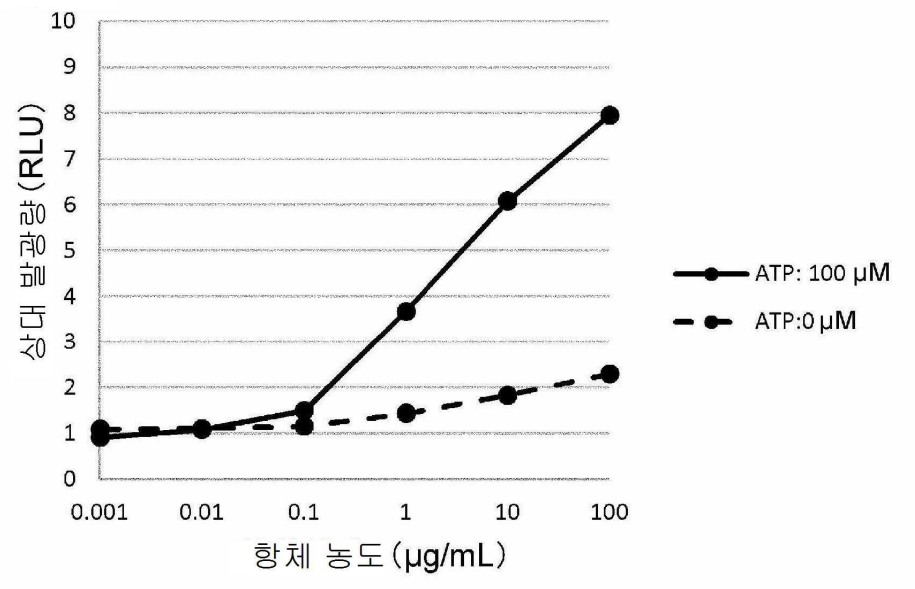
도면43


10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
상대 발광량 (RLU)
0.001
0.01
0.1
1
10
100
항체 농도 (μg/mL)
ATP: 100 μM
ATP:0 μM

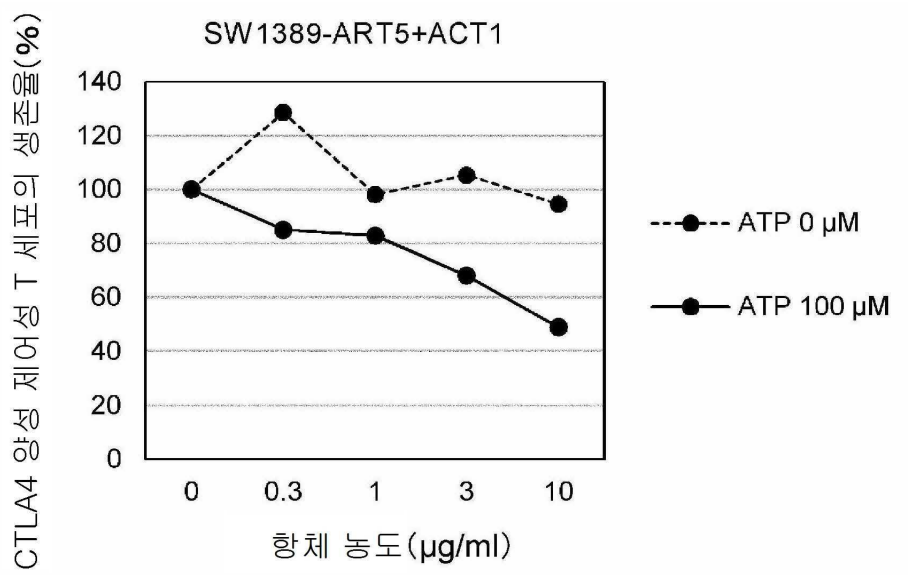
도면44


10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
상대 발광량 (RLU)
0.001
0.01
0.1
1
10
100
항체 농도(μg/mL)
ATP: 100 μM
ATP:0 μM

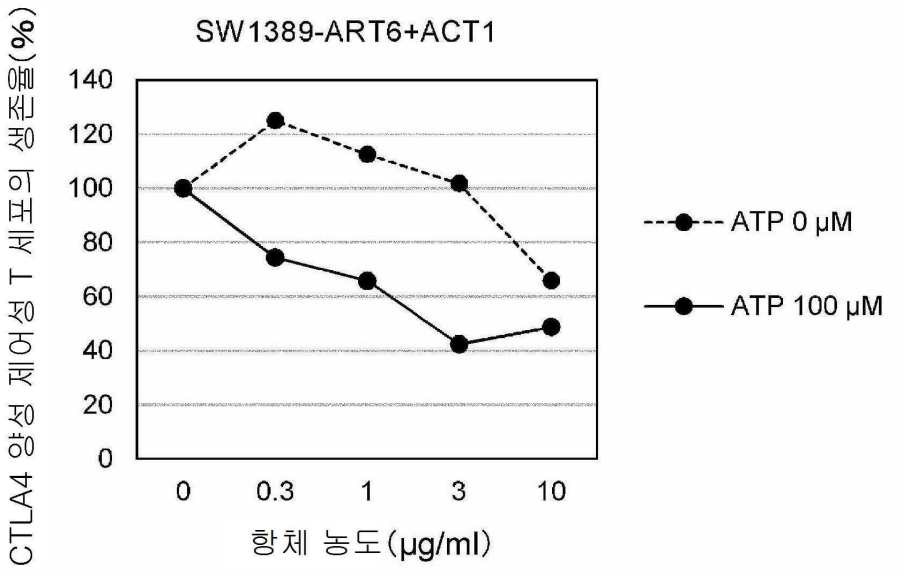
도면45


상대 발광량(RLU)
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
0.001
0.01
0.1
1
10
100
항체 농도(μg/mL)
ATP: 100 μM
ATP:0 μM

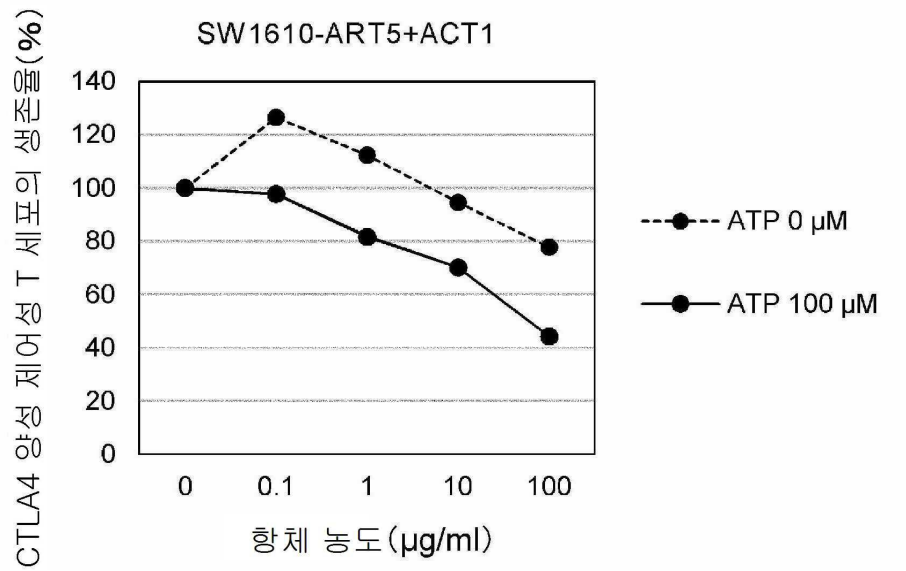
도면46


SW1389-ART5+ACT1
CTLA4 양성 제어성 T 세포의 생존율(%)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
0.3
1
3
10
항체 농도(μg/ml)
ATP 0 μM
ATP 100 μM

