



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0022246  
(43) 공개일자 2023년02월14일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 16/2827 (2013.01)  
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2023-7001331
- (22) 출원일자(국제) 2021년07월14일  
심사청구일자 2023년01월12일
- (85) 번역문제출일자 2023년01월12일
- (86) 국제출원번호 PCT/IB2021/056346
- (87) 국제공개번호 WO 2022/013775  
국제공개일자 2022년01월20일
- (30) 우선권주장  
63/053,243 2020년07월17일 미국(US)

- (71) 출원인  
화이자 인코포레이티드  
미국 뉴욕주 10017 뉴욕 이스트 42번 스트리트 235
- (72) 발명자  
아프가르, 제임스 리즈너  
미국 02139 매사추세츠 케임브리지 메인 스트리트 610 화이자 인코포레이티드 내  
후퍼, 앤드리아 테레즈  
미국 10573 뉴욕 포트 체스터 우드랜드 드라이브 52  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 53 항

(54) 발명의 명칭 치료 항체 및 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 B7-H4 (B7 상동성 4, 유전자 VTCN1에 의해 코딩됨)에 특이적으로 결합하는 항체 및 B7-H4 및 CD3 (분화 클러스터 3) 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체, 및 폴리뉴클레오티드, 제약 조성물 및 그의 방법 및 용도에 관한 것이다.

대표도 - 도1

EU 다펠러프 스템을 사용한 항-B7-H4, 항-CD3 및 아레형 인간 IgG2, IgG1 및 IgG4 중쇄 분변 영역의 정렬

118	128	138	148	158	168				
B7-H4	ASTNGKGVFF	LAPCSKSTSE	STAAAGCLWK	DYFPEPVTS	WNSGALISQV	HTFPFWLQSS			
CD3	ASTNGKGVFF	LAPCSKSTSE	STAAAGCLWK	DYFPEPVTS	WNSGALISQV	HTFPFWLQSS			
IgG1	ASTNGKGVFF	LAPCSKSTSE	STAAAGCLWK	DYFPEPVTS	WNSGALISQV	HTFPFWLQSS			
IgG4	ASTNGKGVFF	LAPCSKSTSE	STAAAGCLWK	DYFPEPVTS	WNSGALISQV	HTFPFWLQSS			
178	188	198	208	218	223	225	228	231	237
B7-H4	GLSLSLQVTV	VSSSNFQIT	YTCWVHRRS	NTAVKRVTR	RC---	EV	PCF	PCF	APFAV-GRSVF
CD3	GLSLSLQVTV	VSSSNFQIT	YTCWVHRRS	NTAVKRVTR	RC---	EV	PCF	PCF	APFAV-GRSVF
IgG1	GLSLSLQVTV	VSSSNFQIT	YTCWVHRRS	NTAVKRVTR	RC---	EV	PCF	PCF	APFAV-GRSVF
IgG4	GLSLSLQVTV	VSSSLGTRK	YTCWVHRRS	NTAVKRVTR	KSCIK	TH	TCF	PCF	APFELG-GRSVF
242	252	265	272	282	292				
B7-H4	LFFPFRKDTL	MLRPFKPTC	VVAVGSHQD	EVQFWVYDG	VEVDAVNTKP	REQVNSITFR			
CD3	LFFPFRKDTL	MLRPFKPTC	VVAVGSHQD	EVQFWVYDG	VEVDAVNTKP	REQVNSITFR			
IgG1	LFFPFRKDTL	MLRPFKPTC	VVAVGSHQD	EVQFWVYDG	VEVDAVNTKP	REQVNSITFR			
IgG4	LFFPFRKDTL	MLRPFKPTC	VVAVGSHQD	EVQFWVYDG	VEVDAVNTKP	REQVNSITFR			
302	312	322	330/331	342	362				
B7-H4	WVSLVYVRL	DWLMGKRYC	KVSNGLLPS	IKRTISKTRG	QPREPQVITL	PPSRSDMTN			
CD3	WVSLVYVRL	DWLMGKRYC	KVSNGLLPS	IKRTISKTRG	QPREPQVITL	PPSRSDMTN			
IgG1	WVSLVYVRL	DWLMGKRYC	KVSNGLLPS	IKRTISKTRG	QPREPQVITL	PPSRSDMTN			
IgG4	WVSLVYVRL	DWLMGKRYC	KVSNGLLPS	IKRTISKTRG	QPREPQVITL	PPSRSDMTN			
362	372	382	392	402	409	412			
B7-H4	QVSLCLVNG	FYFSDIAYEW	ESNGQPNNTY	KTFPVELDSD	GSFFLISKLT	VQSKRWQDGR			
CD3	QVSLCLVNG	FYFSDIAYEW	ESNGQPNNTY	KTFPVELDSD	GSFFLISKLT	VQSKRWQDGR			
IgG1	QVSLCLVNG	FYFSDIAYEW	ESNGQPNNTY	KTFPVELDSD	GSFFLISKLT	VQSKRWQDGR			
IgG4	QVSLCLVNG	FYFSDIAYEW	ESNGQPNNTY	KTFPVELDSD	GSFFLISKLT	VQSKRWQDGR			
4	22	432	442						
B7-H4	VFSSCSMEEA	LARHFTYKSL	SLSLGR	SEQ ID NO: 177	이중 연중				
CD3	VFSSCSMEEA	LARHFTYKSL	SLSLGR	SEQ ID NO: 178	이중이중체 안정화 돌연변이				
IgG1	VFSSCSMEEA	LARHFTYKSL	SLSLGR	SEQ ID NO: 208	신선 돌연				
IgG1	VFSSCSMEEA	LARHFTYKSL	SLSLGR	SEQ ID NO: 209	PC-지표의 돌연변이				
IgG4	VFSSCSMEEA	LARHFTYKSL	SLSLGR	SEQ ID NO: 210					

(52) CPC특허분류

**C07K 16/2809** (2013.01)  
*A61K 2039/505* (2013.01)  
*C07K 2317/31* (2013.01)  
*C07K 2317/33* (2013.01)  
*C07K 2317/34* (2013.01)  
*C07K 2317/73* (2013.01)  
*C07K 2317/92* (2013.01)  
*C07K 2317/94* (2013.01)

**우, 레이**

미국 10025 뉴욕 뉴욕 웨스트 나인티피프쓰 스트리트 175 #11에이

(72) 발명자

**노쿨라-루고우스카, 말고르자타 아그니에즈카**

미국 02139 매사추세츠 케임브리지 메인 스트리트  
610 화이자 인코포레이티드 내

---

**명세서**

**청구범위**

**청구항 1**

(a) 서열식별번호: 23, 서열식별번호: 155, 서열식별번호: 156, 서열식별번호: 157, 서열식별번호: 159, 서열식별번호: 161, 서열식별번호: 163, 서열식별번호: 165, 서열식별번호: 169, 서열식별번호: 171, 서열식별번호: 172, 서열식별번호: 173, 서열식별번호: 174, 서열식별번호: 175 및 서열식별번호: 176으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (VH)의 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1 (CDR1), VH CDR2 및 VH CDR3; 및

(b) 서열식별번호: 27, 서열식별번호: 139, 서열식별번호: 141, 서열식별번호: 167, 서열식별번호: 168, 서열식별번호: 169 및 서열식별번호: 170으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (VL)의 VL 상보성 결정 영역 1 (CDR1), VL CDR2 및 VL CDR3

을 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

**청구항 2**

제1항에 있어서,

- (a) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (b) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (c) 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (d) 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (e) 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (f) 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (g) 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (h) 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (i) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (j) 서열식별번호: 163의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (k) 서열식별번호: 165의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (l) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (m) 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (n) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (o) 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (p) 서열식별번호: 173의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (q) 서열식별번호: 174의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (r) 서열식별번호: 175의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (s) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 168의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (t) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 169의 아미노산 서열을 갖는 VL;
- (u) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 170의 아미노산 서열을 갖는 VL; 또는

(v) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL  
을 포함하는 항체로부터의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 항체.

### 청구항 3

제1항에 있어서,

(a) 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3;

(b) 서열식별번호: 205의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3;

(c) 서열식별번호: 206의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 207의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3;

(d) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3;

(e) 서열식별번호: 199의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3;

(f) 서열식별번호: 200의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 201의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3;

(g) 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 152의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3;

(h) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; 또는

(i) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 130의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3

을 포함하는 항체.

### 청구항 4

서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

### 청구항 5

제1항에 있어서,

(a) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL;

(b) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;

- (c) 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (d) 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (e) 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (f) 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH; 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (g) 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (h) 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (i) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (j) 서열식별번호: 163의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (k) 서열식별번호: 165의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (l) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (m) 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (n) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (o) 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (p) 서열식별번호: 173의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (q) 서열식별번호: 174의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (r) 서열식별번호: 175의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (s) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 168의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (t) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 169의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (u) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 170의 아미노산 서열을 갖는 VL; 또는
  - (v) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL
- 을 포함하는 항체.

**청구항 6**

서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

**청구항 7**

서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

**청구항 8**

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 불변 영역을 추가로 포함하는 항체.

**청구항 9**

제8항에 있어서, 불변 영역이 IgG1 또는 IgG2의 이소형인 항체.

**청구항 10**

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 항체가 A330S, P331S, D265A, C223E, P228E, L368E, C223R, E225R, P228R 및 K409R로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환을 포함하는 인간 IgG2이며, 여기서 넘버링은 인간 IgG2 야생형 및 EU 넘버링 스킴에 따르고, 도 1에 제시된 바와 같은 것인 항체.

**청구항 11**

제10항에 있어서, 치환 C223E, P228E 및 L368E를 포함하는 항체.

**청구항 12**

제10항 또는 제11항에 있어서, 치환 A330S, P331S 및 D265A를 포함하는 항체.

**청구항 13**

서열식별번호: 190의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열식별번호: 191의 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

**청구항 14**

서열식별번호: 186의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열식별번호: 187의 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

**청구항 15**

ATCC 수탁 번호 PTA-126779 하에 기탁된 폴리뉴클레오티드의 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 ATCC 수탁 번호 PTA-126781 하에 기탁된 폴리뉴클레오티드의 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

**청구항 16**

제1항 또는 제2항에 있어서, 각각의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3이 카바트 정의, 코티아 정의, AbM 정의 또는 CDR의 접촉 정의에 따라 정의되는 것인 항체.

**청구항 17**

- (a) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (b) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (c) 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 43의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (d) 서열식별번호: 46의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (e) 서열식별번호: 52의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (f) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (g) 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 19의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (h) 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (i) 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (j) 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (k) 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (l) 서열식별번호: 87의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (m) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (n) 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 96의 아미노산 서열을 갖는 VL;
  - (o) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 갖는 VL; 또는
  - (p) 서열식별번호: 104의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 갖는 VL
- 을 포함하는 제2 항체와 B7-H4에의 결합에 대해 경쟁하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 제1 항체로서, 여기서 제1 항체는 인간 B7-H4에 대한  $K_D$ 가 약 1 마이크로몰 내지 0.1 나노몰인 단리된 제1 항체.

**청구항 18**

서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 B7-H4 세포의 도메인의 L44, K45, E46, G47, V48, L49, G50, L51, E64, D66, M68, T99 및 K101로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개의 아미노산 잔기를 포함하는 인간 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체.

**청구항 19**

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항의 치료 유효량의 항체 또는 항원 결합 단편 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

**청구항 20**

(i) 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체의 중쇄; 또는 (ii) 제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체의 경쇄를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

**청구항 21**

제20항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

**청구항 22**

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항의 항체를 재조합적으로 생산하는 단리된 숙주 세포.

**청구항 23**

B7-H4를 발현하는 세포와 연관된 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 제19항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 B7-H4를 발현하는 세포와 연관된 상태를 치료하는 방법.

**청구항 24**

제23항에 있어서, 상태가 암인 방법.

**청구항 25**

제24항에 있어서, 암이 유방암, 난소암, 방광암, 자궁암 또는 담관암인 방법.

**청구항 26**

제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 중쇄 및 제1 경쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 아암을 형성하고, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하는 제2 아암을 형성하고, 여기서

(a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;

(b) 제1 중쇄는 서열식별번호: 205의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;

(c) 제1 중쇄는 서열식별번호: 206의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 207의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;

(d) 제1 중쇄는 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산

서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;

(e) 제1 중쇄는 서열식별번호: 200의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 201의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;

(f) 제1 중쇄는 서열식별번호: 199의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;

(g) 제1 중쇄는 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 152의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;

(h) 제1 중쇄는 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; 또는

(i) 제1 중쇄는 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 130의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 것인,

B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체.

## 청구항 27

제26항에 있어서,

(a) 제1 중쇄가 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제1 경쇄가 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(b) 제1 중쇄가 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(c) 제1 중쇄가 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(d) 제1 중쇄가 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(e) 제1 중쇄가 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(f) 제1 중쇄가 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(g) 제1 중쇄가 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(h) 제1 중쇄가 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(i) 제1 중쇄가 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

- (j) 제1 중쇄가 서열식별번호: 163의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (k) 제1 중쇄가 서열식별번호: 165의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (l) 제1 중쇄가 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (m) 제1 중쇄가 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (n) 제1 중쇄가 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (o) 제1 중쇄가 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (p) 제1 중쇄가 서열식별번호: 173의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (q) 제1 중쇄가 서열식별번호: 174의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (r) 제1 중쇄가 서열식별번호: 175의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (s) 제1 중쇄가 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 168의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (t) 제1 중쇄가 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 169의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;
  - (u) 제1 중쇄가 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 170의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나; 또는
  - (v) 제1 중쇄가 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고; 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는 것인
- 이중특이적 항체.

**청구항 28**

제26항 또는 제27항에 있어서,

- (a) 제2 중쇄가 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 105의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;
- (b) 제2 중쇄가 서열식별번호: 202의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 105의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;
- (c) 제2 중쇄가 서열식별번호: 203의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 204의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;
- (d) 제2 중쇄가 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 105의 아미노산 서열을 갖는

VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 116의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나;

(e) 제2 중쇄가 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 109의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 111의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 112의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; 또는

(f) 제2 중쇄가 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 것인

이중특이적 항체.

### 청구항 29

제26항 또는 제27항에 있어서,

(a) 제2 중쇄가 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(b) 제2 중쇄가 서열식별번호: 115의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 117의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나;

(c) 제2 중쇄가 서열식별번호: 110의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 113의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나; 또는

(d) 제2 중쇄가 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는 것인

이중특이적 항체.

### 청구항 30

제26항에 있어서,

(a) 제1 중쇄가 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄가 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하고;

(b) 제2 중쇄가 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 105의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 것인

이중특이적 항체.

### 청구항 31

제26항에 있어서,

(a) 제1 중쇄가 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄가 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하고;

(b) 제2 중쇄가 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 105의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 것인

노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는 것인

이중특이적 항체.

**청구항 32**

제26항에 있어서,

(a) 제1 중쇄가 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제1 경쇄가 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하고;

(b) 제2 중쇄가 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는 것인

이중특이적 항체.

**청구항 33**

제26항에 있어서,

(c) 제1 중쇄가 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제1 경쇄가 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하고;

(d) 제2 중쇄가 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄가 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는 것인

이중특이적 항체.

**청구항 34**

제26항 내지 제33항 중 어느 한 항에 있어서, 불변 영역을 추가로 포함하는 이중특이적 항체.

**청구항 35**

제34항에 있어서, 불변 영역이 IgG1인 이중특이적 항체.

**청구항 36**

제34항에 있어서, 불변 영역이 A330S, P331S, D265A, C223E, P228E, L368E, C223R, E225R, P228R 및 K409R로 이루어진 균으로부터 선택된 1개 이상의 치환을 포함하는 인간 IgG2이며, 여기서 넘버링은 인간 IgG2 야생형 및 EU 넘버링 스킴에 따르고, 도 1에 제시된 바와 같은 것인 이중특이적 항체.

**청구항 37**

제26항 내지 제34항 및 제36항 중 어느 한 항에 있어서, 제1 아암이 치환 D265A, C223E, P228E 및 L368E를 갖는 인간 IgG2 $\Delta$ A 불변 영역을 추가로 포함하고, 제2 아암이 치환 D265A, C223R, E225R, P228R 및 K409R을 갖는 인간 IgG2 $\Delta$ A 불변 영역을 추가로 포함하며, 여기서 넘버링은 인간 야생형 IgG2 및 EU 넘버링 스킴에 따르고, 도 1에 제시된 바와 같은 것인 이중특이적 항체.

**청구항 38**

제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 중쇄 및 제1 경쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 항체 아암을 형성하고, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 형성하고, 여기서

(a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 190의 아미노산 서열을 갖고; 제1 경쇄는 서열식별번호: 191의 아미노산 서열을 갖고;

(b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 188의 아미노산 서열을 갖고; 제2 경쇄는 서열식별번호: 189의 아미노산 서열을 갖는 것인,

B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체.

**청구항 39**

제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 중쇄 및 제1 경쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 항체 아암을 형성하고, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 형성하고, 여기서

(a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 186의 아미노산 서열을 갖고; 제1 경쇄는 서열식별번호: 187의 아미노산 서열을 갖고;

(b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 188의 아미노산 서열을 갖고; 제2 경쇄는 서열식별번호: 189의 아미노산 서열을 갖는 것인,

B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체.

**청구항 40**

제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 중쇄 및 제1 경쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 항체 아암을 형성하고, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 형성하고, 여기서

(a) 제1 중쇄는 ATCC 수탁 번호 PTA-126779 하에 기탁된 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 경쇄는 ATCC 수탁 번호 PTA-126781 하에 기탁된 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하고;

(b) 제2 중쇄는 ATCC 수탁 번호 PTA-126780 하에 기탁된 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 경쇄는 ATCC 수탁 번호 PTA-126782 하에 기탁된 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하는 것인,

B7-H4 및 CD3에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체.

**청구항 41**

서열식별번호: 1의 B7-H4 아미노산 서열의 L44, K45, E46, G47, V48, L49, G50, L51, S63, E64, D66, M68, T99 및 K101로 이루어진 군으로부터의 적어도 2개의 아미노산 잔기를 포함하는 인간 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는, B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체.

**청구항 42**

(i) 제26항 내지 제40항 중 어느 한 항의 항체의 중쇄 또는 (i) 제26항 내지 제40항 중 어느 한 항의 항체의 경쇄를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드 분자.

**청구항 43**

제42항의 폴리뉴클레오티드 분자를 포함하는 벡터.

**청구항 44**

제42항의 폴리뉴클레오티드 분자 또는 제43항의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

**청구항 45**

제26항 내지 제40항 중 어느 한 항에 있어서, 의약으로서 사용하기 위한 이중특이적 항체.

**청구항 46**

제45항에 있어서, 의약이 암의 치료에 사용하기 위한 것인 이중특이적 항체.

**청구항 47**

암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 제26항 내지 제40항 중 어느 한 항의 이중특이적 항체를 투여하는 것을 포

함하는, 암의 치료를 필요로 하는 대상체에서 암을 치료하는 방법.

**청구항 48**

제26항 내지 제40항 중 어느 한 항의 이중특이적 항체를 포함하는 제약 조성물.

**청구항 49**

B7-H4를 발현하는 악성 세포와 연관된 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 제48항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 B7-H4를 발현하는 악성 세포와 연관된 상태를 치료하는 방법.

**청구항 50**

제49항에 있어서, 상태가 암인 방법.

**청구항 51**

제50항에 있어서, 암이 유방암, 난소암, 자궁암, 방광암 또는 담관암인 방법.

**청구항 52**

종양 성장 또는 진행의 억제를 필요로 하는, B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에게 치료 유효량의 제 48항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 억제하는 방법.

**청구항 53**

종양 퇴행의 유도를 필요로 하는, B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에게 유효량의 제48항의 제약 조성 물을 투여하는 것을 포함하는, B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에서 종양 퇴행을 유도하는 방법.

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 본 발명은 B7-H4 (B7 상동성 4)에 특이적으로 결합하는 항체, B7-H4 항체를 포함하는 조성물, 및 그의 방법 및 용도에 관한 것이다. 본 발명은 또한 B7-H4 및 CD3 (분화 클러스터 3)에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체, 이중특이적 B7-H4 항체를 포함하는 조성물, 및 B7-H4를 발현하는 세포와 연관된 상태 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환)를 치료하기 위해 이중특이적 B7-H4 항체를 사용하는 방법에 관한 것이다. 이러한 이중특이 적 항체의 생산 및 정제 방법, 및 진단 및 치료에서의 그의 용도가 또한 제공된다.

**배경 기술**

[0002] B7x, B7S1 또는 VTCN1로도 공지된 B7-H4 (B7 상동성 4, 유전자 VTCN1에 의해 코딩됨)는 유형 I 막형단 단백질 이고, B7 패밀리의 구성원이다. B7-H4는 15년 더 전에 처음 확인되었다 (Sica GL, et al. Immunity. 2003; 18:849-861). 그 이후로, B7-H4는 유방암 및 난소암 (Salceda S, et al., Exp Cell Res. 2005; 306:128-141) 및 많은 다른 암 세포에서 과다발현되는 것으로 밝혀졌다. 또한, 종양 내에서의 B7-H4 단백질 발 현은 보다 짧은 기대 수명 및 질환 중증도와 관련된다는 것이 밝혀졌다 (Podojil, J.R., Miller, S.D., Immunological Reviews 2017; 276:40-51). B7-H4는 B7 패밀리의 분자이지만, 이는 공지된 B7-패밀리 수용체, 즉 CTLA-4, ICOS, PD-1 또는 CD28 중 어떤 것에도 결합하지 않는다. B7-H4 특이적 수용체를 확인하기 위한 노력은 이러한 수용체가 활성화된 T 세포 상에서 발현된다는 것을 밝혀냈고, B7-H4 융합 단백질이 T 세포 상의 그의 추 정 수용체에 결합하는 것은 T 세포 증식 및 시토키인 (IL-2, IFN-감마 및 IL17) 생산을 유의하게 억제하는 것으 로 밝혀졌다. (Podojil, J.R., Miller, S.D., Immunological Reviews 2017; 276:40-51).

[0003] 유방, 난소 및 다른 유형의 암 세포를 특이적으로 표적화하고 이에 특이적으로 결합할 수 있는 분자 및/또는 조 성물에 대한 필요가 남아있다. 암을 앓고 있는 것으로 의심되는 개체를 치료하는 개선된 방법에 대한 필요가 존재한다.

**발명의 내용**

[0004] B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체 및 B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체 (이하 "B7-H4xCD3 이중특이적 항체")가 제공된다. 이중특이적 항체를 포함한 본원에 개시된 항체 중 일부는 암을 예방 및/또는 치료하는 생체내 효능을 갖는 것으로 입증된다.

[0005] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열식별번호(SEQ ID NO): 23, 서열식별번호: 155, 서열식별번호: 156, 서열식별번호: 157, 서열식별번호: 159, 서열식별번호: 161, 서열식별번호: 163, 서열식별번호: 165, 서열식별번호: 169, 서열식별번호: 171, 서열식별번호: 172, 서열식별번호: 173, 서열식별번호: 174, 서열식별번호: 175 및 서열식별번호: 176으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (VH)의 VH 상보성 결정 영역 (CDR) 1 (CDR1), VH CDR2 및 VH CDR3; 및 (B) 서열식별번호: 27, 서열식별번호: 139, 서열식별번호: 141, 서열식별번호: 167, 서열식별번호: 168, 서열식별번호: 169 및 서열식별번호: 170으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (VL)의 VL 상보성 결정 영역 1 (CDR1), VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0006] 일부 실시양태에서, 항체는 (a) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL; (b) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (c) 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (d) 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (e) 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (f) 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (g) 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (h) 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (i) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (j) 서열식별번호: 163의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (k) 서열식별번호: 165의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (l) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL; (m) 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (n) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (o) 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (p) 서열식별번호: 173의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (q) 서열식별번호: 174의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (r) 서열식별번호: 175의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (s) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 168의 아미노산 서열을 갖는 VL; (t) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 169의 아미노산 서열을 갖는 VL; (u) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 170의 아미노산 서열을 갖는 VL; 또는 (v) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함한다.

[0007] 일부 실시양태에서, 항체는 (a) 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; (b) 서열식별번호: 205의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; (c) 서열식별번호: 206의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 207의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; (d) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; (e) 서열식별번호: 199의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; (f) 서열식별번호: 200의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 201의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산

산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; (g) 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 152의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 41의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; (h) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3; 또는 (i) 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 130의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함한다.

[0008] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3, 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0009] 일부 실시양태에서, 항체는 (a) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL; (b) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (c) 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (d) 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (e) 서열식별번호: 157의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (f) 서열식별번호: 155의 아미노산 서열을 갖는 VH; 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (g) 서열식별번호: 156의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (h) 서열식별번호: 159의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (i) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (j) 서열식별번호: 163의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (k) 서열식별번호: 165의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (l) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL; (m) 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (n) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 141의 아미노산 서열을 갖는 VL; (o) 서열식별번호: 171의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (p) 서열식별번호: 173의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (q) 서열식별번호: 174의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (r) 서열식별번호: 175의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL; (s) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 168의 아미노산 서열을 갖는 VL; (t) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 169의 아미노산 서열을 갖는 VL; (u) 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 170의 아미노산 서열을 갖는 VL; 또는 (v) 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함한다.

[0010] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0011] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH; 및 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0012] 일부 실시양태에서, 항체는 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 IgG1 또는 IgG2의 이소형이다. 일부 실시양태에서, 항체는 A330S, P331S, D265A, C223E, P228E, L368E, C223R, E225R, P228R 및 K409R로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환을 포함하는 인간 IgG2이며, 여기서 넘버링은 인간 IgG2 야생형 및 EU 넘버링 스킴에 따르고, 도 1에 제시된 바와 같다. 일부 실시양태에서, 항체는 치환 C223E, P228E 및 L368E를 포함한다.

[0013] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 190의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열식별번호: 191의 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

[0014] 한 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 186의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 서열식별번호: 187의 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.

- [0015] 일부 실시양태에서, 본 발명은 ATCC 수탁 번호 PTA-126779 하에 기탁된 폴리뉴클레오티드의 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 ATCC 수탁 번호 PTA-126781 하에 기탁된 폴리뉴클레오티드의 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다.
- [0016] 일부 실시양태에서, 각각의 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3은 카바트 정의, 코티아 정의, AbM 정의 또는 CDR의 접촉 정의에 따라 정의된다.
- [0017] 한 측면에서, 본 발명은 (a) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 VL; (b) 서열식별번호: 8의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 13의 아미노산 서열을 갖는 VL; (c) 서열식별번호: 39의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 43의 아미노산 서열을 갖는 VL; (d) 서열식별번호: 46의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 49의 아미노산 서열을 갖는 VL; (e) 서열식별번호: 52의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 54의 아미노산 서열을 갖는 VL; (f) 서열식별번호: 57의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 60의 아미노산 서열을 갖는 VL; (g) 서열식별번호: 16의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 19의 아미노산 서열을 갖는 VL; (h) 서열식별번호: 64의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 갖는 VL; (i) 서열식별번호: 69의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 70의 아미노산 서열을 갖는 VL; (j) 서열식별번호: 74의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 갖는 VL; (k) 서열식별번호: 80의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 84의 아미노산 서열을 갖는 VL; (l) 서열식별번호: 87의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 90의 아미노산 서열을 갖는 VL; (m) 서열식별번호: 23의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 27의 아미노산 서열을 갖는 VL; (n) 서열식별번호: 94의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 96의 아미노산 서열을 갖는 VL; (o) 서열식별번호: 100의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 77의 아미노산 서열을 갖는 VL; 또는 (p) 서열식별번호: 104의 아미노산 서열을 갖는 VH 및 서열식별번호: 67의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하는 제2 항체와 B7-H4에의 결합에 대해 경쟁하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 제1 항체이며; 인간 B7-H4에 대한  $K_D$ 가 약 1 마이크로몰 내지 0.1 나노몰인 제1 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 제1 항체 및 제2 항체는 각각 전장 IgG1 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 항체 및 제2 항체는 둘 다  $F(ab')_2$  단편 항체이다.
- [0018] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 B7-H4 세포의 도메인의 L44, K45, E46, G47, V48, L49, G50, L51, E64, D66, M68, T99 및 K101로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개 또는 적어도 12개의 아미노산 잔기를 포함하는 인간 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 L44, K45, E46, G47, V48, L49, G50 및 L51로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6 또는 적어도 7개의 아미노산 잔기 및 E64, D66, M68, T99 및 K101로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개 또는 적어도 4개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 L44, K45, E46, G47, V48, L49, G50, L51, E64, D66, M68, T99 및 K101의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0019] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 B7-H4 세포의 도메인의 V129, Y131, N132, S134, S135, E136, L138, V189, I191, V212, E214, S215, E216 및 I217로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개 또는 적어도 13개의 아미노산 잔기를 포함하는 인간 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는, B7-H4에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 V129, Y131, N132, S134, S135, E136 및 L138로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5 또는 적어도 6개의 아미노산 잔기 및 V189, I191, V212, E214, S215, E216 및 I217로 이루어진 군으로부터의 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6 또는 적어도 7개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 아미노산 잔기 V129, Y131, N132, S134, S135, E136, L138, V189, I191, V212, E214, S215, E216 및 I217을 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0020] 또 다른 측면에서, 본 발명은 치료 유효량의 본 발명의 B7-H4 항체 또는 그의 항원 결합 단편 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.
- [0021] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 B7-H4 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다.

- [0022] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (i) 본 발명의 B7-H4 항체의 중쇄 가변 영역 또는 (ii) 본 발명의 임의의 B7-H4 항체의 경쇄 가변 영역을 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [0023] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (i) 본 발명의 B7-H4 항체의 중쇄 또는 (ii) 본 발명의 임의의 B7-H4 항체의 경쇄를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [0024] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 임의의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0025] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 항체를 제조함으로써 생산하는 단리된 숙주 세포를 제공한다.
- [0026] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 숙주 세포를 본 발명의 B7-H4 항체가 생산되도록 하는 조건 하에 배양하고, 숙주 세포 또는 배양물로부터 항체를 단리하는 것을 포함하는, 본 발명의 B7-H4 항체를 생산하는 방법을 제공한다.
- [0027] 또 다른 측면에서, 본 발명은 B7-H4를 발현하는 세포와 연관된 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 B7-H4를 발현하는 세포와 연관된 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 상태는 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 난소암, 방광암, 자궁암 또는 담관암이다.
- [0028] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 성장 또는 진행의 억제를 필요로 하는, B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에게 유효량의 본 발명의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 억제하는 방법을 제공한다.
- [0029] 또 다른 측면에서, 본 발명은 B7-H4를 발현하는 악성 세포의 전이의 억제를 필요로 하는 대상체에게 유효량의 본 발명의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 B7-H4를 발현하는 악성 세포의 전이를 억제하는 방법을 제공한다.
- [0030] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 퇴행의 유도를 필요로 하는, B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에게 유효량의 본 발명의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 종양 퇴행을 유도하는 방법을 제공한다.
- [0031] 또 다른 측면에서, 본 발명은 제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 중쇄 및 제1 경쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 아암을 형성하고, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하는 제2 아암을 형성하고, 여기서 (a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; (b) 제1 중쇄는 서열식별번호: 205의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; (c) 제1 중쇄는 서열식별번호: 206의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 207의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; (d) 제1 중쇄는 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; (e) 제1 중쇄는 서열식별번호: 200의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 201의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; (f) 제1 중쇄는 서열식별번호: 199의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; (g) 제1 중쇄는 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 152의 아미노산 서



CDR1, 서열식별번호: 105의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 116의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; (e) 제2 중쇄는 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 109의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 111의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 112의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하거나; 또는 (f) 제2 중쇄는 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 29의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 32의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함한다.

[0034] 이중특이적 항체의 일부 실시양태에서, (a) 제2 중쇄는 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나; (b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 115의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 117의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나; (c) 제2 중쇄는 서열식별번호: 110의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 113의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하거나; 또는 (d) 제2 중쇄는 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함한다.

[0035] 이중특이적 항체의 일부 실시양태에서, (a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 20의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 21의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 160의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 166의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 25의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 153의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하고; (b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 105의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함한다.

[0036] 이중특이적 항체의 일부 실시양태에서, (a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 5의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 6의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 7의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 9의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 10의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 138의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함하고; (b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 28의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, 서열식별번호: 105의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2, 서열식별번호: 30의 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 107의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1, 서열식별번호: 33의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2 및 서열식별번호: 34의 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3을 포함한다.

[0037] 이중특이적 항체의 일부 실시양태에서, (a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 161의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 167의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하고; (b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함한다.

[0038] 이중특이적 항체의 일부 실시양태에서, (a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 172의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제1 경쇄는 서열식별번호: 139의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함하고; (b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함하고, 제2 경쇄는 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함한다.

[0039] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 불변 영역을 추가로 포함한다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 IgG1이다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 A330S, P331S, D265A, C223E, P228E, L368E, C223R, E225R, P228R 및 K409R로 이루어진 군으로부터 선택된 1개 이상의 치환을 포함하는 인간 IgG2이며, 여기서 넘버링은 인간 IgG2 야생형 및 EU 넘버링 스킴에 따르고, 도 1에 제시된 바와 같다.

[0040] 이중특이적 항체의 일부 실시양태에서, 제1 아암은 치환 D265A, C223E, P228E 및 L368E를 갖는 hIgG2ΔA 불변 영역의 불변 영역을 추가로 포함하고, 제2 아암은 치환 D265A, C223R, E225R, P228R 및 K409R을 갖는 인간 IgG2ΔA 불변 영역을 추가로 포함하며, 여기서 넘버링은 인간 야생형 IgG2 및 EU 넘버링 스킴에 따르고, 도 1에 제시된 바와 같다.

- [0041] 한 측면에서, 본 발명은 제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 중쇄 및 제1 경쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 항체 아암을 형성하고, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 형성하고, 여기서 (a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 190의 아미노산 서열을 갖고; 제1 경쇄는 서열식별번호: 191의 아미노산 서열을 갖고; (b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 188의 아미노산 서열을 갖고; 제2 경쇄는 189의 아미노산 서열을 갖는 것인, B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공한다.
- [0042] 또 다른 측면에서, 본 발명은 제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 중쇄 및 제1 경쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 항체 아암을 형성하고, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 형성하고, 여기서 (a) 제1 중쇄는 서열식별번호: 186의 아미노산 서열을 갖고; 제1 경쇄는 서열식별번호: 187의 아미노산 서열을 갖고; (b) 제2 중쇄는 서열식별번호: 188의 아미노산 서열을 갖고; 제2 경쇄는 서열식별번호: 189의 아미노산 서열을 갖는 것인, B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공한다.
- [0043] 또 다른 측면에서, 본 발명은 제1 중쇄 및 제1 경쇄 및 제2 중쇄 및 제2 경쇄를 포함하며, 여기서 제1 중쇄 및 제1 경쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 항체 아암을 형성하고, 제2 중쇄 및 제2 경쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 형성하고, 여기서 (a) 제1 중쇄는 ATCC 수탁 번호 PTA-126779 하에 기탁된 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하고, 제1 경쇄는 ATCC 수탁 번호 PTA-126781 하에 기탁된 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하고; (b) 제2 중쇄는 ATCC 수탁 번호 PTA-126780 하에 기탁된 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하고, 제2 경쇄는 ATCC 수탁 번호 PTA-126782 하에 기탁된 오픈 리딩 프레임 (ORF)에 의해 코딩된 전장 폴리펩티드의 아미노산 서열을 포함하는 것인, B7-H4 및 CD3에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공한다.
- [0044] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 1의 B7-H4 아미노산 서열의 L44, K45, E46, G47, V48, L49, G50, L51, S63, E64, D66, M68, T99 및 K101로 이루어진 군으로부터의 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개 또는 적어도 13개의 아미노산 잔기를 포함하는 인간 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는, B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 L44, K45, E46, G47, V48, L49, G50 및 L51로 이루어진 군으로부터의 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6 또는 적어도 7개의 아미노산 잔기 및 S63, E64, D66, M68, T99 및 K101로 이루어진 군으로부터의 적어도 1개의 아미노산, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4 또는 적어도 5개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 L44, K45, E46, G47, V48, L49, G50, L51, S63, E64, D66, M68, T99 및 K101의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0045] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 1의 B7-H4 아미노산 서열의 V129, Y131, N132, S134, S135, E136, L138, V189, I191, V212, E214, S215, E216 및 I217로 이루어진 군으로부터의 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 11개, 적어도 12개 또는 적어도 13개의 아미노산 잔기를 포함하는 인간 B7-H4 상의 에피토프에 결합하는, B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 V129, Y131, N132, S134, S135, E136 및 L138로 이루어진 군으로부터의 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5 또는 적어도 6개의 아미노산 잔기 및 V189, I191, V212, E214, S215, E216 및 I217로 이루어진 군으로부터의 적어도 1개, 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5 또는 적어도 6개의 아미노산 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 에피토프는 V129, Y131, N132, S134, S135, E136, L138, V189, I191, V212, E214, S215, E216 및 I217의 아미노산 잔기를 포함하거나 또는 그로 이루어진다.
- [0046] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 이중특이적 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [0047] 또 다른 측면에서, 본 발명은 (i) 본 발명의 이중특이적 항체의 중쇄 또는 (ii) 본 발명의 이중특이적 항체의 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다.
- [0048] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0049] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드 또는 본원에 개시된 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

- [0050] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 본원에 개시된 이중특이적 항체를 제공한다. 일부 실시양태에서, 의약은 암의 치료를 위한 것일 수 있다.
- [0051] 또 다른 측면에서, 본 발명은 암의 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 개시된 이중특이적 항체를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0052] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본원에 개시된 이중특이적 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다.
- [0053] 또 다른 측면에서, 본 발명은 B7-H4를 발현하는 악성 세포와 연관된 상태의 치료를 필요로 하는 대상체에게 치료 유효량의 본원에 개시된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 B7-H4를 발현하는 악성 세포와 연관된 상태를 치료하는 방법을 제공한다.
- [0054] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 본원에 개시된 바와 같은 B7-H4 항체, 이중특이적 항체, 제약 조성물, 폴리뉴클레오티드, 백터 또는 숙주 세포를 제공한다.
- [0055] 또 다른 측면에서, 본 발명은 의약의 제조에서의 본원에 개시된 바와 같은 B7-H4 항체, 이중특이적 항체, 제약 조성물, 폴리뉴클레오티드, 백터 또는 숙주 세포의 용도를 제공한다.
- [0056] 일부 실시양태에서, 상태는 암이다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 난소암, 자궁암, 방광암 또는 담관암이다. 일부 실시양태에서, 방법 또는 용도는 유효량의 제2 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 또는 팔보시클립이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 RN888이다.
- [0057] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 성장 또는 진행의 억제를 필요로 하는, B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에게 치료 유효량의 본원에 개시된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 억제하는 방법을 제공한다.
- [0058] 또 다른 측면에서, 본 발명은 B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 억제하는데 사용하기 위한 본원에 개시된 바와 같은 B7-H4 항체, 이중특이적 항체, 제약 조성물, 폴리뉴클레오티드, 백터 또는 숙주 세포를 제공한다.
- [0059] 또 다른 측면에서, 본 발명은 B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 억제하기 위한 의약의 제조에서의 본원에 개시된 바와 같은 B7-H4 항체, 이중특이적 항체, 제약 조성물, 폴리뉴클레오티드, 백터 또는 숙주 세포의 용도를 제공한다.
- [0060] 일부 실시양태에서, 방법 또는 용도는 유효량의 제2 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 또는 팔보시클립이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 RN888이다.
- [0061] 또 다른 측면에서, 본 발명은 종양 퇴행의 유도를 필요로 하는, B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에게 유효량의 본원에 개시된 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 종양 퇴행을 유도하는 방법을 제공한다.
- [0062] 또 다른 측면에서, 본 발명은 B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에서 종양 퇴행을 유도하는데 사용하기 위한 본원에 개시된 바와 같은 B7-H4 항체, 이중특이적 항체, 제약 조성물, 폴리뉴클레오티드, 백터 또는 숙주 세포를 제공한다.
- [0063] 또 다른 측면에서, 본 발명은 B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에서 종양 퇴행을 유도하기 위한 의약의 제조에서의 본원에 개시된 바와 같은 B7-H4 항체, 제약 조성물, 폴리뉴클레오티드, 백터 또는 숙주 세포의 용도를 제공한다.
- [0064] 일부 실시양태에서, 방법 또는 용도는 유효량의 제2 치료제를 투여하는 것을 추가로 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 제2 치료제는 항-PD-1 또는 항-PD-L1 항체 또는 팔보시클립이다. 일부 실시양태에서, 항-PD-1 항체는 RN888이다.
- [0065] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 이중특이적 항체는 증가된 B7-H4 수용체 밀도 수준의 존재 하에 보다 낮은 EC50 값을 나타낸다. 바람직하게는, EC50 값은 0.0001nM 내지 100nM, 0.0001nM 내지 10nM, 0.0001nM 내지 1nM, 0.0001nM 내지 0.1nM, 0.0001nM 내지 0.0010nM, 0.001nM 내지 100nM, 0.01nM 내지 100nM, 0.1nM 내지 100nM, 0.001nM 내지 10nM, 0.001nM 내지 1nM, 0.01nM 내지 1nM, 또는 0.001nM 내지 0.1nM이다.

바람직하게는, EC50 값은 10nM 미만, 1nM 미만, 0.5nM 미만, 0.1nM 미만, 0.01nM 미만 또는 0.001nM 미만이다.

[0066] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 이중특이적 항체는 세포용해 T 세포 반응을 활성화시킬 수 있다.

**도면의 간단한 설명**

[0067] 도 1은 인간 IgG2 야생형 서열에 따라 EU 넘버링 스킴을 사용하여 넘버링된, 불변 영역 내 다양한 위치에서 변형을 갖는 본원에 제공된 이중특이적 항체의 예시적인 IgG2 불변 영역의 아미노산 서열을 도시한다. 인간 IgG1 및 IgG4 야생형 서열 및 넘버링이 또한 도 1에 제공된다.

도 2a는 B7-H4 항체 0052 scFv 및 인간 B7-H4 세포의 도메인의 공-결정 구조를 도시한다.

도 2b는 B7-H4 항체 0058 Fab 및 인간 B7-H4 세포의 도메인의 공-결정 구조를 도시한다.

도 2c는 B7-H4 항체 1114 Fab 및 인간 B7-H4 세포의 도메인의 공-결정 구조를 도시한다.

**발명을 실시하기 위한 구체적인 내용**

[0068] B7-H4 및 CD3에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체 ("B7-H4xCD3 이중특이적 항체")를 비롯한, B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체, 이러한 항체를 제조하는 방법, 및 종양 진행을 억제하고 암을 치료 및/또는 예방하는 방법을 비롯한, 이러한 항체를 사용하는 방법이 본원에 개시된다.

[0069] 일반적 기술

[0070] 본 발명의 실시는, 달리 나타내지 않는 한, 관련 기술분야의 기술 내에 있는 분자 생물학 (재조합 기술 포함), 미생물학, 세포 생물학, 생화학 및 면역학의 통상적인 기술을 사용할 것이다. 이러한 기술은 다음과 같은 문헌에 상세하게 설명되어 있다: 문헌 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989) Cold Spring Harbor Press; 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., 1993-1998) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); 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); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., 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)].

[0071] 정의

[0072] "항체"는 이뮤노글로불린 분자의 가변 영역 내에 위치하는 적어도 1개의 항원 인식 부위를 통해 표적, 예컨대 탄수화물, 폴리뉴클레오티드, 지질, 폴리펩티드 등에 특이적으로 결합할 수 있는 이뮤노글로불린 분자이다. 본원에 사용된 용어는 무손상 폴리클로날 또는 모노클로날 항체뿐만 아니라, 그의 항원 결합 단편, 예컨대, 예를 들어 Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, 단일 체 (ScFv) 및 도메인 항체 (예를 들어, 상어 및 낙타류 항체 포함), 항체를 포함하는 융합 단백질 (예를 들어, 비제한적으로 키메라 항원 수용체 (CAR) 또는 항체-시토카인 융합 단백질 포함), 및 항원 인식 부위를 포함하는 이뮤노글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 형태를 포괄한다. 항체는 임의의 부류, 예컨대 IgG, IgA 또는 IgM (또는 그의 하위부류)의 항체를 포함하고, 항체는 임의의 특정한 부류일 필요는 없다. 항체의 중쇄의 불변 영역의 아미노산 서열에 따라, 이뮤노글로불린은 상이한 부류로 배정될 수 있다. 5가지 주요 부류의 이뮤노글로불린: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 존재하고, 이들 중 몇몇은 하위부류 (이소형), 예를 들어 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 추가로 나뉠 수 있다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린에 상응하는 중쇄 불변 영역은 각각 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 불린다. 상이한 부류의 이뮤노글로불린의 서브유닛 구조 및 3차원 형상은 널리 공지되어 있다.

- [0073] "단리된 항체"는 다른 단백질 및 세포 물질이 실질적으로 없는 항체를 지칭한다.
- [0074] 본원에 사용된 용어 항체의 "항원 결합 단편" 또는 "항원 결합 부분"은 주어진 항원 (예를 들어, B7-H4 또는 CD3)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 무손상 항체의 1개 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합 기능은 무손상 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다. 용어 항체의 "항원 결합 단편" 내에 포괄되는 결합 단편의 예는 비제한적으로 Fab; Fab'; F(ab')<sub>2</sub>; VH 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 아암의 VL 및 VH 도메인으로 이루어진 Fv 단편; 단일 도메인 항체 (dAb) 단편 (Ward et al., Nature 341:544-546, 1989), 및 단리된 상보성 결정 영역 (CDR)을 포함한다.
- [0075] 표적 (예를 들어, B7-H4 단백질 또는 CD3 단백질)에 "우선적으로 결합" 또는 "특이적으로 결합" (본원에서 상호 교환가능하게 사용됨)하는 항체, 항체 접합체 또는 폴리펩티드는 관련 기술분야에서 널리 이해되는 용어이고, 이러한 특이적 또는 우선적 결합을 결정하는 방법 또한 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 본자는 그것이 대안적 세포 또는 물질보다 특정한 세포 또는 물질과 더 빈번하게, 더 신속하게, 더 긴 지속기간으로 및/또는 더 큰 친화도로 반응하거나 회합하는 경우에 "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"을 나타내는 것으로 언급된다. 항체는 다른 물질에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합력으로, 더 용이하게 및/또는 더 긴 지속기간으로 결합하는 경우에 표적에 "특이적으로 결합"하거나 "우선적으로 결합"한다. 예를 들어, B7-H4 에피토프 또는 CD3 에피토프에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체는 다른 B7-H4 에피토프, 비-B7-H4 에피토프, 다른 CD3 에피토프 또는 비-CD3 에피토프에 결합하는 것보다 더 큰 친화도, 결합력으로, 더 용이하게 및/또는 더 긴 지속기간으로 이러한 에피토프에 결합하는 항체이다. 또한, 이러한 정의를 읽음으로써, 예를 들어 제1 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체 (또는 모이어티 또는 에피토프)는 제2 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합할 수 있거나 또는 결합하지 않을 수 있는 것으로 이해된다. 따라서, "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 배타적 결합을 (포함할 수 있지만) 반드시 필요로 하는 것은 아니다. 일반적으로, 반드시 아니지만, 결합에 대한 언급은 우선적 결합을 의미한다.
- [0076] 항체의 "가변 영역"은 항체 경쇄의 가변 영역 또는 항체 중쇄의 가변 영역을 단독으로 또는 조합하여 지칭한다. 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 각각 초가변 영역으로도 공지된 3개의 상보성 결정 영역 (CDR)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역 (FR)으로 이루어진다. 각각의 쇠 내의 CDR은 FR에 의해 매우 근접하게 함께 유지되고, 다른 쇠로부터의 CDR과 함께 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. CDR을 결정하기 위한 적어도 2가지 기술이 존재한다: (1) 교차-중 서열 가변성에 기초한 접근법 (즉, 문헌 [Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)]; 및 (2) 항원-항체 복합체의 결정학적 연구에 기초한 접근법 (문헌 [Al-lazikani et al., 1997, J. Molec. Biol. 273:927-948]). 본원에 사용된 CDR은 어느 하나의 접근법에 의해 또는 둘 다의 접근법의 조합에 의해 정의된 CDR을 지칭할 수 있다.
- [0077] 가변 도메인의 "CDR"은 카바트, 코티아의 정의, 카바트 및 코티아 둘 다의 축적, AbM, 접촉 및/또는 입체형태적 정의 또는 관련 기술분야에 널리 공지된 임의의 CDR 결정 방법에 따라 확인되는 가변 영역 내의 아미노산 잔기이다. 항체 CDR은 카바트 등에 의해 처음 정의된 초가변 영역으로서 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Kabat et al., 1992, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, NIH, Washington D.C.]을 참조한다. CDR의 위치는 또한 코티아 등에 의해 처음 기재된 구조적 루프 구조로서 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Chothia et al., Nature 342:877-883, 1989]을 참조한다. CDR 확인에 대한 다른 접근법은 카바트와 코티아 사이의 절충안이고 옥스포드 몰레큘라(Oxford Molecular)의 AbM 항체 모델링 소프트웨어 (현재 엑셀리스(Accelrys)®)를 사용하여 유래된 "AbM 정의", 또는 문헌 [MacCallum et al., J. Mol. Biol., 262:732-745, 1996]에 제시된, 관찰된 항원 접촉에 기초한 CDR의 "접촉 정의"를 포함한다. 본원에서 CDR의 "입체형태적 정의"로 지칭되는 또 다른 접근법에서, CDR의 위치는 항원 결합에 엔탈피 기여를 하는 잔기로서 확인될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Makabe et al., Journal of Biological Chemistry, 283:1156-1166, 2008]을 참조한다. 또 다른 CDR 경계 정의가 상기 접근법들 중 하나를 엄격하게 따르지 않을 수 있지만, 그럼에도 불구하고 카바트 CDR의 적어도 한 부분과 중첩될 것이며, 이들은 특정한 잔기 또는 잔기의 군 또는 심지어 전체 CDR이 항원 결합에 유의하게 영향을 미치지 않는다는 예측 또는 실험적 발견에 비추어 단축되거나 연장될 수 있다. 본원에 사용된 CDR은 관련 기술분야에 공지된 임의의 접근법 (접근법들의 조합 포함)에 의해 정의된 CDR을 지칭할 수 있다. 본원에 사용된 방법은 임의의 이들 접근법에 따라 정의된 CDR을 이용할 수 있다. 1개 초과 CDR을 함유하는 임의의 주어진 실시양태에 대해, CDR은 카바트, 코티아, 연장, AbM, 접촉 및/또는 입체형태적 정의 중 어느 것에 따라 정의될 수 있다.

[0078] 본원에 사용된 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득된 항체를 지칭하며, 즉 집단을 구성하는 개별 항체는 미량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 동일하다. 모노클로날 항체는 고도로 특이적이고, 단일 항원 부위에 대해 지시된다. 추가로, 전형적으로 상이한 결정기 (에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 포함하는 폴리클로날 항체 제제와 대조적으로, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정기에 대해 지시된다. 수식어 "모노클로날"은 실질적으로 동종인 항체 집단으로부터 수득되는 바와 같은 항체의 특징을 나타내고, 임의의 특정한 방법에 의한 항체의 생산을 요구하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler and Milstein, Nature 256:495, 1975]에 최초로 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조될 수 있거나, 또는 미국 특허 번호 4,816,567에 기재된 바와 같은 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다. 모노클로날 항체는 또한, 예를 들어 문헌 [McCafferty et al., Nature 348:552-554, 1990]에 기재된 기술을 사용하여 생성된 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0079] 본원에 사용된 "인간화" 항체는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 이뮤노글로불린, 이뮤노글로불린 쇠 또는 그의 단편 (예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> 또는 항체의 다른 항원 결합 하위 서열)인 비-인간 (예를 들어 무린) 항체의 형태를 지칭한다. 바람직하게는, 인간화 항체는 수용자의 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터의 잔기가 목적하는 특이성, 친화도 및 능력을 갖는 비-인간 중 (공여자 항체), 예컨대 마우스, 래트 또는 토끼의 CDR로부터의 잔기로 대체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기에 의해 대체된다. 추가로, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 도입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서는 발견되지 않지만 항체 성능을 추가로 정밀화하고 최적화하기 위해 포함되는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 적어도 1개, 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실질적으로 모두 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 컨센서스 서열의 것이다. 인간화 항체는 최적으로는 이뮤노글로불린 불변 영역 또는 도메인 (Fc)의 적어도 한 부분, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 것을 또한 포함할 것이다. WO 99/58572에 기재된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 갖는 항체가 바람직하다. 다른 형태의 인간화 항체는 원래 항체와 관련하여 변경된 1개 이상의 CDR (CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2 또는 CDR H3)을 가지며, 이는 또한 원래 항체로부터의 1개 이상의 CDR"로부터 유래된" 1개 이상의 CDR로 지칭된다.

