



등록특허 10-2567295



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년08월16일

(11) 등록번호 10-2567295

(24) 등록일자 2023년08월10일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/18 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01) C12N 15/85 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/18 (2013.01)

A61P 25/28 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2022-7001314(분할)

(22) 출원일자(국제) 2018년04월16일

심사청구일자 2022년01월13일

(85) 번역문제출일자 2022년01월13일

(65) 공개번호 10-2022-0011800

(43) 공개일자 2022년01월28일

(62) 원출원 특허 10-2019-7030416

원출원일자(국제) 2018년04월16일

심사청구일자 2019년10월16일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/027718

(87) 국제공개번호 WO 2018/194951

국제공개일자 2018년10월25일

(30) 우선권주장

62/487,550 2017년04월20일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020130051989 A

WO2012021475 A2

(73) 특허권자

일라이 릴리 앤드 캄파니

미국 46285 인디애나주 인디애나폴리스 릴리 코포레이트 센터

(72) 발명자

데마토스, 로널드 브래들리

미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.

오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내

루, 지룡

미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.

오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내

탕, 잉

미국 46206-6288 인디애나주 인디애나폴리스 피.

오. 박스 6288 일라이 릴리 앤드 캄파니 내

(74) 대리인

장덕순, 김영

전체 청구항 수 : 총 8 항

심사관 : 정지혜

(54) 발명의 명칭 항-N3pGlu 아밀로이드 베타 펩티드 항체 및 그의 용도

(57) 요약

인간 N3pGlu A β 에 대한 항체, 이러한 N3pGlu A β 항체를 포함하는 조성물, 및 임상 또는 전임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 및 임상 또는 전임상 뇌 아밀로이드 혈관병증을 포함한, A β 의 침착을 특징으로 하는 질환의 치료를 위한 상기 N3pGlu A β 항체의 사용 방법.

(52) CPC특허분류

C12N 15/85 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

서열식별번호: 12로 주어진 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열 및 서열식별번호: 13으로 주어진 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는, 항-N3pG A β 항체를 생산하기 위한 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 항체 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열이 서열식별번호: 15이고, 항체 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열이 서열식별번호: 16인 조성물.

청구항 3

i) 서열식별번호: 12로 주어진 아미노산 서열을 포함하는 항체 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 ii) 서열식별번호: 13으로 주어진 아미노산 서열을 포함하는 항체 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 단리된 포유동물 세포.

청구항 4

제3항에 있어서, 항체 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 서열식별번호: 15로 주어진 서열을 포함하는 것인 단리된 포유동물 세포.

청구항 5

제3항에 있어서, 항체 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 서열식별번호: 16으로 주어진 서열을 포함하는 것인 단리된 포유동물 세포.

청구항 6

제3항에 있어서, 항체 중쇄 및/또는 항체 경쇄를 발현할 수 있는 단리된 포유동물 세포.

청구항 7

제3항에 있어서, 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포 또는 햄스터 배아 신장 (HEK) 세포인 단리된 포유동물 세포.

청구항 8

a) 항체 중쇄에 대해 서열식별번호: 12로 주어진 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 및 항체 경쇄에 대해 서열식별번호: 13으로 주어진 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 포함하는 단리된 포유동물 세포를 항체가 발현되도록 하는 조건 하에서 배양하고, b) 항체를 회수하는 것을 포함하는, 항-N3pG A β 항체의 생산 방법.

청구항 9

삭제

청구항 10

삭제

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 인간 N3pGlu 아밀로이드 베타 펩티드에 결합하는 항체 및 아밀로이드 베타 (본원에서 A β 또는 A베타로 지칭됨) 펩티드에 관련된 질환의 치료에서의 그의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002]

아밀로이드 전구체 단백질의 절단은 크기가 38 내지 43개 아미노산 범위인 A β 펩티드를 생성한다. A β 의 가용성 형태에서 높은 β -시트 함량을 갖는 불용성 형태로의 전환 및 이를 불용성 형태의 뇌 내 신경염성 및 뇌혈관성 플라크로서의 침착은 알츠하이머병 (AD), 다운 증후군 및 뇌 아밀로이드 혈관병증 (CAA)을 포함한 다수의 상태 및 질환과 연관되어 왔다.

[0003]

플라크로 발견되는 침착물은 A β 펩티드의 불균일 혼합물로 구성된다. N3pE, pE3-X 또는 A β _{p3-X}로도 지칭되는 N3pGlu A β 는 A β 펩티드의 N-말단 절단된 형태이고 주로 플라크로 발견된다. N3pGlu A β 는 인간 A β 의 N-말단에 있는 처음 2개의 아미노산 잔기가 결여되어 있고 제3 아미노산 위치에 글루탐산으로부터 유래된 피로글루타메이트를 갖는다. N3pGlu A β 펩티드가 뇌 내 침착된 A β 중 부차적 성분이지만, 연구는 N3pGlu A β 펩티드가 공격적인 응집 특성을 갖고 침착 캐스케이드 초기에 축적된다는 것을 입증하였다.

[0004]

N3pGlu A β 에 대한 항체는 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 8,679,498은 인간 N3pGlu A β 항체 (예를 들어 B12L; LY3002813으로도 공지됨) 및 상기 항체를 사용하여 알츠하이머병과 같은 질환을 치료하는 방법을 개시한다. 임상 시험은 항-N3pGlu A β 항체 (LY3002813)에 대한 항-약물 항체에 관한 우려를 입증하였다. 항-약물 항체는 이 임상 시험에서 치료된 거의 모든 사람의 혈장에 존재하였고, 면역 반응과 연관된 문제는 LY3002813의 단축된 반감기였다. 따라서, 대안적 항-N3pGlu A β 항체에 대한 필요성이 여전히 남아있다.

발명의 내용

[0005]

본 발명의 항체는 N3pGlu A β 에 결합하여, 생체내 플라크 (A β 1-42)를 낫추지만, 또한 감소된 면역원성을 나타내는 항-N3pGlu A β 항체를 제공하고자 한다. 이러한 항-N3pGlu A β 항체는 또한 혈장 단백질에 대한 감소된 비-특이적 결합을 나타낼 수 있다. 추가로, 이러한 항-N3pGlu A β 항체는 또한 감소된 예측된 T-의존성 Ab 반응을 제공할 수 있다. 이러한 항-N3pGlu A β 항체는 또한 보다 우수한 투여 스케줄을 위한 약동학을 갖는 잠재적 인간 치료제를 위한 증가된 항체 반감기 및 개선된 안전성 프로파일을 제공할 수 있다. 본 발명의 범주 내의 항체는 이들 바람직한 특징 중 적어도 한가지를 보유하고자 한다.

[0006]

본 발명은 LCVR 및 HCVR을 포함하며, 여기서 상기 LCVR은 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하고, 상기 HCVR은 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3을 포함하고, 여기서 아미노산 서열은 LCDR1의 경우 서열식별번호: 4 또는 5, LCDR2의 경우 서열식별번호: 6 또는 7, LCDR3의 경우 서열식별번호: 8, HCDR1의 경우 서열식별번호: 1, HCDR2의 경우 서열식별번호: 2 및 HCDR3의 경우 서열식별번호: 3인, 인간 N3pGlu A β 에 결합하는 항체를 제공한다. 특정한 실시양태에서, 항-N3pGlu A β 항체는 LCDR1의 경우 서열식별번호: 4, LCDR2의 경우 서열식별번호: 6, LCDR3의 경우 서열식별번호: 8, HCDR1의 경우 서열식별번호: 1, HCDR2의 경우 서열식별번호: 2, 및 HCDR3의 경우 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함한다. 또 다른 특정한 실시양태에서, 항-N3pGlu A β 항체는 LCDR1의 경우 서열식별번호: 5, LCDR2의 경우 서열식별번호: 7, LCDR3의 경우 서열식별번호: 8, HCDR1의 경우 서열식별번호: 1, HCDR2의 경우 서열식별번호: 2, 및 HCDR3의 경우 서열식별번호: 3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0007]

본 발명은 또한 인간 N3pGlu A β 에 결합하는 항체를 제공하며, 여기서 상기 항체는 서열식별번호: 10 또는 서열식별번호: 11의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR), 및 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)을 포함한다. 특정한 실시양태에서, 본 발명은 인간 N3pGlu A β 에 결합하는 항체를 제공하며, 여기서 상기 항체는 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR) 및 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)을 포함한다. 또 다른 특정한 실시양태에서, 본 발명은 인간 N3pGlu A β 에 결합하는 항체를 제공하며, 여기서 상기 항체는 서열식별번호: 11의 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR) 및 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)을 포함한다.