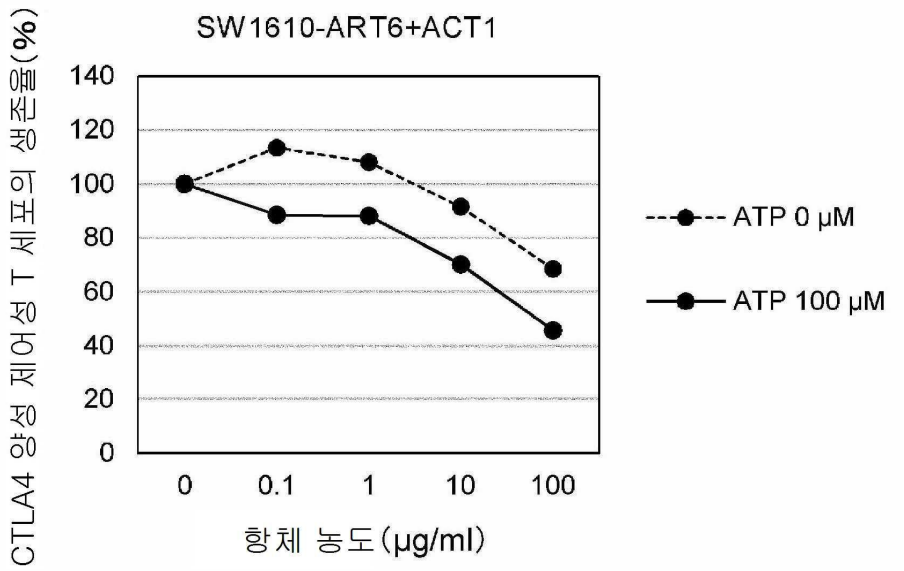
도면47


SW1389-ART6+ACT1
CTLA4 양성 제어성 T 세포의 생존율(%)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
0.3
1
3
10
항체 농도(μg/ml)
ATP 0 μM
ATP 100 μM

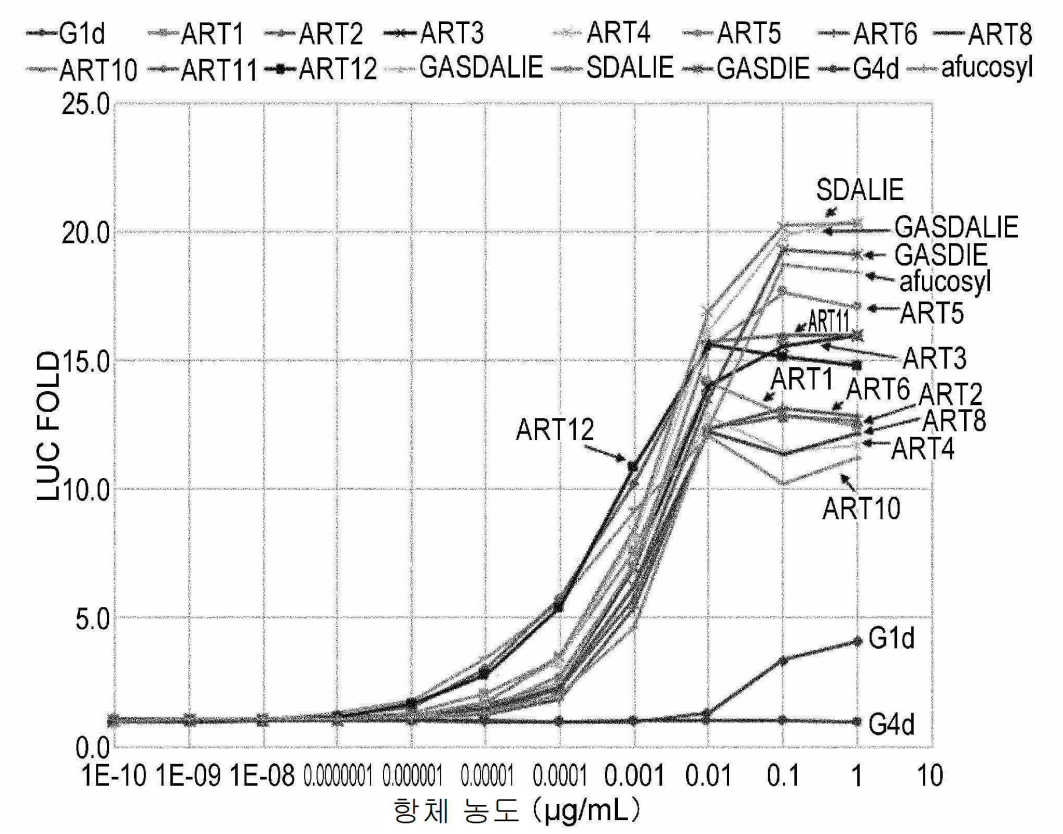
도면48


SW1610-ART5+ACT1
CTLA4 양성 제어성 T 세포의 생존율(%)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
0.1
1
10
100
항체 농도(μg/ml)
ATP 0 μM
ATP 100 μM

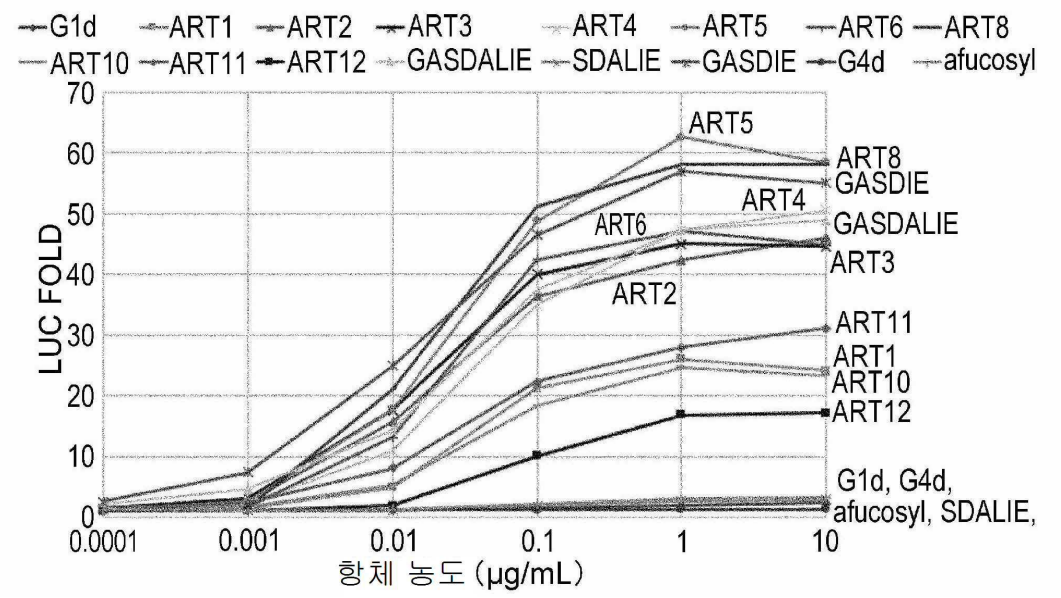
도면49


SW1610-ART6+ACT1
CTLA4 양성 제어성 T 세포의 생존율(%)
140
120
100
80
60
40
20
0
0
0.1
1
10
100
항체 농도(μg/ml)
ATP 0 μM
ATP 100 μM

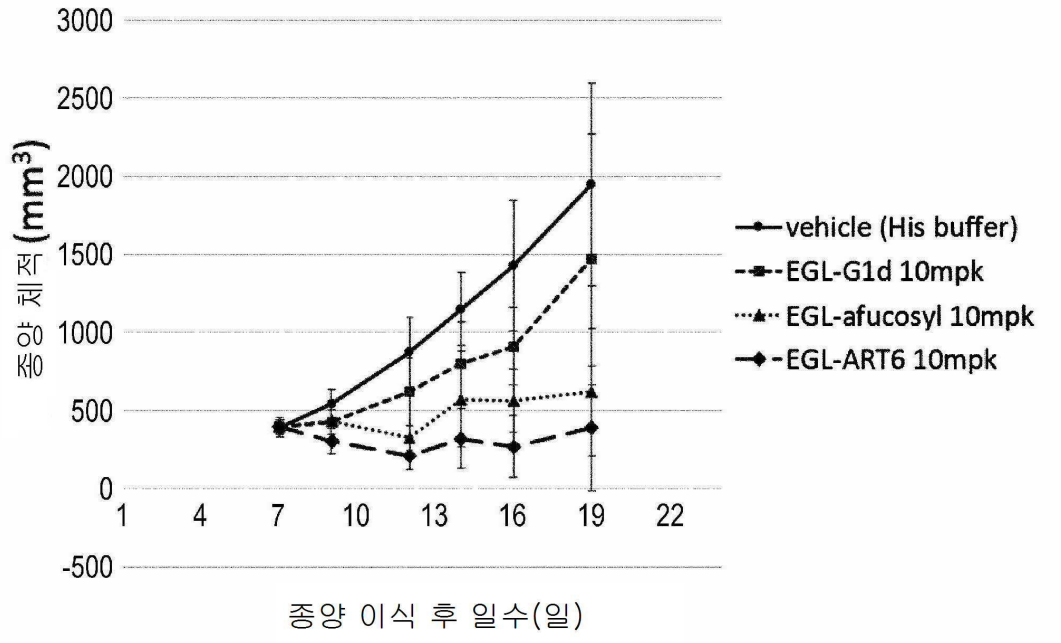
도면50


G1d
ART1
ART2
ART3
ART4
ART5
ART6
ART8
ART10
ART11
ART12
GASDALIE
SDALIE
GASDIE
G4d
afucosyl
LUC FOLD
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
1E-10
1E-09
1E-08
0.0000001
0.000001
0.00001
0.0001
0.001
0.01
0.1
1
10
항체 농도 (μg/mL)
SDALIE
GASDALIE
GASDIE
afucosyl
ART5
ART11
ART3
ART1
ART6
ART2
ART8
ART4
ART12
ART10
G1d
G4d