[0080] 본원에 사용된 "인간 항체"는 인간에 의해 생산되고/거나 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지되거나 본원에 개시된 인간 항체를 제조하기 위한 임의의 기술을 사용하여 제조된 항체의 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 항체를 의미한다. 인간 항체의 이러한 정의는 적어도 1개의 인간 중쇄 폴리펩티드 또는 적어도 1개의 인간 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체를 포함한다. 하나의 이러한 예는 무린 경쇄 및 인간 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체이다. 인간 항체는 관련 기술분야에 공지된 다양한 기술을 사용하여 생산될 수 있다. 한 실시양태에서, 인간 항체는 인간 항체를 발현하는 파지 라이브러리로부터 선택된다 (Vaughan et al., Nature Biotechnology, 14:309-314, 1996; Sheets et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:6157-6162, 1998; Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381, 1991; Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581, 1991). 인간 항체는 또한 인간 이뮤노글로불린 유전자좌가 내인성 유전자좌 대신에 트랜스제닉 도입된 동물, 예를 들어 내인성 이뮤노글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전히 불활성화된 마우스의 면역화에 의해 제조될 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016에 기재되어 있다. 대안적으로, 인간 항체는 표적 항원에 대해 지시된 항체를 생산하는 인간 B 림프구를 불멸화시킴으로써 제조될 수 있다 (이러한 B 림프구는 개체로부터 또는 cDNA의 단일 세포 클로닝으로부터 회수될 수 있거나 또는 시험관내에서 면역화될 수 있음). 예를 들어, 문헌 [Cole et al. Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77, 1985; Boerner et al., J. Immunol., 147 (1):86-95, 1991]; 및 미국 특허 번호 5,750,373을 참조한다.

[0081] 용어 "키메라 항체"는 가변 영역 서열이 한 종으로부터 유래되고 불변 영역 서열이 또 다른 종으로부터 유래된 항체, 예컨대 가변 영역 서열이 마우스 항체로부터 유래되고 불변 영역 서열이 인간 항체로부터 유래된 항체를 지칭한다.

[0082] 용어 "B7-H4"는 명사로서 그 자체로 사용되는 경우에, 유전자 VTCN1에 의해 코딩된 임의의 형태의 B7 상동성 4 단백질 및 B7 상동성 4 단백질의 활성의 적어도 일부를 보유하는 그의 변이체를 지칭한다. 하나의 예시적인 인간 B7-H4 서열은 유니프루트 식별자 Q7Z7D3-1 하에 제공된다. Q7Z7D3-1로 디스플레이된 서열은 성숙 형태로 추가

로 프로세싱된다.

- [0083] 용어 "B7-H4 항체"는 B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다.
- [0084] 용어 "폴리펩티드", "올리고펩티드", "펩티드" 및 "단백질"은 임의의 길이, 바람직하게는 비교적 짧은 (예를 들어, 10-100개 아미노산) 아미노산의 쇠를 지칭하는 것으로 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 쇠는 선형 또는 분지형일 수 있고/거나, 변형된 아미노산을 포함할 수 있고/거나, 비-아미노산이 개재될 수 있다. 상기 용어는 또한 자연적으로 또는 개입에 의해; 예를 들어, 디설피드 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예컨대 표지 성분과의 접합에 의해 변형된 아미노산 쇠를 포괄한다. 또한, 예를 들어 아미노산의 1개 이상의 유사체 (예를 들어, 비천연 아미노산 등 포함), 뿐만 아니라 관련 기술분야에 공지된 다른 변형을 함유하는 폴리펩티드가 상기 정의 내에 포함된다. 폴리펩티드는 단일 쇠 또는 회합된 쇠로서 발생할 수 있는 것으로 이해된다.
- [0085] "1가 항체"는 분자당 1개의 항원 결합 부위를 포함한다 (예를 들어, IgG 또는 Fab). 일부 경우에, 1가 항체는 1개 초과와 항원 결합 부위를 가질 수 있지만, 결합 부위는 상이한 항원으로부터의 것이다.
- [0086] "단일특이적 항체"는 2개의 결합 부위가 항원 상의 동일한 에피토프에 결합하도록 분자당 2개의 동일한 항원 결합 부위를 포함한다 (예를 들어 IgG). 따라서, 이들은 1개의 항원 분자에의 결합에 대해 서로 경쟁한다. 자연에서 발견되는 대부분의 항체는 단일특이적이다. 일부 경우에, 단일특이적 항체는 또한 1가 항체일 수 있다 (예를 들어 Fab).
- [0087] "2가 항체"는 분자당 2개의 항원 결합 부위를 포함한다 (예를 들어, IgG). 일부 경우에, 2개의 결합 부위는 동일한 항원 특이성을 갖는다. 그러나, 2가 항체는 이중특이적일 수 있다.
- [0088] 본원에 사용된 용어 "이중특이적 항체" 또는 "이중-특이적 항체"는 상이한 항원에 대한 특이성을 갖는 2개의 항원 결합 부위를 생성하는 2개의 상이한 결합 특이성, 예를 들어 2개의 상이한 중쇄/경쇄 쌍을 갖는 하이브리드 항체를 지칭한다.
- [0089] 본원에 사용된 "хин지 영역", "хин지 서열" 및 그의 변이는, 예를 들어 문헌 [Janeway et al., *ImmunoBiology: the immune system in health and disease*, (Elsevier Science Ltd., NY) (4th ed., 1999); Bloom et al., *Protein Science* (1997), 6:407-415; Humphreys et al., *J. Immunol. Methods* (1997), 209:193-202]에 예시된, 관련 기술분야에 공지된 의미를 포함한다.
- [0090] 본원에 사용된 "이뮤노글로불린-유사 힙지 영역", "이뮤노글로불린-유사 힙지 서열" 및 그의 변이는 이뮤노글로불린-유사 또는 항체-유사 분자 (예를 들어, 이뮤노어드헤신)의 힙지 영역 및 힙지 서열을 지칭한다. 일부 실시양태에서, 이뮤노글로불린-유사 힙지 영역은 그의 키메라 형태, 예를 들어 키메라 IgG1/2 힙지 영역을 포함하여, 임의의 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 하위유형으로부터 또는 IgA, IgE, IgD 또는 IgM으로부터 형성되거나 또는 그로부터 유래될 수 있다.
- [0091] 본원에 사용된 용어 "면역 이펙터 세포" 또는 "이펙터 세포"는 표적 세포의 생존율에 영향을 미치도록 활성화될 수 있는 인간 면역계 내의 세포의 천연 레퍼토리 내의 세포를 지칭한다. 표적 세포의 생존율은 세포 생존, 증식 및/또는 다른 세포와 상호작용하는 능력을 포함할 수 있다.
- [0092] 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 본원에서 상호교환가능하게 사용되는 "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 쇠를 지칭하고, DNA 및 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기 및/또는 그의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 폴리머라제에 의해 쇠 내로 혼입될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드, 예컨대 메틸화 뉴클레오티드 및 그의 유사체를 포함할 수 있다. 존재하는 경우에, 뉴클레오티드 구조에 대한 변형은 쇠의 조립 전 또는 후에 부여될 수 있다. 뉴클레오티드의 서열에는 비-뉴클레오티드 성분이 개재될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 중합 후에, 예컨대 표지 성분과의 접합에 의해 추가로 변형될 수 있다. 다른 유형의 변형은, 예를 들어 "캡", 자연 발생 뉴클레오티드 중 1개 이상의 유사체로의 치환, 뉴클레오티드간 변형, 예컨대, 예를 들어 비하전된 연결 (예를 들어, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카르바메이트 등) 및 하전된 연결 (예를 들어, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)을 갖는 것, 펜던트 모이어티, 예컨대, 예를 들어 단백질 (예를 들어, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩티드, 폴리-L-리신 등)을 함유하는 것, 삽입제 (예를 들어, 아크리딘, 프소랄렌 등)를 갖는 것, 킬레이트화제 (예를 들어, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화 금속 등)를 함유하는 것, 알킬화제를 함유하는 것, 변형된 연결 (예를 들어, 알파 아노머 핵산 등)을 갖는 것, 뿐만 아니라 폴리뉴클레오티드(들)의 비변형된 형태를 포함한다. 추가로, 당에 통상적으로 존재하는 임의의 히드

록실 기는, 예를 들어 포스포네이트 기, 포스페이트 기에 의해 대체될 수 있거나, 표준 보호기에 의해 보호될 수 있거나, 또는 추가의 뉴클레오티드에 대한 추가의 연결을 제조하기 위해 활성화될 수 있거나, 또는 고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 인산화되거나 또는 아민 또는 1 내지 20개의 탄소 원자의 유기 캡핑 기 모이어티로 치환될 수 있다. 다른 히드록실이 또한 표준 보호 기로 유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 또한, 예를 들어 2'-O-메틸-, 2'-O-알릴, 2'-플루오로- 또는 2'-아지도-리보스, 카르보시클릭 당 유사체, 알파- 또는 베타-아노머 당, 에피머 당, 예컨대 아라비노스, 크실로스 또는 락토스, 피라노스 당, 푸라노스 당, 세도헵톨로스, 비-시클릭 유사체 및 무염기성 뉴클레오시드 유사체, 예컨대 메틸 리보시드를 포함한, 일반적으로 관련 기술분야에 공지된 리보스 또는 데옥시리보스 당의 유사한 형태를 함유할 수 있다. 1개 이상의 포스포디에스테르 연결은 대안적 연결기에 의해 대체될 수 있다. 이들 대안적 연결 기는 포스페이트가 P(O)S ("티오에이트"), P(S)S ("디티오에이트"), (O)NR<sub>2</sub> ("아미데이트"), P(O)R, P(O)OR', CO 또는 CH<sub>2</sub> ("포름아세탈")에 의해 대체된 실시양태를 포함하나 이에 제한되지는 않으며, 여기서 각각의 R 또는 R'는 독립적으로 H 또는 임의로 에테르 (-O-) 연결을 함유하는 치환 또는 비치환된 알킬 (1-20 C), 아릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 아르알딜이다. 폴리뉴클레오티드 내의 모든 연결이 동일할 필요는 없다. 상기 설명은 RNA 및 DNA를 포함한, 본원에 언급된 모든 폴리뉴클레오티드에 적용된다.

- [0093] 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 항체의 "불변 영역"은 항체 경쇄의 불변 영역 또는 항체 중쇄의 불변 영역을 단독으로 또는 조합하여 지칭한다.
- [0094] 본원에 사용된 "실질적으로 순수한"은 적어도 50% 순수한 (즉, 오염물이 없는), 보다 바람직하게는 적어도 90% 순수한, 보다 바람직하게는 적어도 95% 순수한, 보다 더 바람직하게는 적어도 98% 순수한, 가장 바람직하게는 적어도 99% 순수한 물질을 지칭한다.
- [0095] "숙주 세포"는 폴리뉴클레오티드 삽입물의 혼입을 위한 벡터(들)에 대한 수용자일 수 있거나 수용자였던 개별 세포 또는 세포 배양물을 포함한다. 숙주 세포는 단일 숙주 세포의 자손을 포함하고, 자손은 자연적, 우발적 또는 고의적 돌연변이로 인해 원래 모 세포와 (형태 또는 게놈 DNA 상보체 면에서) 반드시 완전히 동일하지는 않을 수 있다. 숙주 세포는 본 발명의 폴리뉴클레오티드(들)로 생체내 형질감염된 세포를 포함한다.
- [0096] 관련 기술분야에 공지된 바와 같이, 용어 "Fc 영역"은 이뮤노글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는데 사용된다. "Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역 또는 변이체 Fc 영역일 수 있다. 이뮤노글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 달라질 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 통상적으로 위치 Cys226에서의 아미노산 잔기로부터 또는 Pro230으로부터 그의 카르복실-말단까지의 스트레치로 정의된다. Fc 영역 내의 잔기의 넘버링은 카바트에서와 같은 EU 인덱스의 넘버링이다. 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991]. 이뮤노글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 영역 CH2 및 CH3을 포함한다.
- [0097] 관련 기술분야에 사용된 "Fc 수용체" 및 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기재한다. 바람직한 FcR은 천연 서열 인간 FcR이다. 더욱이, 바람직한 FcR은 IgG 항체 (감마 수용체)에 결합하고, Fc $\gamma$ RI, Fc $\gamma$ RRII 및 Fc $\gamma$ RRIII 하위부류의 수용체 (이들 수용체의 대립유전자 변이체 및 대안적으로 스플라이싱된 형태 포함)를 포함하는 것이다. Fc $\gamma$ RRII 수용체는 Fc $\gamma$ RRIIA ("활성화 수용체") 및 Fc $\gamma$ RRIIB ("억제 수용체")를 포함하며, 이들은 주로 세포질 도메인에서 상이한 유사한 아미노산 서열을 갖는다. FcR은 문헌 [Ravetch and Kinet, Ann. Rev. Immunol., 9:457-92, 1991; Capel et al., Immunomethods, 4:25-34, 1994; 및 de Haas et al., J. Lab. Clin. Med., 126:330-41, 1995]에서 검토된다. "FcR"은 또한 모체 IgG의 태아로의 전달을 담당하는 신생아 수용체 FcRn을 포함한다 (문헌 [Guyer et al., J. Immunol., 117:587, 1976; 및 Kim et al., J. Immunol., 24:249, 1994]).
- [0098] 항체와 관련하여 본원에 사용된 용어 "경쟁하다"는 제1 항체 또는 그의 항원 결합 단편 (또는 부분)이 제2 항체 또는 그의 항원 결합 부분의 결합과 충분히 유사한 방식으로 에피토프에 결합하여, 제1 항체와 그의 동족 에피토프의 결합의 결과가 제2 항체의 부재 하의 제1 항체의 결합과 비교하여 제2 항체의 존재 하에 검출가능하게 감소되는 것을 의미한다. 제2 항체의 그의 에피토프에 대한 결합이 또한 제1 항체의 존재 하에 검출가능하게 감소되는 대안도 이 경우에 해당될 수 있지만 반드시 그러할 필요는 없다. 즉, 제2 항체가 제1 항체의 그의 각각의 에피토프에 대한 결합을 억제하지 않으면서 제1 항체가 제2 항체의 그의 에피토프에 대한 결합을 억제할 수 있다. 그러나, 각각의 항체가 다른 항체와 그의 동족 에피토프 또는 리간드의 결합을 동일한 정도이든, 더 큰 정도이든 또는 더 적은 정도이든 검출가능하게 억제하는 경우에, 항체는 그의 각각의 에피토프(들)의 결합에 대해 서로 "교차-경쟁"하는 것으로 언급된다. 경쟁 및 교차-경쟁 항체 둘 다가 본 발명에 포괄된다. 이러한

경쟁 또는 교차-경쟁이 일어나는 메카니즘 (예를 들어, 입체 장애, 입체형태적 변화 또는 공통 에피토프 또는 그의 부분에 대한 결합)에 상관없이, 통상의 기술자는 본원에 제공된 교시에 기초하여, 이러한 경쟁 및/또는 교차-경쟁 항체가 포괄되고 본원에 개시된 방법에 유용할 수 있음을 인지할 것이다.

[0099] "기능적 Fc 영역"은 천연 서열 Fc 영역의 적어도 1개의 이펙터 기능을 보유한다. 예시적인 "이펙터 기능"은 C1q 결합; 보체 의존성 세포독성; Fc 수용체 결합; 항체-의존성 세포-매개 세포독성; 식세포작용; 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체)의 하향-조절 등을 포함한다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인 (예를 들어, 항체 가변 도메인)과 조합될 것을 요구하고, 이러한 항체 이펙터 기능을 평가하기 위해 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정을 사용하여 평가될 수 있다.

[0100] "천연 서열 Fc 영역"은 자연에서 발견되는 Fc 영역의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다. "변이체 Fc 영역"은 적어도 1개의 아미노산 변형에 의해 천연 서열 Fc 영역의 것과 상이하지만 천연 서열 Fc 영역의 적어도 1개의 이펙터 기능을 보유하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 실시양태에서, 변이체 Fc 영역은 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과 비교하여 적어도 1개의 아미노산 치환, 예를 들어 천연 서열 Fc 영역 또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역에서 약 1 내지 약 10개의 아미노산 치환, 바람직하게는 약 1 내지 약 5개의 아미노산 치환을 갖는다. 본원에서 변이체 Fc 영역은 바람직하게는 천연 서열 Fc 영역 및/또는 모 폴리펩티드의 Fc 영역과 적어도 약 80% 서열 동일성, 가장 바람직하게는 적어도 약 90% 서열 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99% 서열 동일성을 가질 것이다.

[0101] 용어 "이펙터 기능"은 항체의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 이펙터 기능의 예는 항체-의존성 세포-매개 세포독성 (ADCC), Fc 수용체 결합, 보체 의존성 세포독성 (CDC), 식세포작용, C1q 결합 및 세포 표면 수용체 (예를 들어, B 세포 수용체; BCR)의 하향 조절을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,737,056을 참조한다. 이러한 이펙터 기능은 일반적으로 Fc 영역이 결합 도메인 (예를 들어, 항체 가변 도메인)과 조합될 것을 요구하고, 이러한 항체 이펙터 기능을 평가하기 위해 관련 기술분야에 공지된 다양한 검정을 사용하여 평가될 수 있다. 이펙터 기능의 예시적인 측정은 Fc $\gamma$ 3 및/또는 C1q 결합을 통한 것이다.

[0102] 본원에 사용된 "항체-의존성 세포-매개 세포독성" 또는 "ADCC"는 Fc 수용체 (FcR)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포 (예를 들어, 자연 킬러 (NK) 세포, 호중구 및 대식세포)가 표적 세포 상의 결합된 항체를 인식하고 후속적으로 표적 세포의 용해를 유발하는 세포-매개 반응을 지칭한다. 관심 분자의 ADCC 활성은 시험관내 ADCC 검정, 예컨대 미국 특허 번호 5,500,362 또는 5,821,337에 기재된 것을 사용하여 평가될 수 있다. 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 NK 세포를 포함한다. 대안적으로 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어 문헌 [Clynes et al., 1998, PNAS (USA), 95:652-656]에 개시된 바와 같은 동물 모델에서 평가될 수 있다.

[0103] "보체 의존성 세포독성" 또는 "CDC"는 보체의 존재 하에 표적을 용해시키는 것을 지칭한다. 보체 활성화 경로는 보체계의 제1 성분 (C1q)이 동족 항원과 복합체화된 분자 (예를 들어, 항체)에 결합함으로써 개시된다. 보체 활성화를 평가하기 위하여, 예를 들어 문헌 [Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods, 202: 163 (1996)]에 기재된 바와 같은 CDC 검정이 수행될 수 있다.

[0104] 본원에 사용된 "치료"는 유익하거나 목적하는 임상 결과를 수득하기 위한 접근법이다. 본 발명의 목적상, 유익하거나 목적하는 임상 결과는 하기 중 1개 이상을 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 신생물성 또는 암성 세포의 증식의 감소 (또는 파괴), 신생물성 세포의 전이의 억제, B7-H4 연관 질환 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환)의 완화, B7-H4 연관 질환 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환)으로 인한 증상의 감소, B7-H4 연관 질환 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환)을 앓고 있는 자의 삶의 질의 증가, B7-H4 연관 질환 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환)을 치료하는데 요구되는 다른 의약의 용량의 감소, B7-H4 연관 질환 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환)의 진행의 지연, B7-H4 연관 질환 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환)의 치유 및/또는 B7-H4 연관 질환 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환)을 갖는 환자의 생존 연장.

[0105] "호전"은 B7-H4 항체 또는 B7-H4 항체 접합체를 투여하지 않는 것과 비교하여 1종 이상의 증상의 경감 또는 개선을 의미한다. "호전"은 또한 증상의 지속기간의 단축 또는 감소를 포함한다.

[0106] 본원에 사용된 바와 같은, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 "유효 투여량" 또는 "유효량"은 임의의 1개 이상의 유익하거나 목적하는 결과를 가져오기에 충분한 양이다. 예방적 사용의 경우에, 유익하거나 목적하는 결과는 질환의 생화학적, 조직학적 및/또는 행동 증상, 그의 합병증 및 질환의 발생 동안 나타나는 중간 병리학적 표현

형을 포함한 질환의 위험을 제거 또는 감소시키거나, 그의 중증도를 경감시키거나 또는 그의 발병을 지연시키는 것을 포함한다. 치료적 사용의 경우에, 유익하거나 목적하는 결과는 다양한 B7-H4-연관 질환 또는 상태 (예컨대 암)의 1종 이상의 증상의 발생률 감소 또는 호전, 질환을 치료하는데 요구되는 다른 의약의 용량 감소, 또 다른 의약의 효과 증진 및/또는 환자의 B7-H4-연관 질환의 진행 지연과 같은 임상 결과를 포함한다. 유효 투여량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 본 발명의 목적상, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효 투여량은 예방적 또는 치유적 치료를 직접적으로 또는 간접적으로 달성하기에 충분한 양이다. 임상 상황에서 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물 또는 제약 조성물의 유효 투여량은 또 다른 약물, 화합물 또는 제약 조성물과 함께 달성될 수 있거나 그렇지 않을 수 있다. 따라서, "유효 투여량"은 1종 이상의 치료제의 투여와 관련하여 고려될 수 있고, 단일 작용제는 1종 이상의 다른 작용제와 함께 바람직한 결과가 달성될 수 있거나 달성되는 경우에 유효량으로 주어지는 것으로 간주될 수 있다.

- [0107] "개체" 또는 "대상체"는 포유동물, 보다 바람직하게는 인간이다. 포유동물은 또한 농장 동물, 스포츠 동물, 애완동물, 영장류, 말, 개, 고양이, 마우스 및 래트를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0108] 본원에 사용된 "백터"는 숙주 세포에 1개 이상의 관심 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달할 수 있는, 바람직하게는 이를 발현시킬 수 있는 구축물을 의미한다. 백터의 예는 바이러스 백터, 네이키드 DNA 또는 RNA 발현 백터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 백터, 양이온성 축합제와 회합된 DNA 또는 RNA 발현 백터, 리포솜에 캡슐화된 DNA 또는 RNA 발현 백터, 및 특정 진행 세포, 예컨대 생산자 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0109] 본원에 사용된 "발현 제어 서열"은 핵산의 전사를 지시하는 핵산 서열을 의미한다. 발현 제어 서열은 프로모터, 예컨대 구성적 또는 유도성 프로모터, 또는 인핸서일 수 있다. 발현 제어 서열은 전사될 핵산 서열에 작동가능하게 연결된다.
- [0110] 본원에 사용된 "제약상 허용되는 담체" 또는 "제약상 허용되는 부형제"는 활성 성분과 조합되는 경우에 성분이 생물학적 활성을 유지하도록 하고 대상체의 면역계와 비-반응성인 임의의 물질을 포함한다. 예는 임의의 표준 제약 담체, 예컨대 포스페이트 완충 염수 용액, 물, 에멀전, 예컨대 오일/물 에멀전 및 다양한 유형의 습윤제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 에어로졸 또는 비경구 투여를 위한 바람직한 희석제는 포스페이트 완충 염수 (PBS) 또는 생리 (0.9%) 염수이다. 이러한 담체를 포함하는 조성물은 널리 공지된 통상적인 방법에 의해 제제화된다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th edition, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; 및 Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005] 참조).
- [0111] 본원에 사용된 용어 " $k_{on}$ " 또는 " $k_a$ "는 항원에의 항체 회합에 대한 속도 상수를 지칭한다. 구체적으로, 속도 상수 ( $k_{on}/k_a$  및  $k_{off}/k_d$ ) 및 평형 해리 상수는 전체 항체 (즉, 2가) 및 단량체 B7-H4 단백질을 사용하여 측정된다.
- [0112] 본원에 사용된 용어 " $k_{off}$ " 또는 " $k_d$ "는 항체/항원 복합체로부터의 항체 해리에 대한 속도 상수를 지칭한다.
- [0113] 본원에 사용된 용어 " $K_D$ "는 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭한다.
- [0114] 본원에서 "약" 값 또는 파라미터에 대한 언급은 그 값 또는 파라미터 자체에 관한 실시양태를 포함 (및 기재)한다. 예를 들어, "약 X"를 언급하는 기재는 "X"의 기재를 포함한다. 수치 범위는 범위를 정의하는 숫자를 포함한다.
- [0115] 실시양태가 본원에서 용어 "포함하는"으로 기재되는 모든 경우에, "로 이루어진" 및/또는 "로 본질적으로 이루어진"의 용어로 기재된 다른 유사한 실시양태가 또한 제공되는 것으로 이해된다.
- [0116] 본 발명의 측면 또는 실시양태가 마쿠쉬 군 또는 다른 대안적 군의 면에서 기재되는 경우에, 본 발명은 전체로서 열거된 전체 군, 뿐만 아니라 개별적으로 군의 각각의 구성원 및 주요 군의 모든 가능한 하위군, 뿐만 아니라 군 구성원 중 하나 이상이 부재하는 주요 군을 포괄한다. 본 발명은 또한 청구된 발명에서 임의의 군 구성원 중 하나 이상의 명백한 배제를 고려한다.
- [0117] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술 과학 용어는 본 발명이 속하는 관련 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 바와 동일한 의미를 갖는다. 상충되는 경우에, 정의를 포함한 본 명세서가 우선할 것이다. 본 명세서 및 청구범위 전반에 걸쳐, 단어 "포함하다", 또는 "포함한다" 또는 "포함하는"과 같은 변형은 언급된 정수 또는 정수의 군을 포함하지만 임의의 다른 정수 또는 정수의 군을 배제하지 않는다는 것을 암시하는 것으로 이해될 것이다. 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 단수 용어는 복수를 포함할 것이고, 복수 용

어는 단수를 포함할 것이다.

[0118] 예시적인 방법 및 물질이 본원에 기재되지만, 본원에 기재된 것과 유사하거나 동등한 방법 및 물질이 또한 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있다. 물질, 방법 및 예는 단지 예시적이며, 제한적인 것으로 의도되지 않는다.

[0119] 항체의 일반적 제조 방법

[0120] 표적 항원, 예를 들어 본 발명에서 B7-H4에 특이적으로 결합하는 인간 및 마우스 항체의 생산을 위한 일반적 기술은 관련 기술분야에 공지되어 있고/거나 본원에 기재되어 있다.

[0121] 파지 디스플레이:

[0122] 일부 실시양태에서, 항체는 파지 디스플레이 기술에 의해 제조 및 선택될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,565,332; 5,580,717; 5,733,743; 및 6,265,150; 및 문헌 [Winter et al., *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-455, 1994]을 참조한다. 대안적으로, 파지 디스플레이 기술 (McCafferty et al., *Nature* 348:552-553, 1990)을 사용하여 비면역화된 공여자의 이뮤노글로불린 가변 (V) 도메인 유전자 레퍼토리로 부터 인간 항체 및 항체 단편을 시험관내 생산할 수 있다. 이러한 기술에 따라, 항체 V 도메인 유전자를 사상 박테리오파지, 예컨대 M13 또는 fd의 주요 또는 부차적 코트 단백질 유전자 내로 인-프레임으로 클로닝하고, 파지 입자의 표면 상에 기능적 항체 단편으로서 디스플레이한다. 사상 입자는 파지 게놈의 단일-가닥 DNA 카피를 함유하기 때문에, 항체의 기능적 특성에 기초한 선택은 또한 이들 특성을 나타내는 항체를 코딩하는 유전자의 선택을 가져온다. 따라서, 파지는 B 세포의 특성의 일부를 모방한다. 파지 디스플레이는 다양한 포맷으로 수행될 수 있으며; 검토를 위해, 예를 들어 문헌 [Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., *Current Opinion in Structural Biology* 3:564-571, 1993]을 참조한다. V-유전자 절편의 여러 공급원이 파지 디스플레이에 사용될 수 있다. 문헌 [Clackson et al., *Nature* 352:624-628, 1991]은 면역화된 마우스의 비장으로부터 유래된 V 유전자의 소형 무작위 조합 라이브러리로부터 다양한 어레이의 항-옥사졸론 항체를 단리하였다. 인간 공여자로부터의 V 유전자의 레퍼토리가 구축될 수 있고, 다양한 어레이의 항원 (자기-항원 포함)에 대한 항체는 본질적으로 문헌 [Mark et al., *J. Mol. Biol.* 222:581-597, 1991, 또는 Griffith et al., *EMBO J.* 12:725-734, 1993]에 기재된 기술에 따라 단리될 수 있다. 자연 면역 반응에서, 항체 유전자는 돌연변이를 높은 비율로 축적한다 (체세포 과다돌연변이). 도입된 변화 중 일부는 보다 높은 친화도를 부여할 것이고, 고친화도 표면 이뮤노글로불린을 디스플레이하는 B 세포는 후속 항원 켈린지 동안 우선적으로 복제 및 분화된다. 이러한 자연 과정은 "선택 서플링"으로 공지된 기술을 사용함으로써 모방될 수 있다 (Marks et al., *Bio/Technol.* 10:779-783, 1992). 이 방법에서, 파지 디스플레이에 의해 수득된 "1차" 인간 항체의 친화도는 중쇄 및 경쇄 V 영역 유전자를 비면역화된 공여자로부터 수득된 V 도메인 유전자의 자연 발생 변이체의 레퍼토리 (레퍼토리)로 순차적으로 대체함으로써 개선될 수 있다. 이러한 기술은 pM-nM 범위의 친화도를 갖는 항체 및 항체 단편의 생산을 가능하게 한다. 매우 큰 파지 항체 레퍼토리 ("모든 라이브러리의 모체"로도 공지됨)를 제조하기 위한 전략은 문헌 [Waterhouse et al., *Nucl. Acids Res.* 21:2265-2266, 1993]에 기재되어 있다. 유전자 서플링은 또한 설치류 항체로부터 인간 항체를 유도하는데 사용될 수 있으며, 여기서 인간 항체는 출발 설치류 항체와 유사한 친화도 및 특이성을 갖는다. "에피토프 각인"으로도 지칭되는 이 방법에 따라, 파지 디스플레이 기술에 의해 수득된 설치류 항체의 중쇄 또는 경쇄 V 도메인 유전자를 인간 V 도메인 유전자의 레퍼토리로 대체하여 설치류-인간 키메라를 생성한다. 항원에 대한 선택은 기능적 항원-결합 부위를 회복시킬 수 있는 인간 가변 영역의 단리를 가져오며, 즉 에피토프가 파트너의 선택을 좌우 (각인)한다. 나머지 설치류 V 도메인을 대체하기 위해 과정을 반복하는 경우에, 인간 항체가 수득된다 (PCT 공개 번호 WO 93/06213 참조). CDR 그래프팅에 의한 설치류 항체의 전통적인 인간화와는 달리, 이 기술은 설치류 기원의 프레임워크 또는 CDR 잔기를 갖지 않는 완전 인간 항체를 제공한다.

[0123] 하이브리도마 기술:

[0124] 일부 실시양태에서, 항체는 하이브리도마 기술을 사용하여 제조될 수 있다. 인간을 포함한 임의의 포유동물 대상체 또는 그로부터의 항체 생산 세포는 인간을 포함한 포유동물 하이브리도마 세포주의 생산을 위한 기초로서의 역할을 하도록 조작될 수 있는 것으로 고려된다. 숙주 동물의 면역화 경로 및 스케줄은 일반적으로 본원에 추가로 기재된 바와 같은 항체 자극 및 생산을 위한 확립된 통상적인 기술에 따른다. 전형적으로, 숙주 동물에게 소정 양의 본원에 기재된 바와 같은 것을 포함한 면역원을 복강내로, 근육내로, 경구로, 피하로, 족저내로 및/또는 피내로 접종한다.

[0125] 하이브리도마는 문헌 [Kohler, B. and Milstein, C., 1975, *Nature* 256:495-497]의 일반적 체세포 혼성화 기술

을 사용하여 또는 문헌 [Buck, D. W., et al., *In Vitro*, 18:377-381, 1982]에 의해 변형된 바와 같이 림프구 및 불멸화 골수종 세포로부터 제조될 수 있다. X63-Ag8.653 및 솔크 인스티튜트, 셀 디스트리뷰션 센터(Salk Institute, Cell Distribution Center) (미국 캘리포니아주 샌디에고)로부터의 것을 포함하나 이에 제한되지는 않는 이용가능한 골수종 세포주가 혼성화에 사용될 수 있다. 일반적으로, 상기 기술은 폴리에틸렌 글리콜과 같은 푸소젠을 사용하여 또는 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 전기적 수단에 의해 골수종 세포와 림프성 세포를 융합시키는 것을 수반한다. 융합 후, 세포를 융합 배지로부터 분리하고, 선택적 성장 배지, 예컨대 하이포크산틴-아미노프테린-티미딘 (HAT) 배지에서 성장시켜 비혼성화된 모 세포를 제거한다. 혈청이 보충되거나 보충되지 않은 본원에 기재된 임의의 배지가 모노클로날 항체를 분비하는 하이브리도마를 배양하는데 사용될 수 있다. 세포 융합 기술에 대한 또 다른 대안으로서, EBV 불멸화 B 세포가 본 발명의 B7-H4 모노클로날 항체를 생산하는데 사용될 수 있다. 하이브리도마 또는 다른 불멸화 B-세포는 원하는 경우에 확장 및 서브클로닝되고, 상청액은 통상적인 면역검정 절차 (예를 들어, 방사선면역검정, 효소 면역검정 또는 형광 면역검정)에 의해 항-면역원 활성화에 대해 검정된다.

[0126] 항체의 공급원으로서 사용될 수 있는 하이브리도마는 표적 항원, 예를 들어 B7-H4 또는 그의 부분에 특이적인 모노클로날 항체를 생산하는 모 하이브리도마의 모든 유도체, 자손 세포를 포괄한다.

[0127] 이러한 항체를 생산하는 하이브리도마는 공지된 절차를 사용하여 시험관내 또는 생체내에서 성장시킬 수 있다. 모노클로날 항체는 원하는 경우에 통상적인 이뮤노글로불린 정제 절차, 예컨대 황산암모늄 침전, 겔 전기영동, 투석, 크로마토그래피 및 한외여과에 의해 배양 배지 또는 체액으로부터 분리될 수 있다. 목적하지 않는 활성은, 존재하는 경우에, 예를 들어 고체 상에 부착된 면역원으로 제조된 흡착제 상에 체제를 전개시키고, 목적하는 항체를 면역원으로부터 용리 또는 방출시킴으로써 제거될 수 있다. 이관능성 작용제 또는 유도체화제, 예를 들어 말레이미도벤조일 술포숙신이미드 에스테르 (시스테인 잔기를 통한 접합), N-히드록시숙신이미드 (리신 잔기를 통한), 글루타르알데히드, 숙신산 무수물,  $\text{SOCl}_2$  또는  $\text{R}^1\text{N}=\text{C}=\text{NR}$  (여기서 R 및  $\text{R}^1$ 은 상이한 알킬 기임)을 사용하여, 면역화될 중에서 면역원성인 단백질, 예를 들어 키홀 림프 헤모시아닌, 혈청 알부민, 소 티로글로불린 또는 대두 트립신 억제제에 접합된 표적 아미노산 서열을 함유하는 항원, 예를 들어 B7-H4 폴리펩티드 또는 단편으로 숙주 동물을 면역화시켜 항체 (예를 들어, 모노클로날 항체)의 집단을 생성할 수 있다.

[0128] 재조합 항체

[0129] 원하는 경우에, 관심 항체 (모노클로날 또는 폴리클로날), 예를 들어 하이브리도마 기술 하에 생성된 항체는 서열분석될 수 있고, 이어서 폴리뉴클레오티드 서열이 발현 또는 증식을 위해 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 관심 항체를 코딩하는 서열은 숙주 세포에서 벡터 내에 유지될 수 있고, 이어서 숙주 세포가 향후 사용을 위해 확장 및 동결될 수 있다. 세포 배양물에서의 재조합 모노클로날 항체의 생산은 관련 기술분야에 공지된 수단에 의해 B 세포로부터 항체 유전자를 클로닝함으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Tiller et al., 2008, *J. Immunol. Methods* 329, 112]; 미국 특허 번호 7,314,622를 참조한다.

[0130] 일부 실시양태에서, 폴리뉴클레오티드 서열은 항체를 "인간화"시키거나 또는 항체의 친화도 또는 다른 특징을 개선시키기 위한 유전자 조작에 사용될 수 있다. 항체는 또한, 예를 들어 개, 고양이, 영장류, 말 및 소에서 사용하기 위해 맞춤화될 수 있다.

[0131] 일부 실시양태에서, 완전 인간 항체는 특이적 인간 이뮤노글로불린 단백질을 발현하도록 조작된 상업적으로 입수가능한 마우스를 사용함으로써 획득될 수 있다. 보다 바람직한 (예를 들어, 완전 인간 항체) 또는 보다 강건한 면역 반응을 생성하도록 설계된 트랜스제닉 동물이 또한 인간화 또는 인간 항체의 생성을 위해 사용될 수 있다. 이러한 기술의 예는 아브게닉스, 인크.(Abgenix, Inc.) (캘리포니아주 프리몬트)로부터의 제노마우스 (Xenomouse)<sup>TM</sup> 및 메다렉스, 인크.(Medarex, Inc.) (뉴저지주 프린스턴)로부터의 HuMAb-마우스(HuMAb-Mouse)<sup>®</sup> 및 TC 마우스(TC Mouse)<sup>TM</sup>이다.

[0132] 먼저 숙주 동물로부터 항체 및 항체 생산 세포를 분리하고, 유전자 서열을 획득하고, 유전자 서열을 사용하여 숙주 세포 (예를 들어, CHO 세포)에서 항체를 재조합적으로 발현시킴으로써 항체가 재조합적으로 제조될 수 있다. 사용될 수 있는 또 다른 방법은 식물 (예를 들어, 담배) 또는 트랜스제닉 밀크에서 항체 서열을 발현시키는 것이다. 식물 또는 밀크에서 항체를 재조합적으로 발현시키는 방법이 개시되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Peeters, et al. *Vaccine* 19:2756, 2001; Lonberg, N. and D. Huszar *Int. Rev. Immunol* 13:65, 1995; 및 Pollock, et al., *J Immunol Methods* 231:147, 1999]을 참조한다. 항체의 유도체, 예를 들어 도메인, 단일쇄 등을 제조하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다.

- [0133] 면역검정 및 유동 세포측정법 분류 기술, 예컨대 형광 활성화 세포 분류 (FACS)가 또한 표적 항원, 예를 들어 B7-H4에 특이적인 항체를 단리하는데 사용될 수 있다.
- [0134] 모노클로날 항체를 코딩하는 DNA는 통상적인 절차를 사용하여 (예를 들어, 모노클로날 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용함으로써) 용이하게 단리되고 서열분석된다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 바람직한 공급원으로서의 역할을 한다. 단리되면, DNA는 발현 벡터 (예컨대 PCT 공개 번호 WO 87/04462에 개시된 발현 벡터) 내로 배치될 수 있고, 이어서 달리 이뮤노글로불린 단백질을 생산하지 않는 숙주 세포, 예컨대 이. 콜라이 세포, 원숭이 COS 세포, 차이니즈 햄스터 난소 (CHO) 세포 또는 골수종 세포 내로 형질감염되어, 재조합 숙주 세포에서의 모노클로날 항체의 합성이 얻어진다. 예를 들어, PCT 공개 번호 WO 87/04462를 참조한다. DNA는 또한, 예를 들어 코딩 서열을 상동 뮤린 서열 대신 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인으로 치환시키거나 (Morrison et al., Proc. Nat. Acad. Sci. 81:6851, 1984), 또는 이뮤노글로불린 코딩 서열에 비-이뮤노글로불린 폴리펩티드에 대한 코딩 서열의 모두 또는 일부를 공유 연결함으로써 변형될 수 있다. 이러한 방식으로, 표적 항원, 예를 들어 B7-H4에 대한 결합 특이성을 갖는 "키메라" 또는 "하이브리드" 항체가 제조된다.
- [0135] 항체 단편은 항체의 단백질분해 또는 다른 분해에 의해, 상기 기재된 바와 같은 재조합 방법 (즉, 단일 또는 융합 폴리펩티드)에 의해 또는 화학적 합성에 의해 생산될 수 있다. 항체의 폴리펩티드, 특히 최대 약 50개 아미노산의 보다 짧은 폴리펩티드가 화학적 합성에 의해 편리하게 제조된다. 화학적 합성 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있고, 상업적으로 입수가 가능하다. 예를 들어, 항체는 고체 상 방법을 사용하여 자동화 폴리펩티드 합성기에 의해 생산될 수 있다. 또한, 미국 특허 번호 5,807,715; 4,816,567; 및 6,331,415를 참조한다.
- [0136] 재조합 항체 - 친화도 성숙
- [0137] 항체는 일반적으로 친화도 성숙으로 공지된 방법에 의해 변형될 수 있다. 예를 들어, 친화도 성숙 항체는 관련 기술분야에 공지된 절차에 의해 생산될 수 있다 (Marks et al., 1992, Bio/Technology, 10:779-783; Barbas et al., 1994, Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813; Schier et al., 1995, Gene, 169:147-155; Yelton et al., 1995, J. Immunol., 155:1994-2004; Jackson et al., 1995, J. Immunol., 154(7):3310-9; Hawkins et al., 1992, J. Mol. Biol., 226:889-896; 및 PCT 공개 번호 W02004/058184).
- [0138] 항체의 친화도를 조정하고 CDR을 특징화하기 위해 하기 방법이 사용될 수 있다. 항체의 CDR을 특징화하고/거나 폴리펩티드, 예컨대 항체의 결합 친화도를 변경 (예컨대 개선)시키는 한 방식은 "라이브러리 스캐닝 돌연변이유발"로 지칭된다. 일반적으로, 라이브러리 스캐닝 돌연변이유발은 하기와 같이 수행된다. 관련 기술분야에 인식된 방법을 사용하여 CDR 내의 1개 이상의 아미노산 위치를 2개 이상 (예컨대 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개)의 아미노산으로 대체한다. 이는 클론의 소형 라이브러리 (일부 실시양태에서, 분석되는 모든 아미노산 위치에 대해 하나)를 생성하며, (모든 위치에서 2개 이상의 아미노산이 치환되는 경우) 각각은 2개 이상의 구성원의 복잡성을 갖는다. 일반적으로, 라이브러리는 또한 천연 (비치환된) 아미노산을 포함하는 클론을 포함한다. 각각의 라이브러리로부터의 소수의 클론, 예를 들어 약 20-80개의 클론 (라이브러리의 복잡성에 좌우됨)을 표적 폴리펩티드 (또는 다른 결합 표적)에의 결합 친화도에 대해 스크리닝하고, 결합이 증가되거나, 동일하거나, 감소되거나 또는 전혀 없는 후보를 확인한다. 결합 친화도를 결정하는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 결합 친화도는, 예를 들어 약 2배 이상의 결합 친화도의 차이를 검출하는 비아코어(Biacore)<sup>TM</sup> 표면 플라즈몬 공명 분석, 키넥사(Kinexa)<sup>®</sup> 바이오센서, 섬광 근접 검정, ELISA, 오리젠(ORIGEN)<sup>®</sup> 면역검정, 형광 쉐칭, 형광 전달 및/또는 효모 디스플레이를 사용하여 결정될 수 있다. 결합 친화도는 또한 적합한 생물검정을 사용하여 스크리닝될 수 있다. 비아코어<sup>TM</sup>는 출발 항체가 이미 비교적 높은 친화도, 예를 들어 약 10 nM 이하의  $K_D$ 로 결합하는 경우에 특히 유용하다.
- [0139] 일부 실시양태에서, CDR 내의 모든 아미노산 위치는 관련 기술분야에 인식된 돌연변이유발 방법 (이들 중 일부는 본원에 기재됨)을 사용하여 모든 20개의 천연 아미노산으로 대체된다 (일부 실시양태에서, 한 번에 하나씩). 이는 클론의 소형 라이브러리 (일부 실시양태에서, 분석되는 모든 아미노산 위치에 대해 하나)를 생성하며, (모든 위치에서 모든 20개의 아미노산이 치환되는 경우) 각각은 20개의 구성원의 복잡성을 갖는다.
- [0140] 일부 실시양태에서, 스크리닝될 라이브러리는 동일한 CDR 또는 2개 이상의 CDR에 있을 수 있는 2개 이상의 위치에서의 치환을 포함한다. 따라서, 라이브러리는 1개의 CDR 내의 2개 이상의 위치에서의 치환을 포함할 수 있다. 라이브러리는 2개 이상의 CDR 내의 2개 이상의 위치에서의 치환을 포함할 수 있다. 라이브러리는 3, 4, 5개 또는 그 초과 위치에서의 치환을 포함할 수 있으며, 상기 위치는 2, 3, 4, 5 또는 6개의 CDR에서 발견된

다. 치환은 낮은 중복 코돈을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Balint et al., 1993, Gene 137 (1):109-18]의 표 2를 참조한다.

- [0141] CDR은 중쇄 가변 영역 (VH) CDR3 및/또는 경쇄 가변 영역 (VL) CDR3일 수 있다. CDR은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및/또는 VL CDR3 중 1개 이상일 수 있다. CDR은 카바트 CDR, 코티아 CDR, 연장된 CDR, AbM CDR, 접촉 CDR 또는 입체형태적 CDR일 수 있다.
- [0142] 개선된 결합을 갖는 후보를 서열분석함으로써, 개선된 친화도를 생성하는 CDR 치환 돌연변이체 ("개선된" 치환으로도 지칭됨)를 확인할 수 있다. 결합하는 후보를 또한 서열분석함으로써, 결합을 보유하는 CDR 치환을 확인할 수 있다.
- [0143] 다수 라운드의 스크리닝이 수행될 수 있다. 예를 들어, 개선된 결합을 갖는 후보 (각각 1개 이상의 CDR의 1개 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함함)는 또한 각각의 개선된 CDR 위치 (즉, 치환 돌연변이체가 개선된 결합을 나타내는 CDR 내의 아미노산 위치)에서 적어도 원래 아미노산 및 치환된 아미노산을 함유하는 제2 라이브러리의 설계에 유용하다. 이러한 라이브러리의 제조 및 스크리닝 또는 선택은 하기에 추가로 논의된다.
- [0144] 라이브러리 스캐닝 돌연변이유발은 또한, 개선된 결합, 동일한 결합 또는 감소된 결합을 나타내거나 결합을 전혀 나타내지 않는 클론의 빈도가 또한 항체-항원 복합체의 안정성에 대한 각각의 아미노산 위치의 중요성에 관한 정보를 제공하는 한, CDR을 특징화하기 위한 수단을 제공한다. 예를 들어, CDR의 위치가 모든 20개의 아미노산으로 변화된 경우에 결합을 보유한다면, 그 위치는 항원 결합에 요구될 가능성이 없는 위치로 확인된다. 반대로, CDR의 위치가 단지 적은 백분율의 치환에서만 결합을 보유하는 경우에, 그 위치는 CDR 기능에 중요한 위치로서 확인된다. 따라서, 라이브러리 스캐닝 돌연변이유발 방법은 많은 상이한 아미노산 (모든 20개의 아미노산 포함)으로 변화될 수 있는 CDR 내의 위치 및 변화될 수 없거나 단지 소수의 아미노산으로만 변화될 수 있는 CDR 내의 위치에 관한 정보를 생성한다.
- [0145] 개선된 친화도를 갖는 후보는 개선된 아미노산, 그 위치에서 원래 아미노산을 포함하는 제2 라이브러리에서 조합될 수 있고, 목적하는 스크리닝 또는 선택 방법을 사용하여 목적하는 또는 허용되는 라이브러리의 복잡성에 따라 그 위치에서 추가의 치환을 추가로 포함할 수 있다. 추가로, 원하는 경우에, 인접한 아미노산 위치는 적어도 2개 이상의 아미노산으로 무작위화될 수 있다. 인접한 아미노산의 무작위화는 돌연변이체 CDR에서 추가의 입체형태적 유연성을 허용할 수 있으며, 이는 다시, 보다 많은 수의 개선 돌연변이의 도입을 허용하거나 용이하게 할 수 있다. 라이브러리는 또한 제1 라운드의 스크리닝에서 개선된 친화도를 나타내지 않는 위치에서 치환을 포함할 수 있다.
- [0146] 제2 라이브러리는, 키넥사™ 바이오센서 분석을 사용한 스크리닝, 및 선택을 위한 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법 (과지 디스플레이, 효모 디스플레이 및 리보솜 디스플레이 포함)을 사용한 선택을 포함한, 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 개선되고/거나 변경된 결합 친화도를 갖는 라이브러리 구성원에 대해 스크리닝 또는 선택된다.
- [0147] 본 발명의 항체를 발현시키기 위해, VH 및 VL 영역을 코딩하는 DNA 단편이 먼저 상기 기재된 임의의 방법을 사용하여 수득될 수 있다. 다양한 변형, 예를 들어 돌연변이, 결실 및/또는 부가가 또한 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 표준 방법을 사용하여 DNA 서열 내로 도입될 수 있다. 예를 들어, 돌연변이유발은 표준 방법, 예컨대 PCR-매개 돌연변이유발을 사용하여 수행될 수 있으며, 여기서 돌연변이된 뉴클레오티드는 PCR 프라이머 내로 혼입되어 PCR 생성물이 목적하는 돌연변이 또는 부위-지정 돌연변이유발을 함유하도록 한다.
- [0148] 항체의 아미노산 서열은 항체의 특성에 유의하게 영향을 미치지 않는 기능적으로 동등한 가변 영역 및/또는 CDR 뿐만 아니라 증진 또는 감소된 활성 및/또는 친화도를 갖는 변이체를 포함하도록 변형될 수 있다. 이러한 변형의 예는 항체의 기능적 활성을 유의하게 유해하게 변화시키지 않거나 또는 항체의 그의 표적 항원에 대한 친화도를 성숙 (증진)시키는 아미노산 잔기의 보존적 치환, 아미노산의 1개 이상의 결실 또는 부가를 포함한다.
- [0149] 아미노산 서열 삽입은 길이 범위가 1개의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드에 이르는 아미노- 및/또는 카르복실-말단 융합, 뿐만 아니라 단일 또는 다수 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입물의 예는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 에피토프 태그에 융합된 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 혈액 순환시 항체의 반감기를 증가시키는 폴리펩티드 또는 효소가 항체의 N- 또는 C-말단에 융합된 것을 포함한다.
- [0150] 치환 변이체는 항체 분자 내의 적어도 1개의 아미노산 잔기가 그 자리에서 제거되고 상이한 잔기가 삽입된 것이다. 치환 돌연변이유발을 위한 가장 큰 관심 부위는 초가변 영역을 포함하지만, 프레임워크 변경이 또한 고려

된다. 보존적 치환은 표 1에 "보존적 치환"의 제목 하에 제시된다. 이러한 치환이 생물학적 활성의 변화를 유발한다면, 표 1에서 "예시적인 치환"으로 명명된 또는 아미노산 부류와 관련하여 하기 추가로 기재된 바와 같은 보다 실질적인 변화가 도입될 수 있고, 생성물이 스크리닝될 수 있다.

[0151] 표 1: 아미노산 치환

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

[0152]

[0153]

항체의 생물학적 특성에서의 실질적인 변형은 (a) 예를 들어 β-시트 또는 나선 입체형태로서의 치환 영역 내 폴리펩티드 백본의 구조, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 벌크를 유지하는 것에 대한 효과가 유의하게 상이한 치환을 선택함으로써 달성된다. 자연 발생 잔기는 공통적인 측쇄 특성에 기초하여 하기 군으로 나뉜다:

[0154]

(1) 비-극성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0155]

(2) 비하전된 극성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0156]

(3) 산성 (음으로 하전됨): Asp, Glu;

[0157]

(4) 염기성 (양으로 하전됨): Lys, Arg;

[0158]

(5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro; 및

[0159]

(6) 방향족: Trp, Tyr, Phe, His.