[0008]

한 실시양태에서, 본 발명은 경쇄 (LC) 및 중쇄 (HC)를 포함하며, 여기서 LC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 13 또는 14이고, HC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12인, 인간 N3pGlu A β 에 결합하는 항체를 제공한다. 보다 특정한 실시양태에서, 본 발명은 경쇄 (LC) 및 중쇄 (HC)를 포함하며, 여기서 LC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 13이고, HC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12인, 인간 N3pGlu A β 에 결합하는 항체를 제공한다. 또 다른 특정한 실시양태에서, 본 발명은 경쇄 (LC) 및 중쇄 (HC)를 포함하며, 여기서 LC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 14이고, HC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12인, 인간 N3pGlu A β 에 결합하는 항체를 제공한다. 추가 실시양태에서, 본 발명은 2개의 LC 및 2개의 HC를 포함하며, 여기서 각각의 LC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 13 또는 14이고, 각각의 HC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12인 항체를 제공한다. 보다 특정한 실시양태에서, 본 발명은 2개의 LC 및 2개의 HC를 포함하며, 여기서 각각의 LC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 13이고, 각각의 HC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12인 항체를 제공한다. 보다 특정한 실시양태에서, 본 발명은 2개의 LC 및 2개의 HC를 포함하며, 여기서 각각의 LC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 14이고, 각각의 HC의 아미노산 서열은 서열식별번호: 12인 항체를 제공한다.

[0009]

본 발명은 본 발명의 항체 및 1종 이상의 제약상 허용되는 담체, 희석제 또는 부형제를 포함하는 제약 조성물을 추가로 제공한다. 추가로, 본 발명은 A β 의 침착을 특징으로 하는 질환의 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 것을 포함하는, A β 의 침착을 특징으로 하는 질환을 치료하는 방법을 제공한다. 특히, 본 발명은 상기 환자에게 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 것을 포함하는, 임상 또는 전임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 및 임상 또는 전임상 CAA로부터 선택된 상태를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 임상 또는 전임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 및 임상 또는 전임상 CAA의 치료 또는 예방을 필요로 하는 환자에게 유효량의 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 임상 또는 전임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 및 임상 또는 전임상 CAA를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 전구 AD (때로는 A β -관련 경도 인지 장애, 또는 MCI로 지칭됨), 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 환자에게 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 상태를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 상태를 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다.

- [0010] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 전임상 알츠하이머병, 임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 또는 임상 또는 전임상 뇌 아밀로이드 혈관병증으로 진단된 환자에서 인지 저하를 늦추는 방법을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태로 진단된 환자에서 인지 저하를 늦추는 방법을 추가로 제공한다. 또 다른 이러한 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 것을 포함하는, 전임상 알츠하이머병, 임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 또는 임상 또는 전임상 뇌 아밀로이드 혈관병증으로 진단된 환자에서 인지 저하를 늦추는 방법을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 것을 포함하는, 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태로 진단된 환자에서 인지 저하를 늦추는 방법을 제공한다.
- [0011] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 전임상 알츠하이머병 또는 임상 알츠하이머병으로 진단된 환자에서 기능 저하를 늦추는 방법을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태로 진단된 환자에서 기능 저하를 늦추는 방법을 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 것을 포함하는, 전임상 알츠하이머병 또는 임상 알츠하이머병으로 진단된 환자에서 기능 저하를 늦추는 방법을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 것을 포함하는, 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태로 진단된 환자에서 기능 저하를 늦추는 방법을 제공한다.
- [0012] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 전임상 또는 임상 알츠하이머병으로 진단된 환자에서 뇌 A β 아밀로이드 플라크 로드를 감소시키는 방법을 제공한다. 보다 구체적으로, 본 발명은 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 또는 중증 AD로부터 선택된 상태로 진단된 환자에서 뇌 A β 아밀로이드 플라크 로드를 감소시키는 방법을 제공한다.
- [0013] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 무증상 환자에서 기억 상실 또는 인지 저하를 예방하는 방법을 제공한다. 바람직한 실시양태에서, 환자는 뇌척수액 (CSF)에서 A β 1-42 또는 뇌에서 A β 플라크를 낮은 수준으로 갖는다.
- [0014] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 알츠하이머병-유발 유전자 돌연변이를 갖는 것으로 공지된 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 특정한 실시양태에서, 본 발명은 PSEN1 E280A 알츠하이머병-유발 유전자 돌연변이 (파이사 돌연변이)를 갖는 것으로 공지된 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자를 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 특정한 실시양태에서, 본 발명은 상염색체-우성 알츠하이머병을 유발하는 유전자 돌연변이, 예컨대 APP, PSEN1 또는 PSEN2 유전자 내의 돌연변이를 갖는 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0015] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 알츠하이머병-유발 유전자 돌연변이를 갖는 것으로 공지된 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자에서 기억 상실 또는 인지 저하를 예방하는 방법을 제공한다. 특정한 실시양태에서, 본 발명은 PSEN1 E280A 알츠하이머병-유발 유전자 돌연변이 (파이사 돌연변이)를 갖는 것으로 공지된 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자에서 기억 상실 또는 인지 저하를 예방하는 방법을 제공한다. 또 다른 특정한 실시양태에서, 본 발명은 상염색체-우성 알츠하이머병을 유발하는 유전자 돌연변이를 갖는 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자에서 기억 상실 또는 인지 저하를 예방하는 방법을 제공한다.
- [0016] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 알츠하이머병-유발 유전자 돌연변이를 갖는 것으로 공지된 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자에서 인지 저하를 늦추는 방법을 제공한다. 특정한 실시양태에서, 본 발명은 PSEN1 E280A 알츠하이머병-유발 유전자 돌연변이 (파이사 돌연변이)를 갖는 것으로 공지된 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자에서 인지 저하를 늦추는 방법을 제공한다. 또 다른 특정한 실시양태에서, 본 발명은 상염색체-우성 알츠하이머병을 유발하는 유전자 돌연변이를 갖는 무증상 환자에게 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 무증상 환자에서 인지 저하를 늦추는 방법을 제공한다.