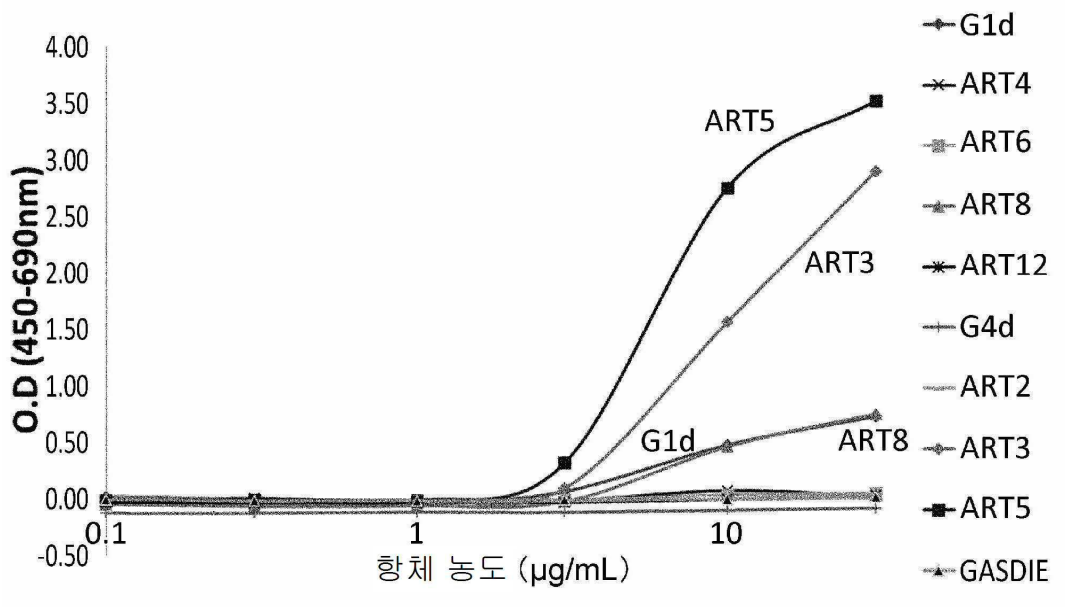
도면51


G1d
ART1
ART2
ART3
ART4
ART5
ART6
ART8
ART10
ART11
ART12
GASDALIE
SDALIE
GASDIE
G4d
afucosyl
LUC FOLD
항체 농도 (μg/mL)
ART5
ART8
GASDIE
ART4
ART6
GASDALIE
ART3
ART2
ART11
ART1
ART10
ART12
G1d, G4d,
afucosyl, SDALIE,

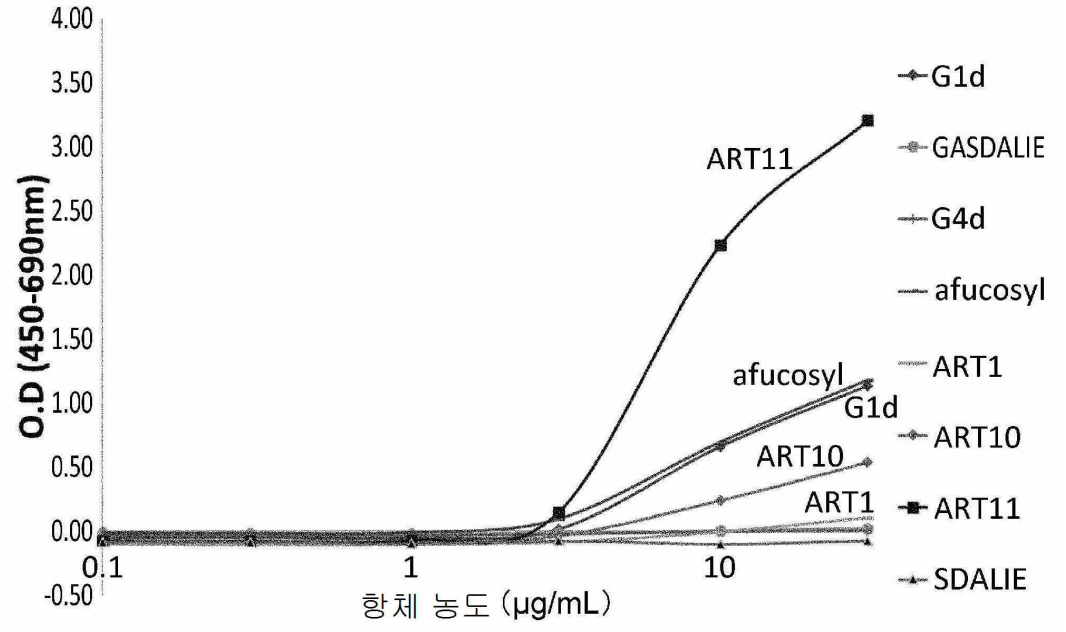
도면52


종양 체적 (mm³)
종양 이식 후 일수(일)
vehicle (His buffer)
EGL-G1d 10mpk
EGL-afucosyl 10mpk
EGL-ART6 10mpk

도면53



도면54



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

<120> USE OF ANTI-CTLA-4 ANTIBODIES

<130> C1-A2111P

<150> JP 2021-105823

<151> 2021-06-25

<160> 353

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 188

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CTLA4

<400> 1

Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala
1 5 10 15

Thr Arg Thr Trp Pro Cys Thr Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Ile Pro
20 25 30

Val Phe Cys Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala
35 40 45

Ser Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly
50 55 60

Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln
65 70 75 80

Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr
85 90 95

Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val
100 105 110

Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile
115 120 125

Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly
130 135 140

Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser
145 150 155 160

Asp Phe His His His His His His Gly Gly Gly Gly Ser Gly Leu Asn
165 170 175

Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
180 185

<210> 2

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 2

cgcaacgcaa ttaatgtgag 20

<210> 3

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> primer

<400> 3

tgagttccac gacaccgtca c 21

<210> 4

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Ser Arg Ser Arg Tyr Lys Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 5
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 5
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Gly Ala Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Gln Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Leu Tyr Thr Thr Arg
85 90 95
Pro Gln Leu Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110
<210> 6
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400>
6
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Gly Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Arg Ser Thr Tyr Ala His 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 Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Phe Gly Gly Arg Gly His Leu Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 7
<211> 110
<212>
PRT
<213> Homo sapiens
<400> 7
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Gly Thr Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Gln Gly Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

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

<210> 8
<211> 122
<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Arg Ser Arg Tyr Ala Ser 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 Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Phe Gly Ile Lys Asn His Leu Asn Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 9

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 10

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Arg Ser Gly Tyr Ile Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 11

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 11

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

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Thr Tyr Ala Ala Pro
85 90 95
Leu Gly Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 12
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 12

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Gly Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Ser Arg Ser Asn Tyr Ile Ser 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 Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 13

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Leu Tyr Arg Tyr Ala

85 90 95

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

100 105 110

<210> 14

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Ser Arg Ser Gly His Ala His 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 Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

<210> 15
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 15

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Gly Phe Tyr
20 25 30

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

Arg Ser Val Ala Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 16

<211> 116

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 16

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

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

Ile Gly Phe Ile Tyr Tyr Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Ile
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Gln Thr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 17

<211> 113

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 17

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

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30

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

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val

50 55 60

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

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Trp Tyr Asp Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110