[0160]

비-보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 또 다른 부류로 교환함으로써 이루어진다.

[0161]

예를 들어, 이루어질 수 있는 한 유형의 치환은 화학적으로 반응성일 수 있는 항체 내 1개 이상의 시스테인을 또 다른 잔기, 예컨대 비제한적으로 알라닌 또는 세린으로 변화시키는 것이다. 예를 들어, 비-정규 시스테인의 치환이 있을 수 있다. 치환은 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역에서 또는 항체의 불변 영역에서 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 시스테인은 정규 시스테인이다. 항체의 적절한 입체형태를 유지하는데 수반되지 않는 임의의 시스테인 잔기는 일반적으로 세린으로 치환되어 분자의 산화 안정성을 개선시키고 이상 가교를 방지할 수 있다. 반대로, 특히 항체가 항체 단편, 예컨대 Fv 단편인 경우에, 시스테인 결합(들)이 항체에 부가되어 그의 안정성을 개선시킬 수 있다.

[0162]

항체는 또한, 예를 들어 항체의 결합 특성을 변경시키기 위해, 예를 들어 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 도메인에서

변형될 수 있다. 가변 영역에서의 변화는 결합 친화도 및/또는 특이성을 변경시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, 1개 내지 5개 이하의 보존적 아미노산 치환이 CDR 도메인 내에서 이루어진다. 다른 실시양태에서, 1개 내지 3개 이하의 보존적 아미노산 치환이 CDR 도메인 내에서 이루어진다. 예를 들어, 돌연변이는 B7-H4에 대한 항체의  $K_D$ 를 증가 또는 감소시키거나,  $k_{off}$ 를 증가 또는 감소시키거나, 또는 항체의 결합 특이성을 변경시키기 위해 CDR 영역 중 1개 이상에서 이루어질 수 있다. 부위-지정 돌연변이유발의 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 상기 문헌 [Sambrook et al.] 및 [Ausubel et al.]을 참조한다.

[0163] B7-H4 항체의 반감기를 증가시키기 위해 프레임워크 영역 또는 불변 영역에서 변형 또는 돌연변이가 또한 이루어질 수 있다. 예를 들어, PCT 공개 번호 WO 00/09560을 참조한다. 프레임워크 영역 또는 불변 영역에서의 돌연변이는 또한 항체의 면역원성을 변경시키거나, 또 다른 분자에 대한 공유 또는 비-공유 결합을 위한 부위를 제공하거나, 또는 보체 고정, FcR 결합 및 항체-의존성 세포-매개 세포독성과 같은 특성을 변경시키도록 이루어질 수 있다. 일부 실시양태에서, 1개 내지 5개 이하의 보존적 아미노산 치환이 프레임워크 영역 또는 불변 영역 내에서 이루어진다. 다른 실시양태에서, 1개 내지 3개 이하의 보존적 아미노산 치환이 프레임워크 영역 또는 불변 영역 내에서 이루어진다. 본 발명에 따르면, 단일 항체는 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역 중 어느 1개 이상에서 또는 불변 영역에서 돌연변이를 가질 수 있다.

[0164] 재조합 항체 - 글리코실화 변형:

[0165] 본원에 제공된 항체의 변형은 또한 글리코실화 및 비글리코실화 폴리펩티드, 뿐만 아니라 다른 번역후 변형, 예컨대, 예를 들어 상이한 당에 의한 글리코실화, 아세틸화 및 인산화를 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 항체는 그의 불변 영역 내의 보존된 위치에서 글리코실화된다 (Jefferis and Lund, 1997, Chem. Immunol. 65:111-128; Wright and Morrison, 1997, TibTECH 15:26-32). 이뮤노글로불린의 올리고사카라이드 측쇄는 단백질의 기능에 영향을 미치고 (Boyd et al., 1996, Mol. Immunol. 32:1311-1318; Wittwe and Howard, 1990, Biochem. 29:4175-4180), 당단백질의 부분들 사이의 분자내 상호작용은 당단백질의 입체형태 및 제시된 3차원 표면에 영향을 미칠 수 있다 (상기 문헌 [Jefferis and Lund]; [Wyss and Wagner, 1996, Current Opin. Biotech. 7:409-416]). 올리고사카라이드는 또한 특이적 인식 구조에 기초하여 주어진 당단백질을 특정 분자에 표적화하는 역할을 할 수 있다. 항체의 글리코실화는 또한 항체-의존성 세포성 세포독성 (ADCC)에 영향을 미치는 것으로 보고되었다. 특히, 양분성 GlcNAc의 형성을 촉매하는 글리코실트랜스퍼라제인  $\beta$  (1,4)-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III (GnTIII)의 테트라시클린-조절된 발현을 갖는 CHO 세포에 의해 생산된 항체는 개선된 ADCC 활성을 갖는 것으로 보고되었다 (Umana et al., 1999, Nature Biotech. 17:176-180).

[0166] 항체의 글리코실화는 전형적으로 N-연결 또는 O-연결된다. N-연결은 탄수화물 모이어티가 아스파라긴 잔기의 측쇄에 부착되는 것을 지칭한다. 트리펩티드 서열 아스파라긴-X-세린, 아스파라긴-X-트레오닌 및 아스파라긴-X-시스테인 (여기서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산임)은 탄수화물 모이어티를 아스파라긴 측쇄에 효소적으로 부착시키기 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩티드 내 이들 트리펩티드 서열 중 어느 하나의 존재는 잠재적인 글리코실화 부위를 생성한다. O-연결된 글리코실화는 히드록시아미노산, 가장 통상적으로는 세린 또는 트레오닌 (5-히드록시프롤린 또는 5-히드록시리신도 사용될 수 있지만)에 대한 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토스 또는 크실로스 중 하나의 부착을 지칭한다.

[0167] 항체에 대한 글리코실화 부위의 부가는 (N-연결된 글리코실화 부위의 경우) 상기 기재된 트리펩티드 서열 중 1개 이상을 함유하도록 아미노산 서열을 변경시킴으로써 편리하게 달성된다. 변경은 또한 (O-연결된 글리코실화 부위의 경우) 원래 항체의 서열에 대한 1개 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 부가 또는 그에 의한 치환에 의해 이루어질 수 있다.

[0168] 항체의 글리코실화 패턴은 또한 기저 뉴클레오티드 서열의 변경 없이 변경될 수 있다. 글리코실화는 항체를 발현시키는데 사용된 숙주 세포에 크게 좌우된다. 잠재적 치료제로서의 재조합 당단백질, 예를 들어 항체의 발현에 사용되는 세포 유형은 거의 천연 세포가 아니기 때문에, 항체의 글리코실화 패턴의 변이가 예상될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hse et al., 1997, J. Biol. Chem. 272:9062-9070] 참조).

[0169] 숙주 세포의 선택에 추가로, 항체의 재조합 생산 동안 글리코실화에 영향을 미치는 인자는 성장 방식, 배지 제제, 배양 밀도, 산소화, pH, 정제 계획 등을 포함한다. 올리고사카라이드 생산에 관여하는 특정 효소의 도입 또는 과다발현을 포함한, 특정한 숙주 유기체에서 달성되는 글리코실화 패턴을 변경시키기 위한 다양한 방법이 제안되었다 (미국 특허 번호 5,047,335; 5,510,261 및 5,278,299). 글리코실화 또는 특정 유형의 글리코실화는, 예를 들어 엔도글리코시다제 H (엔도 H), N-글리코시다제 F, 엔도글리코시다제 F1, 엔도글리코시다제 F2, 엔도글리코시다제 F3을 사용하여 당단백질로부터 효소적으로 제거될 수 있다. 추가로, 재조합 숙주

세포는 특정 유형의 폴리사카라이드를 프로세싱하는데 결함이 있도록 유전자 조작될 수 있다. 이들 및 유사한 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다.

[0170] 다른 변형 방법은 효소적 수단, 산화적 치환 및 킬레이트화를 포함하나 이에 제한되지는 않는, 관련 기술분야에 공지된 커플링 기술을 사용하는 것을 포함한다. 변형은, 예를 들어 면역검정을 위한 표지의 부착을 위해 사용될 수 있다. 변형된 폴리펩티드는 관련 기술분야에 확립된 절차를 사용하여 제조되고, 관련 기술분야에 공지된 표준 검정을 사용하여 스크리닝될 수 있으며, 이들 중 일부는 하기 및 실시예에 기재된다.

[0171] 재조합 항체 - 배선화:

[0172] "배선화"로 공지된 과정에서, VH 및 VL 서열 내의 특정 아미노산이 배선 VH 및 VL 서열에서 자연적으로 발견되는 것과 매칭되도록 돌연변이될 수 있다. 특히, VH 및 VL 서열 내의 프레임워크 영역의 아미노산 서열은 항체가 투여되는 경우에 면역원성의 위험을 감소시키기 위해 배선 서열과 매칭되도록 돌연변이될 수 있다. 인간 VH 및 VL 유전자에 대한 배선 DNA 서열은 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, "Vbase" 인간 배선 서열 데이터베이스 참조; 또한 문헌 [Kabat, E. A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson et al., 1992, J. Mol. Biol. 227:776-798; 및 Cox et al., 1994, Eur. J. Immunol. 24:827-836] 참조).

[0173] 재조합 항체 - 문제 부위 제거:

[0174] 이루어질 수 있는 또 다른 유형의 아미노산 치환은 항체 내의 잠재적 단백질분해 부위를 제거하는 것이다. 이러한 부위는 가변 도메인의 CDR 또는 프레임워크 영역에서 또는 항체의 불변 영역에서 발생할 수 있다. 시스템인 잔기의 치환 및 단백질분해 부위의 제거는 항체 생성물에서 불균질성의 위험을 감소시키고, 따라서 그의 균질성을 증가시킬 수 있다. 또 다른 유형의 아미노산 치환은 잠재적 탈아미드화 부위를 형성하는 아스파라긴-글리신 쌍을 그 잔기 중 하나 또는 둘 다를 변경시킴으로써 제거하는 것이다. 또 다른 예에서, 본 발명의 항체의 중쇄의 C-말단 리신은 절단될 수 있다. 본 발명의 다양한 실시양태에서, 항체의 중쇄 및 경쇄는 임의로 신호 서열을 포함할 수 있다.

[0175] 재조합 항체 - 다양한 형태:

[0176] 본 발명의 VH 및 VL 절편을 코딩하는 DNA 단편이 수득되면, 이들 DNA 단편은 표준 재조합 DNA 기술에 의해 추가로 조작되어, 예를 들어 가변 영역 유전자를 전장 항체쇄 유전자, Fab 단편 유전자 또는 scFv 유전자로 전환시킬 수 있다. 이들 조작에서, VL- 또는 VH-코딩 DNA 단편은 또 다른 단백질, 예컨대 항체 불변 영역 또는 가요성 링커를 코딩하는 또 다른 DNA 단편에 작동가능하게 연결된다. 이와 관련하여 사용된 용어 "작동가능하게 연결된"은 2개의 DNA 단편에 의해 코딩된 아미노산 서열이 인-프레임으로 유지되도록 2개의 DNA 단편이 연결됨을 의미하는 것으로 의도된다.

[0177] VH 영역을 코딩하는 단리된 DNA는 VH-코딩 DNA를 중쇄 불변 영역 (CH1, CH2 및 CH3)을 코딩하는 또 다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결시킴으로써 전장 중쇄 유전자로 전환될 수 있다. 인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 관련 기술분야에 공지되어 있고 (예를 들어, 문헌 [Kabat, E. A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조), 이들 영역을 포괄하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 수득될 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있지만, 가장 바람직하게는 IgG<sub>1</sub> 또는 IgG<sub>2</sub> 불변 영역이다. IgG 불변 영역 서열은 상이한 개체 사이에서 발생하는 것으로 공지된 임의의 다양한 대립유전자 또는 동종이형, 예컨대 Gm(1), Gm(2), Gm(3) 및 Gm(17)일 수 있다. 이들 동종이형은 IgG<sub>1</sub> 불변 영역에서의 자연 발생 아미노산 치환을 나타낸다. Fab 단편 중쇄 유전자의 경우, VH-코딩 DNA는 중쇄 CH1 불변 영역만을 코딩하는 또 다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결될 수 있다. CH1 중쇄 불변 영역은 임의의 중쇄 유전자로부터 유래될 수 있다.

[0178] VL 영역을 코딩하는 단리된 DNA는 VL-코딩 DNA를 경쇄 불변 영역 CL을 코딩하는 또 다른 DNA 분자에 작동가능하게 연결시킴으로써 전장 경쇄 유전자 (뿐만 아니라 Fab 경쇄 유전자)로 전환될 수 있다. 인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 관련 기술분야에 공지되어 있고 (예를 들어, 문헌 [Kabat, E. A., et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242] 참조), 이들 영역을 포괄하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭에 의해 수득될 수 있다. 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있다. 카파 불변 영역은 상이한 개체 사이에서 발생

하는 것으로 공지된 임의의 다양한 대립유전자, 예컨대 Inv(1), Inv(2) 및 Inv(3)일 수 있다. 램다 불변 영역은 3개의 램다 유전자 중 어느 것으로부터 유래될 수 있다.

- [0179] scFv 유전자를 생성하기 위해, VH- 및 VL-코딩 DNA 단편을 가요성 링커를 코딩하는 또 다른 단편에 작동가능하게 연결시켜, VH 및 VL 서열이 인접 단일-쇄 단백질로서 발현되고 이때 VL 및 VH 영역이 가요성 링커에 의해 연결되어 있도록 할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Bird et al., 1988, Science 242:423-426; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554] 참조). 연결 펩티드의 예는 (GGGGS)<sub>3</sub>이며, 이는 하나의 가변 영역의 카르복시 말단과 다른 가변 영역의 아미노 말단 사이의 대략 3.5 nm를 가교한다. 다른 서열의 링커가 설계되고 사용되었다 (상기 문헌 [Bird et al., 1988]). 링커는 다시 추가의 기능, 예컨대 약물의 부착 또는 고체 지지체에 대한 부착을 위해 변형될 수 있다. 단일 쇠 항체는 단지 단일 VH 및 VL이 사용되는 경우에 1가, 2개의 VH 및 VL이 사용되는 경우에 2가, 또는 2개 초과인 VH 및 VL이 사용되는 경우에 다가일 수 있다. 표적 항원, 예를 들어 B7-H4 및 또 다른 분자에 특이적으로 결합하는 이중특이적 또는 다가 항체가 생성될 수 있다. 단일 쇠 변이체는 재조합적으로 또는 합성적으로 생산될 수 있다. scFv의 합성 생산을 위해, 자동화 합성기가 사용될 수 있다. scFv의 재조합 생산을 위해, scFv를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유하는 적합한 플라스미드가 적합한 숙주 세포, 진핵, 예컨대 효모, 식물, 곤충 또는 포유동물 세포, 또는 원핵, 예컨대 이. 콜라이 내로 도입될 수 있다. 관심 scFv를 코딩하는 폴리뉴클레오티드는 상용 조작, 예컨대 폴리뉴클레오티드의 라이게이션에 의해 제조될 수 있다. 생성된 scFv는 관련 기술분야에 공지된 표준 단백질 정제 기술을 사용하여 단리될 수 있다.
- [0180] 다른 형태의 단일 쇠 항체, 예컨대 디아바디가 또한 포괄된다. 디아바디는 VH 및 VL이 단일 폴리펩티드 쇠 상에서 발현되지만, 동일한 쇠 상의 2개의 도메인 사이에 쌍형성을 허용하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인이 또 다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍형성하도록 강제하여 2개의 항원 결합 부위를 생성하는 2가의 이중특이적 항체이다 (예를 들어, 문헌 [Holliger, P., et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448; Poljak, R. J., et al., 1994, Structure 2:1121-1123] 참조).
- [0181] 2개의 공유 연결된 항체를 포함하는 이중접합체 항체가 또한 본 발명의 범주 내에 있다. 이러한 항체는 원치않는 세포에 대한 면역계 세포의 표적화 (미국 특허 번호 4,676,980) 및 HIV 감염의 치료 (PCT 공개 번호 WO 91/00360 및 WO 92/200373; EP 03089)에 사용되었다. 이중접합체 항체는 임의의 편리한 가교 방법을 사용하여 제조될 수 있다. 적합한 가교제 및 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 미국 특허 번호 4,676,980에 기재되어 있다.
- [0182] 키메라 또는 하이브리드 항체는 또한 가교제를 수반하는 것을 포함한, 합성 단백질 화학의 공지된 방법을 사용하여 시험관내에서 제조될 수 있다. 예를 들어, 면역독소는 디숄피드 교환 반응을 사용하여 또는 티오에테르 결합을 형성함으로써 구축될 수 있다. 이러한 목적에 적합한 시약의 예는 이미노티올레이트 및 메틸-4-메르캅토투티리이미데이트를 포함한다.
- [0183] 또 다른 폴리펩티드에 연결된 모노클로날 항체의 모두 또는 부분을 포함하는 융합 항체가 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 단지 항체의 가변 도메인만이 다른 폴리펩티드에 연결된다. 또 다른 실시양태에서, 항체의 VH 도메인은 제1 폴리펩티드에 연결되고, 항체의 VL 도메인은 VH 및 VL 도메인이 서로 상호작용하여 항원 결합 부위를 형성할 수 있는 방식으로 제1 폴리펩티드와 회합하는 제2 폴리펩티드에 연결된다. 또 다른 바람직한 실시양태에서, VH 도메인은 VH 및 VL 도메인이 서로 상호작용할 수 있도록 링커에 의해 VL 도메인으로부터 분리된다. 이어서, VH-링커-VL 항체는 다른 관심 폴리펩티드에 연결된다. 추가로, 2개 (또는 그 초과)의 단일-쇄 항체가 서로 연결된 융합 항체가 생성될 수 있다. 이는 단일 폴리펩티드 쇠 상에 2가 또는 다가 항체를 생성하길 원하는 경우 또는 이중특이적 항체를 생성하길 원하는 경우에 유용하다.
- [0184] 융합 항체는 관련 기술분야에 공지된 방법에 의해, 예를 들어 합성적으로 또는 재조합적으로 생성될 수 있다. 전형적으로, 융합 항체는 본원에 기재된 재조합 방법을 사용하여 이들을 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제조하고 발현시킴으로써 제조되지만, 이들은 또한, 예를 들어 화학적 합성을 포함한 관련 기술분야에 공지된 다른 수단에 의해 제조될 수도 있다.
- [0185] 다른 실시양태에서, 다른 변형된 항체는 항체 코딩 핵산 분자를 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, "카파바디" (Ill et al., 1997, Protein Eng. 10:949-57), "미니바디" (Martin et al., 1994, EMBO J. 13:5303-9), "디아바디" (상기 문헌 [Holliger et al.]), 또는 "야누신" (Traunecker et al., 1991, EMBO J. 10:3655-3659 및 Traunecker et al., 1992, Int. J. Cancer (Suppl.) 7:51-52)은 본 명세서의 교시에 따라 표준 분자 생물학

적 기술을 사용하여 제조될 수 있다.

- [0186] 이중특이적 항체
- [0187] 이중특이적 항체를 제조하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Suresh et al., 1986, Methods in Enzymology 121:210] 참조). 예를 들어, 이중특이적 항체 또는 항원-결합 단편은 하이브리도마의 융합 또는 Fab' 단편의 연결에 의해 생산될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Songsivilai & Lachmann, 1990, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321, Kostelny et al., 1992, J. Immunol. 148:1547-1553]을 참조한다. 전통적으로, 이중특이적 항체의 재조합 생산은 2개의 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 공동발현에 기초하였으며, 이때 2개의 중쇄는 상이한 특이성을 갖는다 (Millstein and Cuello, 1983, Nature 305, 537-539). 추가로, 이중특이적 항체는 "디아바디" 또는 "야누신"으로서 형성될 수 있다.
- [0188] 이중특이적 항체를 제조하기 위한 하나의 접근법에 따르면, 목적하는 결합 특이성 (항체-항원 결합 부위)을 갖는 항체 가변 도메인이 이뮤노글로불린 불변 영역 서열에 융합된다. 융합체는 바람직하게는 힌지, CH2 및 CH3 영역의 적어도 일부를 포함하는 이뮤노글로불린 중쇄 불변 영역을 갖는다. 경쇄 결합에 필요한 부위를 함유하는 제1 중쇄 불변 영역 (CH1)이 융합체 중 적어도 하나에 존재하는 것이 바람직하다. 이뮤노글로불린 중쇄 융합체 및 원하는 경우에 이뮤노글로불린 경쇄를 코딩하는 DNA가 개별 발현 벡터 내로 삽입되고, 적합한 숙주 유기체 내로 공동형질감염된다. 이는 구축에 사용된 동일하지 않은 비의 3개의 폴리펩티드 쇠가 최적의 수율을 제공하는 경우인 실시양태에서 3개의 폴리펩티드 단편의 상호 비율을 조정하는데 큰 유연성을 제공한다. 그러나, 동일한 비의 적어도 2개의 폴리펩티드 쇠의 발현이 고수율을 생성하는 경우 또는 비가 특정한 유의성을 갖지 않는 경우에, 2개 또는 모든 3개의 폴리펩티드 쇠에 대한 코딩 서열을 1개의 발현 벡터에 삽입하는 것이 가능하다.
- [0189] 하나의 접근법에서, 이중특이적 항체는 하나의 아암에 제1 결합 특이성을 갖는 하이브리드 이뮤노글로불린 중쇄 및 다른 아암에 하이브리드 이뮤노글로불린 중쇄-경쇄 쌍 (제2 결합 특이성을 제공함)으로 구성된다. 이중특이적 분자의 한쪽 절반에만 이뮤노글로불린 경쇄가 있는 이러한 비대칭 구조는 원치않는 이뮤노글로불린 쇠 조합물로부터 목적하는 이중특이적 화합물의 분리를 용이하게 한다. 이러한 접근법은 PCT 공개 번호 WO 94/04690에 기재되어 있다.
- [0190] 고체 지지체에 커플링시키기 위한 작용제에 접합된 항체
- [0191] 본 발명은 또한 고체 지지체 (예컨대 비오틴 또는 아비딘)에 대한 커플링을 용이하게 하는 작용제에 접합된 (예를 들어, 연결된) 항체를 포함하는 조성물을 제공한다. 단순성을 위해, 이들 방법이 본원에 기재된 임의의 항체 실시양태에 적용된다는 이해 하에 일반적으로 항체를 참조할 것이다. 접합은 일반적으로 본원에 기재된 바와 같은 이들 성분을 연결하는 것을 지칭한다. 연결 (일반적으로 이들 성분을 적어도 투어를 위해 근접하게 회합하여 고정시킴)은 임의의 수의 방식으로 달성될 수 있다. 예를 들어, 작용제와 항체 사이의 직접 반응은 각각이 다른 것과 반응할 수 있는 치환기를 보유하는 경우에 가능하다. 예를 들어, 한쪽의 친핵성 기, 예컨대 아미노 또는 술폰히드릴 기는 다른 쪽의 카르보닐-함유 기, 예컨대 무수물 또는 산 할라이드 또는 양호한 이탈기 (예를 들어, 할라이드)를 함유하는 알킬 기와 반응할 수 있다.
- [0192] 항체는 많은 상이한 담체에 결합될 수 있다. 담체는 활성 및/또는 불활성일 수 있다. 널리 공지된 담체의 예는 폴리프로필렌, 폴리스티렌, 폴리에틸렌, 텍스트란, 나일론, 아밀라제, 유리, 천연 및 변형된 셀룰로스, 폴리악릴아미드, 아가로스 및 마그네타이트를 포함한다. 담체의 성질은 본 발명의 목적상 가용성 또는 불용성일 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 항체에 결합하는 다른 적합한 담체를 알 것이거나 또는 상용 실험을 사용하여 이를 확인할 수 있을 것이다. 일부 실시양태에서, 담체는 폐, 심장 또는 심장 판막을 표적화하는 모이어티를 포함한다.
- [0193] 본 발명의 항체 또는 폴리펩티드는 표지제, 예컨대 형광 분자, 방사성 분자 또는 관련 기술분야에 공지된 임의의 다른 표지에 연결될 수 있다. 일반적으로 신호를 (직접적으로 또는 간접적으로) 제공하는 표지가 관련 기술 분야에 공지되어 있다.
- [0194] B7-H4 항체
- [0195] 본 발명은 B7-H4에 특이적으로 결합하는 항체 ("B7-H4 항체")를 제공한다. 본 발명의 B7-H4 항체는 하기 특징 중 어느 하나를 나타내야 한다: (a) ELISA 검정에서 플레이트 결합된 B7-H4에 결합함; (b) 세포 기반 검정에서 B7-H4 발현 종양 세포에 결합함; (c) 종양 세포가 B7-H4를 발현하는 것인 T 세포 매개 종양 세포 사멸에서 활성을 나타냄; (d) B7-H4를 발현하는 악성 종양을 갖는 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 억제함; (e) 대상체에서

B7-H4를 발현하는 악성 세포와 연관된 상태의 1종 이상의 증상을 치료, 예방, 호전시킴.

- [0196] B7-H4 항체는 관련 기술분야에 공지된 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다. 표 2는 본 발명의 예시적인 B7-H4 항체를 기재한다. 표 2에 열거된 각각의 VH CDR1 (중쇄 가변 영역 CDR1)은 AbM CDR 정의에 따른다. 표 2에 열거된 각각의 VH CDR2 (중쇄 가변 영역 CDR2), VH CDR3 (중쇄 가변 영역 CDR3), VL CDR1 (경쇄 가변 영역 CDR1), VL CDR2 (경쇄 가변 영역 CDR2), VL CDR3 (경쇄 가변 영역 CDR3) 서열은 카바트 CDR 정의에 따른다.
- [0197] 따라서, 일부 실시양태에서, 본 발명은 표 2에 기재된 B7-H4 항체 중 어느 하나를 제공한다.
- [0198] 일부 실시양태에서, 본 발명은 B7-H4 항체 또는 B7-H4에 결합하는 그의 변이체 또는 B7-H4에 결합하는 그의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기서 B7-H4 항체는 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL과 동일한 아미노산 서열을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.
- [0199] 일부 실시양태에서, 본 발명은 B7-H4 항체 또는 B7-H4에 결합하는 그의 변이체 또는 B7-H4에 결합하는 그의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기서 B7-H4 항체는
- [0200] (i) 6개의 CDR 각각이 표 2에 기재된 항체의 VH 및 VL의 상응하는 CDR과 동일한 아미노산 서열을 갖는 것인 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3,
- [0201] (ii) 표 2에 기재된 임의의 항체의 VH의 3개의 CDR, 또는
- [0202] (iii) 표 2에 기재된 임의의 항체의 VL의 3개의 CDR
- [0203] 을 포함하며, 여기서 CDR은 카바트 정의, 코티아 정의, AbM 정의 또는 카바트와 코티아 CDR의 조합 ("조합된 CDR" 또는 "연장된 CDR"로도 지칭됨)에 따라 정의된다.
- [0204] 일부 실시양태에서, 본 발명은 B7-H4 항체 또는 B7-H4에 결합하는 그의 변이체 또는 B7-H4에 결합하는 그의 항원 결합 단편을 제공하며, 여기서 B7-H4 항체는 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하고, 이들 각각은 표 2에 기재된 임의의 항체의 표 2에 열거된 상응하는 CDR과 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0205] 일부 실시양태에서, 본 발명은 표 2에 기재된 항체 중 어느 하나와 B7-H4와의 결합에 대해 경쟁하는 B7-H4 항체를 제공한다.

[0206] 표 2. 예시적인 B7-H4 항체의 서열식별번호

항체 명칭	항체 부분 서열 식별자 (서열식별번호:)									
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	CH	CL	VH	VL
0001	5	6	7	9	10	11	177	12	8	13
0007	5	14	15	9	17	18	177	12	16	19
0013	20	21	22	24	25	26	177	12	23	27
0047	5	6	7	9	10	11	179	12	8	13
0048	36	37	38	40	41	42	179	12	39	43
0049	20	44	45	47	41	48	179	12	46	49
0050	5	50	51	9	10	53	179	12	52	54
0051	20	55	56	47	58	59	179	12	57	60
0052	5	14	15	9	17	18	179	12	16	19
0053	61	62	63	47	65	66	179	12	64	67
0054	5	6	68	9	10	11	179	12	69	70
0055	71	72	73	75	33	76	179	12	74	77
0056	78	44	79	81	82	83	179	12	80	84
0057	20	85	86	88	41	89	179	12	87	90
0058	20	21	22	24	25	26	179	12	23	27
0059	91	92	93	75	33	95	179	12	94	96
0060	97	98	99	75	33	76	179	12	100	77
0061	101	102	103	47	65	66	179	12	104	67
0119	20	21	22	24	25	26	179	12	23	118
0185	5	14	15	9	17	18	179	12	16	119
0267	5	14	15	9	17	18	179	121	120	19
0270	5	14	15	9	17	18	179	121	16	122
0274	20	21	22	24	25	26	179	121	23	123
0277	5	6	7	9	10	11	179	121	124	13
0279	5	6	7	9	10	11	179	121	125	13
0283	5	6	7	9	10	11	179	121	8	126
0350	127	6	7	9	10	11	179	12	128	13
0352	5	6	7	9	10	11	179	12	129	13

[0207]

항체 명칭	항체 부분 서열 식별자 (서열식별번호:)									
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	CH	CL	VH	VL
0362	5	130	7	9	10	11	179	12	131	13
0364	5	6	7	9	10	11	179	12	132	13
0368	5	6	7	9	10	11	179	12	133	13
0376	5	134	7	9	10	11	179	12	135	13
0380	5	6	136	9	10	11	179	12	137	13
0383	5	6	7	9	10	138	179	12	8	139
0384	5	6	7	9	10	140	179	12	8	141
0385	5	6	7	9	10	142	179	12	8	143
0386	5	6	7	9	10	144	179	12	8	145
0388	5	6	7	9	10	146	179	12	8	147
0390	5	6	7	9	10	148	179	12	8	149
0391	5	6	7	9	10	150	179	12	8	151
0414	20	21	22	152	25	153	179	12	23	154
0538	5	130	7	9	10	138	179	12	155	139
0540	5	130	136	9	10	138	179	12	156	139
0542	5	130	136	9	10	140	179	12	157	141
0544	5	130	7	9	10	140	179	12	155	141
0546	5	130	136	9	10	140	179	12	156	141
0562	20	158	22	24	25	26	179	12	159	27
0563	20	21	160	24	25	26	179	12	161	27
0564	20	21	162	24	25	26	179	12	163	27
0565	20	21	164	24	25	26	179	12	165	27
0567	20	21	22	166	25	153	179	12	23	167
0570	20	21	22	152	41	153	179	12	23	168
0571	20	21	22	152	41	153	179	12	23	169
0572	20	21	22	152	41	153	179	12	23	170
0911	5	6	7	9	10	140	179	12	171	141
0934	5	6	7	9	10	140	179	12	172	141
1070	5	6	7	9	10	138	181	12	172	139

[0208]

항체 명칭	항체 부분 서열 식별자 (서열식별번호:)									
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	CH	CL	VH	VL
1080	5	6	7	9	10	138	179	12	171	139
1081	5	130	7	9	10	138	179	12	173	139
1082	5	6	7	9	10	138	179	12	174	139
1083	5	6	7	9	10	138	179	12	175	139
1103	5	6	7	9	10	138	179	12	172	139
1113	20	21	160	152	25	153	179	12	161	154
1114	20	21	160	166	25	153	179	12	161	167
1115	20	21	160	152	41	153	179	12	161	168
1116	20	21	160	152	41	153	179	12	161	169
1117	20	21	160	152	41	153	179	12	161	170
1124	20	21	160	166	25	153	181	12	161	167
1174	5	6	7	9	10	138	177	12	172	139
1177	20	21	160	166	25	153	177	12	161	167

[0209]

[0210]

표 3은 표 2에 열거된 B7-H4 항체, 표 4에 열거된 CD3 항체 및 표 5에 열거된 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 포함한 본 발명의 예시적인 항체의 상응하는 서열 식별자를 갖는 서열, 및 본 발명의 항체를 생성하거나 시험하기 위해 사용된 B7-H4 세포의 도메인의 서열을 보여준다. 여러 VH 및 VL 서열, 즉 서열식별번호: 106, 108, 139, 161, 167 및 172의 카바트 CDR은 밀출친 아미노산 서열로 표시되고, 코티아 CDR은 볼드체 아미노산 서열로 표시된다. 표 2, 표 4 및 표 5에 기재된 서열 이외에, 하기는 표 3에 포함된 일부 추가의 서열의 설명이다.

[0211]

서열식별번호: 1은 인간 B7-H4 단백질의 세포의 도메인의 아미노산 서열이다.

[0212]

서열식별번호: 2는 시노 B7-H4 단백질의 세포의 도메인의 아미노산 서열이다.

[0213]

서열식별번호: 3은 마우스 B7-H4 단백질의 세포의 도메인의 아미노산 서열이다.

[0214]

서열식별번호: 4는 래트 B7-H4 단백질의 세포의 도메인의 아미노산 서열이다.

[0215]

항체 1156 및 항체 1167은 B7-H4xCD3 이중특이적 항체이고; 둘 다는 표 5에 기재된다.

[0216]

서열식별번호: 186 및 187은 각각 이중특이적 항체 1156의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 전장 중쇄 및 전장 경쇄의 아미노산 서열이다.

[0217]

서열식별번호: 188 및 189는 각각 이중특이적 항체 1156 및 이중특이적 항체 1167의 제2 아암 (CD3 아암)의 전장 중쇄 및 전장 경쇄 각각의 아미노산 서열이다.

[0218]

서열식별번호: 190 및 191은 각각 이중특이적 항체 1167의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 전장 중쇄 및 전장 경쇄 각각의 아미노산 서열이다.

[0219]

서열식별번호: 192는 이중특이적 항체 1156의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 전장 중쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이다.

[0220]

서열식별번호: 193은 이중특이적 항체 1156의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 전장 경쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이다.

[0221]

서열식별번호: 194는 이중특이적 항체 1156 및 1167의 제2 아암 (CD3 아암)의 전장 중쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이다.

[0222]

서열식별번호: 195는 이중특이적 항체 1156 및 1167의 제2 아암 (CD3 아암)의 전장 경쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이다.

[0223]

서열식별번호: 196은 이중특이적 항체 1167의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 전장 중쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열이다.

[0224]

서열식별번호: 197은 이중특이적 항체 1167의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 전장 경쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서

열이다.

- [0225] 서열식별번호: 198은 본원의 항체의 일반적 제조 방법에 기재된 (GGGS)<sub>3</sub> 펩티드 링커의 아미노산 서열이다.
- [0226] 서열식별번호: 199는 이중특이적 항체 1156의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 카바트 VH CDR1의 서열이다.
- [0227] 서열식별번호: 200은 이중특이적 항체 1156의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 코티아 VH CDR1의 서열이다.
- [0228] 서열식별번호: 201은 이중특이적 항체 1156의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 코티아 VH CDR2의 서열이다.
- [0229] 서열식별번호: 202는 이중특이적 항체 1156 및 이중특이적 항체 1167의 제2 아암 (CD3 아암)의 카바트 VH CDR1의 서열이다.
- [0230] 서열식별번호: 203은 이중특이적 항체 1156 및 이중특이적 항체 1167의 제2 아암 (CD3 아암)의 코티아 VH CDR1의 서열이다.
- [0231] 서열식별번호: 204는 이중특이적 항체 1156 및 이중특이적 항체 1167의 제2 아암 (CD3 아암)의 코티아 VH CDR2의 서열이다.
- [0232] 서열식별번호: 205는 이중특이적 항체 1167의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 카바트 VH CDR1의 서열이다.
- [0233] 서열식별번호: 206은 이중특이적 항체 1167의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 코티아 VH CDR1의 서열이다.
- [0234] 서열식별번호: 207은 이중특이적 항체 1167의 제1 아암 (B7-H4 아암)의 코티아 VH CDR2의 서열이다.
- [0235] 서열식별번호: 208은 인간 IgG2 야생형 IGHG2\*01의 불변 영역 1 (CH1), 힌지, CH2 및 CH3 영역의 아미노산 서열이다.
- [0236] 서열식별번호: 209는 인간 IgG1 야생형 IGHG1\*01의 CH1, 힌지, CH2 및 CH3 영역의 아미노산 서열이다.
- [0237] 서열식별번호: 210은 인간 IgG4 야생형 IGHG4\*01의 CH1, 힌지, CH2 및 CH3 영역의 아미노산 서열이다.
- [0238] IGHG2\*01, IGHG1\*01 및 IGHG4\*01은 IMGT/진(Gene)-DB의 인간 IGHC 군에 따른다 (Giudicelli, V. et al. Nucleic Acids Res., 33: D256 - D261 (2005)).

[0239] 표 3. 서열식별번호 서열

서열 식별 번호	서열
1	FGISGRHSIT VTTVASAGNI GEDGILSCTF EPDIKLSDIV IQWLKEGVLG LVHEFKEGKD ELSEQDEMFR GRTAVFADQV IVGNASLRK NVQLTDAGTY KCYIITSKGK GNANLEYKTG AFSMPEVNVD YNASSETLRC EAPRWFPQPT VWASQVDQG ANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNVT INNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTSEIKRR SHLQLLSKA
2	FGISGRHSIT VTTVASAGNI GEDGILSCTF EPDIKLSDIV IQWLKEGVIG LVHEFKEGKD ELSEQDEMFR GRTAVFADQV IVGNASLRK NVQLTDAGTY KCYIITSKGK GNANLEYKTG AFSMPEVNVD YNASSETLRC EAPRWFPQPT VWASQVDQG ANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNVT INNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTSEIKRR SHLQLLSKA
3	FGISGKHFIT VTTFTSAGNI GEDGTLCTF EPDIKLNIV IQWLKEGIK LVHEFKEGKD DLSQQHEMFR GRTAVFADQV VVGNASLRK NVQLTDAGTY TCYIRTSKGK GNANLEYKTG AFSMPEINVD YNASSESLRC EAPRWFPQPT VAWASQVDQG ANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNVT INNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTDSEVKRR SQLQLLSNGP
4	FGISGKHFIT VTTFTSAGNI GEDGTLCTF EPDIKLNIV IQWLKEGIK LVHEFKEGKD DLSQQHEMFR GRTAVFADQV VVGNASLRK NVQLTDAGTY TCYIHTSKGK GNANLEYKTG AFSMPEINVD YNASSESLRC EAPRWFPQPT VAWASQVDQG ANFSEVSNTS FELNSENVTM KVVSVLYNVT INNTYSCMIE NDIAKATGDI KVTDSEVKRR SQLELLNSG
5	GGSFSGYYWN
6	EINHSGSATY NPSLKS
7	GLYNWNVDH
8	QVQLQQWGAG LLKPSETLPL TCAVYGGSF S GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRVTIS VDTSKNHFSL KLSSVTAADT AVYFCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
9	RASQGIRNDL G
10	AASSLQS
11	LQHNSYPRT
12	RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK SFNRGEC
13	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKPK GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPRTFGG GTKVEIK
14	EINHSGSTKY NPSLKS
15	GLYNWNVDS
16	QVQLQQWGAG LLKPSETLSL TCAVYGGSF S GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSTKYN PSLKSRVTIS GDTSKNQFSL KLNSVTAADT AVYYCVRGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
17	VASSLQS

[0240]

18	LQHNSYPYT
19	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYV ASSLQSGVPS RFGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPYTFGQ GTKLEIK
20	GFTFSSYAMS
21	AISGGGGSTY YADSVKG
22	DIQWFGESTL FDY
23	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDI QWFGESTLFD YWGQGLTVTV SS
24	RASQSIRSWL A
25	KASSLEG
26	QQYNSYSRT
27	DIQLTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSIR SWLAWFQQKP GKAPKLLIYK ASSLEGGVPS RFGSGSGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNSYSRTFGQ GTKVEIK
28	GFTFSDYYMT
29	FIRNRARGYT SDHNPSVKG
30	DRPSYYVLDY
31	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYYMTWVRQA PGKGLEWVAF IRNRARGYTS DHNPSVKGRF TISRDNKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR DRPSYYVLDY WGQGTTVTVS S
32	KSSQSLFNVR SRKNYLA
33	WASTRES
34	KQSYDLFT
35	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSLF NVRSRKNYLA WYQQKPGQPP KLLISWASTR ESGVPDRFSG SSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCKQSYDL FTFGSGTKLE IK
36	GFTFSSYAMK
37	TTSGSGTTY YADSVKG
38	AGWAAAFDY
39	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMKWVRQA PGKGLEWVST TSGSGGTTY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCAKAG WAAAFDYWGQ GTLTVVSS
40	RASQSIDWL A
41	KASSLES
42	QQCNSYWT
43	DIQLTQFPST LSASVGDRIT ITCRASQSI DWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASSLESGVPS RFGSGSGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ CNSYWTFGQG TKVEIK

[0241]

44	AISGSGGSTY YADSVKG
45	DIQWFGESVF DY
46	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLF LHMNSLRAED TAVYYCARDI QWFGESVFDY WQQGLTVTVS S
47	RASQSISSWL A
48	QYNSYSRT
49	DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSI SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASSLESGVPS RFGSGSGTE FTLTISSLQP DDLATYYCQY YNSYSRTFGQ GTKVEIK
50	EINHSGSANY NPSLKS
51	GLYNWNVDR
52	QVQLQQWGAG LLKPSETLSL TCALYGGSFY GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSANYN PSLKSRVTIS VDTSKNQFSL RLSSVTAADT AVYYCARGLY NWNVDRWGQG TLVTVSS
53	LQHNSYPLT
54	DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQGI NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPLTFGG GTKVEIK
55	SISGNGGSTY YADSVKG
56	VGWRTGDY
57	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSS ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLS LQMNSLRAED TAVYYCAKVG WRTGDYWGQG TLVTVSS
58	KASDLES
59	QQYNSYSWT
60	DIQLTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSI SWLAWYQQKA GKAPKLLIYK ASDLESGVPS RFGSGSGIE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNSYSWTFGQ GTKVEIK
61	GGPFSGYFWS
62	EINHSGNTNY NPSLKS
63	AGGDYGFYYY YGMDV
64	QVQLQQWGAG LLKPSETLSL TCAVYGGPFS GYFWSWIRQP PGKGLEWIGE INHSGNTNYN PSLKSRVTIS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYYCARAGG DYGFYYYYGM DWWGQTTVT VSS
65	KASRLES
66	QQYNSY
67	DIQLTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSI SWLAWYQQKP GKAPPELLVYK ASRLESGVPS RFGSGSGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNSYFSGGK VEIK
68	GLYNWNVDC

[0242]

69	QVQLQQWGAG LLKPSETLSL TCAVYGGSFY GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRVTIS VDTSKNHFSL KLNSVTAAGT AVYFCARGLY NWNVDCWGQG TLVTVSS
70	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGGTE FSLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPRTFGG GTKVEIK
71	GGSISSSSYY WG
72	TIYFSGNTYY NPSLKS
73	LRVTMVRGVI IGVFDY
74	QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSGGSIS SSSYYWGWIR QPPGKLEWI GTIYFSGNTY YNPSLKSRVT ISVDTSKSQL SLKLNSVTA A DAVYYCARL RVTMVRGVII GVFDYWGQGT LVTVSS
75	KSSQSVLYSS NNKNYLA
76	QYYSTPPT
77	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSVL YSSNNKNYLA WYQQKPGQPP KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SSGTDFLT ISSLQAEDVA VYYCQYYST PPTFGQGTKV EIK
78	GFTFSTYAMN
79	VDVARYYGM DV
80	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS TYAMNWRQA PGKGLAWVSA ISGSGGSTYY ADSVKGRFTI SRDSSKNTLY LQMNILRAED TAVYYCAKVD VVARYYGM DV WGQGTTLTVS S
81	RASQSIGWL A
82	EASSLES
83	QYKSYSWT
84	DIQMTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSI GWLAWYQQKP GKAPKLLIYE ASSLESGVPS RFGSGSGGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YKSYSWTFGQ GTKVEIK
85	AISGRGGSTY YTDSVKG
86	DLQWFGESTL FDY
87	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGRGGSTYY TDSVKGRFTI SRDSSRNTLY LQMNILRAED TAVYYCARDL QWFGESTLFD YWGQGTTLTV SS
88	RASQISAWL A
89	QYNSYSRS
90	DIQLTQSPST LSASVGDRVT ITCRASQSI AWLAWFQQKP GKAPKLLIYK ASSLESGVPS RFGSGSGGTE FTLTISSLQP DDFATYYCQQ YNSYSRSFGQ GTKLEIK
91	GFTFSSYALS
92	TINVGGVDN YAGSVKG
93	ARITMVRGVI IPLFDY

[0243]

94	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYALSWVRQA PGKGLEWVST INVGGVDTNY AGSVKGRFTI SRDNPKNLTC LQMNSLRAED TAVYHCAKAR ITMVRGVIIP LFDYWGQGT L VTVAS
95	QQFYSTPVT
96	DIVMTQSPDS LAVSLGERAT INCKSSQSVL YSSNNKNYLA WYQQKPGQPP KLLIYWASTR ESGVPDRFSG SGSGTDFTLT ISSLQAEDVA VYYCQQFYST PVTFGGGTKV EIK
97	TGSISSSSYY WG
98	TIYFSGSTYY NPSLKS
99	LRVTMVRGVI IGVFDF
100	QVQLQESGPG LVKPSSETLSL TCTVSTGSIS SSSYYWGWIR QPPGKGLEWI GTIYFSGSTY YNPSLKSRTV ISVDTSKNQF SLKLTSTVTA DTAVYYCARL RVTMVRGVII GVDFWQGT LVTVSS
101	GGSFSGYFWS
102	EFNHSGGTNS NPSLKS
103	AGGDYGFYYY YGLDV
104	QVQLQQWAG LLKPSETLSL TCAVYGGSFYS GYFWSWIRQP PGKGLEWIGE FNHSGGTNSN PSLKSRVTMS VDTSKNQFSL KLSSVTAADT AVYFCARAGG DYGFYYYYGL DWWGQGT V VSS
105	FIRNQARGYT SDHNPSVKG
106	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAAS <b>GFTFS</b> <b>DYYMTWVRQA</b> PGKGLEWVAF <b>IRNQARGYTS</b> DHNPSVKGRF TISRDNKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR <b>DRPSYYVLDY</b> WGQGT VTVS S
107	TSSQSLFNVR SQKNYLA
108	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCT <b>TSSQSLF</b> <b>NVRSQKNYLA</b> WYQQKPGKAP KLLIY <b>WASTR</b> <b>ES</b> GVPSRFSG SGSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYYC <b>KQSYDL</b> <b>FT</b> FGGGTKVE IK
109	FIRNQDRGYT SDHQPSVKG
110	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYYMTWVRQA PGKGLEWVAF IRNQDRGYTS DHQPSVKGRF TISRDNKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR DRPSYYVLDY WGQGT VTVS S
111	TSDQSLFNVR SGKNYLA
112	WASDRES
113	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCTSDQSLF NVRSQKNYLA WYQQKPGKAP KLLIYWASDR ESGVPSRFSG SGSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYYCKQSYDL FTFGGGTKVE IK
114	DRHSYYVLDY
115	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYYMTWVRQA PGKGLEWVAF IRNQARGYTS DHNPSVKGRF TISRDNKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR DRHSYYVLDY WGQGT VTVS S
116	KQSYLFT

[0244]

117	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ICTSSQSLF NVRSQKNYLA WYQQKPGKAP KLLIYWASTR ESGVPSRFSG SSGSDFTLT ISSLPEDFA TTYCKQSYYL FTFGGGTKVE IK
118	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSIR SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASSLEGGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNSYSRTFGQ GTKVEIK
119	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKLLIYV ASSLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPYTFGQ GTKLEIK
120	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGGGFS GYYWNWVRQA PGKGLEWIGE INHSGSTKYN PSLKSRFTIS GDNAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCVRGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
121	RADAAPTVSI FPPSSEQLTS GGASVVCFLN NFYPKDINVK WKIDGSRQN GVLNSWTDQD SKDSTYSMSS TLTLTKDEYE RHNSYTCEAT HKTSTSPIVK SFNRNEC
122	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYV ASSLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPYTFGQ GTKLEIK
123	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSIR SWLAWFQQKP GKAPKLLIYK ASSLEGGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YNSYSRTFGQ GTKVEIK
124	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGGGFS GYYWNWVRQA PGKGLEWVAE INHSGSATYN PSLKSRFTIS RDNAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
125	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGFS GYYWNWVRQA PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRFTIS VDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
126	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPRTFGG GTKVEIK
127	GGSFSGYYWS
128	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGFS GYYWSWVRQP PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRFTIS VDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
129	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGFS GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRFTIS VDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
130	EIDHQGSTKY NPSLKS
131	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGFS GYYWNWVRQA PGKGLEWIGE IDHQGSTKYN PSLKSRFTIS VDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
132	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGFS GYYWNWVRQA PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRVTIS VDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
133	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGGGFS GYYWNWVRQA PGKGLEWVAE INHSGSATYN PSLKSRFTIS RDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS

[0245]

134	EINHSGSATY VDSVKG
135	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGSFS GYYWNWVRQA PGKGLEWIGE INHSGSATYV DSVKGRFTIS RDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
136	ELYNWNVVDH
137	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGSFS GYYWNWVRQA PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRFTIS VDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARELY NWNVDHWGQG TLVTVSS
138	LQHNAYPRT
139	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR <b>NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA</b> <b>ASSLQSGVPS</b> RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ <b>HNAYPRT</b> FGG GTKVEIK
140	LQHSSYPRT
141	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HSSYPRTFGG GTKVEIK
142	LQHQSYPRT
143	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HSSYPRTFGG GTKVEIK
144	LQHASYPRT
145	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HASYPRTFGG GTKVEIK
146	LQHNAYPYT
147	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNAYPYTFGQ GTKLEIK
148	LQHQSYPYT
149	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HSSYPYTFGQ GTKLEIK
150	LQHASYPYT
151	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HASYPYTFGQ GTKLEIK
152	RASQSTRSWL A
153	QQYGSYSRT
154	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSTR SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASSLEGGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YGSYSRTFGQ GTKVEIK
155	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGGGSFS GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE IDHQGSTKYN PSLKSRVTIS VDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS

[0246]

156	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGSFS GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE IDHQGSTKYN PSLKSRVTIS VDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARELY NWNVDHWGQG TLVTVSS
157	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGGGSFS GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE IDHQGSTKYN PSLKSRVTIS VDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARELY NWNVDHWGQG TLVTVSS
158	AISGGGGSTQ YADSVKG
159	EVQLLESVGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGGSTQY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDI QWFGESTLFD YWGQGTLLTVV SS
160	DIQWYGESTL FDY
161	EVQLLESVGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS <b>SYAMSWVRQA</b> PGKGLEWVSA <b>ISGGGGSTYY</b> ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDI <b>QWYGESTLFD</b> YWGQGTLLTVV SS
162	DIQWHGESTL FDY
163	EVQLLESVGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDI QWHGESTLFD YWGQGTLLTVV SS
164	DIQWFGRSTL FDY
165	EVQLLESVGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDI QWFGRSTLFD YWGQGTLLTVV SS
166	RASQSTRSHL A
167	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSTR <b>SHLAWYQQKP GKAPKLLIYK</b> <b>ASSLEGVPS</b> RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYC <b>QQ YGSYSRTFGQ</b> GTKVEIK
168	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSTR SWLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASSLESGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YGSYSRTFGQ GTKVEIK
169	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSTR SWLAWHQKP GKAPKLLIYK ASSLESGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YGSYSRTFGQ GTKVEIK
170	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSTR SWLAWLQKP GKAPKLLIYK ASSLESGVPS RFSGSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCQQ YGSYSRTFGQ GTKVEIK
171	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGSFS GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRVTIS VDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
172	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGSFS <b>GYYWNWVRQA</b> PGKGLEWIGE <b>INHSGSATYN</b> PSLKSRVTIS VDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY <b>NWNVDHWGQG</b> TLVTVSS
173	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGSFS GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE IDHQGSTKYN PSLKSRVTIS VDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS

[0247]

174	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGGGSGS GYYWNWVRQA PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRVTIS VDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
175	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGGGSGS GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRVTIS VDTAKNSFYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
176	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGGGSGS GYYWNWIRQP PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRVTIS VDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSS
177	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCEVECPECP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVAVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCEVKG FYPSDIAVEW ESNQGPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
178	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCRVRCPRCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVAVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNQGPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSRLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
179	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCDKTHTCP PCPAPEAAGA PSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTTPV LDSDGSFFLY SKLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
180	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCRVRCPRCP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVAVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNQGPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSRLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG
181	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDHKPS NTKVDKTVR KCEVECPECP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVAVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR VVSVLTVVHQ DWLNGKEYKC KVSNGKLPSS IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCEVKG FYPSDIAVEW ESNQGPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPG
182	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEP KSCRKHTHTCP RCPAPEAAGA PSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE

[0248]

	MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SRLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
183	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHHKPS NTKVDKKVEP KSCEKHTHCP ECPAPEAAGA PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC EVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SRLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
184	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHHKPS NTKVDKKVEP KSCDKHTHCP PCPAPEAAGA PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC LVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SRLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
185	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSKV HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHHKPS NTKVDKKVEP KSCDKHTHCP PCPAPEAAGA PSVFLFPPKP KDTLMISRTP EVTCVVVDVS HEDPEVKFNW YVDGVEVHNA KTKPREEQYN STYRVVSVLT VLHQDWLNGK EYKCKVSNKA LPAPIEKTIS KAKGQPREPQ VYTLPPSREE MTKNQVSLTC EVKGFYPSDI AVEWESNGQP ENNYKTTPPV LDSDGSFFLY SRLTVDKSRW QQGNVFSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
186	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGGSFS GYYWNWVRQA PGKGLEWIGE INHSGSATYN PSLKSRVTIS VDTAKNSLYL QMNSLRAEDT AVYYCARGLY NWNVDHWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SNFGTQTYTC NVDHKPSNTK VDKTVERKCE VECPECPAPP VAGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV AVSHEDPEVQ FNWYVDGVEV HNAKTKPREE QFNSTFRVVS VLTVVHQDWL NGKEYKCKVS NKGLPSSIEK TISKTKGQPR EPQVYTLPPS REEMTKNQS LTCEVKGFYP SDIAVEWESN GQPENNYKTT PPMLDSDGSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN HYTKLSLS PGK
187	DIQMTQSPSS LSASVGRVIT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA ASSLQSGVPS RFSQSGSGTD FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNAYPRTFGG GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK
188	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS DYYMTWVRQA PGKGLEWVAF IRNQARGYTS DHNPSVKGRF TISRDNAKNS LYLQMNSLRA EDTAVYYCAR DRPSYYVLDY WGQGTITVTVS SASTKGPSVF PLAPCSRSTS ESTAALGCLV KDYFPEPVTV SWNSGALTSV VHTFPAVLQS SGLYSLSSV TVPSNFGTQ TYTCNVDHKP SNTKVDKTV RKRVRCPRC PAPPVAGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPVTV CVVVAVSHED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTF RVVSVLTVVH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKTK GQPREPQVYV LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPMLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQQG NVFSCSV MHE ALHNHYTQKS LSLSPGK

[0249]

189	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ICTSSQSLF NVRSQKNYLA WYQQKPGKAP KLLIYWASTR ESGVPSRFSG SSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYYCKQSYDL FTFGGGKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSL SSSLTSLKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC
190	EVQLLESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYAMSWVRQA PGKGLEWVSA ISGGGGSTYY ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDI QWYGESTLFD YWGQGLTVV SSASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCL VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYLSSV VTPSSNFGT QTYTCNVDPK PSNTKVDKTV ERKCEVECP ECPAPPVAGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVAVSHE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST FRVSVLTVV HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIKTISK KGQPREPQVY TLPPSREEMT KNQVSLTCEV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPMLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK
191	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQSTR SHLAWYQQKP GKAPKLLIYK ASSLEGGVPS RFGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQQ YGYSRFTFGQ GTKVEIKRTV AAPSVFIFPP SDEQLKSGTA SVVCLLNNFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK
192	GAGGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGGAGGC TTGGTCCAGC CTGGGGGGTC CCTGAGACTC TCCTGTGCAG TGTCTGGAGG GTCCTTTAGT GGTATTACT GGAAGTGGT GCGCCAGGCC CCAGGGAAGG GGCTGGAGTG GATTGGGAA ATAAACCACT CCGGAAGCGC CACCTATAAC CCGTCTCTCA AGAGTCGAGT GACCATCTCC GTAGACACGG CCAAGAACTC ACTGTATCTG CAAATGAACA GCCTGAGAGC CGAGGACACG GCTGTGTATT ACTGTGCGAG AGGCCTTTAC AACTGGAACG TGGACCACTG GGGCCAGGGC ACCCTGGTCA CCGTCTCCTC AGCGTCGACC AAGGGCCCAT CCGTCTTCCC CCTGGCGCCC TGCTCCAGGA GCACCTCCGA GAGCACAGCG GCCCTGGGCT GCCTGGTCAA GGACTACTTC CCCGAACCGG TGACGGTGTC GTGGAACCTA GCGCTCTGA CCAGCGGCGT GCACACCTTC CCGGCTGTCC TACAGTCTC AGGACTCTAC TCCCTCAGCA GCGTAGTGAC CGTGCCCTCC AGCAACTTCG GCACCCAGAC CTACACCTGC AACGTAGATC ACAAGCCCAG CAACACCAAG GTGACAAGA CAGTTGAGCG CAAATGTGAG GTCGAGTGCC CAGAGTGCCC AGCACCACCT GTGGCAGGAC CGTCAGTCTT CCTCTTCCCC CAAAACCCA AGGACACCCT CATGATCTCC CGGACCCCTG AGGTCACGTG CGTGGTGGTG GCCGTGAGCC ACGAAGACCC CGAGGTCCAG TTCAACTGGT ACGTGGACGG CGTGGAGGTG CATAATGCCA AGACAAAGCC ACGGGAGGAG CAGTTCAACA GCACGTTCCG TGTGGTCAGC GTCCTCACCG TCGTGCACCA GGACTGGCTG AACGGCAAGG AGTACAAGTG CAAGGTCTCC AACAAAGGCC TCCATCCTC CATCGAGAAA ACCATCTCCA AAACCAAAGG GCAGCCCCGA GAACACAGG TGACACCCT GCCCCATCC CGGGAGGAGA TGACCAAGAA CCAGGTCAGC CTGACCTGCG AGGTCAAAGG CTTCTACCCC AGCGACATCG CCGTGGAGTG GGAGAGCAAT GGGCAGCCGG AGAACAACCTA

[0250]

	CAAGACCACA CCTCCCATGC TGGACTCCGA CGGCTCCTTC TTCCTCTACA GCAAGCTCAC CGTGGACAAG AGCAGGTGGC AGCAGGGGAA CGTCTTCTCA TGCTCCGTGA TGCATGAGGC TCTGCAACAAC CACTACACAC AGAAGAGCCT CTCCTGTCC CCCGAAAA
193	GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CAGAGTCACC ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GGGCATTAGA AATGATTTAG GCTGGTATCA GCAGAAACCA GGGAAAGCCC CTAAGCGCCT GATCTATGCT GCATCCAGTT TGCAAAGTGG GGTCCCATCA AGGTTCAAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT GAAGATTTTG CAACTTACTA CTGTCTACAG CATAATGCCT ACCCTCGCAC TTTCGGCGGA GGGACCAAGG TGGAGATCAA ACGTACGGTG GCTGCACCAT CTGTCTTCAT CTTCCCGCCA TCTGATGAGC AGTTGAAATC TGGAAGTCC TCTGTTGTGT GCCTGCTGAA TAACTTCTAT CCAGAGAGG CCAAAGTACA GTGGAAGGTG GATAACGCC TCCAATCGGG TAACTCCCAG GAGAGTGTCA CAGAGCAGGA CAGCAAGGAC AGCACCTACA GCCTCAGCAG CACCCTGACG CTGAGCAAAG CAGACTACGA GAAACAAAA GTCTACGCCT CCGAAGTCAC CCATCAGGGC CTGAGCTCGC CCGTCACAAA GAGCTTCAAC AGGGGAGAGT GT
194	GAAGTGCAGC TTGTGGAGTC CGGTGGCGGA CTCGTGCAGC CGGGCGGATC CCTGAGACTG TCGTGTGCCG CATCAGGATT CACCTTTTCC GACTATTACA TGACCTGGGT CCGCCAAGCT CCCGGGAAGG GCCTGGAATG GGTGGCCTTC ATCCGCAACC AGGCCCGGGG CTACACTTCC GATCACAACC CTAGCGTGAA GGGAAGGTTCC ACCATTTTCGC GGGACAACGC GAAGAATTCC CTGTACCTCC AAATGAACAG CCTGCGGGCC GAGGACACTG CCGTCTACTA CTGCGCCCGC GATAGACCAA GCTACTACGT GTTGGACTAC TGGGGACAGG GGACCACGGT CACCGTCTCC TCAGCCTCCA CCAAGGGCCC ATCGGTCTTC CCCCTGGCGC CCTGTCCAG GAGCACCTCC GAGAGCACAG CGGCCCTGGG CTGCCTGGTC AAGGACTACT TCCCCGAACC GGTGACGGTG TCGTGGAAGT CAGGCGCTCT GACCAGCGGC GTGCACACCT TCCCGGCTGT CCTACAGTCC TCAGGACTCT ACTCCCTCAG CAGCGTAGTG ACCGTGCCCT CCAGCAACTT CGGCACCCAG ACCTACACCT GCAACGTAGA TCACAAGCCC AGCAACACCA AGGTGGACAA GACAGTTGAG CGCAAATGTC GTGTCAGGTG CCCAAGGTGC CCAGCACCCAC CTGTGGCAGG ACCGTCAGTC TTCCTTTTCC CCCCCAAACC CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACG TCGTGGTGG TGGCCGTGAG CCACGAAGAC CCCGAGGTCC AGTTCAACTG GTACGTGGAC GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCACGGGAGG AGCAGTTCAA CAGCACGTTT CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTCGTGCAC CAGGACTGGC TGAACGGCAA GGAGTACAAG TGCAAAGTCT CCAACAAAGG CCTCCCATCC TCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAACAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA GCCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTACC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC

[0251]

	GGAGAACAAC TACAAGACCA CACCTCCCAT GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCTA CAGCAGGCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC ACAGAAGAGC CTCTCCCTGT CTCCGGGTAA A
195	GACATCCAAA TGACCCAGTC ACCGTCATCG CTCTCGGCTT CCGTGGGCGA TAGAGTGACC ATTACTTGCA CGAGCTCCCA GTCCCTGTTC AACGTGCGCA GCCAGAAGAA CTACCTCGCC TGGTACCAGC AGAAGCCTGG AAAAGCCCCG AAGCTTCTGA TCTACTGGGC CTCGACCCGG GAGTCTGGTG TCCCATCCCG GTTCTCCGGA TCCGGCTCCG GGACCGACTT CACTCTGACC ATTAGCAGCC TGCAGCCCGA AGATTTGCGC ACCTATTACT GCAAGCAATC CTACGACTTG TTCACITTTG GCGGGGGAAC CAAGGTCGAG ATCAAACGAA CTGTGGCTGC ACCATCTGTC TTCATCTTCC CGCCATCTGA TGAGCAGTTG AAATCTGGAA CTGCCTCTGT TGTGTGCCTG CTGAATAACT TCTATCCCAG AGAGGCCAAA GTACAGTGGG AAGTGGATAA CGCCCTCCAA TCGGGTAACT CCCAGGAGAG TGTCACAGAG CAGGACAGCA AGGACAGCAC CTACAGCCTC AGCAGCACCC TGACGCTGAG CAAAGCAGAC TACGAGAAAC ACAAAGTCTA CGCCTGCGAA GTCACCCATC AGGGCCTGAG CTCGCCCGTC ACAAAGAGCT TCAACAGGGG AGAGTGT
196	GAGGTGCAGC TGTTGGAGTC TGGGGGAGGC TTGGTACAGC CTGGGGGGTC CCTGAGACTC TCCTGTGCAG CCTCTGGATT CACCTTTAGC AGCTATGCCA TGAGCTGGGT CCGCCAGGCT CCAGGGAAGG GGCTGGAATG GGTCTCAGCT ATTAGTGGTG GTGGTGGTAG CACATACTAC GCAGACTCCG TGAAGGGCCG GTTACCATC TCCAGAGACA ATTCCAAGAA CACGCTGTAT CTGCAAATGA ACAGCCTGAG AGCCGAGGAC ACGGCCGTAT ATTACTGTGC GAGGGACATA CAGTGGTACG GGGAGTCAAC CCTCTTTGAC TACTGGGGCC AGGGAACCCCT GGTCACCGTC TCCTCAGCGT CGACCAAGGG CCCATCGGTC TTCCCCCTGG CGCCCTGCTC CAGGAGCACC TCCGAGAGCA CAGCGGCCCT GGGCTGCCTG GTCAAGGACT ACTTCCCCGA ACCGGTGACG GTGTCGTGGA ACTCAGGGCG TCTGACCAGC GGCGTGCACA CCTTCCCGGC TGTCTACAG TCCTCAGGAC TCTACTCCCT CAGCAGCGTA GTGACCGTGC CCTCCAGCAA CTTCCGGCACC CAGACCTACA CCTGCAACGT AGATCACAAG CCCAGCAACA CCAAGGTGGA CAAGACAGTT GAGCGCAAAT GTGAGGTGCA GTGCCCAGAG TGCCCAGCAC CACCTGTGGC AGGACCGTCA GTCTTCTCT TCCCCCAAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC ACGTGCCTGG TGGTGGCCGT GAGCCACGAA GACCCCGAGG TCCAGTTCAA CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCACGGG AGGAGCAGTT CAACAGCACG TTCCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCGTG CACCAGGACT GGCTGAACGG CAAGGAGTAC AAGTGAAGG TCTCCAACAA AGGCCTCCCA TCCTCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAACC AAAGGGCAGC CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCGAGGTC AAAGGCTTCT ACCCCAGCGA

[0252]

	CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACACCTCC CATGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTACAGCAAG CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACACAGAAG AGCCTCTCCC TGCCCCCGG AAAA
197	GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGAGA CAGAGTCACC ATCACTTGCC GGGCAAGTCA GAGCACCCGT AGCCACTTAG CCTGGTATCA GCAGAAACCA GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATAAG GCATCCAGTT TGGAAGGTGG GGTCCCATCA AGGTTCAAGTGC GAGTGGATC TGGGACAGAT TCACTCTCA CCATCAGCAG TCTGCAACCT GAAGATTTTG CAACTTACTA CTGTCAACAG TATGGCAGTT ATTCTCGGAC GTTCGGCCAA GGGACCAAGG TGGAAATCAA ACGTACGGTG GCTGCACCAT CTGTCTTCAT CTTCCCGCCA TCTGATGAGC AGTTGAAATC TGGAAGTCC TCTGTTGTGT GCCTGCTGAA TAACCTTCTAT CCCAGAGAGG CCAAAGTACA GTGGAAGGTG GATAACGCCC TCCAATCGGG TAACTCCAG GAGAGTGTCA CAGAGCAGGA CAGCAAGGAC AGCACCTACA GCCTCAGCAG CACCCTGACG CTGAGCAAAG CAGACTACGA GAAACACAAA GTCTACGCCT GCGAAGTCAC CCATCAGGGC CTGAGCTCGC CCGTCACAAA GAGCTTCAAC AGGGGAGAGT GT
198	GGGSGGGSGGGGS
199	GYAWN
200	GSFS GY
201	NHSGS
202	DYYMT
203	GFTFS DY
204	RNQARGYT
205	SYAMS
206	GFTFS SY
207	SGGGGS
208	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSNFGTQT YTCNVDPKPS NTKVDKTVR KCCVECPSP APPVAGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTFR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKGLPAP IEKTISKTKG QPREPQVYTL PPSREEMTKN QVSLTCLVKG FYPDSIAVEW ESNGQPENNY KTTTPMLDSD GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
209	ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKKEVP KSCDK TH TCP PCP APELLG GPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP

[0253]

	REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPDSIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSG GSFFLYSKLT VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK
210	ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV HTPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YTCNVDPKPS NTKVDKRVES KYGPPCSCP APEFLG GPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSDQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKGLPSS IEKTISKAKG QPREPQVYTL PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPDSIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSG GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSLGK

[0254]

[0255]

일부 실시양태에서, 본 발명은 또한 CDR 접촉 영역에 기초한 B7-H4 항체의 CDR 부분을 제공한다. CDR 접촉 영역은 항체에 항원에 대한 특이성을 부여하는 항체의 영역이다. 일반적으로, CDR 접촉 영역은 CDR 및 버니어 구역 내의 잔기 위치를 포함하며, 이는 특이적 항원에 결합하는 항체에 대해 적절한 루프 구조를 유지하기 위해 제약된다. 예를 들어, 문헌 [Makabe et al., J. Biol. Chem., 283:1156-1166, 2007]을 참조한다. CDR 접촉 영역의 결정은 관련 기술분야의 기술 내에 있다.

[0256]

B7-H4, 예컨대 hB7-H4의 세포외 도메인에 대한 본원에 기재된 바와 같은 B7-H4 항체의 결합 친화도 ( $K_D$ )는 약 0.002 nM 내지 약 6500 nM일 수 있다. 일부 실시양태에서, 결합 친화도는 약 6500 nM, 6000 nM, 5986 nM,

5567 nm, 5500 nm, 4500 nm, 4000 nm, 3500 nm, 3000 nm, 2500 nm, 2134 nm, 2000 nm, 1500 nm, 1000 nm, 750 nm, 500 nm, 400 nm, 300 nm, 250 nm, 200 nm, 193 nm, 100 nm, 90 nm, 50 nm, 45 nm, 40 nm, 35 nm, 30 nm, 25 nm, 20 nm, 19 nm, 18 nm, 17 nm, 16 nm, 15 nm, 10 nm, 8 nm, 7.5 nm, 7 nm, 6.5 nm, 6 nm, 5.5 nm, 5 nm, 4 nm, 3 nm, 2 nm, 1 nm, 0.5 nm, 0.3 nm, 0.1 nm, 0.01 nm 또는 0.002 nm 중 어느 것이다. 일부 실시양태에서, 결합 친화도는 대략 약 6500 nm, 6000 nm, 5500 nm, 5000 nm, 4000 nm, 3000 nm, 2000 nm, 1000 nm, 900 nm, 800 nm, 250 nm, 200 nm, 100 nm, 50 nm, 30 nm, 20 nm, 10 nm, 7.5 nm, 7 nm, 6.5 nm, 6 nm, 5 nm, 4.5 nm, 4 nm, 3.5 nm, 3 nm, 2.5 nm, 2 nm, 1.5 nm, 1 nm 또는 0.5 nm 중 어느 것 미만이다.

- [0257] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4 항체는 전장 인간 항체이다.
- [0258] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4 항체는 단일 쇠 가변 영역 항체 (scFv)이다.
- [0259] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4 항체는 디아바디 또는 미니바디이다.
- [0260] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4 항체는 B7-H4에 결합하는 항원 결합 부분을 포함하는 융합 단백질이며, 여기서 항원 결합 부분은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하고, 여기서 6개의 CDR은 각각 표 2에 기재된 항체의 상응하는 CDR과 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0261] 일부 실시양태에서, 본 발명은 B7-H4에 특이적으로 결합하는 세포외 도메인, 제1 막횡단 도메인 및 세포내 신호 전달 도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체 (CAR)를 제공한다. 일부 실시양태에서, 세포외 도메인은 VH CDR1, VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하는 단일 쇠 Fv 단편 (ScFv)을 포함하며, 여기서 6개의 CDR은 각각 표 2에 기재된 항체의 상응하는 CDR과 동일한 아미노산 서열을 갖는다.
- [0262] 본 발명은 또한 본원에 개시된 임의의 항체를 제조하는 방법을 제공한다. 본원에 제공된 항체는 관련 기술분야에 공지된 절차에 의해 제조될 수 있다.
- [0263] B7-H4 항체 접합체
- [0264] 본 발명은 또한 본원에 기재된 바와 같은 B7-H4 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 접합체 (또는 면역접합체)를 제공하며, 여기서 항체 또는 항원 결합 단편은 표적화된 면역요법을 위한 작용제 (예를 들어, 세포독성제)에 직접적으로 또는 링커를 통해 간접적으로 접합된다 (예를 들어, 항체-약물 접합체). 예를 들어, 세포독성제는 종양 (예를 들어, B7-H4 발현 종양)으로의 세포독성제 모이어티의 표적화된 국부 전달을 위해 본원에 기재된 바와 같은 B7-H4 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 연결 또는 접합될 수 있다.
- [0265] 세포독성제 또는 다른 치료제를 항체에 접합시키는 방법은 다양한 공개물에 기재되어 있다. 예를 들어, 접합 반응이 일어나도록 쇠간 디술피드 결합을 환원시킴으로써 활성화되는 시스템인 술폰히드릴 기를 통해 또는 리신 측쇄 아민을 통해 항체에서 화학적 변형이 이루어질 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Tanaka et al., FEBS Letters 579:2092-2096, 2005 및 Gentle et al., Bioconjugate Chem. 15:658-663, 2004]을 참조한다. 정의된 화학량론을 갖는 특이적 약물 접합을 위해 항체의 특이적 부위에서 조작된 반응성 시스템인 잔기가 또한 기재되었다. 예를 들어, 문헌 [Junutula et al., Nature Biotechnology, 26:925-932, 2008]을 참조한다. 트랜스글루타미나제 및 아민 (예를 들어, 반응성 아민을 포함하거나 또는 그에 부착된 세포독성제)의 존재 하에 폴리펩티드 조작에 의해 반응성 (즉, 아실 공여자로서 공유 결합을 형성할 수 있음)으로 만든 아실 공여자 글루타민-함유 태그 또는 내인성 글루타민을 사용한 접합이 또한 국제 출원 W02012/059882 및 W02015015448에 기재되어 있다.
- [0266] 본 발명의 B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편에 접합될 수 있는 작용제는 세포독성제, 면역조정제, 영상화제, 치료 단백질, 생체중합체 또는 올리고뉴클레오티드를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0267] B7-H4 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 접합될 수 있는 세포독성제의 예는 안트라시클린, 아우리스타틴, 돌라스타틴, 콤프레타스타틴, 두오카르마이신, 피롤로벤조디아제핀 이량체, 인돌리노-벤조디아제핀 이량체, 에네디인, 겐다나마이신, 메이탄신, 퓨로마이신, 탁산, 빈카 알칼로이드, 캄프토테신, 튜부리신, 헤미아스텔린, 스플라이세오스타틴, 플라디에놀리드 및 그의 입체이성질체, 동배체, 유사체 또는 유도체를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.
- [0268] B7-H4 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 접합될 수 있는 면역조정제의 예는 간시클로비르, 에타네르셉트, 타크롤리무스, 시롤리무스, 보클로스포린, 시클로스포린, 라파마이신, 시클로포스파미드, 아자티오프린, 미코페놀레이트 모페틸, 메토타렉세이트, 글루코코르티코이드 및 그의 유사체, 시토카인, 줄기 세포 성장 인자, 림프독소, 종양 괴사 인자 (TNF), 조혈 인자, 인터류킨 (예를 들어, 인터류킨-1 (IL-1), IL-2, IL-3, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18 및 IL-21), 콜로니 자극 인자 (예를 들어, 과립구-콜로니 자극 인자 (G-CSF) 및 과립구 대식세포-콜

로니 자극 인자 (GM-CSF)), 인터페론 (예를 들어, 인터페론- $\alpha$ ,  $-\beta$  및  $-\gamma$ ), "S 1 인자"로 지정된 줄기 세포 성장 인자, 에리트로포이에틴 및 트롬보포이에틴 또는 그의 조합을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0269] B7-H4 항체 또는 그의 항원 결합 단편에 접합될 수 있는 영상화제 (예를 들어, 형광단 또는 키레이트화제)의 예는, 예컨대 플루오레세인, 로다민, 란타나이드 인광체 및 그의 유도체 또는 키레이트화제에 결합된 방사성동위원소를 포함한다. 형광단의 예는 플루오레세인 이소티오시아네이트 (FITC) (예를 들어, 5-FITC), 플루오레세인 아미다이트 (FAM) (예를 들어, 5-FAM), 예오신, 카르복시플루오레세인, 에리트로신, 알렉사 플루오르(Alexa Fluor)<sup>®</sup> (예를 들어, 알렉사 350, 405, 430, 488, 500, 514, 532, 546, 555, 568, 594, 610, 633, 647, 660, 680, 700 또는 750), 카르복시테트라메틸로다민 (TAMRA) (예를 들어, 5-TAMRA), 테트라메틸로다민 (TMR) 및 술포로다민 (SR) (예를 들어, SR101)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 키레이트화제의 예는 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-N,N',N'',N'''-테트라아세트산 (DOTA), 1,4,7-트리아자시클로노난-1,4,7-트리아세트산 (NOTA), 1,4,7-트리아자시클로노난, 1-글루타르산-4,7-아세트산 (테페록사민), 디에틸렌트리아민펜타아세트산 (DTPA) 및 1,2-비스(o-아미노페녹시)에탄-N,N',N''-테트라아세트산 (BAPTA)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0270] 일부 실시양태에서, 작용제는 독소, 호르몬, 효소 및 성장 인자를 포함하나 이에 제한되지는 않는 치료 단백질이다.

[0271] 독소 단백질 (또는 폴리펩티드)의 예는 디프테리아 (예를 들어, 디프테리아 A 쇄), 슈도모나스 외독소 및 내독소, 리신 (예를 들어, 리신 A 쇄), 아브린 (예를 들어, 아브린 A 쇄), 모데신 (예를 들어, 모데신 A 쇄), 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이 단백질, 디안틴 단백질, 리보뉴클레아제 (RNase), DNase I, 스타필로코쿠스 장독소-A, 미국자리공 항바이러스 단백질, 겔로닌, 디프테리아 독소, 피토라카 아메리카나 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시달리스 억제제, 미토겔린, 레스 트릭토신, 페노마이신, 에노마이신, 트리코테센, 억제제 시스틴 노트 (ICK) 펩티드 (예를 들어, 세라토톡신) 및 코노톡신 (예를 들어, KIIIA 또는 SmIIIa)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0272] 일부 실시양태에서, 작용제는 생체적합성 중합체이다. 본원에 기재된 바와 같은 B7-H4 항체 또는 항원 결합 단편은 생체적합성 중합체에 접합되어 혈청 반감기 및 생물활성을 증가시키고/거나 생체내 반감기를 연장시킬 수 있다. 생체적합성 중합체의 예는 수용성 중합체, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜 (PEG) 또는 그의 유도체 및 쓰비터 이온-함유 생체적합성 중합체 (예를 들어, 포스포릴콜린 함유 중합체)를 포함한다.

[0273] 일부 실시양태에서, 작용제는 올리고뉴클레오티드, 예컨대 안티센스 올리고뉴클레오티드이다.

[0274] CD3 항체

[0275] 본 발명은 CD3 (예를 들어, 인간 CD3)에 결합하는 항체를 추가로 제공한다.

[0276] 일부 실시양태에서, 본 발명은 CD3에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 여기서 항체는 다음을 포함한다:

[0277] a) 서열식별번호: 31의 아미노산 서열을 갖는 VH, 서열식별번호: 35의 아미노산 서열을 갖는 VL, 서열식별번호: 178의 아미노산 서열의 중쇄 불변 영역 (CH) 및 서열식별번호: 12의 아미노산 서열의 경쇄 불변 영역 (CL);

[0278] b) 서열식별번호: 110의 아미노산 서열을 갖는 VH, 서열식별번호: 113의 아미노산 서열을 갖는 VL, 서열식별번호: 180의 아미노산 서열의 CH 및 서열식별번호: 12의 아미노산 서열의 CL;

[0279] c) 서열식별번호: 115의 아미노산 서열을 갖는 VH, 서열식별번호: 117의 아미노산 서열을 갖는 VL, 서열식별번호: 180의 아미노산 서열의 CH 및 서열식별번호: 12의 아미노산 서열의 CL;

[0280] d) 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH, 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL, 서열식별번호: 182의 아미노산 서열의 CH 및 서열식별번호: 12의 아미노산 서열의 CL;

[0281] e) 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH, 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL, 서열식별번호: 184의 아미노산 서열의 CH 및 서열식별번호: 12의 아미노산 서열의 CL; 또는

[0282] f) 서열식별번호: 106의 아미노산 서열을 갖는 VH, 서열식별번호: 108의 아미노산 서열을 갖는 VL, 서열식별번호: 178의 아미노산 서열의 CH 및 서열식별번호: 12의 아미노산 서열의 CL.

[0283] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 CD3에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 여기서 항체는 각각 표 4에 열거된 항체 중 어느 하나의 상응하는 CDR의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1, VH CDR2, VH

CDR3, VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함한다.

[0284] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 CD3에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 여기서 항체는 각각 표 4에 열거된 항체 중 어느 하나의 VH 및 VL의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0285] 표 4는 본 발명의 예시적인 CD3 항체를 기재한다.

[0286] 표 4. 예시적인 CD3 항체

항체 명칭	나타낸 항체 부분의 서열식별번호:									
	VH CDR1	VH CDR2	VH CDR3	VL CDR1	VL CDR2	VL CDR3	CH	CL	VH	VL
2B4 IgG2	28	29	30	32	33	34	178	12	31	35
2B5v598 IgG2	28	109	30	111	112	34	180	12	110	113
2B5c707 IgG2	28	105	114	107	33	116	180	12	115	117
2B5v6 IgG1	28	105	30	107	33	34	182	12	106	108
2B5V6 IgG1 #2	28	105	30	107	33	34	184	12	106	108
2B5V6 IgG2	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108

[0287]

[0288] B7-H4 이중특이적 항체

[0289] 본 발명은 또한 B7-H4 및 제2 항원에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공한다.

[0290] 제2 항원

[0291] 일부 실시양태에서, 제2 항원은 인간 면역 이펙터 세포 상에 위치한 이펙터 항원이다. 인간 이펙터 세포 상의 이펙터 항원의 개념은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예시적인 이펙터 항원은 CD3, CD16, NKG2D, Nkp-46, CD2, CD28, CD25, CD64 및 CD89를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0292] 일부 실시양태에서, 제2 항원은 CD3이다.

[0293] 일부 실시양태에서, 제2 항원은 표적 세포 상의 표적 항원 (B7-H4 이외의 것)일 수 있으며, 여기서 표적 세포는 인간에 대해 천연 또는 외래인 세포일 수 있다. 천연 표적 세포에서, 세포는 악성 세포이거나 병리학적으로 변형되도록 형질전환되었을 수 있다 (예를 들어, 바이러스, 플라스모디움 또는 박테리아로 감염된 천연 표적 세포). 외래 표적 세포에서, 세포는 침입 병원체, 예컨대 박테리아, 플라스모디움 또는 바이러스이다.

[0294] 표적 항원은 질환 상태 (예를 들어, 염증성 질환, 증식성 질환 (예를 들어, 암), 면역 장애, 신경계 질환, 신경 변성 질환, 자가면역 질환, 감염성 질환 (예를 들어, 바이러스 감염 또는 기생충 감염), 알레르기 반응, 이식편-대-숙주 질환 또는 숙주-대-이식편 질환)의 표적 세포 상에서 발현된다. 표적 항원은 이펙터 항원이 아니다. 표적 항원의 예는 B7-H4, EpCAM (상피 세포 부착 분자), CCR5 (케모카인 수용체 유형 5), CD19, HER (인간 표피 성장 인자 수용체)-2/neu, HER-3, HER-4, EGFR (표피 성장 인자 수용체), PSMA, CEA, MUC-1 (뮤신), MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, CIhCG, 루이스-Y, CD20, CD33, CD30, 강글리오시드 GD3, 9-O-아세틸-GD3, GM2, 글로보 H, 푸코실 GM1, 폴리 SA, GD2, 카르보안히드라제 IX (MN/CA IX), CD44v6, Shh (소닉 헤지호그), Wue-1, 형질 세포 항원, (막-결합) IgE, MCSP (흑색종 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸), CCR8, TNF-알파 전구체, STEAP, 메소텔린, A33 항원, PSCA (전립선 줄기 세포 항원), Ly-6; 테스모글레인 4, E-카드헤린 네오에피토프, 태아 아세틸콜린 수용체, CD25, CA19-9 마커, CA-125 마커 및 MIS (필러 역제 물질) 수용체 유형 II, sTn (시알릴화 Tn 항원; TAG-72), FAP (섬유모세포 활성화 항원), 엔도시알린, EGFRvIII, LG, SAS 및 CD63을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0295] B7-H4xCD3 이중특이적 항체

[0296] 하기 표 5는 B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 본 발명의 예시적인 이중특이적 항체 ("B7-H4xCD3 이중특이적 항체")의 제1 아암 및 제2 아암 둘 다의 CDR, 불변 영역 및 가변 영역의 서열식별번호를 제공한다.

[0297] 표 5. 예시적인 B7-H4xCD3 이중특이적 항체

항체 명칭	나타낸 항체 부분의 서열식별번호:									
	CDR1 (VH)	CDR2 (VH)	CDR3 (VH)	CDR1 (VL)	CDR2 (VL)	CDR3 (VL)	CH	CL	VH	VL
0032 (제 1 아암)	20	21	22	24	25	26	177	12	23	27
0032 (제 2 아암)	28	29	30	32	33	34	178	12	31	35
0038 (제 1 아암)	5	14	15	9	17	18	177	12	16	19
0038 (제 2 아암)	28	29	30	32	33	34	178	12	31	35
0044 (제 1 아암)	5	6	7	9	10	11	177	12	8	13
0044 (제 2 아암)	28	29	30	32	33	34	178	12	31	35
0068 (제 1 아암)	20	21	22	24	25	26	177	12	23	27
0068 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0074 (제 1 아암)	5	14	15	9	17	18	177	12	16	19
0074 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0077 (제 1 아암)	5	50	51	9	10	53	177	12	52	54
0077 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108

[0298]

0080 (제 1 아암)	5	6	7	9	10	11	177	12	8	13
0080 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0087 (제 1 아암)	5	14	15	9	17	18	181	12	16	19
0087 (제 2 아암)	28	109	30	111	112	34	180	12	110	113
0088 (제 1 아암)	5	14	15	9	17	18	181	12	16	19
0088 (제 2 아암)	28	105	114	107	33	116	180	12	115	117
0089 (제 1 아암)	5	14	15	9	17	18	183	12	16	19
0089 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	182	12	106	108
0090 (제 1 아암)	5	14	15	9	17	18	185	12	16	19
0090 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	184	12	106	108
0974 (제 1 아암)	5	130	7	9	10	138	181	12	155	139
0974 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0976 (제 1 아암)	5	130	136	9	10	138	181	12	156	139
0976 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0978 (제 1 아암)	5	130	136	9	10	140	181	12	157	141

[0299]

0978 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0980 (제 1 아얌)	5	130	7	9	10	140	181	12	155	141
0980 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0982 (제 1 아얌)	5	130	136	9	10	140	181	12	156	141
0982 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0998 (제 1 아얌)	20	158	22	24	25	26	181	12	159	27
0998 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
0999 (제 1 아얌)	20	21	160	24	25	26	181	12	161	27
0999 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1000 (제 1 아얌)	20	21	162	24	25	26	181	12	163	27
1000 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1001 (제 1 아얌)	20	21	164	24	25	26	181	12	165	27
1001 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1003 (제 1 아얌)	20	21	22	166	25	153	181	12	23	167
1003 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108

[0300]

1014 (제 1 아얌)	5	6	7	9	10	140	181	12	171	141
1014 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1037 (제 1 아얌)	5	6	7	9	10	140	181	12	172	141
1037 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1130 (제 1 아얌)	5	6	7	9	10	138	181	12	176	139
1130 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1133 (제 1 아얌)	5	6	7	9	10	138	181	12	171	139
1133 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1134 (제 1 아얌)	5	130	7	9	10	138	181	12	173	139
1134 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1135 (제 1 아얌)	5	6	7	9	10	138	181	12	174	139
1135 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1136 (제 1 아얌)	5	6	7	9	10	138	181	12	175	139
1136 (제 2 아얌)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1156 (제 1 아얌)	5	6	7	9	10	138	177	12	172	139

[0301]

1156 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1166 (제 1 아암)	20	21	160	152	25	153	181	12	161	154
1166 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1167 (제 1 아암)	20	21	160	166	25	153	177	12	161	167
1167 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1168 (제 1 아암)	20	21	160	152	41	153	181	12	161	168
1168 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1169 (제 1 아암)	20	21	160	152	41	153	181	12	161	169
1169 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108
1170 (제 1 아암)	20	21	160	152	41	153	181	12	161	170
1170 (제 2 아암)	28	105	30	107	33	34	178	12	106	108

[0302]

[0303]

표 5의 각각의 이중특이적 항체는 2개의 아암: B7-H4에 결합하는 제1 아암 및 CD3에 결합하는 제2 아암을 포함한다. 제1 아암 및 제2 아암 둘 다의 중쇄 CDR (VH CDR), 경쇄 CDR (VL CDR), 중쇄 가변 영역 (VH), 경쇄 가변 영역 (VL), 중쇄 불변 영역 (CH) 및 경쇄 불변 영역 (CL) 각각의 아미노산 서열의 서열식별번호가 표 5에 제시된다. (표 5에 열거된 각각의 서열식별번호의 아미노산 서열은 본원의 이전 세션의 표 3에 기재되어 있다.) 표 5의 각각의 VH CDR1 서열은 AbM 정의에 따르고, 표 5에 열거된 각각의 VH CDR2, VH CDR3, VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3 서열은 카바트 정의에 따른다.

[0304]

일부 실시양태에서, 본 발명은 제1 경쇄 및 제1 중쇄 및 제2 경쇄 및 제2 중쇄를 포함하며, 여기서 제1 경쇄 및 제1 중쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 아암을 형성하고, 제2 경쇄 및 제2 중쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 포함하는 제2 아암을 형성하는 것인, B7-H4 및 CD3 둘 다에 특이적으로 결합하는 이중특이적 항체를 제공한다.

[0305]

일부 실시양태에서, 제1 중쇄는 VH 및 CH를 포함하고, 제1 경쇄는 VL 및 CL을 포함하고, 제2 중쇄는 VH 및 CH를 포함하고, 제2 경쇄는 VL 및 CL을 포함하며, 여기서 제1 및 제2 중쇄 VH 및 CH 및 제1 및 제2 경쇄 VL 및 CL은 표 5에 열거된 임의의 이중특이적 항체의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0306]

일부 실시양태에서, 제1 경쇄는 VL을 포함하고, 제1 중쇄는 VH를 포함하고, 제2 경쇄는 VL을 포함하고, 제2 중쇄는 VH를 포함하며, 여기서 제1 및 제2 중쇄 및 제1 및 제2 경쇄의 각각의 VH 및 VL은 표 5에 열거된 이중특이적 항체 중 어느 하나의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는다.

[0307]

일부 실시양태에서, 제1 경쇄는 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하고, 제1 중쇄는 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하고, 제2 경쇄는 VL CDR1, VL CDR2 및 VL CDR3을 포함하고, 제2 중쇄는 VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3을 포함하며, 여기서 본 발명의 이중특이적 항체의 제1 아암 및 제2 아암의 각각의 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3은 표 5에 기재된 이중특이적 항체 중 어느 하나의 제1 아암 및 제2 아암의 각각의 VL CDR1, VL CDR2, VL CDR3, VH CDR1, VH CDR2 및 VH CDR3의 아미노산 서열과 동일한 아미노산 서열을 갖는다. 일부 실시양태에서, CDR은 카바트 정의, 코티아 정의, AbM 정의 또는 카바트와 코티아 CDR의 조합 ("조합된 CDR" 또는 "연장된 CDR"로도 지칭됨)에 따라 정의된다.

- [0308] B7-H4 항체, CD3 항체 및 B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 불변 영역
- [0309] 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 1개 이상의 불변 영역을 포함한다. 일부 실시양태에서, 항체는, 예를 들어 전장 인간 항체일 수 있다. 일부 실시양태에서, 전장 인간 항체는 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 이소형을 갖는다. 일부 실시양태에서, 항체는 면역학적으로 불활성인 Fc 영역을 포함할 수 있다.
- [0310] 달리 명시되지 않는 한, 인간 IgG1, IgG2 및 IgG4의 불변 영역의 본원에서의 모든 넘버링은 EU 넘버링 스킴에 따르고, 각각 야생형 인간 IgG1, IgG2 및 IgG4를 참조한다. 인간 IgG1, IgG2 및 IgG4의 힌지-CH2 영역의 넘버링은 도 1에 기재되고 예시된 바와 같다. IgG2, IgG1 및 IgG4에 대해 도 1에서 사용된 서열은 IMG/진-DB의 인간 IGHC 군으로부터의IGHG2\*01, IGHG1\*01 및 IGHG4\*01의 CH1, H, CH2 및 CH3 영역이다 (IMG/GENE-DB: Giudicelli, V. et al. *Nucleic Acids Res.*, 33: D256 - D261 (2005). PMID: 15608191).
- [0311] 일부 실시양태에서, Fc는 인간 IgG4 Fc이다. 일부 실시양태에서, 본원에 제공된 항체는 하기 돌연변이를 포함하는 IgG4의 불변 영역을 포함할 수 있다 (Armour et al., 2003, *Molecular Immunology* 40 585-593): E233F234L235에서 P233V234A235 (IgG4 Δc). 또 다른 실시양태에서, Fc는 인간 IgG4 E233F234L235에서 결실 G236을 갖는 P233V234A235 (IgG4 Δb)일 수 있다. 일부 실시양태에서, Fc는 S228에서 P228로의 힌지 안정화 돌연변이를 함유하는 임의의 인간 IgG4 Fc (IgG4, IgG4 Δb 또는 IgG4 Δc)일 수 있다 (Aalberse et al., 2002, *Immunology* 105, 9-19).
- [0312] 일부 실시양태에서, Fc는 인간 IgG2 Fc이다. 일부 실시양태에서, Fc는 A330P331에서 S330S331로의 돌연변이를 함유하는 인간 IgG2 (IgG2 Δa)이며, 여기서 및 단락의 나머지에서 아미노산 잔기는 야생형 인간 IgG2 서열을 참조하고 EU 넘버링 스킴에 따라 넘버링된다 (Eur. J. Immunol., 1999, 29:2613-2624). 일부 실시양태에서, Fc는 D265A의 치환을 갖는 인간 IgG2 Δa Fc이다. 일부 실시양태에서, 항체는 인간 IgG2의 힌지 영역 내의 위치 223, 225 및 228에서의 돌연변이 (예를 들어, C223E 또는 C223R), (E225R) 및 (P228E 또는 P228R)) 및 Fc에서 CH3 영역 내의 위치 409 또는 368에서의 돌연변이 (예를 들어, K409R 또는 L368E)를 추가로 함유한다. 도 1은 EU 넘버링 스킴을 포함하는 본원에 사용된 인간 IgG2 불변 영역의 구체적 넘버링을 보여준다.
- [0313] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 인간 Fc 감마 수용체에 대해 증가 또는 감소된 결합 친화도를 갖거나, 면역학적으로 불활성 또는 부분적으로 불활성인, 예를 들어 보체 매개 용해를 촉발하지 않거나, 항체-의존성 세포 매개 세포독성 (ADCC)을 자극하지 않거나 또는 소교세포를 활성화시키지 않거나; 또는 하기: 보체 매개 용해를 촉발하는 것, ADCC를 자극하는 것 또는 소교세포를 활성화시키는 것 중 어느 1개 이상에서 (비변형된 항체와 비교하여) 감소된 활성을 갖는 변형된 불변 영역을 포함한다. 불변 영역의 상이한 변형을 사용하여 이펙터 기능의 최적 수준 및/또는 조합을 달성할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Morgan et al., *Immunology* 86:319-324, 1995; Lund et al., *J. Immunology* 157:4963-9 157:4963-4969, 1996; Idusogie et al., *J. Immunology* 164:4178-4184, 2000; Tao et al., *J. Immunology* 143: 2595-2601, 1989; 및 Jefferis et al., *Immunological Reviews* 163:59-76, 1998]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 문헌 [Eur. J. Immunol., 1999, 29:2613-2624]; PCT 공개 번호 W099/058572에 기재된 바와 같이 변형된다.
- [0314] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체의 불변 영역은 Fc 감마 수용체 및 보체 및 면역계와의 상호작용을 피하도록 변형될 수 있다. 이러한 불변 영역을 갖는 항체의 제조 기술은 W0 99/58572에 기재되어 있다. 예를 들어, 불변 영역은 항체가 인간에서의 임상 시험 및 치료에 사용되는 경우에 면역 반응을 피하기 위해 인간 불변 영역과 보다 유사하도록 조작될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 5,997,867 및 5,866,692를 참조한다.
- [0315] 일부 실시양태에서, 불변 영역은 N-연결된 글리코실화에 대해 비-글리코실화된다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 불변 영역 내의 N-글리코실화 인식 서열의 일부인 올리고사카라이드 부착 잔기 및/또는 플랭킹 잔기를 돌연변이시킴으로써 N-연결된 글리코실화에 대해 비-글리코실화된다. 예를 들어, N-글리코실화 부위 N297은, 예를 들어 A, Q, K 또는 H로 돌연변이될 수 있다. 문헌 [Tao et al., *J. Immunology* 143: 2595-2601, 1989; 및 Jefferis et al., *Immunological Reviews* 163:59-76, 1998]을 참조한다. 일부 실시양태에서, 불변 영역은 N-연결된 글리코실화에 대해 비-글리코실화된다. 불변 영역은 효소적으로 (예컨대 효소 PNGase에 의해 탄수화물을 제거함) 또는 글리코실화 결핍 숙주 세포에서의 발현에 의해 N-연결된 글리코실화에 대해 비-글리코실화될 수 있다.
- [0316] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 PCT 공개 번호 W0 99/58572에 기재된 바와 같은 불변 영역 변형을 포함한다. 이들 항체는, 표적 분자에 지시된 결합 도메인에 추가로, 인간 이뮤노글로불린 중쇄의 불변 영역의 모두 또는 일부에 대해 실질적으로 상동인 아미노산 서열을 갖는 이펙터 도메인을 포함한다. 이들 항체는 유의한 보

체 의존성 용해 또는 세포-매개 표적 파괴를 촉발하지 않으면서 표적 분자에 결합할 수 있다. 일부 실시양태에서, 이펙터 도메인은 FcRn 및/또는 Fc $\gamma$ RIIb에 특이적으로 결합할 수 있다. 이들은 전형적으로 2개 이상의 인간 이뮤노글로불린 중쇄 CH2 도메인으로부터 유래된 키메라 도메인을 기반으로 한다. 이러한 방식으로 변형된 항체는 통상적인 항체 요법에 대한 염증성 및 다른 유해 반응을 피하기 위해 만성 항체 요법에서 사용하기에 특히 적합하다.

- [0317] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 비변형된 항체와 비교하여 FcRn에 대한 증가된 결합 친화도 및/또는 증가된 혈청 반감기를 갖는 변형된 불변 영역을 포함한다.
- [0318] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 서열식별번호: 177, 서열식별번호: 178, 서열식별번호: 179, 서열식별번호: 180, 서열식별번호: 181, 서열식별번호: 182, 서열식별번호: 183, 서열식별번호: 184 및 서열식별번호: 185로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0319] 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 서열식별번호: 12 또는 서열식별번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0320] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체는 제1 중쇄 및 제2 중쇄를 포함하고, 각각의 중쇄는 힌지 영역을 함유한다. 일부 실시양태에서, 중쇄 중 하나의 힌지 영역은 아미노산 변형을 함유하며, 여기서 치환 아미노산은 이중특이적 항체의 다른 중쇄의 힌지 영역 내의 상응하는 아미노산과 반대 전하를 갖는다. 이러한 접근법은 국제 특허 출원 번호 PCT/US2011/036419 (W02011/143545)에 기재되어 있다.
- [0321] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체는 제1 및 제2 이뮤노글로불린-유사 Fc 영역을 포함하고, 이중특이적 항체는 제1 및 제2 이뮤노글로불린-유사 Fc 영역 (예를 들어, 힌지 영역 및/또는 CH3 영역) 사이의 계면을 변경 또는 조작함으로써 증진된다. 이러한 접근법에서, 이중특이적 항체는 CH3 영역으로 구성될 수 있으며, 여기서 CH3 영역은 함께 상호작용하여 CH3 계면을 형성하는 제1 CH3 폴리펩티드 및 제2 CH3 폴리펩티드를 포함하고, 여기서 CH3 계면 내의 1개 이상의 아미노산은 동종이량체 형성을 탈안정화시키고 동종이량체 형성에 정전기적으로 불리하지 않다. 이러한 접근법은 국제 특허 출원 번호 PCT/US2011/036419 (W02011/143545)에 기재되어 있다.
- [0322] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체는 B7-H4에 대해 지시된 항체 아암에 대해 조작된 글루타민-함유 펩티드 태그 및 제2 항원에 대해 지시된 항체 아암에 대해 조작된 또 다른 펩티드 태그 (예를 들어, Lys-함유 펩티드 태그 또는 반응성 내인성 Lys)를 포함한다. 이러한 접근법은 국제 특허 출원 번호 PCT/IB2011/054899 (W02012/059882)에 기재되어 있다.
- [0323] 일부 실시양태에서, 본 발명의 이중특이적 항체는 제1 경쇄 및 제1 중쇄 및 제2 경쇄 및 제2 중쇄를 포함하는 전장 인간 항체를 포함하며, 여기서 제1 경쇄 및 제1 중쇄는 B7-H4에 결합하는 제1 항원 결합 도메인을 포함하는 제1 항체 아암을 형성하고, 제2 경쇄 및 제2 중쇄는 CD3에 결합하는 제2 항원 결합 도메인을 형성하는 제2 항체 아암을 형성한다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 전장 인간 IgG2이다. 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 A330P331에서 S330S331로의 돌연변이를 함유하는 전장 IgG2이다 (IgG2 $\Delta$ a). 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 D265A의 돌연변이를 추가로 포함하는 인간 IgG2 $\Delta$ a이다. 일부 실시양태에서, 제1 중쇄는 위치 223, 228 및/또는 368에서의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제1 중쇄의 위치 223, 228 및 368에서의 아미노산 변형은 C223E, P228E 및/또는 L368E이다. 일부 실시양태에서, 제2 중쇄는 위치 223, 225, 228 및/또는 409에서의 아미노산 변형을 포함한다. 일부 실시양태에서, 제2 중쇄의 위치 223, 225, 228 및 409에서의 아미노산 변형은 C223R, E225R, P228R 및/또는 K409R이다.
- [0324] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체는 전장 인간 IgG2 $\Delta$ a D265A이며, 여기서 제1 중쇄는 C223E, P228E 및 L368E의 아미노산 변형을 추가로 포함하고, 제2 중쇄는 C223R, E225R, P228R 및 K409R의 아미노산 변형을 추가로 포함한다. 본원에서의 모든 아미노산 넘버링은 인간 IgG2 야생형 및 EU 넘버링 스킴에 따르고 (Eur. J. Immunol., 1999, 29:2613-2624), 도 1에 제시된 바와 같다. 도 1은 제1 중쇄 불변 영역 (B7-H4 결합 아암, 상단), 제2 중쇄 불변 영역 (CD3 결합 아암, 중간) (둘 다 본 단락에 기재된 바와 같음) 및 인간 IgG2 야생형 불변 영역 (하단)의 아미노산 서열의 정렬을 도시한다.
- [0325] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체의 제1 중쇄는 서열식별번호: 181 또는 서열식별번호: 177의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함하고, 이중특이적 항체의 제2 중쇄는 서열식별번호: 178의 아미노산 서열을 포함하는 불변 영역을 포함한다.
- [0326] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체의 제1 중쇄 및 제2 중쇄는 인간 IgG1의 힌지 영역 내의 위치 221 및 228에

서의 아미노산 변형 (예를 들어, (D221R 또는 D221E) 및 (P228R 또는 P228E)) 및 CH3 영역 내의 위치 409 또는 368에서의 아미노산 변형 (예를 들어, K409R 또는 L368E (EU 넘버링 스킴))을 포함한다.