- [0017] 본 발명은 또한 요법에 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 A β 의 침착을 특징으로 하는 질환의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 임상 또는 전임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 또는 임상 또는 전임상 뇌 아밀로이드 혈관병증의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태의 치료에 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 임상 또는 전임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 또는 임상 또는 전임상 뇌 아밀로이드 혈관병증으로 진단된 환자에서 인지 저하를 늦추는데 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 또는 중증 AD로 진단된 환자에서 인지 저하를 늦추는데 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다.
- [0018] 본 발명은 또한 뇌 A β 아밀로이드 플라크 로드를 감소시키는데 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 PSEN1 E280A 유전자 돌연변이를 갖는 환자에서 A β 의 침착을 특징으로 하는 상태를 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 PSEN1 E280A 유전자 돌연변이를 갖는 환자에서 기억 상실 또는 인지 저하를 치료하는데 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 PSEN1 E280A 유전자 돌연변이를 갖는 환자에서 기억 상실 또는 인지 저하를 예방하는데 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다.
- [0019] 본 발명은 또한 임상 또는 전임상 AD, 다운 증후군, 및 임상 또는 전임상 CAA로부터 선택된 상태의 예방에 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태의 예방에 사용하기 위한 본 발명의 항체를 제공한다.
- [0020] 또한, 본 발명은 요법에 사용하기 위한 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 A β 의 침착을 특징으로 하는 질환의 치료에 사용하기 위한 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.
- [0021] 본 발명은 또한 A β 의 침착을 특징으로 하는 질환의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 임상 또는 전임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 및 임상 또는 전임상 뇌 아밀로이드 혈관병증의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 또는 중증 AD의 치료를 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 임상 또는 전임상 알츠하이머병, 다운 증후군, 및 임상 또는 전임상 뇌 아밀로이드 혈관병증으로부터 선택된 상태로 진단된 환자에서 인지 저하를 늦추기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태로 진단된 환자에서 인지 저하를 늦추기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다.
- [0022] 본 발명은 또한 뇌 A β 아밀로이드 플라크 로드를 감소시키기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 PSEN1 E280A 유전자 돌연변이를 갖는 환자에서 A β 의 침착을 특징으로 하는 상태를 치료하기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 PSEN1 E280A 유전자 돌연변이를 갖는 환자에서 기억 상실 또는 인지 저하를 치료하기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 환자에서 기억 상실 또는 인지 저하를 예방하기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 바람직한 실시양태에서, 환자는 PSEN1 E280A 유전자 돌연변이를 갖는다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 임상 또는 전임상 AD, 다운 증후군, 및 임상 또는 전임상 CAA로부터 선택된 상태를 예방하기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 전구 AD, 경도 AD, 중등도 AD 및 중증 AD로부터 선택된 상태를 예방하기 위한 의약의 제조에서의 본 발명의 항체의 용도를 제공한다.
- [0023] 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 분자를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 분자를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 분자를 제공한다. 추가 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하고, 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 분자를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하고, 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 분자를 제공한다.

태에서, 본 발명은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 제공한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자 및 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 제공한다. 특정한 실시양태에서 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 15이고, 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 16이다. 특정한 실시양태에서 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 15이고, 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 17이고, 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 서열식별번호: 16이다.

[0024]

추가로, 본 발명은 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자 및 서열식별번호: 13 또는 14의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 포함하는 포유동물 세포를 제공한다. 바람직하게는 포유동물 세포는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 포유동물 세포는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 및 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 포함한다. 한 실시양태에서 포유동물 세포주는 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 또는 햄스터 배아 신장 (HEK) 세포주이다.

[0025]

본 발명은 또한 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자 및/또는 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 포함하는 포유동물 세포를 제공하며, 여기서 세포는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 HC 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 LC를 포함하는 항체를 발현할 수 있다. 바람직하게는 포유동물 세포는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 포함한다. 본 발명은 또한 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자 및/또는 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 포함하는 포유동물 세포를 제공하며, 여기서 세포는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 HC 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 LC를 포함하는 항체를 발현할 수 있다. 바람직하게는 포유동물 세포는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 DNA 문자를 포함한다. 한 실시양태에서 포유동물 세포주는 CHO 또는 HEK 세포주이다.

[0026]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 LCVR 및 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함하는 항체의 생산 방법을 제공하며, 여기서 방법은 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 코딩하는 DNA 및/또는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 코딩하는 DNA를 포함하는 포유동물 세포를 항체가 발현되도록 하는 조건 하에 배양하고, 발현된 항체를 회수하는 것을 포함한다. 본 발명은 바로 위에 기재된 바와 같은 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 항체를 포함한다. 본 발명은 또한 서열식별번호: 11의 아미노산 서열을 갖는 LCVR 및 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함하는 항체의 생산 방법을 제공하며, 여기서 방법은 서열식별번호: 11의 아미노산 서열을 갖는 LCVR 및/또는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 코딩하는 DNA를 포함하는 포유동물 세포를 항체가 발현되도록 하는 조건 하에 배양하고, 발현된 항체를 회수하는 것을 포함한다. 본 발명은 바로 위에 기재된 바와 같은 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 항체를 포함한다.

[0027]

또 다른 실시양태에서, 본 발명은 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 LC 및 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 HC를 포함하는 항체의 생산 방법을 제공하며, 여기서 방법은 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 LC 및/또는 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 HC를 코딩하는 DNA를 포함하는 포유동물 세포를 항체가 발현되도록 하는 조건 하에 배양하고, 발현된 항체를 회수하는 것을 포함한다. 본 발명은 바로 위에 기재된 바와 같은 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 항체를 포함한다. 본 발명은 또한 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 LC 및 서열식별번호: 12의 아미노산 서열을 갖는 HC를 포함하는 항체의 생산 방법을 제공하며, 여기서 방법은 서열식별번호: 14의 아미노산 서열을 갖는 LC 및/또는 서열식별번호: 12의 아미노산

서열을 갖는 HC를 코딩하는 DNA를 포함하는 포유동물 세포를 항체가 발현되도록 하는 조건 하에 배양하고, 발현된 항체를 회수하는 것을 포함한다. 본 발명은 바로 위에 기재된 바와 같은 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 항체를 포함한다.

[0028] 본 발명은 2개의 HC 및 2개의 LC를 포함하며, 여기서 각각의 2개의 HC의 아미노산 서열이 서열식별번호: 12이고 각각의 2개의 LC의 아미노산 서열이 서열식별번호: 13인 항체의 생산 방법이며, a) 상기 기재된 바와 같은 본 발명의 포유동물 세포를 항체가 발현되도록 하는 조건 하에 배양하고, b) 발현된 항체를 회수하는 것을 포함하는, 상기 항체의 생산 방법을 포함한다. 본 발명은 바로 위에 기재된 바와 같은 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 항체를 포함한다. 본 발명은 또한 2개의 HC 및 2개의 LC를 포함하며, 여기서 각각의 2개의 HC의 아미노산 서열이 서열식별번호: 12이고 각각의 2개의 LC의 아미노산 서열이 서열식별번호: 14인 항체의 생산 방법이며, a) 상기 기재된 바와 같은 본 발명의 포유동물 세포를 항체가 발현되도록 하는 조건 하에 배양하고, b) 발현된 항체를 회수하는 것을 포함하는, 상기 항체의 생산 방법을 포함한다. 본 발명은 바로 위에 기재된 바와 같은 본 발명의 방법에 의해 수득가능한 항체를 포함한다.

[0029] 본 발명의 항체는 N3pGlu A β 에 결합한다. N3pGlu A β 의 서열은 서열식별번호: 22의 아미노산 서열 및 그의 카르복실 말단 변이체이다. N3pGlu A β 의 카르복실 말단 변이체의 예는 A β _{p3-40} 및 A β _{p3-43}을 포함한다.

[0030] 본원에 사용된 "항체"는 디슬피드 결합에 의해 상호연결된 2개의 중쇄 (HC) 및 2개의 경쇄 (LC)를 포함하는 이 뮤노글로불린 분자이다. 각각의 LC 및 HC의 아미노 말단 부분은 그 안에 함유된 상보성 결정 영역 (CDR)을 통해 항원 인식을 담당하는 가변 영역을 포함한다. CDR은 프레임워크 영역으로 지칭되는 보다 더 보존되어 있는 영역 사이에 배치된다. 본 발명의 항체의 LCVR 및 HCVR 영역 내의 CDR 도메인에 대한 아미노산의 배정은 널리 공지된 카바트 넘버링 규정 (Kabat, et al., Ann. NY Acad. Sci. 190:382-93 (1971); Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242 (1991)); 및 노스 넘버링 규정 (North et al., A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations, Journal of Molecular Biology, 406:228-256 (2011))에 기초한다.