Lys

<210> 18

<211> 330

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 18

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

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

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

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

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile
65 70 75 80

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

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Ile Phe Pro Pro
115 120 125

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

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
145 150 155 160
Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
165 170 175

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

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

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
305 310 315 320
Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
325 330

<210> 19
<211> 107
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 19
Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe

20 25 30

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

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
100 105

<210> 20
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 20
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Gly Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Arg
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 21

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 21

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

Thr Val Thr Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr
20 25 30

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

Met Ile Tyr Phe Thr Ser Lys Lys Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

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

Leu Gly Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 22

<211> 106

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 22

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

Glu Glu Leu Glu Thr Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Thr Ile Thr Asp
20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Val Val Thr Val Asp Trp Lys Val Asp Gly Thr Pro
35 40 45

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

50 55 60

Lys Tyr Met Ala Ser Ser Tyr Leu Thr Leu Thr Ala Arg Ala Trp Glu

65 70 75 80

Arg His Ser Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly His Thr Val

85 90 95

Glu Lys Ser Leu Ser Arg Ala Asp Cys Ser

100 105

<210> 23

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 24

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Asp Val Gly Asp

20 25 30

Tyr Asn Trp Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg

35 40 45

Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Ser Lys Pro Glu Gly Val Pro Asp Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Ala Ala

85 90 95

Pro Leu Gly Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 25

<211> 356

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CTLA4

<400> 25

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

1 5 10 15

Gly Val Ala Ser Phe Pro Cys Glu Tyr Ser Pro Ser His Asn Thr Asp

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Thr Asn Asp Gln Met Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Thr Thr Phe Thr Glu Lys Asn Thr Val Gly Phe Leu Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Leu Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Phe Val Gly Met Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Phe Asp

115 120 125

Ile Glu Gly Arg Met Asp Gly Cys Lys Pro Cys Ile Cys Thr Val Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Ile Ser

165 170 175

Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asp Asp Val Glu

180 185 190

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

195 200 205

Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His Gln Asp Trp Leu Asn

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala Lys Asp Lys Val

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe Thr Cys Ser Val

325 330 335

Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys Ser Leu Ser His

340 345 350

Ser Pro Gly Lys

355

<210> 26

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 26

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

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

35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 27

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

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 Gly 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 Phe 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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 28

<211> 127

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 28

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Phe

115 120 125

<210> 29

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

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

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

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 30

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp
20 25 30

Tyr Asn Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Ala Ala

85 90 95

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

100 105 110

<210> 31

<211> 328

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

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 Tyr Gln Trp Gly Pro Met 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 Asp Glu Glu 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 Ala 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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
325

<210> 32
<211> 328
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<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 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 Glu 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
Asp Ala Leu Pro Met Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 33
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 33
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

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

<210> 34
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 34

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp
20 25 30

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

Pro Leu Gly Pro Met Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 35
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 35
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 36

<211> 330

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 36

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Ile Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

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

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

290 295 300
Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr
305 310 315 320
Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
325 330

<210> 37
<211> 122
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 37
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 38

<211> 330

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 38

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe Ile Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn

195 200 205

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

210 215 220

Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met

245 250 255

Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu

260 265 270

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

275 280 285

Met Tyr Ser Glu Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn

290 295 300

Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr

305 310 315 320

Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

325 330

<210> 39

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 39

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

1 5 10 15

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

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

<210> 40
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 40
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Ala Ala Pro
85 90 95
Leu Gly Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 41

<211> 328

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

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 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 Ala 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 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

325

<210> 42

<211> 328

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu 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 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
325

<210> 43

<211> 328

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

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

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Asp 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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
325

<210> 44
<211> 328
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 44
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 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

325

<210> 45

<211> 328

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 45

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

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

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 46

<211> 328

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 46

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 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205
Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 47

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Arg Ser Gly Tyr Ile Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 48

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 48

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

Thr Val Thr Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Asp Val Gly Asp Tyr
20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 49

<211> 168

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CTLA4

<400> 49

Met Ala Cys Leu Gly Leu Arg Arg Tyr Lys Ala Gln Leu Gln Leu Pro

1 5 10 15

Ser Arg Thr Trp Pro Phe Val Ala Leu Leu Thr Leu Leu Phe Ile Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asn Thr Asp Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Thr Asn Asp Gln

65 70 75 80

Met Thr Glu Val Cys Ala Thr Thr Phe Thr Glu Lys Asn Thr Val Gly

85 90 95

Phe Leu Asp Tyr Pro Phe Cys Ser Gly Thr Phe Asn Glu Ser Arg Val

100 105 110

Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Leu

115 120 125

Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Phe Val Gly Met Gly

130 135 140

Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser

145 150 155 160

Asp Phe His His His His His His

165

<210> 50

<211> 188

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CTLA4

<400> 50

Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Arg Leu Asn Leu Ala

1 5 10 15

Thr Arg Thr Arg Pro Tyr Thr Leu Leu Phe Ser Leu Leu Phe Ile Pro

20 25 30

Val Phe Ser Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala

35 40 45

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

50 55 60

Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln

65 70 75 80

Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr

85 90 95

Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val

100 105 110

Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile

115 120 125

Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Met Gly Ile Gly

130 135 140

Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser

145 150 155 160

Asp Phe His His His His His His Gly Gly Gly Gly Ser Gly Leu Asn

165 170 175

Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu

180 185

<210> 51

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 52

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL

<400> 52

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Arg

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Thr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Val Lys

100 105

<210> 53

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CL

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 54

<400> 54

000

<210> 55

<400> 55

000

<210> 56

<400> 56

000

<210> 57

<400> 57

000

<210> 58

<400> 58

000

<210> 59

<400> 59

000

<210> 60

<400> 60

000

<210> 61

<400> 61

000

<210> 62

<400> 62

000

<210> 63

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CL

<400> 63

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

1 5 10 15

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

50 55 60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105
<210> 64
<400> 64
000
<210> 65
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CH
<400> 65
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

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

180 185 190

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

195 200 205

Asp 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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 Ala His Thr Thr

305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 66

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 66

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

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Ala His Thr Thr
305 310 315 320
Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 67
<400> 67
000
<210> 68
<400> 68
000
<210> 69
<400> 69
000
<210> 70
<400> 70
000
<210> 71
<400> 71
000
<210> 72
<400> 72

000

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<400> 76

000

<210> 77

<400> 77

000

<210> 78

<400> 78

000

<210> 79

<400> 79

000

<210> 80

<400> 80

000

<210> 81

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 81

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

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

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu 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 Ser Cys Ala 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 Val 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 Ala His Thr Thr
305 310 315 320
Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 82
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 82

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

325

<210> 83

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 84

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 85

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 86

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 87

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CL

<400> 87

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 88

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

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

Thr Val Thr Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Asp Val Gly Asp Tyr
20 25 30

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

Met Ile Tyr Phe Thr Ser Lys Lys Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

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

Leu Gly Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 89

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

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

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

20 25 30

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 90

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 91

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 92

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 93

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

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

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

<210> 94

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400

> 94

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

50 55 60

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

<210> 95
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 95
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

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

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

<210> 96
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CL
<400> 96

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

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

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

<210> 97
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 97
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Thr Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr
20 25 30

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

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

100 105 110

<210> 98

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Arg Ser Gly Tyr Ile Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 99

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 100

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 100

Ser His Thr Met Asn

1 5

<210> 101

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

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

1 5 10 15

Gly

<210> 102

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

Ser Ala Thr Met Asn

1 5

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

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

1 5 10 15

Gly

<210> 105

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Ser Arg Thr Met Asn

1 5

<210>

106

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

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

1 5 10 15

Gly

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Ser Lys Thr Met Asn

1 5

<210> 108

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

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

1 5 10 15

Gly

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 110

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400

> 111

Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 112

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val Arg

1 5 10 15

Gly

<210> 113

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

Thr Gly Thr Ser Thr Asp Val Gly Asp Tyr Asn Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 114

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

Glu Thr Ser Lys Lys Pro Ser

1 5

<210> 115

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

Ser Thr Tyr Ala Ala Pro Leu Gly Pro Met

1 5 10

<210> 116

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

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

1 5 10

<210> 117

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

Phe Thr Ser Lys Lys Pro Ser

1 5

<210> 118

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

Asp Gly Pro Ser Thr Asp Val Gly Asp Tyr Asn Tyr Val His

1 5 10

<210> 119

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

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

1 5 10

<210> 120

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Asp Gly Pro Ser Thr Asp Val Gly Asp Tyr Asn Trp Val Ser

1 5 10

<210> 121

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Asp Gly Pro Ser Thr Asp Val Gly Asp Tyr Asn Trp Val His