- [0327] 일부 실시양태에서, 이중특이적 항체의 제1 중쇄 및 제2 중쇄는 인간 IgG4의 힌지 영역 내의 위치 228에서의 아미노산 변형 (예를 들어, (P228E 또는 P228R)) 및 CH3 영역 내의 위치 409 또는 368에서의 아미노산 변형 (예를 들어, R409 또는 L368E (EU 넘버링 스킴))을 포함한다.
- [0328] B7-H4 항체, B7-H4xCD3 이중특이적 항체 및 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 포함한 본 발명의 항체는 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 항체 단편 (예를 들어, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv, Fc 등), 키메라 항체, 단일쇄 가변 영역 단편 (ScFv), 그의 돌연변이체, 항체 부분 (예를 들어, 도메인 항체)을 포함하는 융합 단백질, 인간화 항체, 및 항체의 글리코실화 변이체, 항체의 아미노산 서열 변이체 및 공유 변형된 항체를 포함한, 요구되는 특이성의 항원 인식 부위를 포함하는 임의의 다른 변형된 형상의 이뮤노글로불린 분자를 포괄한다. 항체는 무린, 래트, 인간 또는 임의의 다른 기원 (키메라 또는 인간화 항체 포함)일 수 있다.
- [0329] 폴리뉴클레오티드, 벡터 및 숙주 세포
- [0330] 폴리뉴클레오티드
- [0331] 본 발명은 또한 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체 및 CD3 항체를 비롯한 B7-H4 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드 및 상기 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터 및 숙주 세포를 제공한다.
- [0332] 본 발명은 또한 본 발명의 임의의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물, 예컨대 제약 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 본원에 기재된 임의의 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 서열식별번호: 196 및 서열식별번호: 197에 제시된 폴리뉴클레오티드 중 어느 하나 또는 둘 다를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 서열식별번호: 192 및 서열식별번호: 193에 제시된 폴리뉴클레오티드 중 어느 하나 또는 둘 다를 포함한다. 일부 실시양태에서, 조성물은 서열식별번호: 194 및 서열식별번호: 195에 제시된 폴리뉴클레오티드 중 어느 하나 또는 둘 다를 포함한다.
- [0333] 임의의 이러한 서열에 대한 폴리뉴클레오티드 상보성이 또한 본 발명에 포괄된다. 폴리뉴클레오티드는 단일-가닥 (코딩 또는 안티센스) 또는 이중-가닥일 수 있고, DNA (게놈, cDNA 또는 합성) 또는 RNA 분자일 수 있다. RNA 분자는 인트론을 함유하고 DNA 분자에 1-대-1 방식으로 상응하는 HnRNA 분자 및 인트론을 함유하지 않는 mRNA 분자를 포함한다. 추가의 코딩 또는 비-코딩 서열이 본 발명의 폴리뉴클레오티드 내에 존재할 수 있지만 반드시 그러한 필요는 없고, 폴리뉴클레오티드는 다른 분자 및/또는 지지체 물질에 연결될 수 있지만 반드시 그러한 필요는 없다.
- [0334] 폴리뉴클레오티드는 천연 서열 (즉, 항체 또는 그의 부분을 코딩하는 내인성 서열)을 포함할 수 있거나 또는 이러한 서열의 변이체를 포함할 수 있다. 폴리뉴클레오티드 변이체는 코딩된 폴리펩티드의 번역반응성이 천연 번역반응성 분자에 비해 감소되지 않도록 하는 1개 이상의 치환, 부가, 결실 및/또는 삽입을 함유한다. 코딩된 폴리펩티드의 번역반응성에 대한 효과는 일반적으로 본원에 기재된 바와 같이 평가될 수 있다. 변이체는 바람직하게는 천연 항체 또는 그의 부분을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 약 70% 동일성, 보다 바람직하게는 적어도 약 80% 동일성, 보다 더 바람직하게는 적어도 약 90% 동일성, 가장 바람직하게는 적어도 약 95% 동일성을 나타낸다.
- [0335] 2개의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열은 2개의 서열 내의 뉴클레오티드 또는 아미노산의 서열이 하기 기재된 바와 같이 최대 상응도로 정렬되었을 때 동일한 경우에 "동일한" 것으로 언급된다. 2개의 서열 사이의 비교는 전형적으로 서열 유사성의 국부 영역을 확인하고 비교하기 위해 비교 윈도우에 걸쳐 서열을 비교함으로써 수행된다. 본원에 사용된 "비교 윈도우"는 적어도 약 20개의 인접 위치, 통상적으로 30 내지 약 75개 또는 40 내지 약 50개의 인접 위치의 절편을 지칭하며, 여기서 서열은 2개의 서열이 최적으로 정렬된 후에 동일한 수의 인접 위치의 참조 서열과 비교될 수 있다.
- [0336] 비교를 위한 서열의 최적 정렬은 디폴트 파라미터를 사용하여 생물정보학 소프트웨어의 레이저진 스위트 (디엔에이스타, 인크.(DNASTAR, Inc.), 위스콘신주 매디슨) 내의 메그얼라인 프로그램을 사용하여 수행될 수 있다. 이 프로그램은 하기 참고문헌에 기재된 여러 정렬 스킴을 구현한다: 문헌 [Dayhoff, M.O., 1978, A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships. In Dayhoff, M.O. (ed.) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC Vol. 5, Suppl. 3, pp. 345-358; Hein J., 1990, Unified Approach to Alignment and Phylogenesis pp. 626-645

Methods in Enzymology vol. 183, Academic Press, Inc., San Diego, CA; Higgins, D.G. and Sharp, P.M., 1989, CABIOS 5:151-153; Myers, E.W. and Muller W., 1988, CABIOS 4:11-17; Robinson, E.D., 1971, Comb. Theor. 11:105; Santou, N., Nes, M., 1987, Mol. Biol. Evol. 4:406-425; Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R., 1973, Numerical Taxonomy the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA; Wilbur, W.J. and Lipman, D.J., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:726-730].

- [0337] 바람직하게는, "서열 동일성의 백분율"은 2개의 최적으로 정렬된 서열을 적어도 20개의 위치의 비교 윈도우에 걸쳐 비교함으로써 결정되며, 여기서 비교 윈도우 내의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 서열의 부분은 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 참조 서열 (부가 또는 결실을 포함하지 않음)과 비교하여 20 퍼센트 이하, 통상적으로 5 내지 15 퍼센트 또는 10 내지 12 퍼센트의 부가 또는 결실 (즉, 갭)을 포함할 수 있다. 백분율은 동일한 핵산 염기 또는 아미노산 잔기가 두 서열에서 발생하는 위치의 수를 결정하여 매칭되는 위치의 수를 산출하고, 매칭되는 위치의 수를 참조 서열 내의 위치의 총수 (즉, 윈도우 크기)로 나누고, 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 백분율을 산출함으로써 계산된다.
- [0338] 변이체는 또한 또는 대안적으로, 천연 유전자 또는 그의 부분 또는 상보체에 대해 실질적으로 상동일 수 있다. 이러한 폴리뉴클레오티드 변이체는 천연 항체를 코딩하는 자연 발생 DNA 서열 (또는 상보성 서열)에 중간 정도로 엄격한 조건 하에 혼성화할 수 있다.
- [0339] 적합한 "중간 정도로 엄격한 조건"은 5 X SSC, 0.5% SDS, 1.0 mM EDTA (pH 8.0)의 용액 중에서 사전세척하고; 50°C-65°C, 5 X SSC에서 밤새 혼성화하고; 이어서 0.1% SDS를 함유하는 각각의 2X, 0.5X 및 0.2X SSC로 65°C에서 20분 동안 2회 세척하는 것을 포함한다.
- [0340] 본원에 사용된 "고도로 엄격한 조건" 또는 "고 엄격도 조건"은 (1) 세척을 위해 낮은 이온 강도 및 높은 온도, 예를 들어 50°C에서 0.015 M 염화나트륨/0.0015 M 시트르산나트륨/0.1% 소듐 도데실 술페이트를 사용하거나; (2) 혼성화 동안 42°C에서 변성제, 예컨대 포름아미드, 예를 들어 50% (v/v) 포름아미드 + 0.1% 소 혈청 알부민 /0.1% 피콜/0.1% 폴리비닐피롤리돈/50 mM 인산나트륨 완충제 (pH 6.5) + 750 mM 염화나트륨, 75 mM 시트르산나트륨을 사용하거나; 또는 (3) 42°C에서 50% 포름아미드, 5 x SSC (0.75 M NaCl, 0.075 M 시트르산나트륨), 50 mM 인산나트륨 (pH 6.8), 0.1% 피로인산나트륨, 5 x 덴하르트 용액, 초음파처리된 연어 정자 DNA (50 µg/ml), 0.1% SDS 및 10% 텍스트란 술페이트를 사용하고, 42°C에서 0.2 x SSC (염화나트륨/시트르산나트륨) 및 55°C에서 50% 포름아미드로 세척하고, 이어서 55°C에서 EDTA를 함유하는 0.1 x SSC로 이루어진 고-엄격도 세척을 수행하는 것이다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 프로브 길이 등과 같은 인자를 수용하기 위해 필요에 따라 온도, 이온 강도 등을 조정하는 방법을 인식할 것이다.
- [0341] 관련 기술분야의 통상의 기술자는 유전자 코드의 축중성의 결과로서, 본원에 기재된 바와 같은 폴리펩티드를 코딩하는 많은 뉴클레오티드 서열이 존재한다는 것을 인지할 것이다. 이들 폴리뉴클레오티드 중 일부는 임의의 천연 유전자의 뉴클레오티드 서열에 대해 최소의 상동성을 보유한다. 그럼에도 불구하고, 코돈 용법에서의 차이로 인해 달라지는 폴리뉴클레오티드가 본 발명에 의해 구체적으로 고려된다. 추가로, 본원에 제공된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 유전자의 대립유전자는 본 발명의 범주 내에 있다. 대립유전자는 뉴클레오티드의 1개 이상의 돌연변이, 예컨대 결실, 부가 및/또는 치환의 결과로서 변경된 내인성 유전자이다. 생성된 mRNA 및 단백질은 변경된 구조 또는 기능을 가질 수 있지만, 반드시 그러할 필요는 없다. 대립유전자는 표준 기술 (예컨대 혼성화, 증폭 및/또는 데이터베이스 서열 비교)을 사용하여 확인될 수 있다.
- [0342] 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 화학적 합성, 제조법 방법 또는 PCR을 사용하여 수득될 수 있다. 화학적 폴리뉴클레오티드 합성 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 본원에 상세히 기재될 필요는 없다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 본원에 제공된 서열 및 상업적 DNA 합성기를 사용하여 목적하는 DNA 서열을 생성할 수 있다.
- [0343] 제조법 방법을 사용하여 폴리뉴클레오티드를 제조하기 위해, 목적하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드가 적합한 벡터 내로 삽입될 수 있고, 벡터가 다시 본원에 추가로 논의된 바와 같이 복제 및 증폭을 위해 적합한 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 관련 기술분야에 공지된 임의의 수단에 의해 숙주 세포 내로 삽입될 수 있다. 세포는 직접 흡수, 세포내이입, 형질감염, F-메이팅 또는 전기천공에 의해 외인성 폴리뉴클레오티드를 도입함으로써 형질전환된다. 도입되면, 외인성 폴리뉴클레오티드는 세포 내에서 비-통합된 벡터 (예컨대 플라스미드)로서 유지되거나 또는 숙주 세포 계능 내로 통합될 수 있다. 이와 같이 증폭된 폴리뉴클레오티드는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법에 의해 숙주 세포로부터 단리될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., 1989]을 참조한다.

- [0344] 대안적으로, PCR은 DNA 서열의 재현을 가능하게 한다. PCR 기술은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있고, 미국 특허 번호 4,683,195, 4,800,159, 4,754,065 및 4,683,202, 뿐만 아니라 문헌 [PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis et al. eds., Birkawer Press, Boston, 1994]에 기재되어 있다.
- [0345] RNA는 적절한 벡터 내의 단리된 DNA를 사용하고 이를 적합한 숙주 세포 내로 삽입함으로써 획득될 수 있다. 세포가 복제되고 DNA가 RNA로 전사되는 경우에, RNA는 이어서, 예를 들어 상기 문헌 [Sambrook et al., 1989]에 제시된 바와 같이 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지된 방법을 사용하여 단리될 수 있다.
- [0346] 벡터
- [0347] 적합한 클로닝 벡터는 표준 기술에 따라 구축될 수 있거나 또는 관련 기술분야에서 이용가능한 다수의 클로닝 벡터로부터 선택될 수 있다. 선택된 클로닝 벡터는 사용하고자 의도되는 숙주 세포에 따라 달라질 수 있지만, 유용한 클로닝 벡터는 일반적으로 자기-복제 능력을 가질 것이고/거나, 특정한 제한 엔도뉴클레아제에 대한 단일 표적을 보유할 수 있고/거나, 벡터를 함유하는 클론을 선택하는데 사용될 수 있는 마커에 대한 유전자를 보유할 수 있다. 적합한 예는 플라스미드 및 박테리아 바이러스, 예를 들어 pUC18, pUC19, 블루스크립트 (예를 들어, pBS SK+) 및 그의 유도체, mp18, mp19, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, 파지 DNA 및 서플 벡터, 예컨대 pSA3 및 pAT28을 포함한다. 이들 및 많은 다른 클로닝 벡터는 상업적 판매업체, 예컨대 바이오라드 (BioRad), 스트라테진(Stratagene) 및 인비트로젠(Invitrogen)으로부터 입수가 가능하다.
- [0348] 발현 벡터는 일반적으로 본 발명에 따른 폴리뉴클레오티드를 함유하는 복제가능한 폴리뉴클레오티드 구축물이다. 이는 발현 벡터가 숙주 세포에서 에피솜으로서 또는 염색체 DNA의 필수 부분으로서 복제가능해야 한다는 것을 암시한다. 적합한 발현 벡터는 플라스미드, 바이러스 벡터, 예컨대 아데노바이러스, 아데노-연관 바이러스, 레트로바이러스, 코스미드 및 PCT 공개 번호 WO 87/04462에 개시된 발현 벡터(들)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 벡터 성분은 일반적으로 하기 중 1종 이상을 포함할 수 있으나 이에 제한되지는 않는다: 신호 서열; 복제 기점; 1종 이상의 마커 유전자; 적합한 전사 제어 요소 (예컨대 프로모터, 인핸서 및 종결인자). 발현 (즉, 번역)을 위해, 1종 이상의 번역 제어 요소, 예컨대 리보솜 결합 부위, 번역 개시 부위 및 정지 코돈이 또한 통상적으로 요구된다.
- [0349] 관심 폴리뉴클레오티드를 함유하는 벡터는 전기천공, 염화칼슘, 염화루비듐, 인산칼슘, DEAE-덱스트란 또는 다른 물질을 사용한 형질감염; 미세발사체 충격; 리포펙션; 및 감염 (예를 들어, 벡터가 감염원, 예컨대 백시니아 바이러스인 경우)을 포함한 임의의 다수의 적절한 수단에 의해 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 도입 벡터 또는 폴리뉴클레오티드의 선택은 종종 숙주 세포의 특색에 좌우될 것이다.
- [0350] 숙주 세포
- [0351] 본 발명은 또한 본원에 기재된 임의의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 이중 DNA를 과다발현할 수 있는 임의의 숙주 세포가 관심 항체, 폴리펩티드 또는 단백질을 코딩하는 유전자를 단리하기 위한 목적으로 사용될 수 있다. 포유동물 숙주 세포의 비제한적 예는 COS, HeLa 및 CHO 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 또한, PCT 공개 번호 WO 87/04462를 참조한다. 적합한 비-포유동물 숙주 세포는 원핵생물 (예컨대 이. 콜라이(*E. coli*) 또는 비. 서브틸리스(*B. subtilis*)) 및 효모 (예컨대 에스. 세레비자에(*S. cerevisiae*), 에스. 폼베(*S. pombe*); 또는 케이. 락티스(*K. lactis*))를 포함한다. 바람직하게는, 숙주 세포는 숙주 세포에 존재하는 경우에 상응하는 관심 내인성 항체 또는 단백질의 수준보다 약 5배 더 높은, 보다 바람직하게는 10배 더 높은, 보다 더 바람직하게는 20배 더 높은 수준으로 cDNA를 발현한다. 숙주 세포를 B7-H4 또는 B7-H4 도메인 (예를 들어, 도메인 1-4)에의 특이적 결합에 대해 스크리닝하는 것은 면역검정 또는 FACS에 의해 수행된다. 관심 항체 또는 단백질을 과다발현하는 세포가 확인될 수 있다.
- [0352] 단백질 발현 및/또는 전달
- [0353] 발현 벡터는 B7-H4, CD3 또는 다른 중앙 항원 항체의 발현을 지시하는데 사용될 수 있다. 관련 기술분야의 통상의 기술자는 생체내에서 외인성 단백질의 발현을 얻기 위해 발현 벡터를 투여하는 것에 친숙하다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,436,908; 6,413,942; 및 6,376,471을 참조한다. 발현 벡터의 투여는 주사, 경구 투여, 입자 총 또는 카테터삽입 투여 및 국소 투여를 포함한, 국부 또는 전신 투여를 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 발현 벡터는 교감신경 줄기 또는 신경절에 또는 관상 동맥, 심방, 심실 또는 심막 내로 직접 투여된다.
- [0354] 발현 벡터 또는 서브게놈 폴리뉴클레오티드를 함유하는 치료 조성물의 표적화된 전달이 또한 사용될 수 있다.

수용체-매개 DNA 전달 기술은, 예를 들어 문헌 [Findeis et al., Trends Biotechnol., 1993, 11:202; Chiou et al., Gene Therapeutics: Methods And Applications Of Direct Gene Transfer, J.A. Wolff, ed., 1994; Wu et al., J. Biol. Chem., 263:621, 1988; Wu et al., J. Biol. Chem., 269:542, 1994; Zenke et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:3655, 1990; 및 Wu et al., J. Biol. Chem., 266:338, 1991]에 기재되어 있다. 폴리뉴클레오티드를 함유하는 치료 조성물은 유전자 요법 프로토콜에서 국부 투여를 위해 약 100 ng 내지 약 200 mg 범위의 DNA로 투여된다. 또한, 약 500 ng 내지 약 50 mg, 약 1 µg 내지 약 2 mg, 약 5 µg 내지 약 500 µg 및 약 20 µg 내지 약 100 µg 농도 범위의 DNA가 유전자 요법 프로토콜 동안 사용될 수 있다. 치료 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드는 유전자 전달 비히클을 사용하여 전달될 수 있다. 유전자 전달 비히클은 바이러스 또는 비-바이러스 기원일 수 있다 (일반적으로, 문헌 [Jolly, Cancer Gene Therapy, 1:51, 1994; Kimura, Human Gene Therapy, 5:845, 1994; Connelly, Human Gene Therapy, 1995, 1:185; 및 Kaplitt, Nature Genetics, 6:148, 1994] 참조). 이러한 코딩 서열의 발현은 내인성 포유동물 또는 이종 프로모터를 사용하여 유도될 수 있다. 코딩 서열의 발현은 구성적이거나 또는 조절될 수 있다.

[0355] 목적하는 폴리뉴클레오티드의 전달 및 목적하는 세포에서의 발현을 위한 바이러스-기반 벡터는 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 예시적인 바이러스-기반 비히클은 재조합 레트로바이러스 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 90/07936; WO 94/03622; WO 93/25698; WO 93/25234; WO 93/11230; WO 93/10218; WO 91/02805; 미국 특허 번호 5,219,740 및 4,777,127; 영국 특허 번호 2,200,651; 및 유럽 특허 번호 0 345 242 참조), 알파바이러스-기반 벡터 (예를 들어, 신드비스 바이러스 벡터, 썬리키 포레스트 바이러스 (ATCC VR-67; ATCC VR-1247), 로스강 바이러스 (ATCC VR-373; ATCC VR-1246) 및 베네수엘라 말 너염 바이러스 (ATCC VR-923; ATCC VR-1250; ATCC VR 1249; ATCC VR-532)), 및 아데노-연관 바이러스 (AAV) 벡터 (예를 들어, PCT 공개 번호 WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 및 WO 95/00655 참조)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 문헌 [Curiel, Hum. Gene Ther., 1992, 3:147]에 기재된 바와 같은 사멸 아데노바이러스에 연결된 DNA의 투여가 또한 사용될 수 있다.

[0356] 사멸 아데노바이러스 단독에 연결되거나 연결되지 않은 다가양이온성 축합 DNA (예를 들어, 문헌 [Curiel, Hum. Gene Ther., 3:147, 1992] 참조); 리간드-연결 DNA (예를 들어, 문헌 [Wu, J. Biol. Chem., 264:16985, 1989] 참조); 진핵 세포 전달 비히클 세포 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,814,482; PCT 공개 번호 WO 95/07994; WO 96/17072; WO 95/30763; 및 WO 97/42338 참조) 및 핵 전하 중화 또는 세포막과의 융합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 비-바이러스 전달 비히클 및 방법이 또한 사용될 수 있다. 네이키드 DNA가 또한 사용될 수 있다. 예시적인 네이키드 DNA 도입 방법은 PCT 공개 번호 WO 90/11092 및 미국 특허 번호 5,580,859에 기재되어 있다. 유전자 전달 비히클로서 작용할 수 있는 리포솜은 미국 특허 번호 5,422,120; PCT 공개 번호 WO 95/13796; WO 94/23697; WO 91/14445; 및 EP 0524968에 기재되어 있다. 추가의 접근법은 문헌 [Philip, Mol. Cell Biol., 14:2411, 1994 및 Woffendin, Proc. Natl. Acad. Sci., 91:1581, 1994]에 기재되어 있다.

[0357] ATCC 기탁

[0358] 본 발명의 대표적인 물질은 2020년 6월 19일에 아메리칸 타입 컬처 콜렉션 (ATCC)에 기탁되었다. ATCC 수탁 번호 PTA-126779를 갖는 벡터는 이중특이적 항체 1167의 전장 제1 중쇄 (B7-H4 아암)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유한다. ATCC 수탁 번호 PTA-126781을 갖는 벡터는 이중특이적 항체 1167의 전장 제1 경쇄 (B7-H4 아암)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유한다. ATCC 수탁 번호 PTA-126780을 갖는 벡터는 이중특이적 항체 1167의 전장 제2 중쇄 (CD3 아암)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유한다. ATCC 수탁 번호 PTA-126782를 갖는 벡터는 이중특이적 항체 1167의 전장 제2 경쇄 (CD3 아암)를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 함유한다.

[0359] 기탁은 특허절차상 미생물 기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트 조약 및 그 하의 규정 (부다페스트 조약)의 조항 하에 이루어졌다. 이는 기탁일로부터 30년 동안 기탁물의 생존 배양물의 유지를 보장한다. 기탁물은 부다페스트 조약의 조항 하에 및 화이자, 인크.(Pfizer, Inc.)와 ATCC 사이의 협정에 따라 ATCC에 의해 입수가능할 것이며, 상기 협정은 관련 미국 특허의 허여시 또는 임의의 미국 또는 외국 특허 출원의 공개시 (어느 것이든지 먼저인 것), 기탁물의 배양물의 자손을 영구적이고 비제한적으로 공중이 입수할 수 있는 것을 보장하고, 35 U.S.C. 122항 및 이에 따른 미국 특허상표청장의 규칙 (886 OG 638에 대한 특정 참조와 함께 37 C.F.R. 1.14항 포함)에 따라 자격이 있는 것으로 특허상표청장에 의해 결정된 이가 자손을 입수할 수 있는 것을 보장한다.

[0360] 본 출원의 수탁자는 기탁시의 상기 물질의 배양물이 적합한 조건 하에 배양될 경우에 사멸하거나 또는 분실되거나 또는 파괴되어야 한다면, 이 물질을 동일한 또 다른 것으로 즉시 대체하고 고지할 것에 동의하였다. 기탁된

물질의 입수가가능성은 특허법에 따라 임의의 정부의 권한 하에 부여된 권리에 위반하여 본 발명을 실시할 수 있는 라이선스로서 해석되는 것은 아니다.

- [0361] 본 발명의 항체의 제조 방법.
- [0362] 본 발명의 항체는 관련 기술분야에 공지되고 본원에 기재된 바와 같은 임의의 방법에 의해 제조될 수 있다.
- [0363] 예를 들어, 본원에 기재된 B7-H4 항체는 B7-H4에 대한 결합을 검출 및/또는 측정하는 관련 기술분야에 공지된 방법을 사용하여 확인 또는 특징화될 수 있다. 일부 실시양태에서, B7-H4 항체는 후보 작용제와 B7-H4의 결합 검정을 수행함으로써 확인된다. 결합 검정은 정제된 B7-H4 폴리펩티드(들)로 또는 B7-H4 폴리펩티드(들)를 자연적으로 발현하거나 발현하도록 형질감염된 세포로 수행될 수 있다. 한 실시양태에서, 결합 검정은 공지된 B7-H4 항체와 B7-H4 결합에 대해 경쟁하는 후보 항체의 능력을 평가하는 경쟁적 결합 검정이다. 검정은 ELISA 포맷을 포함한 다양한 포맷으로 수행될 수 있다.
- [0364] 초기 확인 후에, 후보 B7-H4 항체의 활성은 표적화된 생물학적 활성을 시험하는 것으로 공지된 생물검정에 의해 추가로 확인되고 정밀화될 수 있다. 대안적으로, 생물검정은 후보를 직접 스크리닝하는데 사용될 수 있다. 항체를 확인하고 특징화하는 방법 중 일부는 실시예에 상세히 기재되어 있다.
- [0365] B7-H4 항체는 관련 기술분야에 널리 공지된 방법을 사용하여 특징화될 수 있다. 예를 들어, 하나의 방법은 그것이 결합하는 에피토프를 확인하는 것 또는 "에피토프 맵핑"이다. 예를 들어 문헌 [Harlow and Lane, Using Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1999]의 챕터 11에 기재된 바와 같은, 항체-항원 복합체의 결정 구조의 해석, 경쟁 검정, 유전자 단편 발현 검정 및 합성 펩티드-기반 검정을 포함한, 단백질 상의 에피토프의 위치를 맵핑하고 특징화하는 방법 다수가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 추가의 예에서, 에피토프 맵핑은 항체가 결합하는 서열을 결정하는데 사용될 수 있다. 에피토프 맵핑은 다양한 공급원, 예를 들어 펩스칸 시스템즈(Pepscan Systems) (네덜란드 8219 PH 텔리스 타트 에델헤르트베크 15)로부터 상업적으로 입수가가능하다. 에피토프는 선형 에피토프, 즉 아미노산의 단일 스트레치에 함유된 에피토프일 수 있거나, 또는 반드시 단일 스트레치에 함유될 필요는 없을 수 있는 아미노산의 3차원 상호작용에 의해 형성된 입체형태적 에피토프일 수 있다. 다양한 길이 (예를 들어, 적어도 4-6개 아미노산 길이)의 펩티드가 단리 또는 합성되고 (예를 들어, 재조합적으로), B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 항체와의 결합 검정에 사용될 수 있다. 또 다른 예에서, B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 항체가 결합하는 에피토프는, B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 서열로부터 유래된 중첩 펩티드를 사용하고 B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 항체에 의한 결합을 결정함으로써 체계적인 스크리닝에서 결정될 수 있다. 유전자 단편 발현 검정에 따르면, B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원을 코딩하는 오픈 리딩 프레임이 무작위로 또는 특이적 유전자 구축에 의해 단편화되고, B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원의 발현된 단편과 시험될 항체의 반응성이 결정된다. 유전자 단편은, 예를 들어 PCR에 의해 생산된 다음, 방사성 아미노산의 존재 하에 시험관내에서 단백질로 전사 및 번역될 수 있다. 이어서, 방사성 표지된 B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 단편에 대한 항체의 결합이 면역침전 및 겔 전기영동에 의해 결정된다. 또한, 파지 입자의 표면 상에 디스플레이된 무작위 펩티드 서열의 대형 라이브러리 (파지 라이브러리)를 사용함으로써 특정 에피토프가 확인될 수 있다. 대안적으로, 정의된 중첩 펩티드 단편의 라이브러리가 간단한 결합 검정에서 시험 항체에의 결합에 대해 시험될 수 있다. 추가의 예에서, 항원 결합 도메인의 돌연변이유발, 도메인 스와핑 실험 및 알려진 스캐닝 돌연변이유발이 수행되어, 에피토프 결합에 요구되고/거나 충분하고/거나 필요한 잔기를 확인할 수 있다. 예를 들어, 도메인 스와핑 실험은 B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 단백질의 다양한 단편이 또 다른 종 (예를 들어, 마우스)으로부터의 B7-H4 또는 밀접하게 관련되지만 항원적으로 구별되는 단백질 (예를 들어, B7-H3)로부터의 서열로 대체 (스와핑)된 돌연변이 B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원을 사용하여 수행될 수 있다. 돌연변이 B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원에 대한 항체의 결합을 평가함으로써, 항체 결합에 대한 특정한 B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 단편의 중요성이 평가될 수 있다.
- [0366] B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 항체를 특징화하는데 사용될 수 있는 또 다른 방법은 동일한 항원, 즉 B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 상의 다양한 단편에 결합하는 것으로 공지된 다른 항체와의 경쟁 검정을 사용하여, B7-H4, CD3 또는 다른 종양 항원 항체가 다른 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지 여부를 결정하는 것이다. 경쟁 검정은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 널리 공지되어 있다.
- [0367] 제약 조성물 및 제제
- [0368] 본 발명은 유효량의 본 발명의 B7-H4 항체 또는 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 포함하는 제약 조성물을

제공한다. 제약 조성물은 다양한 제제로 존재할 수 있다.

- [0369] 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체의 다양한 제제가 투여에 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체는 순수하게 투여될 수 있다. 일부 실시양태에서, 항체 및 제약상 허용되는 부형제는 다양한 제제로 존재할 수 있다. 제약상 허용되는 부형제는 관련 기술분야에 공지되어 있다. 적합한 부형제는 안정화제, 습윤제 및 유화제, 다양한 오스몰농도를 위한 염, 캡슐화제, 완충제 및 피부 침투 증진제를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 부형제뿐만 아니라 비경구 및 비-비경구 약물 전달을 위한 제제는 문헌 [Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005]에 제시되어 있다. 일부 실시양태에서, 이들 작용제 (부형제)는 주사 (예를 들어, 복강내로, 정맥내로, 피하로, 근육내로 등)에 의한 투여를 위해 제제화된다. 따라서, 이들 작용제는 제약상 허용되는 비히클, 예컨대 염수, 링거액, 텍스트로스 용액 등과 조합될 수 있다. 특정한 투여 요법, 즉 용량, 시기 및 반복은 특정한 개체 및 그 개체의 의료 병력에 좌우될 것이다.
- [0370] 본 발명의 방법에 따라 사용되는 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체의 치료 제제는 목적하는 정도의 순도를 갖는 항체를 임의적인 제약상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제 (Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005)와 혼합하여 동결건조 제제 또는 수용액의 형태로 저장을 위해 제조된다. 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트 및 다른 유기 산; 염, 예컨대 염화나트륨; 항산화제, 예를 들어 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 핵사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만의 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐 피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드 및 다른 탄수화물, 예컨대 글루코스, 만노스 또는 텍스트린; 킬레이트화제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대-이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN)<sup>TM</sup>, 플루로닉스(PLURONICS)<sup>TM</sup> 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함할 수 있다.
- [0371] 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체를 함유하는 리포솜은 관련 기술분야에 공지된 방법, 예컨대 문헌 [Epstein, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688, 1985; Hwang, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030, 1980]; 및 미국 특허 번호 4,485,045 및 4,544,545에 기재된 방법에 의해 제조된다. 순환 시간이 증진된 리포솜은 미국 특허 번호 5,013,556에 개시되어 있다. 특히 유용한 리포솜은 포스파티딜콜린, 콜레스테롤 및 PEG-유도체화 포스파티딜에탄올아민 (PEG-PE)을 포함하는 지질 조성물을 사용한 역상 증발 방법에 의해 생성될 수 있다. 리포솜은 한정된 세공 크기의 필터를 통해 압출되어 목적하는 직경을 갖는 리포솜을 생성한다.
- [0372] 활성 성분은 또한, 예를 들어 코아세르베이션 기술에 의해 또는 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어 각각 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐에, 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로구체, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐)에 또는 마크로에멀전에 포획될 수 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21st Ed. Mack Publishing, 2005]에 개시되어 있다.
- [0373] 지속-방출 제제가 제조될 수 있다. 지속-방출 제제의 적합한 예는 항체를 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스를 포함하며, 이 매트릭스는 성형품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다. 지속-방출 매트릭스의 예는 폴리에스테르, 히드로겔 (예를 들어, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리아크리드 (미국 특허 번호 3,773,919), L-글루탐산 및 7 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌-비닐 아세테이트, 분해성 락트산-글리콜산 공중합체, 예컨대 루프론 데포(LUPRON DEPOT)<sup>TM</sup> (락트산-글리콜산 공중합체 및 류프롤리드 아세테이트로 구성된 주사가능한 마이크로구체), 수크로스 아세테이트 이소부티레이트 및 폴리-D(-)-3-히드록시부티르산을 포함한다.
- [0374] 생체내 투여에 사용될 제제는 멸균되어야 한다. 이는, 예를 들어 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다. 치료 항체, 예를 들어 본 발명의 조성물의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체는 일반적으로 멸균 접근 포트를 갖는 용기, 예를 들어 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알 내에 배치된다.
- [0375] 본 발명에 따른 조성물은 경구, 비경구 또는 직장 투여 또는 흡입 또는 취입에 의한 투여를 위한 단위 투여 형

태, 예컨대 정제, 환제, 캡슐, 분말, 과립, 용액 또는 현탁액 또는 좌제일 수 있다.

- [0376] 고체 조성물, 예컨대 정제를 제조하기 위해, 주요 활성 성분을 제약 담체, 예를 들어 통상적인 정제화 성분, 예컨대 옥수수 전분, 락토스, 수크로스, 소르비톨, 활석, 스테아르산, 스테아르산마그네슘, 인산이칼슘 또는 검 및 다른 제약 희석제, 예를 들어 물과 혼합하여, 본 발명의 화합물 또는 그의 비-독성 제약상 허용되는 염의 균질 혼합물을 함유하는 고체 예비제제 조성물을 형성한다. 이들 예비제제 조성물을 균질한 것으로 언급하는 경우, 이는 활성 성분이 조성물 전반에 걸쳐 고르게 분산되어 조성물이 동등하게 효과적인 단위 투여 형태, 예컨대 정제, 환제 및 캡슐로 용이하게 세분될 수 있음을 의미한다. 이어서, 이러한 고체 예비제제 조성물은 0.1 내지 약 500 mg의 본 발명의 활성 성분을 함유하는 상기 기재된 유형의 단위 투여 형태로 세분된다. 신규 조성물의 정제 또는 환제는 코팅되거나 또는 달리 배합되어 지속 작용의 이점을 제공하는 투여 형태를 제공할 수 있다. 예를 들어, 정제 또는 환제는 내부 투여 및 외부 투여 성분을 포함할 수 있으며, 후자는 전자 위의 외피의 형태이다. 2종의 성분은 위에서의 분해에 저항하는 역할을 하고 내부 성분이 십이지장 내로 무손상 통과하거나 방출이 지연되도록 하는 장용 층에 의해 분리될 수 있다. 다양한 물질이 이러한 장용 층 또는 코팅에 사용될 수 있으며, 이러한 물질은 다수의 중합체 산 및 중합체 산과 셀락, 세틸 알콜 및 셀룰로스 아세테이트와 같은 물질의 혼합물을 포함한다.
- [0377] 적합한 표면-활성제는, 특히 비-이온성 작용제, 예컨대 폴리옥시에틸렌소르비탄 (예를 들어, 트윈(Tween)<sup>TM</sup> 20, 40, 60, 80 또는 85) 및 다른 소르비탄 (예를 들어, 스펠(Span)<sup>TM</sup> 20, 40, 60, 80 또는 85)을 포함한다. 표면-활성제를 갖는 조성물은 편리하게는 0.05 내지 5%의 표면-활성제를 포함할 것이고, 0.1 내지 2.5%일 수 있다. 필요한 경우에, 다른 성분, 예를 들어 만니톨 또는 다른 제약상 허용되는 비히클이 첨가될 수 있는 것으로 인지될 것이다.
- [0378] 적합한 에멀전은 상업적으로 입수가능한 지방 에멀전, 예컨대 인트라리피드(Intralipid)<sup>TM</sup>, 리포신(Liposyn)<sup>TM</sup>, 인포뉴트롤(Infonutrol)<sup>TM</sup>, 리포펀딘(Lipofundin)<sup>TM</sup> 및 리피피산(Lipiphysan)<sup>TM</sup>을 사용하여 제조될 수 있다. 활성 성분은 사전-혼합된 에멀전 조성물 중에 용해될 수 있거나 또는 대안적으로 오일 (예를 들어 대두 오일, 홍화 오일, 목화씨 오일, 참깨 오일, 옥수수 오일 또는 아몬드 오일) 중에 용해될 수 있고, 에멀전은 인지질 (예를 들어 난 인지질, 대두 인지질 또는 대두 레시틴) 및 물과 혼합시 형성될 수 있다. 에멀전의 장성을 조정하기 위해 다른 성분, 예를 들어 글리세롤 또는 글루코스가 첨가될 수 있다는 것이 인지될 것이다. 적합한 에멀전은 전형적으로 20% 이하, 예를 들어 5 내지 20%의 오일을 함유할 것이다. 지방 에멀전은 0.1 내지 1.0  $\mu$ m, 특히 0.1 내지 0.5  $\mu$ m의 지방 액적을 포함할 수 있고, 5.5 내지 8.0 범위의 pH를 가질 수 있다.
- [0379] 에멀전 조성물은 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체를 인트라리피드<sup>TM</sup> 또는 그의 성분 (대두 오일, 난 인지질, 글리세롤 및 물)과 혼합함으로써 제조된 것일 수 있다.
- [0380] 흡입 또는 취입을 위한 조성물은 제약상 허용되는 수성 또는 유기 용매 또는 그의 혼합물 중의 용액 및 현탁액 및 분말을 포함한다. 액체 또는 고체 조성물은 상기 제시된 바와 같은 적합한 제약상 허용되는 부형제를 함유할 수 있다. 일부 실시양태에서, 조성물은 국부 또는 전신 효과를 위해 구강 또는 비강 호흡 경로에 의해 투여된다. 바람직하게는 멸균된 제약상 허용되는 용매 중의 조성물은 기체의 사용에 의해 네블라이징될 수 있다. 네블라이징된 용액은 네블라이징 장치로부터 직접 호흡될 수 있거나 또는 네블라이징 장치가 페이스 마스크, 텐트 또는 간헐적 양압 호흡 기계에 부착될 수 있다. 용액, 현탁액 또는 분말 조성물은 제제를 적절한 방식으로 전달하는 장치로부터, 바람직하게는 경구로 또는 비강으로 투여될 수 있다.
- [0381] 본 발명의 항체의 사용 방법
- [0382] 본 발명의 항체는 치유적 치료 방법 및 진단적 치료 방법을 포함하나 이에 제한되지 않는 다양한 적용에 유용하다.
- [0383] 치유적 치료:
- [0384] 한 측면에서, 본 발명은 대상체에서 B7-H4 발현과 연관된 상태를 치료하는 방법을 제공한다. 또 다른 측면에서, 본 발명은 대상체에서 B7-H4 발현과 연관된 상태를 치료하기 위한 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체, 또는 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 일부 실시양태에서, 대상체에서 B7-H4 발현과 연관된 상태를 치료하는 방법은 그의 치료를 필요로 하는 대상체에게 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체를 포함하는 제약 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 일부 실시양태에서, 상태는 암이다. 본원에 사용된 암은 방광암, 유방암, 자궁경부암, 용모막암종, 결장암, 식도암, 위암, 교모세포종, 신경교종, 뇌 종양, 두경부암, 신장암, 폐암, 구강암, 난

소암, 췌장암, 전립선암, 간암, 자궁암, 골암, 백혈병, 림프종, 육종, 혈액암, 갑상선암, 흉선암, 안암 및 피부암을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 일부 실시양태에서, 암은 유방암, 방광암, 자궁암 또는 난소암이다.

[0385] 일부 실시양태에서, (1) B7-H4를 발현하는 악성 세포를 갖는 대상체에서 종양 성장 또는 진행을 억제하거나, (2) 대상체에서 B7-H4를 발현하는 전이 세포를 억제하거나, 또는 (3) 악성 세포의 종양 퇴행의 유도를 필요로 하는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체를 포함하는 제약 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 악성 세포의 종양 퇴행을 유도하기 위한 방법 및 이를 위한 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체 또는 제약 조성물이 제공된다.

[0386] 일부 실시양태에서, 자가면역 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 기재된 바와 같은 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체를 포함하는 제약 조성물의 유효량을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서 자가면역 장애를 치료하기 위한 방법 및 이를 위한 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체 또는 제약 조성물이 제공된다. 본원에 사용된 자가면역 장애는 전신 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 당뇨병 (제I형), 다발성 경화증, 애디슨병, 복강 질환, 피부근염, 그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 하시모토 뇌병증, 중증 근무력증, 악성 빈혈, 반응성 관절염, 쇼그렌 증후군, 급성 과중성 뇌척수염, 무감마글로불린혈증, 근위축성 측삭 경화증, 강직성 척추염, 항인지질 증후군, 항신테타제 증후군, 아토피성 알레르기, 아토피성 피부염, 자가면역 장병증, 자가면역 용혈성 빈혈, 자가면역 간염, 자가면역 내이 질환, 자가면역 림프증식성 증후군, 자가면역 말초 신경병증, 자가면역 췌장염, 자가면역 다발내분비 증후군, 자가면역 프로게스테론 피부염, 자가면역 혈소판 감소성 자반증, 자가면역 두드러기, 자가면역 포도막염, 베체트병, 케슬만병, 저온 응집소 질환, 크론병, 피부근염, 호산구성 근막염, 위장 유친포창, 궤양성 결장증, 길랑-바레 증후군, 화농성 한선염, 특발성 혈소판감소성 자반증, 기면증, 심상성 천포창, 악성 빈혈, 다발근염, 원발성 담도 간경변증, 재발성 다발연골염, 류마티스성 열, 측두 동맥염, 횡단성 척수염, 궤양성 결장염, 미분화 결합 조직 질환, 혈관염 및 베게너 육아종증을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0387] 진단적 치료:

[0388] 또 다른 측면에서, B7-H4 발현과 연관된 상태를 검출, 진단 및/또는 모니터링하는 방법이 제공된다. 예를 들어, 본원에 기재된 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체는 검출가능한 모이어티, 예컨대 영상화제 및 효소-기질 표지로 표지될 수 있다. 본원에 기재된 바와 같은 항체는 또한 생체내 진단 검정, 예컨대 생체내 영상화 (예를 들어, PET 또는 SPECT), 또는 염색 시약에 사용될 수 있다. 대안적으로, 방법은 시험관내 또는 생체의 진단 검정에 사용될 수 있다.

[0389] 한 측면에서, 진단에 사용하기 위한, 바람직하게는 B7-H4 발현과 연관된 상태를 진단하는데 사용하기 위한 본원에 기재된 바와 같은 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체가 제공된다.

[0390] 전달 경로:

[0391] 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체는 임의의 적합한 경로를 통해 개체에게 투여될 수 있다. 따라서, 일부 실시양태에서, 항체는 공지된 방법에 따라, 예컨대 정맥내 투여, 예를 들어 볼루스로서 또는 일정 기간에 걸친 연속 주입에 의해, 근육내, 복강내, 뇌척수내, 두개내, 경피, 피하, 관절내, 설하, 활막내, 취입, 척추강내, 경구, 흡입 또는 국소 경로를 통해 개체에게 투여된다. 투여는 전신, 예를 들어 정맥내 투여 또는 국부 투여일 수 있다. 제트 네블라이저 및 초음파 네블라이저를 비롯한 액체 제제를 위한 상업적으로 입수가능한 네블라이저가 투여에 유용하다. 액체 제제는 직접 네블라이징될 수 있고, 동결건조된 분말은 재구성 후에 네블라이징될 수 있다. 대안적으로, 항체는 플루오로카본 제제 및 계량 용량 흡입기를 사용하여 에어로졸화될 수 있거나 또는 동결건조 및 밀링된 분말로써 흡입될 수 있다.

[0392] 한 실시양태에서, 항체는 부위-특이적 또는 표적화된 국부 전달 기술을 통해 투여된다. 부위-특이적 또는 표적화된 국부 전달 기술의 예는 항체의 다양한 이식형 데포 공급원 또는 국부 전달 카테터, 예컨대 주입 카테터, 유치 카테터 또는 바늘 카테터, 합성 이식편, 외막 랩, 선트 및 스텐트 또는 다른 이식형 장치, 부위 특이적 담체, 직접 주사 또는 직접 적용을 포함한다. 예를 들어, PCT 공개 번호 WO 00/53211 및 미국 특허 번호 5,981,568을 참조한다.

[0393] 투여량:

[0394] 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체는 주사 (예를 들어, 복강내로, 정맥내로, 피하로, 근육내로 등)에 의한 것을 포함한 임의의 적합한 방법을 사용하여 투여될 수 있다. 항체는 또한 본원에 기재된 바와 같이 흡입을 통해 투여될 수 있다. 일반적으로, 항체의 투여를 위한 초기 후보 투여량은 약 2 mg/kg일 수

있다. 본 발명의 목적상, 전형적인 1일 투여량은 상기 언급된 인자에 따라 약 3 µg/kg 내지 30 µg/kg, 내지 300 µg/kg, 내지 3 mg/kg, 내지 30 mg/kg, 내지 100 mg/kg 또는 그 초과 중 어느 하나의 범위일 수 있다. 예를 들어, 약 1 mg/kg, 약 2.5 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 10 mg/kg 및 약 25 mg/kg의 투여량이 사용될 수 있다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우에, 상태에 따라, 치료는 증상의 목적하는 억제가 발생할 때까지 또는 예를 들어 암 세포의 종양 성장/진행 또는 전이를 억제하거나 지연시키기에 충분한 치료 수준이 달성될 때까지 지속된다. 예시적인 투여 요법은 항체 약 2 mg/kg의 초기 용량, 이어서 약 1 mg/kg의 매주 유지 용량, 또는 이어서 약 1 mg/kg의 격주 유지 용량을 투여하는 것을 포함한다. 다른 예시적인 투여 요법은 증가하는 용량 (예를 들어, 1 mg/kg의 초기 용량 및 매주 또는 보다 긴 기간마다 1회 이상의 더 높은 용량으로의 점진적 증가)을 투여하는 것을 포함한다. 진료가 달성하고자 하는 약동학적 붕괴 패턴에 따라 다른 투여 요법이 또한 유용할 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 1주 1 내지 4회의 투여가 고려된다. 다른 실시양태에서, 1개월 1회 또는 격월 또는 3개월마다 1회 투여하는 것이 고려된다. 이러한 요법의 진행은 통상적인 기술 및 검정에 의해 용이하게 모니터링된다. 항체의 투여 요법은 시간 경과에 따라 달라질 수 있다.

[0395] 본 발명의 목적상, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체의 적절한 투여량은 치료될 증상의 유형 및 중증도, 작용제가 치료 목적으로 투여되는지의 여부, 선행 요법, 환자의 임상 병력 및 작용제에 대한 반응, 투여된 작용제에 대한 환자의 클리어런스 및 담당 의사의 판단에 좌우될 것이다. 전형적으로, 임상 의는 목적하는 결과를 달성하는 투여량에 도달할 때까지 항체를 투여할 것이다. 용량 및/또는 빈도는 치료 과정에 따라 달라질 수 있다. 실험적 고려사항, 예컨대 반감기는 일반적으로 투여량의 결정에 기여할 것이다. 예를 들어, 인간 면역계와 상용성인 항체, 예컨대 인간화 항체 또는 완전 인간 항체는 항체의 반감기를 연장시키고 항체가 숙주의 면역계에 의해 공격받는 것을 방지하는데 사용될 수 있다. 투여 빈도는 요법 과정에 걸쳐 결정 및 조정될 수 있고, 반드시 아니지만 일반적으로 증상의 치료 및/또는 억제 및/또는 호전 및/또는 지연, 예를 들어 종양 성장 억제 또는 지연 등에 기초한다. 대안적으로, 항체의 지속 연속 방출 제제가 적절할 수 있다. 지속 방출을 달성하기 위한 다양한 제제 및 장치는 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0396] 한 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체에 대한 투여량은 항체의 1회 이상의 투여(들)가 제공된 개체에서 실험적으로 결정될 수 있다. 개체에게 항체의 증분 투여량을 제공할 수 있다. 효능을 평가하기 위해, 질환의 지표를 추적할 수 있다.

[0397] 본 발명의 방법에 따른 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체의 투여는, 예를 들어 수용자의 생리학적 상태, 투여의 목적이 치료적인지 예방적인지의 여부 및 숙련된 진료의에게 공지된 다른 인자에 따라 연속적 또는 간헐적일 수 있다. 항체의 투여는 미리 선택된 기간에 걸쳐 본질적으로 연속적일 수 있거나 또는 일련의 이격된 용량으로 이루어질 수 있다.

[0398] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 1종 초과 B7-H4 항체가 존재할 수 있다. B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 적어도 1종, 적어도 2종, 적어도 3종, 적어도 4종, 적어도 5종 또는 그 초과 상이한 B7-H4 항체가 존재할 수 있다. 일반적으로, 이들 항체는 서로 유해한 영향을 미치지 않는 상보적 활성을 가질 수 있다. 예를 들어, 하기 항체 중 1종 이상이 사용될 수 있다: B7-H4 또는 CD3 상의 하나의 에피토프에 대해 지시된 제1 B7-H4 또는 CD3 항체 및 B7-H4 또는 CD3 상의 상이한 에피토프에 대해 지시된 제2 B7-H4 또는 CD3 항체.

[0399] 조합물

[0400] 일부 실시양태에서, B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 본 발명의 B7-H4 항체는 1종 이상의 추가의 치료제의 투여와 조합되어 투여될 수 있다. 추가의 치료제는 생물요법제 및/또는 화학요법제, 예컨대 비제한적으로 백신, CAR-T 세포-기반 요법, 방사선요법, 시토키인 요법, CD3 이중특이적 항체, 다른 면역억제 경로의 억제제, 혈관신생의 억제제, T 세포 활성화제, 대사 경로의 억제제, mTOR 억제제, 아데노신 경로의 억제제, 티로신 키나제 억제제, 예컨대 비제한적으로 인리타, ALK 억제제 및 수니티닙, BRAF 억제제, 후성적 변형제, IDO1 억제제, JAK 억제제, STAT 억제제, 시클린-의존성 키나제 억제제, 생물요법제 (VEGF, VEGFR, EGFR, Her2/neu, 다른 성장 인자 수용체, CD40, CD-40L, CTLA-4, OX-40, 4-1BB, TIGIT 및 ICOS에 대한 항체를 포함하나 이에 제한되지는 않음), 면역원성 작용제 (예를 들어, 약독화된 암성 세포, 종양 항원, 항원 제시 세포, 예컨대 종양 유래 항원 또는 핵산으로 펄스된 수지상 세포, 면역 자극 시토키인 (예를 들어, IL-2, IFN α2, GM-CSF) 및 면역 자극 시토키인, 예컨대 비제한적으로 GM-CSF를 코딩하는 유전자로 형질감염된 세포)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0401] 생물요법제의 예는 치료 항체, 면역 조정제 및 치료 면역 세포를 포함한다.