[0031] 본 발명의 항체는 카파 LC 및 IgG HC를 포함한다. 특정한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 IgG1이다.

[0032] 본 발명의 항체는 모노클로날 항체 ("mAb")이다. 모노클로날 항체는, 예를 들어 하이브리도마 기술, 재조합 기술, 파지 디스플레이 기술, 합성 기술, 예를 들어 CDR 그라프팅, 또는 이러한 기술 또는 관련 기술분야에 공지된 다른 기술의 조합에 의해 생산될 수 있다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 항체 또는 이를 코딩하는 핵산은 단리된 형태로 제공된다. 본원에 사용된 용어 "단리된"은 자연에서 발견되지 않고 세포 환경에서 발견되는 다른 거대분자 종이 없거나 실질적으로 없는 단백질, 펩티드 또는 핵산을 지칭한다. 본원에 사용된 "실질적으로 없는"은 관심 단백질, 펩티드 또는 핵산이 존재하는 거대분자 종의 80% 초과 (물 기준), 바람직하게는 90% 초과, 및 보다 바람직하게는 95% 초과를 구성하는 것을 의미한다.

[0033] 항체의 발현 및 분비 후에, 배지를 정화하여 세포를 제거하고, 정화된 배지를 다수의 통상적으로 사용되는 기술 중 임의의 것을 사용하여 정제한다. 정제된 항체를 비경구 투여, 특히 피하, 척수강내 또는 정맥내 투여를 위한 단백질 및 항체를 제제화하는 널리 공지된 방법에 따라 제약 조성물로 제제화할 수 있다. 항체를 적절한 제약상 허용되는 부형제와 함께 동결건조시킨 다음, 이후 사용 전에 수계 희석제로 재구성할 수 있다. 대안적으로, 항체를 수용액 중에 제제화하고, 사용 전에 최대 1 - 3년 동안 보관할 수 있다. 어느 경우든, 항체의 제약 조성물의 보관 형태 및 주사 형태는 항체 이외의 성분인 제약상 허용되는 부형제 또는 부형제들을 함유할 것이다. 성분이 제약상 허용되는지 여부는 제약 조성물의 안전성 및 유효성, 또는 순도 및 효력에 대한 그의 효과에 좌우된다. 성분이 안전성 또는 유효성에 대해 (또는 순도 또는 효력에 대해), 인간에게 투여하기 위한 조성물에 사용하지 않는 것을 정당화하기에 충분히 불리한 효과를 갖는 것으로 판단되는 경우, 그것은 항체의 제약 조성물에 사용되기에 제약상 허용되지 않는 것이다.

[0034] 본 발명의 항체를 포함하는 제약 조성물은 비경구 경로 (예를 들어, 피하, 정맥내, 복강내, 근육내)에 의해 본원에 기재된 바와 같은 질환 또는 장애의 위험이 있거나 이를 나타내는 환자에게 투여될 수 있다. 피하 및 정맥내 경로가 바람직하다. 본 발명의 제약 조성물은 본 발명의 항체의 "유효"량을 함유한다. 유효량은 목적하는 치료 결과를 달성하는데 (투여량에서 및 투여 기간 동안 및 투여 수단에 대해) 필요한 양을 지칭한다. 항체의 유효량은 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 개체에서 목적하는 반응을 도출하는 항체의 능력과 같은 인자에 따라 달라질 수 있다. 유효량은 담당 진단자 또는 건강 관리 전문가가 관련 기술분야의 통상의 기술자로서 공지된 기술을 사용하고 결과를 관찰함으로써 용이하게 결정될 수 있다. 투여 빈도는 인간에서의 실제 약동학 및 약역학에 좌우된다. 치료 지속기간은 많은 인자에 따라 달라질 것이고, 관련 기술분야의 경험 및 기

술에 기초하여 환자의 진단자 또는 치료 건강 관리 제공자에 의해 결정될 것이다. 치료의 빈도 및 지속기간은 적응증별로 달라질 수 있다. 용어 "치료", "치료하는" 또는 "치료하다" 등은 환자에서 기준 증상, 상태, 질환 또는 장애의 진행 또는 중증도를 제한하거나, 늦추거나 또는 정지시키는 것을 포함한다. 용어 "환자"는 인간을 지칭한다. 용어 "예방하다" 및 "예방하는"은 무증상 환자가 신경변성 질환, 예컨대 AD의 증상 또는 임상 특색을 갖지 않도록 상기 무증상 환자에 대한 본 발명의 항체의 예방적 투여를 의미한다.

[0035] 용어 "A β 의 침착을 특징으로 하는 상태"는 병리학적으로 뇌 또는 뇌 혈관계 내의 A β 침착물을 특징으로 하는 질환이다. 이는 알츠하이머병, 다운 증후군, 및 뇌 아밀로이드 혈관병증과 같은 질환을 포함한다. 알츠하이머병의 임상 진단, 병기결정 또는 진행은 담당 진단자 또는 건강 관리 전문가가 관련 기술분야의 통상의 기술자로서 공지된 기술을 사용함으로써 및 결과를 관찰함으로써 용이하게 결정될 수 있다. 이는 일반적으로 일부 형태의 뇌 플라크 영상화, 정신 또는 인지 평가 (예를 들어, 임상 치매 등급 - 박스 총점 (CDR-SB), 간이-정신 상태 검사 (MMSE) 또는 알츠하이머병 평가 척도-인지 (ADAS-Cog)) 또는 기능 평가 (예를 들어, 알츠하이머병 협동 연구-일상 생활 활동 (ADCS-ADL))를 포함한다. 본원에 사용된 "임상 알츠하이머병"은 진단 병기의 알츠하이머병이다. 이는 전구 알츠하이머병, 경도 알츠하이머병, 중등도 알츠하이머병 및 중증 알츠하이머병으로서 진단된 상태를 포함한다. 용어 "전임상 알츠하이머병"은 임상 알츠하이머병에 선행하는 병기이며, 여기서 바이오마커 (예컨대 CSF A β 42 수준 또는 아밀로이드 PET에 의한 침착된 뇌 플라크 로드)에서의 측정가능한 변화는 임상 알츠하이머병으로 진행되는 알츠하이머 병리상태를 갖는 환자의 가장 초기의 징후를 나타낸다. 이는 통상적으로 기억 상실 및 혼란과 같은 증상이 두드러지기 전이다.

[0036] 하기 실시예 및 검정은 본 발명의 항체가 A β 의 침착을 특징으로 하는 질환, 예컨대 알츠하이머병, 다운 증후군 및 CAA의 치료에 유용하다는 것을 입증한다. 그러나, 하기 실시예는 예시로서 제시된 것이지 제한하고자 하는 것이 아니며, 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 다양한 변형이 이루어질 수 있다는 것이 이해되어야 한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0037] 실시예

[0038] 조작된 N3pGlu A β 항체의 발현 및 정제

[0039] 본 발명의 N3pGlu A β 항체는 본질적으로 하기와 같이 발현 및 정제할 수 있다. 서열식별번호: 13 또는 14의 LC 아미노산 서열을 코딩하는 DNA 서열 및 서열식별번호: 12의 HC 아미노산 서열을 코딩하는 DNA 서열을 함유하는 글루타민 신테타제 (GS) 발현 벡터를 사용하여 전기천공에 의해 차이니즈 햄스터 난소 세포주 (CHO)를 형질감염시킨다. 발현 벡터는 SV 초기 (원숭이 바이러스 40E) 프로모터 및 GS에 대한 유전자를 코딩한다. 형질감염 후, 0-50 μ M L-메티오닌 술폐시민 (MSX)을 사용하여 세포를 별크 선택한다. 이어서, 선택된 별크 세포 또는 마스터 웰을 생산에 사용하기 위해 무혈청 혼탁 배양물 중에서 규모 확대시킨다.