1 5 10

<210> 122

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

Asp Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr Asn Tyr Val His

1 5 10

<210> 123

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

Tyr Thr Ser Ser Lys Pro Glu

1 5

<210> 124

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

Gln Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr Asn Trp Val His

1 5 10

<210> 125

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

Phe Thr Ser Lys Lys Pro Lys

1 5

<210> 126

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

Gln Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr Thr Trp Val His

1 5 10

<210> 127

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

Phe Thr Ile Lys Lys Pro Lys

1 5

<210> 128

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Glu Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr Asn Trp Val His

1 5 10

<210> 129

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Glu Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr Thr Tyr Val His
1 5 10

<210> 130

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

Gln Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr Asn Tyr Val His
1 5 10

<210> 131

<211> 374

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Met Trp Phe Leu Thr Thr Leu Leu Leu Trp Val Pro Val Asp Gly Gln
1 5 10 15

Val Asp Thr Thr Lys Ala Val Ile Thr Leu Gln Pro Pro Trp Val Ser
20 25 30

Val Phe Gln Glu Glu Thr Val Thr Leu His Cys Glu Val Leu His Leu
35 40 45

Pro Gly Ser Ser Ser Thr Gln Trp Phe Leu Asn Gly Thr Ala Thr Gln
50 55 60

Thr Ser Thr Pro Ser Tyr Arg Ile Thr Ser Ala Ser Val Asn Asp Ser
65 70 75 80

Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Arg Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Pro Ile
85 90 95

Gln Leu Glu Ile His Arg Gly Trp Leu Leu Leu Gln Val Ser Ser Arg
100 105 110

Val Phe Thr Glu Gly Glu Pro Leu Ala Leu Arg Cys His Ala Trp Lys
115 120 125

Asp Lys Leu Val Tyr Asn Val Leu Tyr Tyr Arg Asn Gly Lys Ala Phe

130 135 140

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

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

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

Val Ile Ser Ser Leu Gln Glu Asp Arg His Leu Glu Glu Glu Leu Lys
340 345 350
Cys Gln Glu Gln Lys Glu Glu Gln Leu Gln Glu Gly Val His Arg Lys
355 360 365
Glu Pro Gln Gly Ala Thr
370

<210> 132

<211> 316

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

Met Thr Met Glu Thr Gln Met Ser Gln Asn Val Cys Pro Arg Asn Leu
1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp
20 25 30

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

Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Ala
50 55 60

Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu
65 70 75 80

Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn
85 90 95

Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp
100 105 110

Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro
115 120 125

His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His Ser
130 135 140

Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys
145 150 155 160

Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln Ala
165 170 175

Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr
180 185 190

Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro Ser
195 200 205

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

Leu Glu Glu Thr Asn Asn Asp Tyr Glu Thr Ala Asp Gly Gly Tyr Met
275 280 285
Thr Leu Asn Pro Arg Ala Pro Thr Asp Asp Asp Lys Asn Ile Tyr Leu
290 295 300
Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn Ser Asn Asn
305 310 315

<210> 133
<211> 10
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 133
Gln Thr Tyr Ala Ala Pro Leu Gly Pro Met
1 5 10

<210> 134
<211> 111
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 134
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Asp Val Gly Asp
20 25 30
Tyr Asn Trp Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
35 40 45

Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Ser Lys Pro Glu Gly Val Pro Asp Arg

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Ala Ala

85 90 95

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

100 105 110

<210> 135

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 136

<211> 122

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 137

<211> 122

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

<210> 138

<211> 122

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

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

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

<210> 139

<211> 122

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 140

<211> 122

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val
50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 141

<211> 122

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 141

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 142

<211> 317

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 142

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

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

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

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

245 250 255

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

<210>
143
<211> 218
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 143

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly

180 185 190

Tyr Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro

195 200 205

Ser Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile

210 215

<210> 144

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 144

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

<210> 145

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr
20 25 30

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

Met Ile Tyr Phe Thr Ile Lys Lys Pro Lys Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Ala Ala Pro
85 90 95

Leu Gly Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 146

<211> 110

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

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

Ser Val Thr Ile Ser Cys Glu Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr
20 25 30

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

35 40 45

Met Ile Tyr Phe Thr Ser Lys Lys Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Ala Ala Pro
85 90 95
Leu Gly Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 147
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 147
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Val Thr Ile Ser Cys Glu Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr
20 25 30
Thr Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

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

<210> 148
<211> 110
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 148
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Val Thr Ile Ser Cys Gln Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr
20 25 30

Asn Trp Val His Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Phe Thr Ser Lys Lys Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

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

<210> 149

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400

> 149

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

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

<210> 150

<211> 218

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 150

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

1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp

20 25 30

Ser Gln Ala Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro

35 40 45

Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly

50 55 60

Ala Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn

65 70 75 80

Leu Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn

85 90 95

Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser

100 105 110

Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr

115 120 125

Pro His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Met Leu Arg Cys His

130 135 140

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

145 150 155 160

Lys Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln

165 170 175

Ala Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly

180 185 190

Tyr Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro

195 200 205

Ser Met Gly Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile

210 215

<210> 151

<211> 291

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr
20 25 30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro

35 40 45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu
50 55 60

Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr His Ser Pro Glu Ser Asp
65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln
85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr

100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val
115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu
130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu
145 150 155 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg

165 170 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly
180 185 190

Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr Thr Leu Tyr Ser Ser Lys
195 200 205

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala Pro Ser Ser Ser Pro Met Gly Ile
210 215 220

Ile Val Ala Val Val Thr Gly Ile Ala Val Ala Ala Ile Val Ala Ala

225 230 235 240

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

245 250 255

Thr Asn Pro Asp Glu Ala Asp Lys Val Gly Ala Glu Asn Thr Ile Thr

260 265 270

Tyr Ser Leu Leu Met His Pro Asp Ala Leu Glu Glu Pro Asp Asp Gln

275 280 285

Asn Arg Ile

290

<210> 152

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 153

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Gln Thr Tyr Ala Ala Pro Leu Gly Pro Thr

1 5 10

<210> 154

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH

<400> 154

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
Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 155
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VL
<400> 155

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 Gly 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 Phe 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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 156

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH

<400> 156

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Gly Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Phe Ile Tyr Tyr Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Ile

50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 157

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL

<400> 157

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Lys

<210> 158

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 158

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

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

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

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 159

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CL

<400> 159

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

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

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

<210> 160

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 160

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 161

<211> 216

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lch

<400> 161

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu Gly Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 162

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Gln

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 163

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 163

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Met Pro

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 164

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 164

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 165

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 165

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

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

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

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

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 166

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 166

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

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

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 167

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 167

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

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

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

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

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 168

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 168

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 169

<211> 310

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp

1 5 10 15

Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr

20 25 30

Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro

35 40 45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln

85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr

100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val

115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu

130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu

145 150 155 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg

165 170 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly

180 185 190

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

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

<210> 170
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch
<400> 170
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

305 310 315 320

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

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

Ser Pro
450

<210> 171
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 171
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

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

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

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

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

290 295 300

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

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 172
<211> 217
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 172
Met Gly Ile Leu Ser Phe Leu Pro Val Leu Ala Thr Glu Ser Asp Trp
1 5 10 15
Ala Asp Cys Lys Ser Pro Gln Pro Trp Gly His Met Leu Leu Trp Thr
20 25 30
Ala Val Leu Phe Leu Ala Pro Val Ala Gly Thr Pro Ala Ala Pro Pro

35 40 45

Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu Ile Pro Thr His Thr Gln

85 90 95

Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr

100 105 110

Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp Pro Val His Leu Thr Val

115 120 125

Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro His Leu Glu Phe Gln Glu

130 135 140

Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu

145 150 155 160

Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys Ser Lys Lys Phe Ser Arg

165 170 175

Ser Asp Pro Asn Phe Ser Ile Pro Gln Ala Asn His Ser His Ser Gly

180 185 190

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

195 200 205

Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Ala Pro

210 215

<210> 173

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 173

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 174

<211> 254

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala

1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro

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

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

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

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

<210> 175

<211> 254

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

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

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu

50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys

115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Phe
165 170 175

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

180 185 190

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
195 200 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp

225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys

245 250

<210> 176

<211> 208

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala

1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro

20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln

35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu

50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr

65 70 75 80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu

85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln

100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys

115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn

130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

<210> 177

<211> 208

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala

1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro

20 25 30

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln

35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu

50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr

65 70 75 80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu

85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln

100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys

115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn

130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Phe Pro Pro Gly Tyr Gln
195 200 205