- [0402] 치료 항체는 다양한 상이한 항원에 대한 특이성을 가질 수 있다. 예를 들어, 치료 항체는 중앙 연관-항원에 대해 지시되어, 항원에 대한 항체의 결합이 항원을 발현하는 세포의 사멸을 촉진하도록 할 수 있다. 다른 예에서, 치료 항체는 면역 세포 상의 항원 (예를 들어 PD-1)에 대해 지시되어, 항체의 결합이 항원을 발현하는 세포의 활성의 하향조절을 방지하도록 (및 이에 의해 항원을 발현하는 세포의 활성을 촉진하도록) 할 수 있다. 일부 상황에서, 치료 항체는 다수의 상이한 메카니즘을 통해 기능할 수 있다 (예를 들어, 이는 i) 항원을 발현하는 세포의 사멸을 촉진하는 것 및 ii) 항원이 항원을 발현하는 세포와 접촉하는 면역 세포의 활성의 하향-조절을 유발하는 것을 방지하는 것 둘 다일 수 있음).
- [0403] 치료 항체는, 예를 들어 하기와 같이 열거된 항원에 대해 지시될 수 있다. 일부 항원에 대해, 항원에 대해 지시된 예시적인 항체가 또한 하기에 포함된다 (항원 뒤의 대괄호 / 소괄호 안에). 하기 항원은 또한 본원에서 "표적 항원" 등으로 지칭될 수 있다. 본원의 치료 항체에 대한 표적 항원은, 예를 들어: 4-1BB (예를 들어 우토밀루맵); 5T4; A33; 알파-플레이트 수용체 1 (예를 들어 미르베크시맵 소라브탄신); A1k-1; B7-H4 [예를 들어 PF-06863135 (US9969809 참조)]; BTN1A1 (예를 들어 W02018222689 참조); CA-125 (예를 들어 아바코보맵); 카르보안히드라제 IX; CCR2; CCR4 (예를 들어 모가몰리주맵); CCR5 (예를 들어 레론리맵); CCR8; CD3 [예를 들어 블리나투모맵 (CD3/CD19 이중특이적), PF-06671008 (CD3/P-카드헤린 이중특이적), PF-06863135 (CD3/B7-H4 이중특이적), CD19 (예를 들어 블리나투모맵, MOR208); CD20 (예를 들어 이브리투모맵 티옥세탄, 오비누투주맵, 오파투무맵, 리톡시맵, 우블리톡시맵); CD22 (이노투주맵 오조가미신, 목세투모맵 파수도톡스); CD25; CD28; CD30 (예를 들어 브렌톡시맵 베도틴); CD33 (예를 들어 겐투주맵 오조가미신); CD38 (예를 들어 다라투무맵, 이사톡시맵), CD40; CD-40L; CD44v6; CD47; CD52 (예를 들어 알렘투주맵); CD63; CD79 (예를 들어 폴라투주맵 베도틴); CD80; CD123; CD276 / B7-H3 (예를 들어 움부르타맵); CDH17; CEA; C1hCG; CTLA-4 (예를 들어 이필리루맵, 트레멜리루맵), CXCR4; 데스모글레인 4; DLL3 (예를 들어 로발피투주맵 테시린); DLL4; E-카드헤린; EDA; EDB; EFNA4; EGFR (예를 들어 세톡시맵, 데파톡시주맵 마포도틴, 네시투무맵, 파니투무맵); EGFRvIII; 엔도시알린; EpCAM (예를 들어 오포르투주맵 모나톡스); FAP; 태아 아세틸콜린 수용체; FLT3 (예를 들어 W02018/220584 참조); GD2 (예를 들어 디누톡시맵, 3F8); GD3; G1TR; 글로보H; GM1; GM2; GUCY2C (예를 들어 PF-07062119); HER2/neu [예를 들어 마르케톡시맵, 페르투주맵, 트라스투주맵; 아도-트라스투주맵 엠탄신, 트라스투주맵 듀오카르마진, PF-06804103 (US8828401 참조)]; HER3; HER4; ICOS; IL-10; ITG-AvB6; LAG-3 (예를 들어 렐라틀리맵); 루이스-Y; LG; Ly-6; M-CSF [예를 들어 PD-0360324 (US7326414 참조)]; MCSP; 메소텔린; MUC1; MUC2; MUC3; MUC4; MUC5AC; MUC5B; MUC7; MUC16; Notch1; Notch3; 넥틴-4 (예를 들어 엔포르투맵 베도틴); OX40 [예를 들어 PF-04518600 (US7960515 참조)]; P-카드헤린 [예를 들어 PF-06671008 (W02016/001810 참조)]; PCDHB2; PD-1 [예를 들어 BCD-100, 캄렐리주맵, 세미폴리맵, 게놀림주맵 (CBT-501), MEDI0680, 니볼루맵, 펌브롤리주맵, 사산리맵 (W02016/092419 참조), 신틸리맵, 스파르탈리주맵, STI-A1110, 티셀렐리주맵, TSR-042]; PD-L1 (예를 들어 아테졸리주맵, 두르발루맵, BMS-936559 (MDX-1105) 또는 LY3300054); PDGFRA (예를 들어 올라라투맵); 형질 세포 항원; PolySA; PSCA; PSMA; PTK7 [예를 들어 PF-06647020 (US9409995 참조)]; Ror1; SAS; SCR6; SLAMF7 (예를 들어 엘로투주맵); SHH; SIRPa (예를 들어 ED9, Effi-DEM); STEAP; TGF-베타; TIGIT; TIM-3; TMRSS3; TNF-알파 전구체; TROP-2 (예를 들어 사시투주맵 고비테칸); TSPAN8; VEGF (예를 들어 베마시주맵, 브롤루시주맵); VEGFR1 (예를 들어 라니비주맵); VEGFR2 (예를 들어 라무시루맵, 라니비주맵); Wue-1.
- [0404] 면역 조정제는 대상체에서 면역 반응을 자극할 수 있는 다양한 상이한 분자 유형, 예컨대 패턴 인식 수용체 (PRR) 효능제, 면역자극 시토카인 및 암 백신을 포함한다.
- [0405] 패턴 인식 수용체 (PRR)는 면역계의 세포에 의해 발현되고 병원체 및/또는 세포 손상 또는 사멸과 연관된 다양한 분자를 인식하는 수용체이다. PRR은 선천성 면역 반응 및 적응 면역 반응 둘 다에 관여한다. PRR 효능제는 대상체에서 면역 반응을 자극하는데 사용될 수 있다. 툴-유사 수용체 (TLR), RIG-I-유사 수용체 (RLR), 뉴클레오티드-결합 올리고머화 도메인 (NOD)-유사 수용체 (NLR), C-유형 렉틴 수용체 (CLR) 및 인터페론 유전자의 자극제 (STING) 단백질을 포함한 PRR 분자의 다수의 부류가 존재한다.
- [0406] 용어 "TLR" 및 "툴-유사 수용체"는 임의의 툴-유사 수용체를 지칭한다. 툴-유사 수용체는 면역 반응의 활성화에 관여하는 수용체이다. TLR은, 예를 들어 미생물에서 발현되는 병원체-연관 분자 패턴 (PAMP), 뿐만 아니라 사멸된 또는 사멸하는 세포로부터 방출되는 내인성 손상-연관 분자 패턴 (DAMP)을 인식한다.
- [0407] TLR을 활성화시키는 (및 이에 의해 면역 반응을 활성화시키는) 분자는 본원에서 "TLR 효능제"로 지칭된다. TLR 효능제는, 예를 들어 소분자 (예를 들어 약 1000 달톤 미만의 분자량을 갖는 유기 분자), 뿐만 아니라 대분자 (예를 들어 올리고뉴클레오티드 및 단백질)를 포함할 수 있다. 일부 TLR 효능제는 단일 유형의 TLR (예를 들어

TLR3 또는 TLR9)에 특이적인 반면, 일부 TLR 효능제는 2종 이상의 유형의 TLR (예를 들어 TLR7 및 TLR8 둘 다)을 활성화시킨다.

- [0408] 본원에 제공된 예시적인 TLR 효능제는 TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 및 TLR9의 효능제를 포함한다.
- [0409] 예시적인 소분자 TLR 효능제는, 예를 들어 미국 특허 번호 4,689,338; 4,929,624; 5,266,575; 5,268,376; 5,346,905; 5,352,784; 5,389,640; 5,446,153; 5,482,936; 5,756,747; 6,110,929; 6,194,425; 6,331,539; 6,376,669; 6,451,810; 6,525,064; 6,541,485; 6,545,016; 6,545,017; 6,573,273; 6,656,938; 6,660,735; 6,660,747; 6,664,260; 6,664,264; 6,664,265; 6,667,312; 6,670,372; 6,677,347; 6,677,348; 6,677,349; 6,683,088; 6,756,382; 6,797,718; 6,818,650; 및 7,7091,214; 미국 특허 공개 번호 2004/0091491, 2004/0176367 및 2006/0100229; 및 국제 공개 번호 WO 2005/18551, WO 2005/18556, WO 2005/20999, WO 2005/032484, WO 2005/048933, WO 2005/048945, WO 2005/051317, WO 2005/051324, WO 2005/066169, WO 2005/066170, WO 2005/066172, WO 2005/076783, WO 2005/079195, WO 2005/094531, WO 2005/123079, WO 2005/123080, WO 2006/009826, WO 2006/009832, WO 2006/026760, WO 2006/028451, WO 2006/028545, WO 2006/028962, WO 2006/029115, WO 2006/038923, WO 2006/065280, WO 2006/074003, WO 2006/083440, WO 2006/086449, WO 2006/091394, WO 2006/086633, WO 2006/086634, WO 2006/091567, WO 2006/091568, WO 2006/091647, WO 2006/093514 및 WO 2006/098852에 개시된 것을 포함한다.
- [0410] 소분자 TLR 효능제의 추가의 예는 특정 퓨린 유도체 (예컨대 미국 특허 번호 6,376,501 및 6,028,076에 기재된 것), 특정 이미다조퀴놀린 아미드 유도체 (예컨대 미국 특허 번호 6,069,149에 기재된 것), 특정 이미다조피리딘 유도체 (예컨대 미국 특허 번호 6,518,265에 기재된 것), 특정 벤즈이미다졸 유도체 (예컨대 미국 특허 번호 6,387,938에 기재된 것), 5원 질소 함유 헤테로시클릭 고리에 융합된 4-아미노피리미딘의 특정 유도체 (예컨대 미국 특허 번호 6,376,501; 6,028,076 및 6,329,381; 및 WO 02/08905에 기재된 아데닌 유도체), 및 특정 3-베타-D-리보푸라노실티아졸로 [4,5-d]피리미딘 유도체 (예컨대 미국 공개 번호 2003/0199461에 기재된 것), 및 특정 소분자 면역-강화제 화합물, 예컨대, 예를 들어 미국 특허 공개 번호 2005/0136065에 기재된 것을 포함한다.
- [0411] 예시적인 대분자 TLR 효능제는 올리고뉴클레오티드 서열로서 포함된다. 일부 TLR 효능제 올리고뉴클레오티드 서열은 시토신-구아닌 디뉴클레오티드 (CpG)를 함유하고, 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,388; 6,207,646; 6,239,116; 6,339,068; 및 6,406,705에 기재되어 있다. 일부 CpG-함유 올리고뉴클레오티드는 합성 면역조정 구조적 모티프, 예컨대, 예를 들어 미국 특허 번호 6,426,334 및 6,476,000에 기재된 것을 포함할 수 있다. 다른 TLR 효능제 뉴클레오티드 서열은 CpG 서열이 결합되어 있고, 예를 들어 국제 특허 공개 번호 WO 00/75304에 기재되어 있다. 또 다른 TLR 효능제 뉴클레오티드 서열은 구아노신- 및 우리딘-풍부 단일-가닥 RNA (ssRNA), 예컨대, 예를 들어 문헌 [Heil et al, Science, vol. 303, pp. 1526-1529, Mar. 5, 2004]에 기재된 것을 포함한다.
- [0412] 다른 TLR 효능제는 생물학적 분자, 예컨대 아미노알킬 글루코사미나이드 포스페이트 (AGP)를 포함하고, 예를 들어 미국 특허 번호 6,113,918; 6,303,347; 6,525,028; 및 6,649,172에 기재되어 있다.
- [0413] TLR 효능제는 또한 다수의 상이한 유형의 TLR 수용체를 활성화시킬 수 있는 불활성화된 병원체 또는 그의 분획을 포함한다. 예시적인 병원체-유래 TLR 효능제는 BCG, 미코박테리움 오부엔세 추출물, 탈리모겐 라허파랩백 (T-Vec) (HSV-1로부터 유래됨) 및 팩사-Vec (백시나 바이러스로부터 유래됨)을 포함한다.
- [0414] 일부 실시양태에서, TLR 효능제는 TLR에 특이적으로 결합하는 효능제 항체일 수 있다.
- [0415] RLR은, 예를 들어 dsRNA를 검출하는 다양한 시토졸 PRR을 포함한다. RLR의 예는, 예를 들어 레티노산-유도성 유전자 I (RIG-I), 흑색종 분화-연관 유전자 5 (MDA-5) 및 유전자 및 생리학 실험실 2 (LGP2)를 포함한다.
- [0416] 본원에 사용된 "RLR 효능제"는 RLR에 결합시, (1) RLR을 자극 또는 활성화시키거나, (2) RLR의 활성, 기능 또는 존재를 증진, 증가, 촉진, 유도 또는 연장시키거나, 또는 (3) RLR의 발현을 증진, 증가, 촉진 또는 유도하는 임의의 분자를 의미한다. 본 발명의 임의의 치료 방법, 의약 및 용도에 유용한 RLR 효능제는, 예를 들어 RLR에 결합하는 핵산 및 그의 유도체 및 RLR에 특이적으로 결합하는 효능작용 모노클로날 항체 (mAb)를 포함한다.
- [0417] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에 유용한 RLR 효능제의 예는, 예를 들어 비캡핑된 5' 트리포스페이트를 갖는 짧은 이중-가닥 RNA (RIG-I 효능제); 폴리 I:C (MDA-5 효능제) 및 BO-112 (MDA-A 효능제)를 포함한다.

- [0418] NLR은, 예를 들어 손상-연관 분자 패턴 (DAMP) 분자를 검출하는 다양한 PRR을 포함한다. NLR은 서브패밀리 NLR-A, NLR-B, NLR-C 및 NLR-P를 포함한다. NLR의 예는, 예를 들어 NOD1, NOD2, NAIP, NLR4 및 NLR3을 포함한다.
- [0419] 본원에 사용된 "NLR 효능제"는 NLR에 결합시, (1) NLR을 자극 또는 활성화시키거나, (2) NLR의 활성, 기능 또는 존재를 증진, 증가, 촉진, 유도 또는 연장시키거나, 또는 (3) NLR의 발현을 증진, 증가, 촉진 또는 유도하는 임의의 분자를 의미한다. 본 발명의 임의의 치료 방법, 의약 및 용도에 유용한 NLR 효능제는, 예를 들어 NLR에 결합하는 DAMP 및 그의 유도제 및 NLR에 특이적으로 결합하는 효능작용 모노클로날 항체 (mAb)를 포함한다.
- [0420] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에 유용한 NLR 효능제의 예는, 예를 들어 리포솜성 류라밀 트리펩티드 / 미파무르티드 (NOD2 효능제)를 포함한다.
- [0421] CLR은, 예를 들어 탄수화물 및 당단백질을 검출하는 다양한 PRR을 포함한다. CLR은 막횡단 CLR 및 분비된 CLR 둘 다를 포함한다. CLR의 예는, 예를 들어 DEC-205 / CD205, 대식세포 만노스 수용체 (MMR), 텍틴-1, 텍틴-2, 민클, DC-SIGN, DNGR-1 및 만노스-결합 렉틴 (MBL)을 포함한다.
- [0422] 본원에 사용된 "CLR 효능제"는 CLR에 결합시, (1) CLR을 자극 또는 활성화시키거나, (2) CLR의 활성, 기능 또는 존재를 증진, 증가, 촉진, 유도 또는 연장시키거나, 또는 (3) CLR의 발현을 증진, 증가, 촉진 또는 유도하는 임의의 분자를 의미한다. 본 발명의 임의의 치료 방법, 의약 및 용도에 유용한 CLR 효능제는, 예를 들어 CLR에 결합하는 탄수화물 및 그의 유도제 및 CLR에 특이적으로 결합하는 효능작용 모노클로날 항체 (mAb)를 포함한다.
- [0423] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에 유용한 CLR 효능제의 예는, 예를 들어 MD-분획 (그리폴라 프론도사 (*Grifola frondosa*)로부터의 정제된 가용성 베타-글루칸 추출물) 및 임프라임 PGG (효모로부터 유래된 베타 1,3/1,6-글루칸 PAMP)를 포함한다.
- [0424] STING 단백질은 제1형 인터페론 신호전달에서 시토졸 DNA 센서 및 어댑터 단백질 둘 다로서 기능한다. 용어 "STING" 및 "인터페론 유전자의 자극제"는 STING 단백질의 임의의 형태, 뿐만 아니라 STING의 활성의 적어도 일부를 보유하는 변이체, 이소형 및 중 상동체를 지칭한다. 예컨대 인간 STING에 대한 구체적 언급에 의해 다르게 나타내지 않는 한, STING는 천연 서열 STING의 모든 포유동물 중, 예를 들어 인간, 원숭이 및 마우스를 포함한다. 하나의 예시적인 인간 TLR9는 유니프룟 등록 번호 Q86WV6 하에 제공된다. STING는 또한 TMEM173으로 공지되어 있다.
- [0425] 본원에 사용된 "STING 효능제"는 TLR9에 결합시, (1) STING를 자극 또는 활성화시키거나, (2) STING의 활성, 기능 또는 존재를 증진, 증가, 촉진, 유도 또는 연장시키거나, 또는 (3) STING의 발현을 증진, 증가, 촉진 또는 유도하는 임의의 분자를 의미한다. 본 발명의 임의의 치료 방법, 의약 및 용도에 유용한 STING 효능제는, 예를 들어 STING에 결합하는 핵산 리간드를 포함한다.
- [0426] 본 발명의 치료 방법, 의약 및 용도에 유용한 STING 효능제의 예는 다양한 면역자극 핵산, 예컨대 합성 이중 가닥 DNA, 시클릭 디-GMP, 시클릭-GMP-AMP (cGAMP), 합성 시클릭 디뉴클레오티드 (CDN), 예컨대 MK-1454 및 ADU-S100 (MIW815), 및 소분자, 예컨대 P0-424를 포함한다.
- [0427] 다른 PRR은, 예를 들어 IFN-조절 인자의 DNA-의존성 활성화제 (DAI) 및 흑색종 부재 2 (AIM2)를 포함한다.
- [0428] 면역자극 시토카인은 면역 반응을 자극하는 다양한 신호전달 단백질, 예컨대 인터페론, 인터류킨 및 조절 성장 인자를 포함한다.
- [0429] 예시적인 면역자극 시토카인은 GM-CSF, G-CSF, IFN-알파, IFN-감마; IL-2 (예를 들어 테니류킨 디피톡스), IL-6, IL-7, IL-11, IL-12, IL-15, IL-18, IL-21 및 TNF-알파를 포함한다.
- [0430] 면역자극 시토카인은 임의의 적합한 포맷을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역자극 시토카인은 야생형 시토카인의 재조합 버전일 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역자극 시토카인은 상응하는 야생형 시토카인과 비교하여 1개 이상의 아미노산 변화를 갖는 뮤테인일 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역자극 시토카인은 시토카인 및 적어도 1종의 다른 기능적 단백질 (예를 들어, 항체)을 함유하는 키메라 단백질 내로 혼입될 수 있다. 일부 실시양태에서, 면역자극 시토카인은 약물 / 작용제 (예를 들어 가능한 ADC 성분으로서 본원의 다른 곳에 기재된 바와 같은 임의의 약물 / 작용제)에 공유 연결될 수 있다.
- [0431] 암 백신은 종양 연관 항원을 함유하는 (또는 대상체에서 종양 연관 항원을 생성하는데 사용될 수 있는) 다양한 조성물을 포함하고, 따라서 종양 연관 항원을 함유하는 종양 세포에 대해 지시될 대상체에서의 면역 반응을 유

발하는데 사용될 수 있다.

- [0432] 암 백신에 포함될 수 있는 예시적인 물질은 약독화된 암성 세포, 종양 항원, 항원 제시 세포, 예컨대 종양 유래 항원으로 펄스된 수지상 세포 또는 종양 연관 항원을 코딩하는 핵산을 포함한다. 일부 실시양태에서, 암 백신은 환자 자신의 암 세포로 제조될 수 있다. 일부 실시양태에서, 암 백신은 환자 자신의 암 세포로부터의 것이 아닌 생물학적 물질로 제조될 수 있다.
- [0433] 암 백신은, 예를 들어 시푸류셀-T 및 탈리모겐 라허파렙백 (T-VEC)을 포함한다.
- [0434] 면역 세포 요법은 암 세포를 표적화할 수 있는 면역 세포로 환자를 치료하는 것을 수반한다. 면역 세포 요법은, 예를 들어 종양-침윤 림프구 (TIL) 및 키메라 항원 수용체 T 세포 (CAR-T 세포)를 포함한다.
- [0435] 화학요법제의 예는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 시클로포스파미드; 알킬 술포네이트, 예컨대 부술판, 임프로술판 및 피포술판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸라멜라민, 예컨대 알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리메틸올로멜라민; 아세토게닌 (특히, 불라타신 및 불라타시논); 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (그의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 크립토포신 (특히, 크립토포신 1 및 크립토포신 8); 돌라스타틴; 듀오카르마이신 (합성 유사체, KW-2189 및 CBI-TMI 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕타인; 스폰지스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로람부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벰비킨, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로소우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴, 라니무스틴; 항생제, 예컨대 에네디인 항생제 (예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 감마II 및 칼리케아미신 phi II, 예를 들어 문헌 [Agnew, Chem. Int'l. Ed. Engl., 33:183-186 (1994)] 참조); 디네미신 A를 포함한 디네미신; 비스포스포네이트, 예컨대 클로드로네이트; 에스페라미신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 에네디인 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캅티노마이신, 카라비신, 카미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이신, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 독소루비신 (모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), PEG화 리포솜 독소루비신, 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로마이신, 퓨로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항대사물, 예컨대 메토크세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 폴산 유사체, 예컨대 데노프테린, 메토크세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-메르캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시타딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록수리딘; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스토락톤; 항부신제, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 폴산 보충제, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레불린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트랙세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿠온; 엘포르미딘; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 질산갈륨; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다민; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피다물; 니트라크린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 포도필린산; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; 라죽산; 리죽신; 시조푸란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿠온; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히 T-2 독소, 베라큐린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신; 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 시클로포스파미드; 티오테파; 탁소이드, 예를 들어 파클리탁셀 및 도세탁셀; 클로람부실; 겐시타빈; 6-티오구아닌; 메르캅토피린; 메토크세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴; 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴; 비노렐빈; 노반트론; 테니포시드; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 젤로다; 이반드로네이트; CPT-11; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노이드, 예컨대 레티노산; 카페시타빈; 및 상기 중 어느 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체를 포함한다. 종양에 대한 호르몬 작용을 조절 또는 억제하는 작용을 하는 항호르몬제, 예컨대 항에스트로겐 및 선택적 에스트로겐 수용체 조절제 (SERM), 예를 들어 타목시펜, 탈록시펜, 드롤록시펜, 4-히드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤 및 토레미펜 (파레스톤); 부신에서의 에스트로겐 생산을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예를 들어 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메게스트롤 아세테이트, 엑세메스탄, 포르메스탄, 파드로졸, 보로졸, 레트로졸 및 아나스트로졸; 및

항안드로겐, 예컨대 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 류프롤리드 및 고세렐린; KRAS 억제제; MCT4 억제제; MAT2a 억제제; 티로신 키나제 억제제, 예컨대 수니티닙, 악시티닙; alk/c-Met/ROS 억제제, 예컨대 크리조티닙, 로를라티닙; mTOR 억제제, 예컨대 템시롤리무스, 게다톨리십; src/abl 억제제, 예컨대 보수티닙; 시클린-의존성 키나제 (CDK) 억제제, 예컨대 팔보시클립, PF-06873600; erb 억제제, 예컨대 다코미티닙; PARP 억제제, 예컨대 탈라조파립; SMO 억제제, 예컨대 글라스테길, PF-5274857; EGFR T790M 억제제, 예컨대 PF-06747775; EZH2 억제제, 예컨대 PF-06821497; PRMT5 억제제, 예컨대 PF-06939999; TGF $\beta$ 1 억제제, 예컨대 PF-06952229; 및 상기 중 어느 것의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체가 또한 포함된다. 구체적인 실시양태에서, 이러한 추가의 치료제는 베바시주맵, 세특시맵, 시롤리무스, 파니투무맵, 5-플루오로우라실 (5-FU), 카페시타빈, 티보자닙, 이리노테칸, 옥살리플라틴, 시스플라틴, 트리플루리딘, 티피라실, 류코보린, 겐시타빈, 레고라페닙 또는 예를로티닙 히드로클로라이드이다.

[0436] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체는 면역 체크포인트 조절제 또는 공동자극제를 표적화하는 1종 이상의 다른 치료제, 예컨대, 예를 들어 비제한적으로, CTLA-4, LAG-3, B7-H3, B7-H4, B7-DC (PD-L2), B7-H5, B7-H6, B7-H8, B7-H2, B7-1, B7-2, ICOS, ICOS-L, TIGIT, CD2, CD47, CD80, CD86, CD48, CD58, CD226, CD155, CD112, LAIR1, 2B4, BTLA, CD160, TIM1, TIM-3, TIM4, VISTA (PD-H1), OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, 4-1BB, 4-BBL, DR3, TL1A, CD40, CD40L, CD30, CD30L, LIGHT, HVEM, SLAM (SLAMF1, CD150), SLAMF2 (CD48), SLAMF3 (CD229), SLAMF4 (2B4, CD244), SLAMF5 (CD84), SLAMF6 (NTB-A), SLAMCF7 (CS1), SLAMF8 (BLAME), SLAMF9 (CD2F), CD28, CEACAM1 (CD66a), CEACAM3, CEACAM4, CEACAM5, CEACAM6, CEACAM7, CEACAM8, CEACAM1-3AS CEACAM3C2, CEACAM1-15, PSG1-11, CEACAM1-4C1, CEACAM1-4S, CEACAM1-4L, IDO, TDO, CCR2, CD39-CD73-아데노신 경로 (A2AR), BTK, TIK, CXCR2, CXCR4, CCR4, CCR8, CCR5, CSF-1 또는 선천성 면역 반응 조절제를 표적화하는 작용제와 함께 사용된다.

[0437] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체는, 예를 들어 항-CTLA-4 길항제 항체, 예컨대, 예를 들어 이필리무맵; 항-LAG-3 길항제 항체, 예컨대 BMS-986016 및 IMP701; 항-TIM-3 길항제 항체; 항-B7-H3 길항제 항체, 예컨대, 예를 들어 MGA271; 항-VISTA 길항제 항체; 항-TIGIT 길항제 항체; 항-CD80 항체; 항-CD86 항체; 항-B7-H4 길항제 항체; 항-ICOS 효능제 항체; 항-CD28 효능제 항체; 선천성 면역 반응 조절제 (예를 들어, TLR, KIR, NKG2A) 및 IDO 억제제와 함께 사용된다.

[0438] 일부 실시양태에서, B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 본 발명의 B7-H4 항체는 OX40 효능제, 예컨대, 예를 들어 항-OX-40 효능제 항체와 함께 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체는 GITR 효능제, 예컨대, 예를 들어 항-GITR 효능제 항체, 예컨대, 예를 들어 비제한적으로 TRX518과 함께 사용된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체는 IDO 억제제와 함께 사용된다. 일부 실시양태에서, GUCY2c 항체 또는 CD3-GUCY2c 이중특이적 항체는 시토키인 요법, 예컨대, 예를 들어 비제한적으로 IL-15, CSF-1, MCSF-1 등과 함께 사용된다.

[0439] 일부 실시양태에서, B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 본 발명의 B7-H4 항체는 1종 이상의 다른 치료 항체, 예컨대, 예를 들어 비제한적으로 CD19, CD22, CD40, CD52 또는 CCR4를 표적화하는 항체와 함께 사용된다.

[0440] 특정 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체의 조성물은 적어도 1종의 추가의 작용제, 예컨대 베바시주맵, 세특시맵, 시롤리무스, 파니투무맵, 5-플루오로우라실 (5-FU), 카페시타빈, 티보자닙, 이리노테칸, 옥살리플라틴, 시스플라틴, 트리플루리딘, 티피라실, 류코보린, 겐시타빈 및 예를로티닙 히드로클로라이드를 포함한다.

[0441] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 포함한 B7-H4 항체는 수분 내지 수주 범위의 간격으로 다른 작용제 치료 전 또는 후에 공-투여될 수 있거나 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 다른 작용제 및/또는 단백질 또는 폴리뉴클레오티드가 개별적으로 투여되는 실시양태에서, 일반적으로 각각의 전달 사이에 상당한 기간이 소요되지 않았으므로, 본 발명의 작용제 및 조성물이 대상체에 대해 유리하게 조합된 효과를 여전히 발휘할 수 있도록 보장할 것이다. 이러한 경우에, 서로 약 12-24시간 내에, 보다 바람직하게는 서로 약 6-12시간 내에 양식 둘 다를 투여할 수 있는 것으로 고려된다. 그러나, 일부 상황에서, 각각의 투여 사이에 수일 (2, 3, 4, 5, 6 또는 7일) 내지 수주 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8주)가 경과하는 경우, 투여 기간을 유의하게 연장시키는 것이 바람직할 수 있다.

[0442] 일부 실시양태에서, 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체의 치료 요법은 수술, 방사선 요법, 화학요법, 표적화 요법, 면역요법, 호르몬 요법, 혈관신생 억제 및 완화적 관리로 이루어진 군으로부터 선택된 전통적인 요법을 추가로 포함하는 치료 요법과 조합된다.

- [0443] 키트
- [0444] 본 발명은 또한 본 방법에 사용하기 위한 키트를 제공한다. 본 발명의 키트는 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체 및 본원에 기재된 본 발명의 임의의 방법에 따른 사용에 대한 지침서를 포함하는 1개 이상의 용기를 포함한다. 일반적으로, 이들 지침서는 상기 기재된 치유적 치료를 위한 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체의 투여에 대한 설명을 포함한다.
- [0445] 본원에 기재된 바와 같은 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체의 사용에 관한 지침서는 일반적으로 의도된 치료를 위한 투여량, 투여 스케줄 및 투여 경로에 관한 정보를 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지 (예를 들어, 다중-용량 패키지) 또는 하위-단위 용량일 수 있다. 본 발명의 키트에 공급된 지침서는 전형적으로 라벨 또는 패키지 삽입물 상의 서면 지침서 (예를 들어, 키트에 포함된 종이 시트)이지만, 기계-판독가능한 지침서 (예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크 상에 보유된 지침서)가 또한 허용된다.
- [0446] 본 발명의 키트는 적합한 패키징 내에 있다. 적합한 패키징은 바이알, 병, 단지, 가요성 패키징 (예를 들어, 밀봉된 마일라 또는 플라스틱 백) 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 특정 장치, 예컨대 흡입기, 비강 투여 장치 (예를 들어, 아토마이저) 또는 주입 장치, 예컨대 미니펌프와 조합하여 사용하기 위한 패키지가 또한 고려된다. 키트는 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음). 용기는 또한 멸균 접근 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있음). 조성물 내의 적어도 1종의 활성제는 본 발명의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 비롯한 B7-H4 항체이다. 용기는 제2 제약 활성제를 추가로 포함할 수 있다.
- [0447] 키트는 임의로 추가의 성분, 예컨대 완충제 및 해석 정보를 제공할 수 있다. 통상적으로, 키트는 용기 및 용기 상에 있거나 용기와 회합된 라벨 또는 패키지 삽입물(들)을 포함한다.
- [0448] 하기 실시예는 단지 예시적 목적을 위해 제공되며, 어떠한 방식으로든 본 발명의 범주를 제한하는 것으로 의도되지 않는다. 실제로, 본원에 제시되고 기재된 것 이외의 본 발명의 다양한 변형이 상기 기재로부터 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 명백해질 것이고, 이는 첨부된 청구범위의 범주 내에 속할 것이다.
- [0449] 실시예
- [0450] 실시예 1. B7-H4 항체 및 B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 고처리량 발현 및 정제.
- [0451] B7-H4 동종이량체 항체의 상보적 구축물 쌍 (12.5  $\mu$ g의 각각의 중쇄 및 경쇄)을 엑스피펙타민(ExpiFectamine)<sup>TM</sup> 293 형질감염 키트 (라이프 테크놀로지스(Life Technologies))를 사용하여 1백만개 세포/ml의 HEK 293 세포를 함유하는 25 mL 대수기 배양물 내로 공동-형질감염시켰다. 형질감염 24시간 후에, 엑스피펙타민 형질감염 증진제를 첨가하고, 세포를 추가 4-5일 동안 성장시킨 후에 수거하였다. 이어서, 소모된 배양물을 수집하고, 원심분리하여 세포 파편을 제거한 다음, 20  $\mu$ m 필터에 통과시켰다.
- [0452] 이어서, B7-H4 동종이량체를 함유하는 정화된 조건화 배지를 단백질 A 친화도 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. 액체 핸들러 (테칸(Tecan))를 사용하여 Mab셀렉트 슈어(MabSelect SuRe)<sup>TM</sup> 단백질 A 수지 (지이 헬스케어(GE Healthcare))로 사전-패킹된 0.45 mL 마이크로 칼럼 (레플리겐(Repligen)) 상에 샘플을 로딩하였다. 결합된 단백질을 PBS pH 7.2로 세척한 다음, 20 mM 시트르산, 150 mM 염화나트륨 pH 3.5로 용리시키고, 2M 트리스 pH 8.0으로 중화시켰다. 애질런트(Aglient) 1200 HPLC 상에서 Mab HTP 칼럼 (도소 바이오사이언스(Tosoh Bioscience))이 구비된 분석용 크기 배제 크로마토그래피를 제조업체의 프로토콜에 따라 사용하여 단백질을 순도에 대해 분석하였다. 마이크로 분광광도계 (트리네안(Trinean))를 사용하여 OD280 nm를 측정함으로써 농도를 결정하였다.
- [0453] CD3 동종이량체 항체를 상기와 유사하게 제조하고, 실시예 2에 기재된 바와 같이 2 L의 배양물로부터 정제하였다. 간략하게, 2 L의 expi293 세포 (인비트로젠)를 제조업체의 프로토콜에 따라 0.5  $\mu$ g/ml의 각각의 중쇄 및 경쇄로 형질감염시켰다. 조건화 배지를 제5일에 수거하고, MAB 셀렉트 슈어 LX 수지 (지이 헬스케어)에 의해 포획하였다.
- [0454] 등몰량의 B7-H4 동종이량체 및 CD3 동종이량체를 혼합하고, 이들을 1 mM GSH와 함께 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션함으로써 이중특이적 항체를 형성하였다. 이어서, G25 세파텍스 드립 칼럼 (지이 헬스케어)을 제조업체의 방법에 따라 사용하여 샘플을 PBS pH 7.2 내로 탈염시켰다. 제어된 Fab 아암 교환 (이종이량체의 형성)의 효율을 WCX 칼럼 (지이 헬스케어)을 사용하여 얇은 염 구배 (20 mM MES pH 5.4, 0-1 M NaCl)로 분석하였다.

- [0455] 표 2의 B7-H4 항체 및 표 5의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체를 본 발명의 방법에 따라 제조하였다.
- [0456] 실시예 2. B7-H4xCD3 이중특이적 항체 1167 및 1156의 생산.
- [0457] B7-H4xCD3 이중특이적 항체 1167 항-B7-H4 아암 중쇄 (서열식별번호: 196), 항-B7-H4 경쇄 (서열식별번호: 197), B7-H4xCD3 이중특이적 항체 1156 항-B7-H4 아암 중쇄 (서열식별번호: 192), 항-B7-H4 경쇄 (서열식별번호: 193), 항-CD3 아암 중쇄 (서열식별번호: 194) 및 항-CD3 경쇄 (서열식별번호: 195)를 코딩하는 cDNA를 포유 동물 발현 벡터 내로 클로닝하였다. C223E, P228E 및 L368E의 3개의 추가의 치환을 갖는 항-B7-H4 IgG2 dA D265A 중쇄 (집합적으로 "EEE") 및 4개의 추가의 치환 C223R, E225R, P228R, K409R을 갖는 항-CD3 IgG2 dA D265A (집합적으로 "RRR")를 상응하는 경쇄와 함께 형질감염시키고, 2 L의 expi293 세포 (인비트로젠)를 제조업체 프로토콜에 따라 사용하여 전체 "EEE" 및 "RRR" 아암을 개별적으로 발현시켰다. 형질감염을 위한 중쇄 및 경쇄의 DNA 비는 중량 기준으로 1:1이었다 (1 ug/ml의 배양물, 총 DNA). 두 동종이량체 (RRR 및 EEE)에 대한 조건화 배지를 제5일에 수거하고, MAB 셀렉트 슈어 LX 수지 (지이 헬스케어)에 의해 개별적으로 포획하였다. mAb 셀렉트 슈어 LX 수지로부터의 용리액을 사용하여 시험관내에서 이중특이적 분자의 이중이량체화를 수행하였다. 간략하게, RRR 및 EEE 동종이량체를 이중특이적 항체 1156 및 1167 각각에 대해 20배 및 10배 물 과량의 시스테인의 존재 하에 1:1 몰비로 혼합하였다. 혼합물 용액을 실온 pH 8.0에서 18시간 동안 인큐베이션하였다. 산화환원-후(Post-RedOx)를 이중특이적 항체 1156 및 1167에 대해 각각 50 mM MES 완충제 pH 5.6으로 1:4 및 1:9로 희석한 다음, 실온에서 모노-S 칼럼 (CEX 정제, 지이 헬스케어 라이프 사이언시스(GE Healthcare Life Sciences)) 상에 전개시켰다. 양이온 교환 용리 완충제 (50mM MES, 1000mM NaCl, pH 5.6)를 구배 하에 사용하여 칼럼으로부터 단백질을 용리시켰다. AKTA 퓨어 앤드 아반트 (지이 헬스케어 라이프 사이언시스) 상에서 정제를 수행하였다. 세파텍스 G-25 파인 (지이 헬스케어 라이프 사이언시스)을 사용하여 PBS-CMF (포스페이트 완충 염수; 칼슘 및 마그네슘 무함유)로의 최종 완충제 교환을 수행하였다. 아미노산 서열로부터 계산된 몰 흡수 계수를 사용하여 280 nm에서의 흡광도를 측정함으로써 단백질 정량화를 달성하였다.
- [0458] 실시예 3. 플레이트 결합된 huB7-H4에 대한 IC50을 시험하기 위한 경쟁 ELISA
- [0459] 하기 표 7에 기재된 배선화 및 최적화 변이체의 결합 강도를 ELISA에서 모 B7-H4 항체 0052 또는 0058과의 경쟁에 의해 평가하였다. ELISA 플레이트 (써모 피셔(Thermo Fisher); 384-웰)를 PBS 완충제 중 B7-H4 세포의 도메인 ("ECD") (6xhis F29-A258) 1 µg/mL (25 ug/웰)로 4°C에서 밤새 부드럽게 진탕시키면서 코팅하였다. 코팅 용액을 버리고, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 웰당 50 µL PBS-1% BSA로 차단하였다. 차단 용액을 버리고, 플레이트를 TBST로 4회 세척하였다. 분석된 mAb의 2배 연속 희석물을 제조하고, EC<sub>80</sub>에 상응하는 농도의 비오틴화 B7-H4 항체 0052 (28D10 최적화 시리즈의 경우) 또는 B7-H4 항체 0058 (37D4 최적화 시리즈의 경우) 과 혼합하였다. 희석된 시험 mAb 및 비오틴화 모 mAb의 1:1 혼합물 25 ul를 플레이트에 2회 반복으로 첨가하였다. 플레이트를 천천히 진탕시켜 실온에서 2시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 웰당 100 µL의 세척 완충제 (TBST)로 4회 세척하고, PBS/BSA 완충제 중에 1:4000 희석된 20 µL의 스트렙타비딘-HRP 접합체와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 이전과 같이 7회 세척하고, 20 µL의 TNB 기질과 함께 10분 동안 인큐베이션하였다. 0.18 M 황산을 첨가하여 반응을 종결시켰다. 이어서, 엔비전(EnVision)® 플레이트 판독기 (엔비전® 멀티라벨 플레이트 판독기, 퍼킨 엘머(Perkin Elmer))를 제조업체의 프로토콜에 따라 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 비오틴화 0052 및 0058을 상기 기재된 바와 같이 제조된 인간 B7-H4 ECD로 코팅된 플레이트와 함께 실온에서 인큐베이션함으로써 모 항체 0052 및 0058의 EC<sub>80</sub>을 결정하였다. 항체의 2배 연속 희석물을 제조하고, 25 ul를 웰에 첨가하였다. 2시간 인큐베이션 후, 플레이트를 세척하고, PBS/BSA 완충제 중에 1:4000 희석된 스트렙타비딘-HRP 접합체와 함께 인큐베이션하고, 이어서 상기 기재된 바와 같이 세척하고, TNB 기질을 첨가하였다. 반응을 0.18 M 황산으로 종결시킨 다음, 엔비전® 플레이트 판독기 (엔비전® 멀티라벨 플레이트 판독기, 퍼킨 엘머)를 사용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그래프패드 프리즘에서 4 파라미터 비-선형 회귀 분석을 사용하여 EC<sub>80</sub> 값을 계산하였다.
- [0460] 표 2 및 표 5의 선택된 항체를 이 방법에 따라 시험하였으며, 생성된 데이터는 표 7에 제시되어 있다.
- [0461] 실시예 4. 친화도 포획 자기-상호작용 나노입자 분광분석법 (AC-SINS)
- [0462] 항체 및 항체-유사 단백질은 특히 증가된 농도에서 그 자신과 상호작용하는 잠재력을 갖는다. 이러한 자기-상호작용은 약물 개발 동안 제제화와 연관된 점도 난제뿐만 아니라 증가된 클리어런스 위험으로 이어질 수 있다. (Avery et al. MAbs. 2018; 10(2): 244-255). AC-SINS 검정은 자기-상호작용을 측정하고, 높은 점도 및 불량한 약동학적 특성에 대한 잠재력을 예측하는 것을 돕는데 사용된다.

[0463] AC-SINS 검정을 퍼킨-엘머 야누스 액체 핸들링 로봇 상에서 384-웰 포맷으로 표준화하였다. 20 nm 금 나노입자 (테드 펠라, 인크.(Ted Pella, Inc.), #15705)를 80% 염소 항-인간 Fc (잭슨 이뮤노리서치 래보러토리즈, 인크.(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) # 109-005-098) 및 20% 비-특이적 염소 폴리클로날 항체 (잭슨 이뮤노리서치 래보러토리즈, 인크. # 005-000-003)의 혼합물로 코팅하고, 이를 20 mM 아세트산나트륨 pH 4.3 중에 완충제 교환하고, 0.4 mg/ml로 희석하였다. 실온에서 1시간 인큐베이션한 후, 금 나노입자 상에 점유되지 않은 부위를 티올화 폴리에틸렌 글리콜 (2 kD)로 차단하였다. 이어서, 코팅된 나노입자를 시린지 필터를 사용하여 10배 농축시키고, 10  $\mu$ l를 PBS pH 7.2 중 0.05 mg/ml의 mAb 100  $\mu$ l에 첨가하였다. 코팅된 나노입자를 96-웰 폴리프로필렌 플레이트에서 2시간 동안 관심 항체와 함께 인큐베이션한 다음, 384-웰 폴리스티렌 플레이트로 옮기고, 테칸 M1000 분광광도계 상에서 판독하였다. 흡광도를 450-650 nm에서 2 nm 증분으로 판독하고, 마이크로소프트 엑셀 매크로를 사용하여 최대 흡광도를 확인하고, 데이터를 평활화하고, 2차 다항식을 사용하여 데이터를 피팅하였다. 평균 블랭크 (PBS 완충제 단독)의 평활화된 최대 흡광도를 항체 샘플의 평활화된 최대 흡광도로부터 차감하여 항체 AC-SINS 점수를 결정하였다.

[0464] 표 2 및 표 5의 선택된 항체를 이 방법에 따라 시험하였으며, 생성된 데이터는 표 7에 제시되어 있다.

[0465] 실시예 5. DNA 및 인슐린 다중특이성 ELISA

[0466] 384-웰 ELISA 플레이트 (넉크 맥시소르프(Nunc Maxisorp))를 PBS pH 7.5 중 DNA (10  $\mu$ g/ml) 및 인슐린 (5  $\mu$ g/ml)으로 4°C에서 밤새 코팅하였다. 문헌 [Tiller et al., J. Immunol. Methods 329, 112, 2008]; 미국 특허 번호 7,314,622에 기재된 검정으로부터 적합화된 ELISA를 퍼킨엘머 야누스 액체 핸들링 로봇 상에서 수행하였다. 웰을 물로 세척하고, 50  $\mu$ l의 다반응성 ELISA 완충제 (PEB; 0.5% 트윈-20, 1 mM EDTA를 함유하는 PBS)로 실온에서 1시간 동안 차단하고, 물로 3회 헹구었다. 25  $\mu$ l 중 연속-희석된 mAb를 웰에 사중으로 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 물로 3회 세척하고, 양고추냉이 퍼옥시다제 (잭슨 이뮤노리서치)에 접합된 10 ng/ml 염소 항-인간 IgG (Fc $\gamma$  단편 특이적) 25  $\mu$ l를 각각의 웰에 첨가하였다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하고, 80  $\mu$ l의 물로 3회 세척하고, 25  $\mu$ l의 TMB 기질 (시그마 알드리치(Sigma Aldrich))을 각각의 웰에 첨가하였다. 각각의 웰에 25  $\mu$ l의 0.18 M 오르토-인산을 첨가함으로써 6분 50초 후에 반응을 정지시키고, 450nm에서 흡광도를 판독하였다. 10  $\mu$ g/ml의 항체의 ELISA 신호 대 완충제를 함유하는 웰의 신호의 비로서 DNA- 및 인슐린-결합 점수를 계산하였다. 표 2 및 표 5의 선택된 항체를 본원에 기재된 DNA 및 인슐린 결합 ELISA 절차에 따라 시험하여 그에 제시된 다중특이성 점수를 얻었으며, 데이터는 표 7에 제시되어 있다.

[0467] 표 7. B7-H4 항체 및 B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 경쟁 ELISA, AC-INS 결과

mAb	AC-SINS	DNA	인슐린	경쟁 ELISA			
				IC50 [nM]	IC50 [nM]	IC50 [nM]	IC50 [nM]
0001	2; 4	8; 5	8; 8				
0007	19	2	4				
0013	11	2	3				
0047	2; 3; 2; 4; 2	32; 10; 19; 14; 12	21; 11; 19; 10; 13	4.8	16.9	8.2	1.2; 1.0
0048	1; 2	17; 28	13; 12				
0049	2	5	6				
0050	2; 1	34; 28	17; 15				
0051	1; 2	22; 26	12; 8				
0052	14; 9; 17; 13; 22; 21	10; 13; 7; 9; 4	15; 12; 12; 6; 6	6.39	16.85	7.9	1.39; 0.92
0053	3; 1	7	12				
0054	NA	NA	NA				
0055	1	14	6				
0056	0	6	8				
0057	8; 9	17; 12	19; 16				
0058	6; 6; 5; 4; 11; 9	16; 7; 4; 3; 4; 4	13; 6; 8; 5; 5; 5	5.25; 4.6	10.23	3.8	0.46
0059	1; 1	17; 18	20; 22				
0060	2; 2	14; 12	14; 16				
0061	2	9	7				
0068	7	9	12				
0074	3	11	15				
0077	4	12	15				
0080	3	17	14				
0087	3	6	9				
0088	17	21	24				

[0468]

0089	5	6	8				
0090	5	5	8				
0119	2; 5	5; 4	5; 7	7.52	13.74		
0185	0	5	7				
0267	1	8	8	9.42			
0270	12	6	11	9.07			
0274	11	5	10	4.2			
0277	4	10	8	19.02			
0279	2	9	9	5.94	14.86		
0283	4; 1	16; 8	19; 13	7.2	12.91		
0350	0	5	7		17.6		
0352	0	3	4		15.8	12.9	
0362	0	3	5		13.5	17.1	
0364	0	4	7		9.13	10.8	
0368	2	5	9		8.49	8.3	
0376	0	9	8		12.44		
0380	0	3	7		13.55	17.8	
0383	1	11	12		7.17		
0384	NA	NA	NA		6.91		
0385	NA	NA	NA		7.87		
0386	1	12	13		9.2		
0388	0	12	19		11.28		
0390	1	10	19		15.15		
0391	1	9	12		13.62		
0414	5; 7	4; 3	7; 4		6.57	8	
0538	1	3	5			21.9	
0540	1	2	4			30.1	
0542	1	3	4			33.8	
0544	1	3	5			35.5	
0546	1	3	4			42.3	
0562	23	4	6			2.4	
0563	9	4	5			2	
0564	NA	NA	NA			35.2	

[0469]

0565	18	25	12			22.7	
0567	6	3	4			5.4	
0570	12	3	5			3.1	
0571	13	5	5			2.1	
0572	16	4	5			1.7	
0911	1	5	4				2.5
0934	1	4	4				3.6
1070	2	2	3				
1080	1	4	4				1.4
1081	1	3	4				3.5
1082	1	4	4				2
1083	1	4	4				2.1
1103	1	5	3				1.6
1113	5	5	3				1
1114	4	4	3				0.43
1115	7	5	3				0.42
1116	7	8	4				0.16
1117	6	7	4				0.15
1124	5; 6	2; 2	3; 2				
1156	4	9	11				
1167	4; 5	13; 11	10; 12				

[0470]

[0471]

실시예 6. 시차 주사 열량측정 (DSC) 분석

[0472]

포스페이트-완충 염수 (PBS) 용액 중에 항체를 400  $\mu$ l의 부피 중 0.6 mg/ml로 희석하였다. 참조 셀에서 완충제 블랭크로서 PBS를 사용하였다. PBS는 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8.1 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 및 1.47 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, pH 7.2를 함유하였다. 오토샘플러 (말번 인스트루먼츠 리미티드(Malvern Instruments Ltd), 영국 말번)가 구비된 마이크로칼 VP-모세관 DSC의 샘플 트레이 내로 샘플을 분배하였다. 샘플을 10℃에서 5분 동안 평형화시킨 다음, 시간당 100℃의 속도로 110℃까지 스캐닝하였다. 16초의 필터링 기간을 선택하였다. 미가공 데이터를 기준선 보정하고, 단백질 농도를 정규화하였다. 오리진 소프트웨어 7.0 (오리진랩 코퍼레이션(OriginLab Corporation), 매사추세츠주 노샘프턴)을 사용하여 데이터를 적절한 수의 전이로 MN2-스테이트 모델에 피팅하였다. IgG1 포맷의 최적화된 항-B7-H4 결합 도메인의 시차 주사 열량측정의 결과가 표 8에 제시되어 있다.

[0473] 표 8. IgG1 mAb 포맷에서 DSC에 의한 최적화된 클론의 열 안정성.