[0040] 항체가 분비된 정화된 배지를 상용 완충제, 예컨대 포스페이트 완충 염수 (pH 7.4)로 평형화된 단백질 A 친화성 칼럼에 적용한다. 칼럼을 1 M NaCl로 세척하여 비특이적 결합 성분을 제거한다. 결합된 N3pGlu A β 항체를, 예를 들어 pH (대략) 3.5에서의 시트르산나트륨으로 용리시키고, 분획을 1 M 트리스 완충제로 중화시킨다. N3pGlu A β 항체 분획을, 예컨대 SDS-PAGE 또는 분석용 크기-배제에 의해 검출한 다음, 풀링한다. 본 발명의 N3pGlu A β 항체를 pH 7.4에서의 PBS 완충제 또는 pH 약 6에서의 10 mM Na시트레이트 완충제, 150 mM NaCl 중에서 농축시킨다. 최종 물질은 통상적인 기술을 사용하여 멸균 여과할 수 있다. N3pGlu A β 항체의 순도는 95% 초과이다. 본 발명의 N3pGlu A β 항체는 -70°C에서 즉시 동결시키거나 또는 4°C에서 수개월 동안 보관할 수 있다. 본 발명의 예시된 항체의 아미노산 서열식별번호가 하기에 제시된다.

[0041]

표 1. 예시된 N3pGlu A β 항체의 아미노산 서열.

항체 SEQ ID NO				
항체	경쇄	중쇄	LCVR	HCVR
201c	13	12	10	9
201cYD	14	12	11	9

항체 SEQ ID NO			
항체	LCDR1	LCDR2	LCDR3
201c	4	6	8
201cYD	5	7	8

항체 SEQ ID NO			
항체	HCDR1	HCDR2	HCDR3
201c 및 201cYD	1	2	3

[0042]

[0043] 결합 동역학 및 결합력

[0044]

pE3-42 A β 웨티드에 대한 N3pGlu A β 항체의 결합 동역학 및 결합력은 비아코어(Biacore)®3000 (지이 헬스케어(GE Healthcare))을 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정한다. 결합 결합력은 비아코어® CM5 칩 상에서 아민 커플링을 통해 약 120 RU pE3-42 A β 웨티드를 고정화시키고, N3pGlu A β 항체를 500 nM로부터 시작하여 15.6 nM까지 2배 연속 희석물로 유동시킴으로써 측정한다. 실험은 HBS-EP 완충제 (지이 헬스케어 BR100669; 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 3 mM EDTA, 0.05% 계면활성제 P20, pH 7.4) 중에서 25°C에서 수행한다. 각각의 사이클에 대해, 250 μ L 항체 샘플을 유동 셀 1 및 2를 통해 50 μ l/분으로 유동시킨 다음, 10분 동안 해리시킨다. pH 1.5에서의 글리신 완충제 5 μ L를 10 μ L/mL 유량으로 주입하여 칩 표면을 재생시킨다. 데이터를 1:1 행렬에 결합 모델에 피팅시켜 k_{on} , k_{off} 를 유도하고 K_D 를 계산한다. 본질적으로 상기 기재된 바와 같은 절차에 따라, 하기 파라미터 (표 2에 제시됨)를 관찰하였다.

[0045]

표 2. 결합 동역학 및 결합력.

항체		k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (M)
201c	평균	1.64E+03	6.98E-05	4.57E-08
	S. D.	3.88E+02	1.36E-05	2.06E-08
201cYD	평균	2.41E+03	6.39E-05	2.67E-08
	S. D.	2.01E+02	2.15E-06	2.61E-09

[0046]

[0047] 이들 데이터는 본 발명의 항체가 pE3-42 A β 에 결합한다는 것을 입증한다.

[0048] 생체외 표적 결합

[0049]

고정된 PDAPP 뇌로부터의 뇌 절편에 대한 생체외 표적 결합을 결정하기 위해, 외인성으로 첨가되는 본 발명의 N3pGlu A β 항체 또는 201c H3B 항체를 사용하여 면역조직화학적 분석을 수행한다. 201c H3B 항체는 201c 항체와 1개의 아미노산이 상이하고, 이러한 차이는 중쇄 HCDR3에 위치한다 (201c HCDR3 내의 위치 10에서의 Tyr은 201c H3B에서 Phe임). 201c H3B 항체는 서열식별번호: 20으로 주어진 중쇄 아미노산 서열 및 서열식별번호: 13으로 주어진 경쇄 아미노산 서열을 포함한다.

[0050]

노령 PDAPP 마우스 (26 또는 20개월령)로부터의 저온유지 연속 관상 절편을 본 발명의 예시된 N3pGlu A β 항체 (201c 또는 201cYD) 5 μ g/mL 또는 20 μ g/mL와 함께 인큐베이션한다. 인간 IgG에 특이적인 2차 HRP 시약을 사용하고, 침착된 플라크를 DAB-플러스 (다코(DAKO))로 가시화한다. 비오티닐화된 뮤린 3D6 항체에 이어서 단계-HRP 2차를 양성 대조군으로서 사용한다.

- [0051] 본 발명의 예시된 N3pGlu A β 항체는 이를 뇌 절편 내의 침착된 A β 를 표지하였다. 그러나, 외인성 20 μ g/ml 농도에서의 201c H3B 항체에 대해서는 더 높은 배경 염색이 관찰되었다. 이들 조직학적 연구는 본 발명의 예시된 N3pGlu A β 항체가 생체외에서 침착된 A β 표적에 결합하였다는 것을 입증하였다.
- [0052] 생체외 식세포작용
- [0053] 본 발명의 N3pGlu A β 항체가 플라크의 소교 식세포작용을 용이하게 할 수 있는지 여부를 조사하기 위해 생체외 식세포작용 검정을 수행한다. 인간 알츠하이머 뇌로부터의 동결 절편 (20 μ m)을 본 발명의 예시된 N3pGlu A β 항체 (201c 또는 201cYD), 대조군, 또는 201c H3B 항체 10 μ g/mL와 함께 24-웰 플레이트에서 37°C에서 1시간 동안 사전-인큐베이션한다. 처리당 4개의 웰이 존재한다. 이어서, 1차 뮤린 소교 세포 (8×10^5 개; C57/BL6)를 첨가하고, 24시간 동안 인큐베이션한다. 각각의 웰 내의 조직을 5.2 M 구아니딘 완충제 중에서 균질화시키고, A β ₁₋₄₂ 함량을 ELISA에 의해 평가한다. A β 함량은 다수의 절편의 범위에 걸쳐 달라질 수 있기 때문에, 모든 시험 웰에 대해 자매 절편 대조군을 실시하고, 시험 웰의 함량을 자매 절편의 함량에 대해 정규화한다.
- [0054] 양성 대조군 샘플과 비교하여, 본 발명의 예시된 N3pGlu A β 항체 (201c 및 201cYD) 및 201c H3B는 유의하게 감소된 A β ₁₋₄₂를 가졌다. 음성 대조군 샘플은 침착된 A β ₁₋₄₂의 클리어런스가 무시할만하였다. 따라서, 생체외 식세포작용 분석은 본 발명의 예시된 N3pGlu A β 항체가 생체외 식세포작용에 의해 플라크를 클리어링할 수 있다는 것을 나타낸다.
- [0055] 생체내 표적 결합
- [0056] 본 발명의 N3pGlu A β 항체가 생체내에서 혈액-뇌-장벽을 가로질러 침착된 플라크에 결합하는 능력을 측정한다. 노령 PDAPP 트랜스제닉 마우스 (18.5 내지 32개월 연령)에 N3pGlu A β 항체 (201c) 또는 음성 대조군 IgG를 복강내 주사한다. 군당 6마리 마우스에게 제1일 및 제3일에 1회 40 mg/kg의 항체를 주사한다. 제6일에, 조직학적 분석을 위해 마우스를 희생시키고 뇌를 수집할 때 생체내 표적 결합을 결정한다.
- [0057] 생체내 표적 결합의 정도는 자매 절편 상에서 외인성 3D6 항체 면역염색에 의해 규정된 바와 같은 총 플라크 면적에 대해 정규화된 생체내 N3pGlu A β 항체 결합에 대해 양성인 퍼센트 면적으로서 정량화된다 (TE 비). TE 비는 항체에 의해 결합된 면적의 퍼센트를 측정하고, 그 값을 가능한 표적 면적의 총 퍼센트 (자매 절편 상에서 양성 대조군 항체 (3D6)를 사용한 외인성 면역조직화학에 의해 가시화된 총 침착된 A β)에 대해 정규화함으로써 생성된다.
- [0058] 본질적으로 상기 기재된 바와 같은 절차에 따라, 201c 항체는 2.8%의 TE 비를 가졌다. 201c 항체는 해마 내에서 및 피질에서는 제한된 정도로 생체내 표적 결합을 나타냈고, 반면 대조군 IgG를 주사한 동물은 플라크-특이적 염색을 나타내지 않았다.
- [0059] 생체내 플라크 클리어런스
- [0060] 노령 PDAPP 마우스에서 생체내 플라크 클리어런스를 평가하기 위해 뮤린 불변 카파 영역 및 IgG2a Fc에 융합된 201c 또는 201c H3B의 LCVR 및 HCVR을 갖는 키메라 대용 항체를 사용하여 연구를 수행한다. 노령 PDAPP 마우스 (21개월령, 군당 n = 23 내지 25)에게 7주 동안 1주 1회 12.5 mg/kg의 키메라 201c 항체, 키메라 201c H3B 항체 또는 대조군 IgG를 피하로 주사한다. 대조군 노령 PDAPP 마우스 (연구 시작 시에 희생시킴)를 사용하여 치료적 처리 전에 기준 침착의 수준을 평가한다.
- [0061] 연구 종료 시에, 최종 약물 수준을 혈장에서 측정하고, 뇌를 A β ₁₋₄₂의 수준에 대해 ELISA에 의해 평가한다. 노령 PDAPP 마우스는 대조군 IgG를 사용한 7-주 처리 기간에 걸쳐 A β ₁₋₄₂의 유의하지 않은 추가 증가에 의해 입증되는 바와 같이 플라크 최대 한계에 있다. 201c 키메라 항체 군 및 201c H3B 키메라 항체 군은 대조군과 비교하여 A β ₁₋₄₂의 유의한 감소를 나타낸다 (각각, 26%, p < 0.0182 및 26%, p = 0.0121). 항체 노출 수준을 7-주 투여 기간 종료 시에 측정하였으며, 201c 키메라는 91 μ g/mL의 수준을 가졌고, 201c H3B는 56 μ g/mL의 수준을 가졌다. 본 연구는 예시된 키메라 N3pGlu A β 항체 201c가 생체내에서 플라크 (A β ₁₋₄₂)를 낮출 수 있다는 것을 입증하였다.
- [0062] 저친화도 혈장 결합의 결여
- [0063] 본 발명의 항-N3PG 항체 (201c 및 201cYD)와 혈장 단백질과의 잠재적 저친화도 상호작용을 조사하기 위해 시험관내 연구를 수행한다. 항체 201c, 201cYD 또는 201c H3B를 세파로스 비드에 공유 커플링시키고, 37°C에서 2시

간 동안 10 m1의 정상 인간 혈장과 함께 인큐베이션한 후, 칼럼 크로마토그래피를 수행한다. 비드/혈장 혼합물을 칼럼에 채우고 세척하였다. 선택적으로 결합된 단백질을 글리신 (pH 2.5)에 의해 상이한 분획으로 용리시킨다. 이어서, 각각의 분획을 고해상도 소듐 도데실 솔레이트 (SDS)-폴리아크릴아미드 겔 전기영동 (PAGE) 구배 겔 (4%에서 16%) 상에서 분석한다. 은 염색을 사용하여 단백질을 가시화하고, 관심 밴드를 절제하고, 질량 분광측정법에 의해 분석하였다. 병행하여, 다수의 대조군 인간 IgG1 항체를 분석한다.

[0064] 본질적으로 상기 기재된 바와 같은 절차에 따라, 은 염색된 겔의 가시화는 대조군 IgG1 항체와 비교하여 201c H3B 항체 용리로부터의 분획-5에서 히스티딘 풍부 당단백질 (~64kDa 밴드), 피브리노겐 알파-쇄 (~60kDa 밴드), 및 피브리노겐 베타-쇄 (~50kDa 밴드)의 존재를 입증하였다. 반대로, 201c 및 201cYD 항체는 대조군 IgG 및 201c H3B 항체와 비교하여 인간 혈장 단백질에 대한 저친화도 결합이 주목할만하게 결여되어 있었다.

[0065] 생체외 T-세포 증식 에피스크린(EpiScreen) 검정

[0066] 에피스크린® 생체외 인간 T-세포 검정을 사용하여, 본 발명의 예시된 N3pGlu A β 항체 (201c) 또는 201c H3B 항체에 반응한 인간 CD4+ T 세포의 활성화 (증식, 시토카인 분비)를 측정한다. 에피스크린®은 유럽/북미 및 세계 집단에서 발현된 HLA-DR 및 DQ 동종이형의 수 및 빈도를 가장 잘 나타내는 50명의 건강한 공여자로부터의 샘플을 이용한다. 다음 2가지 양성 대조군이 검정에 포함된다: 임상에서 높은 수준의 면역원성 (73%)을 보여주고 에피스크린® 검정에서 통상 20-30% T-세포 반응을 유도하는 임상 벤치마크 항체인 인간화 A33, 및 네오항원을 함유하는 미토겐-유사 단백질인 KLH (키홀 립펫 혜모시아닌). 매칭되는 완충제 음성 대조군이 또한 검정에 포함된다.

[0067] T-세포 증식 퍼센트는 시간 경과 (제5일-제8일) 동안 관찰된 모든 양성 공여자 반응의 평균으로부터 계산된다. T-세포 증식 퍼센트는 양성 대조군 A33 및 KLH에 대해 각각 20% 및 94%였고, 201c H3B에 대해 24%였다. 그러나, 201c에 대해 T-세포 증식 퍼센트는 10%였다. 이들 데이터는 201c 항체가 양성 대조군 및 201c H3B 항체와 비교하여 낮은 T-세포 반응률을 갖는다는 것을 입증한다.

[0068] 인 실리코 면역원성 분석

[0069] 에피매트릭스(EpiMatrix)® 검정은 잠재적 T-세포 에피토프에 대한 단백질 서열을 스캐닝하고, 면역원성을 예측하기 위한 알고리즘을 사용한다. 이는 또한 트레지토프 함량 및 면역원성 반응의 음성 조절에 대한 효과를 고려한다. 항체 201c, 201cYD 및 B12L의 아미노산 서열 (항체 B12L은 서열식별번호: 23으로 주어진 중쇄 및 서열식별번호: 24로 주어진 경쇄를 포함함)을 에피매트릭스®에 의해 분석하였다. 에피매트릭스® 예측 점수가 하기 표 3에 제시된다.

[0070] 표 3. 에피매트릭스® 점수.

항체	에피매트릭스 단백질 점수	트레지토프-조정된 에피매트릭스 단백질 점수	예측된 T-의존성 Ab 반응
201c	39.14	-35.49	0.28%
201cYD	24.76	-49.87	0.00%
B12L	0.44	-17.92	4.03%

[0071]

[0072] 이들 데이터는 예측된 T 세포-의존성 항체 반응이 B12L 항체와 비교하여 본 발명의 N3pGlu A β 항체 (201c 및 201cYD)에 대해 더 낮다는 것을 입증한다.

[0073] 항-약물 항체 (ADA) 인식의 결여

[0074] LY3002813 항체에 대해 지시된 항-약물 항체가 201c 또는 201cYD에 결합할 수 있는지 여부를 평가하기 위해 비오틴 및 루테늄 표지된 201c 또는 비오틴 및 루테늄 표지된 201cYD를 사용하여 친화도 포획 용리 (ACE) 가교 검정을 수행한다.

[0075] 이러한 검정 포맷에서, ADA는 2종의 표지된 항체 (예를 들어 비오틴 및 루테늄 표지된 201c) 사이를 가교한다. 이어서, 복합체는 스트렙타비딘으로 코팅된 플레이트에 결합하고 (비오틴-표지된 항체를 통해), 검출은 루테늄을 사용하여 메소스케일 플랫폼에서 신호를 생성한다. ADA가 201c 또는 201cYD 항체를 인식하지 않는 경우, 신호는 생성되지 않을 것이다. 토끼 항-인간 IgG는 대부분 Fc에 우선적으로 결합할 가능성이 있고, 표지된 201c

또는 201cYD가 항체에 결합할 수 있다는 것을 나타내기 위해 양성 대조군으로서 사용된다.

[0076] LY3002813에 대해 지시된 항체는 LY3002813 투여 후 임상 시험 (I5T-MC-AACC NCT01837641)으로부터의 2개의 환자 샘플로부터 친화도 정제된 항체를 포함한다. 이들 환자는 ACE 가교에서 양성 결합 신호에 의해 나타난 바와 같이 시간 경과에 따라 LY3002813에 대해 ADA 반응을 발생시켰다.

[0077] 본질적으로 상기 기재된 바와 같은 절차에 따라, LY3002813에 대해 지시된 항체에 대한 201c 또는 201cYD의 결합을 검출했을 때 배경을 초과하는 신호는 관찰되지 않았다. 이들 데이터는 인간에서 LY3002813에 대해 지시된 ADA가 201c 및 201cYD를 인식하지 않는다는 것을 입증한다.

[0078] 서열

[0079] 항체 201c, 항체 201cYD, 및 항체 201c H3B HCDR1 (서열식별번호: 1)

AASGFTFSSYPMS

[0081] 항체 201c, 항체 201cYD, 및 항체 201c H3B HCDR2 (서열식별번호: 2)

AISGSGGSTYYADSVKG

[0083] 항체 201c 및 항체 201cYD HCDR3 (서열식별번호: 3)

AREGGSGSYYNGFDY

[0085] 항체 201c 및 항체 201c H3B LCDR1 (서열식별번호: 4)

RASQSLGNWLA

[0087] 항체 201cYD LCDR1 (서열식별번호: 5)

RASQSLGNYLA

[0089] 항체 201c 및 항체 201c H3B LCDR2 (서열식별번호: 6)

YQASTLES

[0091] 항체 201cYD LCDR2 (서열식별번호: 7)

YDASTLES

[0093] 항체 201c, 항체 201cYD, 및 항체 201c H3B LCDR3 (서열식별번호: 8)

QHYKGSFWT

[0095] 항체 201c 및 항체 201cYD HCVR (서열식별번호: 9)

**EVLLESGGGLVQPGSRLSCAASGFTFSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYNN
GFDYWGQGTIVTVSS**

[0096]

[0097] 항체 201c 및 항체 201c H3B LCVR (서열식별번호: 10)

**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSLGNWLAWYQQKPGKAPKLLIYQASTLE
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK**

[0098]

[0099] 항체 201cYD LCVR (서열식별번호: 11)

**DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSLGNYLAWYQQKPGKAPKLLIYDASTLE
SGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYCQHYKGSFWTFGQGTKVEIK**

[0100]

[0109] 서열식별번호: 13의 항체 경쇄를 발현하는 예시된 DNA (서열식별번호: 16)

gacatccagatgacecagtcctccaccctgtcgcatctgttaggagacagagtcacccatcacttgccggccagtcagagtc
tggtaactgggtggcctggtatcageagaaaaccaggaaagccccctaaactctcgatctacaggcgctactttagaactctggg
tcccatcaagattcagcggcagtggtactgggacagagttcacccatcaccatcagcagctgcgcctgtatgaffttgcaacttatt
actgccaacattataaagggtcttttggacgttcggccaagggaccaagggtggaaatcaaacggaccgtggctgeaccatctgc
ttcatcttcccgccatctgtatgagcagtggaaatctggactgcctctgtgtgcctgtgaataacttctatcccagagaggcca
aagtacagtggaaagggtggataacgcctccaatcggtactccaggaggtgtcacagagcaggacagcaaggacagca
cctacagcctcagcagcaccctgacgcgtgagcaaagcagactacgagaaacacaaaagtctacgcctgcgaagtcacccatca
ggccctgagctcggccgtcacaagagcttcaacagggagagtgc

[0110]

[0111] 서열식별번호: 14의 항체 경쇄를 발현하는 예시된 DNA (서열식별번호: 17)

gacafccagatgaccaggctccaccctgtcgcatctgttaggagacagagtcacccatcacttgccggccagtcagagtc
tggtaactatttggcctggatcagcagaaaaccaggaaagccccctaaactctgtatctatgtgtgcctgtgaataacttctatctggg
ccatcaagattcagcggcagttgtggacagatctggactccatcaccatcagcagctgcgcctgtatgttttgcacttatt
ctgccttccggccatctgtatgagcagtggaaatctggactgcctctgtgtgcctgtgaataacttctatcccagagaggcca
teatcttccggccatctgtatgagcagtggaaatctggactgcctctgtgtgcctgtgaataacttctatcccagagaggcca
agttacagtggaaagggtggataacgcctccaatcggtactccaggaggtgtcacagagcaggacagcaaggacagcac
ctacagcctcagcagcaccctgacgcgtgagcaaagcagactacgagaaacacaaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcag
ggccctgagctcggccgtcacaagagcttcaacagggagagtgc

[0112]

[0113] 항체 201c H3B HCDR3 (서열식별번호: 18)

AREGGSGSYFNGFDY

[0115]

항체 201c H3B HCVR (서열식별번호: 19)

EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYFNG
FDYWGQGTLVTIVSS

[0116]

[0117] 항체 201c H3B 중쇄 (서열식별번호: 20)

EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTSSYPMSWVRQAPGKGLEWVSAISGS
GGSTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAREGGSGSYFNG
FDYWGQGTLVTIVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFPEPVTVSW
NSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSVVTVPSSLGTQTYICNVNHPNTKVDK
KVEPKSCDKTHTCPVPAPELLGGPSVFLFPPKPDKTLMISRTPEVTCVVVDVSHE
DPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHE
ALHNHYTQKSLSLSPG

[0118]

- [0119] 서열식별번호: 20의 항체 중쇄를 발현하는 예시된 DNA (서열식별번호: 21)

- [0120]

- [0121] N3pGlu A β (서열식별번호: 22)

[pE]FRHD8GYEVHHQKLVFAEDVGSNKGAIIGLMVGGVIA

- [0123]

- [0123] 항체 B12L 중쇄 (서열식별번호: 23)

QVQLVQSGAEVKPGSSVKVSKASGYDFTRYYINWVRQAPGQGLEWMGWINP
GSGNTKYNEKFKGRTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAREGITVYWQG
GTTVTSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTSWNSGALT
SGVHTFPAVLQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYCNCVNHKPSNTKVDKKVEPKS
CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKE
NWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA
LPAPIEKTIASKAQQPREGVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY
TQKSLSLSPG

- [0124]

- [0125] 항체 B12L 경쇄 (서열식별번호: 24)

DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLLYSRGKTYLNWLLQKPGQSPQLIYAV
SKLDSGVPDRFSGSGTDFTLKISRVEADVGVYYCVQGTHYPFTFGQGTKLEI
KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ
ESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> Eli Lilly and Company

<120> ANTI-N3pGlu AMYLOID BETA PEPTIDE ANTIBODIES AND USES THEREOF

<130> X21357

<140> 62/487550

<141> 2017-04-20

<160> 24

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic construct

<400> 1

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Pro Met Ser

1	5	10
---	---	----

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

><223> Synthetic construct

<400> 2

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Gly

<210> 3

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 3

Ala Arg Glu Gly Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Gly Phe Asp Tyr

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 4

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Asn Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 5

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 5

Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 6

Tyr Gln Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 7

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 7

Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser

1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 8

Gln His Tyr Lys Gly Ser Phe Trp Thr

1 5

<210> 9

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Gly Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Gly Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Gly Ser Phe Trp

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 11

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 11

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Gly Ser Phe Trp

85	90	95	
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
100	105		
<210> 12			
<211> 451			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Synthetic Construct			
<400> 12			
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly			
1	5	10	15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr			
20	25	30	
Pro Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val			
35	40	45	
Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
85	90	95	
Ala Arg Glu Gly Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Gly 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	

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
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
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 Asp Glu Leu 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
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 Gly

450

<210> 13

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 13

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Gly Ser Phe Trp

85	90	95
----	----	----

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

100	105	110
-----	-----	-----

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

115	120	125
-----	-----	-----

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

130	135	140
-----	-----	-----

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

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

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

165	170	175
-----	-----	-----

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 14

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 14

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Gly Asn Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Lys Gly Ser Phe Trp

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 15

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 15

gagggtgcagc tttggagtc tgggggaggc ttggtagc cttgggggtc cctgagactc	60
---	----

tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatccca tgagctgggt ccggcaggct	120
ccagggagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtgttag cacatactac	180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgtgtat	240
ctgcaaatga acagccttag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagagggg	300
ggctcaggga gttattataa cggctttagt tattggggcc agggaaacctt ggtcacccgtc	360
tcctcagccct ccaccaaggg cccatcggtc ttcccgctag caccctccctc caagagcacc	420
tctggggca cagggccctt gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg	480

gtgtcggtt gaaactcaggcgcc cctgaccaggc ggcgtgcaca cttccggc tgtccctacag	540
tcctcaggac tctactccct cagcagcggt gttgaccgtgc cttccagcag cttgggcacc	600
cagaccta tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagtt	660
gagccaaat ctgtgacaa aactcacaca tgcccaccgt gcccaggcacc tgaactcctg	720
gggggaccgt cagtcttccctt cttccccc aaacccaagg acaccctcat gatctccgg	780
acccctgagg tcacatgcgt ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc	840
aactggtaacg tggacggcggt ggaggtgcataatgcaaga caaagccgacggagggcag	900

tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcggtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	960
ggcaaggagt acaagtgcac ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc	1020

atctccaaag ccaaaggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatccgg	1080
gacgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc	1140
gacatcgccg tggagtggaa gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgccc	1200
cccggtctgg actccgacgg ctccttcctc ctctatagca agtcaccgt ggacaagagc	1260
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtatgc atgaggctct gcacaaccac	1320
tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg ggt	1353
<210> 16	
<211> 642	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 16	
gacatccaga tgacctcacc ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc	60
atcacttgcc gggccagtca gagtcttggt aactgggtgg cctggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaaaactcct gatctatcg gcgtctactt tagaatctgg ggtcccatca	180
agattcagcg gcagtggatc tgggacagag ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gatgattttgc caacttatta ctgccaacat tataaagggtt cttttggac gttcggccaa	300
gggaccaagg tggaaatcaa acggaccgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttccgcca	360
tctgatgagc agttgaaatc tgaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat	420
cccgagagg ccaaagtaca gtggaggtg gataacgccc tccaaatcggg taactcccg	480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg	540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtcac ccatcaggc	600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gc	642
<210> 17	
<211> 642	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Synthetic Construct	
<400> 17	
gacatccaga tgacctcacc ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc	60
atcacttgcc gggccagtca gagtcttggt aactattgg cctggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaaaactcct gatctatgtat gcgtctactt tagaatctgg ggtcccatca	180

agattcagcg gcagtggatc tggacagag ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct	240
gatgatttg caacttatta ctgccaacat tataaagggtt cttttggac gttcgccaa	300
gggaccaagg tgaaatcaa acggaccgtg gctgcaccat ctgtcttcat cttccgcca	360
tctgatgagc agttgaaatc tgaaactgcc tctgttgtt gcctgctgaa taactctat	420

cccagagagg ccaaagtaca gtgaaagggtg gataacgccc tccaaatcggg taactcccag	480
gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg	540
ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtca ccatcaggc	600
ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gc	642

<210> 18

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 18

Ala Arg Glu Gly Gly Ser Gly Ser Tyr Phe Asn Gly Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 19

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Glu Gly Gly Ser Gly Ser Tyr Phe Asn Gly Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 20

<211> 451

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 20

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

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

450

<210> 21

<211> 1353

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 21

gaggtgcagc tggggaggc ttggtagc cttgggggtc cctgagactc	60
tcctgtcgag cctctggatt cacctttagc agctatccca tgagctgggt ccggcaggct	120
ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactac	180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat	240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagagagggg	300
ggctcaggga gtatTTAA cggctttat tattggggcc agggAACCTT ggtcacccgc	360
tcctcagccct ccaccaaggg cccatcggtc ttcccgctag caccctccca caagagcacc	420
tctggggca cagccccctt gggctgcctg gtcaaggact acttcccga accggtgacg	480
gtgtcggtga actcaggcgc cctgaccgc ggcgtgcaca cttcccgcc tgtcctacag	540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cttccagcag cttggcacc	600
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagt	660

gagccaaat ctgtgacaa aactcacaca tgcccacgt gcccagcacc tgaactcctg	720
gggggaccgt cagtcttccctt cttccccca aaacccaagg acaccctcat gatctccgg	780
acccctgagg tcacatgcgt ggtgggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagt	840
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag	900
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat	960
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc	1020
atctccaaag ccaaaggcga gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatccgg	1080

gacgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1140
 gacatcgccg tggagtggaa gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgccc 1200
 cccgtgctgg actccgacgg ctccttcttc ctctatagca agtcaccgt ggacaagagc 1260
 aggtggcagc agggAACGT cttctcatgc tccgtatgc atgaggctct gcacaaccac 1320
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctcg ggt 1353

<210> 22

<211> 40

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<220><221> MISC_FEATURE

<

222> (1)..(1)

<223> Xaa at position 1 = pyroglutamic acid

<400> 22

Xaa Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys Leu Val

1 5 10 15

Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile Gly Leu

20 25 30

Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala

35 40

<210> 23

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 23

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Asp Phe Thr Arg Tyr

20 25 30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Gly Ser Gly Asn Thr Lys Tyr Asn Glu Lys Phe

50	55	60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Glu Gly Ile Thr Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr		
100	105	110
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro		
115	120	125
Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val		
130	135	140
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala		
145	150	155
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly		
165	170	175
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly		
180	185	190
Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys		
195	200	205
Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys		
210	215	220
Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu		
225	230	235
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
245	250	255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys		
260	265	270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
275	280	285
Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu		
290	295	300

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335

Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350

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

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430

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

<210> 24

<211>

> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic

<400> 24

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Ser
 20 25 30

Arg Gly Lys Thr Tyr Leu Asn Trp Leu Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Ala Val Ser Lys Leu Asp Ser Gly Val Pro

50	55	60
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile		
65	70	75
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Gly		
85	90	95
Thr His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys		
100	105	110
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
115	120	125
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
130	135	140
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
145	150	155
160		
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
165	170	175
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
180	185	190
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
195	200	205
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
210	215	