<210> 178

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

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

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

Gln Trp Tyr Ser Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
35 40 45

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
65 70 75 80

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
130 135 140

Gly Lys Asp Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe His Ile Pro
145 150 155 160

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
165 170 175

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
180 185 190

Gly Leu Ala Val Ser Thr Ile Ser Ser Phe Ser Pro Pro Gly Tyr Gln
195 200 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly
210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile
225 230

<210> 179

<211> 365

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

Met Gly Val Pro Arg Pro Gln Pro Trp Ala Leu Gly Leu Leu Leu Phe
1 5 10 15

Leu Leu Pro Gly Ser Leu Gly Ala Glu Ser His Leu Ser Leu Leu Tyr
20 25 30

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

Val Ser Gly Trp Leu Gly Pro Gln Gln Tyr Leu Ser Tyr Asn Ser Leu
50 55 60

Arg Gly Glu Ala Glu Pro Cys Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val
65 70 75 80

Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu Thr Thr Asp Leu Arg Ile Lys Glu Lys
85 90 95

Leu Phe Leu Glu Ala Phe Lys Ala Leu Gly Gly Lys Gly Pro Tyr Thr
100 105 110

Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys Glu Leu Gly Pro Asp Asn Thr Ser Val
115 120 125

Pro Thr Ala Lys Phe Ala Leu Asn Gly Glu Glu Phe Met Asn Phe Asp
130 135 140

Leu Lys Gln Gly Thr Trp Gly Gly Asp Trp Pro Glu Ala Leu Ala Ile
145 150 155 160

Ser Gln Arg Trp Gln Gln Gln Asp Lys Ala Ala Asn Lys Glu Leu Thr

165 170 175

Phe Leu Leu Phe Ser Cys Pro His Arg Leu Arg Glu His Leu Glu Arg

180 185 190

Gly Arg Gly Asn Leu Glu Trp Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys

195 200 205

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

210 215 220

Ser Phe Tyr Pro Pro Glu Leu Gln Leu Arg Phe Leu Arg Asn Gly Leu

225 230 235 240

Ala Ala Gly Thr Gly Gln Gly Asp Phe Gly Pro Asn Ser Asp Gly Ser

245 250 255

Phe His Ala Ser Ser Ser Leu Thr Val Lys Ser Gly Asp Glu His His

260 265 270

Tyr Cys Cys Ile Val Gln His Ala Gly Leu Ala Gln Pro Leu Arg Val

275 280 285

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

290 295 300

Ile Gly Val Leu Leu Leu Thr Ala Ala Ala Val Gly Gly Ala Leu Leu

305 310 315 320

Trp Arg Arg Met Arg Ser Gly Leu Pro Ala Pro Trp Ile Ser Leu Arg

325 330 335

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

340 345 350

Ala Asp Leu Lys Asp Val Asn Val Ile Pro Ala Thr Ala

355 360 365

<210> 180

<211> 119

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

Met Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Val Leu Ala Leu Leu Ser Leu Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

His Pro Ala Glu Asn Gly Lys Ser Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser

35 40 45

Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu

50 55 60

Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp

65 70 75 80

Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp

85 90 95

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

100 105 110

Val Lys Trp Asp Arg Asp Met

115

<210> 181

<211> 580

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

Met Ala Gly Thr Val Arg Thr Ala Cys Leu Val Val Ala Met Leu Leu

1 5 10 15

Ser Leu Asp Phe Pro Gly Gln Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Asp