IgG1 mAb 명칭	Tm1 [°C]	Tm2 [°C]	Tm3 [°C]	겔보기 Fab Tm [°C]
0052	73.17 ± 0.18	76.86 ± 0.03	84.19 ± 0.06	75.6
0538	72.42 ± 0.23	78.56 ± 0.39	81.55 ± 0.15	76.4
0540	71.89 ± 0.12	77.54 ± 0.26	80.47 ± 0.10	80.5
0542	72.19 ± 0.28	77.44 ± 0.59	80.46 ± 0.21	79.7
0544	72.03 ± 0.10	77.35 ± 0.30	79.95 ± 0.11	79.9
0546	73.17 ± 0.18	76.86 ± 0.03	84.19 ± 0.06	75.6
0934	72.36 ± 0.10	77.25 ± 0.03	84.57 ± 0.04	77.1
1080	71.98 ± 0.12	78.49 ± 0.03	85.21 ± 0.12	78.4
1081	71.73 ± 0.15	79.22 ± 0.02	84.83 ± 0.37	79.0
1083	73.66 ± 0.21	80.94 ± 0.10	84.02 ± 0.21	71.0
1103	72.91 ± 0.11	78.40 ± 0.03	84.82 ± 0.07	78.1
0058	73.66 ± 0.11	76.96 ± 0.04	84.11 ± 0.03	76.1
1113	71.23 ± 0.02	74.9 ± 0.27	83.73 ± 0.10	71.5
1114	70.86 ± 0.01	73.54 ± 0.08	83.34 ± 0.05	71.0
1115	71.42 ± 0.02	74.47 ± 0.18	83.55 ± 0.08	71.5
1116	67.57 ± 0.02	72.32 ± 0.11	83.65 ± 0.04	68.0
1117	68.76 ± 0.02	73.23 ± 0.16	83.74 ± 0.05	69.0

[0474]

[0475]

실시예 7. B7-H4 IgG1 mAb의 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 분석

[0476]

하이브리도마로부터 수득한 항-B7-H4 클론을 IgG1 mAb 포맷으로, 비아코어™ 8K 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 25°C에서 인간 B7-H4 ECD (세포외 도메인)에의 결합에 대해 평가하였다. 항-인간 Fc (GE BR-1008-39)를 먼저 제조업체의 프로토콜에 따라 CM5 센서 칩 상에 코팅하였다. 인간 항-B7-H4 IgG1 mAb를 헝크 완충 염수 (HBS)-EP+ pH=7.4 중에서 0.75 ug/mL, 50 uL/분으로 20초 동안 칩 상에 전개시켰다. 이어서, (클론: 7H7, 33G4, 11F12, 33A4, 13F4, 37D4, 19D3, 27C12, 42E2, 28D10, 46E10 및 32F3의 경우) 900 nM로부터 시작하여 및 (클론: 29G6 및 47A1의 경우) 100 nM로부터 시작하여 3배 희석으로 5가지 상이한 농도의 인간 B7-H4 ECD를 50 uL/분으로 60초 동안 칩 상에 전개시켜 회합되도록 한 다음, 300초 동안 해리시켰다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 각각의 전개 사이에 3X 3 M MgCl<sub>2</sub>를 사용하여 칩을 재생시켰다. 결과가 표 9-A에 제시되어 있다.

[0477] 표 9-A. 25°C에서 SPR에 의한 인간 B7-H4 ECD에 대한 IgG1 포맷의 하이브리도마 클론의 결합 동역학

항체	Hu B7-H4 ECD K <sub>D</sub> (nM)	Hu B7-H4 ECD k <sub>a</sub> (1/Ms)	Hu B7-H4 ECD k <sub>d</sub> (1/s)
0047	3.79±0.20	1.68E+05±4.06E+03	6.35E-04±2.42E-05
0048	0.83±0.08	7.45E+05±1.50E+04	6.19E-04±5.10E-05
0049	1.85±0.24	2.25E+05±8.50E+03	4.14E-04±3.80E-05
0050	8.80±0.44	7.61E+04±5.00E+01	6.70E-04±3.35E-05
0051	0.57±0.04	8.14E+05±2.15E+04	4.64E-04±1.95E-05
0052	7.83±0.31	1.40E+05±3.50E+03	1.10E-03±1.50E-05
0053	0.74±0.05	4.34E+05±1.50E+04	3.21E-04±3.19E-05
0055	1.90±0.00	3.82E+05±5.00E+02	7.25E-04±5.00E-07
0056	0.62±0.00	5.74E+05±4.50E+03	3.53E-04±4.00E-06
0057	7.92±0.48	6.41E+04±2.00E+02	5.08E-04±2.90E-05
0058	2.83±0.11	2.06E+05±2.00E+03	5.83E-04±1.70E-05
0059	0.68±0.04	5.68E+05±4.78E+03	3.89E-04±2.05E-05
0060	1.35±0.08	5.58E+05±1.15E+04	7.50E-04±2.70E-05
0061	0.84±0.02	6.78E+05±7.00E+03	5.72E-04±1.00E-05

[0478]

[0479] IgG1 mAb 포맷의 최적화된 항-B7-H4 항체 및 상응하는 모 항체를 비아코어™ 8K 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 37°C에서 인간 B7-H4 ECD에의 결합에 대해 시험하였다. 항-인간 Fc (GE BR-1008-39)를 먼저 제조업체의 프로토콜에 따라 CM5 센서 칩 상에 코팅하였다. 인간 항-B7-H4 IgG1 mAb를 헵크 완충 염수 (HBS)-EP+ pH=7.4 중에서 0.75 ug/mL, 50 uL/분으로 30초 동안 칩 상에 전개시켰다. 이어서, 300 nM에서 시작하여 3배 희석으로 5가지 상이한 농도의 인간 B7-H4 ECD를 50 uL/분으로 65초 동안 칩 상에 전개시켜 희합되도록 한 다음, 600초 동안 해리시켰다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 각각의 전개 사이에 3X 3 M MgCl<sub>2</sub>를 사용하여 50 uL/분으로 30초 동안 칩을 재생시켰다. 결과가 표 9-B에 제시되어 있다.

[0480] 표 9-B. 37°C에서 SPR에 의한 인간 B7-H4 ECD에 대한 IgG1 포맷의 모 및 최적화된 항체의 결합 동역학

항체 명칭	K <sub>a</sub> (1/Ms)	K <sub>d</sub> (1/s)	K <sub>D</sub> (nM)
0052	4.67E+05	5.65E-03	12.1 ± 0.6
0934	4.54E+05	5.39E-03	11.85 ± 0.34
1080	3.92E+05	5.40E-03	13.78 ± 0.61
1081	2.88E+05	9.62E-03	33.4 ± 1.6
1083	3.81E+05	8.60E-03	22.65 ± 0.65
1103	4.62E+05	5.29E-03	11.5 ± 0.5
0058	6.45E+05	1.13E-03	1.75 ± 0.04
1113	2.51E+05	1.08E-03	4.31 ± 0.13
1114	1.95E+05	5.59E-04	2.87 ± 0.16
1115	4.43E+05	1.16E-03	2.62 ± 0.1
1116	6.12E+05	1.26E-03	2.05 ± 0.05
1117	6.20E+05	9.49E-04	1.54 ± 0.08

[0481]

[0482] IgG1 mAb 포맷의 최적화된 항-B7-H4 항체 및 상응하는 모 항체를 비아코어™ 8K 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 표면 플라즈몬 공명에 의해 37°C에서 시노 및 마우스 B7-H4 ECD에의 교차-반응성에 대해 시험하였다. 항-인

간 Fc (GE BR-1008-39)를 먼저 제조업체의 프로토콜에 따라 CM5 센서 칩 상에 코팅하였다. 인간 항-B7-H4 IgG1 mAb를 헝크 완충 염수 (HBS)-EP+ pH=7.4 중에서 0.75 ug/mL, 50 uL/분으로 30초 동안 칩 상에 전개시켰다. 이어서, 900 nM에서 시작하여 3배 희석으로 5가지 상이한 농도의 시노 및 마우스 B7-H4 ECD를 50 uL/분으로 65초 동안 칩 상에 전개시켜 회합되도록 한 다음, 600초 동안 해리시켰다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 각각의 전개 사이에 3X 3 M MgCl<sub>2</sub>를 사용하여 50 uL/분으로 30초 동안 칩을 재생시켰다. 결과가 표 9-C에 제시되어 있다.

[0483] 표 9-C. 37°C에서 SPR에 의한 시노 및 마우스 B7-H4 ECD에 대한 IgG1 포맷의 모 및 최적화된 항체의 결합 동역학

항원	mAb 명칭	K <sub>a</sub> (1/Ms)	K <sub>d</sub> (1/s)	K <sub>D</sub> (nM)
cyB7-H4 ECD	0052	1.39E+05	4.24E-03	30.7±2
muB7-H4 ECD		1.43E+05	1.26E-01	883 ± 22
cyB7-H4 ECD	1103	1.56E+05	4.09E-03	26.15 ± 0.65
muB7-H4 ECD		1.63E+05	1.95E-01	1195 ± 25
cyB7-H4 ECD	0058	1.54E+05	3.68E-03	23.85 ± 0.35
muB7-H4 ECD		약함		
cyB7-H4 ECD	1114	5.67E+04	1.08E-03	19.05 ± 0.15
muB7-H4 ECD		약함		

[0484]

[0485] 실시예 8: B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 표면 플라즈몬 공명 (SPR) 분석

[0486] 인간, 시노 및 마우스 B7-H4 ECD에 대한 모 하이브리도마 클론의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 결합 친화도를 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 25°C 또는 37°C에서 10 Hz의 수집 속도로 결정하였다. 항-인간 Fc (GE BR-1008-39)를 먼저 제조업체의 프로토콜에 따라 CM5 센서 칩 상에 코팅하였다. B7-H4-CD3 IgG2 EEE/RRR 이중특이적 항체를 헝크 완충 염수 (HBS)-EP+ pH=7.4 중에서 0.5 ug/mL, 50 uL/분으로 20-25초 동안 칩 상에 전개시켰다. 인간, 시노 및 마우스 B7-H4 ECD를 50 uL/분으로 65초 동안 칩 상에 전개시켜 회합되도록 한 다음, 300초 동안 해리시켰다. 시노의 경우 400 nM에서 시작하여 및 인간 및 마우스 항원의 경우 900 nM에서 시작하여 3배 희석으로 5가지 상이한 농도의 항원을 사용하였다. 600초 동안 해리를 모니터링하고, 3 M MgCl<sub>2</sub>를 사용하여 50uL/분으로 30초 동안 표면을 3회 재생시켰다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 결과가 표 10-A에 제시되어 있다.

[0487] 표 10-A. 25°C 또는 37°C에서 SPR에 의한 인간, 시노 및 마우스 B7-H4 ECD에 대한 모 이중특이적 항체의 결합 동역학.

항원	Ab 명칭	T (°C)	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	K <sub>D</sub> (nM)
cyB7-H4	0068	25	1.19E+05±1.31E+02	1.15E-03±6.37E-06	9.64±0.06
huB7-H4	0068	25	3.38E+05±4.29E+04	6.78E-04±2.64E-05	2.05±0.34
muB7-H4	0068	25	NA	NA	NA
cyB7-H4	0068	37	1.83E+05±3.89E+03	5.19E-03±1.59E-05	28.33±0.51
huB7-H4	0068	37	5.58E+05±4.23E+03	2.15E-03±6.37E-05	3.85±0.09
cyB7-H4	0074	25	1.29E+05±2.86E+03	1.20E-03±8.70E-06	9.29±0.22
huB7-H4	0074	25	1.76E+05±6.64E+03	1.20E-03±1.09E-05	6.83±0.30
muB7-H4	0074	25	1.00E+5 ± 5.24E+3	2.99E-2 ± 1.18E-3	299.21 ± 9.48
cyB7-H4	0074	37	1.88E+05±9.18E+03	5.81E-03±4.80E-05	30.88±1.33
huB7-H4	0074	37	2.75E+05±4.44E+03	6.02E-03±6.00E-05	21.91±0.58
cyB7-H4	0077	25	7.66E+04±6.39E+02	7.57E-04±4.54E-06	9.88±0.14
huB7-H4	0077	25	1.25E+05±1.42E+04	7.75E-04±2.93E-05	6.33±0.96
muB7-H4	0077	25	8.23E+4 ± 1.86E+3	4.83E-2 ± 3.27E-3	587.74± 53.05
cyB7-H4	0077	37	1.07E+05±5.48E+03	3.32E-03±2.05E-05	31.05±1.78
huB7-H4	0077	37	1.83E+05±2.63E+03	3.41E-03±1.18E-04	18.69±0.38
cyB7-H4	0080	25	1.57E+05±2.35E+03	6.76E-04±7.94E-06	4.29±0.11
huB7-H4	0080	25	2.96E+05±3.85E+04	6.92E-04±2.70E-05	2.39±0.40
muB7-H4	0080	25	1.89E+5 ± 1.60E+4	1.38E-2 ± 2.18E-3	74.80 ± 17.88
cyB7-H4	0080	37	2.20E+05±7.99E+03	2.82E-03±4.39E-05	12.81±0.66
huB7-H4	0080	37	4.65E+05±6.89E+03	2.83E-03±8.89E-05	6.08±0.10

[0488]

[0489]

인간 및 시노 CD3에 대한 모 하이브리도마 클론의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 결합 친화도를 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 25°C에서 10 Hz의 수집 속도로 결정하였다. 항-His (GE 10260125)를 먼저 제조업체의 프로토콜에 따라 CM5 센서 칩 상에 코팅하였다. 인간 CD3 (델타/엡실론 이중이량체)을 행크 완충 염수 (HBS)-EP+ pH=7.4 중에서 0.50 ug/mL, 10 uL/분으로 30초 동안 칩 상에 전개시켰다. 150 nM 내지 5.6 nM 범위의 농도를 갖는 B7-H4xCD3 이중특이적 단백질의 3배 연속 희석물을 50 μl/분의 유량으로 72초 동안 센서 표면 상에 주입하였다. 300초 동안 해리를 모니터링하고, 10 mM 글리신 pH 1.5를 사용하여 50 uL/분으로 20초 동안 표면을 재생시켰다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 결과가 표 10-B에 제시되어 있다.

[0490]

표 10-B. 25°C에서 SPR에 의한 인간 및 시노 CD3에 대한 모 하이브리도마 클론의 B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 결합 동역학.

Ab 명칭	항-B7-H4 클론	항원	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	K <sub>D</sub> (nM)
0068	37D4	huCD3	4.20E+05±2.58E+04	5.53E-03±8.30E-05	13.22±0.97
0074	28D10	huCD3	7.58E+05±1.13E+04	5.59E-03±1.92E-05	7.38±0.13
0077	19D3	huCD3	4.23E+05±2.26E+04	5.36E-03±7.81E-05	12.70±0.84
0080	7H7	huCD3	4.11E+05±1.27E+04	5.21E-03±2.65E-05	12.69±0.42
0068	37D4	cyCD3	3.74E+05±8.83E+03	5.06E-03±3.75E-05	13.52±0.41
0074	28D10	cyCD3	6.42E+05±1.42E+04	5.34E-03±4.31E-06	8.33±0.19
0077	19D3	cyCD3	3.69E+05±7.34E+03	5.04E-03±8.12E-05	13.67±0.47
0080	7H7	cyCD3	3.72E+05±8.13E+03	4.93E-03±3.85E-05	13.27±0.37

[0491]

[0492]

인간, 시노 및 무린 B7-H4 ECD에 대한 B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 결합 친화도를 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 37°C에서 10 Hz의 수집 속도로 결정하였다. 항-인간 Fc (GE BR-1008-39)를 먼저 제조업체

체의 프로토콜에 따라 CM5 센서 칩 상에 코팅하였다. B7-H4xCD3 IgG2 EEE/RRR 이중특이적 항체를 행크 완충 염수 (HBS)-EP+ pH=7.4 중에서 0.75 ug/mL, 50 uL/분으로 30초 동안 칩 상에 전개시켰다. 인간, 시노, 마우스 및 래트 B7-H4 ECD를 50 uL/분으로 60초 동안 칩 상에 전개시켜 회합되도록 한 다음, 300초 동안 해리시켰다. 인간 및 시노의 경우 270 nM에서 시작하여 및 래트 및 마우스 항원의 경우 2100 nM에서 시작하여 3배 희석으로 5가지 상이한 농도의 항원을 사용하였다. 600초 동안 해리를 모니터링하고, 3 M MgCl2를 사용하여 50uL/분으로 30초 동안 표면을 3회 재생시켰다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 결과가 표 10-C에 제시되어 있다.

[0493] 표 10-C. 37°C에서 SPR에 의한 인간, 시노, 래트 및 마우스 B7-H4 ECD에 대한 모 및 최적화된 이중특이적 항체의 결합 동역학

항원	Ab 명칭	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K <sub>D</sub> (nM)
cyB7-H4 ECD	0068	6.31E+05	4.15E-03	6.58 ± 0.11
huB7-H4 ECD	0068	8.81E+05	1.53E-03	1.74 ± 0.02
muB7-H4 ECD	0068	NA	NA	NA
ratB7-H4 ECD	0068	NA	NA	NA
cyB7-H4 ECD	0074	5.53E+05	4.87E-03	8.81± 0.25
huB7-H4 ECD	0074	5.75E+05	5.09E-03	8.86 ± 0.03
muB7-H4 ECD	0074	1.73E+05	1.34E-01	776.5 ± 39.5
ratB7-H4 ECD	0074	1.17E+05	1.31E-01	1125 ± 115
cyB7-H4 ECD	1156	6.17E+05	4.63E-03	7.53 ± 0.29
huB7-H4 ECD	1156	6.15E+05	4.78E-03	7.78 ± 0.1
muB7-H4 ECD	1156	1.77E+05	1.96E-01	1110 ± 70
ratB7-H4 ECD	1156	1.12E+05	2.04E-01	1840 ± 260
cyB7-H4 ECD-1	1167	2.02E+05	1.33E-03	6.6 ± 0.03
huB7-H4 ECD-1	1167	2.86E+05	9.20E-04	3.22 ± 0.11
muB7-H4 ECD	1167	NA	NA	NA
ratB7-H4 ECD	1167	NA	NA	NA

[0494]

[0495] 인간 및 시노 CD3에 대한 B7-H4-CD3 이중특이적 항체의 결합 친화도를 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 37°C에서 10 Hz의 수집 속도로 결정하였다. 항-His (GE 10260125)를 먼저 제조업체의 프로토콜에 따라 CM5 센서 칩 상에 코팅하였다. 인간 및 시노 CD3 (델타/엡실론 이중이량체)을 행크 완충 염수 (HBS)-EP+ pH=7.4 중에서 0.50 ug/mL, 10 uL/분으로 36초 동안 칩 상에 전개시켰다. 300 nM 내지 3.7 nM 범위의 농도를 갖는 B7-H4-CD3 이중특이적 단백질의 3배 연속 희석물을 50 uL/분의 유량으로 72초 동안 센서 표면 상에 주입하였다. 200초 동안 해리를 모니터링하고, 10 mM 글리신 pH 1.5를 사용하여 50 uL/분으로 20초 동안 표면을 재생시켰다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 결과가 표 10-D에 제시되어 있다.

[0496] 표 10-D. 37°C에서 SPR에 의한 인간 및 시노 CD3에 대한 B7-H4-CD3 이중특이적 항체의 결합 동역학.

항원	Ab 명칭	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K <sub>D</sub> (nM)
cyCD3	0068	5.06E+05	3.49E-02	68.95 ± 0.05
huCD3	0068	5.54E+05	3.49E-02	63 ± 0.3
cyCD3	0074	5.07E+05	2.39E-02	47.15 ± 1.45
huCD3	0074	5.58E+05	2.34E-02	41.85 ± 1.45
cyCD3	1156	4.96E+05	4.87E-03	68.85 ± 0.45
huCD3	1156	5.43E+05	5.09E-03	62.4 ± 1.4
cyCD3	1167	5.06E+05	1.34E-01	66.75 ± 1.35
huCD3	1167	5.31E+05	1.31E-01	63.5 ± 3.2

[0497]

[0498] 인간 B7-H4 및 CD3에 대한 CD3-B7-H4xCD3 이중특이적 항체가 일시적 expi293 또는 안정한 CHO 세포로부터 생산

된 경우에 이러한 이중특이적 항체의 결합 친화도의 비교를 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 37°C에서 10 Hz의 수집 속도로 수행하였다. B7-H4의 결합을 시험하기 위해, B7-H4-CD3 IgG2 EEE/RRR 이중특이적 항체를 0.5 ug/mL, 50 uL/분으로 36초 동안 칩 상에 전개시키고, 인간 B7-H4 ECD를 50 uL/분으로 72초 동안 칩 상에 전개시켜 회합되도록 한 다음, 200초 동안 해리시킨 것을 제외하고는, 상기 기재된 바와 같이 유사한 실험을 수행하였다. 동일한 농도 세트를 사용하였다. CD3의 결합을 시험하기 위해, 동일한 파라미터로 상기 기재된 바와 같이 유사한 실험을 수행하였다. 결과가 표 10-E에 제시되어 있다.

[0499] 표 10-E. 37°C에서 SPR에 의해 시험된 expi293에서의 일시적 발현 또는 CHO에서의 안정적인 발현으로부터 유래된 최적화된 이중특이적 항체의 결합 동역학.

항원	항체 명칭	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	K <sub>D</sub> (nM)
cyB7-H4	1167-CHO	6.47E+04	1.88E-03	28.95 ± 1.65
cyB7-H4	1167-HEK	6.40E+04	1.86E-03	29.1 ± 1.1
huB7-H4	1167-CHO	1.44E+05	1.38E-03	9.66 ± 0.84
huB7-H4	1167-HEK	1.36E+05	1.24E-03	9.15 ± 0.27
cyCD3	1167-CHO	5.19E+05	3.05E-02	58.8 ± 0.7
cyCD3	1167-HEK	4.49E+05	3.17E-02	70.75 ± 3.15
huCD3	1167-CHO	6.38E+05	3.17E-02	49.75 ± 2.05
huCD3	1167-HEK	4.99E+05	3.09E-02	62.5 ± 5.7

[0500]

[0501] 다양한 CD3 변이체를 함유하는 이중특이적 항체 대비 인간 B7-H4 및 CD3에 대한 CD3-B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 결합 친화도의 비교를 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 37°C에서 10 Hz의 수집 속도로 수행하였다. CD3의 결합을 시험하기 위해, 하기 변화를 사용하여 상기 기재된 바와 같이 유사한 실험을 수행하였다. 900 nM 내지 3.7 nM 범위의 농도를 갖는 B7-H4-CD3 이중특이적 단백질의 3배 연속 희석물을 50 μl/분의 유량으로 60초 동안 센서 표면 상에 주입하였다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 결과가 표 10-F에 제시되어 있다.

[0502] 표 10-F. 37°C에서 SPR에 의해 시험된 인간 CD3에 대한 상이한 CD3 변이체를 갖는 이중특이적 항체의 결합 동역학.

항체 명칭	CD3 변이체	k <sub>a</sub> (1/Ms)	k <sub>d</sub> (1/s)	K <sub>D</sub> (nM)
0074	2B5v6	5.92E+05±3.20E+04	3.36E-02±7.00E-04	56.90±1.90
0087	2B5v598	2.05E+05±+2.00E+03	2.54E-02±8.00E-04	124.00±3.00
0088	2B5c707	5.11E+05±5.50E+03	6.89E-02±1.55E-03	134.50±1.50

[0503]

[0504] IgG2 또는 IgG1 EEE/RRR 스캐폴드에 기초한 이중특이적 항체 대비 인간 B7-H4 및 CD3에 대한 CD3-B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 결합 친화도의 비교를 비아코어™ T200 기기 (지이 헬스케어)를 사용하여 37°C에서 10 Hz의 수집 속도로 수행하였다. B7-H4의 결합을 시험하기 위해, B7-H4-CD3 IgG2 EEE/RRR 이중특이적 항체를 0.75 ug/mL, 10 uL/분으로 40초 동안 칩 상에 전개시키고, 인간 B7-H4 ECD를 50 uL/분으로 65초 동안 칩 상에 전개시켜 회합되도록 한 다음, 600초 동안 해리시킨 것을 제외하고는, 상기 기재된 바와 같이 유사한 실험을 수행하였다. 300 nM 내지 11 nM 범위의 농도를 사용하였다. CD3의 결합을 시험하기 위해, 하기 변화를 사용하여 상기 기재된 바와 같이 유사한 실험을 수행하였다. 900 nM 내지 3.7 nM 범위의 농도를 갖는 B7-H4-CD3 이중특이적 단백질의 3배 연속 희석물을 50 μl/분의 유량으로 60초 동안 센서 표면 상에 주입하였다. 생성된 센소그램 데이터를 비아코어™ T200 평가 소프트웨어 버전 3.0 (지이 헬스케어)의 1:1 랭뮤어 모델에 피팅함으로써 결합 친화도 및 속도 상수를 결정하였다. 결과가 표 10-G에 제시되어 있다.

[0505] 표 10-G. 37°C에서 SPR에 의해 시험된 이중특이적 항체의 결합 동역학.

항원	Ab 명칭	이중특이적 스캐폴드	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (nM)
huB7-H4 ECD	0074	IgG2	3.19E+05	5.82E-03	18.24
huB7-H4 ECD	0089	IgG1	2.64E+5 ± 8.52E+3	5.88E-3 ± 1.10E-5	22.33 ± 0.76
huCD3	0074	IgG2	5.92E+05±3.20E+04	3.36E-02±7.00E-04	56.90±1.90
huCD3	0089	IgG1	6.53E+05±2.45E+04	2.60E-02±1.00E-04	39.95±1.65

[0506]  
[0507] 실시예 9. B7-H4 및 CD3에 대한 항체의 세포-기반 결합.

[0508] B7-H4xCD3 이중특이적 분자에 대해 세포-기반 결합을 수행하였다. 700nM 농도의 B7-H4xCD3 이중특이적 분자로 시작한 12 단계 연속 희석물을 MX1, HCC1954-Luc, T47D 및 HEK293-huB7-H4를 포함한 다수의 인간 B7-H4 발현 세포주, 시노물구스 B7-H4 발현 세포주 CHO-cyB7-H4 및 마우스 B7-H4 발현 세포주 HEK293-msB7-H4와 함께 인큐베이션하였다.

[0509] 추가로, 건강한 공여자 PBMC로부터 분리된 CD3 발현 1차 인간 T 세포 및 시노물구스 PBMC로부터 분리된 CD3 발현 세포, 뿐만 아니라 래트 비장 및 C57 및 Balb/c 마우스 비장으로부터의 CD3 발현 세포로 결합을 수행하였다. T 세포 풍부화 키트 (스텝셀 테크놀로지스(StemCell Technologies))를 사용하여 음성 선택에 의해 PBMC로부터 인간 범 T 세포를 분리하였다. 래트 및 마우스 비장을 기계적 균질화, 적혈구 용해 (로슈(Roche)) 및 여과 단계를 통해 처리하였다.

[0510] DPBS (깁코(Gibco)) 중 1% BSA (피셔 사이언티픽(Fisher Scientific)) 및 0.01% 아지드화나트륨 (리카 케미칼 캄파니(Ricca Chemical Company))를 함유하는 유동 완충제로 모든 세포를 2회 세척하고, 유동 완충제 중 웰당 100K 세포 밀도로 시딩하였다. 모든 원심분리 단계를 300g에서 5분 동안 수행하였다.

[0511] 항체 내재화를 억제하는 기능을 하는 아지드화나트륨과 함께 37°C에서 2시간 동안 인큐베이션을 수행하였다. 비결합된 B7-H4xCD3 이중특이적 분자를 2 라운드의 37°C 유동 완충제 세척/원심분리 단계로 세척하였다. 결합된 B7-H4xCD3 이중특이적 분자를 PE-표지된 염소 항-인간 Fcγ 2차 항체 (잭슨 이뮤노 리서치)로 검출하였다. 2차 항체 인큐베이션을 1:200 희석으로 37°C에서 30분 동안 수행하였다. 비결합된 2차 항체를 2 라운드의 37°C 유동 완충제 세척/원심분리 단계로 세척하였다. 유동 완충제를 함유하는 7-AAD 생존능 염색 용액 (바이오 레전드(Bio Legend)) 중에 세포를 재현탁시키고, 유동 세포측정기 상에서 데이터를 획득하였다. 결합 포화의 EC50 측정치가 하기 표 11-A 및 표 11-B에 열거되어 있다. 세포 상에서, 이중특이적 항체 1167은 인간 CD3보다 더 높은 친화도로 인간 B7-H4에 결합하고, 인간 B7-H4와 대등한 친화도로 시노물구스 B7-H4에 결합하고, 무린 또는 래트 B7-H4에는 결합하지 않는다.

[0512] HCC1806-Luc, HEK293 및 CHO 세포를 비롯한, B7-H4 (또는 CD3) 발현이 없는 음성 세포주는 결합을 나타내지 않았다.

[0513] 표 11-A. B7-H4 발현 세포주에 결합하는 B7-H4xCD3 이중특이적 항체

항체	MX-1 EC50 (nM)	HCC1954-luc EC50 (nM)	T47D EC50 (nM)	HEK293-huB7-H4 EC50 (nM)	CHO-시노 B7-H4 EC50 (nM)
1156	10.03	10.42	4.61	4.19	5.66
1167	35.29	36.6	5.05	4.65	24.6
1037	3.64				
1133	1.47				
1134	17.55				
1136	3.55				
1168	13.06				
1169	10.01				
1170	6.88				
0999	3.9				

[0514]

[0515] 표 11-B. CD3 발현 세포주에 대한 B7-H4xCD3 이중특이적 항체 결합

항체	인간 T 세포 EC50 (nM)	시노 PBMC EC50 (nM)
1156	44.76	26.99
1167	64.05	46.03
1037	5.78	
1133	5.73	
1134	6.90	
1136	5.70	
1168	5.56	
1169	5.22	
1170	5.51	
0999	9.77	

[0516]

[0517] 실시예 10. 최적화된 CD3-B7-H4xCD3 이중특이적 항체의 T 세포 매개 세포 사멸 활성

[0518] 피콜 파크 (지이 헬스케어)를 사용하여 건강한 공여자 혈액으로부터 인간 PBMC를 분리하였다. 스템 셀 테크놀로지로부터의 T 세포 풍부화 키트 (T 세포의 음성 선택)를 사용하여 PBMC로부터 범 T 세포를 분리하였다. 루시페라제 발현 구축물, HCC1954-Luc, OVCAR3-Luc 또는 HCT116-Luc로 형질감염된 B7-H4 발현 인간 종양 세포를 R10 배지 (RPMI, 10% FBS, 1% Penn/Strep, 3 ml의 45% 글루코스) 중에 재현탁시켰다. T 세포를 또한 R10 배지 중에 재현탁시키고, 이펙터 대 표적 비 (E:T 비) 5:1 또는 2.5:1로 종양 세포에 첨가하였다. 세포를 B7-H4xCD3 이중특이적 항체 또는 음성 대조군 CD3 이중특이적 항체의 연속 희석물로 처리하고, 250 x g에서 4분 동안 스피ندا운시켜 접착을 개시하고, 37°C에서 48시간 동안 인큐베이션하였다.

[0519] 루시페라제 검정을 위해, 빅터 (피킨 엘머)를 사용하여 네오라이트 시약 (피킨 엘머)을 사용하여 루시페라제 신호를 측정하였다. 그래프패드 프리즘에서 4 파라미터 비-선형 회귀 분석을 사용하여 EC<sub>50</sub> 값을 계산하였다.

[0520] 락테이트 데히드로게나제 (LDH) 검정을 위해, 시토크스 96 비-방사성 세포독성 검정 키트 (프로메가(Promega), G1780) 및 빅터 마이크로플레이트 판독기 (피킨 엘머)를 사용하여 손상된 표적 세포로부터 LDH를 방출시켰다. 그래프패드 프리즘에서 4 파라미터 비-선형 회귀 분석을 사용하여 EC<sub>50</sub> 값을 계산하였다.

[0521] 결과가 표 12에 제시되어 있다. 이들 결과는 B7-H4xCD3 이중특이적 항체가 시험관내에서 인간 B7-H4를 발현하는 다양한 세포주의 세포독성 T 세포 사멸을 재지시하였음을 입증한다. 이들 세포주는 난소암 세포주에 추가로 HR+HER2-, HER2+ 및 TNBC 하위유형의 유방암 세포주를 포함한다. 추가로, 항체 1156 및 1167은 시노몰구스 원숭이에서도 교차 반응성이 나타났다.

[0522] 표 12. 이중특이적 항체의 T 세포 매개 증양 세포 사멸 활성

항체	HCC1954 -Luc EC50 (nM)	MX-1	MDA- MB- 468	T47D	MDA- MB- 453	OVCAR3- Luc	293- hB7- H4	CHO- cyB7- H4
0974	764							
0976	2167							
0978	320							
0980	390							
0982	2650							
0998	410							
0999	277			258		90		
1000	100							
1001	10							
1003	100							
1037	620			1266		모호함		
1130	73700					810		
1133	790			2811		모호함		
1134	1560			7333		540		
1135	1200					420		
1136	500			3823		모호함		
1156	632	46	194	1305	11068	모호함	56	23
1161	사멸 없음					사멸 없음		
1162	사멸 없음					사멸 없음		
1163	사멸 없음					사멸 없음		
1166	15500					800		
1167	1004	62	806	814	11764	240	49	235
1168	2165			1907		360		
1169	975			818		190		
1170	595			444		130		
0077	93							

[0523]

0080	36							
0074	73	3.5	42	224	286	31		
0068	284	17	332	566	1234	79		
0089	75		45					
0090	68							
0092	593		49					
0094	15		1					
0095	21		1					
0087	57		109					
0088	140		655					

[0524]

[0525]

실시예 11. B7-H4xCD3 이중특이적 항체 매개 활성의 생체내 평가-입양 전달 또는 PBMC 모델

[0526]

인간 PBMC를 5% 인간 혈청 알부민 (제미니(Gemini) #100-318), 1% Penn/Strep, 무혈청 PBMC 해동 용액 (CTL # AA-005)으로 보충된 0.01 mM 2-메르캅토에탄올을 함유하는 배지 X-VIVO 15 (론자(Lonza)) 중에 대략 1천만개 세포/ml로 해동시켰다. 세포를 실온에서 5분 인큐베이션한 후에 스핀 다운시키고, 로보셉 완충제 (스텝 셀 테

크놀로지스) 중에 5천만개 세포/mL의 농도로 재현탁시켰다. 이지셉 인간 T 세포 풍부화 키트 (스텝 셀 테크놀로지스)를 사용하여 T 세포를 단리하였다. 인간 T 세포 활성화/확장 키트 (밀테니(Miltenyi))를 사용하여 T 세포를 활성화 및 확장시켰다. 제2일에, 확장을 위해 T 세포를 지-렉스(G-Rex) 세포 배양 장치로 옮기고, IL-2 (스텝 셀 테크놀로지스)를 배지에 첨가하고, 3일 후에 보충하였다. 활성화/확장 1주 후에 T 세포를 수거하였다. 수거 시점에, 비드를 자석으로 제거하고, 생체내 접종을 위해 세포를 DPBS 중에  $1 \times 10^7$  또는  $1.5 \times 10^7$  개 세포/mL로 재현탁시켰다.

[0527] 이종이식 연구를 위해, NSG 마우스에게 유방암 세포주 (MDA-MB468, HCC1954, MX1-Luc, ZR75-1 및 T47D) 또는 환자 유래 이종이식 (PDX-BRX-11380, PDX-BRX-12351, PDX-BRX-24301, PDX-BRX-24305, PDX-BRX-26302, PDX-BRX-26305, PDX-BRX-26360, PDX-OVX-24409) 단편을 옆구리에 피하로 접종하였다. 디지털 버니어 캘리퍼를 사용하여 종양 측정치를 수집하고, 변형된 타원체 식  $1/2 \times \text{길이} \times \text{폭}^2$ 를 사용하여 부피를 계산하였다. 마우스를 무작위화하고, 200-400 mm<sup>3</sup>의 종양 크기에서 병기결정하였다.

[0528] 인간 PBMC 생착 실험 ("PBMC 모델")을 위해, 5백만개의 인간 PBMC를 제1 용량 6일 전에 정맥내로 주사하였다.

[0529] 인간 T 세포 입양 전달 실험을 위해, 2백5십만개의 배양된 인간 T 세포를 제1 용량 1일 후에 접종하였다. 마우스에게 B7-H4xCD3 이중특이적 분자 또는 대조군을 0.2 mL 볼루스 주사로 매주 3회까지 투여하였다.

[0530] 이식편 대 숙주 반응의 징후에 대한 연속 모니터링과 함께 종양 측정치를 매주 2회 수집하였다. 모든 B7-H4xCD3 이중특이적 분자는 세포주 이종이식 및 환자 유래된 이종이식 모델 둘 다에서 용량 의존성 T 세포 매개 항종양 활성을 나타냈다. 하기 표는 본원에서 수행된 다양한 실험의 용량, 종양 부피, SEM (평균의 표준 오차) 및 퍼센트 종양 성장 억제 (TGI)를 제시한다.

[0531] 결과가 하기 표 13 A 내지 N에 기재되어 있다. 이들 결과는 B7-H4xCD3 이중특이적 항체가 생체내 유방암의 인간 세포주 이종이식 및 환자-유래된 이종이식 모델에서 정맥내 및 피하 투여 둘 다의 경우에 용량-의존적으로 종양사멸 활성을 유도하였음을 입증한다. 이들 모델은 HR+HER2-, HER2+ 및 TNBC 분자 하위유형의 유방암을 포함한다.

[0532] 표 13-A. HCC1954 생착, 항체 1167 및 1156을 사용한 생체내 종양 억제 PMBC 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 13 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	608	14	-
0086	0.5	IV	626	21	-3.0
1167	0.5	IV	160	12	74
	0.05	IV	238	8	61
	0.005	IV	266	5	56
	0.0015	IV	307	14	50
1156	0.5	IV	235	9	61
	0.05	IV	272	18	53
	0.005	IV	295	9	51
	0.0015	IV	294	10	52

[0533]

[0534] 표 13-B. HCC1954 생착, 항체 0074, 0068 및 0087을 사용한 생체내 종양 억제 PMBC 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 13 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	559	11	-
0074	0.5	IV	162	10	71
	0.05	IV	204	10	64
	0.005	IV	277	12	51
0068	0.5	IV	113	4	80
	0.05	IV	167	12	70
0087	0.5	IV	257	16	54
	0.05	IV	317	13	43

[0535]

[0536] 표 13-C. HCC1954 생착, 항체 0074, 0068 및 0077 및 0080을 사용한 생체내 종양 억제 입양 T 세포 전달 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 13 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	569	16	-
0074	1.5	IV	235	11	59
	0.5	IV	257	16	55
	0.05	IV	322	14	43
0080	1.5	IV	214	12	62
	0.5	IV	238	7	58
	0.05	IV	321	19	44
0068	1.5	IV	110	9	81
	0.5	IV	168	12	70
	0.05	IV	366	15	36
0077	0.5	IV	249	12	56

[0537]

[0538] 표 13-D. MDA-MB-468 생착, 항체 0068, 0074, 0086, 1156 및 1167을 사용한 생체내 종양 억제 PMBC 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 12 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	582	19	-
0086	0.5	IV	619	18	-6.03
1167	3	IV	57	5	84.7
	0.5	IV	54	18	85.2
	0.05	IV	68	6	83.0
	0.005	IV	84	9	80.4
	0.0015	IV	234	31	56.2
1156	0.5	IV	52	4	85.6
	0.05	IV	80	16	81.1
	0.005	IV	170	27	66.5
	0.0015	IV	270	15	50.3
0068	0.5	IV	83	24	80.5
0074	0.5	IV	79	8	81.3

[0539]

[0540] 표 13-E. MDA-MB-468 생착, 항체 0068, 0074, 0087 및 0088을 사용한 생체내 종양 억제 PMBC 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 12 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	636	46	-
0074	0.5	IV	107	42	83.1
	0.08	IV	137	10	78.5
	0.025	IV	394	31	38.2
0087	0.5	IV	214	31	66.3
	0.08	IV	447	17	29.7
	0.025	IV	492	15	22.6
0088	0.5	IV	488	41	23.2
	0.08	IV	503	19	21.0
	0.025	IV	568	18	10.8
0068	0.5	IV	56	3	91.2
	0.08	IV	86	9	86.5
	0.025	IV	420	15	34.0

[0541]

[0542] 표 13-F. MDA-MB-468 생착, 항체 0074, 0087 및 0088을 사용한 생체내 종양 억제 입양 T 세포 전달 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 13 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	684	29	-
0074	3	IV	464	31	32.2
	1	IV	123	20	82.0
	0.08	IV	199	17	70.9
	0.025	IV	458	26	33.0
0087	3	IV	208	39	69.6
	1	IV	136	8	80.1
	0.08	IV	417	11	39.0
	0.025	IV	433	34	36.7
0088	3	IV	218	25	68.1
	1	IV	394	14	42.4
	0.08	IV	520	17	23.9
	0.025	IV	460	13	32.7

[0543]

[0544] 표 13-G. MDA-MB-468 생착, 항체 0074 및 0089를 사용한 생체내 종양 억제 입양 T 세포 전달 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 12 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	531	24	-
0074	0.5	IV	121	13	77.2
	0.08	IV	198	16	62.8
	0.025	IV	340	23	36.1
0089	0.5	IV	371	23	30.0
	0.08	IV	423	22	20.4
	0.025	IV	471	24	11.3

[0545]

[0546] 표 13-H. MX1-Luc 생착, 항체 0068 및 1167을 사용한 생체내 종양 억제 입양 T 세포 전달 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 13 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	895	25	-
0086	0.5	IV	921	20	-2.9
1167	0.5	IV	31	2	96.5
	0.05	IV	39	6	95.6
	0.01	IV	426	25	52.4
	0.0015	IV	352	67	60.7
	0.5	SC	30	7	96.6
	0.05	SC	34	5	96.2
	0.01	SC	324	32	63.8
	0.0015	SC	481	15	46.2

[0547]

[0548] 표 13-I. MX1-Luc 생착, 항체 0068 및 0074를 사용한 생체내 종양 억제 입양 T 세포 전달 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 13 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	733	35	-
0074	0.5	IV	95	10	87.1
	0.05	IV	462	53	37.0
0068	0.5	IV	19	8	97.4
	0.05	IV	10	6	98.6

[0549]

[0550] 표 13-J. T47D 생착, 항체 1167을 사용한 생체내 종양 억제 입양 T 세포 전달 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 12 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	260	20	-
1167	0.5	IV	99	7	62.1

[0551]

[0552] 표 13-K. ZR75-1 생착, 항체 0068 및 0074를 사용한 생체내 종양 억제 PMBC 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 11 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	522	42	-
0074	0.5	IV	491	54	5.9160115
0068	0.5	IV	176	33	66.220419

[0553]

[0554] 표 13-L. PDX-BRX-11380 생착, 항체 0086 및 1167을 사용한 생체내 종양 억제 PMBC 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 13 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	350	42	-
0086	0.5	IV	301	52	14.0
1167	0.5	IV	95	31	72.8
	0.07	IV	176	41	49.8
	0.01	IV	259	39	26.1
	0.5	SC	92	23	73.7
	0.07	SC	282	64	19.3
	0.01	SC	235	26	32.8

[0555]

[0556] 표 13-M. PDX-BRX-24301 생착, 항체 0086, 1156 및 1167을 사용한 생체내 종양 억제 PMBC 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 12 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	443	66	-
0086	0.5	IV	514	80	-16.0
1167	0.5	IV	124	17	72.1
	0.05	IV	287	36	35.2
	0.005	IV	413	59	6.8
1156	0.5	IV	346	69	22.0
	0.05	IV	419	100	5.33
	0.005	IV	559	130	-26.2

[0557]

[0558] 표 13-N. PDX-BRX-26305 생착, 항체 0086 및 1167을 사용한 생체내 종양 억제 PMBC 모델

처리	용량 (mg/kg)	경로	제 14 일 종양 부피 (mm <sup>3</sup> )	SEM (mm <sup>3</sup> )	종양 성장 억제 (%)
비히클	-	IV	1076	63	-
0086	0.5	IV	1200	106	-11.5
1167	0.5	IV	63	13	94.2
	0.07	IV	439	77	59.2
	0.01	IV	992	132	7.77
	0.5	SC	176	70	83.6
	0.07	SC	531	113	50.6
	0.01	SC	806	89	25.1

[0559]

[0560] 실시예 12: B7-H4에 대한 수용체 밀도 측정

[0561] B7-H4 발현 인간 종양 세포를 수거하고, 항체-PE 1:1 접합된 항 B7-H4 항체 및 음성 대조군 항체의 연속 희석물로 염색하였다. BD 퀀티브라이트(Quantibrite)<sup>TM</sup> 피코에리트린 (PE) 정량화 키트 (BD 바이오사이언시스(BD Biosciences), 카탈로그 번호 340495)와 함께 BD LSR포르테사 X-20을 사용하여 염색된 세포를 획득하였다. 퀀티브라이트 PE 키트로부터의 표준 곡선을 사용하여 항체의 포화 농도에서 세포당 B7-H4의 평균 수용체 밀도를 계산하였다.

[0562] 결과가 표 14에 제시되어 있다. 결과는 시험관내 종양 세포의 재지시된 T 세포 사멸을 유도하는데 있어서 종양 세포 상의 B7-H4 밀도와 항체 1167의 시험관내 효력 사이에 강한 상관관계가 존재하며, B7-H4 밀도가 높을수록, 더 작은 EC50 값으로 나타난 바와 같이 효력이 더 높다는 것을 입증한다.

[0563] 표 14. 시험관내 재지시된 T 세포 사멸을 유도하는데 있어서 인간 종양 세포주의 B7-H4 발현 밀도 및 항체 1167의 EC50

세포주	B7-H4 밀도 (세포당)	EC50 (nM)
MX1	108684	0.062
MDA-MB-468	83936	0.40
HCC1954	20039	0.80
T47D	6133	0.54
MDA-MB-453	1198	8.44

[0564]

[0565] 실시예 13: B7-H4 항체의 에피토프 비닝.

[0566] 모노클로날 IgG1 형태의 B7-H4 항체를 옥텟레드(OctetRED) 384 (포르테바이오(ForteBio))에 의한 탠덤 비닝 검정을 사용하여 인간 B7-H4에 대한 경쟁적 및 비-경쟁적 결합에 대해 평가하였다. 옥텟 검정을 실온에서 수행하였다. 먼저, 아민 반응성 제2 세대 센서 (AR2G)를 EDC (1-에틸-3-[3-디메틸아미노프로필] 카르보디이미드 히드록로라이드) 및 s-NHS (N-히드록시술포수신이미드)로 300초 동안 활성화시켰다. 이어서, 사전활성화된 센서를 아세트산나트륨 pH 5.0 중에 희석된 제1 세트의 항-B7-H4 항체 (mAb 1)로 300초 동안 코팅한 다음, 에탄올아민으로 추가로 300초 동안 켄칭하였다. 센서를 동역학 완충제 중에서 60초 동안 평형화시킨 후, 인간 B7-H4가 포획된 mAb 1에 300초 동안 결합하도록 하였다. 이어서, 센서를 동역학 완충제 중에 60초 동안 침지시키고, 이어서 제2 항체 (mAb 2)와 함께 300초 동안 인큐베이션하였다. 각각의 항체를 이러한 쌍별 조합 방식으로 시험하였다. 인간 B7-H4 ECD 상의 동일한 결합 영역에 대해 경쟁하는 mAb를 단일 빈으로 구분하였다. 항-B7-H4 항체의 옥텟에 의한 에피토프 비닝은 B7-H4 항체에 의해 인식되는 2개의 고유한 에피토프 군을 입증한다 (표 15).

[0567] 표 15. 인간 B7-H4 ECD를 사용한 하이브리도마 클론의 에피토프 비닝.

클론	항체	빈
7H7	0047	2
11F12	0048	1
13F4	0049	1
19D3	0050	2
27C12	0051	1
28D10	0052	2
29G6	0053	1
29H9	0054	NA
32F3	0055	1
33G4	0056	1
34A3	0057	1
37D4	0058	1
47A1	0059	1
42E2	0060	1
46E10	0061	1

[0568]

[0569] 실시예 14: B7-H4 세포의 도메인 (ECD)과 복합체화된 항-B7-H4 항체 0052 scFv, 항-B7-H4 항체 0058 Fab 및 항체 1114 Fab의 결정화 및 구조 결정

[0570] 항체 0052 scFv 및 B7-H4 ECD 공결정 구조: 결정화 시험을 위해, B7-H4 항체 0052 scFv와 B7-H4 ECD 사이의 복합체를 1:1.2 몰비로 형성하고, pH 7.5의 TBS를 함유하는 단백질 용액 중에 15.2 mg/ml로 농축시켰다. 100 mM HEPES pH 7.5, 200 mM 황산리튬, 25% PEG 3350을 함유하는 조건으로부터 행잉-드롭 증기-확산 방법에 의해 결정을 수득하였다. 결정은 셀 파라미터 a=59.33 Å; b=169.60 Å; c=213.98 Å을 갖는 사방정계 공간군 = P2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>2<sub>1</sub>과 일치하는 대칭을 가졌고, 결정학적 비대칭 단위 내 B7-H4 항체 0052 scFv 및 B7-H4 ECD 복합체의 2개의 카피가 존재하였다. 결정을 액체 질소에서 급속 동결시켰다. 아르곤 국립 연구소 (APS)에서 IMCA 빔라인 17-ID에서 단일 동결 결정으로부터 2.6 Å 해상도로 설정된 데이터를 수집하였다. 데이터를 처리하고, 오토프로크 (autoPROC)를 사용하여 스케일링하였으며, 최종 데이터 세트는 60.3% 완전하였다.

[0571] PHASER를 사용한 분자 대체에 의해 구조를 해석하였다. COOT를 사용한 수동 조정 및 모델 재구축 및 오토부스터(autoBUSTER)를 사용한 결정학적 정밀화의 여러 반복 라운드는 결정학적 R<sub>work</sub> 22.2% 및 R<sub>free</sub> 25.0%인 항체 0052 scFv + B7-H4 ECD의 최종 모델을 산출하였으며, 여기서 R<sub>work</sub> =  $\frac{||F_{obs}| - |F_{calc}||}{|F_{obs}|}$ 이고, R<sub>free</sub>는 R<sub>work</sub>

와 등가이지만 정밀화 과정으로부터 생략된 반사 중 무작위로 선택된 5%에 대해 계산되었다.

[0572] B7-H4 ECD와 복합체화된 B7-H4 항체 0052 scFV의 결정 구조가 도 2a에 제시되어 있다. 도 2a에 제시된 바와 같이, B7-H4 항체 0052는 B7-H4 ECD의 V2 도메인에 결합하고, B7-H4 V1 도메인의 전방 베타 시트로부터 떨어져 있다.

[0573] B7-H4 ECD 상의 에피토프 아미노산 잔기는 3.8 옹스트롬 이하의 항체 0052 아미노산 잔기와의 접촉을 갖는 아미노산 잔기로서 확인된다. 표 16-A는 항체 0052에 의해 인식되는 에피토프에 관여하는 B7-H4 ECD의 아미노산 잔기를 열거한다. 이들 중에서, (1) 상응하는 항체 아미노산 잔기와 수소 결합을 형성하거나 또는 (2) 표적-항체 상호작용시에 매립된 B7-H4 ECD 에피토프 아미노산 잔기가 표에 추가로 설명된다.

[0574] 표 16-A. 항체 0052에 의한 B7-H4 세포외 도메인 에피토프 아미노산 잔기

아미노산 잔기	서열식별번호: 1 상의 위치	추가 설명
V	129	수소 결합
Y	131	수소 결합
N	132	
S	134	
S	135	
E	136	수소 결합
L	138	
V	189	상호작용시에 매립됨
I	191	
V	212	수소 결합
E	214	수소 결합
S	215	수소 결합
E	216	
I	217	

[0575]

[0576] 항체 0058 Fab 및 B7-H4 ECD 공결정 구조: 유사하게, B7-H4 항체 0058 Fab와 B7-H4 ECD 사이의 복합체를 1:1.2 몰비로 형성하고, pH 7.5의 TBS를 함유하는 단백질 용액 중에 9.1 mg/ml로 농축시켰다. 100 mM HEPES pH 7.5, 100 mM 염화칼륨, 15% PEG 6000을 함유하는 조건으로부터 행잉-드롭 증기-확산 방법에 의해 결정을 획득하였다. 결정은 셀 파라미터 a=81.07 Å; b=96.99 Å; c=116.08 Å, α=90.00°; β=103.19°; γ=90.00°를 갖는 단사 정계 공간군 = P2<sub>1</sub>과 일치하는 대칭을 가졌고, 결정학적 비대칭 단위 내 B7-H4 항체 0058 Fab-B7-H4 복합체의 2개의 카피가 존재하였다. 결정을 20% 에틸렌 글리콜을 함유하는 저장 용액을 사용하여 동결-보호하고, 액체 질소 중에 급속 동결시켰다. 아르곤 국립 연구소 (APS)에서 IMCA 빔라인 17-ID에서 단일 동결 결정으로부터 2.2 Å 해상도로 설정된 데이터를 수집하였다. 데이터를 처리하고, 오토프록을 사용하여 스케일링하였으며, 최종 데이터 세트는 52.9% 완전하였다.