20 25 30

Ala Thr Cys His Gln Val Arg Ser Phe Phe Gln Arg Leu Gln Pro Gly

35 40 45

Leu Lys Trp Val Pro Glu Thr Pro Val Pro Gly Ser Asp Leu Gln Val

50 55 60

Cys Leu Pro Lys Gly Pro Thr Cys Cys Ser Arg Lys Met Glu Glu Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

```
Ser Met Glu Leu Lys Phe Leu Ile Ile Gln Asn Ala Ala Val Phe Gln
            100                 105                 110
Glu Ala Phe Glu Ile Val Val Arg His Ala Lys Asn Tyr Thr Asn Ala
        115                 120                 125
Met Phe Lys Asn Asn Tyr Pro Ser Leu Thr Pro Gln Ala Phe Glu Phe
    130                 135                 140
Val Gly Glu Phe Phe Thr Asp Val Ser Leu Tyr Ile Leu Gly Ser Asp

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

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

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

340 345 350

Gln Gln Arg Gln Tyr Arg Ser Ala Tyr Tyr Pro Glu Asp Leu Phe Ile

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

Phe Tyr Ser Ala Leu Pro Gly Tyr Ile Cys Ser His Ser Pro Val Ala

405 410 415

Glu Asn Asp Thr Leu Cys Trp Asn Gly Gln Glu Leu Val Glu Arg Tyr

420 425 430

Ser Gln Lys Ala Ala Arg Asn Gly Met Lys Asn Gln Phe Asn Leu His

435 440 445

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

450 455 460

Lys Leu Lys His Ile Asn Gln Leu Leu Arg Thr Met Ser Met Pro Lys

465 470 475 480

Gly Arg Val Leu Asp Lys Asn Leu Asp Glu Glu Gly Phe Glu Ser Gly

485 490 495

Asp Cys Gly Asp Asp Glu Asp Glu Cys Ile Gly Gly Ser Gly Asp Gly

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

Lys Asp Asn Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser

545 550 555 560

Pro Leu Lys Leu Leu Thr Ser Met Ala Ile Ser Val Val Cys Phe Phe

565 570 575

Phe Leu Val His

580

<210> 182

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 182

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

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

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

385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 183

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 183

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val

50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

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

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

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 184

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 184

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

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

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

355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 185

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 185

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 186

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 186

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

1 5 10 15

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val
50 55 60

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

65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

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

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

130 135 140

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

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

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

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

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

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

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

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 187

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 187

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu

435 440 445
Ser Pro
450

<210> 188
<211> 216
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Lch
<400> 188
Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Val Thr Ile Ser Cys Glu Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp Tyr
20 25 30
Thr Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

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

100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125
Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys

195 200 205

Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 189

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 189

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 190

<211> 218

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lch

<400> 190

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Gln Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp

20 25 30

Tyr Asn Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Ala Ala

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 191

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 191

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

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

Ser Pro
450

<210> 192
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 192

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

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

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

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Lys Pro
325 330 335
Asp Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 193

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 193

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

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

Ser Pro
450

<210> 194
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 194

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

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

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

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

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

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

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

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

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

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 195

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 195

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

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

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

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

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

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

<210> 196
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 196

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Lys Pro
325 330 335
Asp Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 197
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 197
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln
225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 198
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 198
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450
<210> 199
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 199
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln
225 230 235 240
Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 200
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch

<400> 200

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Lys Pro
325 330 335
Asp Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 201
<211> 450
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 201

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450
<210> 202
<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 202

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 203

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 203

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln
225 230 235 240
Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro

450

<210> 204

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 204

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Lys Pro
325 330 335

Asp Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 205
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 205

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln
225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 206

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 206

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 207

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 207

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Ala His Thr Thr
305 310 315 320
Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 208
<211> 216
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Lch
<400> 208

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15
Thr Val Thr Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Asp Val Gly Asp Tyr
20 25 30
Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45
Met Ile Tyr Phe Thr Ser Lys Lys Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu
65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ser Thr Tyr Ala Ala Pro
85 90 95
Leu Gly Pro Met Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
100 105 110
Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu
115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr
130 135 140
Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys
145 150 155 160
Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr
165 170 175
Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His
180 185 190

Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys
195 200 205
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215
<210> 209
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 209

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15

Gly Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Ala
20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Arg Ser Gly Tyr Ile Tyr 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 Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 210

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 210

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 211
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Lch

<400> 211

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 Gly 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 Phe 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

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 212

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 212

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Gly Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Phe Ile Tyr Tyr Glu Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Ile
50 55 60

Lys Ser Arg Ile Ser Ile Thr Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Phe
65 70 75 80

Leu Gln Val Asn Ser Val Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Thr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 213

<211> 220

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lch

<400> 213

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Asp Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Ser
20 25 30

Asn Ala Lys Thr Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Ala Ser Thr Arg His Thr Gly Val
50 55 60
Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr
65 70 75 80
Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln
85 90 95

Trp Tyr Asp Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Val Glu Ile
100 105 110
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
115 120 125
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
130 135 140
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
145 150 155 160

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
165 170 175
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
180 185 190
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
195 200 205
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215 220

<210> 214

<

211> 223

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 214

Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala
1 5 10 15

Thr Arg Thr Trp Pro Cys Thr Leu Leu Phe Phe Leu Leu Phe Ile Pro
20 25 30

Val Phe Cys Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala
35 40 45

Ser Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly

50 55 60

Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln
65 70 75 80

Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr
85 90 95

Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val
100 105 110

Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile

115 120 125

Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly
130 135 140

Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser
145 150 155 160

Asp Phe Leu Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe
165 170 175

Tyr Ser Phe Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys

180 185 190

Arg Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu
195 200 205

Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
210 215 220

<210> 215

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 215

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 216

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 216

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 217

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 217

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Gln Trp Gly Pro Met
225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro
260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 218

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 218

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205
Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
210 215 220
His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Met Pro Ile Glu Glu Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
340 345 350
Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys
355 360 365
Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val 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

435 440 445

<210> 219

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 219

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys

355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 220

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 220

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys

355 360 365

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val 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

435 440 445

<210> 221

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 221

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met
225 230 235 240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg
245 250 255
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro
260 265 270
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val
290 295 300
Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
305 310 315 320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr
325 330 335
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu
340 345 350

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 222

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 222

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

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Thr Phe Ile Ser Tyr Asp Gly Asn 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 Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Thr Gly Trp Leu Gly Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser

225 230 235 240

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg

245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro

260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala

275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val

290 295 300

Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr

305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu Thr

325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340 345 350

Pro Pro Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys

355 360 365

Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser

370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp

385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val 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

435 440 445

<210> 223

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> Xaa is His, Ala, Arg, or Lys

<400> 223

Ser Xaa Thr Met Asn

1 5

<210> 224

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Ser or Thr

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> Xaa is Arg or Gln

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Gly or His

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Asp, Glu, or Arg

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> Xaa is Lys or Arg

<400> 224

Ser Ile Ser Xaa Xaa Ser Xaa Tyr Ile Tyr Tyr Ala Xaa Ser Val Xaa

1 5 10 15

Gly

<210> 225

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Lys or Ala

<400> 225

Tyr Gly Xaa Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 226

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Thr, Asp, Gln, or Glu

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Thr or Pro

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (6)..(6)

<223> Xaa is Asp or Gly

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> Xaa is Asn or Thr

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> Xaa is Tyr or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Ser or His

<400> 226

Xaa Gly Xaa Ser Thr Xaa Val Gly Asp Tyr Xaa Xaa Val Xaa

1 5 10

<210> 227

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Glu, Phe, or Tyr

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> Xaa is Ser or Ile

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is Lys or Ser

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> Xaa is Ser, Glu, or Lys

<400> 227

Xaa Thr Xaa Xaa Lys Pro Xaa

1 5

<210> 228

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Ser or Gln

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is Met or Thr

<400> 228

Xaa Thr Tyr Ala Ala Pro Leu Gly Pro Xaa

1 5 10

<210> 229

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 229

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Gly Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 230

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 230

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 231

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 231

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 232

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 232

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser

20 25 30

<210> 233

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 233

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser

1 5 10

<210> 234

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 234

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln

1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

20 25 30

<210> 235

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 235

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

1 5 10

<210> 236

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 236

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys

20

<210> 237

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 237

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln

1 5 10 15

Ser Val Thr Ile Ser Cys

20

<210> 238

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 238

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys

20

<210> 239

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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 Ala His Thr Thr

305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 240

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 240

Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Met Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 241

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 241

Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr

1 5 10 15

<210> 242

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 242

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser

1 5 10 15

Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys

20 25 30

<210> 243

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 243

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser

1 5 10 15

Leu Thr Val Ser Gly Leu Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 244

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 244

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

1 5 10 15

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 245

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 245

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

1 5 10

<210> 246

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 246

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

1 5 10

<210> 247

<211> 223

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 247

Met Ala Cys Leu Gly Leu Arg Arg Tyr Lys Ala Gln Leu Gln Leu Pro

1 5 10 15

Ser Arg Thr Trp Pro Phe Val Ala Leu Leu Thr Leu Leu Phe Ile Pro

20 25 30

Val Phe Ser Glu Ala Ile Gln Val Thr Gln Pro Ser Val Val Leu Ala
35 40 45
Ser Ser His Gly Val Ala Ser Phe Pro Cys Glu Tyr Ser Pro Ser His

50 55 60
Asn Thr Asp Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Thr Asn Asp Gln
65 70 75 80
Met Thr Glu Val Cys Ala Thr Thr Phe Thr Glu Lys Asn Thr Val Gly
85 90 95
Phe Leu Asp Tyr Pro Phe Cys Ser Gly Thr Phe Asn Glu Ser Arg Val
100 105 110
Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Leu

115 120 125
Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Phe Val Gly Met Gly
130 135 140
Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser
145 150 155 160
Asp Phe Leu Leu Trp Ile Leu Val Ala Val Ser Leu Gly Leu Phe Phe
165 170 175
Tyr Ser Phe Leu Val Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys

180 185 190
Arg Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu
195 200 205
Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
210 215 220

<210> 248
<211> 223
<212> PRT
<213> Macaca fascicularis
<400> 248
Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Arg Leu Asn Leu Ala
1 5 10 15

Thr Arg Thr Arg Pro Tyr Thr Leu Leu Phe Ser Leu Leu Phe Ile Pro
20 25 30
Val Phe Ser Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala
35 40 45
Asn Ser Arg Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly
50 55 60
Lys Ala Thr Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln
65 70 75 80

Val Thr Glu Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr
85 90 95
Phe Leu Asp Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val
100 105 110
Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile
115 120 125
Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Met Gly Ile Gly
130 135 140

Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser
145 150 155 160
Asp Phe Leu Leu Trp Ile Leu Ala Ala Val Ser Ser Gly Leu Phe Phe
165 170 175
Tyr Ser Phe Leu Leu Thr Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys
180 185 190
Arg Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu
195 200 205

Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
210 215 220
<210> 249
<211> 330
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<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

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 250

<211> 326

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 250

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> 251

<211> 377

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 251

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> 252

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<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 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> 253

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 253

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 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 254
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 254
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp 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 Lys 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

325

<210> 255

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 255

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 256

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 256

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 257
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 257
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala 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 Lys 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

325

<210> 258

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 258

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 259

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 259

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp 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 Lys 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 Ala His Thr Thr

305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 260

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 260

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu 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 Ala His Thr Thr
305 310 315 320
Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 261
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 261
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp 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 Trp 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
325

<210> 262
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 262
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 263

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 263

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu 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 Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 264

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 264

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 265

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 265

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala 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 Trp 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

325

<210> 266

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 266

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu

225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 267

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 267

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu 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 Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 268

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 268

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 269
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 269
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp 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 Trp 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 Ala His Thr Thr

305 310 315 320
Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 270

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 270

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu 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 Ser Cys Ala 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 Val 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 Ala His Thr Thr

305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 271

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 271

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala 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 Trp 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 Ala His Thr Thr

305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 272

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 272

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 273

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 273

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 274

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 274

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 275

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lch

<400> 275

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Asp Gly Pro Ser Thr Gly Val Gly Asp

20 25 30

Tyr Asn Tyr Val His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg

35 40 45

Leu Leu Ile Tyr Phe Thr Ser Lys Lys Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg

50 55 60

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Thr Tyr Ala Ala

85 90 95

Pro Leu Gly Pro Met Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln

115 120 125

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr

130 135 140

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser

145 150 155 160

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

165 170 175

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 276

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 276

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu 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 Ala His Thr Thr

305 310 315 320

Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 277

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 277

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 278
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 278
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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 279

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 279

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 280

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 280

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Gln Trp Gly Pro Met Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 281

<

211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 281

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Met Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 282

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lch

<400> 282

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile His Lys Tyr
20 25 30

Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
35 40 45

Gln Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Glu Gln Leu Arg Thr
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
100 105 110

Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
165 170 175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 283

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 283

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Tyr Tyr Trp Gly Pro Met Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 284
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 284

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 285

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 285

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 286

<

211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 286

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 287

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 287

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Met Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 288
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 288

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60
Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Met Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 289

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 289

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440
<210> 290
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 290
Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 291

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 291

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60
Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 292
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 292
Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 293

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 293

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 294

<

211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 294

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 295

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 295

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60
Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 296
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 296
Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 297

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 297

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

```
        35                  40                  45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
    50                  55                  60
Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val
            260                 265                 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
```

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 298
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 298
Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60
Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350
Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 299
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 299
Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

```
    50                  55                  60
Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
            100                 105                 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
        115                 120                 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
    130                 135                 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145                 150                 155                 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
                165                 170                 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
            180                 185                 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
        195                 200                 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
    210                 215                 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe
225                 230                 235                 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                245                 250                 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu Pro Glu Val
            260                 265                 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
        275                 280                 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
    290                 295                 300
```

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Met Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 300
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 300
Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Met Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 301

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 301

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 302

<

211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 302

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 303

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 303

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Asp Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Leu Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 304
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 304
Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60
Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp Val Phe

225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 305

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 305

Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30

Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe

50 55 60

Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala
115 120 125
Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu
130 135 140
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly
145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser
165 170 175
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu
180 185 190
Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr
195 200 205
Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Ala Gly Pro Asp Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

Ser Arg Cys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440
<210> 306
<211> 441
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 306
Gln Asp Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr

20 25 30
Tyr Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Arg Ile Asp Pro Leu Arg Lys Gln Thr Lys Tyr Arg Glu Lys Phe
50 55 60
Glu Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asn Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Arg Ser Gly Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro

210 215 220

Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

225 230 235 240

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

245 250 255

Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn

260 265 270

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

275 280 285

Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

290 295 300

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

305 310 315 320

Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

325 330 335

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu

340 345 350

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

355 360 365

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

370 375 380

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

385 390 395 400

Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly

405 410 415

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

420 425 430

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu

435 440

<210> 307

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 307

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr

245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn

260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe

275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr

305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 308

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 308

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 Tyr Gln Trp Gly Pro Met 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 Asp Glu Glu 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 Ala 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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
325

<210> 309
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 309
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 Glu 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
Asp Ala Leu Pro Met Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 310

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CL

<400> 310

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
1 5 10 15

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
20 25 30

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
35 40 45

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
50 55 60

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
65 70 75 80

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 311

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 311

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 Tyr Tyr Trp Gly Pro Met 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 Asp 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 Ala 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 Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 312

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 312

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 Glu 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

Asp Ala Leu Pro Lys Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 313

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 313

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met 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 Asp Glu Glu 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 Ala 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

Asp 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 314

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 314

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 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 Glu 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 Ala 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

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 315
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 315
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro 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 Met Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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
325

<210> 316
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 316
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 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp Ala Leu Pro Met Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu

225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 317
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 317

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 318

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 318

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 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 319

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 319

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 320

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 320

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 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Lys Pro Asp Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 321

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 321

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 322

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 322

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 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205
Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 323

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 323

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro 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 Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 324

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 324

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 325

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 325

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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
325

<210> 326
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 326
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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 327

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 327

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro 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 Met Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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
325

<210> 328
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 328
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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp Ala Leu Pro Met Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Cys Glu

225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 329

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 329

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 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 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

325

<210> 330

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 330

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 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 Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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
325

<210> 331
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 331
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 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 Cys Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 332

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 332

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 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 Ala Pro Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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

325

<210> 333

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 333

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 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 Ala 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 Cys Glu

225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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

325

<210> 334

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 334

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
325

<210
> 335
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 335
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val

50 55 60
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln
225 230 235 240
Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Met Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 336

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 336

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Met Pro

325 330 335

Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 337
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Hch
<400> 337
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln
225 230 235 240
Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 338

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 338

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 339

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 339

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys
20 25 30
Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 340

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 340

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 341

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 341

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gln Leu Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Asn Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Met Ile Asp Pro Ser Tyr Ser Glu Thr Arg Leu Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Pro Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Leu Tyr Gly Asn Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Leu

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 342

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lch

<400> 342

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Ser Ser Ser Phe Ser Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Glu Asp Ile Tyr Asn Arg

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ala Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Ser Gly Ala Thr Ser Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Thr Leu Ser Ile Thr Ser Leu Gln Thr

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Trp Ser Thr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Val 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> 343
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 343
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125
Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro 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 Met 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 Lys 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

325

<210> 344

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 344

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu

180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn

195 200 205

Asp Ala Leu Pro Met Pro Ile Glu Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 345

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 345

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Asp 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 Cys Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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
325

<210> 346
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CH
<400> 346
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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp 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 Cys Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp 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 Ala His Thr Thr
305 310 315 320

Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 347
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 347
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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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
325

<210> 348
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CH
<400> 348
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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Asp Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu
225 230 235 240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala 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 Val 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 Ala His Thr Thr
305 310 315 320
Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 349
<211> 324
<212> PRT
<213> Gallus gallus
<220><221> misc_feature
<222> (92)..(92)
<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid
<220><221> misc_feature

<222> (111)..(111)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 349

Leu Pro Gly Phe Gly Asp Ser Ile Glu Ala Gln Cys Gly Thr Ser Val
1 5 10 15

Asn Val His Ser Ser Leu Arg Asp Ile Leu Asn Gln Ile Thr Lys Pro
20 25 30

Asn Asp Val Tyr Ser Phe Ser Leu Ala Ser Arg Leu Tyr Ala Glu Glu
35 40 45

Arg Tyr Pro Ile Leu Pro Glu Tyr Leu Gln Cys Val Lys Glu Leu Tyr

50 55 60

Arg Gly Gly Leu Glu Pro Ile Asn Phe Gln Thr Ala Ala Asp Gln Ala
65 70 75 80

Arg Glu Leu Ile Asn Ser Trp Val Glu Ser Gln Xaa Asn Gly Ile Ile
85 90 95

Arg Asn Val Leu Gln Pro Ser Ser Val Asp Ser Gln Thr Ala Xaa Val
100 105 110

Leu Val Asn Ala Ile Val Phe Lys Gly Leu Trp Glu Lys Ala Phe Lys

115 120 125

Asp Glu Asp Thr Gln Ala Met Pro Phe Arg Val Thr Glu Gln Glu Ser
130 135 140

Lys Pro Val Gln Met Met Tyr Gln Ile Gly Leu Phe Arg Val Ala Ser
145 150 155 160

Met Ala Ser Glu Lys Met Lys Ile Leu Glu Leu Pro Phe Ala Ser Gly
165 170 175

Thr Met Ser Met Leu Val Leu Leu Pro Asp Glu Val Ser Gly Leu Glu

180 185 190

Gln Leu Glu Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu Thr Glu Trp Thr Ser
195 200 205

Ser Asn Val Met Glu Glu Arg Lys Ile Lys Val Tyr Phe Pro Arg Met
210 215 220

Lys Met Glu Glu Lys Tyr Asn Leu Thr Ser Val Leu Met Ala Met Gly

225 230 235 240

Ile Thr Asp Val Phe Ser Ser Ser Ala Asn Leu Ser Gly Ile Ser Ser

245 250 255

Ala Glu Ser Leu Lys Ile Ser Gln Ala Val His Ala Ala His Ala Glu

260 265 270

Ile Asn Glu Ala Gly Arg Glu Val Val Gly Ser Ala Glu Ala Gly Val

275 280 285

Asp Ala Ala Ser Val Ser Glu Glu Phe Arg Ala Asp His Pro Phe Leu

290 295 300

Phe Cys Ile Lys His Ile Ala Thr Asn Ala Val Leu Phe Phe Gly Arg

305 310 315 320

Cys Val Ser Pro

<210> 350

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 350

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 Phe Gln Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

Lys Pro Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser Asp Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro 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 Met 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 Lys 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

325

<210> 351

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CH

<400> 351

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 Val Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Glu 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 Ala Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Asp Ala Leu Pro Met Pro Glu Glu Glu 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 Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

325

<210> 352

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 352

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Arg Ser Val

50 55 60

Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Tyr Gly Lys Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Gln

225 230 235 240

Trp Gly Pro Met Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

Asp Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Met Pro

325 330 335

Glu Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 353

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hch

<400> 353

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Lys

20 25 30

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Thr Gln Ser His Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ser Val

```
    50                  55                  60
Arg Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Arg Tyr Gly Ala Arg Glu Asp Met Leu Trp Val Phe Asp Tyr Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

        115                 120                 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

            180                 185                 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Val Leu

                245                 250                 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270
His Glu Glu Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
        275                 280                 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ala Thr
    290                 295                 300
```

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Pro Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Asp Ala Leu Pro Met Pro

325 330 335

Glu Glu Glu Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450