[0577] PHASER를 사용한 분자 대체에 의해 구조를 해석하였다. COOT를 사용한 수동 조정 및 모델 재구축 및 오토부스터를 사용한 결정학적 정밀화의 여러 반복 라운드는 결정학적 R<sub>work</sub> 21.6% 및 R<sub>free</sub> 23.7%인 B7-H4 항체 0058 Fab + B7-H4 ECD의 최종 모델을 산출하였으며, 여기서 R<sub>work</sub> = ||F<sub>obs</sub>| - |F<sub>calc</sub>|| / |F<sub>obs</sub>|이고, R<sub>free</sub>는 R<sub>work</sub>와 등가이지만 정밀화 과정으로부터 생략된 반사 중 무작위로 선택된 5%에 대해 계산되었다.

[0578] B7-H4 ECD와 복합체화된 B7-H4 항체 0058 Fab의 결정 구조가 도 2b에 제시되어 있다. 도 2b에 제시된 바와 같이, B7-H4 항체 0058은 B7-H4 ECD의 V1 도메인의 전방 베타 시트에서 및 그 주위에서 B7-H4 ECD에 결합한다.

- [0579] B7-H4 ECD 상의 에피토프 아미노산 잔기는 3.8 옹스트롬 이하의 항체 0058 아미노산 잔기와의 접촉을 갖는 아미노산 잔기로서 확인된다. 표 16-B는 항체 0058에 의해 인식되는 에피토프에 관여하는 B7-H4 ECD의 아미노산 잔기를 열거한다. 이들 중에서, (1) 상응하는 항체 아미노산 잔기와 수소 결합을 형성하거나 또는 (2) 표적-항체 상호작용시에 매립된 B7-H4 ECD 에피토프 아미노산 잔기가 표에 추가로 설명된다.
- [0580] 항체 1114 Fab 및 B7-H4 ECD 공결정 구조: B7-H4 항체 1114 Fab와 B7-H4 ECD 사이의 복합체를 1:1 몰비로 형성하고, pH 7.5의 TBS를 함유하는 단백질 용액 중에 9.27 mg/ml로 농축시켰다. 100 mM HEPES pH 7.5, 100 mM 염화칼륨, 15% PEG 6000을 함유하는 조건으로부터 행잉-드롭 증기-확산 방법에 의해 결정을 수득하였다. 결정은 셀 파라미터  $a=96.43 \text{ \AA}$ ;  $b=78.19 \text{ \AA}$ ;  $c=116.21$ ,  $\alpha=90.00$ ;  $\beta=90.13.19$ ;  $\gamma=90.00 \text{ \AA}$ 을 갖는 단사정계 공간군 = P2<sub>1</sub>과 일치하는 대칭을 가졌고, 결정학적 비대칭 단위 내 B7-H4 항체 1114 Fab 및 B7-H4 EDC 복합체의 2개의 카피가 존재하였다. 결정을 20% 글리세롤을 함유하는 저장 용액을 사용하여 동결-보호하고, 액체 질소에 급속 동결시켰다. 아르곤 국립 연구소 (APS)에서 IMCA 빔라인 17-ID에서 단일 동결 결정으로부터 2.32 Å 해상도로 설정된 데이터를 수집하였다. 데이터를 처리하고, 오토프록을 사용하여 스케일링하였으며, 최종 데이터 세트는 47.6% 완전하였다.
- [0581] PHASER를 사용한 분자 대체에 의해 구조를 해석하였다. COOT를 사용한 수동 조정 및 모델 재구축 및 페닉스 (Phenix)를 사용한 결정학적 정밀화의 여러 반복 라운드는 결정학적  $R_{\text{work}} 22.4\%$  및  $R_{\text{free}} 27.6\%$ 인 B7-H4 항체 1114 Fab + B7-H4 ECD의 최종 모델을 산출하였으며, 여기서  $R_{\text{work}} = | |F_{\text{obs}}| - |F_{\text{calc}}| | / |F_{\text{obs}}|$ 이고,  $R_{\text{free}}$ 는  $R_{\text{work}}$ 와 등가이지만 정밀화 과정으로부터 생략된 반사 중 무작위로 선택된 5%에 대해 계산되었다.
- [0582] B7-H4 ECD와 복합체화된 B7-H4 항체 1114 Fab의 결정 구조가 도 2c에 제시되어 있다. 도 2c에 제시된 바와 같이, B7-H4 항체 1114는 B7-H4 ECD의 V1 도메인의 전방 베타 시트에서 및 그 주위에서 B7-H4 ECD에 결합한다.
- [0583] B7-H4 ECD 상의 에피토프 아미노산 잔기는 3.8 옹스트롬 이하의 항체 1114 아미노산 잔기와의 접촉을 갖는 아미노산 잔기로서 확인된다. 표 16-B는 항체 1114에 의해 인식되는 에피토프에 관여하는 B7-H4 ECD의 아미노산 잔기를 열거한다. 이들 중에서, (1) 상응하는 항체 아미노산 잔기와 수소 결합을 형성하거나 또는 (2) 표적-항체 상호작용시에 매립된 B7-H4 ECD 에피토프 아미노산 잔기가 표에 추가로 설명된다.
- [0584] 표 16-B. 항체 0058 및 항체 1114 둘 다에 의한 B7-H4 세포외 도메인 에피토프 아미노산 잔기

아미노산 잔기	서열식별번호: 1 상의 위치	추가 설명
L	44	수소 결합
K	45	
E	46	수소 결합
G	47	수소 결합
V	48	
L	49	수소 결합
G	50	
L	51	
S	63	항체 0058에만 결합됨
E	64	수소 결합
D	66	수소 결합
M	68	
T	99	상호작용시에 매립됨
K	101	상호작용시에 매립됨

[0585]

수탁번호

[0586]

기탁기관명 : ATCC  
수탁번호 : PTA-126779  
수탁일자 : 20200618

기탁기관명 : ATCC  
수탁번호 : PTA-126780  
수탁일자 : 20200618

기탁기관명 : ATCC  
수탁번호 : PTA-126781  
수탁일자 : 20200618

기탁기관명 : ATCC  
수탁번호 : PTA-126782  
수탁일자 : 20200618

도면

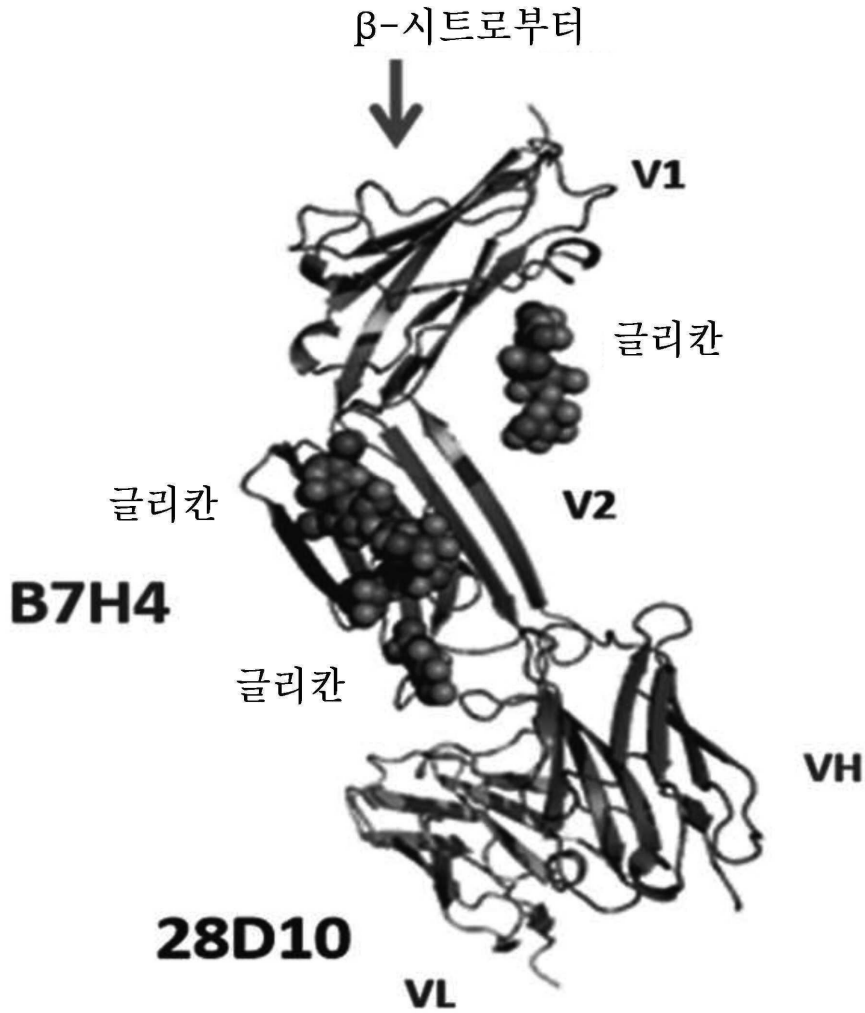
도면1

EU 넘버링 스킴을 사용한 항-B7-H4, 항-CD3 및 야생형 인간 IgG2, IgG1 및 IgG4 중쇄 불변 영역의 정렬

	118	128	138	148	158	168				
B7-H4	ASTKGP <sup>S</sup> SVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTS <sup>S</sup> GV	HTFPAVLQSS				
CD3	ASTKGP <sup>S</sup> SVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTS <sup>S</sup> GV	HTFPAVLQSS				
IgG2	ASTKGP <sup>S</sup> SVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTS <sup>S</sup> GV	HTFPAVLQSS				
IgG1	ASTKGP <sup>S</sup> SVFP	LAPSSRSTSG	GTAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTS <sup>S</sup> GV	HTFPAVLQSS				
IgG4	ASTKGP <sup>S</sup> SVFP	LAPCSRSTSE	STAALGCLVK	DYFPEPVTVS	WNSGALTS <sup>S</sup> GV	HTFPAVLQSS				
	178	188	198	208	218	<u>223</u>	<u>225</u>	<u>228</u>	231	237
B7-H4	GLYLSLSSVVT	VPSSNFGTQT	YTCNVDHKPS	NTKVDKTVER	KC--- <u>EV</u>	ECP	<u>PCP</u>	APPVA-	GPSVF	
CD3	GLYLSLSSVVT	VPSSNFGTQT	YTCNVDHKPS	NTKVDKTVER	KC--- <u>RV</u>	<u>PCP</u>	<u>PCP</u>	APPVA-	GPSVF	
IgG2	GLYLSLSSVVT	VPSSNFGTQT	YTCNVDHKPS	NTKVDKTVER	KC---CV	ECP	PCP	APPVA-	GPSVF	
IgG1	GLYLSLSSVVT	VPSSSLGTQT	YTCNVDHKPS	NTKVDK <sup>S</sup> VEP	KSCDK	TH	TCP	PCP	APELLG	GPSVF
IgG4	GLYLSLSSVVT	VPSSSLGT <sup>S</sup> TKT	YTCNVDHKPS	NTKVDK <sup>S</sup> RVES	KY---	GP	PCP	SCP	APEFLG	GPSVF
	242	252	265	272	282	292				
B7-H4	LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVA <sup>S</sup> VSHEDP	EVQFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQFNSTFR				
CD3	LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVA <sup>S</sup> VSHEDP	EVQFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQFNSTFR				
IgG2	LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVDVSHEDP	EVQFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQFNSTFR				
IgG1	LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVDVSHEDP	EVKFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQYNSTYR				
IgG4	LFPPKPKDTL	MISRTPEVTC	VVVDVSQEDP	EVQFNWYVDG	VEVHNAKTKP	REEQFNSTYR				
	302	312	322	330/331	342	352				
B7-H4	VVSVLTVVHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKGLP <sup>SS</sup>	IEKTISKTKG	QPREPQVYTL	PPSREEMTKN				
CD3	VVSVLTVVHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKGLP <sup>SS</sup>	IEKTISKTKG	QPREPQVYTL	PPSREEMTKN				
IgG2	VVSVLTVVHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKGLPAP	IEKTISKTKG	QPREPQVYTL	PPSREEMTKN				
IgG1	VVSVLTVLHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKALPAP	IEKTISKAKG	QPREPQVYTL	PPSRDELTKN				
IgG4	VVSVLTVLHQ	DWLNGKEYKC	KVSNKGLP <sup>SS</sup>	IEKTISKAKG	QPREPQVYTL	PPSQEEMTKN				
	362	372	382	392	402	409	412			
B7-H4	QVSLTCLVKG	FYP <sup>S</sup> SDIAVEW	ESNGQPENNY	KTPPPMLDSD	GSFFLYSKLT	VDKSRWQQGN				
CD3	QVSLTCLVKG	FYP <sup>S</sup> SDIAVEW	ESNGQPENNY	KTPPPMLDSD	GSFFLYS <sup>R</sup> RLT	VDKSRWQQGN				
IgG2	QVSLTCLVKG	FYP <sup>S</sup> SDIAVEW	ESNGQPENNY	KTPPPMLDSD	GSFFLYSKLT	VDKSRWQQGN				
IgG1	QVSLTCLVKG	FYP <sup>S</sup> SDIAVEW	ESNGQPENNY	KTPPPVLDSD	GSFFLYSKLT	VDKSRWQQGN				
IgG4	QVSLTCLVKG	FYP <sup>S</sup> SDIAVEW	ESNGQPENNY	KTPPPVLDSD	GSFFLYSRLT	VDKSRWQEGN				
	4	22	432	442						
B7-H4	VFSCSV <sup>S</sup> MHEA	LHNHYTQKSL	SLSPGK	SEQ ID NO: 177	이중 밀줄					
CD3	VFSCSV <sup>S</sup> MHEA	LHNHYTQKSL	SLSPGK	SEQ ID NO: 178	이중이량체 안정화 돌연변이					
IgG2	VFSCSV <sup>S</sup> MHEA	LHNHYTQKSL	SLSPGK	SEQ ID NO: 208	단일 밀줄					
IgG1	VFSCSV <sup>S</sup> MHEA	LHNHYTQKSL	SLSPGK	SEQ ID NO: 209	Fc 이펙터 돌연변이					
IgG4	VFSCSV <sup>S</sup> MHEA	LHNHYTQKSL	SLSL <sup>S</sup> GK	SEQ ID NO: 210						

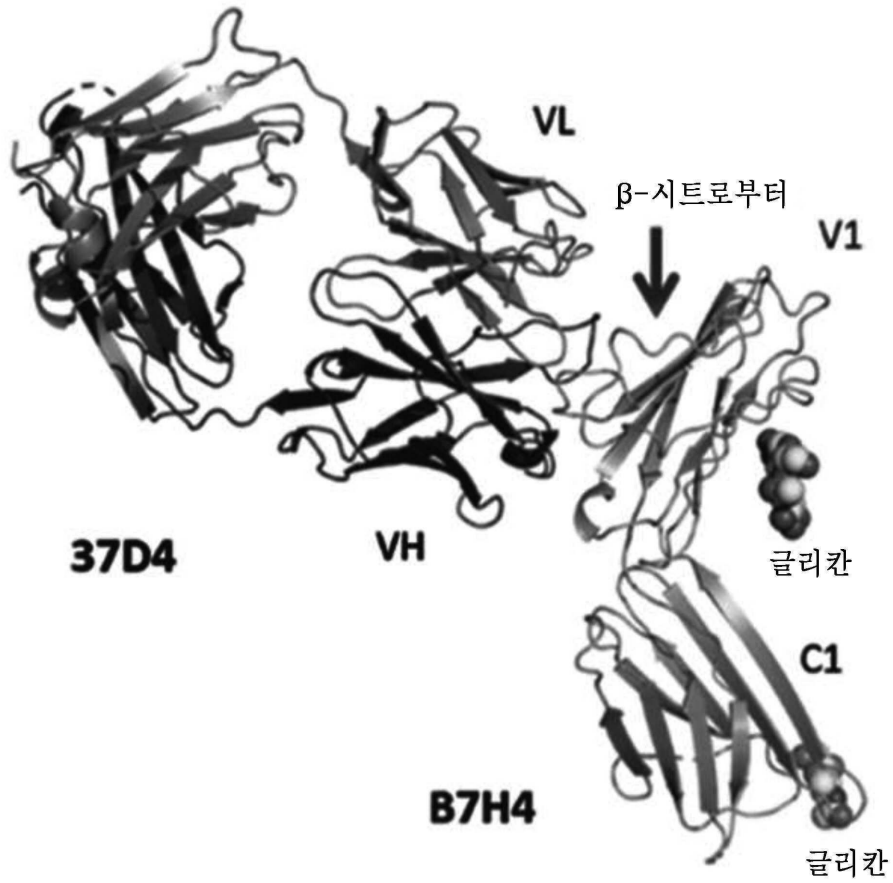
도면2a

B7-H4 ECD와 복합체화된 B7-H4 항체 0052 scFv의 결정 구조



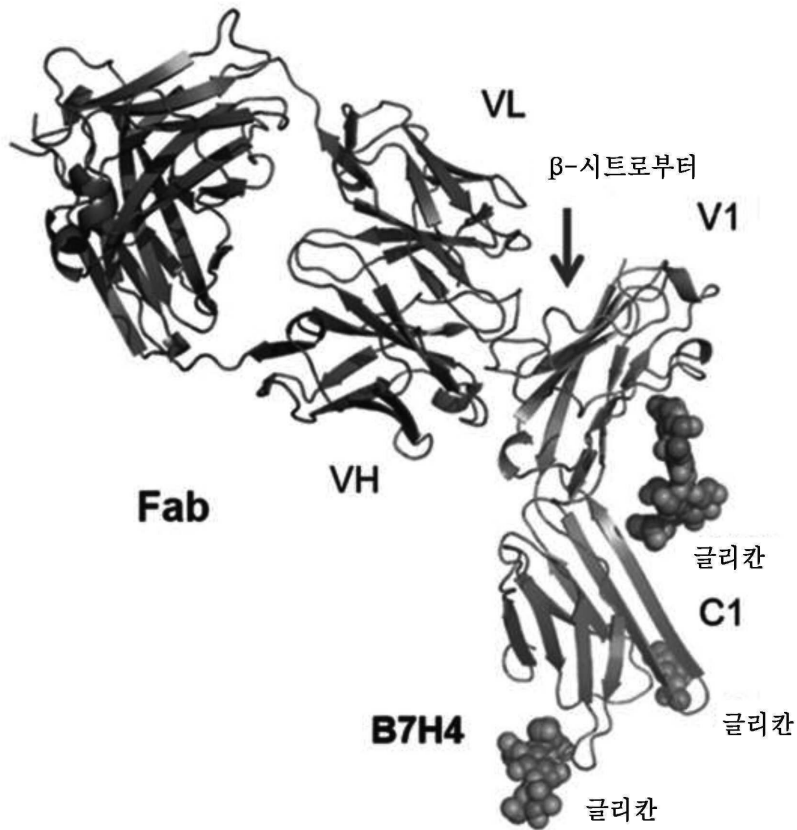
도면2b

B7-H4 ECD와 복합체화된 B7-H4 항체 0058 Fab의 결정 구조



도면2c

B7-H4 ECD와 복합체화된 B7-H4 항체 1114 Fab의 결정 구조



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> PFIZER INC.

<120> THERAPEUTIC ANTIBODIES AND THEIR USES

<130> PC072604A

<150> US 63/053,243

<151> 2020-07-17

<160> 210

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 230

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Phe Gly Ile Ser Gly Arg His Ser Ile Thr Val Thr Thr Val Ala Ser

1                    5                    10                    15

Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Ile Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro

                  20                    25                    30

Asp Ile Lys Leu Ser Asp Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Val

                  35                    40                    45

Leu Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Glu Leu Ser Glu

                  50                    55                    60

Gln Asp Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val

65                    70                    75                    80

Ile Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp

                  85                    90                    95

Ala Gly Thr Tyr Lys Cys Tyr Ile Ile Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn

                  100                    105                    110

Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Val Asn

                  115                    120                    125

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

                  130                    135                    140

Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Val Trp Ala Ser Gln Val Asp Gln Gly

145                    150                    155                    160

Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu

                  165                    170                    175

Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn

                  180                    185                    190

Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly

                  195                    200                    205

Asp Ile Lys Val Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln

                  210                    215                    220

Leu Leu Asn Ser Lys Ala



Asp Ile Lys Val Thr Glu Ser Glu Ile Lys Arg Arg Ser His Leu Gln  
 210 215 220  
 Leu Leu Asn Ser Lys Ala  
 225 230  
 <210> 3  
 <211> 230  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400  
 > 3  
 Phe Gly Ile Ser Gly Lys His Phe Ile Thr Val Thr Thr Phe Thr Ser  
 1 5 10 15  
 Ala Gly Asn Ile Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ser Cys Thr Phe Glu Pro  
 20 25 30  
 Asp Ile Lys Leu Asn Gly Ile Val Ile Gln Trp Leu Lys Glu Gly Ile  
 35 40 45  
 Lys Gly Leu Val His Glu Phe Lys Glu Gly Lys Asp Asp Leu Ser Gln  
 50 55 60  
  
 Gln His Glu Met Phe Arg Gly Arg Thr Ala Val Phe Ala Asp Gln Val  
 65 70 75 80  
 Val Val Gly Asn Ala Ser Leu Arg Leu Lys Asn Val Gln Leu Thr Asp  
 85 90 95  
 Ala Gly Thr Tyr Thr Cys Tyr Ile Arg Thr Ser Lys Gly Lys Gly Asn  
 100 105 110  
 Ala Asn Leu Glu Tyr Lys Thr Gly Ala Phe Ser Met Pro Glu Ile Asn  
 115 120 125  
  
 Val Asp Tyr Asn Ala Ser Ser Glu Ser Leu Arg Cys Glu Ala Pro Arg  
 130 135 140  
 Trp Phe Pro Gln Pro Thr Val Ala Trp Ala Ser Gln Val Asp Gln Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu  
 165 170 175  
 Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn



145                    150                    155                    160  
 Ala Asn Phe Ser Glu Val Ser Asn Thr Ser Phe Glu Leu Asn Ser Glu  
    165                    170                    175  
 Asn Val Thr Met Lys Val Val Ser Val Leu Tyr Asn Val Thr Ile Asn  
    180                    185                    190  
 Asn Thr Tyr Ser Cys Met Ile Glu Asn Asp Ile Ala Lys Ala Thr Gly  
    195                    200                    205

Asp Ile Lys Val Thr Asp Ser Glu Val Lys Arg Arg Ser Gln Leu Glu  
    210                    215                    220

Leu Leu Asn Ser Gly

225

<210> 5

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 5

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Asn

1                    5                    10

<210> 6

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 6

Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1                    5                    10                    15

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 7

Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His

1 5

<210> 8

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 8

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

1 5 10 15

Thr Leu Pro Leu Thr Cys Ala Val Tyr Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn His Phe Ser Leu

65 70 75 80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 9

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 9

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

<210> 10

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 10

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1                    5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 11

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg Thr

1                    5

<210> 12

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 12

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



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 15

Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp Ser

1                    5

<210> 16

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 16

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

                  35                    40                    45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Val

                  85                    90                    95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu

                  100                    105                    110

Val Thr Val Ser Ser

                  115

<210> 17

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 17

Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 18

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 18

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 19

<211> 107

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln 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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 20

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ser

1                    5                    10

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 21

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

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 22

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 22

Asp Ile Gln Trp Phe Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 23

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 23

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly 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 Asp Ile Gln Trp Phe Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 24

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Ser Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 25

Lys Ala Ser Ser Leu Glu Gly

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 26

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg Thr

1 5

<210> 27

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 27

Asp Ile Gln Leu 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 Ile Arg Ser Trp

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Gly 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 Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 28

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr Met Thr

1                    5                    10  
 <210> 29  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 29

Phe Ile Arg Asn Arg Ala Arg Gly Tyr Thr Ser Asp His Asn Pro Ser

1                    5                    10                    15

Val Lys Gly

<210> 30

<211> 10

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 30

Asp Arg Pro Ser Tyr Tyr Val Leu Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 31

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 31

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35                    40                    45

Ala Phe Ile Arg Asn Arg Ala Arg Gly Tyr Thr Ser Asp His Asn Pro

50                    55                    60



1                    5  
 <210> 35  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 35

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 Val  
                   20                    25                    30

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

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

Ser Tyr Asp Leu Phe Thr Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
                   100                    105                    110

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 36

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Met Lys  
 1                    5                    10

<210> 37

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 37

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

1                    5                    10                    15

Gly

<210> 38

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 38

Ala Gly Trp Ala Ala Ala Phe Asp Tyr

1                    5

<210> 39

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 39

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

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

35                    40                    45

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

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

85 90 95  
 Ala Lys Ala Gly Trp Ala Ala Ala Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 40

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 40

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 41

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 41

Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 42

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 42

Gln Gln Cys Asn Ser Tyr Trp Thr

1 5

<210> 43

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 43

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

1                    5                    10                    15  
 Asp Arg Ile Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Trp  
                   20                    25                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45  
 Tyr Lys Ala Ser Ser 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 Gln Cys Asn Ser Tyr Trp Thr  
                   85                    90                    95  
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                   100                    105

<210> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 44

Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                    5                    10                    15

Gly

<210> 45

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 45

Asp Ile Gln Trp Phe Gly Glu Ser Val Phe Asp Tyr

1                    5                    10  
 <210> 46  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 46  
 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  
 Ala 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 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 Phe  
 65                    70                    75                    80  
 Leu His Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
  
                   85                    90                    95  
 Ala Arg Asp Ile Gln Trp Phe Gly Glu Ser Val Phe Asp Tyr Trp Gly  
                   100                    105                    110  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120  
 <210> 47  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 47  
 Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp Leu Ala  
 1                    5                    10  
 <210> 48  
 <211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 48

Gln Tyr Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg Thr

1                    5

<210> 49

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 49

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 Ile Ser Ser Trp

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Asp Asp Leu Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Tyr Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg

                  85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

                  100                    105

<210> 50

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 50

Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1                    5                    10                    15

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 51

Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp Arg

1                    5

<210> 52

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 52

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

                  35                    40                    45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Asn Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

                  50                    55                    60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65                    70                    75                    80

Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

                  85                    90                    95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp Arg Trp Gly Gln Gly Thr Leu

                  100                    105                    110

Val Thr Val Ser Ser

                  115

<210>

> 53

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 53

Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu Thr

1                    5

<210> 54

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 54

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Leu

                  85                    90                    95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

                  100                    105

<210> 55

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 55

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

1 5 10 15

Gly

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 56

Val Gly Trp Arg Thr Gly Asp Tyr

1 5

<210> 57

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 57

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

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Asn Gly 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 Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Val Gly Trp Arg Thr Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210

> 58

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 58

Lys Ala Ser Asp Leu Glu Ser

1 5

<210> 59

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 59

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Trp Thr

1 5

<210> 60

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 60

Asp Ile Gln Leu 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 Ile Ser Ser Trp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60



<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 64

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

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                   85                    90                    95  
 Arg Ala Gly Gly Asp Tyr Gly Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val  
                   100                    105                    110  
 Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 65

Lys Ala Ser Arg Leu Glu Ser  
 1                    5

<210> 66

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 66

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr

1 5

<210> 67

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 67

Asp Ile Gln Leu 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 Ile Ser Ser Trp

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Arg 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 Gln Tyr Asn Ser Tyr Phe Gly

85 90 95

Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 68

Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp Cys

1 5

<210> 69

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 69

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

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

                  20                    25                    30  
 Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

                  35                    40                    45  
 Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

                  50                    55                    60  
 Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn His Phe Ser Leu

65                    70                    75                    80  
 Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Gly Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala

                  85                    90                    95  
 Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp Cys Trp Gly Gln Gly Thr Leu

                  100                    105                    110  
 Val Thr Val Ser Ser

                  115

<210> 70

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 70

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

1                    5                    10                    15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp

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

                  35                    40                    45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 71

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 71

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5 10

<210> 72

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 72

Thr Ile Tyr Phe Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 73

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 73

Leu Arg Val Thr Met Val Arg Gly Val Ile Ile Gly Val Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 74

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 74

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 Gly Ser Ile Ser Ser Ser  
                   20                    25                    30  
 Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu  
                   35                    40                    45  
 Trp Ile Gly Thr Ile Tyr Phe Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser  
                   50                    55                    60  
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Ser Gln Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Ser Leu Lys Leu Asn Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr  
                   85                    90                    95  
 Cys Ala Arg Leu Arg Val Thr Met Val Arg Gly Val Ile Ile Gly Val  
                   100                    105                    110  
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115                    120                    125

<210> 75

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 75

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu  
 1                    5                    10                    15  
 Ala

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 76

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr

1 5

<210> 77

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 77

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 Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser 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

Tyr Tyr Ser Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

100 105 110

Lys

<210> 78

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 78

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Ala Met Asn

1                    5                    10

<210> 79

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 79

Val Asp Val Val Ala Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1                    5                    10

<210> 80

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 80

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 Thr Tyr

20                    25                    30

Ala Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Ala Trp Val

35                    40                    45

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

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

85                    90                    95

Ala Lys Val Asp Val Val Ala Arg Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly

100                    105                    110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400>

> 81

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Trp Leu Ala

1 5 10

<210> 82

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 82

Glu Ala Ser Ser Leu Glu Ser

1 5

<210> 83

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 83

Gln Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Trp Thr

1 5

<210> 84

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 84

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 Ile Ser Gly Trp  
                   20                    25                    30  
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45  
 Tyr Glu Ala Ser Ser 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 Gln Tyr Lys Ser Tyr Ser Trp  
                   85                    90                    95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                   100                    105

<210> 85

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 85

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

1                    5                    10                    15  
 Gly

<210> 86

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 86

Asp Leu Gln Trp Phe Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 87

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 87

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

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

35                    40                    45

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

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

85                    90                    95

Ala Arg Asp Leu Gln Trp Phe Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr Trp

100                    105                    110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115                    120

<210> 88

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 88

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ala Trp Leu Ala

1                    5                    10

<210> 89

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 89

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg Ser

1 5

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 90

Asp Ile Gln Leu 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 Ile Ser Ala Trp

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser 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 Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg

85 90 95

Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 91

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 91

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Leu Ser

1 5 10

<210> 92

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 92

Thr Ile Asn Val Gly Gly Val Asp Thr Asn Tyr Ala Gly Ser Val Lys  
 1                    5                    10                    15

Gly

<210> 93

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 93

Ala Arg Ile Thr Met Val Arg Gly Val Ile Ile Pro Leu Phe Asp Tyr  
 1                    5                    10                    15

<210> 94

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 94

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

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

35

40

45

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

50

55

60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Pro Lys Asn Thr Leu Cys

65

70

75

80

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

85 90 95

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

100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ala Ser

115 120 125

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 95

Gln Gln Phe Tyr Ser Thr Pro Val Thr

1 5

<210> 96

<211>

113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 96

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 Val Leu Tyr Ser

20 25 30

Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln

35 40 45

Pro Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser 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

Phe Tyr Ser Thr Pro Val Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile  
 100 105 110

Lys

<210> 97

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 97

Thr Gly Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Tyr Trp Gly

1 5 10

<210> 98

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 98

Thr Ile Tyr Phe Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 99

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 99

Leu Arg Val Thr Met Val Arg Gly Val Ile Ile Gly Val Phe Asp Phe

1 5 10 15

<210> 100

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 100

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 Thr Gly Ser Ile Ser Ser Ser

                  20                    25                    30

Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65                    70                    75                    80

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

                  85                    90                    95

Cys Ala Arg Leu Arg Val Thr Met Val Arg Gly Val Ile Ile Gly Val

                  100                    105                    110

Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

                  115                    120                    125

<210> 101

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 101

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Phe Trp Ser

1                    5                    10

<210> 102

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 102

Glu Phe Asn His Ser Gly Gly Thr Asn Ser Asn Pro Ser Leu Lys Ser

1                    5                    10                    15

<210> 103

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 103

Ala Gly Gly Asp Tyr Gly Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

1                    5                    10                    15

<210> 104

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 104

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Phe Trp Ser Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35                    40                    45

Gly Glu Phe Asn His Ser Gly Gly Thr Asn Ser Asn Pro Ser Leu Lys

50                    55                    60

Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu

65                    70                    75                    80

Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala

85                    90                    95

Arg Ala Gly Gly Asp Tyr Gly Phe Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Val

100                    105                    110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115                    120

<210> 105

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 105

Phe Ile Arg Asn Gln Ala Arg Gly Tyr Thr Ser Asp His Asn Pro Ser  
 1                    5                    10                    15  
 Val Lys Gly

<210> 106

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 106

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

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

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 107

Thr Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Val Arg Ser Gln Lys Asn Tyr Leu  
 1                    5                    10                    15

Ala

<210> 108

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 108

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 Thr Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Val  
                   20                    25                    30  
 Arg Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys  
                   35                    40                    45

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

<210> 109

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 109

Phe Ile Arg Asn Gln Asp Arg Gly Tyr Thr Ser Asp His Gln Pro Ser

1                    5                    10                    15

Val Lys Gly

<210> 110

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 110

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35                    40                    45

Ala Phe Ile Arg Asn Gln Asp Arg Gly Tyr Thr Ser Asp His Gln Pro

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

85                    90                    95

Tyr Cys Ala Arg Asp Arg Pro Ser Tyr Tyr Val Leu Asp Tyr Trp Gly

100                    105                    110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115                    120

<210> 111

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 111

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

1                    5                    10                    15

Ala

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 112

Trp Ala Ser Asp Arg Glu Ser

1                    5

<210> 113

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 113

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 Thr Ser Asp Gln Ser Leu Phe Asn Val

20                    25                    30

Arg Ser Gly Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

35                    40                    45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Asp Arg Glu Ser Gly Val

50                    55                    60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65                    70                    75                    80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys Gln

85                    90                    95

Ser Tyr Asp Leu Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110

<210> 114

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 114

Asp Arg His Ser Tyr Tyr Val Leu Asp Tyr  
 1 5 10

<210> 115

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 115

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr  
 20 25 30

Tyr Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45

Ala Phe Ile Arg Asn Gln Ala Arg Gly Tyr Thr Ser Asp His Asn Pro  
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser  
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
 85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Asp Arg His Ser Tyr Tyr Val Leu Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 116

Lys Gln Ser Tyr Tyr Leu Phe Thr

1                    5

<210> 117

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 117

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 Thr Ser Ser Gln Ser Leu Phe Asn Val

                  20                    25                    30

Arg Ser Gln Lys Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

                  35                    40                    45

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser Gly Val

                  50                    55                    60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65                    70                    75                    80

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys Gln

                  85                    90                    95

Ser Tyr Tyr Leu Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

                  100                    105                    110

<210> 118

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 118

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 Ser Ile Arg Ser Trp  
                   20                    25                    30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                   50                    55                    60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                    70                    75                    80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg  
                   85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
                   100                    105

<210> 119

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 119

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
                   20                    25                    30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
                   35                    40                    45

Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                   50                    55                    60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                    70                    75                    80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr



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> 122

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 122

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
                          20                    25                    30  
 Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
                          35                    40                    45  
 Tyr Val Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
                          50                    55                    60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65                    70                    75                    80  
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ser Tyr Pro Tyr  
                          85                    90                    95  
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 123

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 123

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

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

<210> 124

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 124

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr  
 20 25 30  
 Tyr Trp Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45  
 Ala Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

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

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

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 125

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 125

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

1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr  
 20 25 30

Tyr Trp Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
 35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Phe Tyr Leu

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

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 126

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 126

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

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

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

<210> 127

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 127

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr Tyr Trp Ser

1                    5                    10

<210> 128

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 128

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr  
                   20                    25                    30  
 Tyr Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45  
 Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
                   50                    55                    60  
 Ser Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Phe Tyr Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                   85                    90                    95  
 Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
                   100                    105                    110  
 Val Thr Val Ser Ser  
                   115

<210

> 129

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 129

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

50 55 60  
 Ser Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Phe Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95  
 Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210

> 130

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 130

Glu Ile Asp His Gln Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser  
 1 5 10 15

<210> 131

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 131

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

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

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

85 90 95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 132

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 132

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Phe Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 133

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 133

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

1                    5                    10                    15

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

20                    25                    30

Tyr Trp Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35                    40                    45

Ala Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

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

85                    90                    95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100                    105                    110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 134

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 134

Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly

1                    5                    10                    15

<210> 135

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 135

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr  
                   20                    25                    30  
 Tyr Trp Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45  
 Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Val Asp Ser Val Lys  
                   50                    55                    60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ala Lys Asn Ser Phe Tyr Leu  
 65                    70                    75                    80  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                   85                    90                    95  
 Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
                   100                    105                    110  
 Val Thr Val Ser Ser  
                   115

<210

> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 136

Glu Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His

1                    5

<210> 137

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 137

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Phe Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Glu Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 138

Leu Gln His Asn Ala Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 139

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 139

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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





100 105

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 144

Leu Gln His Ala Ser Tyr Pro Arg Thr

1 5

<210> 145

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 145

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Ala Ser Tyr Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 146

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 146

Leu Gln His Asn Ala Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 147

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 147

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ala Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 148

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 148

Leu Gln His Gln Ser Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 149

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 149

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Gln Ser Tyr Pro Tyr

                  85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

                  100                    105

<210> 150

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 150

Leu Gln His Ala Ser Tyr Pro Tyr Thr

1                    5

<210> 151

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 151

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

1                    5                    10                    15

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

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Ala Ser Tyr Pro Tyr

                  85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

                  100                    105

<210> 152

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 152

Arg Ala Ser Gln Ser Thr Arg Ser Trp Leu Ala

1                    5                    10

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 153

Gln Gln Tyr Gly Ser Tyr Ser Arg Thr

1                    5

<210> 154

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 154

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 Ser Thr Arg Ser Trp

                  20                    25                    30  
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

                  35                    40                    45  
Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

                  50                    55                    60  
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65                    70                    75                    80  
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Tyr Ser Arg

                  85                    90                    95  
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

                  100                    105

<210> 155

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 155

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

1                    5                    10                    15  
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

                  20                    25                    30  
Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

                  35                    40                    45  
Gly Glu Ile Asp His Gln Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

Gly Glu Ile Asp His Gln Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys



<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 157

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                    5                    10                    15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr  
                   20                    25                    30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45

Gly Glu Ile Asp His Gln Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
                   50                    55                    60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu  
 65                    70                    75                    80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                   85                    90                    95

Arg Glu Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
                   100                    105                    110

Val Thr Val Ser Ser  
                   115

<210> 158

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 158

Ala Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Gln Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1                    5                    10                    15

Gly

<210> 159

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 159

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

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

                  35                    40                    45

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly Gly Ser Thr Gln 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 Asp Ile Gln Trp Phe Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr Trp

                  100                    105                    110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

                  115                    120

<210> 160

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 160

Asp Ile Gln Trp Tyr Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 161

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 161

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

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly 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 Asp Ile Gln Trp Tyr Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr Trp  
                   100                    105                    110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120

<210> 162

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 162

Asp Ile Gln Trp His Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr

1                    5                    10

<210> 163

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 163

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  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
                   35                    40                    45

Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly 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 Asp Ile Gln Trp His Gly Glu Ser Thr Leu Phe Asp Tyr Trp  
                   100                    105                    110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120

<210> 164

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 164

Asp Ile Gln Trp Phe Gly Arg Ser Thr Leu Phe Asp Tyr  
 1                    5                    10

<210> 165

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 165

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  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly 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 Asp Ile Gln Trp Phe Gly Arg Ser Thr Leu Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 166

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 166

Arg Ala Ser Gln Ser Thr Arg Ser His Leu Ala  
 1 5 10

<210> 167

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 167

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 Ser Thr Arg Ser His  
 20 25 30

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



<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 169

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 Ser Thr Arg Ser Trp

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60

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

65                    70                    75                    80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Tyr Ser Arg

                  85                    90                    95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

                  100                    105

<210> 170

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 170

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 Ser Thr Arg Ser Trp

                  20                    25                    30

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

                  35                    40                    45

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

                  50                    55                    60



<220><223> Synthetic Construct

<400> 172

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                    5                    10                    15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr  
                   20                    25                    30

Tyr Trp Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
                   50                    55                    60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu  
 65                    70                    75                    80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
                   85                    90                    95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
                   100                    105                    110

Val Thr Val Ser Ser  
                   115

<210> 173

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 173

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1                    5                    10                    15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr  
                   20                    25                    30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile  
                   35                    40                    45

Gly Glu Ile Asp His Gln Gly Ser Thr Lys Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
                   50                    55                    60



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 175

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Phe Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 176

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 176

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Trp Asn Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys  
 50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 85 90 95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 177

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 177

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 Glu Val Glu Cys Pro Glu 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 Ala  
 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

Ser Ser 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 Glu 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> 178

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 178

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 Arg Val Arg Cys Pro Arg 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 Ala  
                   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  
 Ser Ser 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



Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
 115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
 130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
 165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
 180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
 195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
 210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu  
 225 230 235 240

Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr  
 245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn  
 260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe  
 275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn  
 290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr  
 305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly  
 325

<210> 180

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 180

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
                          20                    25                    30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
                          35                    40                    45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
                          50                    55                    60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
 65                    70                    75                    80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
                          85                    90                    95  
 Thr Val Glu Arg Lys Cys Arg Val Arg Cys Pro Arg 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 Ala  
                          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  
 Ser Ser 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 Arg  
  
                           275                    280                    285  
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys  
                           290                    295                    300  
 Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu  
 305                    310                    315                    320  
 Ser Leu Ser Pro Gly  
                           325  
  
 <210> 181  
 <211> 325  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 181  
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg  
  
 1                    5                    10                    15  
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr  
                           20                    25                    30  
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser  
                           35                    40                    45  
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser  
                           50                    55                    60  
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr  
  
 65                    70                    75                    80  
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys  
                           85                    90                    95  
 Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys Pro Glu Cys Pro Ala Pro



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 182

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 Arg Lys Thr His Thr Cys Pro Arg Cys  
                   100                    105                    110  
 Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro  
                   115                    120                    125  
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys  
                   130                    135                    140  
 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp  
 145                    150                    155                    160  
 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu  
                   165                    170                    175  
 Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu  
                   180                    185                    190  
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn  
                   195                    200                    205  
 Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly  
                   210                    215                    220





<210> 184

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 184

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

1                    5                    10                    15  
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

                  20                    25                    30  
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

                  35                    40                    45  
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser

                  50                    55                    60  
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65                    70                    75                    80  
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

                  85                    90                    95  
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

                  100                    105                    110  
Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

                  115                    120                    125  
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys

                  130                    135                    140  
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145                    150                    155                    160  
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

                  165                    170                    175  
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu

                  180                    185                    190  
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn





Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 186

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 186

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Glu Ile Asn His Ser Gly Ser Ala Thr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys

50 55 60

Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Leu Tyr Asn Trp Asn Val Asp His Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

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

115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn

180 185 190

Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn  
 195 200 205  
 Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Glu Val Glu Cys Pro  
 210 215 220  
 Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 Ala Val Ser His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val  
 290 295 300  
 Val 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 Thr Lys  
 325 330 335  
 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu  
 340 345 350  
 Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Glu 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe  
 385 390 395 400  
 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys

435 440

<210> 187

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 187

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

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp  
 20 25 30

Leu Gly Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Ala Tyr Pro Arg  
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala  
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly  
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala  
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln  
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser  
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr  
 180 185 190

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



Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 180 185 190

Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His  
 195 200 205

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Arg  
 210 215 220

Val Arg Cys Pro Arg Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Ala Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser  
 290 295 300

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

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

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

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

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

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

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

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu



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  
 <210> 190  
 <211> 448  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
  
 <400> 190  
 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  
 Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val  
 35 40 45  
 Ser Ala Ile Ser Gly Gly Gly 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 Asp Ile Gln Trp Tyr Gly Glu Ser Thr Leu 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 Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser 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 Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp  
 195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys  
 210 215 220

Glu Val Glu Cys Pro Glu Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala 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 Ala Val Ser His Glu Asp Pro  
 260 265 270

Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala  
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val  
 290 295 300

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

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

Ile Ser Lys Thr 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

Glu 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 Met Leu Asp  
 385 390 395 400

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

405 410 415  
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430  
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 435 440 445

<210> 191

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 191

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 Ser Thr Arg Ser His  
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Tyr Ser Arg  
 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> 192

<211> 1329

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 192

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag tgictggagg gtcctttagt ggttattact ggaactgggt gcgccaggcc 120

ccaggaagg ggctggagtg gattggggaa ataaaccact ccggaagcgc cacctataac 180

ccgtctctca agagtcgagt gaccatctcc gtagacacgg ccaagaactc actgtatctg 240

caaatgaaca gcctgagagc cgaggacacg gctgtgtatt actgtgagag aggcctttac 300

aactggaacg tggaccactg gggccagggc accctggtea ccgtctctc agcgtcgacc 360

aagggcccat cggctctccc cctggcgccc tgetccagga gcacctccga gagcacagcg 420

gccctgggct gcctggtaaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 480

ggcgctctga ccagcggcgt gcacaccttc cggctgtcc tacagtctc aggactctac 540

tcctcagca gcgtagtgac cgtgcctcc agcaacttcg gcaccagac ctacacctgc 600

aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga cagttgagcg caaatgtgag 660

gtcgagtgcc cagagtgcc agcaccact gtggcaggac cgtcagtctt cctcttcccc 720

ccaaaacca aggacacct catgatctcc cggaccctg aggtcacgtg cgtggtggtg 780

gccgtgagcc acgaagacc cgaggtccag ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg 840

cataatgcca agacaaagcc acgggaggag cagttcaaca gcacgttccg tgtggtcagc 900

gtcctcaccg tcgtgcacca ggactggctg aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc 960

aacaaaggcc tccatctctc catcgagaaa accatctcca aaaccaaagg gcagccccga 1020

gaaccacagg tgiacacct gccccatcc cgggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc 1080

ctgacctgcg aggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat 1140  
 gggcagccgg agaacaacta caagaccaca cctcccatgc tggactccga cggctccttc 1200  
 ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca 1260  
 tgctccgtga tgcatgagge tctgcacaac cactacacac agaagagcct ctccctgtcc 1320  
 cccggaaaa 1329

<210> 193

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 193

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggtatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240  
 gaagattttg caacttacta ctgtctacag cataatgcct accctcgac tttcgcgga 300  
 gggaccaagg tggagatcaa acgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat ctcccgcca 360  
  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgcct gcgaagtac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 194

<211> 1341

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 194

gaagtgcagc ttgtggagtc cgggtggcggga ctctgtcagc cgggcggatc cctgagactg 60  
  
 tcgtgtgccg catcaggatt caccttttcc gactattaca tgacctgggt ccgccaagct 120  
 cccgggaagg gcctggaatg ggtggccttc atccgcaacc aggccccggg ctacacttcc 180  
 gatcacaacc cttagcgtgaa gggaaggttc accatttcgc gggacaacgc gaagaattcc 240

ctgtacctcc aaatgaacag cctgcgggcc gaggacactg ccgttacta ctgcgcccgc 300  
gatataccaa gctactactg gttggactac tggggacagg ggaccacggt caccgtctcc 360  
tcagcctcca ccaagggccc atcgggtctc cccttggcgc cctgctccag gagcacctcc 420  
gagagcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tcccgaacc ggtgacggtg 480

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtec 540  
tcaggactct actccctcag cagcgtagtg accgtgcctt ccagcaactt cggcaccag 600  
acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag 660  
cgcaaatgtc gtgtcagggtg cccaaggtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc 720  
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780  
tgcgtggtgg tggccgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac 840  
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc 900

cggtgtgtca gcgtcctcac cgtcgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 960  
tgcaaggctt ccaacaaagg cctcccatcc tccatcgaga aaaccatctc caaaacaaa 1020  
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag 1080  
aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cggcgtggag 1140  
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cacctccat gctggactcc 1200  
gacggtctct tcttctcta cagcaggtc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1260  
aacgtcttct catgctcctg gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 1320

ctctcctgt ctccgggtaa a 1341

<210> 195  
<211> 657  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Synthetic Construct  
<400> 195

gacatccaaa tgaccagtc accgtcatcg ctctcggctt ccgtgggcca tagagtgacc 60  
attacttga cgagctccca gtccctgttc aacgtgcga gccagaagaa ctacctgcc 120  
tggtaccagc agaagcctgg aaaagccccg aagcttctga tctactgggc ctgacccgg 180  
gagtctggtg tccatcccg gttctccgga tccggtccg ggaccgactt cactctgacc 240  
attagcagcc tgcagcccga agatttcgcg acctattact gcaagcaatc ctacgacttg 300

ttcacttttg gcgggggaac caaggtcgag atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 360

ttcatcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420  
 ctgaataact tctatcccag agagggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgcctccaa 480  
 tccggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540  
 agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600  
 gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 657

<210> 196

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 196

gaggtgcagc tgttggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120  
 ccagggaagg ggcctggaat ggtctcagct attagtgggt gtggtggtag cacatactac 180  
 gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240  
 ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gagggacata 300  
 cagtggtagc gggagtcaac cctctttgac tactggggcc agggaaacct ggtcacctgc 360  
 tcctcagcgt cgaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg cgcctgctc caggagcacc 420

tccgagagca cagcggccct gggctgctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480  
 gtgtcgtgga atcaggcgc tctgaccagc ggcgtgcaca cttccccgc tgcctacag 540  
 tcctcaggac tctactcct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcaa cttcggcacc 600  
 cagacctaca cctgcaactg agatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagacagtt 660  
 gagcgcaaat gtgaggtcga gtgccagag tgcccagcac cacctgtggc aggacctca 720  
 gtcttctct tcccccaaa acccaaggac acctcatga tctcccgac cctgaggtc 780  
 acgtgctggt tgggtggccgt gagccacgaa gaccccagg tccagttcaa ctggtacgtg 840

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccacggg aggagcagtt caacagcacg 900  
 ttccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcgtg caccaggact ggctgaacgg caaggagtac 960  
 aagtcaagg tctccaaca aggctccca tctccatcg agaaaacct ctccaaaacc 1020  
 aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac acctgcccc catcccggga ggagatgacc 1080  
 aagaaccagg tcagcctgac ctgacaggtc aaaggtctct accccagcga catcgcctg 1140  
 gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacacctcc catgctggac 1200

tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctccaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1260

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cacacagaag 1320  
 agcctctccc tgtcccccg aaaa 1344

<210> 197  
 <211> 642  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 197

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60  
 atcaacttgc gggcaagtca gagcacccgt agccacttag cctggatca gcagaaacca 120  
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataag gcatccagtt tggaaggtgg ggtcccatca 180  
 aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag tatggcagtt attctcggac gttcggccaa 300  
 gggaccaagg tggaaatcaa acgtacggtg gctgcacat ctgtcttcat cttcccgcca 360  
 tctgatgagc agttgaaatc tggaactgcc tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat 420  
 cccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg gataacgccc tccaatcggg taactcccag 480  
 gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac agcacctaca gcctcagcag caccctgacg 540  
 ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa gtctacgctt gcgaagtac ccatcagggc 600  
 ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac aggggagagt gt 642

<210> 198  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 198

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1                    5                    10                    15

<210> 199  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 199

Gly Tyr Tyr Trp Asn

1 5

<210> 200

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 200

Gly Gly Ser Phe Ser Gly Tyr

1 5

<210> 201

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 201

Asn His Ser Gly Ser

1 5

<210> 202

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 202

Asp Tyr Tyr Met Thr

1 5

<210> 203

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 203

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

1 5

<210> 204

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 204

Arg Asn Gln Ala Arg Gly Tyr Thr

1 5

<210> 205

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 205

Ser Tyr Ala Met Ser

1 5

<210> 206

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 206

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 207

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 207

Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1                    5  
 <210> 208  
 <211> 326  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Synthetic Construct  
 <400> 208  
 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





Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 210

<211> 326

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetic Construct

<400> 210

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

Ser Thr Ser 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 Ser Cys Pro Ala Pro Glu

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp

