



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0135877  
(43) 공개일자 2024년09월12일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
C07K 16/2887 (2013.01)  
A61P 35/00 (2018.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7029325(분할)
- (22) 출원일자(국제) 2016년03월04일  
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2023-7028892  
원출원일자(국제) 2016년03월04일  
심사청구일자 2023년08월24일
- (85) 번역문제출일자 2024년08월30일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2016/020920
- (87) 국제공개번호 WO 2016/141303  
국제공개일자 2016년09월09일
- (30) 우선권주장  
62/128,284 2015년03월04일 미국(US)

- (71) 출원인  
아이취엠 바이오사이언스 인코포레이티드  
미국 94043 캘리포니아주 마운틴뷰 이스트 미드필드 로드 325
- (72) 발명자  
케이트 브루스  
미국 94010 캘리포니아주 힐즈버러 레이크뷰 드라이브 1180  
두라마드 오마르  
미국 94710 캘리포니아주 버클리 채닝 웨이 914  
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인  
양영준, 김영

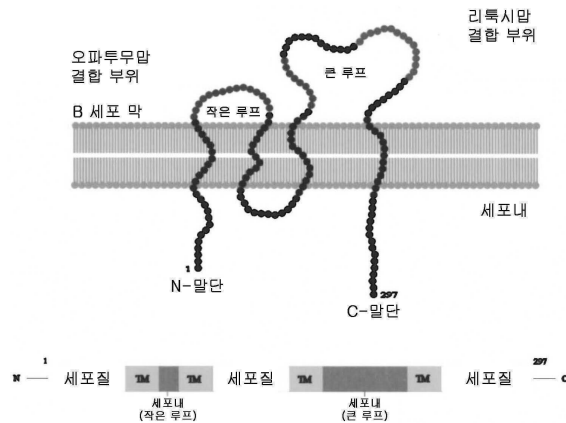
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 CD20 결합 분자 및 그의 용도

(57) 요약

본 개시내용은 오량체 및 육량체 CD20 결합 분자, 및 CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸 둘 모두를 유도하기 위해 상기 분자를 사용하는 방법을 제공한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

**C07K 16/2809** (2013.01)

**A61K 2039/505** (2013.01)

**C07K 2317/31** (2013.01)

**C07K 2317/622** (2013.01)

**C07K 2317/732** (2013.01)

**C07K 2317/734** (2013.01)

(72) 발명자

**왕 비어트리스 티엔-이**

미국 94158 캘리포니아주 샌 프란시스코 베리 스트리트 420 아파트먼트 402

**발리가 라메쉬**

미국 94404 캘리포니아주 포스터 시티 굴 에비뉴 1042

**장 펜**

미국 94127 캘리포니아주 샌 프란시스코 주아니타웨이 260



## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

결합 분자의 용도.

### 발명의 설명

#### 기술 분야

- [0001] 인간화 항체의 출현 이래로, 항체, 예컨대, 리툭산(RITUXAN)®(리툭시맵)의 치료학적 사용은 B 세포 악성 종양의 치료에 대혁신을 일으켰다. CD20 특이적 키메라 단일클론 항체인 리툭시맵은 재발성 또는 불응성 B 세포 비호지킨 림프종 치료용으로서 FDA의 승인을 받은 최초의 효과적인 표적화된 요법이다. 이러한 과학적 업적은 B 세포 림프종 치료를 위한 표준 관행에 변화를 가져왔을 뿐만 아니라, 차세대 CD20 mAb에 대한 중요한 관심을 자극하여 왔다. 각각의 것이 추가로 효능을 개선시키기 위해 구조적으로 변형이 된 것인 다수의 신규한 CD20 mAb가 진료소에 도입되었다. 이러한 적용에서, 이들 CD20 항체는 비IgG 포맷, 예컨대, IgA 및 IgM으로 발현되기 때문에, 본 발명자들은 추가의 작용 모드를 사용하는, 개선된 효능을 보일 수 있는 CD20 항체 시리즈를 기술한다.
- [0002] CD20은 오직B 림프구에서만 및 90% 초과인 B 림프구성 림프종에서만 배타적으로 발현이 되는 36 kDa의 비글리코실화된; 4중 막관통 단백질(MS4A1 유전자 생성물)이다(도 1 참조). CD20은 후기의 전B 세포 단계에서 발현되고, 최종적으로 분화된 형질 세포에서 하향조절되기 이전에, 대부분의 정상적인 및 악성 B 계통 세포 상에서 상향조절된다. B 림프구 표면 분자는 B 세포의 발생 및 형질 세포로의 분화와 연관이 있다.
- [0003] 비록 리툭시맵이 B 세포 비호지킨 림프종 환자에서의 유의적인 항종양 활성을 보이기는 하지만, B 세포 신생물 치료를 위한 항체 치료제의 효능 개선이 요구되고 있다. 단일 작용제 요법으로서의 리툭시맵을 통해서 50%의 임상 반응율을 얻게 되는데, 환자 중 나머지 50%가 왜 반응하지 않는지에 대한 이유는 불명확하다. 추가로, 반응하는 환자 중 대다수는 추가의 리툭시맵 요법에 대한 내성을 획득하게 된다. 초기의 또는 획득한 내성의 한 기전은 종양 세포 상에서의 CD20의 하향조절 또는 조절(또는 저 발현 종양 클론성 확장)이다. CD20 발현을 최소화시키는 불응성 종양을 앓는 이들 불응성 환자를 위한 개선된 치료에 대하여 충족되지 못한 뚜렷한 의학적 요구가 존재한다. IgA 또는 IgM의 다원자가에 따라 친화도 및 결합활성을 증가시킴으로써, 이러한 신규의 작용제는 리툭시맵과 비교하였을 때 개선된 반응율을 달성하는 것으로 목표로 한다. 추가로, 항체 이소타입에 변화를 주어 이펙터 기능을 변경시킴으로써 CD20 항체의 효력 및 효능을 개선시킬 수 있다.
- [0004] 리툭시맵의 도입 이래로, CD20 mAb의 치료학적 효능을 위한 잠재적 기전에 관한 많은 것들이 학습되어져 왔다. 리툭시맵은 주로 보체 의존성 용해(CDC: complement-dependent lysis) 및 항체 의존성 세포성 독성(ADCC: antibody dependent cellular toxicity) 이펙터 기전을 통해서, 및 더 적은 정도로는 세포성 아포토시스를 통해 B 세포 사멸을 유도(지시)한다. CD20 항체는, CD20을 계면활성제 내성 지질 뿔목으로서 재분포시키는 I형(예컨대, 리툭시맵/리툭산® 또는 오파투무맵/아르제라(Arzerra)®)으로서; 및 그와 같이 하지 않는 II형, 예컨대, 토시투모맵(B1) 및 오비누투주맵/가짜이바(Gazyva)®로서 기술된다. I형 항체에 의한 클러스터링은 다른 세포 표면 단백질, 예컨대, B 세포 수용체(BCR: B-cell receptor)와의 회합, 및 C1q에의 결합을 촉진시키고, 이로써, 강력한 보체 의존성 세포독성(CDC)을 일으킨다. IgM은 보체 의존성 세포독성을 유도하는 데 있어 고도로 강력하며, 따라서, 상기와 같은 IgM 형태의 CD20 항체는 유의적으로 더 큰 효능을 가져올 수 있다. 그에 반해, II형 항체, 예컨대, 토시투모맵(B1)은 보체 의존성 세포독성이 아닌, 항체 의존성 세포성 세포독성을 유도한다. II형 항체는 항체 유도성 동형 부착을 통한 세포 사멸 및 리소좀 세포 사멸을 직접 일으키는 데 있어 매우 강력하다. 올리고머 형태의 항체, 예컨대, IgA 및 IgM은 증가된 다원자가를 나타내며, 동형 부착 및 세포 사멸을 유도하는 데 있어 증진된 효능을 나타낼 수 있다. 중요하게는, I형 및 II형 항체, 둘 모두 세포성 이펙터 기능, 예컨대, 항체 의존성 세포성 세포독성 및 항체 의존성 세포성 식세포 작용을 매개하는 FcR 발현 세포를 동원한다.
- [0005] 제2세대 I형 CD20 mAb는 인간용으로 승인을 받았다. 오파투무맵은 항체 의존성 세포성 세포독성(ADCC: antibody dependent cellular cytotoxicity)을 보이지만, 리툭시맵과 비교하였을 때, 더욱 강력한 보체 의존성 세포독성(CDC)을 가지는 완전한 인간 IgG1, I형 CD20 mAb이다. I형 항체로서, 오파투무맵은 세포 사멸을 일으키는 데 있

어서는 상대적으로 효과가 없다. 오파투무맙은 만성 림프구성 백혈병(CLL: chronic lymphocytic leukemia) 치료 용으로 FDA 승인을 받은 것이다. 오비누투주맙/GA101은 개선된 아폽토시스 유발 활성, 증진된 ADCC는 보이지만, 보체 고정 활성은 보이지 않는, 인간화 IgG1 제2세대 II형 mAb이다. 오비누투주맙은 CLL치료용으로 FDA 승인을 받은 것이다. 또 다른 완전한 인간 IgG1κ CD20 항체 huMAb 1.5.3(미국 특허 공개 번호 2007-0014720 참조)은 효력을 증진시키기 위해 디자인되었다. 임상전 연구 결과, huMAb는 리톡시맙에 비해 더욱 큰 아폽토시스를 가지고, 강력한 CDC 활성 뿐만 아니라, ADCC 활성, 둘 모두를 보이는 것으로 밝혀졌다. HuMAb 1.5.3은 직접적인 아폽토시스 유도를 통한 효과적인 세포 사멸을 포함하는 I형 및 II형 활성, CDC 및 ADCC, 둘 모두를 조합하는 것으로 보인다. IgM 및 IgA는, 증가된 결합활성과 함께, 저 CD20 발현 종양 세포 상에서 증가된 감수성 및 세포독성을 매개할 수 있는 추가로 증진된 CD20 항체 효력에 기여할 수 있다. 추가로, I형 및 II형 CD20 활성의 효능은 IgA 또는 IgM 포맷에 따라 증가될 수 있고, 이로써, 직접적인 아폽토시스, 증진된 CDC 및 ADCC를 일으키는 것을 포함하는, 최적으로 조합된 작용 기전을 이용하는 가장 강력한 항종양 항체가 개발될 수 있다.

## 발명의 내용

[0006]

요약

[0007]

본 개시내용은 적어도 2개의 2가 결합 유닛, 또는 그의 변이체 또는 단편을 포함하는 다량체 결합 분자로서, 각 결합 유닛은, 각각이 항원 결합 도메인과 회합되어 있는 적어도 2개의 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함하는 것인 다량체 결합 분자를 제공한다. 제공되는 결합 분자의 적어도 하나의 항원 결합 도메인은 6개의 면역글로불린 상보성 결정 영역 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하는 CD20 항원 결합 도메인이고, HCDR1은 서열 번호: 39, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR2는 서열 번호: 40, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR3은 서열 번호: 41, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR1은 서열 번호: 43, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR2는 서열 번호: 44, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR3은 서열 번호: 45, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함한다.

[0008]

본 개시내용은 적어도 2개의 2가 결합 유닛, 또는 그의 변이체 또는 단편을 포함하는 다량체 결합 분자로서, 각 결합 유닛은, 각각이 항원 결합 도메인과 회합되어 있는 적어도 2개의 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함하는 것인 다량체 결합 분자를 추가로 제공한다. 제공되는 결합 분자의 적어도 하나의 항원 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 CD20 항원 결합 도메인이고, VH는 서열 번호: 38과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호: 42와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다.

[0009]

특정 측면에서, 본 개시내용에 의해 제공되는 결합 분자는 2개의 2가 IgA 결합 유닛 또는 그의 단편 및 J 쇄, 또는 그의 단편 또는 변이체를 포함하는 이량체 결합 분자로서, 각 결합 유닛은, 각각이 항원 결합 도메인과 회합되어 있는 2개의 IgA 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함하는 것인 이량체 결합 분자이다. 본원에서 제공하는 이량체 IgA 결합 분자는 분비 성분, 또는 그의 단편 또는 변이체를 추가로 포함할 수 있다. IgA 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 Ca2 도메인 또는 Ca3-tp 도메인을 포함할 수 있고, 특정 측면에서, Ca1 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, IgA 중쇄 불변 영역은 인간 IgA 불변 영역일 수 있다. 특정 측면에서, 각 결합 유닛은, 각각이 IgA 불변 영역 또는 그의 단편에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VH를 포함하는 2개의 IgA 중쇄, 및 각각이 면역글로불린 경쇄 불변 영역에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VL을 포함하는 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다.

[0010]

특정 측면에서, 본 개시내용에 의해 제공되는 결합 분자는 각각 5 또는 6개의 2가 IgM 결합 유닛을 포함하는 오량체 또는 육량체 결합 분자로서, 각 결합 유닛은, 각각이 항원 결합 도메인과 회합되어 있는 2개의 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함하는 것인 오량체 또는 육량체 결합 분자이다. IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 Cμ3 도메인 및 Cμ4-tp 도메인을 포함할 수 있고, 특정 측면에서, Cμ2 도메인, Cμ1 도메인, 또는 그의 임의의 조합을 추가로 포함할 수 있다.

[0011]

결합 분자가 오량체인 경우, 결합 분자는 J 쇄, 또는 그의 단편, 또는 그의 기능성 단편, 또는 그의 기능성 변이체를 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, J 쇄 또는 그의 단편은 서열 번호: 49의 아미노산 서열 또는 그의 기능성 단편을 포함한다. 특정 측면에서, J 쇄 또는 그의 단편은 이중(성) 폴리펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 이중 폴리펩티드는 J 쇄 또는 그의 단편에 직접 또는 간접적으로 융합될 수 있다. 특정 측면에서, 이중

폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 J 쇠 또는 그의 단편에 간접적으로 융합될 수 있다. 특정 측면에서, 펩티드 링커는 예컨대, 적어도 5개의 아미노산을 포함하지만, 25개 이하의 아미노산을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 펩티드 링커는 GGGGSGGGSGGGGS(서열 번호: 67)로 구성된다. 이중 폴리펩티드는 J 쇠 또는 그의 단편의 N 말단, 및 J 쇠 또는 그의 단편의 C 말단에 또는 그 근처에, 또는 J 쇠 또는 그의 단편의 N 말단 및 C 말단, 둘 모두에 또는 그 근처에 융합될 수 있다. 특정 측면에서, 이중 폴리펩티드는 결합 도메인, 예컨대, 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. 항원 결합 단편은 예를 들어, Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')<sub>2</sub> 단편, Fd 단편, Fv 단편, 단일 쇠 Fv(scFv: single-chain Fv) 단편, 디설피드 연결된 Fv(sdFv) 단편, 또는 그의 임의의 조합일 수 있다. 특정 측면에서, 이중 폴리펩티드는 CD3ε에 특이적으로 결합할 수 있다. 예를 들어, 특정 측면에서, 변형된 J 쇠는 서열 번호: 64(V15J) 또는 서열 번호: 66(J15V)의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 더욱이, 특정 측면에서, 상기 특징의 변형된 J 쇠는 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있고, 이어서, 변형된 J 쇠는 서열 번호: 63(V15J) 또는 서열 번호: 65(J15V)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0012] 특정 측면에서, IgM 중쇄 불변 영역은 인간 IgM 중쇄 불변 영역일 수 있다. 특정 측면에서, 각 결합 유닛은, 각각이 IgM 불변 영역 또는 그의 단편에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VH를 포함하는 2개의 IgA 중쇄, 및 각각이 면역글로불린 경쇄 불변 영역에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VL을 포함하는 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함한다.

[0013] 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 다량체 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛은 2개의 CD20 항원 결합 도메인을 포함하며, 이는 동일하거나, 상이할 수 있다. 특정 측면에서, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 또는 적어도 12개의, 동일한 CD20 항원 결합 도메인의 카피.

[0014] 특정 측면에서, 결합 분자가 IgM 결합 분자인 경우, 적어도 하나의 결합 유닛 내의 2개의 IgM 중쇄는 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함한다.

[0015] 특정 측면에서, 결합 분자가 면역글로불린 경쇄를 포함하는 경우, 주어진 결합 유닛의 2개의 경쇄 불변 영역은 인간 람다 불변 영역 또는 인간 카파 불변 영역일 수 있다. 특정 측면에서, 2개의 경쇄 불변 영역은 동일하고, 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함한다.

[0016] 특정 측면에서, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의, 본원에서 제공하는 다량체 결합 분자의 결합 유닛은 동일한 것이다.

[0017] 특정 측면에서, 상기 기술된 결합 분자는, 결합 분자의 하나 이상의 CD20 항원 결합 도메인과 동일한 CD20 에피토프에 특이적으로 결합하는 등가량의 단일특이적, 2가 IgG1 항체 또는 그의 단편보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있다. 특정 측면에서, 단일특이적, 2가 IgG1 항체는 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 가지는 VH 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 가지는 VL을 포함하는 1.5.3이다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 림프종 세포주, 예를 들어, 라모스(Ramos) 세포주, 라지(Raji) 세포주, 다우디(Daudi) 세포주, 나말와(Namalwa) 세포주, 그란타(Granta) 세포주, Z138 세포주, DoHH2 세포주, 또는 DB 세포주이다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포가 라지 세포주인 경우, 결합 분자는 예컨대, μg/ml로 측정된 바, 등가량의 단일특이적 2가 IgG1 항체의 IC<sub>50</sub>보다 적어도 4배, 적어도 10배, 적어도 50배, 또는 적어도 100배 더 낮은 IC<sub>50</sub>으로 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포가 라모스 세포주인 경우, 결합 분자는 예컨대, 몰 당량으로 측정된 바, 등가량의 단일특이적 2가 IgG1 항체의 IC<sub>50</sub>보다 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 60배, 적어도 70배, 적어도 80배, 적어도 90배, 또는 적어도 100배 더 낮은 IC<sub>50</sub>으로 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 암, 예컨대, CD20 양성 백혈병, 림프종, 또는 골수종을 앓는 피험체에서의 악성 B 세포이다. 특정 측면에서, 암은 리툽시맙 요법에 대하여 최소 반응성 또는 비반응성이다. 특정 측면에서, 피험체는 인간이다.

[0018] 본 개시내용은 상기 기술된 결합 분자를 포함하는 조성물을 추가로 제공한다.

[0019] 본 개시내용은 본원에서 제공되는 다량체 결합 분자의 폴리펩티드 서브유닛을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 추가로 제공한다. 특정 측면에서, 본 개시내용은 본원에서 제공되는 다량체 결합 분자의 중쇄 폴리펩티드 서브유닛을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드로서, 중쇄 폴리펩티드 서브유닛은 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편, 또는 IgA 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편, 및 적어도 CD20 항원 결합

도메인의 항체 VH 부분을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 특정 측면에서, 중쇄 폴리펩티드 서브유니트는, (a) HCDR1은 서열 번호: 39, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR2는 서열 번호: 40, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR3은 서열 번호: 41, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 것인 HCDR1, HCDR2, HCDR3; 또는 (b) 서열 번호: 38과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH의 C 말단 단부에 융합된 인간 IgM 불변 영역 또는 그의 단편을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 제공되는 폴리뉴클레오타이드는 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 코딩할 수 있다. 본 개시내용은 상기 기술된 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드 조성물을 추가로 제공한다.

[0020] 제공되는 폴리뉴클레오타이드 조성물은 예컨대, 경쇄 폴리펩티드 서브유니트를 코딩하는 핵산 서열로서, 경쇄 폴리펩티드 서브유니트는 CD20 항원 결합 도메인의 항체 VL 부분을 포함하는 것인 핵산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 경쇄 폴리펩티드 서브유니트는, (a) LCDR1은 서열 번호: 43, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR2는 서열 번호: 44, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR3은 서열 번호: 45, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 것인 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3; 또는 (b) 서열 번호: 42와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL의 C 말단 단부에 융합된 인간 항체 경쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 경쇄 폴리펩티드 서브유니트를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 코딩할 수 있다.

[0021] 제공되는 폴리뉴클레오타이드 조성물의 특정 측면에서, 중쇄 폴리펩티드 서브유니트를 코딩하는 핵산 서열 및 경쇄 폴리펩티드 서브유니트를 코딩하는 핵산 서열은 별개의 벡터 상에 존재할 수 있거나, 또는 이는 단일 벡터 상에 위치해 있을 수 있다.

[0022] 제공되는 폴리뉴클레오타이드 조성물은 예컨대, J 쇄, 또는 그의 기능성 단편, 또는 그의 기능성 변이체를 코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, J 쇄 또는 그의 단편은 서열 번호: 49의 아미노산 서열 또는 그의 기능성 단편을 포함할 수 있다. 더욱이, J 쇄 또는 그의 단편은 이중 폴리펩티드를 추가로 포함하는 변형된 J 쇄일 수 있다. 특정 측면에서, 이중 폴리펩티드는 J 쇄 또는 그의 단편에 직접 또는 간접적으로 융합될 수 있다. 특정 측면에서, 이중 폴리펩티드는 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 이중 폴리펩티드는 예컨대, CD3 $\epsilon$ 에 특이적으로 결합할 수 있는 scFv일 수 있다. 특정 측면에서, 변형된 J 쇄는 서열 번호: 64(V15J) 또는 서열 번호: 66(J15V)의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 변형된 J 쇄가 신호 펩티드를 추가로 포함하는 측면에서, 변형된 J 쇄는 서열 번호: 63(V15J) 또는 서열 번호: 65(J15V)의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 제공되는 폴리뉴클레오타이드 조성물의 특정 측면에서, J 쇄, 또는 그의 기능성 단편, 또는 그의 기능성 변이체를 코딩하는 핵산 서열은 서열 번호: 68 또는 서열 번호: 69를 포함할 수 있다.

[0023] 제공되는 폴리뉴클레오타이드 조성물의 특정 측면에서, 중쇄 폴리펩티드 서브유니트를 코딩하는 핵산 서열, 경쇄 폴리펩티드 서브유니트를 코딩하는 핵산 서열, 및 J 쇄를 코딩하는 핵산 서열은 단일 벡터 상에 위치해 있을 수 있거나, 또는 이는 2 또는 3개의 별개의 벡터 상에 위치해 있을 수 있다. 본 개시내용은 단일로 또는 집합적으로 제공되는 폴리뉴클레오타이드 조성물을 함유하는 벡터 또는 벡터들을 추가로 제공한다. 본 개시내용은 숙주 세포가 본원에서 제공하는 다가 항CD20 결합 분자를 발현할 수 있는 것인, 제공되는 폴리뉴클레오타이드, 제공되는 폴리뉴클레오타이드 조성물, 또는 제공되는 벡터 또는 벡터들을 포함하는 숙주 세포를 추가로 제공한다. 본 개시내용은 제공되는 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 본원에서 제공하는 다가 항CD20 결합 분자를 회수하는 단계를 포함하는, 본원에서 제공하는 다가 항CD20 결합 분자를 제조하는 방법을 추가로 제공한다.

[0024] 특정 측면에서, 본 개시내용은 CD20 발현 세포를, 본원에서 제공하는 다량체 결합 분자, 또는 제공되는 결합 분자를 포함하는 조성물과 접촉시키는 단계를 포함하는, CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도하는 방법을 제공한다. 본 측면에 따라, 결합 분자는, CD20 항원 결합 도메인과 동일한 CD20 에피토프에 특이적으로 결합하는 등가량의 단일특이적, 2가 IgG1 항체 또는 그의 단편보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있다. 특정 측면에서, 단일특이적, 2가 IgG1 항체는 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 가지는 VH 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 가지는 VL을 포함하는 1.5.3이다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 림프종 세포주, 예컨대, 라모스 세포주, 라지 세포주, 다우디 세포주, 나말와 세포주, 그란타 세포주, Z138 세포주, DoHH2 세포주, 또는 DB 세포주이다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 라



지 세포주이고, 결합 분자는 예컨대,  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 측정된 바, 등가량의 단일특이적 2가 IgG1 항체의  $\text{IC}_{50}$ 보다 적어도 4배, 적어도 10배, 적어도 50배, 또는 적어도 100배배 더 낮은  $\text{IC}_{50}$ 으로 보체 매개 사멸을 유도한다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포가 라모스 세포주인 경우, 결합 분자는 예컨대, 몰 당량으로 측정된 바, 등가량의 단일특이적 2가 IgG1 항체의  $\text{IC}_{50}$ 보다 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 60배, 적어도 70배, 적어도 80배, 적어도 90배, 또는 적어도 100배 더 낮은  $\text{IC}_{50}$ 으로 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 암, 예컨대, CD20 양성 백혈병, 림프종, 또는 골수종을 앓는 피험체에 서의 악성 B 세포이다. 특정 측면에서, 암은 리툽시맙 요법에 대하여 최소 반응성 또는 비반응성이다. 특정 측면에서, 피험체는 인간이다.

[0025] 다른 측면에서, 본 개시내용은 CD20 발현 세포를, 각각 2, 5 또는 6개의 2가 결합 유니트를 포함하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자와 접촉시키는 단계를 포함하고, 각 결합 유니트는 2개의 IgA 또는 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편 및 2개의 항원 결합 도메인을 포함하고, 결합 분자의 적어도 하나의 항원 결합 도메인은 CD20 항원 결합 도메인이고, 결합 분자는, CD20 항원 결합 도메인과 동일한 CD20 에피토프에 특이적으로 결합하는 등가량의 단일특이적, 2가 IgG1 항체 또는 그의 단편보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있는 것인, CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도하는 방법을 제공한다.

[0026] 본 제공된 방법에 따라, CD20 항원 결합 도메인은 6개의 면역글로불린 상보성 결정 영역 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함할 수 있고, HCDR1은 서열 번호: 2, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR2는 서열 번호: 3, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR3은 서열 번호: 4, 1, 2, 또는 3개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 4, 서열 번호: 10, 또는 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하고, LCDR1은 서열 번호: 6, 또는 1, 2, 또는 3개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR2는 서열 번호: 7, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR3은 서열 번호: 8, 또는 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 본 제공된 방법에 따라, CD20 항원 결합 도메인은 각각 (a) 서열 번호: 1과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호: 5와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열; (b) 서열 번호: 9와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호: 11과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열; (c) 서열 번호: 15와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호: 18과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열; (d) 서열 번호: 22 또는 서열 번호: 23과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호: 24, 서열 번호: 26, 서열 번호: 28, 또는 서열 번호: 29와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열; (e) 서열 번호: 30과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호: 32와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열; 또는 (f) 서열 번호: 35와 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열 및 서열 번호: 37과 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 VL을 포함할 수 있다.

[0028] 본 제공된 방법에 따라, 결합 분자의 IgA 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 Ca2 도메인 또는 Ca3-tp 도메인을 포함할 수 있고, 하나 이상의 IgA 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 Ca1 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, IgA 중쇄 불변 영역은 인간 IgA 불변 영역이다. 특정 측면에서, 본 제공된 방법에 따른 이량체 결합 분자는 분비 성분을 추가로 포함할 수 있다.

[0029] 본 제공된 방법에 따라, 결합 분자의 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 C $\mu$ 3 도메인 및 C $\mu$ 4-tp 도메인을 포함할 수 있고, 특정 측면에서, C $\mu$ 2 도메인, C $\mu$ 1 도메인, 또는 그의 임의의 조합을 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, IgM 중쇄 불변 영역은 인간 IgM 불변 영역이다.

[0030] 본 제공된 방법에 따라, 결합 분자가 이량체 또는 오량체인 경우, 결합 분자는 J 쇄, 또는 그의 기능성 단편, 또는 그의 기능성 변이체를 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, J 쇄 또는 그의 단편은 서열 번호: 49의 아

미노산 서열 또는 그의 기능성 단편을 포함한다. 특정 측면에서, J 쇠 또는 그의 단편은 이중 폴리펩티드를 포함할 수 있다. 이중 폴리펩티드는 J 쇠 또는 그의 단편에 직접 또는 간접적으로 융합될 수 있다. 특정 측면에서, 이중 폴리펩티드는 펩티드 링커를 통해 J 쇠 또는 그의 단편에 간접적으로 융합될 수 있다. 특정 측면에서, 펩티드 링커는 예컨대, 적어도 5개의 아미노산을 포함하지만, 25개 이하의 아미노산을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 펩티드 링커는 GGGSGGGSGGGGS(서열 번호: 67)로 구성된다. 이중 폴리펩티드는 J 쇠 또는 그의 단편의 N 말단, 및 J 쇠 또는 그의 단편의 C 말단에 또는 그 근처에, 또는 J 쇠 또는 그의 단편의 N 말단 및 C 말단, 둘 모두에 또는 그 근처에 융합될 수 있다. 특정 측면에서, 이중 폴리펩티드는 결합 도메인, 예컨대, 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 포함할 수 있다. 항원 결합 단편은 예를 들어, Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')<sub>2</sub> 단편, Fd 단편, Fv 단편, 단일 쇠 Fv(scFv) 단편, 디섀피드 연결된 Fv(sdFv) 단편, 또는 그의 임의의 조합일 수 있다. 특정 측면에서, 이중 폴리펩티드는 CD3ε에 특이적으로 결합할 수 있다. 예를 들어, 특정 측면에서, 변형된 J 쇠는 서열 번호: 64(V15J) 또는 서열 번호: 66(J15V)의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 더욱이, 특정 측면에서, 상기 특성의 변형된 J 쇠는 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있고, 이어서, 변형된 J 쇠는 서열 번호: 63(V15J) 또는 서열 번호: 65(J15V)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0031] 본 제공된 방법에 따라, 결합 분자의 각 결합 유닛은, 각각이 IgA 또는 IgM 불변 영역 또는 그의 단편에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VH를 포함하는 2개의 IgA 또는 IgM 중쇄, 및 각각이 면역글로불린 경쇄 불변 영역에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VL을 포함하는 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛은 2개의 동일한 CD20 항원 결합 도메인을 포함하고, 적어도 하나의 결합 유닛 내의 2개의 IgA 또는 IgM 중쇄는 동일한 것이다. 일부 측면에서, 적어도 하나의 결합 유닛 내의 2개의 IgM 중쇄는 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 측면에서, 2개의 경쇄 불변 영역은 동일할 수 있고, 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 인간 람다 불변영역 또는 인간 카파 불변 영역이다.

[0032] 본 제공된 방법에 따라, 결합 분자는 특정 측면에서, 동일할 수 있는 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 또는 적어도 12개의 CD20 항원 결합 도메인을 포함할 수 있다. 본 제공된 방법에 따라, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의, 결합 분자 내의 결합 유닛은 동일한 것일 수 있다.

[0033] 본 제공된 방법에 따라, 참조 단일특이적, 2가 IgG1 항체는 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 가지는 VH 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 가지는 VL을 포함하는 리톡시맵일 수 있다.

[0034] 본 제공된 방법에 따라, CD20 발현 세포는 림프종 세포주, 예컨대, 라모스 세포주, 라지 세포주, 다우디 세포주, 나말와 세포주, 그란타 세포주, Z138 세포주, DoHH2 세포주, 또는 DB 세포주일 수 있다. 특정 측면에서, 세포주가 그란타 세포주인 경우, 결합 분자는 리톡시맵의 효력의 약 6배로 세포주의 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다. 특정 측면에서, 세포주가 라지 세포주 또는 라모스 세포주인 경우, 결합 분자는 리톡시맵의 효력의 약 3배로 세포주의 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다.

[0035] 본 제공된 방법에 따라, CD20 발현 세포는 암, 예컨대, CD20 양성 백혈병, 림프종, 또는 골수종을 앓는 피험체에서의 악성 B 세포일 수 있다. 특정 측면에서, 암은 리톡시맵 요법에 대하여 최소 반응성 또는 비반응성이다. 특정 측면에서, 피험체는 인간이다.

## 도면의 간단한 설명

[0036] **도 1:** CD20 분자의 분자적 다이어그램. CD20은 항체 결합시 내재화되지 않고 주로 B 세포의 막 상에 그대로 남아있는 4중 관통 막횡단 단백질이다. CD20 단일클론 항체인 리톡시맵 및 오파투무맵의 결합 부위가 제시되어 있다. CD20의 선형 다이어그램은 막횡단(TM: transmembrane), 세포외 도메인(ECD: extracellular domain) 및 세포질 영역의 방향을 제시하는 것으로 포함되어 있다.

**도 2:** IgG, IgM 육량체 및 IgM 오량체의 개략적 다이어그램. IgG는 표시되어 있는 중쇄 및 경쇄를 가지는 150 kD 단백질로서 제시되어 있다. J 쇠를 포함하는 IgM은 대략 915 kDa의 오량체로서 제시되어 있다. J 쇠가 없는 IgM은 분자량이 대략 1,080 kDa인 육량체로서 제시되어 있다.

**도 3: IgG 및 IgM의 비환원적 SDS-PAGE.** 비환원적, SDS 변성된 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 상에서 전개된 리톡시맵 기반의 IgG 및 IgM CD20 항체. 첫 번째 및 마지막 레인은 분자량 표준이다. 무린 및 인간 IgG1 항체(각각 두 번째 및 세 번째 레인)의 분자량은 대략 150 kDa인 것으로 보인다. IgM + J 쇠 버전(Invivogen으로부터 이용가능한 상업적으로 이용가능한 CD20 IgM 항체)의 분자량은 대략 1,050 kDa인 것으로 보인다(네 번째 레인).

항CDIM 항체 IGM-55.5(PCT 공개 번호 WO 2013/120012 참조)(다섯 번째 레인)는 비교를 위한 또 다른 IgM으로서 포함되어 있다.

**도 4:** 항CD20 IgM 올리고머의 어셈블리. 비환원적 SDS-PAGE는 리투시맵 및 1.5.3의 가변 도메인을 포함하는 항CD20 항체가 IgM으로서 어셈블리될 수 있다는 것을 나타낸다. 제1 패널에는 J 쇠가 없는 것(레인 2), 및 J 쇠가 있는 것(레인 3)인 리투시맵 IgM이 제시되어 있다. 제2 패널에는 J 쇠가 없는 것(레인 2), 및 J 쇠가 있는 것(레인 3)인 1.5.3 IgM이 제시되어 있다.

**도 5A:** 높은 항원 밀도(10  $\mu\text{g/ml}$ )의 CD20에의 1.5.3 IgM 및 1.5.3 IgG의 결합을 보여주는 ELISA 결과.

**도 5B:** 낮은 항원 밀도(0.3  $\mu\text{g/ml}$ )의 CD20에의 1.5.3 IgM 및 1.5.3 IgG의 결합을 보여주는 ELISA 결과.

**도 6A-E** 항CD20 IgM은 보체 의존성 세포독성에 있어서 항CD20 IgG보다 더욱 강력하다. 인간 배양된 백혈병 또는 림프종 세포를 상업적으로 이용가능한 항CD20 IgM 또는 IgG + 10% 인간 보체와 함께 인큐베이션시켰다. 4시간 경과 후, 대사 지시 염료(CCK8)를 사용하여 세포 생존도를 측정하였다. 림프종 세포주(그란타(**도 6A**), 라지(**도 6B**), 및 라모스(**도 6C**)) 대부분에서, 보체 존재하에서 항CD20의 IgM 이소타입이 상응하는 IgG 이소타입보다 더욱 강력하였다. 비교를 위해, 상기 검정법을 또한 최소의 CD20 발현을 보이는 나말와 세포(**도 6E**), 및 CD20이 발현되지 않는 Nalm-6 세포(**도 6D**)에서도 수행하였다.

**도 7:**  $\mu\text{g/ml}$  기준으로 측정된 바, 항CD20 IgM이 라지 세포주에서는 보체 의존성 세포독성에 있어 리투시맵보다 더욱 강력하다.

**도 8a-b:** 항CD20 IgM이 보체 의존성 세포독성에 있어서 리투시맵 및 1.5.3 IgG보다 더욱 효과적이다. 항CD20 IgM 또는 IgG 및 10% 인간 보체의 농도를 증가시켜 가면서 라모스 세포를 인큐베이션시켰다. 4시간 경과 후 세포 생존도를 측정하였다. **도 8a**는 리투시맵(IgG)과 리투시맵 유사 IgM+J 쇠를 비교하는 것이다. **도 8b**는 1.5.3(IgG), 1.5.3 IgM, 및 1.5.3 IgM+J 쇠를 비교하는 것이다. 각 패널에 있는 표는 몰 농도로 나타낸 EC50 결과를 보여주는 것이다.

**도 9:** DOHH2 및 Z138 세포 상에서의 리투시맵 IgG1(개방형 동그라미), 리투시맵 유래 항인간 CD20 IgM+J(폐쇄형 동그라미), 1.5.3 IgG1(개방형 사각형), 및 1.5.3 항CD20 IgM+J(폐쇄형 사각형)의 보체 의존성 세포독성(CDC) 활성.

**도 10:** 겔 전기영동 및 웨스턴 블롯팅에 의한 1.5.3 IgM 항체의 특징화. 레인 기호 설명: 1: 마커; 2: 1.5.3 IgM+V15J; 3: 1.5.3 IgM+wtJ; 4: 1.5.3 IgM(육량체); 5: 마커. **도 10A**는 하이브리드 겔 상에서의 육량체 및 오량체의 형태를 보여주는 것이다. **도 10B**는 비환원적 SDS-PAGE에 의해 분석된 항체를 보여주는 것이다. **도 10C**는 환원적 SDS-PAGE에 의해 분석된 항체를 보여주는 것이다. **도 10C**의 겔을 막으로 옮겨 놓았고, **도 10D**에 제시된 바와 같이, J 쇠는 웨스턴 블롯에 의해 검출되었다.

**도 11:** CD20+ RPMI8226 세포 및 조작된 주르카트(Jurkat) T 세포의 공동 배양물 중에서 1.5.3 IgM + V15J(폐쇄형 사각형)가 블리나투모맵(폐쇄형 동그라미) 또는 1.5.3 IgM + wt J(개방형 사각형)보다 더 큰 정도로 T 세포 활성화를 유도한다.

**도 12:** 각각이 상이한 수준의 CD20 항원을 발현하는(평균 형광 강도 또는 MFI(mean fluorescence intensity)로 표시) 종양 세포주 시리즈를 사용한, CD20 발현 함수에 따른 1.5.3 IgM V15J에 의한 T 세포 활성화.

**도 13:** KIILR™ 검출 검정법을 이용한 인간 혈액에서의 종양 세포 사멸. 기호 설명: 다이아몬드형: 1.5.3 IgM + V15J; 사각형: 1.5.3 IgM + 야생형 J; 폐쇄형 동그라미: 1.5.3 IgG; 개방형 동그라미 리투산 IgG; 삼각형: 블리나투모맵.

**도 14A-B:** 인간 조혈계를 생성하는 CD34+ 세포를 이식받은 NSG 마우스 생체내에서의 T 세포 유도성 B 세포 사멸. 마우스에 단일특이적 및 이중특이적 1.5.3 IgM을 투약하고, 투약 이전 및 투약 후 6시간째에 인간 B 세포의 개수를 측정하였다. **도 14A**는 야생형 J 쇠를 포함하는 단일특이적 항체에 대한 결과를 보여주는 것이고, **도 14B**는 V15J 항CD3 J 쇠를 포함하는 이중특이적에 대한 결과를 보여주는 것이다.

**도 15:** 1.5.3+V15J(상단 행) 및 리투시맵(하단 행) 사이의 B 세포 사멸 및 회수(투약 후 10일째) 비교.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

[0037]

- [0038] 정의
- [0039] "한"("a" 또는 "an") 엔티티라는 용어는 하나 이상의 상기 엔티티를 지칭하며; 예를 들어, "한 결합 분자"는 하나 이상의 결합 분자들을 나타내는 것으로 이해된다. 따라서, "한"("a" 또는 "an"), "하나 이상의," 및 "적어도 하나의"라는 용어는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다.
- [0040] 추가로, 본원에서 사용될 때, "및/또는"은 2개의 명시된 특징 또는 성분을 각각 그 나머지 하나와 함께 또는 그를 포함하지 않고 구체적으로 개시하는 것으로 간주되어야 한다. 따라서, 본원에서 예컨대, "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용되는 "및/또는"이라는 용어는 "A 및 B," "A 또는 B," "A"(단독), 및 "B"(단독)를 포함하는 것으로 의도된다. 유사하게, 예컨대, "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용되는 "및/또는"이라는 용어는 하기 실시양태: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A(단독); B(단독); 및 C(단독) 각각을 포함하는 것으로 의도된다.
- [0041] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 기술 용어 및 과학 용어는 본 개시내용과 관련된 분야의 숙련자가 일반적으로 이해하는 것과 동일한 의미를 가진다. 예를 들어, 문헌 [the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press]; 및 [the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press]가 당업자에게 본 개시내용에서 사용되는 다수 용어에 관한 일반 사전을 제공한다.
- [0042] 단위, 접두사, 및 기호는 그의 국제 단위계(SI: Systeme International de Unites) 허용 형태로 표시된다. 수치 범위는 범위를 한정하는 수치를 포함한다. 달리 명시되지 않는 한, 아미노산 서열은 아미노에서 카복시 방향으로 좌측에서 우측으로 작성된다. 본원에서 제공되는 표제는 다양한 측면 또는 본 개시내용의 측면을 제한하지 않으며, 이는 전체적으로 명세서에 대한 참조로서 주어질 수 있다. 따라서, 바로 아래에 정의되는 용어들은 명세서 전문을 참조함으로써 더욱 완전하게 정의된다.
- [0043] 본원에서 사용되는 바, "폴리펩티드"라는 용어는 단수의 "폴리펩티드" 뿐만 아니라, 복수의 "폴리펩티드들"을 포함하는 것으로 의도되고; 이는 (펩티드 결합으로도 알려져 있는) 아미드 결합에 의해 선형으로 연결된 단량체(아미노산)로 이루어진 분자를 지칭한다. "폴리펩티드"라는 용어는 2개 이상의 아미노산의 임의의 쇠 또는 쇠들을 지칭하며, 특정 길이의 생성물을 지칭하는 것은 아니다. 따라서, 펩티드, 디펩티드, 트리펩티드, 올리고펩티드, "단백질," "아미노산 쇠," 또는 2개 이상의 아미노산의 쇠 또는 쇠들을 지칭하는 데 사용되는 임의의 다른 용어가 "폴리펩티드"의 정의 내에 포함되고, "폴리펩티드"라는 용어는 상기 용어 중 임의의 것 대신으로, 또는 그와 상호교환적으로 사용될 수 있다. "폴리펩티드"라는 용어는 또한 제한 없이, 글리코실화, 아세틸화, 인산화, 아미드화, 및 공지된 보호기/차단기에 의한 유도체화, 단백질분해 절단, 또는 비자연적으로 발생된 아미노산에 의한 변형을 비롯한, 폴리펩티드의 발현 후 변형 생성물을 지칭하는 것으로 의도된다. 폴리펩티드는 생물학적 공급원으로부터 유래되거나, 또는 재조합 기술에 의해 제조될 수 있지만, 반드시 지정된 핵산 서열로부터 번역되어야 하는 것은 아니다. 이는 화학적 합성을 비롯한, 임의의 방식으로 생성될 수 있다.
- [0044] 본원에 개시된 폴리펩티드의 크기는 약 3개 이상, 5개 이상, 10개 이상, 20개 이상, 25개 이상, 50개 이상, 75개 이상, 100개 이상, 200개 이상, 500개 이상, 1,000개 이상, 또는 2,000개 이상의 아미노산인 크기일 수 있다. 폴리펩티드는 정의된 3차원 구조를 가질 수 있지만, 이들이 반드시 그러한 구조를 가지는 것은 아니다. 정의된 3차원 구조를 가지는 폴리펩티드는 폴딩된 것으로 지칭되며, 정의된 3차원 구조를 가지지 않는 폴리펩티드는 오히려 다수의 상이한 입체형태를 취할 수 있고, 폴딩되지 않은 것으로 지칭된다. 본원에서 사용되는 바, 당단백질이라는 용어는 아미노산, 예컨대, 세린 또는 아스파라긴의 산 함유 또는 질소 함유 측쇄를 통해 단백질에 부착된 적어도 하나의 탄수화물 모이어티에 커플링된 단백질을 지칭한다.
- [0045] "단리된" 폴리펩티드 또는 그의 단편, 변이체, 또는 유도체는 그의 천연 환경에는 존재하지 않는 폴리펩티드인 것으로 의도된다. 특정 수준의 정제가 요구되는 것은 아니다. 예를 들어, 단리된 폴리펩티드는 그의 천연 또는 자연 환경으로부터 제거될 수 있다. 임의의 적합한 기법에 의해 분리되거나, 분별되거나, 부분적으로 또는 실질적으로 정제된 천연 또는 재조합 폴리펩티드인 바, 본원에 개시된 바와 같이, 숙주 세포에서 발현된 재조합적으로 제조된 폴리펩티드 및 단백질은 단리된 것으로 간주된다.
- [0046] 본원에서 사용되는 바, "비자연적으로 발생된 폴리펩티드"라는 용어 또는 그의 임의의 문법상의 변이형은 "자연적으로 발생된" 것이거나, 또는 심사원 또는 행정부 또는 사법 기관에 의해 "자연적으로 발생된" 것으로 결정되거나, 해석될 수 있는 폴리펩티드의 형태를 명백하게 배제하지만, 오직 그들을 배제만하는 것인 조건부 정의이



다.

[0047] 본원에 개시된 다른 폴리펩티드는 상기 폴리펩티드의 단편, 유도체, 유사체, 또는 변이체, 및 그의 임의의 조합이다. 본원에 개시된 "단편," "변이체," "유도체" 및 "유사체"라는 용어는 예를 들어, 항원에 특이적인 결합과 같은, 상응하는 천연 항체 또는 폴리펩티드의 특성 중 적어도 일부를 보유하는 임의의 폴리펩티드를 포함한다. 폴리펩티드의 단편으로는 본원 다른 곳에서 논의된 특이적 항체 단편 이외에도, 예를 들어, 단백질분해 단편 뿐만 아니라, 결실 단편을 포함한다. 예컨대, 폴리펩티드의 변이체로는 상기 기술된 바와 같은 단편, 및 또한 아미노산 치환, 결실, 또는 삽입에 기인하여 아미노산 서열이 변경된 폴리펩티드를 포함한다. 특정 측면에서, 변이체는 비자연적으로 발생된 것일 수 있다. 비자연적으로 발생된 변이체는 당업계에서 공지된 돌연변이 유발 기법을 사용하여 제조될 수 있다. 변이체 폴리펩티드는 보존적 또는 비보존적 아미노산 치환, 결실 또는 부가를 포함할 수 있다. 유도체는 원래의 폴리펩티드 상에서는 발견되지 않는 추가의 특징을 나타내도록 하기 위해 변경된 폴리펩티드이다. 예로는 융합 단백질을 포함한다. 변이체 폴리펩티드는 또한 본원에서 "폴리펩티드 유사체"로서 지칭될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 폴리펩티드의 "유도체"는 또한 하나 이상의 아미노산이 작용성 측쇄 기의 반응에 의해 화학적으로 유도체화된 것인 대상 폴리펩티드를 지칭할 수 있다. 또한 20종의 표준 아미노산의 하나 이상의 유도체를 함유하는 펩티드가 "유도체"로서 포함된다. 예를 들어, 4-하이드록시프롤린은 프롤린 대신으로 치환될 수 있고; 5-하이드록시리신은 리신 대신으로 치환될 수 있고; 3-메틸히스티딘은 히스티딘 대신으로 치환될 수 있고; 호모세린은 세린 대신으로 치환될 수 있고; 오르니틴은 리신 대신으로 치환될 수 있다.

[0048] "보존적 아미노산 치환"은 하나의 아미노산이 유사한 측쇄를 가지는 또 다른 아미노산으로 대체되는 것이다. 염기성 측쇄(예컨대, 리신, 아르기닌, 히스티딘), 산성 측쇄(예컨대, 아스파르트산, 글루탐산), 비하전된 극성 측쇄(예컨대, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인), 비극성 측쇄(예컨대, 글리신, 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판), 베타 분지형 측쇄(예컨대, 트레오닌, 발린, 이소류신) 및 방향족 측쇄(예컨대, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘)를 비롯한, 유사한 측쇄를 가지는 아미노산 패밀리가 당업계에서 정의되었다. 예를 들어, 티로신 대신으로 페닐알라닌으로의 치환은 보존적 치환이다. 특정 실시양태에서, 본 개시내용의 폴리펩티드 및 항체 서열에서의 보존적 치환은 결합 분자가 결합하는 항원에의, 아미노산 서열을 함유하는 폴리펩티드 또는 항체의 결합을 폐기하지 않는다. 항원 결합을 제거하지 않는 뉴클레오타이드 및 아미노산의 보존적 치환을 확인하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있다(예컨대, 문헌 [Brummell *et al.*, *Biochem.* 32: 1180-1187 (1993)]; [Kobayashi *et al.*, *Protein Eng.* 12(10):879-884 (1999)]; 및 [Burks *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:412-417 (1997)] 참조).

[0049] "폴리뉴클레오타이드"라는 용어는 단수의 핵산 뿐만 아니라, 복수의 핵산을 포함하는 것으로 의도되고, 단리된 핵산 분자 또는 구성물, 예컨대, 메신저 RNA(mRNA: messenger RNA), cDNA, 또는 플라스미드 DNA(pDNA: plasmid DNA)를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드는 통상의 포스포디에스테르 결합 또는 비통상적 결합(예컨대, 펩티드 핵산(PNA: peptide nucleic acid)에서 발견되는 바와 같은 아미드 결합)을 포함할 수 있다. "핵산" 또는 "핵산 서열"이라는 용어는 폴리뉴클레오타이드에 존재하는 임의의 하나 이상의 핵산 세그먼트, 예컨대, DNA 또는 RNA 단편을 지칭한다.

[0050] "단리된" 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드는 그의 천연 환경으로부터 분리된 임의의 형태의 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드인 것으로 의도된다. 예를 들어, 겔 정제된 폴리뉴클레오타이드, 또는 벡터에 함유되는, 폴리펩티드를 코딩하는 재조합 폴리뉴클레오타이드는 "단리된" 것으로 간주될 것이다. 또한, 클로닝을 위한 제한 부위를 가지도록 조작된 폴리뉴클레오타이드 세그먼트, 예컨대, PCR 생성물은 "단리된" 것으로 간주된다. 단리된 폴리뉴클레오타이드의 추가 예로는 이중 숙주 세포에서 유지되는 재조합 폴리뉴클레오타이드 또는 예컨대, 완충제 또는 염수와 같은 비천연 용액 중의 (부분적으로 또는 실질적으로) 정제된 폴리뉴클레오타이드를 포함한다. 단리된 RNA 분자로는 전사체가 자연에서는 발견되지 않는 것인, 폴리뉴클레오타이드의 생체내 또는 시험관내 RNA 전사체를 포함한다. 단리된 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산으로는 합성적으로 제조된 상기 분자를 추가로 포함한다. 추가로, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 조절 요소, 예컨대, 프로모터, 리보솜 결합 부위, 또는 전사 종결인자일 수도 있거나, 또는 그를 포함할 수 있다.

[0051] 본원에서 사용되는 바, "비자연적으로 발생된 폴리뉴클레오타이드"라는 용어 또는 그의 임의의 문법상의 변이형은 "자연적으로 발생된" 것이거나, 또는 심사원 또는 행정부 또는 사법 기관에 의해 "자연적으로 발생된" 것으로 결정되거나, 해석될 수 있는 핵산 또는 폴리뉴클레오타이드의 형태를 명백하게 배제하지만, 오직 그들을 배제만하는 것인 조건부 정의이다.

- [0052] 본원에서 사용되는 바, "코딩 영역"은 아미노산으로 번역되는 코돈으로 구성된 핵산의 일부분이다. 비록 "정지 코돈"(TAG, TGA, 또는 TAA)은 아미노산으로 번역되지는 않지만, 코딩 영역의 일부인 것으로 간주될 수 있으나, 임의의 측면에 위치하는 서열, 예를 들어, 프로모터, 리보솜 결합 부위, 전사 종결인자, 인트론 등은 코딩 영역의 일부가 아니다. 2개 이상의 코딩 영역이 단일 폴리뉴클레오타이드 구성물에, 예컨대, 단일 벡터 상에, 또는 별개의 폴리뉴클레오타이드 구성물에, 예컨대, 별개의(상이한) 벡터 상에 존재할 수 있다. 추가로, 임의의 벡터는 단일 코딩 영역을 함유할 수 있거나, 또는 2개 이상의 코딩 영역을 포함할 수도 있고, 예컨대, 단일 벡터는 번역글로불린 중쇄 가변 영역 및 번역글로불린 경쇄 가변 영역을 별개로 코딩할 수 있다. 추가로, 벡터, 폴리뉴클레오타이드, 또는 핵산은 또 다른 코딩 영역에 융합되거나, 융합되지 않은 이중 코딩 영역을 포함할 수 있다. 이중 코딩 영역으로는 제한 없이, 예컨대, 분비 신호 펩티드 또는 이중 기능성 도메인과 같은 특화된 요소 또는 모티프를 코딩하는 것을 포함한다.
- [0053] 특정 실시양태에서, 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산은 DNA이다. DNA의 경우, 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 포함하는 폴리뉴클레오타이드는 보통 하나 이상의 코딩 영역과 작동가능하게 회합되어 있는 프로모터 및/또는 다른 전사 또는 번역 제어 요소를 포함할 수 있다. 작동가능한 회합은 유전자 생성물, 예컨대, 폴리펩티드에 대한 코딩 영역이, 유전자 생성물의 발현이 조절 서열(들)의 영향 또는 제어하에 배치되도록 하는 방식으로 하나 이상의 조절 서열과 회합되어 있는 경우이다. 프로모터 기능의 유도가 원하는 유전자 생성물을 코딩하는 mRNA를 전사시켰다면, 및 두 DNA 단편 사이의 연결의 성질이 유전자 생성물의 발현을 지시하는 발현 조절 서열의 능력을 방해하지 않았거나, 또는 DNA 주형이 전사될 수 있는 능력을 방해하지 않았다면, 2개의 DNA 단편(예컨대, 폴리펩티드 코딩 영역 및 그와 회합된 프로모터)은 "작동가능하게 회합"되어 있는 것이다. 따라서, 프로모터가 핵산을 전사시킬 수 있다면, 프로모터 영역은 폴리펩티드를 코딩하는 핵산과 작동가능하게 회합되어 있는 것이 될 것이다. 프로모터는 미리 결정된 세포에서 DNA의 실질적 전사를 지시하는 세포 특이적인 프로모터일 수 있다. 프로모터 이외에도, 다른 전사 제어 요소, 예를 들어, 인핸서, 오퍼레이터, 리프레서, 및 전사 종결 신호가 세포 특이적인 전사를 지시하기 위해 폴리뉴클레오타이드와 작동가능하게 회합될 수 있다.
- [0054] 다양한 전사 제어 영역이 당업자에게 공지되어 있다. 이는 제한 없이, 척추동물 세포에서 작용하는 전사 제어 영역, 예컨대, 비제한적으로, 사이토메갈로바이러스(인트론 A와 함께 최조기 프로모터), 시미안 바이러스 40(조기 프로모터) 및 레트로바이러스(예컨대, 라우스 육종 바이러스)로부터의 프로모터 및 인핸서 세그먼트를 포함한다. 다른 전사 제어 영역으로는 척추동물 유전자로부터 유래된 것, 예컨대, 액틴, 열 충격 단백질, 소 성장 호르몬 및 토끼  $\beta$  글로빈 뿐만 아니라, 진핵 세포에서 유전자 발현을 제어할 수 있는 다른 서열을 포함한다. 추가의 적합한 전사 제어 영역으로는 조직 특이적인 프로모터 및 인핸서 뿐만 아니라, 림포카인 유도성 프로모터(예컨대, 인터페론 또는 인터류킨에 의해 유도가능한 프로모터)를 포함한다.
- [0055] 유사하게, 다양한 번역 제어 요소가 당업자에게 공지되어 있다. 이는 리보솜 결합 부위, 번역 개시 및 종결 코돈, 및 피코나바이러스로부터 유래된 요소(특히 CITE 서열로도 지칭되는, 내부 리보솜 진입 부위, 또는 IRES(internal ribosome entry site))를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0056] 다른 실시양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 RNA, 예를 들어, 메신저 RNA(mRNA), 전달 RNA, 또는 리보솜 RNA 형태일 수 있다.
- [0057] 폴리뉴클레오타이드 및 핵산 코딩 영역은 본원에 개시된 폴리뉴클레오타이드에 의해 코딩된 폴리펩티드의 분비를 지시하는, 분비 또는 신호 펩티드를 코딩하는 추가 코딩 영역과 회합될 수 있다. 신호 가설에 따르면, 포유동물 세포에 의해 분비된 단백질은 일단 성장하는 단백질 쇄의 조면 소포체를 통한 외수송이 개시되고 나면, 성숙한 단백질로부터 절단되는 신호 펩티드 또는 분비 리더 서열을 가진다. 당업계의 숙련가는 척추동물 세포에 의해 분비되는 폴리펩티드가 폴리펩티드의 N 말단에 융합된 신호 펩티드를 가질 수 있고, 이는 완전한 또는 "전장의" 폴리펩티드로부터 절단됨으로써 분비된 또는 "성숙한" 형태의 폴리펩티드가 제조된다는 것을 알고 있다. 특정 실시양태에서, 천연 신호 펩티드, 예컨대, 번역글로불린 중쇄 또는 경쇄 신호 펩티드, 또는 그와 작동가능하게 회합되는 폴리펩티드의 분비를 지시하는 능력을 보유하는 상기 서열의 기능성 유도체가 사용된다. 대안적으로, 이중 포유동물 신호 펩티드, 또는 그의 기능성 유도체가 사용될 수 있다. 예를 들어, 야생형 리더 서열은 인간 조직 플라스미노겐 활성화제(TPA: tissue plasminogen activator) 또는 마우스  $\beta$ -글루쿠로니다제의 리더 서열로 치환될 수 있다.
- [0058] 본원에서 사용되는 바, "CD20"이라는 용어는 B 림프구 표면 상에서 발현되는 막 단백질을 지칭한다. CD20 단백질은 문헌에서는 다른 명칭, 예컨대, B 림프구 항원 CD20, B 림프구 세포 표면 항원 B1, Bp35, CVID5, LEU-16, 막관통 4 도메인 서브패밀리 A 구성원 1, 또는 MS4A2로 지칭된다. 인간 CD20에 대한 아미노산 서열(진뱅크 수탁

번호(GenBank Accession No.) NP\_690605.1)은 본원에 서열 번호: 50으로서 개시되어 있다(표 2).

- [0059] 본원에서는 특정 결합 분자, 또는 그의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 개시한다. 전체 크기의 항체라고 구체적으로 언급되지 않는 한, "결합 분자"라는 용어는 전체 크기의 항체 뿐만 아니라, 상기 항체의 항원 결합 서브유닛, 단편, 변이체, 유사체, 또는 유도체, 예컨대, 항체와 유사한 방식으로 항원에 결합하지만, 상이한 스캐폴드를 이용하는 것인 조작된 항체 분자 또는 단편을 포함한다.
- [0060] 본원에서 사용되는 바, "결합 분자"라는 용어는 가장 광범위한 의미에서 표적 또는 분자 결정기, 예컨대, 에피토프 또는 항원 결정기에 특이적으로 결합하는 분자를 지칭한다. 본원에서 추가로 기술되는 바와 같이, 결합 분자는 본원에 기술된 하나 이상의 "항원 결합 도메인"을 포함할 수 있다. 결합 분자의 비제한적인 예로는 항원 특이적 결합을 보유하는 항체 또는 그의 단편이 있다.
- [0061] 본원에서 사용되는 바, "결합 도메인" 또는 "항원 결합 도메인"이라는 용어는 에피토프에 특이적으로 결합하는데 충분한 결합 분자의 영역을 지칭한다. 예를 들어, "Fv," 예컨대, 2개의 별개의 폴리펩티드 서브유닛으로서, 또는 단일 쇄로서의 항체의 가변 중쇄 및 가변 경쇄는 "결합 도메인"으로 간주된다. 다른 항원 결합 도메인으로서는 제한 없이, 카멜리드 종으로부터 유래되는 항체의 가변 중쇄(VHH), 또는 피브로넥틴 스캐폴드로 발현되는 6개의 면역글로불린 상보성 결정 영역(CDR: complementarity determining region)을 포함한다. 본원에 기술된 "결합 분자"는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12개 이상의 "항원 결합 도메인"을 포함할 수 있다.
- [0062] "항체" 및 "면역글로불린"이라는 용어는 본원에서 상호교환적으로 사용될 수 있다. 항체(또는 본원에 개시된 그의 단편, 변이체, 또는 유도체)는 적어도 중쇄의 가변 도메인(카멜리드 종의 경우) 또는 적어도 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인을 포함한다. 척추동물계에서의 기본 면역글로불린 구조는 비교적 잘 이해되어 있다(예컨대, 문헌 [Harlow *et al.*, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988] 참조). 달리 언급되지 않는 한, "항체"라는 용어는 항체의 작은 항원 결합 단편부터 전체 크기의 항체, 예컨대, 2개의 완전한 중쇄 및 2개의 완전한 경쇄를 포함하는 IgG 항체, 4개의 완전한 중쇄 및 4개의 완전한 경쇄를 포함하고, J 쇄 및/또는 분비 성분을 포함할 수 있는 IgA 항체, 또는 10개 또는 12개의 완전한 중쇄 및 10개 또는 12개의 완전한 경쇄를 포함하고, J 쇄를 포함할 수 있는 IgM 항체의 범위에 이르는 임의의 것을 포괄한다.
- [0063] 하기에서 더욱 상세하게 논의되는 바와 같이, "면역글로불린"이라는 용어는 생화학적으로 구별될 수 있는 각종의 광범위한 부류의 폴리펩티드를 포함한다. 당업자는 중쇄가 이들 사이에 일부는 서브부류(예컨대,  $\gamma 1$ - $\gamma 4$  또는  $\alpha 1$ - $\alpha 2$ )를 가지며, 감마, 뮤, 알파, 델타, 또는 엡실론( $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ )으로 분류된다는 것을 이해할 것이다. 항체의 "이소타입"을 각각 IgG, IgM, IgA IgG, 또는 IgE로 결정하는 것은 상기 쇄의 성질이다. 면역글로불린 하위부류(하위유형), 예컨대, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgA<sub>1</sub>, IgA<sub>2</sub> 등은 특징이 잘 규명되어 있고, 기능적 분화를 부여하는 것으로 알려져 있다. 각각의 상기 면역글로불린의 변형된 버전은 본 개시내용을 고려하여 당업자에게 쉽게 식별 가능하고, 이에 따라 본 개시내용의 범주 내에 포함된다.
- [0064] 경쇄는 카파 또는 람다( $\kappa$ ,  $\lambda$ )로 분류된다. 각 중쇄 부류는 카파 또는 람다 경쇄와 결합될 수 있다. 일반적으로, 경쇄 및 중쇄는 서로 공유 결합되며, 2개 중쇄의 "테일" 부분은 공유 디설피드 결합, 또는 면역글로불린이 하이브리도마, B 세포 또는 유전적으로 조작된 숙주 세포에 의해 발견된 경우, 비공유 결합에 의해 서로 결합된다. 중쇄에서, 아미노산 서열은 Y 구조의 포크형 단부의 N 말단에서부터 각 쇄의 하부의 C 말단으로 이어진다. 특정 항체, 예컨대, IgG 항체의 기본 구조는 디설피드 결합을 통해 공유적으로 연결되어, 본원에서는 또한 "H2L2" 구조, 또는 "결합 유닛"로도 지칭되는 "Y" 구조를 형성하는 2개의 중쇄 서브유닛 2개의 경쇄 서브유닛을 포함한다.
- [0065] "결합 유닛"라는 용어는 본원에서 표준 면역글로불린 구조, 예컨대, 2개의 중쇄 또는 그의 단편 및 2개의 경쇄 또는 그의 단편, 또는 예컨대, 카멜리드 또는 콘드릭토이드(condricthoid) 항체로부터 유래된 2개의 중쇄 또는 그의 단편에 상응하는, 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 항원 결합 단편의 일부를 지칭하는 것으로 사용된다. 특정 측면에서, 예컨대, 결합 분자가 2가 IgG 항체 또는 그의 항원 결합 단편인 경우, "결합 분자" 및 "결합 유닛"라는 용어는 동의어이다. 다른 측면에서, 예컨대, 결합 분자가 IgA 이량체, IgM 오량체, 또는 IgM 육량체인 경우, 결합 분자는 2개 이상의 "결합 유닛"을 포함한다. 각각 IgA 이량체의 경우에는, 2개, 또는 IgM 오량체 또는 육량체인 경우에는 5 또는 6개이다. 결합 유닛이 전장의 항체 중쇄 및 경쇄를 포함할 필요는 없지만, 하기 정의되는 바와 같이, 이는 전형적으로는 2가가 될 것이며, 즉, 2개의 "항원 결합 도메인"을 포함할 것이다. 본 개시내용에서 제공되는 특정 결합 분자는 이량체, 오량체, 또는 육량체이고, IgA 또는 IgM 불변 영역 또는 그의 단편을 포함하는 2, 5 또는 6개의 2가 결합 유닛을 포함한다. 본원에서 사용되는 바, 2개 이

상의 결합 유닛, 예컨대, 2, 5 또는 6개의 결합 유닛을 포함하는 결합 분자는 "다량체"로 지칭될 수 있다.

- [0066] 본원에서 사용되는 바, "천연 서열 J 쇠" 또는 "천연 J 쇠"라는 용어는 성숙한 인간 J 쇠를 비롯한, 임의 동물 종의 천연 서열 IgM 또는 IgA 항체의 J 쇠를 지칭하며, 그의 아미노산 서열은 서열 번호: 49로서 제시된다.
- [0067] "변형된 J 쇠"라는 용어는 본원에서, 천연 서열 내로 도입된 이중 모이어티, 예컨대, 이중 폴리펩티드, 예컨대, 외래 결합 도메인을 포함하는 천연 서열 J 쇠 폴리펩티드의 변이체를 지칭하는 것을 사용된다. 도입은 이중 폴리펩티드 또는 다른 모이어티의 직접 또는 간접 융합 또는 펩티드 또는 화학적 링커를 통해 부착을 비롯한, 임의의 수단에 의해 달성될 수 있다. "변형된 인간 J 쇠"라는 용어는 제한 없이, 이중 모이어티, 예컨대, 이중 폴리펩티드, 예컨대, 외래 결합 도메인의 도입에 의해 변형된 서열 번호: 49 또는 그의 기능성 단편의 아미노산 서열의 천연 서열 인간 J 쇠를 포함한다. 특정 측면에서, 이중 모이어티는 IgM의 오량체로의 또는 IgA의 이량체로의 효율적인 중합화, 및 상기 중합체의 표적에의 결합을 방해하지 않는다. 예시적인 변형된 J 쇠는 예컨대, PCT 공개 번호 WO 2015/153912(상기 문헌은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다)에서 살펴볼 수 있다.
- [0068] "결합가," "2가," "다가"라는 용어 및 문법상 동의어는 주어진 결합 분자 또는 결합 유닛 중 항원 결합 도메인의 개수를 지칭한다. 따라서, 주어진 결합 분자, 예컨대, IgM 항체 또는 그의 단편과 관련하여 "2가," "4가," 및 "6가"라는 용어는 각각 2개의 항원 결합 도메인, 4개의 항원 결합 도메인, 및 6개의 항원 결합 도메인이 존재한다는 것을 나타낸다. 각 결합 유닛가 2가인 전형적인 IgM 유래 결합 분자에서, 결합 분자 그 자체는 10 또는 12 결합가를 가질 수 있다. 각 결합 유닛가 2가인 전형적인 IgA 유래 결합 분자에서, 결합 분자 그 자체는 4 결합가를 가질 수 있다. 2가 또는 다가 결합 분자는 단일특이적일 수 있고, 즉, 항원 결합 도메인 모두가 동일하거나, 또는 이중특이적 또는 다중특이적일 수 있고, 예컨대, 2개 이상의 항원 결합 도메인이 상이하고, 예컨대, 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 결합하거나, 또는 완전히 다른 항원에 결합할 수 있다.
- [0069] "에피토프"라는 용어는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 임의의 분자 결정기를 포함한다. 특정 측면에서, 에피토프는 예컨대, 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴, 또는 술폰릴과 같은 분자로 이루어진, 화학적으로 활성을 띠는 표면 그룹핑을 포함할 수 있고, 특정 측면에서, 이는 3차원인 구조적 특징, 및/또는 특이적인 전하 특징을 가질 수 있다. 에피토프는 항체가 결합하는 표적의 영역이다.
- [0070] "다중특이적 결합 분자 또는 항체" 또는 "이중특이적 결합 분자 또는 항체"란, 동일한 또는 다른 표적(들) 상의 2개 이상의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있는 능력을 가지는 결합 분자, 항체, 또는 그의 항원 결합 단편을 지칭한다. "단일특이적"이란, 단 하나의 에피토프에 결합할 수 있는 능력을 지칭한다.
- [0071] "표적"이라는 용어는 가장 광범위한 의미에서, 결합 분자에 의해 결합될 수 있는 물질을 포함하는 것으로 사용된다. 표적은 예컨대, 폴리펩티드, 핵산, 탄수화물, 지질, 또는 다른 분자일 수 있다. 더욱이, "표적"은 예를 들어, 결합 분자에 결합될 수 있는 결합된 에피토프를 포함하는 세포, 기관 또는 유기체일 수 있다.
- [0072] 경쇄 및 중쇄, 둘 모두 구조적 및 기능적 상동성 영역으로 구분된다. "불변" 및 "가변"이라는 용어는 기능적으로 이용된다. 이와 관련하여, 가변 경쇄(VL: variable light) 및 가변 중쇄(VH: variable heavy) 부분, 둘 모두의 가변 도메인이 항원 인식 및 특이성을 결정한다는 것을 이해할 것이다. 반대로, 경쇄의 불변 도메인(CL) 및 중쇄의 불변 도메인(예컨대, CH1, CH2, CH3, 또는 CH4)은 생물학적 특성, 예컨대, 분비, 경태만 이동성, Fc 수용체 결합, 보체 결합 등을 부여한다. 통상, 불변 영역 도메인의 넘버링은 이들이 항체의 항원 결합 부위 또는 아미노 말단으로부터 멀어질수록 더 증가한다. N 말단부는 가변 영역이며, C 말단부는 불변 영역이고; CH3 (또는 IgM의 경우 CH4) 및 CL 도메인은 각각 중쇄 및 경쇄의 카복시 말단에 존재한다.
- [0073] "전장의 IgM 항체 중쇄"는 N 말단에서 C 말단 방향으로 항체 중쇄 가변 도메인( $V_H$ ), 항체 불변 중쇄 불변 도메인 1(CM1 또는  $C_{\mu 1}$ ), 항체 중쇄 불변 도메인 2(CM2 또는  $C_{\mu 2}$ ), 항체 중쇄 불변 도메인 3(CM3 또는  $C_{\mu 3}$ ), 및 테일피스(tailpiece)를 포함할 수 있는 항체 중쇄 불변 도메인 4(CM4 또는  $C_{\mu 4}$ )를 포함하는 폴리펩티드이다.
- [0074] "전장의 IgA 항체 중쇄"는 N 말단에서 C 말단 방향으로 항체 중쇄 가변 도메인( $V_H$ ), 항체 불변 중쇄 불변 도메인 1(CA1 또는  $C_{\alpha 1}$ ), 항체 중쇄 불변 도메인 2(CA2 또는  $C_{\alpha 2}$ ), 테일피스를 포함할 수 있는 항체 중쇄 불변 도메인 3(CA3 또는  $C_{\alpha 3}$ )을 포함하는 폴리펩티드이다. 다량체 및 분비성 IgA의 구조는 예컨대, 문헌 [Woof, JM and Russell, MW, *Mucosal Immunology* 4:590-597 (2011)]에 기술되어 있다.
- [0075] 상기에서 언급된 바와 같이, 가변 영역(즉, "항원 결합 도메인")을 통해 결합 분자는 항원 상의 에피토프를 선택적으로 인식하고, 그에 특이적으로 결합할 수 있다. 즉, 결합 분자, 예컨대, 항체의 VL 도메인 및 VH 도메인 (또는 단지 카펠리드 또는 콘드릭토이드 항체인 경우에는 VH 도메인(VHH로 표시)), 또는 상보성 결정 영역(CD



R)의 서브세트가 조합되어 항원 결합 도메인을 형성할 수 있다. 더욱 구체적으로, 항원 결합 도메인은 각각의 VH 및 VL 쇠 상의 3개의 CDR(또는 VHH 상의 3개의 CDR)에 의해 정의될 수 있다. 특정 항체는 더욱 큰 구조를 형성한다. 예를 들어, IgA는 디설피드 결합을 통해 공유적으로 연결된, 2개의 H2L2 결합 유닛, J 쇠, 및 분비 성분을 포함하는 분자를 형성할 수 있고; IgM은 디설피드 결합을 통해 공유적으로 연결된, 2, 5 또는 6개의 H2L2 결합 유닛, 및 임의적으로, J 쇠를 포함하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 분자를 형성할 수 있다.

[0076] 항체 항원 결합 도메인에 존재하는 6개의 "상보성 결정 영역" 또는 "CDR"은 항체가 수성 환경에서 그의 3차원 구조를 취함에 따라 특이적으로 배치되어 결합 도메인을 형성하는 짧은, 비인접한 아미노산 서열이다. "골격" 영역으로 지칭되는, 항원 결합 도메인 중의 나머지 아미노산은 더 적은 분자간 가변성을 나타낸다. 골격 영역은 대개  $\beta$  시트 입체형태를 취하고, CDR은  $\beta$  시트 구조를 연결하고, 일부 경우에는 그의 일부를 형성하는 루프를 형성한다. 따라서, 골격 영역은 쇠간, 비공유 상호작용에 의해 올바른 배향으로 CDR을 배치하는 스캐폴드를 형성하는 작용을 한다. 배치된 CDR에 의해 형성된 항원 결합 도메인은 면역반응성 항원 상에서 에피토프에 상보적인 표면을 정의한다. 상기 상보적인 표면은 항체의 그의 동족 에피토프에의 비공유 결합을 촉진시킨다. 각각 CDR 및 골격 영역을 구성하는 아미노산은 이들이 각종의 상이한 방식으로 정의되었는 바, 당업계의 숙련가에 의해 임의의 주어진 중쇄 또는 경쇄 가변 영역에 대해 쉽게 확인될 수 있다(문헌 ["Sequences of Proteins of Immunological Interest," Kabat, E., *et al.*, U.S. Department of Health and Human Services, (1983)]; 및 [Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.*, 196:901-917 (1987)](상기 문헌은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다)).

[0077] 당업계에서 이용되고/거나, 허용되는 용어에 대해 2개 이상의 정의가 존재하는 경우, 본원에서 사용되는 용어의 정의는 달리 명확하게 그 반대로 언급되지 않는 한, 상기의 모든 의미를 포함하는 것으로 의도된다. 구체적인 예는 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 둘 모두의 가변 영역 내에서 확인되는 비인접 항원 조합 부위를 설명하기 위해 "상보성 결정 영역"("CDR")이라는 용어가 사용되는 것이다. 이러한 특정 영역은 예를 들어, (Kabat *et al.*)에 의해 문헌 [U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of Proteins of Immunological Interest" (1983)], 및 (Chothia *et al.*)에 의해 문헌 [*J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)](상기 문헌은 참조로 포함된다)에 기술되었다. (Kabat) 및 (Chothia) 정의는 서로 비교되는 경우, 아미노산의 중복 또는 하위세트를 포함한다. 그럼에도 불구하고, 항체 또는 그의 변이체의 CDR을 나타내기 위해 어느 한 정의(또는 당업계의 숙련가에게 공지된 다른 정의)를 적용하는 것은 달리 명시되지 않는 한, 본원에서 정의되고, 사용되는 용어의 범주 내에 포함되어 있는 것으로 의도된다. 상기 인용된 각 참고 문헌에 의해 정의된 CDR을 포괄하는 적절한 아미노산은 비교로서 하기 표 1에 기재되어 있다. 특정 CDR을 포괄하는 정확한 아미노산 번호는 CDR의 서열 및 크기의 따라 달라질 것이다. 당업자는 항체의 가변 영역 아미노산 서열을 고려하여 어느 아미노산이 특정 CDR을 포함하는지를 통상적으로 측정할 수 있다.

## 표 1

CDR 정의\*

|         | Kabat  | Chothia |
|---------|--------|---------|
| VH CDR1 | 31-35  | 26-32   |
| VH CDR2 | 50-65  | 52-58   |
| VH CDR3 | 95-102 | 95-102  |
| VL CDR1 | 24-34  | 26-32   |
| VL CDR2 | 50-56  | 50-52   |
| VL CDR3 | 89-97  | 91-96   |

\* 표 1에서의 모든 CDR의 넘버링은 (Kabat *et al.*)에 의해 기술된 넘버링 규정에 따른 것이다(하기 참조).

[0078]

[0079] 면역글로불린 가변 도메인은 또한 예컨대, CDR을 비롯한 가변 영역 세그먼트를 확인하기 위해 IMGT 정보 시스템 ([www://imgt.cines.fr/](http://www://imgt.cines.fr/))(IMGT®/V-Quest)을 이용하여 분석될 수 있다. 예컨대, 문헌 [Brochet, X. *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 36:W503-508 (2008)]을 참조할 수 있다.

[0080] (Kabat *et al.*)은 또한 임의 항체에 적용가능한 가변 도메인 서열에 대한 넘버링 체계를 정의하였다. 당업계의 숙련가는 서열 그 자체 이상의 임의의 실험적 데이터에 의존하지 않고, 명확하게 상기 "(Kabat) 넘버링" 체계를

임의의 가변 도메인 서열에 지정할 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "(Kabat) 넘버링"은 (Kabat et al.)에 의해 문헌 [U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequence of Proteins of Immunological Interest" (1983)]에 의해 기재된 넘버링 체계를 지칭한다. 그러나, (Kabat) 넘버링 체계 사용이라고 명확하게 언급되지 않았다면, 본 개시내용의 아미노산 서열에 대해서는 연속 넘버링이 사용된다.

[0081] 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체로는 다중클론, 단일클론, 인간, 인간화, 또는 키메라 항체, 단일쇄 항체, 에피토프 결합 단편, 예컨대, Fab, Fab' 및 F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fvs, 단일쇄 Fvs(scFv), 단일쇄 항체, 디설피드 연결된 Fvs (sdFv), VL 또는 VH 도메인을 포함하는 단편, Fab 발현 라이브러리에 의해 제조된 단편을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. ScFv 분자는 당업계에 공지되어 있고, 예컨대, 미국 특허 5,892,019에 기술되어 있다.

[0082] "특이적으로 결합하는"이란, 일반적으로 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 단편, 변이체, 또는 유도체가 그의 항원 결합 도메인을 통해 에피토프에 결합하고, 결합은 항원 결합 도메인과 에피토프 사이의 일부 상보성을 수반한다는 것을 의미한다. 본 정의에 따라, 결합 분자는 그가 무작위의 비관련 에피토프에 결합할 때보다 더욱 쉽게 그의 항원 결합 도메인을 통하여 에피토프에 결합할 때, 에피토프에 "특이적으로 결합한다"라고 말할 수 있다. "특이성"이라는 용어는 본원에서 특정 결합 분자가 특정 에피토프에 결합하게 하는 상대적 친화도를 정질화하는 데 사용된다. 예를 들어, 결합 분자 "A"는 주어진 에피토프에 대하여 결합 분자 "B"보다 더 높은 특이성을 가지는 것으로 간주될 수 있거나, 결합 분자 "A"는 그가 관련된 에피토프 "D"에 대하여 가지는 것보다 더 높은 특이성으로 에피토프 "C"에 결합한다고 말할 수 있다.

[0083] 본원에 개시된 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 단편, 변이체, 또는 유도체는  $5 \times 10^{-2} \text{ sec}^{-1}$ ,  $10^{-2} \text{ sec}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ ,  $10^{-3} \text{ sec}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ ,  $10^{-4} \text{ sec}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-5} \text{ sec}^{-1}$ , 또는  $10^{-5} \text{ sec}^{-1}$   $5 \times 10^{-6} \text{ sec}^{-1}$ ,  $10^{-6} \text{ sec}^{-1}$ ,  $5 \times 10^{-7} \text{ sec}^{-1}$  또는  $10^{-7} \text{ sec}^{-1}$  이하의 오프 속도(k(오프))로 표적 항원에 결합한다고 말할 수 있다.

[0084] 본원에 개시된 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는  $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ ,  $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ ,  $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ ,  $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ ,  $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ ,  $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ ,  $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ , 또는  $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$  또는  $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$  이상의 온 속도(k(온))로 표적 항원에 결합한다고 말할 수 있다.

[0085] 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 단편, 변이체, 또는 유도체는, 그가 참조 항체 또는 항원 결합 단편의 주어진 에피토프에의 결합을 어느 정도 차단시키는 정도로까지 상기 에피토프에 우선적으로 결합한다면, 참조 항체 또는 항원 결합 단편의 상기 에피토프에의 결합을 경쟁적으로 억제시킨다고 말할 수 있다. 경쟁적 억제는 당업계에 공지된 임의의 방법, 예를 들어, 경쟁적 ELISA 검정법에 의해 측정될 수 있다. 결합 분자는 참조 항체 또는 항원 결합 단편의 주어진 에피토프에의 결합을 적어도 90%, 적어도 80%, 적어도 70%, 적어도 60%, 또는 적어도 50%만큼 경쟁적으로 억제시킨다고 말할 수 있다.

[0086] 본원에서 사용되는 바, "친화도(affinity)"라는 용어는 예컨대, 면역글로불린 분자의 하나 이상의 항원 결합 도메인과 개별 에피토프의 결합 강도에 관한 척도를 지칭한다. 예컨대, 문헌 [Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988) at pages 27-28]을 참조할 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "결합활성(avidity)"이라는 용어는 항원 결합 도메인 집단과 항원 사이의 복합체의 전체 안정성을 지칭한다. 예컨대, 문헌 [Harlow at pages 29-34]를 참조할 수 있다. 결합활성은 특이적 에피토프와의, 집단 중 개별 항원 결합 도메인의 친화도, 및 또한 면역글로불린 및 항원의 결합가, 둘 모두와 관련이 있다. 예를 들어, 2가 단일클론 항체와, 고도로 반복되는 에피토프 구조, 예컨대 중합체를 포함하는 항원 사이의 상호작용이 높은 결합활성 중 하나가 될 것이다. 2가 단일클론 항체와, 세포 표면 상에 고밀도로 존재하는 수용체 사이의 상호작용 또한 높은 결합활성 중 하나가 될 것이다.

[0087] 본원에 개시된 결합 분자 또는 그의 항원 결합 단편, 변이체 또는 유도체 또한 그의 교차 반응성에 의해 기술되거나, 명시될 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "교차 반응성"이라는 용어는 한 항원에 대하여 특이적인, 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 단편, 변이체, 또는 유도체가 제2 항원과 반응할 수 있는 능력; 2개의 상이한 항원성 물질 사이의 관련성에 관한 척도를 지칭한다. 따라서, 결합 분자가 그의 형성을 유도한 에피토프와 다른 에피토프에 결합하였다면, 이는 교차 반응성을 띠는 것이다. 교차 반응성 에피토프는 일반적으로 유도 에피토프와 동일한 상보적인 구조적 특징 다수를 함유하며, 일부 경우에는 실제로 원래의 것보다 더욱 잘 맞을 수 있다.

- [0088] 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 단편, 변이체, 또는 유도체는 또한 그의 항원에 대한 결합 친화도에 의해 기술되거나, 명시될 수 있다. 예를 들어, 결합 분자는  $5 \times 10^{-2}$  M,  $10^{-2}$  M,  $5 \times 10^{-3}$  M,  $10^{-3}$  M,  $5 \times 10^{-4}$  M,  $10^{-4}$  M,  $5 \times 10^{-5}$  M,  $10^{-5}$  M,  $5 \times 10^{-6}$  M,  $10^{-6}$  M,  $5 \times 10^{-7}$  M,  $10^{-7}$  M,  $5 \times 10^{-8}$  M,  $10^{-8}$  M,  $5 \times 10^{-9}$  M,  $10^{-9}$  M,  $5 \times 10^{-10}$  M,  $10^{-10}$  M,  $5 \times 10^{-11}$  M,  $10^{-11}$  M,  $5 \times 10^{-12}$  M,  $10^{-12}$  M,  $5 \times 10^{-13}$  M,  $10^{-13}$  M,  $5 \times 10^{-14}$  M,  $10^{-14}$  M,  $5 \times 10^{-15}$  M, 또는  $10^{-15}$  M 이하의 해리 상수 또는  $K_D$ 로 항원에 결합할 수 있다.
- [0089] 단일쇄 항체 또는 다른 항원 결합 도메인을 포함하는 항체 단편은 단독으로 존재할 수 있거나, 또는 하기: 힌지 영역, CH1, CH2, CH3, 또는 CH4 도메인, J쇄, 또는 분비 성분 중 하나 이상의 것과 함께 조합하여 존재할 수 있다. 가변 영역(들)과, 힌지 영역, CH1, CH2, CH3, 또는 CH4 도메인, J쇄, 또는 분비 성분 중 하나 이상의 것의 임의의 조합을 포함할 수 있는 항원 결합 단편 또한 포함된다. 결합 분자, 예컨대, 항체, 또는 그의 항원 결합 단편은 조류 및 포유동물을 비롯한, 임의의 동물 기원으로부터의 것일 수 있다. 항체는 인간, 무린, 당나귀, 토끼, 염소, 기니아 피그, 낙타, 라마, 말, 또는 닭 항체일 수 있다. 또 다른 실시양태에서, 가변 영역은 기원이 (예컨대, 상어 유래의) 콘드릭토이드일 수 있다. 본원에서 사용되는 바, "인간" 항체는 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 가지는 항체를 포함하고, 인간 면역글로불린 라이브러리로부터, 또는 하나 이상의 인간 면역글로불린에 대하여 트랜스제닉인 동물로부터 단리된 항체를 포함하고, 일부 경우에는 하기, 및 예를 들어, 미국 특허 번호 5,939,598(Kucherlapati et al.)에 기술된 바와 같이, 내인성 면역글로불린을 발현할 수 있고, 일부 경우에는 그렇지 않을 수 있다.
- [0090] 본원에서 사용되는 바, "중쇄 서브유닛"라는 용어는 면역글로불린 중쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함하고, 결합 분자, 예컨대, 중쇄 서브유닛을 포함하는 항체는 VH 도메인, CH1 도메인, 힌지(예컨대, 상부, 중간, 및/또는 하부 힌지 영역) 도메인, CH2 도메인, CH3 도메인, CH4 도메인, 또는 그의 변이체 또는 단편 중 적어도 하나를 포함할 수 있다. 예를 들어, 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 단편, 변이체, 또는 유도체는 제한 없이, VH 도메인 이외에도: CH1 도메인; CH1 도메인, 힌지, 및 CH2 도메인; CH1 도메인 및 CH3 도메인; CH1 도메인, 힌지, 및 CH3 도메인; 또는 CH1 도메인, 힌지 도메인, CH2 도메인, 및 CH3 도메인을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 단편, 변이체, 또는 유도체는 VH 도메인 이외에도, CH3 도메인 및 CH4 도메인; 또는 CH3 도메인, CH4 도메인, 및 J쇄를 포함할 수 있다. 추가로, 본 개시내용에서 사용하기 위한 결합 분자에는 특정 불변 영역 일부분, 예컨대, CH2 도메인 모두 또는 그의 일부가 없을 수 있다. 상기 도메인(예컨대, 중쇄 서브유닛)은 그가 원래의 면역글로불린 분자와 아미노산 서열이 다르게 하기 위해서는 변형될 수 있다는 것을 당업계의 숙련가는 이해할 것이다.
- [0091] 본원에서 사용되는 바, "경쇄 서브유닛"라는 용어는 면역글로불린 경쇄로부터 유래된 아미노산 서열을 포함한다. 경쇄 서브유닛은 적어도 VL을 포함하고, CL(예컨대, C<sub>K</sub> 또는 C<sub>L</sub>) 도메인을 추가로 포함할 수 있다.
- [0092] 결합 분자, 예컨대, 항체 또는 그의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체는 또한 그가 인식하거나, 또는 특이적으로 결합하는 항원의 에피토프(들) 또는 일부(들)에 의해 기술되거나, 명시될 수 있다. 항체의 항원 결합 도메인과 특이적으로 상호작용하는 표적 항원의 일부분이 "에피토프," 또는 "항원 결정기"이다. 표적 항원은 단일 에피토프 또는 적어도 2개의 에피토프를 포함할 수 있고, 항원의 크기, 입체형태 및 유형에 따라 임의의 개수의 에피토프를 포함할 수 있다.
- [0093] 본원에서 사용되는 바, "디설파이드 결합"이라는 용어는 2개의 항원자 사이에 형성된 공유 결합을 포함한다. 아미노산 시스테인은 제2 티올기와 디설파이드 결합 또는 브릿지를 형성할 수 있는 티올기를 포함한다.
- [0094] 본원에서 사용되는 바, "키메라 항체"라는 용어는, 면역반응성 영역 또는 부위가 제1 종으로부터 획득 또는 유래되고, (무손상, 부분 또는 변형된 것일 수 있는) 불변 영역은 제2 종으로부터 획득된 것인 항체를 지칭한다. 일부 실시양태에서, 표적 결합 영역 또는 부위는 비인간 공급원(예컨대, 마우스 또는 영장류)로부터의 것이 될 것이며, 불변 영역은 인간의 것이다.
- [0095] "다중특이적 항체, 예컨대, "이중특이적 항체"라는 용어는 단일 항체 분자 내에 2개 이상의 상이한 에피토프에 대한 항원 결합 도메인을 가지는 항체를 지칭한다. 정규 항체 구조 이외에도 2개의 결합 특이성을 가지는 다른 결합 분자가 구성될 수 있다. 이중특이적 또는 다중특이적 항체에 의한 에피토프 결합은 동시 또는 순차적 결합일 수 있다. 트리오마 및 하이브리드 하이브리도마는 이중특이적 항체를 분비할 수 있는 세포주의 두 예이다. 이중특이적 항체는 또한 재조합 수단에 의해 구성될 수 있다(문헌 [Strohlein and Heiss, *Future Oncol.* 6:1387-94 (2010)]; [Mabry and Snaveley, *IDrugs.* 13:543-9 (2010)]). 이중특이적 항체는 또한 디아바디일 수

있다.

[0096] 본원에서 사용되는 바, "조작된 항체"라는 용어는 중쇄 및 경쇄, 또는 둘 모두에 있는 가변 도메인이 CDR 또는 골격 영역 중의 하나 이상의 아미노산의 적어도 부분적인 치환에 의해 변경된 것인 항체를 지칭한다. 특정 측면에서, 특이성이 공지된 항체로부터의 전체 CDR을 이중 항체의 골격 영역 내로 이식시킬 수 있다. 비록 대안적 CDR이 골격 영역의 유래 기점이 된 항체와 동일한 부류 또는 심지어는 하류부류의 항체로부터 유래될 수 있지만, CDR은 또한 상이한 부류의 항체로부터, 예컨대, 다른 종으로부터의 항체로부터 유래될 수 있다. 특이성이 공지된 비인간 인간 항체로부터의 하나 이상의 "공여자" CDR이 인간 중쇄 또는 경쇄 골격 영역 내로 이식된 조작된 항체는 본원에서 "인간화 항체"로서 지칭된다. 특정 측면에서, CDR 모두가 공여자 가변 영역으로부터의 완전한 CDR로 치환되는 것은 아니며, 공여자의 항원 결합능은 계속 수여자 가변 도메인으로 전달될 수 있다. 예컨대, 미국 특허 번호 5,585,089, 5,693,761, 5,693,762, 및 6,180,370에 기재된 설명을 고려해 볼 때, 통상의 실험을 수행함으로써 또는 시행착오 시험에 의해 기능상의 조작된 또는 인간화 항체를 수득하는 것은 당업자의 권한 내에 잘 포함되어 있을 것이다.

[0097] 본원에서 사용되는 바, "조작된"이라는 용어는 합성 수단에 의한(예컨대, 재조합 기법에 의한, 시험관내 펩티드 합성에 의한, 펩티드의 효소적 또는 화학적 커플링에 의한 또는 상기 기법의 일부 조합에 의한) 핵산 또는 폴리펩티드 분자의 조작을 포함한다.

[0098] 본원에서 사용되는 바, "연결된," "융합된" 또는 융합" 또는 문법상의 다른 동의 어구는 상호교환적으로 사용될 수 있다. 본 용어는 화학적 컨주게이션 또는 재조합 수단을 비롯한 어느 수단에서건 그에 의해 2개 초과 요소 또는 성분을 함께 연결시키는 것을 지칭한다. "프레임내 융합"이란, 2개 이상의 폴리뉴클레오타이드 오픈 리딩 프레임(ORF: open reading frame)을 원래의 ORF의 번역 리딩 프레임을 유지하는 방식으로 연결시켜 연속된 더욱 긴 ORF를 형성하는 것을 지칭한다. 따라서, 재조합 융합 단백질은 (세그먼트가 보통 자연상에서는 상기와 같이 연결되어 있지 않은) 원래의 ORF에 의해 코딩되는 폴리펩티드에 상응하는 2개 이상의 세그먼트를 함유하는 단일 단백질이다. 따라서, 비록 리딩 프레임은 융합된 세그먼트 전역에 걸쳐 연속적인 것으로 제조되지만, 세그먼트는 예를 들어, 프레임내 링커 서열에 의해 물리적으로 또는 공간적으로 이격되어 있을 수 있다. 예를 들어, 번역글로불린 가변 영역의 CDR을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드는 프레임내에서 융합될 수 있지만, "융합된" CDR이 연속된 폴리펩티드의 일부로서 공동 번역되는 한, 적어도 하나의 번역글로불린 골격 영역 또는 추가의 CDR 영역을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드에 의해 이격되어 있을 수 있다.

[0099] 폴리펩티드와 관련하여, "선형 서열" 또는 "서열"은 폴리펩티드의 1차 구조에서 서열 중 서로 이웃하는 아미노산이 인접해 있는, 아미노 말단에서 카복실 말단 방향으로의 폴리펩티드 중의 아미노산의 배열이다. 폴리펩티드의 또 다른 부분에 대하여 "아미노 말단" 또는 "N 말단"인 폴리펩티드의 일부분은 순차적 폴리펩티드 쇄에서 더 앞에 오는 부분이다. 유사하게, 폴리펩티드의 또 다른 부분에 대하여 "카복시 말단" 또는 "C 말단"인 폴리펩티드의 일부분은 순차적 폴리펩티드 쇄에서 더 뒤에 오는 부분이다. 예를 들어, 전형적인 항체에서, 가변 도메인은 불변 영역에 대하여 "N 말단"에 있고, 불변 영역은 가변 도메인에 대하여 "C 말단"에 있다.

[0100] 본원에서 사용되는 바, "발현"이라는 용어는 유전자가 생화학물질, 예를 들어, 폴리펩티드를 제조하는 프로세스를 지칭한다. 상기 프로세스는, 제한 없이, 유전자 Nickdown 뿐만 아니라, 일시적 발현 및 안정적 발현, 둘 모두를 비롯한, 세포 내에서의 유전자의 기능적 존재가 일어나도록 하는 임의의 출현을 포함한다. 이는, 제한 없이, 유전자의 RNA, 예컨대, 메신저 RNA(mRNA)로의 전사, 및 상기 mRNA의 폴리펩티드(들)로의 번역을 포함한다. 원하는 최종 생성물이 생화학물질인 경우, 발현은 상기 생화학물질 및 임의의 전구체 생성을 포함한다. 유전자의 발현을 통해 "유전자 생성물"이 제조된다. 본원에서 사용되는 바, 유전자 생성물은 핵산, 예컨대, 유전자의 전사에 의해 제조된 메신저 RNA, 또는 전사체로부터 번역된 폴리펩티드일 수 있다. 본원에 기술된 유전자 생성물은 예컨대, 폴리아데닐화와 같은 전사 후 변형을 포함하는 핵산, 또는 예컨대, 메틸화, 글리코실화, 지질 부가, 다른 단백질 서브유니트와의 회합, 단백질분해 절단 등과 같은 번역 후 변형을 포함하는 폴리펩티드를 추가로 포함한다.

[0101] 예컨대, "치료하는" 또는 "치료" 또는 "치료하기 위해" 또는 "경감시키는" 또는 "경감시키기 위해"라는 용어는 진단받은 현 병적 상태 또는 장애의 증상을 치유하고/거나, 저속화시키고/거나, 감소시키고/거나, 그의 진행을 정지 또는 저속화시키는 치료학적 조치를 지칭한다. 예컨대, "예방하다," "예방," "방지하다," "제지"라는 용어 등은 진단 미확정의 표적화된 병적 상태 또는 장애의 발생을 막는 예방 또는 예방적 조치를 지칭한다. 따라서, "치료를 필요로 하는 대상"은 이미 장애를 앓는 대상; 상기 장애에 쉽게 걸리는 대상; 및 장애를 막고자 하는 대상을 포함할 수 있다.



- [0102] "피험체" 또는 "개체" 또는 "동물" 또는 "환자" 또는 "포유동물"이란, 진단, 예후, 또는 요법이 요구되는 임의의 피험체, 특히, 포유동물 피험체를 의미한다. 포유동물 피험체로는 인간, 가축, 농장 동물, 및 동물원 동물, 스포츠용 동물 또는 애완 동물, 예컨대, 개, 고양이, 기니아 피그, 토끼, 래트, 마우스, 말, 돼지, 소, 곰 등을 포함한다.
- [0103] 본원에서 사용되는 바, 예컨대, "요법이 도움이 되는 피험체" 및 "치료를 필요로 하는 동물"이라는 어구는 예컨대, 항체와 같은, 하나 이상의 항원 결합 도메인을 포함하는 결합 분자의 투여가 도움이 되는 피험체, 예컨대, 포유동물 피험체를 포함한다. 상기 결합 분자, 예컨대, 항체는 예컨대, 진단 절차를 위해 및/또는 질환의 치료 또는 예방을 위해 사용될 수 있다.
- [0104] IgM 결합 분자
- [0105] IgM은 항원에 의한 자극에 대한 반응으로 B 세포에 의해 생산되는 제1의 면역글로불린이고, 혈청 중에 약 1.5 mg/ml로 존재하며, 반감기는 5일이다. IgM은 이량체, 오량체, 또는 육량체 분자이다. IgM 결합 유닛은 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄를 포함한다. IgG가 3개의 중쇄 불변 도메인(CH1, CH2 및 CH3)을 함유하는 반면, IgM의 중쇄( $\mu$ )는 C 말단 "테일피스"를 포함하는 제4 불변 도메인(CH4)를 추가로 함유한다. 인간 IgM 불변 영역은 전형적으로 서열 번호: 47의 아미노산 서열을 포함한다. 인간 C $\mu$ 1 영역의 범위는 서열 번호: 47의 대략 아미노산 5에서부터 대략 아미노산 102까지이고; 인간 C $\mu$ 2 영역의 범위는 서열 번호: 47의 대략 아미노산 114에서부터 대략 아미노산 205까지이고, 인간 C $\mu$ 3 영역의 범위는 서열 번호: 47의 대략 아미노산 224에서부터 대략 아미노산 319까지이고, C $\mu$ 4 영역의 범위는 서열 번호: 47의 대략 아미노산 329에서부터 대략 아미노산 430까지이고, 테일피스의 범위는 서열 번호: 47의 대략 아미노산 431에서부터 대략 아미노산 453까지이다(표 2).
- [0106] 5개의 IgM 결합 유닛은 추가의 작은 폴리펩티드 쇄(J 쇄)와 함께 복합체를 형성함으로써 IgM 항체를 형성할 수 있다. 인간 J 쇄는 서열 번호: 49의 아미노산 서열을 포함한다(표 2). 전형적인 IgM 오량체는 도 2에 도시되어 있다. J 쇄 없이, IgM 결합 유닛은 전형적으로 육량체로 어셈블리된다. 전형적인 IgM 육량체는 도 2에 도시되어 있다. 이론에 의해 제한하고자 하지 않으면서, IgM 결합 유닛의 육량체 또는 오량체 결합 분자로의 어셈블리는 C $\mu$ 3 및 C $\mu$ 4 도메인을 포함하는 것으로 간주된다. 따라서, 본 개시내용에서 제공하는 육량체 또는 오량체 결합 분자는 전형적으로 적어도 C $\mu$ 3 및 C $\mu$ 4 도메인을 포함하는 IgM 불변 영역을 포함한다. 비환원적 폴리아크릴아미드 겔 전기영동에 의한 IgG 항체 및 IgM 항체 비교는 도 3에 제시되어 있다.
- [0107] IgM 중쇄 불변 영역은 C $\mu$ 2 도메인 또는 그의 단편, C $\mu$ 1 도메인 또는 그의 단편, 및/또는 다른 IgM 중쇄 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 결합 분자는 완전한 IgM 중쇄( $\mu$ ) 불변 도메인(예컨대, 서열 번호: 47), 또는 그의 변이체, 유도체, 또는 유사체를 포함할 수 있다.
- [0108] 오량체 또는 육량체 CD20 결합 분자
- [0109] 본 개시내용은 CD20, 예컨대, 인간 CD20에 특이적으로 결합할 수 있는 육량체 또는 오량체 결합 분자, 즉, 본원에 정의된 바와 같은 5 또는 6개의 "결합 유닛"를 포함하는 결합 분자를 제공한다. 본원에서 제공하는 결합 분자는 단일 결합 유닛으로 구성된 결합 분자, 예컨대, 2가 IgG 항체와 비교하였을 때 개선된 결합 특징 또는 생물학적 활성을 가질 수 있다. 특정 측면에서, 본 개시내용은 각 결합 유닛이 2개의 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함하는 것인, 각각 5 또는 6개의 2가 결합 유닛을 포함하는 오량체 또는 육량체 결합 분자를 제공한다. 특정 측면에서, 2개의 IgM 중쇄 불변 영역은 인간 중쇄 불변 영역이다.
- [0110] 본원에서 제공하는 결합 분자가 오량체인 경우, 결합 분자는 J 쇄, 또는 그의 기능성 단편, 또는 그의 변이체를 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, J 쇄는 이중 모이어티 또는 하나 이상의 이중 모이어티들, 예컨대, 이중 폴리펩티드 서열, 예컨대, 천연 서열 내로 도입된 외래 결합 도메인을 포함하는 변형된 J 쇄이다. 특정 측면에서, 외래 결합 도메인은 CD3, 예컨대, CD3 $\epsilon$ 에 특이적으로 결합한다. 특정 측면에서, 변형된 J 쇄는 V15J(서열 번호: 64) 또는 J15V(서열 번호: 66)를 포함한다.
- [0111] IgM 중쇄 불변 영역은, 단, 불변 영역이 결합 분자에서 원하는 기능을 할 수 있다면, 예컨대, 제2 IgM 불변 영역과 회합하여 항원 결합 도메인을 형성할 수 있거나, 또는 다른 결합 유닛과 회합하여 육량체 또는 오량체를 형성할 수 있다면, C $\mu$ 1 도메인, C $\mu$ 2 도메인, C $\mu$ 3 도메인, 및/또는 C $\mu$ 4 도메인 중 하나 이상의 것을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 개별 결합 유닛 내의 2개의 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 C $\mu$ 3 도메인 또는 그의 단편, C $\mu$ 4 도메인 또는 그의 단편, 테일피스(TP) 또는 그의 단편, 또는 C $\mu$ 3 도메인 C $\mu$  도메인, 및 TP 또는 그의 단편의 임의의 조합을 포함한다. 특정 측면에서, 개별 결합 유닛 내의 2개의 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 C $\mu$ 2 도메인 또는 그의 단편, C $\mu$ 1 도메인 또는 그의 단편, 또는 C $\mu$ 1 도메인 또는

그의 단편 및 C $\mu$ 2 도메인 또는 그의 단편을 추가로 포함한다.

[0112] 특정 측면에서, 주어진 결합 유니트 중의 2개의 IgM 중쇄 불변 영역은 각각 항원 결합 도메인, 예를 들어, 항체의 Fv 부분, 예컨대, 인간 또는 무린 항체의 VH 및 VL과 회합된다. 본원에서 제공하는 결합 분자에서, 결합 분자의 적어도 하나의 항원 결합 도메인은 항CD20 항원 결합 도메인, 즉, CD20, 예컨대, 인간 CD20에 특이적으로 결합할 수 있는 항원 결합 도메인이다.

[0113] IgA 결합 분자

[0114] IgA는 점막 면역에서 중요한 역할을 하고, 생산되는 전체 면역글로불린의 약 15%를 차지한다. IgA는 단량체 또는 이량체 분자이다. IgA 결합 유니트는 전형적으로 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄를 포함한다. IgA는 3개의 중쇄 불변 도메인(C $\alpha$ 1, C $\alpha$ 2 및 C $\alpha$ 3)을 함유하고, C 말단 "테일피스"를 포함한다. 인간 IgA는 2개의 하위유형 IgA1 및 IgA2를 가진다. 인간 IgA1 불변 영역은 전형적으로 서열 번호: 59의 아미노산 서열을 포함한다. 인간 C $\alpha$ 1 영역의 범위는 서열 번호: 59의 대략 아미노산 6에서부터 대략 아미노산 98까지이고; 인간 C $\alpha$ 2 영역의 범위는 서열 번호: 59의 대략 아미노산 125에서부터 대략 아미노산 220까지이고, 인간 C $\alpha$ 3 영역의 범위는 서열 번호: 59의 대략 아미노산 228에서부터 대략 아미노산 330까지이고, 테일피스의 범위는 서열 번호: 59의 대략 아미노산 331에서부터 대략 아미노산 352까지이다(표 2). 인간 IgA2 불변 영역은 전형적으로 서열 번호: 60의 아미노산 서열을 포함한다. 인간 C $\alpha$ 1 영역의 범위는 서열 번호: 60의 대략 아미노산 6에서부터 대략 아미노산 98까지이고(표 2); 인간 C $\alpha$ 2 영역의 범위는 서열 번호: 60의 대략 아미노산 112에서부터 대략 아미노산 207까지이고, 인간 C $\alpha$ 3 영역의 범위는 서열 번호: 60의 대략 아미노산 215에서부터 대략 아미노산 317까지이고, 테일피스의 범위는 서열 번호: 60의 대략 아미노산 318에서부터 대략 아미노산 340까지이다.

[0115] 2개의 IgA 결합 유니트는 2개의 추가의 폴리펩티드 쇄, J 쇄(서열 번호: 49) 및 분비 성분(서열 번호: 62)과 함께 복합체를 형성함으로써 분비성 IgA(sIgA: secretory IgA) 항체를 형성할 수 있다. 이론에 의해 제한하고자 하지 않으면서, IgA 결합 유니트의 이량체 sIgA 결합 분자로의 어셈블리는 C $\alpha$ 3 및 테일피스 도메인을 포함하는 것으로 간주된다. 따라서, 본 개시내용에서 제공하는 이량체 sIgA 결합 분자는 전형적으로 적어도 C $\alpha$ 3 및 테일피스 도메인을 포함하는 IgA 불변 영역을 포함한다.

[0116] IgA 중쇄 불변 영역은 C $\alpha$ 2 도메인 또는 그의 단편, C $\alpha$ 1 도메인 또는 그의 단편, 및/또는 다른 IgA 중쇄 도메인을 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 결합 분자는 완전한 IgA 중쇄( $\alpha$ ) 불변 도메인(예컨대, 서열 번호: 59 또는 서열 번호: 60), 또는 그의 변이체, 유도체, 또는 유사체를 포함할 수 있다.

[0117] 이량체 CD20 결합 분자

[0118] 본 개시내용은 CD20, 예컨대, 인간 CD20에 특이적으로 결합할 수 있는 이량체 결합 분자, 예컨대, 본원에 정의된 바와 같은 2개의 IgA "결합 유니트"를 포함하는 결합 분자를 제공한다. 본원에서 제공하는 이량체 결합 분자는 단일 결합 유니트로 구성된 결합 분자, 예컨대, 2가 IgG 항체와 비교하였을 때 개선된 결합 특징 또는 생물학적 활성을 가질 수 있다. 예를 들어, IgA 결합 분자는 본원에서 제공하는 결합 분자를 더욱 큰 조직 분포를 제공하면서, 점막 부위에 도달할 수 있다. 특정 측면에서, 본 개시내용은, 각 결합 유니트가 2개의 IgA 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함하는 것인 2개의 2가 결합 유니트를 포함하는 이량체 결합 분자를 제공한다. 특정 측면에서, 2개의 IgA 중쇄 불변 영역은 인간 중쇄 불변 영역이다.

[0119] 본원에서 제공하는 이량체 IgA 결합 분자는 J 쇄, 또는 그의 단편, 또는 그의 변이체를 추가로 포함할 수 있다. 본원에서 제공하는 이량체 IgA 결합 분자는 분비 성분, 또는 그의 단편, 또는 그의 변이체를 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, J 쇄는 이중 모이어티 또는 하나 이상의 이중 모이어티들, 예컨대, 이중 폴리펩티드, 예컨대, 천연 서열 내로 도입된 외래 결합 도메인을 포함하는 변형된 J 쇄이다. 특정 측면에서, 외래 결합 도메인은 CD3, 예컨대, CD3 $\epsilon$ 에 특이적으로 결합한다. 특정 측면에서, 변형된 J 쇄는 V15J(서열 번호: 64) 또는 J15V(서열 번호: 66)를 포함한다.

[0120] IgA 중쇄 불변 영역은, 단, 불변 영역이 결합 분자에서 원하는 기능을 할 수 있다면, 예컨대, 경쇄 불변 영역과 회합하여 항원 결합 도메인의 형성을 촉진시키거나, 또는 또 다른 IgA 결합 유니트와 회합하여 이량체 결합 분자를 형성한다면, C $\alpha$ 1 도메인, C $\alpha$ 2 도메인, 및/또는 C $\alpha$ 3 도메인 중 하나 이상의 것을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 개별 결합 유니트 내의 2개의 IgA 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 C $\alpha$ 3 도메인 또는 그의 단편, 테일피스(TP) 또는 그의 단편, 또는 C $\alpha$ 3 도메인, TP, 또는 그의 단편의 임의의 조합을 포함한다. 특정 측면에서, 개별 결합 유니트 내의 2개의 IgA 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 C $\alpha$ 2 도메인 또는 그의 단편, C $\alpha$ 1 도메인 또는 그의 단편, 또는 C $\alpha$ 1 도메인 또는 그의 단편 및 C $\alpha$ 2 도메인 또는 그의 단편을 추가로 포함

한다.

- [0121] 특정 측면에서, 주어진 항원 결합 도메인 중의 2개의 IgA 중쇄 불변 영역은 각각 항원 결합 도메인, 예를 들어, 항체의 Fv 부분, 예컨대, 인간 또는 유인 항체의 VH 및 VL과 회합된다. 본원에서 제공하는 결합 분자에서, 결합 분자의 적어도 하나의 항원 결합 도메인은 항CD20 항원 결합 도메인, 즉, CD20, 예컨대, 인간 CD20 항원 결합 도메인이다.
- [0122] 변형된 J 쇠
- [0123] 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 CD20 결합 분자는 변형된 J 쇠를 도입한, 이중특이적인 것일 수 있다. 본원에서 및 PCT 공개 번호 WO 2015/153912에서 제공하는 바와 같이, 변형된 J 쇠는 예를 들어, 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 폴리펩티드 결합 도메인을 포함할 수 있는 이중 모이어티, 예컨대, 이중 폴리펩티드, 예컨대, 외래 결합 도메인을 포함할 수 있다. 결합 도메인은 예를 들어, 항체 또는 그의 항원 결합 단편, 항체-약물 컨쥬게이트 또는 그의 항원 결합 단편, 또는 항체 유사 분자일 수 있다. 폴리펩티드 결합 도메인은 부가 위치 및 유형(예컨대, 직접 또는 간접 융합, 화학적 테더링)을 적절히 선택함으로써 J 쇠 내로 도입될 수 있다.
- [0124] 특정 측면에서, 결합 도메인은 단일특이적, 이중특이적, 및 다중특이적 항체 및 항체 단편을 비롯한, 항체 또는 항원 결합 단편일 수 있다. 항체 단편은 제한 없이, Fab 단편, Fab' 단편, F(ab')<sub>2</sub> 단편, scFv, (scFv)<sub>2</sub> 단편, 단일 쇠 항체 분자, 미니바디, 또는 항체 단편으로부터 형성된 다중특이적 항체일 수 있다. 특정 측면에서, 항체 단편은 scFv이다.
- [0125] 다른 측면에서, 결합 도메인은 항체 유사 분자, 예를 들어, 인간 도메인 항체(dAb: domain antibody), 이중-친화도 재-표적화(DART: Dual-Affinity Re-Targeting) 분자, 디아바디, 디-디아바디, 이중 가변 도메인 항체, 적층 가변(Stacked Variable) 도메인 항체, 소형 조절 면역 약물(SMIP: Small Modular ImmunoPharmaceutical), 수로바디(Surrobody), 가닥 교환 조작 도메인(SEED: strand-exchange engineered domain) 바디, 또는 TandAb 일 수 있다.
- [0126] 결합 도메인은, 수용자 IgM 또는 IgA 분자의 그의 결합 표적에 또는 결합 표적들에의 결합, 또는 IgA 이량체 또는 IgM 오량체 내로 효과적으로 도입될 수 있는 J 쇠의 능력을 방해하지 않으면서, 결합 도메인이 그의 결합 표적에 결합할 수 있도록 허용하는 임의 위치에서 천연 J 쇠 서열 내로 도입될 수 있다. 특정 측면에서, 결합 도메인은 J 쇠의 3차원 구조의 접근 가능성에 기초하여 C 말단에 또는 그 근처에, 또는 성숙한 N 말단(즉, 신호 펩티드 절단 후 서열 번호: 49의 아미노산 번호 23)에 또는 그 근처에, 또는 내부 위치에 삽입될 수 있다. 특정 측면에서, 결합 도메인은 서열 번호: 49의 C 말단으로부터 약 10개의 잔기가 없는, 또는 성숙한 N 말단으로부터 약 10개의 아미노산 잔기가 없는 천연 서열 J 쇠 내로 도입될 수 있다. 또 다른 측면에서, 결합 도메인은 서열 번호: 49의 시스테인 잔기 114와 123 사이의 서열 번호: 49의 천연 서열 인간 J 쇠 내로, 또는 또 다른 천연 서열 J 쇠의 등가 위치에 도입될 수 있다. 추가 측면에서, 결합 도메인은 글리코실화 부위에 또는 그 근처에 천연 서열 J 쇠, 예컨대, 서열 번호: 49의 J 쇠 내로 도입될 수 있다. 특정 측면에서, 결합 도메인은 C 말단으로부터 약 10개의 잔기가 없는 서열 번호: 49의 천연 서열 인간 J 쇠 내로 도입될 수 있다.
- [0127] 도입은 직접 또는 간접 융합에 의해, 즉, 펩티드 링커와 함께 또는 없이, 그를 코딩하는 뉴클레오티드 서열의 프레임내 조합에 의해 한 폴리펩티드 쇠로의 J 쇠 및 결합 도메인의 조합에 의해 달성될 수 있다. 펩티드 링커(간접 융합)가 사용될 경우, 그의 길이는 약 1 내지 50개, 또는 약 1 내지 40개, 또는 약 1 내지 30개, 또는 약 1 내지 20개, 또는 약 1 내지 10개, 또는 약 10 내지 20개의 아미노산 길이일 수 있고, J 쇠 서열 내로 도입되는 결합 도메인의 한쪽 단부 또는 양단에 존재할 수 있다. 특정 측면에서, 펩티드 링커 길이는 약 10 내지 20개, 또는 10 내지 15개의 아미노산 길이이다. 특정 측면에서, 펩티드 링커 길이는 15개의 아미노산 길이이다. 특정 측면에서, 펩티드 링커는 (GGGGS)<sub>3</sub>(서열 번호: 67)이다.
- [0128] 또한, 1 초과와 이중 폴리펩티드, 예컨대, 1 초과와 결합 도메인을 J 쇠 내로 도입시킬 수 있다.
- [0129] 변형된 J 쇠는 널리 공지된 재조합 DNA 기술 기법에 의해 변형된 J 쇠를 코딩하는 핵산을 적합한 원핵 또는 진핵 숙주 유기체에서 발현시킴으로써 제조될 수 있다.
- [0130] 변형된 J 쇠는 또한 본원 어디에나 기술되어 있는 바와 같은 수용자 IgM 또는 IgA 결합 분자의 중쇄 및 경쇄와 함께 공동 발현될 수 있다. 변형된 J 쇠 도입 이전에, 수용자 결합 분자는 단일특이적, 이중특이적 또는 다중특이적, 예컨대, 단일특이적, 이중특이적, 또는 다중특이적 IgA 또는 IgM 항체일 수 있다. 항체를 비롯한, 이중특이적 및 다중특이적 IgM 및 IgA 결합 분자는 미국 출원 시리얼 번호 61/874,277 및 61/937,984(상기 문헌의 내

용은 전문이 본원에서 명확하게 참조로 포함된다)에 기술되어 있다.

- [0131] 특정 측면에서, 본원에 기술된 바와 같은 항CD20 IgM 또는 IgA 결합 분자는 면역 이펙터 세포, 예컨대, T 세포, NK 세포, 대식세포, 또는 호중구에 대하여 결합 특이성을 가지는 변형된 J쇄를 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 이펙터 세포는 T 세포이고, 결합 표적은 CD3(하기 논의)이다. 이펙터 세포, 예컨대, 이펙터 T 세포를 활성화시키고, 이를 CD20 발현 B 세포, 예컨대, 악성 B 세포로 재유도함으로써, 본원에서 제공하는 이중특이적 항CD20 x 항CD3 IgM 또는 IgA 결합 분자는 예컨대, 보체 매개 세포독성 및/또는 항체 의존성 세포성 세포독성(ADCC)을 포함하는 반응인, 표적에 대한 면역 반응을 증진시킴으로써, 이로써, 효력 및 효능을 추가로 증가시킬 수 있다. 특정 측면에서, 변형된 J쇄를 포함하는, 본원에서 제공하는 이중특이적 항CD20 x 항CD3 IgM 또는 IgA 결합 분자는 B 세포 관련 암 치료를 위해 사용될 수 있다.
- [0132] T 세포의 경우, 분화 클러스터 3(CD3: cluster of differentiation 3)은 역사적으로 T3 복합체로서 공지되어 있는 다량체 단백질이고, 3개의 이량체 쌍( $\epsilon\gamma$ ,  $\epsilon\delta$ ,  $\zeta\zeta$ )으로서 어셈블리되고, 작용하는 4개의 상이한 폴리펩티드쇄( $\epsilon$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\zeta$ )로 구성된다. CD3 복합체는 T 세포 수용체(TCR: T cell receptor)와 비공유적으로 회합하는 T 세포 공수용체로서 작용한다. 이 CD3 복합체의 성분, 특히 CD3 $\epsilon$ 이 본원에서 제공하는 이중특이적 IgM 또는 IgA 결합 분자의 변형된 J쇄에 대한 표적일 수 있다.
- [0133] 특정 측면에서, 이중특이적 항CD20 x 항CD3 IgM 또는 IgA 결합 분자는 항체 결합 도메인을 통해 CD20에 결합하고, 동시에, J쇄는 CD3 $\epsilon$ 에 결합하도록 변형된다.
- [0134] 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 변형된 J쇄의 항CD3 $\epsilon$  결합 도메인은 scFv이다. 항CD3 $\epsilon$  scFv는 직접적으로, 또는 scFv와 J쇄 서열 사이에 도입된 합성 링커, 예컨대, (GGGS)<sub>3</sub> 링커(서열 번호: 67)를 이용하여 간접적으로 J쇄의 N 말단에 또는 그 근처에서, 또는 J쇄의 C 말단에 또는 그 근처에서 융합될 수 있다. 특정 측면에서, scFv는 비실리주맵(Nuvion)의 VH 및 VL 영역을 포함한다. 특정 측면에서, 변형된 J쇄는 비실리주맵의 VH, (GGGS)<sub>3</sub> 링커, 및 비실리주맵의 VL을 포함한다.
- [0135] 특정 측면에서, 변형된 J쇄는 15개의 아미노산(GGGS)<sub>3</sub> 링커를 통해 인간 J쇄의 N 말단에 융합된 비실리주맵의 scFv를 포함하고, 변형된 J쇄는 본원에서 V15J로 지칭된다. V15J는 IgM 또는 IgA 결합 분자로의 수송 및 어셈블리를 촉진시킬 수 있는 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 성숙한 V15J 단백질은 서열 번호: 64로서 제시되고, 19개의 아미노산-면역글로불린 중쇄 신호 펩티드를 포함하는 전구체 버전은 서열 번호: 63으로서 제시된다. 특정 측면에서, 변형된 J쇄는 15개의 아미노산(GGGS)<sub>3</sub> 링커를 통해 인간 J쇄의 C 말단에 융합된 비실리주맵의 scFv를 포함하고, 변형된 J쇄는 본원에서 J15V로 지칭된다. J15V는 IgM 또는 IgA 결합 분자로의 수송 및 어셈블리를 촉진시킬 수 있는 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 성숙한 J15V 단백질은 서열 번호: 65로서 제시되고, 22개의 아미노산-인간 J쇄 신호 펩티드를 포함하는 전구체 버전은 서열 번호: 66으로서 제시된다. 특정 측면에서, 다른 신호 펩티드가 사용될 수 있다. 적합한 신호 펩티드를 선택하고, 포함시켜 변형된 J쇄의 발현, 분비, 및 본원에서 제공하는 항CD20 IgM 또는 IgA 결합 분자 내로의 도입을 촉진시키는 것은 당업계의 숙련가의 능력 범위 내에 잘 포함되어 있을 것이다.
- [0136] CD20 결합 도메인
- [0137] 특정 측면에서, CD20 항원 결합 도메인은 6개의 면역글로불린 상보성 결정 영역 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하고, 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 CDR은 미국 특허 공개 번호 2007-0014720에 개시된 1.5.3의 상응하는 CDR과 관련이 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 39, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 40, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2를 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 41, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 43, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 44, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2를 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 45, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 45의 아미노산



서열을 포함하는 LCDR3을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 상기 기술된 바와 같은 CDR 아미노산 서열 중 임의의 1개, 임의의 2개, 임의의 3개, 임의의 4개, 임의의 5개, 또는 6개 모두를 포함할 수 있다. 특정 측면에서, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3, 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다.

[0138] 특정 측면에서, CD20 항원 결합 도메인은 항체 중쇄 가변 영역(VH) 및 항체 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하고, VH 영역, VL 영역, 또는 VH 및 VL 영역, 둘 모두 미국 특허 공개 번호 2007-0014720에 개시된 1.5.3의 상응하는 VH 및 VL과 관련이 있다. 특정 측면에서, VH는 서열 번호: 38과 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, VL은 서열 번호: 42와 적어도 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, VH는 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 포함하고, VL은 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 포함한다.

[0139] 각종의 상이한 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자가 본 개시내용에 기초하여 당업계의 숙련가에 의해 고려될 수 있고, 이로써, 본 개시내용에 포함되지만, 특정 측면에서, 각 결합 유닛이, 각각이 IgA 또는 IgM 불변 영역 또는 그의 단편에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VH를 포함하는 것인 2개의 IgA 또는 IgM 중쇄, 및 각각이 면역글로불린 경쇄 불변 영역에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VL을 포함하는 것인 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함하는 것인, 상기 기술된 바와 같은 결합 분자를 제공한다.

[0140] 더욱이, 특정 측면에서, 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛, 또는 결합 분자의 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛(들)은 상기 기술된 바와 같은 2개의 CD20 항원 결합 도메인을 포함한다. 특정 측면에서, 결합 분자의 결합 유닛 중 2개의 CD20 항원 결합 도메인, 또는 결합 분자의 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 결합 유닛은 서로 상이할 수 있거나, 또는 이는 동일할 수 있다.

[0141] 특정 측면에서, 결합 분자의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 결합 유닛(들) 내의 2개의 IgM 중쇄는 동일한 것이다. 특정 측면에서, 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛 내의, 또는 결합 분자의 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛 내의 2개의 동일한 IgM 중쇄는 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함한다.

[0142] 특정 측면에서, 결합 분자의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 결합 유닛(들) 내의 2개의 경쇄는 동일한 것이다. 특정 측면에서, 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛 내의, 또는 결합 분자의 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛 내의 2개의 동일한 경쇄는 카파 경쇄, 예컨대, 인간 카파 경쇄, 또는 람다 경쇄, 예컨대, 인간 람다 경쇄이다. 특정 측면에서, 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛 내의, 또는 결합 분자의 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛 내의 2개의 동일한 경쇄는 각각 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함한다.

[0143] 특정 측면에서, 본 개시내용에 의해 제공되는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자의 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛(들)은 각각, 각각이 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함하는 것인 2개의 동일한 IgM 중쇄, 및 각각이 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함하는 것인 2개의 동일한 경쇄를 포함한다. 본 측면에 따라, 결합 분자의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 결합 유닛(들) 중의 CD20 항원 결합 도메인은 동일한 것일 수 있다. 추가로, 본 측면에 따라, 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 또는 적어도 12개의, 상기 기술된 바와 같은 CD20 항원 결합 도메인의 카피를 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛은 동일할 수 있고, 특정 측면에서, 결합 유닛은 동일한 항원 결합 도메인을 포함할 수 있고, 예컨대, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 또는 적어도 12개의 CD20 항원 결합 도메인은 동일한 것일 수 있다. 특정 측면에서, 동일한 CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 가지는 VH, 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 가지는 VL을 포함할 수 있다.

[0144] 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자는 다른 결합 분자와 비교하였을 때, 유익한 구조적 또는 기능적 특성을 가질 수 있다. 예를 들어, 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자는 시험관내 또는 생체내에서의 생물학적 검정법에서 상응하는 결합 분자, 예컨대, 미국 특허 공개 번호 2007-0014720에 개시된 바와 같은 IgG1 1.5.3보다 개선된 활성을 가질 수 있다. 생물학적 검정법으로는 보체의

존성 세포성 세포독성(CDC) 및 항체 의존성 세포성 세포독성(ADCC)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

- [0145] 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는, CD20 항원 결합 도메인과 동일한 CD20 에피토프에 특이적으로 결합하는 등가량의 단일특이적, 2가 IgG1 항체 또는 그의 단편, 예컨대, 인간 IgG1, 및 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 가지는 VH 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 가지는 VL을 포함하는 1.5.3의 IgG1 버전보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포, 예컨대, CD20 발현 B 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는 등가량의 단일특이적, 2가 CD20 단일클론 항체 또는 그의 단편보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포, 예컨대, CD20 발현 B 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있고, 항체는 예컨대, 리톡시맵(Genentech), 오파투무맵(Glaxo SmithKline), 벨투주맵(Takeda), 오키라투주맵(Lilly), 토시투모맵(Glaxo SmithKline), 또는 오비누투주맵(Roche/Genentech)이거나, 또는 그와 동일한 VH 및 VL 영역을 포함한다.
- [0146] "효력"은 주어진 생물학적 결과를 달성하는 데, 예컨대, 주어진 검정법, 예컨대, CDC 또는 검정법에서 세포의 50%를 사멸시키는 데 필요한 주어진 결합 분자의 최소량(IC<sub>50</sub>)을 의미한다. 효력은 Y축은 세포의 생존율(%)이고, X축은 결합 분자 농도(예컨대,  $\mu\text{g/ml}$  또는  $\mu\text{M}$ )인 곡선으로 표시될 수 있다.
- [0147] 특정 측면에서, CDC는 시험관내에서 측정될 수 있고, CD20 발현 세포는 무한증식(불멸화) 세포주, 예컨대, B 세포 림프종 세포주, 예컨대, 라모스 세포주, 라지 세포주, 다우디 세포주, 나말와 세포주, 그란타 세포주, Z138 세포주, DoHH2 세포주, 또는 DB 세포주일 수 있다. 유사한 세포주가 공지되어 있고, 이는 당업계의 숙련가에 의해 쉽게 입수된다.
- [0148] 특정 측면에서, CDC는 시험관내 또는 생체내에서 측정 또는 입증될 수 있고, CD20 발현 세포주는 피험체, 예컨대, 인간 암 환자로부터, 또는 그에서 수득되는 악성 B 세포, 예컨대, 림프종, 백혈병, 또는 골수종과 관련된 B 세포이다. 특정 측면에서, 암은 통상의 요법, 예컨대, 화학요법, 또는 예컨대, 리톡시맵(Genentech), 오파투무맵(Glaxo SmithKline), 벨투주맵(Takeda), 오키라투주맵(Lilly), 토시투모맵(Glaxo SmithKline), 또는 오비누투주맵(Roche/Genentech) 중 하나 이상의 것을 이용하는 단일클론 항체 요법에 대하여 최소 반응성 또는 비반응성이다. 특정 측면에서, 본원, 예컨대, **표 5**에 기술된 결합 도메인 중 임의의 하나 이상의 것을 포함하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자를 제공한다.
- [0149] 특정 측면에서, ADCC는 시험관내에서 T 세포 활성화 검정법을 통해, 예컨대, 본원에서 제공하는 이중특이적 항 CD20 x 항CD3 IgM 결합 분자의 존재하에서 CD20 발현 B 세포 및 조작된 CD3 발현 T 세포를 공동 배양하고, 사이토카인 방출, 표적 세포 용해, 또는 다른 검출 방법을 통해 T 세포 활성화를 측정함으로써 측정될 수 있다. 특정 측면에서, ADCC는 T 세포 유도성 B 세포 사멸을 통해 측정될 수 있다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 무한증식 세포주, 예컨대, B 세포 림프종 세포주, 예컨대, 라모스 세포주, 라지 세포주, 다우디 세포주, 나말와 세포주, 그란타 세포주, Z138 세포주, DoHH2 세포주, 또는 DB 세포주일 수 있다. 유사한 세포주가 공지되어 있고, 이는 당업계의 숙련가에 의해 쉽게 입수된다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포주는 B 세포 관련 암을 앓는 환자로부터 유래될 수 있다.
- [0150] 특정 측면에서, 예컨대, CDC, ADCC에 의한 CD20+ 세포의 사멸, 및 다른 모드의 사멸, 예컨대, 아포토시스 전체는 시험관내에서 T 세포 및 보체, 둘 모두를 포함하는 전혈을 이용하는 검정법으로 시험될 수 있다.
- [0151] 특정 측면에서, 예컨대, 결합 분자가, 각각이 예컨대, 1.5.3의 VH 및 VL을 포함하는 2개의 동일한 CD20 결합 도메인을 포함하는 것인 5개의 동일한 결합 유닛을 포함하는 오량체 결합 분자인 경우, 예컨대, CD20 발현 라지 세포주를 사용하여 CDC 검정법에서 시험되었을 때, 결합 분자는 예컨대,  $\mu\text{g/ml}$ 로 측정된 바, 등가량의 단일특이적 2가 IgG1 항체, 예컨대, 1.5.3 또는 리톡시맵의 IC<sub>50</sub>보다 적어도 1배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 150배, 적어도 200배 이상 더 낮은 IC<sub>50</sub>으로 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 라모스 세포주이고, 결합 분자는 예컨대, 물 당량으로 측정된 바, 등가량의 단일특이적 2가 IgG1 항체의 IC<sub>50</sub>보다 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 60배, 적어도 70배, 적어도 80배, 적어도 90배, 또는 적어도 100배 더 낮은 IC<sub>50</sub>으로 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다.
- [0152] 특정 측면에서, 각각이 본원에서 제공하는 바와 같이, 예컨대, 1.5.3의 VH 및 VL, 또는 리톡시맵의 VH 및 VL + 야생형 또는 변형된 J 쇄를 포함하는 2개의 동일한 결합 도메인을 포함하는 것인 5개의 동일한 결합 유닛을

포함하는 오량체 결합 분자는 더 낮은 CD20 발현 수준을 보이는 세포에서 수행된 CDC 검정법에서 증가된 효력을 보일 수 있다. 예를 들어, CD20 발현 DoHH2(CD20 높은 발현) 및 Z138(CD20 낮은 발현) 세포주를 사용하는 CDC 검정법에서 시험된 리톡시맙 유래 항인간 CD20 IgM+J 또는 1.5.3 항CD20 IgM+J는 예컨대, 몰 당량으로 측정된 바, 등가량의 단일특이적 2가 IgG1 항체 등가물, 예컨대, 리톡시맙(IgG1), 또는 1.5.3(IgG1)의 IC<sub>50</sub>보다 적어도 1배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 150배, 적어도 200배 이상 더 낮은 IC<sub>50</sub>으로 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다. 특정 측면에서, Z138(CD20 낮은 발현) 세포주를 사용하는 CDC 검정법에서 시험된 리톡시맙 유래 항인간 CD20 IgM+J 및 1.5.3 항CD20 IgM+J는, 등가물인 IgG 분자를 사용하였을 때, 심지어는 100 nM 농도에서도 50% 사멸(EC<sub>50</sub>)이 달성될 수 없는 조건하에서도 세포주의 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다.

[0153] 특정 측면에서, 각각이 본원에서 제공하는 바와 같이, 예컨대, 1.5.3의 VH 및 VL, 또는 리톡시맙의 VH 및 VL + 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇠, 예컨대, V15J 또는 J15V를 포함하는 2개의 동일한 결합 도메인을 포함하는 것인 5개의 동일한 결합 유닛을 포함하는 이중특이적 오량체 결합 분자는 ADCC 검정법에서 증가된 효력을 보일 수 있다. 예를 들어, 예컨대, 조작된 주르카트 T 세포와 함께 공동 배양된 CD20 발현 DB 세포주를 사용하는 T 세포 활성화 검정법에서 시험된 리톡시맙 유래 항인간 CD20 IgM+ V15J 또는 J15V, 또는 1.5.3 항CD20 IgM+ V15J 또는 J15V는 등가량의, B 세포 및 T 세포에 결합하는 1가 이중특이적 결합 분자, 예컨대, 이중특이적 항CD19(1가) x 항CD3(1가) 분자 블리나투모맙의 IC<sub>50</sub>보다 적어도 1배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 150배, 적어도 200배 이상 더 낮은 IC<sub>50</sub>으로 T 세포 매개 사멸을 촉진시킬 수 있다.

[0154] 특정 측면에서, 각각이 본원에서 제공하는 바와 같이, 예컨대, 1.5.3의 VH 및 VL, 또는 리톡시맙의 VH 및 VL + 야생형 J 쇠 또는 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇠, 예컨대, V15J 또는 J15V를 포함하는 2개의 동일한 결합 도메인을 포함하는 것인 5개의 동일한 결합 유닛을 포함하는 단일특이적 또는 이중특이적 오량체 결합 분자는 전혈 시험관내 세포독성 검정법에서 증가된 효력을 보일 수 있다. 예를 들어, 히루딘(Hirudin) 항응고된 인간 혈액과 함께 공동 배양된 CD20 발현 KILR™ ARH-77 세포주를 사용하는 KILR™ 시험관내 세포독성 검정법에서 시험된 1.5.3 항CD20 IgM+ V15J 또는 J15V, 또는 1.5.3 항CD20 IgM+J는 등가량의, 단일특이적 2가 항CD20 결합 분자, 예컨대, 1.5.3 IgG, 또는 B 세포 및 T 세포에 결합하는 1가 이중특이적 결합 분자, 예컨대, 이중특이적 항CD19(1가) x 항CD3(1가) 분자 블리나투모맙의 IC<sub>50</sub>보다 적어도 적어도 1배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 150배, 적어도 200배 이상 더 낮은 IC<sub>50</sub>으로 KILR™ ARH-77 세포주의 사멸을 달성할 수 있다.

[0155] 특정 측면에서, 각각이 본원에서 제공하는 바와 같이, 예컨대, 1.5.3의 VH 및 VL, 또는 리톡시맙의 VH 및 VL + 야생형 J 쇠 또는 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇠, 예컨대, V15J 또는 J15V를 포함하는 2개의 동일한 결합 도메인을 포함하는 것인 5개의 동일한 결합 유닛을 포함하는 단일특이적 또는 이중특이적 오량체 결합 분자는 본원 다른 곳에도 기술되어 있는 바와 같이, 생체내에서, 예를 들어, 인간화 마우스 모델에서 유의적인 B 세포 사멸을 보일 수 있다.

[0156] 폴리뉴클레오티드, 벡터, 및 숙주 세포

[0157] 본 개시내용은 상기 기술된 바와 같은 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자의 폴리펩티드 서브유닛을 코딩하는 핵산 서열을 포함하는, 폴리뉴클레오티드, 예컨대, 단리된, 제조합 및/또는 비자연적으로 발생된 폴리뉴클레오티드를 추가로 제공한다. "폴리펩티드 서브유닛"란, 독립적으로 번역될 수 있는 결합 분자, 결합 유닛, 또는 항원 결합 도메인의 일부분을 의미한다. 예로는 제한 없이, 항체 가변 도메인, 예컨대, VH 또는 VL, 단일 쇠 Fv, 항체 중쇄, 항체 경쇄, 항체 중쇄 불변 영역, 항체 경쇄 불변 영역, 및/또는 그의 임의 단편을 포함한다.

[0158] 특정 측면에서, 폴리펩티드 서브유닛은 IgA 또는 IgM 중쇄 불변 영역 및 적어도 CD20 항원 결합 도메인의 항체 VH 부분을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 폴리뉴클레오티드는 VH의 C 말단 단부에 융합된 인간 IgA 또는 IgM 불변 영역 또는 그의 단편을 포함하는 폴리펩티드 서브유닛을 코딩할 수 있고, VH는 HCDR1, HCDR2, 및 HCDR3을 포함하고, HCDR1은 서열 번호: 39, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 39의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR2는 서열 번호: 40, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 40

의 아미노산 서열을 포함하고; HCDR3은 서열 번호: 41, 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 41의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 VH는 서열 번호: 38과 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 측면에서, 폴리펩티드 서브유니트는 서열 번호: 56의 아미노산 서열을 포함한다.

[0159] 특정 측면에서, 폴리펩티드 서브유니트는 상기 기술된 바와 같이 CD20 항원 결합 도메인 항체 VL 부분을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 폴리펩티드 서브유니트는 VL의 C 말단 단부에 융합된 인간 항체 경쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함할 수 있고, VL은 LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하고, LCDR1은 서열 번호: 43, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 43의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR2는 서열 번호: 44, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 44의 아미노산 서열을 포함하고; LCDR3은 서열 번호: 45, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 45의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는 VL은 서열 번호: 42와 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 측면에서, 폴리펩티드 서브유니트는 서열 번호: 58의 아미노산 서열을 포함한다.

[0160] 특정 측면에서, 폴리펩티드 서브유니트는 상기 및/또는 표 5에 기술된 VH 또는 VL 아미노산 서열 중 임의의 하나 이상의 것을 포함하는 CD20 항원 결합 도메인의 항체 VH 또는 항체 VL 부분을 포함할 수 있다.

[0161] 본 개시내용은 2개 이상의 폴리뉴클레오티드가 집합적으로 상기 기술된 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자를 코딩할 수 있는 것인, 2개 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물을 추가로 제공한다. 특정 측면에서, 조성물은, IgA 또는 IgM 중쇄가 적어도 CD20 항원 결합 도메인의 VH를 포함하는 것인, IgA 또는 IgM 중쇄 또는 그의 단편, 예컨대, 상기 기술된 바와 같은 인간 IgA 또는 IgM 중쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드, 및 적어도 CD20 항원 결합 도메인의 VL를 포함하는 경쇄 또는 그의 단편, 예컨대, 인간 카파 또는 람다 경쇄를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 제공하는 폴리뉴클레오티드 조성물은 J 쇄, 예컨대, 인간 J 쇄, 또는 그의 단편 또는 그의 변이체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 조성물을 구성하는 폴리뉴클레오티드는 2 또는 3개의 별개의 벡터, 예컨대, 발현 벡터들 상에 위치해 있을 수 있다. 상기 벡터가 본 개시내용에 의해 제공된다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 조성물을 구성하는 폴리뉴클레오티드 중 2개 이상의 것은 단일 벡터, 예컨대, 한 발현 벡터 상에 위치해 있을 수 있다. 상기 벡터가 본 개시내용에 의해 제공된다.

[0162] 본 개시내용은 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자를 코딩하는 한 폴리뉴클레오티드 또는 2개 이상의 폴리뉴클레오티드 또는 그의 임의의 서브유니트, 본원에서 제공하는 폴리뉴클레오티드 조성물, 또는 집합적으로 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자, 또는 그의 임의의 서브유니트를 코딩하는 한 벡터 또는 2, 3개 이상의 벡터들을 포함하는 숙주 세포, 예컨대, 원핵 또는 진핵 숙주 세포를 추가로 제공한다. 특정 측면에서, 본 개시내용에 의해 제공되는 숙주 세포는 본 개시내용에 의해 제공되는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자, 또는 그의 서브유니트를 발현할 수 있다.

[0163] 관련된 측면에서, 본 개시내용은 상기 기술된 숙주 세포를 배양하는 단계, 및 결합 분자를 회수하는 단계를 포함하는, 본 개시내용에 의해 제공되는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자를 제조하는 방법을 제공한다.

[0164] 사용 방법

[0165] 본 개시내용은 이량체, 오량체, 또는 육량체 IgA 또는 IgM 기반 CD20 결합 분자를 사용하여 CD20을 발현하는 세포, 예컨대, B 세포, 예컨대, 악성 또는 무한증식 B 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도하는 개선된 방법을 제공한다. 하기 기술되는 본 방법은 제한 없이, 미국 특허 공개 번호 2007-0014720에 개시된 1.5.3, 리톡시맵, 오탁투무맵, 벨투주맵, 오텔라투주맵, 오비누투주맵, 또는 그의 변이체, 유도체, 또는 유사체를 비롯한, 임의의 CD20 항체로부터 유래된 CD20 항원 결합 도메인을 포함하는 결합 분자를 이용할 수 있고, 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자는 동일한 항원 결합 도메인을 포함하는 등가의 IgG 항체, 그의 단편, 변이체, 유도체, 또는 유사체와 비교하였을 때 개선된, CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 제공할 수 있다. 특정 측면에서, IgA 또는 IgM 기반 CD20 결합 분자는 J 쇄, 야생형 J 쇄 또는 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇄, 예컨대, 본원에서 제공하는 V15J 또는 J15V를 추가로 포함할 수 있다. 본 개시내용에 기초하



여, 관심의 대상이 되는 임의의 CD20 항원 결합 도메인을 포함하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 IgA 또는 IgM 기반 CD20 결합 분자를 구성하는 것은 당업계의 숙련가의 능력 범위 내에 잘 포함되어 있다. 개선된 활성을 통해 예를 들어, 사용되는 용량을 감량시킬 수 있거나, 또는 원래의 항체에 의한 사멸에 대하여 내성을 띠는 세포를 더욱 효과적으로 사멸시킬 수 있다. "내성"이란, CD20 발현 세포 상에서 CD20 항체, 예컨대, 리툽시맙의 임의 정도의 활성이 감소된 것을 의미한다. IgA 기반 결합 분자의 사용을 통해 예를 들어, 본원에서 제공하는 결합 분자를 더욱 크게 조직 분포시킬 수 있다.

[0166] 특정 측면에서, 본 개시내용은 CD20 발현 세포를 본원에 기술된 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자와 접촉시키는 단계를 포함하고, 결합 분자는, 단일특이적, 2가 IgG, 예컨대, CD20 항원 결합 도메인과 동일한 CD20 에피토프에 특이적으로 결합하는 등가량의 IgG1 항체 또는 그의 단편, 예컨대, 인간 IgG1 및 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 가지는 VH 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 가지는 VL을 포함하는 리툽시맙보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포, 예컨대, CD20 발현 B 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있는 것인, 개선된, CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도하는 방법을 제공한다. 이량체 또는 오량체 결합 분자는 야생형 J 쇠 또는 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇠, 예컨대, 본원에서 제공하는 V15J 또는 J15V를 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는 등가량의 단일특이적, 2가 CD20 단일클론 항체 또는 그의 단편보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포, 예컨대, CD20 발현 B 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있고, 항체는 예컨대, 오파투무맙, 벨투주맙, 오키라투주맙, 또는 오키투주맙이거나, 또는 그와 동일한 VH 및 VL 영역을 포함한다.

[0167] 따라서, 본 개시내용은 CD20 발현 세포를, 각각 2, 5 또는 6개의 2가 결합 유닛을 포함하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자와 접촉시키는 단계를 포함하고, 각 결합 유닛은 2개의 IgA 또는 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편 및 2개의 항원 결합 도메인을 포함하는 것인, CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도하는 방법을 제공한다. 적합한 결합 분자의 비제한적인 예로는 본 개시내용에 의해 제공되는 1.5.3 기반 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자, 또는 본 개시내용 다른 곳에도 기술되어 있는 바와 같은 다른 결합 분자를 포함한다. 이량체 또는 오량체 결합 분자는 야생형 J 쇠 또는 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇠, 예컨대, 본원에서 제공하는 V15J 또는 J15V를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명에 따라, 결합 분자의 적어도 하나의 항원 결합 도메인은 CD20 항원 결합 도메인이다. 더욱이, 본 발명에 따라, 결합 분자는 등가량의, 단일특이적, 2가 IgG, 예컨대, CD20 항원 결합 도메인과 동일한 CD20 에피토프에 특이적으로 결합하는 IgG1 항체 또는 그의 단편, 예컨대, 본 개시내용에 의해 제공되는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자의 CD20 항원 결합 도메인과 유사한, 예컨대, 그와 동일한 CD20 항원 결합 도메인을 포함하는 2가 IgG1 항체보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있다.

[0168] 예를 들어, 본 개시내용은 CD20 발현 세포를, 본원 다른 곳에도 기술되어 있는 바와 같은, 1.5.3과 관련된 적어도 하나의 항원 결합 도메인을 포함하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자와 접촉시키는 단계를 포함하고, 결합 분자는 1.5.3과 관련된 CD20 항원 결합 도메인과 동일한 CD20 에피토프에 특이적으로 결합하는 등가량의 단일특이적, 2가 IgG1 항체 또는 그의 단편보다 더 높은 효력으로 CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도할 수 있는 것인, CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도하는 방법을 제공한다. 이량체 또는 오량체 결합 분자는 야생형 J 쇠 또는 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇠, 예컨대, 본원에서 제공하는 V15J 또는 J15V를 추가로 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 단일특이적, 2가 IgG1 항체는 1.5.3이고, 서열 번호: 38의 아미노산 서열을 가지는 VH 및 서열 번호: 42의 아미노산 서열을 가지는 VL을 포함한다.

[0169] 특정 측면에서, 예컨대, 결합 분자가, 각각이 예컨대, 1.5.3의 VH 및 VL을 포함하는 2개의 동일한 CD20 결합 도메인을 포함하는 것인 5개의 동일한 결합 유닛을 포함하는 오량체 결합 분자인 경우, CD20 발현 라지 세포주를 사용하여 CDC 검정법에서 시험되었을 때, 결합 분자는 예컨대,  $\mu\text{g/ml}$ 로 또는 물 당량으로 측정된 바, 등가량의 단일특이적 2가 IgG1 항체, 예컨대, 1.5.3의 IC<sub>50</sub>보다 적어도 1배, 적어도 2배, 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 20배, 적어도 30배, 적어도 40배, 적어도 50배, 적어도 100배, 적어도 150배, 적어도 200배 이상 더 낮은 IC<sub>50</sub>으로 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다.

- [0170] 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 무한증식 세포주, 예컨대, B 세포 백혈병 또는 림프종 세포주이다. 세포주는 제한 없이, 라모스 세포주, 라지 세포주, 다우디 세포주, 나말와 세포주, 그란타 세포주, Z138 세포주, DoHH2 세포주, 또는 DB 세포주일 수 있다. 본원에서 제공하는 방법에서 유용할 수 있는 다른 세포주는 당업계의 숙련 가에 의해 쉽게 확인될 수 있다.
- [0171] 특정 측면에서, 세포주는 그란타 세포주이고, 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는  $\mu\text{g/ml}$ 로 측정된 바, 리톡시맙의 효력의 약 6배로 세포주의 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다. 특정 측면에서, 세포주는 라모스 세포주이고, 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는 물 당량으로 측정된 바, 리톡시맙의 효력의 약 30-40배로 세포주의 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다.
- [0172] 특정 측면에서, 세포주는 라지 세포주 또는 라모스 세포주이고, 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는 리톡시맙의 효력의 약 3배로 세포주의 보체 매개 사멸을 유도할 수 있다.
- [0173] 특정 측면에서, CD20 발현 세포는 괴혈체, 예컨대, 인간 암 환자에서의 악성 B 세포이다. 암은 예를 들어, CD20 양성 백혈병, 림프종, 또는 골수종일 수 있다. 특정 측면에서, CD20 발현 세포주 또는 악성 B 세포는 상업적으로 이용가능한 CD20 단일클론 항체에 의한 사멸에 대하여 내성을 띠고, 예컨대, 그에 대하여 최소 반응성 또는 비반응성이고, 예컨대, 암을 앓는 괴혈체에서의 CD20 발현 세포주 또는 악성 B 세포는 리톡시맙 요법에 대하여 최소 반응성 또는 비반응성이다.
- [0174] 또 다른 측면에서 본 개시내용은 CD20 발현 세포를, CD20 mAb 리톡시맙, 또는 그의 단편, 변이체, 유도체, 또는 유사체와 관련된 적어도 하나의 항원 결합 도메인을 포함하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자와 접촉시키는 단계를 포함하는, CD20 발현 세포의 보체 매개 사멸, T 세포 매개 사멸, 또는 보체 매개 사멸 및 T 세포 매개 사멸, 둘 모두를 유도하는 방법을 제공한다. 이량체 또는 오량체 결합 분자는 야생형 J 쇠 또는 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇠, 예컨대, 본원에서 제공하는 V15J 또는 J15V를 추가로 포함할 수 있다.
- [0175] 특정 측면에서, 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자의 CD20 항원 결합 도메인은 6개의 면역글로불린 상보성 결정 영역 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, 및 LCDR3을 포함하고, 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 CDR은 CD20 mAb 리톡시맙의 상응하는 CDR과 관련이 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 2, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 3, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 3의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2를 포함할 수 있다. 예를 들어, HCDR2는 서열 번호: 16의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 4, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1, 2, 또는 3개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 4의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함할 수 있다. 예를 들어, HCDR3은 서열 번호: 17, 서열 번호: 31, 또는 서열 번호: 36의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 다른 측면에서, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 10의 아미노산 서열, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 10의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함할 수 있다. 다른 측면에서, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 31의 아미노산 서열, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 6, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1, 2, 또는 3개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 6의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1을 포함할 수 있다. 예를 들어, LCDR1은 서열 번호: 12, 서열 번호: 19, 서열 번호: 25, 서열 번호: 27, 또는 서열 번호: 33의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 7, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 7의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2를 포함할 수 있다. 예를 들어, LCDR2는 서열 번호: 13 또는 서열 번호: 20의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 8, 또는 1, 2, 3, 4, 또는 5개의 단일 아미노산 치환, 예컨대, 1 또는 2개의 단일 아미노산 치환을 가지는 서열 번호: 8의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함할 수 있다. 예를 들어, LCDR3은 서열 번호: 14, 서열 번호: 21, 또는 서열 번호: 34의 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0176] 특정 측면에서, 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자의 CD20 항원 결합 도메인은 VH 및 VL을 포함하고, VH 영역, VL 영역, VH 및 VL 영역 둘 모두는 리톡시맙의 상응하는 VH 및 VL과 관련이 있다. 특정 측면에서, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 1과 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호: 5와 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VL 아미노

산 서열을 포함할 수 있다.

- [0177] 특정 측면에서, VH 및 VL은 미국 특허 번호 7,679,900에 기술된 CD20 mAb로부터 유래된 것일 수 있다. 예를 들어, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 9와 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호: 11과 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VL 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0178] 특정 측면에서, VH 및 VL은 미국 특허 번호 8,153,125에 기술된 CD20 mAb로부터 유래된 것일 수 있다. 예를 들어, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 15와 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호: 18과 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VL 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0179] 특정 측면에서, VH 및 VL은 미국 특허 번호 8,337,844에 기술된 CD20 mAb로부터 유래된 것일 수 있다. 예를 들어, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 22 또는 서열 번호: 23과 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호: 24, 서열 번호: 26, 서열 번호: 28, 또는 서열 번호: 29와 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VL 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0180] 특정 측면에서, VH 및 VL은 미국 특허 번호 8,337,844에 기술된 CD20 mAb로부터 유래된 것일 수 있다. 예를 들어, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 30과 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호: 32와 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VL 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0181] 특정 측면에서, VH 및 VL은 미국 특허 번호 7,151,164에 기술된 CD20 mAb로부터 유래된 것일 수 있다. 예를 들어, CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 35와 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VH 아미노산 서열, 및 서열 번호: 37과 적어도 60%, 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95% 또는 100% 동일한 VL 아미노산 서열을 포함할 수 있다.
- [0182] 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는 CD20, 예컨대, 인간 CD20에 특이적으로 결합할 수 있는, 본원에서 정의된 바와 같은 2, 5 또는 6개의 "결합 유니트"를 포함하는 결합 분자이다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는 각각 2, 5 또는 6개의 2가 결합 유니트를 포함하고, 각 결합 유니트는 2개의 IgA 또는 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편을 포함한다. 특정 측면에서, 2개의 IgA 또는 IgM 중쇄 불변 영역은 인간 중쇄 불변 영역이다.
- [0183] 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자가 오량체인 경우, 결합 분자는 J 쇠, 또는 그의 단편, 또는 그의 변이체를 추가로 포함할 수 있다. J 쇠는 야생형 J 쇠 또는 인간 CD3에 결합할 수 있는 변형된 J 쇠, 예컨대, 본원에서 제공하는 V15J 또는 J15V일 수 있다.
- [0184] 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 IgM 중쇄 불변 영역은, 단, 불변 영역이 결합 분자에서 원하는 기능을 할 수 있다면, 예컨대, 제2 IgM 불변 영역과 회합하여 항원 결합 도메인을 형성할 수 있거나, 또는 다른 결합 유니트와 회합하여 육량체 또는 오량체를 형성할 수 있다면, C<sub>μ</sub>1 도메인, C<sub>μ</sub>2 도메인, C<sub>μ</sub>3 도메인, 및/또는 C<sub>μ</sub>4 도메인 중 하나 이상의 것을 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 개별 결합 유니트 내의 2개의 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 C<sub>μ</sub>3 도메인 또는 그의 단편, C<sub>μ</sub>4 도메인 또는 그의 단편, 테일피스(TP) 또는 그의 단편, 또는 C<sub>μ</sub>3 도메인 C<sub>μ</sub> 도메인, 및 TP 또는 그의 단편의 임의의 조합을 포함한다. 특정 측면에서, 개별 결합 유니트 내의 2개의 IgM 중쇄 불변 영역 또는 그의 단편은 각각 C<sub>μ</sub>2 도메인 또는 그의 단편, C<sub>μ</sub>1 도메인 또는 그의 단편, 또는 C<sub>μ</sub>1 도메인 또는 그의 단편 및 C<sub>μ</sub>2 도메인 또는 그의 단편을 추가로 포함한다.
- [0185] 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한, 각종의 상이한 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자가 본 개시 내용에 기초하여 당업계의 숙련가에 의해 고려될 수 있고, 이로써, 본 개시 내용에 포함되지만, 특정 측면에서, 각 결합 유니트가, 각각이 IgA 또는 IgM 불변 영역 또는 그의 단편에 대하여 아미노 말단에 위치해 있는 VH를 포함하는 것인 2개의 IgA 또는 IgM 중쇄, 및 각각이 면역글로불린 경쇄 불변 영역에 대하여 아미노 말단에 위치

해 있는 VL을 포함하는 것인 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함하는 것인, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자를 제공한다.

- [0186] 더욱이, 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛, 또는 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛들은 상기 기술된 바와 같은 2개의 CD20 항원 결합 도메인을 포함한다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 결합 유닛(들) 중의 2개의 CD20 항원 결합 도메인은 서로 상이할 수 있거나, 또는 동일한 것일 수 있다.
- [0187] 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 결합 유닛(들) 내의 2개의 IgM 중쇄는 동일한 것이다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛 내의, 또는 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛 내의 2개의 동일한 IgM 중쇄는 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0188] 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 결합 유닛(들) 내의 2개의 경쇄는 동일한 것이다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛 내의, 또는 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛 내의 2개의 동일한 경쇄는 카파 경쇄, 예컨대, 인간 카파 경쇄, 또는 람다 경쇄, 예컨대, 인간 람다 경쇄이다. 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 결합 분자의 적어도 하나의 결합 유닛 내의, 또는 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛 내의 2개의 동일한 경쇄는 각각 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0189] 특정 측면에서, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 오량체 또는 육량체 결합 분자의 적어도 1의 결합 유닛은, 또는 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛은 각각, 각각이 서열 번호: 52의 아미노산 서열을 포함하는 것인 2개의 동일한 IgM 중쇄, 및 각각이 서열 번호: 54의 아미노산 서열을 포함하는 것인 2개의 동일한 경쇄를 포함한다. 본 측면에 따라, 결합 분자의 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6개의 결합 유닛(들) 중의 CD20 항원 결합 도메인은 동일한 것일 수 있다. 추가로, 본 측면에 따라, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 이량체, 오량체, 또는 육량체 결합 분자는 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 또는 적어도 12개의, 상기 기술된 바와 같은 CD20 항원 결합 도메인의 카피를 포함할 수 있다. 특정 측면에서, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 또는 적어도 6개의 결합 유닛은 동일할 수 있고, 특정 측면에서, 결합 유닛은 동일한 항원 결합 도메인을 포함할 수 있고, 예컨대, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 11, 또는 적어도 12개의 CD20 항원 결합 도메인은 동일한 것일 수 있다. 특정 측면에서, 동일한 CD20 항원 결합 도메인은 서열 번호: 1의 아미노산 서열을 가지는 VH, 및 서열 번호: 5의 아미노산 서열을 가지는 VL을 포함할 수 있다.
- [0190] 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자는 다른 결합 분자와 비교하였을 때, 유익한 구조적 또는 기능적 특성을 가질 수 있다. 예를 들어, 본원에서 제공하는 방법에서 사용하기 위한 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자는 시험관내 또는 생체내에서의 생물학적 검정법에서 상응하는 결합 분자, 예컨대, 리톡시맙, 또는 그의 변이체, 유사체 또는 유도체보다 개선된 활성을 가질 수 있다. 생물학적 검정법으로는 보체 의존성 세포성 세포독성(CDC) 및 항체 의존성 세포성 세포독성(ADCC)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0191] 약학 조성물 및 투여 방법
- [0192] 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자를 제조하고, 그를 필요로 하는 피험체에게 투여하는 방법은 당업자에게 널리 공지되어 있거나, 또는 본 개시내용을 고려하여 쉽게 결정된다. CD20 결합 분자의 투여 경로는 예를 들어, 경구적 경로, 비경구적 경로, 흡입에 의한 경로 또는 국소적 경로일 수 있다. 본원에서 사용되는 바, 비경구적이라는 용어는 예컨대, 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 피하, 직장, 또는 질 투여를 포함한다. 이러한 투여 형태가 적합한 형태인 것으로 고려되지만, 투여 형태의 또 다른 예는 주사액, 특히, 정맥내 또는 동맥내 주사액 또는 드립용 용액이 될 것이다. 적합한 약학 조성물은 완충제(예컨대, 아세트레이트, 포스페이트 또는 시트레이트 완충제), 계면활성제(예컨대, 폴리소르베이트), 임의적으로, 안정제 작용제(예컨대, 인간 알부민)를 포함할 수 있다.
- [0193] 본원에서 논의되는 바와 같이, 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자는 B 세포를 고



갈시키는 것이 바람직할 수 있는 질환 또는 장애의 생체내 치료를 위해 약학적 유효량으로 투여될 수 있다. 이와 관련하여, 개시된 결합 분자는 투여를 용이하게 하고, 활성제의 안정성을 촉진시키기 위해 제제화될 수 있다는 것을 이해할 것이다. 따라서, 약학 조성물은 약학적으로 허용되는, 비독성, 멸균 담체, 예컨대, 생리학적 염수, 비독성 완충제, 보존제 등을 포함할 수 있다. 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자의 약학적 유효량이란, 표적에의 효과적인 결합을 달성할 수 있고, 치료학적 이점을 달성할 수 있는 데 충분한 양을 의미한다. 적합한 제제는 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co.) 16th ed. (1980)]에 기술되어 있다.

[0194] 본원에서 제공하는 특정 약학 조성물은 예컨대, 캡슐제, 정제, 수성 현탁제 또는 액제를 비롯한, 허용되는 투여 형태로 경구적으로 투여될 수 있다. 특정 약학 조성물은 또한 비강 에어로졸 또는 흡입에 의해 투여될 수 있다. 상기 조성물은 벤질 알콜 또는 다른 적합한 보존제, 생체이용성을 증진시키는 흡수 촉진제, 및/또는 다른 통상의 가용화제 또는 분산화제를 사용하여 염수 중 액제로서 제조될 수 있다.

[0195] 단일 투여 형태를 제조하기 위해 담체 물질과 함께 조합될 수 있는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자의 양은 예컨대, 치료받는 피험체, 특정 투여 모드에 의존하여 달라질 것이다. 조성물은 단일 투약, 다회 투약 또는 확립된 기간 동안에 걸쳐 주입 형태로 투여될 수 있다. 투여 요법은 또한 최적의 원하는 반응(예컨대, 치료학적 또는 예방적 반응)을 제공할 수 있도록 조정될 수 있다.

[0196] 본 개시내용의 범주를 유지하면서, 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자는 치료학적 효과를 일으키는 데 충분한 양으로 요법을 필요로 하는 피험체에게 투여될 수 있다. 본원에서 제공하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자는 공지된 기법에 따라 본 개시내용의 항체 또는 그의 항원 결합 단편, 변이체, 또는 유도체를 통상의 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제와 함께 조합함으로써 제조된 통상의 투여 형태로 피험체에게 투여될 수 있다. 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제의 형태 및 특징은 그와 함께 조합되는 활성 성분의 양, 투여 경로 및 널리 공지된 다른 변수에 의해 지배될 수 있다.

[0197] "치료학적 유효 용량 또는 양" 또는 "유효량"은, 투여되었을 때, 치료하고자 하는 질환 또는 병태를 앓는 환자의 치료와 관련하여 양성인 치료학적 반응을 일으키는, 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자의 양인 것으로 의도된다.

[0198] B 세포 고갈이 요구되는 질환 또는 장애 치료를 위한, 본원에 개시된 조성물의 치료학적 유효 용량은 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리 상태, 환자가 인간인지 또는 동물인지 여부, 투여되는 다른 약물, 및 처치가 예방적인 것인지 또는 치료학적인 것인지 여부를 비롯한, 다수의 상이한 인자에 의존하여 달라질 수 있다. 특정 측면에서, 피험체 또는 환자는 인간이지만, 트랜스제닉 포유동물을 비롯한, 비인간 포유동물 또한 치료될 수 있다. 치료 투여량은 안전성 및 효능을 최적화시키기 위해 당업자에게 공지된 통상의 방법을 사용하여 적정될 수 있다.

[0199] 투여하고자 하는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자의 양은 본 개시내용을 고려하여, 과도한 실험 없이도 당업계의 숙련가에 의해 쉽게 결정된다. 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자의 투여 모드 및 그 의 각 양에 영향을 주는 인자로는 질환의 중증도, 질환 병력, 및 요법을 받는 개체의 연령, 신장, 체중, 건강, 및 신체 상태를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 유사하게, 투여되는 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자의 양은 투여 모드 및 피험체가 상기 작용제를 단일 투약으로 받게 되는지 또는 다회 투약으로 받게 되는지 여부에 의존하게 될 것이다.

[0200] 본 개시내용은 또한 B 세포 고갈이 바람직할 수 있는 질환 또는 장애, 예컨대, B 세포 림프종, 백혈병, 또는 골수종 치료, 예방 또는 관리용 의약 제조에서의 이량체, 오량체, 또는 육량체 CD20 결합 분자의 용도를 제공한다.

[0201] 달리 명시하지 않는 한, 본 개시내용은 당업계의 기술 범위 안에 포함되어 있는 것인, 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 형질전환 생물학, 미생물학, 재조합 DNA, 및 면역학의 통상적인 기법을 사용한다. 상기 기법은 문헌에 상세하게 설명되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Sambrook et al., ed. (1989) *Molecular Cloning A Laboratory Manual* (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press)]; [Sambrook et al., ed. (1992) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY)]; [D. N. Glover ed., (1985) *DNA Cloning*, Volumes I and II; Gait, ed. (1984) *Oligonucleotide Synthesis*]; [Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195]; [Hames and Higgins, eds. (1984) *Nucleic Acid Hybridization*]; [Hames and Higgins, eds. (1984) *Transcription And Translation*]; [Freshney (1987) *Culture Of Animal Cells* (Alan R. Liss,

Inc.)); [Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986)]; [Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.)]; [Miller and Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory)]; [Wu *et al.*, eds., Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155]; [Mayer and Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London)]; [Weir and Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV]; [Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986)]; 및 [Ausubel *et al.* (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.)]를 참조할 수 있다.

[0202] 항체 조작에 관한 일반 원리는 문헌 [Borrebaeck, ed. (1995) Antibody Engineering (2nd ed.; Oxford Univ. Press)]에 기재되어 있다. 단백질 조작에 관한 일반 원리는 문헌 [Rickwood *et al.*, eds. (1995) Protein Engineering, A Practical Approach (IRL Press at Oxford Univ. Press, Oxford, Eng.)]에 기재되어 있다. 항체 및 항체-합텐 결합에 관한 일반 원리는 문헌 [Nisonoff (1984) Molecular Immunology (2nd ed.; Sinauer Associates, Sunderland, Mass.)]; 및 [Steward (1984) Antibodies, Their Structure and Function (Chapman and Hall, New York, N.Y.)]에 기재되어 있다. 추가로, 당업계에 공지되어 있기는 하지만, 구체적으로 기술되지는 않은 면역학의 표준 방법은 문헌 [Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, New York]; [Stites *et al.*, eds. (1994) Basic and Clinical Immunology (8th ed; Appleton & Lange, Norwalk, Conn.)] 및 [Mishell and Shiigi (eds) (1980) Selected Methods in Cellular Immunology (W.H. Freeman and Co., NY)]에서와 같이 진행될 수 있다.

[0203] 면역학의 일반 원리를 기술하는 표준 참고 문헌으로는 문헌 [Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, New York]; [Klein (1982) J., Immunology: The Science of Self-Nonself Discrimination (John Wiley & Sons, NY)]; [Kennett *et al.*, eds. (1980) Monoclonal Antibodies, Hybridoma: A New Dimension in Biological Analyses (Plenum Press, NY)]; [Campbell (1984) "Monoclonal Antibody Technology" in Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, ed. Burden *et al.*, (Elsevier, Amsterdam)]; [Goldsby *et al.*, eds. (2000) Kuby Immunology (4th ed.; H. Freeman & Co.)]; [Roitt *et al.* (2001) Immunology (6th ed.; London: Mosby)]; [Abbas *et al.* (2005) Cellular and Molecular Immunology (5th ed.; Elsevier Health Sciences Division)]; [Kontermann and Dubel (2001) Antibody Engineering (Springer Verlag)]; [Sambrook and Russell (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press)]; [Lewin (2003) Genes VIII (Prentice Hall, 2003)]; [Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Press)]; [Dieffenbach and Dveksler (2003) PCR Primer (Cold Spring Harbor Press)]를 포함한다.

[0204] 상기 언급된 모든 참고 문헌 뿐만 아니라, 본원에서 인용된 모든 참고 문헌은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다.

[0205] 하기 실시예는 제한하는 것이 아니라, 예시로서 제공된다.

[0206] 실시예

[0207] 실시예 1: CD20 hIgM 발현을 위한 DNA 구성물 생성

[0208] CD20에 특이적으로 결합할 수 있는 오량체 또는 육량체 IgM 결합 분자를 발현할 수 있는 플라스미드 구성물을 하기 방법에 의해 제조하였다.

[0209] 중쇄 및 경쇄 발현 벡터로의 서브클로닝을 위해 '5' 단부 상에 EcoRV 제한 부위 및 3' 단부 상에 XbaI 제한 부위를 포함하는, 리톡시맵의 VH 및 VL 영역(각각 서열 번호: 1 및 5), 또는 1.5.3의 VH 및 VL 영역(각각 서열 번호: 38 및 42)을 코딩하는 DNA 단편을 상업적 업체(Genescript)에 의해 합성하였다. 합성된 DNA 구성물을 1 µg/ml로 트리스-EDTA 완충제 중에 재현탁시켰다. DNA 샘플(1 µg)을 EcoRV 및 XbaI로 분해하고, 합성된 VH 및 VL을 전기영동에 의해 캐리어 플라스미드 DNA로부터 분리시켰다. 분해된 DNA를 표준 분자 생물학 기법에 의해 미리 분해된 플라스미드 DNA(µg)의 경우, pFUSEss-CHlg-hM\*03, 카파 쉘의 경우, pFUSE2ss-CLlg-hk, Invivogen으로부터 이용가능)에 라이게이션시켰다. 라이게이션된 DNA를 적격 박테리아 내로 형질전환시키고, 다중 선별 항생제가 있는 LB 플레이트 상에 플레이팅시켰다. 수개의 박테리아 콜로니를 취하고, 표준 분자 생물학 기법에 의해 DNA 제제를 제조하였다. 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 구성물을 서열분석에 의해 확인하였다. 리톡시맵 IgM 중쇄의 DNA 및 아미노산 서열은 각각 서열 번호: 51 및 서열 번호: 52로 제시되고, 리톡시맵 경쇄의 DNA 및 아미

노산 서열은 각각 서열 번호: 53 및 서열 번호: 54로 제시된다. 1.5.3 IgM 중쇄의 DNA 및 아미노산 서열은 각각 서열 번호: 55 및 서열 번호: 56으로 제시되고, 1.5.3 경쇄의 DNA 및 아미노산 서열은 각각 서열 번호: 57 및 서열 번호: 58로 제시된다. 인간 J 쇠의 아미노산 서열은 서열 번호: 49로 제시된다.

- [0210] IgM 중쇄 및 경쇄 또는 중쇄, 경쇄, 및 J 쇠를 코딩하는 플라스미드 구성물을 CHO 세포로 공동 형질감염시키고, J 쇠가 있는, 또는 J 쇠가 없는 CD20 IgM 항체를 발현하는 세포를 선별하였고, 이들은 모두 표준 방법에 따라 수행하였다.
- [0211] 세포 상청액에 존재하는 항체를 제조사의 프로토콜에 따라 캡처 셀렉트 IgM(Capture Select IgM)(카탈로그 2890.05, BAC, Thermo Fisher)을 사용하여 회수하였다. 비환원적 조건하에 SDS PAGE 상에서 항체를 평가한 결과, 오량체 및 육량체의 어셈블리가 나타났다. 네이티브페이지 노백스 3-12% 비스-트리스 겔(NativePage Novex 3-12% bis-Tris Gel)(Life Technologies 카탈로그 #BN1003) 상에 로딩하기 이전에, 뉴페이지 LDS 샘플 버퍼(NuPage LDS Sample Buffer)(Life Technologies)를 샘플에 첨가하였다. 노백스 트리스-아세테이트 SDS 러닝 버퍼(Novex Tris-Acetate SDS Running Buffer)(Life Technologies 카탈로그 #LA0041)를 겔 전기영동을 위해 사용하였다. 염료 탠 앞 부분이 겔 바닥에 도달할 때까지 겔을 전개시켰다. 전기영동 후, 겔을 콜로이드 블루 스테인(Colloidal Blue Stain)(Life Technologies 카탈로그 #LC6025)으로 염색하였다. 결과는 도 4에 제시되어 있다. 비환원적 조건하에서, 오량체 1.5.3 IgM(5개의 H2L2 IgM 유닛 + J 쇠, 도 4, 제2 패널, 레인 3) 및 오량체 리톡시맵 IgM(제1 패널, 레인 3)은 분자량이 대략 1,000,000인 단백질을 생성하였고, 육량체 1.5.3 IgM(6개의 H2L2 IgM 유닛, 도 4, 제2 패널, 레인 2)은 대략 1,180,000인 단백질을 생성하였다.
- [0212] 실시예 2: CD20 hIgM의 결합 및 활성
- [0213] CD20 ELISA 검정법에 의한 결합 검출
- [0214] 96 웰 흰색 폴리스티렌 ELISA 플레이트(Pierce 15042)를 4°C에서 100  $\mu$ l/웰의 10  $\mu$ g/mL 또는 0.3  $\mu$ g/mL의, N-Fc 융합물을 포함하는 인간 CD20(AcroBiosystems, CD0-H526a)으로 코팅하였다. 이어서, 플레이트를 0.05% PBS-트윈으로 세척하고, 2% BSA-PBS로 차단시켰다. 차단 후, 100  $\mu$ l의, 1.5.3 IgM, 1.5.3 IgG, 표준 및 대조군의 연속 희석액을 웰에 첨가하고, 실온에서 2시간 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 플레이트를 세척하고, HRP 컨쥬게이트된 마우스 항인간 카파(Southern Biotech, 9230-05, 2% BSA-PBS 중 1:6,000으로 희석)와 함께 30 min 동안 인큐베이션시켰다. 0.05% PBS-트윈을 이용하여 10회에 걸쳐 최종적으로 세척한 후, 슈퍼시그널(SuperSignal) 화학발광성 기질(ThermoFisher, 37070)을 이용하여 플레이트를 판독하였다. 인비전(EnVision) 플레이트 판독기(Perkin-Elmer) 상에서 발광 데이터를 수집하고, 4 파라미터 로지스틱 모델을 이용하여 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism)으로 분석하였다.
- [0215] 결과는 몰 농도에 의해 IgM 대 IgG를 비교하는, 도 5A 및 도 5B에 제시되어 있다. 항CD20 IgM 항체는 두 CD20 항원 밀도 모두에서, 및 특히 낮은 CD20 항원 농도(도 5B)에서 더욱 효과적인 결합을 보였다.
- [0216] 보체 의존성 세포독성 - 비색 검정법
- [0217] 그란타(DSMZ 카탈로그 번호 ACC 342), 라지(ATCC 카탈로그 번호 CCL-86), 라모스(ATCC 카탈로그 번호 CRL-1596), Nalm-6(DSMZ 카탈로그 번호 ACC 128), 및 나말와(ATCC 카탈로그 번호 CRL-1432) 세포주는 ATCC 및 DSMZ로부터 입수한 것이었다. 각 세포주의 50,000개의 세포를 96 웰 플레이트에 시딩하였다. 세포를 연속적으로 희석된 상업적으로 이용가능한 항인간 CD20 IgM(Invivogen 카탈로그 번호 hcd20-mab5) 또는 항인간 CD20 IgG1(Invivogen 카탈로그 번호 hcd20-mab1)로 처리하였다. 인간 혈청 보체(Quidel 카탈로그 번호 A113)를 10% 최종 농도로 각 웰에 첨가하였다. 반응 혼합물을 37°C에서 1 hr 동안 인큐베이션시켰다. 셀 카운팅 키트-SK 시약(CCK-SK: Cell Counting Kit-SK)(Dojindo 카탈로그 번호 CK04-13)을 총 반응 부피의 1/10로 첨가하고, 플레이트를 37°C에서 추가로 3시간 동안 인큐베이션시켰다. 분광광도계 상에서 450 nm에서의 흡광도를 측정하였다.
- [0218] 결과는 도 6A-E에 제시되어 있다. IgM CD20 항체는 세포 사멸에 있어서 IgG보다 그란타 세포(도 6A)에서는 6배 더 강력하였고, 라지 세포(도 6B)에서는 3배 더 강력하였고, 라모스 세포(도 6C)에서는 3배 더 강력하였다. 각각 CD20을 발현시키지 않거나, 또는 저수준으로 발현시키는 것인 Nalm-6 세포(도 6D) 또는 나말와 세포(도 6E)를 사멸시키는 데 있어서는 어떤 항체도 효과적이지 않았다.
- [0219] 보체 의존성 세포독성 - 발광 검정법
- [0220] (a) CD20 발현 라지 세포주(ATCC 카탈로그 번호 CCL-86)를 사용하였다. 50,000개의 세포를 96 웰 플레이트에 시딩하였다. 세포를 하기의 연속적으로 희석된 항체: 리톡시맵(IgG1), 실시예 1에서 제조된 것과 같은 리톡시맵

유래 항인간 CD20 IgM+J, 또는 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조된 1.5.3 항인간 CD20 IgM+J로 처리하였다. 인간 혈청 보체(Quidel 카탈로그 번호 A113)를 10% 최종 농도로 각 웰에 첨가하였다. 반응 혼합물을 37℃에서 4시간 동안 인큐베이션시켰다. 각 웰에 존재하는 배양 배지의 부피와 동일한 부피로 셀 타이터 글로(Cell Titer Glo) 시약(Promega 카탈로그 번호 G7572)을 첨가하였다. 플레이트를 2분 동안 진탕시키고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션시키고, 발광측정기 상에서 발광을 측정하였다.

[0221] 결과는 도 7 및 하기 표 2에 제시되어 있다. IgG로서 항CD20(리툽시맵)은 보체하에 대략 최대 라지 세포 사멸의 절반을 달성한 반면, IgM 이소타입(리툽시맵)은 거의 최대 보체 의존성 세포독성을 달성하였다. 보체 의존성 세포독성에 있어서 두 IgM 항체 모두 리툽시맵보다 더욱 강력하였고, 본 실험에서 1.5.3 유사 IgM 항체는 리툽시맵 VH 및 VL을 보유하는 항인간 IgM CD20 항체보다 더욱 강력하였다. 1형 항CD20(IgM으로서 리툽시맵)의 것과 비교하였을 때 1.5.3 유사 IgM 항체는 4배 증가된 효력을 보였다.

## 표 2

라지 세포 상에서의 CDC ( $IC_{50}$ ) ( $\mu\text{g/ml}$ )

|                  | $IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|------------------|--------------------------------|
| 항CD20 IgG1(리툽시맵) | >50                            |
| 항CD20 IgM        | 2.0                            |
| 1.5.3 IgM + J    | 0.5                            |

[0222]

[0223] (b) 하기의 연속적으로 희석된 항체: 리툽시맵(IgG1), 실시예 1에서 제조된 것과 같은 리툽시맵 유래 항인간 CD20 IgM+J, 1.5.3(IgG1), 1.5.3 항CD20 IgM, 또는 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조된 1.5.3 항CD20 IgM+J를 이용하여, CD20 발현 라모스 세포주를 사용함으로써 상기 기술된 바와 같은 CDC 검정법을 반복하였다.

[0224] 결과는 도 8a(리툽시맵 및 리툽시맵 유사 IgM) 및 도 8b(1.5.3, 1.5.3 IgM+J, 및 huMAb 유사 IgM)에 제시되어 있다. 본 실험에서, IgG 및 IgM 버전은 몰 당량 기준으로 비교되었다. 보체 의존성 세포독성에 있어서 IgM 버전에 대한  $IC_{50}$ 은 모두 IgG 버전보다 약 30 내지 40배 더 효과적이었다.

[0225] (c) 다음으로, 항체를 이어서 CD20 발현 수준이 감소된 상이한 세포주 상에서의 CDC 활성화에 대해 비교하였다. 하기의 연속적으로 희석된 항체: 리툽시맵(IgG1), 실시예 1에서 제조된 것과 같은 리툽시맵 유래 항인간 CD20 IgM+J, 1.5.3(IgG1), 및 실시예 1에 기술된 바와 같이 제조된 1.5.3 항CD20 IgM+J를 이용하여 본 검정법을 수행하였다. 사용된 세포는 DoHH2 세포(DSMZ 번호 ACC 47)였고, Z138 세포(ATCC CRL-3001)를 본 검정법에서 사용하였다. 하기 표 4에 제시된 바와 같이, Z138 세포는 DoHH2 세포보다 더 낮은 CD20 발현 수준을 보인다. 표적 세포를 세척하고,  $1.0 \times 10^6$ 개의 세포/mL인 밀도로 CDC 검정 배지(RPMI 1640, 10% 열 불활성화된 FBS) 중에 재현탁시키고, 10  $\mu\text{l}$ /웰을 눈크(Nunc) 384 웰 조직 배양물 처리된 흰색 폴리스티렌 플레이트에 첨가하였다. 검정 배지 중에서 연속 3배 희석된 시험 항체의 희석액을 제조하고, 10  $\mu\text{l}$ /웰을 검정 플레이트에 첨가하고, 플레이트를 5%  $\text{CO}_2$  인큐베이터 중에서 37℃에서 2 hr 동안 인큐베이션시켜 흡소닌 작용이 발생할 수 있도록 하였다. 정상적인 인간 혈청 보체(Quidel)를 분취량으로 냉동시키고, 사용을 위해 1회 해동시키고, 검정 배지 중에서 30%로 희석시키고, 10  $\mu\text{l}$ /웰을 검정 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 5%  $\text{CO}_2$  인큐베이터 중에서 37℃에서 4 hr 동안 인큐베이션시켰다. 셀 타이터 글로 시약(Promega)을 사용을 위해 해동시키고, 15  $\mu\text{l}$ /웰을 검정 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 플레이트 진탕기 상에서 2 min 동안 온화하게 혼합하여 세포를 용해시킨 후, 인비전(EnVision) 플레이트 판독기(Perkin-Elmer) 상에서 발광을 측정하기 이전에 추가로 10 min 동안 실온에서 용해시켰다. 배경 신호를 감산한 후, 항체 농도에 대하여 생존율(%)을 플롯팅하고, 그래프패드 프리즘을 사용하여  $EC_{50}$  값을 측정하였다.

[0226] 결과는 도 9 및 하기 표 3에 제시되어 있다. 두 세포주 모두에서, 항체의 IgM 버전은 IgG 버전보다 더욱 큰 CDC 사멸을 보였다. CD20 발현이 더 낮은 Z-138 세포 상에서, IgM 버전의 CDC 활성화는 IgG 버전 대비 100배 초과로 개선되었다.



표 3

CDC 활성은 CD20 항원 발현 수준에 의존한다

|                  | EC <sub>50</sub> (nM) |       |
|------------------|-----------------------|-------|
|                  | DOHH-2                | Z-138 |
| 항CD20 IgG1(리톡시맵) | 22                    | >100  |
| 1.5.3 IgG        | 4.6                   | >100  |
| 항CD20 IgM+J      | 0.09                  | 0.41  |
| 1.5.3 IgM+J      | 0.14                  | 1.9   |

[0227]

[0228]

실시예 3: CD3에 결합하는 변형된 J쇄를 포함하는

[0229]

이중특이적 항CD20 IgM의 제조

[0230]

실시예 1에 기술된 바와 같이 리톡산 유사 항인간 CD20 IgM 및 1.5.3 항CD20 IgM을 제조하였다.

[0231]

항CD3 항체 비실리주맵(Nuvion)으로부터의 가변 영역을 도입하는 상이한 융합 부위를 포함하는 2개의 상이한 J쇄 변이체를 구성하였다. 상이한 두 방향 - V15J 및 J15V로, 15개의 아미노산을 함유하는 (GGGS)<sub>3</sub> 링커(서열 번호: 67, 밑줄 표시)를 통해 J쇄(이탤릭체 표시)에 융합된 비실리주맵(V)(VH-(GGGS)<sub>3</sub>-VL, 이중 밑줄 표시)에 상응하는 scFv와 함께 2개의 J쇄에 대한 서열이 하기 제시되어 있다. 각 서열은 밑줄 표시 없이 또는 이탤릭체 표시 없이 제시된 N 말단 신호 펩티드를 함유한다. 특정 측면에서, 다른 신호 펩티드 서열은 본원에 제시된 신호 펩티드 대신으로 치환될 수 있다.

[0232]

서열 번호: 63: V15J에 대한 변형된 J쇄 서열 전구체(DNA 서열: 서열 번호: 68):

MGWSYIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCK  
ASGYTFISYTMHWVRQAPGQGLEWMGYINPRSGYTHYNOKL  
KDKATLTADKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSAYDYD  
GFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIOMTQSPSSLS  
ASVGDRVTITCSASSSVSYMNWYQOKPGKAPKRLIYDTSKLAS  
GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQWSSNPPTFEGG  
GTKLEIKGGGGSGGGGSGGGGSEDERIVLVNCKCARITSRII  
RSEDPNEDIVERNIRIIVPLNNRENISDPTSPLRTRFVYHLSLCKK  
CDPTEVELDNQIVTATQSNICDEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPLV  
YGGETKMOVETALTPDACYPD

[0233]

[0234]

서열 번호: 64: V15J에 대한 성숙한 변형된 J쇄 서열:

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFISYTMHWVRQAP  
GQGLEWMGYINPRSGYTHYNOKLKDKATLTADKSASTAYME  
LSSLRSEDTAVYYCARSAYDYDGFAYWGQGLTVTVSSGGG  
GSGGGGSGGGGSDIOMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSVSY  
MNWYQOKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDFTLT  
ISLQPEDFATYYCQWSSNPPTFGGGTKLEIKGGGGSGGGGSG  
GGGSEDERIVLVNCKCARITSRIIRSEDPNEDIVERNIRIIVPL  
NNRENISDPTSPLRTRFVYHLSLCKKCDPTEVELDNQIVTATQSN  
ICDEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPLVYGGETKMOVETALTPDACY  
P

[0235]

[0236] 서열 번호: 65: J15V에 대한 변형된 J 쇠 서열 전구체(DNA 서열: 서열 번호: 69):

MKNHLLFWGVLAVFIKAVHVKAQEDERIVLVDNKCKCARITSRI  
IRSEDPNEDIVERNIRIIVPLNNRENISDPTSPLRTRFVYHLSLCK  
KCDPTEVELDNQIVTATQSNICDEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPL  
VYGGETKMVETALTPDACYPDGGGGSGGGGSGGGGSGVQLVQ  
SGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFISYTMHWVROAPGQGLEW  
MGYINPRSGYTHYNOKLKDKATLTADKSASTAYMELSSLRSE  
DTAVYYCARSAYYDYDGFAYWGQGTLYTVYSSGGGGSGGGG  
GGGGSDIQMTQSPSSLSASVGDRTITCSASSSVSYMNWYQQK  
PGKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFSGSGSGTDEFTLTISSLOPEDEFA  
TYYCQWSSNPPTFGGGTKLEIK

[0237]

[0238] 서열 번호: 66: J15V에 대한 성숙한 변형된 J 쇠 서열:

QEDERIVLVDNKCKCARITSRIIRSEDPNEDIVERNIRIIVPLNNRE  
NISDPTSPLRTRFVYHLSLCKKCDPTEVELDNQIVTATQSNICDE  
DSATETCYTYDRNKCYTAVVPLVYGGETKMVETALTPDACYPDGG  
GGSGGGSGGGGSGVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYT  
FISYTMHWVROAPGQGLEWMGYINPRSGYTHYNOKLKDKAT  
LTADKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSAYYDYDGFAYW  
GQGTLYTVYSSGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPSSLSASVGD  
RVTITCSASSSVSYMNWYQQKPGKAPKRLIYDTSKLASGVPSR  
FSGSGSGTDEFTLTISSLOPEDEFTYYCQWSSNPPTFGGGTKLE  
IK

[0239]

[0240] 각 성숙한 구성물의 분자량은 약 45 kD이고, 이는 CD3(Sino Biological)의 가용성 엽실론 쇠, 또는 T 세포에 결합할 수 있다(테이터 제시되지 않음).

[0241] 항CD20 중쇄 및 경쇄에 상응하는 DNA 구성물 뿐만 아니라, 야생형(wt: wild-type) J 쇠, V15J 또는 J15V J 쇠 서열에 상응하는 것을 포유동물 세포, 예컨대, HEK293 또는 CHO 세포로 공동으로 형질감염시키고, 표준 방법에 따라 단백질을 발현시키고, 정제하였다. 예컨대, PCT 공개 번호 WO 2015/153912(상기 문헌은 본원에서 참조로 포함된다)를 참조할 수 있다. 15개의 아미노산 링커로 항CD3 scFv에 융합된 J 쇠는 항CD20 중쇄 및 경쇄와 함께 결합하여 오량체 형태의 이중특이적 IgM을 제조할 수 있었다.

[0242] 아가로스-아크릴아미드 하이브리드 겔. 앞서 기술된 방법((Chugai Seiyaki Kabushiki Kaisha), 2010, 공개 번호: US 2010/0172899 A1)으로부터 적합화된 비환원적 SDS-PAGE에 의해 IgM 구성물을 분리시켰다. 간략하면, 0.375 M 트리스 완충제(pH 8.8) 및 15% 글리세롤 중에서 하이브리드 겔을 40% 아크릴아미드/비스-아크릴아미드, 37.5:1(Sigma-Aldrich) 및 울트라퓨어 아가로스(Ultrapur Agarose)(Invitrogen)와 혼합하여 최종 농도가 각각 3.6% 및 0.5%가 되도록 만들었다. 생성된 혼합물을 50°C까지 가열시키고, 0.08% TEMED 및 0.08%의 암모늄 퍼설페이트를 첨가하여 중합화를 개시시켰다. 생성된 용액을 두 플레이트 사이에 붓고, 37°C에서 1시간 동안 아크릴아미드가 중합화될 수 있도록 한 후, 이어서, 확실하게 중합화될 수 있도록 실온에서 30 min 동안 방치하였다. 단백질 샘플을 생성된 하이브리드 겔에 로딩하고, 겔을 800 Vh 동안 트리스-아세트산 SDS 러닝 버퍼(Tris-Acetate SDS Running Buffer)(Novex) 중에서 전개시켰다. 이어서, 겔을 10분 동안 40% 메탄올, 10% 아세트산 중에서 고정시키고, 적어도 3시간 동안 콜로이달 블루 스테인 키트(Novex)를 사용하여 염색한 후, 물 중에서 탈염색시켰다.

[0243] 비환원적 SDS-네이티브-PAGE. 단백질 샘플을 네이티브PAGE 3-12% 비스-트리스(NativePAGE 3-12% Bis-Tris) 겔(Novex)에 로딩하였다. 트리스-아세트산 SDS 러닝 버퍼(Novex)를 첨가하고, 겔을 40 V에서 15 min 동안 전개시킨 후, 90 V에서 2시간 동안 전개시켰다. 이어서, 겔을 10분 동안 40% 메탄올, 10% 아세트산 중에서 고정시키고, 적어도 3시간 동안 콜로이달 블루 스테인 키트(Novex)를 사용하여 염색한 후, 물 중에서 탈염색시켰다.

[0244] J 쇠 웨스턴 블롯. 환원적 조건하에서 전개된 아크릴아미드 겔을 10분 동안 20% 에탄올 용액 중에서 세척한 후, 20 V에서 10분 동안 i블롯 드라이 블롯팅 시스템(iBlot Dry Blotting System)(Invitrogen)을 사용하여 단백질을 i블롯 PVDF 막(Invitrogen)으로 옮겨 놓았다. 옮겨 놓은 후, 적어도 12시간 동안 2% 우혈청 알부민, 0.05% 트윈 20을 사용하여 PVDF 막을 차단시켰다. 피어스(Pierce) J 쇠 항체(ThermoFisher)의 1/500 희석액을 막에 첨가하고, 1시간 동안 인큐베이션시킨 후, 피어스(Pierce) J 쇠 항체(ThermoFisher)의 1/500 희석액을 첨가하고, 암실에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 마지막으로, 슈퍼 시그널 웨스턴 피코 케미루미네센트 서브스트레이트(Super Signal West Pico Chemiluminescent Substrate)(ThermoFisher)를 블롯에

첨가하고, 케미독-잇 HR410 이미징 시스템(ChemiDoc-It HR410 Imaging System)(UVP)을 사용하여 또는 블롯을 X 선 필름에 노출시킴으로써 생성된 신호를 시각화하였다.

[0245] 도 10A 및 도 10B에 제시된 바와 같이, 1.5.3 IgM+wt J 및 1.5.3 IgM+V15J 단백질은 하이브리드 겔 상에서, J쇄를 함유하지 않으며, 더 느리게 이동하는 육량체로부터 구별가능한 것으로서, 더 빠르게 이동한 오량체로 시각화된다. J쇄의 통합은 환원적 겔(도 10C) 상에서 뿐만 아니라, J쇄에 대한 항체를 이용한 웨스턴 블롯(도 10D) 상에서도 확인된다.

[0246] 실시예 4: T 세포 활성화 검정법

[0247] 이중특이적 항CD20/항CD3 항체가 CD20 표적에의 결합시 T 세포를 활성화시킬 수 있다는 것을 입증하기 위해, 하기 검정법을 수행하였다. 조작된 주르카트 T 세포(Promega CS176403) 및 RPMI8226 세포(ATCC CCL-155)를 10% 우태아 혈청(Invitrogen)으로 보충된 RPMI(Invitrogen) 중에서 배양하였다. 정제된 1.5.3 IgM + V15J, 블리나투모맵(이중특이적 CD19 x CD3), 및 단일특이적 1.5.3 IgM의 연속 희석액을 5% CO<sub>2</sub> 하에 37°C에서 2 hr 동안 흰색 384 웰 검정 플레이트 중 20  $\mu$ l에서 7500 RPMI8226 세포와 함께 인큐베이션시켰다. 조작된 주르카트 세포(25000)를 혼합물에 첨가하여 최종 부피가 40  $\mu$ l가 되도록 만들었다. 혼합물을 5% CO<sub>2</sub> 하에 37°C에서 5 h 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 루시페라제 리포터 활성을 측정하기 위해 세포 혼합물을 루시페린을 함유하는 20  $\mu$ l 용해 완충제(Promega, Cell Titer Glo)와 함께 혼합하였다. 인비전 플레이트 판독기에 의해 광 출력값을 측정하였다. 프리즘 소프트웨어를 사용하여 4 파라미터 곡선 피트에 의해 EC50을 측정하였다.

[0248] 결과는 도 11에 제시되어 있다. RPMI8226 세포주 상에서 1.5.3-V15J 항체 경우의 T 세포 활성화가 블리나투모맵 경우에 관찰된 것보다 더 컸다. 각각이 상이한 수준의 CD20 항원을 발현하는 종양 세포주 시리즈를 사용하였을 때, 도 12에 제시된 바와 같이, T 세포 활성화의 최대 수준은 세포 표면 상에서의 CD20 발현 수준과 우수한 상관관계를 보였다.

[0249] 실시예 5: T 세포 유도성 B 세포 사멸 - LDH 방출 검정법

[0250] 이중특이적 CD20 x CD3 IgM 결합 분자가 CD8+ T 세포 급성 림프아구성 백혈병(TALL: T-cell acute lymphoblastic leukemia) 세포의 존재하에서 표적 세포를 사멸시킬 수 있다는 것을 입증하기 위해, 본 발명자들은 공동 배양 실험을 수행하였다. 384 웰 검은색 조직 배양물 플레이트 상에서 웰당 총 부피 45  $\mu$ l의, 10% 열불활성화된 FBS로 보충된 RPMI 1640 배지 중 상이한 농도의 시험 화합물(리툽산 IgM + V15J 및 1.5.3 IgM +V15J)의 존재하에서  $6 \times 10^3$ 개의 암성 B 세포를  $3 \times 10^4$ 개의 TALL 세포(ATCC CRL-11386)와 함께 공동 배양하였다. 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터 중에서 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션시킨 후, 15  $\mu$ l의 사이토스-원(CytoTox-ONE) 기질 시약(Promega, G7891)을 각 웰에 첨가하여 사멸 세포로부터 방출된 LDH의 수준을 측정하였다. 플레이트를 짧게 진탕시켜 시약을 혼합한 후, 인비전 플레이트 판독기(Perkin-Elmer) 상에서 형광 신호(여기를 위해 485 nm 및 방출을 위해 615 nm)를 측정하기 전 90 min 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 이어서, 그래프패드 프리즘을 이용하여 데이터를 분석하여 EC50을 측정하였다. 하기 표 4에 제시된 바와 같이, 1.5.3 IgM V15J 및 리툽시맵 IgM V15J를 사용하였을 때, 둘 모두, 세포 사멸의 EC50은 세포 표면 상에서의 CD20 항원의 발현 수준과 상관관계를 보였고, DB 세포주 상에서의 EC50은 0.4 ng/mL(0.4 pM) 정도로 낮았다.

표 4

T 세포 유도성 B 세포 사멸

| 세포주   | MFI  | EC <sub>50</sub> (ng/mL) |                  |
|-------|------|--------------------------|------------------|
|       |      | 리툭산 IgM + V15J           | IgM 1.5.3 + V15J |
| DB    | 3400 | 0.5                      | 0.4              |
| DOHH2 | 1300 | 13                       | 12               |
| Z-138 | 800  | 30                       | 33               |

[0251]

[0252] 실시예 6: KILR™ 검출 키트를 이용한 시험관내 세포독성 검정법

[0253] 백혈구(즉, T 세포 및 보체의 붕입체 포함) 중에서 CD20+ 종양 세포를 사멸시킬 수 있는 1.5.3 IgM + V15J의 능력을 조사하기 위해, KILR™ 시험관내 세포독성 검출 키트를 사용하였다. 표적 세포로서 KILR™ ARH-77 세포주(CD20+)를 디스커버X(DiscoverX)(97-1001C017)로부터 구입하였다. 96 웰 U 바닥 비조직 배양물 처리된 폴리스티렌 플레이트(Corning Falcon) 상에서 총 부피 200  $\mu$ L의, 10% 열 불활성화된 FBS로 보충된 RPMI 1640 배지(인간 혈액이 공동 배양을 위해 사용될 때, 전혈이 부피의 20-50%를 차지하였기 때문에 더 적은 양의 배지가 사용되었다) 중 상이한 농도의 시험 화합물(1.5.3 IgM+V15J, 1.5.3 IgM+wtJ, 1.5.3 IgG, 리툭시맙 IgG 및 블리나투모맙)의 존재하에서 5-10 x 10<sup>3</sup>개의 KILR™ ARH-77 세포를 인간 CD8+ T 세포(Precision for Medicine), PBMC(AllCells 또는 Precision for Medicine), 또는 히루딘 항응고된 인간 혈액(AllCells)과 함께 공동 배양하였다. 5% CO<sub>2</sub> 인큐베이터 중에서 37°C에서 4-48시간 동안 인큐베이션시킨 후, 플레이트를 5 min 동안 27 x g로 원심분리하였다. 50  $\mu$ L의 상청액을 96 웰 평평한 바닥 흰색 폴리스티렌 플레이트(Greiner Bio-One)로 옮겨 놓음으로써, 인비전 플레이트 판독기(Perkin-Elmer) 상에서 발광을 측정하기 전 실온에서 1시간 인큐베이션시키는 동안 25  $\mu$ L의 KILR 검출 작용 용액(KILR™ 검출 키트: DiscoverX 97-0001M)과 혼합되도록 하였다. 표적 세포를 KILR™ 검출 키트와 함께 공급받은 용해 완충제로 용해시켜 전체 용해 대조군을 확립시켰다. 항체 농도에 대해 사멸률(%)을 플롯팅하고, 그래프패드 프리즘을 사용하여 EC50 값을 측정하였다.

[0254] 전혈(히루딘 포함) 중 정상적인 인간 보체의 존재하에서의 결과는 도 13에 제시되어 있다. 1.5.3 IgM+wtJ(다이아몬드형) 및 IgM+V15J (사각형) 항체, 둘 모두는 4시간 동안 매우 강력한 사멸을 보였다. 리툭산 IgG(개방형 동그라미) 및 블리나투모맙(삼각형)은 적어도 30배 덜 강력하였다.

[0255] 실시예 7: 인간화 NOD/SCID 감마 넉아웃(NSG) 마우스

[0256] 모델을 이용한 생체내 효능 연구

[0257] 인-비보 테크놀로지즈, 인크.(In-Vivo Technologies, Inc.)에 의해 CD34+ 인간화 NSG 마우스 연구를 수행하였다. 상기 마우스는 그가 다중 계통 인간 면역 세포를 소지하고 발생시킨다는 점에서 인간 면역 종양학 연구를 위한 대용물이 된다. 잭슨 라보라토리(Jackson Laboratory)로부터 마우스를 구입하고, 꼬리 정맥 주사를 통해 시험 물품을 투약하였다. 비히클 대조군 이외에도, 시험 물품은 마우스 1마리당 3  $\mu$ g, 1  $\mu$ g, 및 0.3  $\mu$ g의 1.5.3 IgM+V15J 및 마우스 1마리당 1  $\mu$ g 및 0.3  $\mu$ g의 리툭시맙을 포함하였다. 안면 정맥을 통한 투약 후 6h, 24h, 및 10일째에 혈액 샘플을 수집하였다. PBMC 인간화 NSG 마우스 연구를 위해, 올셀즈(AllCells)로부터의 냉동 PBMC를 주사를 위해 잭슨 라보라토리로 보냈다. 100 cGy의 전신 방사선 조사 후, 각 NSG 마우스에 1,000만 개의 PBMC를 주사하였다. 지정된 시점에 안구 뒤 출혈을 통해 (상기와 같은) 시험 물품의 꼬리 정맥 투약 이전 및 이후에 혈액 샘플을 수집하였다. 두 CD34+ 및 PBMC 마우스 연구, 둘 모두로부터의 혈액 샘플을 림프구 분석을 위해 다시 IGM 바이오사이언시스 인크.(IGM Biosciences Inc.)로 보냈다. 상이한 인간 림프구 집단을 식별하기 위해 혈액 샘플을 인간 CD56, CD3, CD19 및 CD45 마커에 대하여 염색하였다. 카운트브라이트 애플솔루트 카운팅 비즈(CountBright Absolute Counting Beads)(LifeTechnologies, C36950)를 사용하여 혈액 샘플 중 림프구 절대



개수를 정량화하였다. 림프구 수준을 플롯팅하고, 그래프패드 프리즘을 사용하여 분석하였다.

[0258] 투약 전 B 세포 수준으로 정규화된, 1.5.3 IgM + 야생형 J 및 1.5.3 IgM + V15J에 대한 투약 후 6시간째의 결과는 각각 도 14A 및 도 14B에 제시되어 있다. 이중특이적 1.5.3 IgM x V15J 항체는 마우스 1마리당 3  $\mu$ g만큼의 소량으로도 이식받은 NSG 마우스에서 강력한 T 세포 의존성 B 세포 사멸을 보였다.

[0259] 검정 전 기간 동안에 걸친 1.5.3 IgM x V15J와 리톡시맙 사이의 결과 비교는 도 15에 제시되어 있다.

표 5

본 게시내용의 서열

| 서열 번호 | 단축 명칭                  | 서열   |
|-------|------------------------|--|
| 1     | 리톡시맙 VH                | QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDT<br>SYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTT<br>VTVSA  |
| 2     | 리톡시맙<br>HCDR1          | SYNMH  |
| 3     | 리톡시맙 HCDR2             | AIYPGNGDTSYNQKFKG  |
| 4     | 리톡시맙<br>HCDR3          | STYYGGDWYFNV   |
| 5     | 리톡시맙 VL                | QIVLSQSPAILASAPGEKVTMTCPASSSVSYIHWFOQKPGSSPKPWYATSNLASGVP<br>VRFSGSGSGTYSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIKR  |
| 6     | 리톡시맙<br>LCDR1          | RASSSVSYIH   |
| 7     | 리톡시맙 LCDR2             | ATSNLAS  |
| 8     | 리톡시맙<br>LCDR3          | QQWTSNPPT  |
| 9     | 900 VH                 | EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCASGYTFT SYNMHWVRQA PGKLEWVGA<br>IYPGNGDTSY NQKFKGRFTI SVDKSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARVV<br>YYSNSYWFYD VWGQGTLLTV SSASTKGPSV FPLAPSSKST SGGTAALGCL<br>VKDYFPEPVT VSWNSGALTS GVHTFPAVLQ SSGLYSLSSV VTPVSSSLGT |
| 10    | 900HCDR3               | VVYYNSYWFYDV   |
| 11    | 900 VL                 | DIQMTQSPSS LSASVGRVT ITCRASSSVS YMHVYQKPG KAPKPLIYAF<br>SNLASGVPSR FSGSGSGTDF TLTISSLQPE DPATYYCQQW SPNPPTFGQG<br>TKVEIKRTVA APSVFIFPFS DEQLKSGTAS VVCLINNFY REAKVQWKVD<br>NALQSGNSQE SVTEQDSKDS TYSLSSTLT SLKADYEKHKV YACEVTHQGL  |
| 12    | 900LCDR1               | RASSSVSYMH   |
| 13    | 900LCDR2               | APSNLAS  |
| 14    | 900LCDR3               | QQWSNPPT   |
| 15    | 125 VH                 | EVQLVQSGAEVVKPGESLKISKSGSRTFTSYNMHWVRQMPGKLEWVGAIYPLTGD<br>SYNQKSKLQVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCARSTYYGGDWQFDVWGKGT<br>VTVSS  |
| 16    | 125HCDR2               | aiypltgdt synqsksl   |
| 17    | 125HCDR3               | styvggdwqfdv   |
| 18    | 125 VL                 | EIVLTQSPGTLSPGERATLSCRASSSVPIIHWYQKPGQAPRLIYATSNLASGIP<br>DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQWLSNPPTFGGQTKLEIK   |
| 19    | 125LCDR1               | RASSSVPIIH   |
| 20    | 125LCDR2               | ATSALAS  |
| 21    | 125LCDR3               | QQWLSNPPT  |
| 22    | 844 VH #2              | QVQLQQPGAELKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDT<br>SYNQKFKGKTTLTADKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTT<br>VTVSA   |
| 23    | 844 VH #3              | QVQLQQPGAELKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDT<br>SYNQKFKGKTTLTADKSSSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARSTYYGGDWYFNVWGAGTT<br>VTVSA   |
| 24    | 844 VL #5              | QIVLSQSPAIITASPGKVTMTCPASTSASYIHWFOQKPTSSPKPWYATSNLASGVP<br>SRFSGSGSGTYSMTISSLEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIK  |
| 25    | 844 VL #5<br>LCDR1     | RASTASASYIH  |
| 26    | 844 VL #6              | QIVLSQSPAIITASPGKVTMTCPASTSVSYIHWFOQKPTSSPKPWYATSNLASGVP<br>SRFSGSGSGTYSMTISSLEAEDAATYYCQQWTSNPPTFGGGTKLEIK  |
| 27    | 844 VL #6, #7<br>LCDR1 | RASTSVSYIH   |

[0260]

| 서열 번호 | 단축 명칭                  | 서열  |
|-------|------------------------|---|
| 28    | 844 VL #7              | QIVLSQSPAIITASPGKVTMTCRASVSYSIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVP<br>SRFSGSGSGTTYMTISSLEAEDAATYYCQOWTSNPPTFGGGTKLEIK   |
| 27    | 년                      |   |
| 29    | 844 VL #8              | QIVLSQSPAIITASPGKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKPGSSPKPWIYATSNLASGVP<br>SRFSGSGSGTTYMTISSLEAEDAATYYCQOWTSNPPTFGGGTKLEIK  |
| 30    | 844 VH #10             | EVQLQQSGAELKKPGASVKVSCASGYTFTSYNMHWVKQTPGQGLEWIGAIYPGNGDT<br>SYNQKFKGKTTLTADKSSSTAYMELSSLRSEDFAVYYCARSNYYGSSYWFDFVWGTTGT<br>TVTVSS  |
| 31    | 844 VH #10<br>HCDR3    | SNYYGSSYWFDFV   |
| 32    | 844 VL #12             | DIVLTQSPAIITASPGKVTMTCRASSSVNYMDWYQKKPGSSPKPWIYATSNLASGVP<br>SRFSGSGSGTTYMTISSLEAEDAATYYCQOWSNPPTFGGGTKLEIK   |
| 33    | 844 VL #12<br>LCDR1    | RASSSVNYMD  |
| 34    | 844 VL #12<br>LCDR3    | QQWSNPPT  |
| 35    | 164 VH                 | QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTSYNMHWVKQAPGQGLEWIGAIYPGNGDT<br>SYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMELSSLRSEDFAFYCARSTYYGGDWYFDVWGQTT<br>TVVSS  |
| 36    | 164 VH<br>HCDR3        | STYYGGDWYFDV  |
| 37    | 164 VL                 | MGWSCIIILFLVATATGVHSDIQLTQSPSSLSASVGDRTMTCRASSSVSYIHWFQQKP<br>GKAPKWIYATSNLASGVPVRFSGSGSGTDYTTFTISSLPEDIATYYCQOWTSNPPTF<br>GGGKLEIK   |
| 38    | 1.5.3 VH               | EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVQMPGKLEWVGIIYPGDSDT<br>RYSPTFGQVTTISADKSIITAYLQWSSLKASDTAMYCARHPSYSGSGSPNFDYWGQGT<br>LTVVSS  |
| 39    | 1.5.3 HCDR1            | GYSFTSYWIG  |
| 40    | 1.5.3 HCDR2            | I IYPGDSDT RYSPFQGG   |
| 41    | 1.5.3 HCDR3            | HPSYSGSGSPNFDY  |
| 42    | 1.5.3 VL               | DIVMTQTPPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLSWLQQRPGQPPRLIYKISN<br>RFSGVPRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQATQFPLTFGGGKVEIK  |
| 43    | 1.5.3 LCDR1            | RSSQSLV YSDGNTYLS   |
| 44    | 1.5.3 LCDR2            | KISNRF S  |
| 45    | 1.5.3 LCDR3            | VQATQFPLT   |
| 46    | 인간 IgM<br>불변 영역<br>DNA | GCCCCAACCCCTTTTCCCCCTCGTCTCCTGTGAGAATTCCCCGTGGGATACGAGCAGCG<br>TGGCCCGTTGGCTGGCTCGCACAGGACTTCCTTCCCGACTCCATCACTTCTCCTGGAA<br>ATACAAGAACAACTCTGACATCAGCAGCACTCGGGGCTTCCCATCAGTCCTGAGAGGG<br>GGCAAGCACGCAGCCACCTCACAGGTGCTGCTGCCTTCCAAGGACGTCATGCAGGGCA<br>CAGACGAACACGTGGTGTGCAAAAGTCCAGCACCCCAACGGCAACAAAGAAAGAACGT<br>GCCTCTTCCAGTGATTGCTGAGCTGCCTCCCAAGTGAGCGTCTTCGTCCGACCCCGC<br>GACGGCTTCTTCGGCAACCCCGCAAGTCCAAGCTCATCTGCCAGGCCACGGGTTTCA<br>GTCCCCGGCAGATTGAGGTGCTCCTGGCTGCGCGAGGGGAAGCAGGTGGGGTCTGGCGT<br>CACCACGGACAGGTGCAGGCTGAGGCAGAGGAGTCTGGGACACGACCTACAAGGTG<br>ACCAGCACACTGACCATCAAGAGAGCGACTGGCTCAGCCAGAGCATGTTCACTGCC<br>GCGTGGATCACAGGGGCTGACCTTCCAGCAGAATGGGTCTCCATGTGTGGCCCCGA<br>TCAAGACACAGCCATCCGGGTCTTCTCCATCCCCCATCCTTTGCCAGCATCTTCTC<br>ACCAAGTCCACCAAGTTGACCTGCCTGGTCACAGACCTGACCACCTATGACAGCGTGA<br>CCATCTCTGGACCGGCCAGAAATGGCGAAGCTGTGAAAACCCACCAACATCTCCGA<br>GAGCCACCCCAATGCCACTTTCAGCGCCGTGGGTGAGGCCAGCATCTGCGAGGATGAC<br>TGGAAATTCGGGGGAGAGGTTACAGTGCACCGTGACCCACACAGACCTGCCCTCGCCAC<br>TGAAGCAGACCATCTCCCGGCCCAAGGGGTGGCCCTGCACAGGCCCGATGTCTACTT<br>GCTGCCACCGCCCGGAGCAGCTGAACCTGCGGGAGTCGGCCACCATCACGTGCTG<br>GTGACGGGCTTCTCTCCCGCGGACGTCTTGGTSCAGTGGATGCAGAGGGGGCAGCCCT<br>TGTCCCCGGGAAGATATGTGACAGCGCCCAATGCCTGAGCCCCAGGCCCGAGGCCG |

[0261]



| 시열 번호 | 단축 명칭                 | 시열  |
|-------|-----------------------|---|
|       |                       | GTACTTCGCCCCACAGCATCCTGACCGTGTCCGAAGAGGAATGGAACACGGGGGAGACC<br>TACACCTGGCGTGGTGGGCCATGAGGCCCTGCCCAACAGGGTCACCGAGAGGACCGTGG<br>ACAAAGTCCACCGGTAAACCCACCCTGTACAACGTGTCCCTGGTCATGTCCGACACAGC<br>TGGCACCTGCTAC  |
| 47    | 인간 IgM<br>불변 영역<br>AA | GSASAPTLFPLVSCENSPSDTSSVAVGCLAQDFLPDSITFSWKYKNNSDISSTRGFPS<br>VLRGGKYAATSQVLLPSKDVMOGTDEHVVCVKVQHPNGNKEKNVPLPVIAELPPKVSFV<br>VPPRDGFFGNPRKSKLICQATGFSPRQIQVSWLREGKQVGSVTTDQVQAEAKESGPT<br>TYKVTSTLTIKESDWLSQSMFTCRVDHRLTFQQNASSMCPDQDTAIRVFAIPPSFA<br>SIFLTKSTKLTCCLVTDLTYYDSVTISWTRQNGEAVKHTNISESHPNATFSAVGEASI<br>CEDDWSNGERFCTCTVTHDLPSPKQTIISREKGVALHRPDVYLLPPAREQLNLRRESAT<br>ITCLVTGFSPADVFVQWMQRGQPLSPEKYVTSAPMPEPQAPGRYFAHSILTVSEEEWN<br>TGETYTCVVAHEALPNRVTERTVDKSTGKPTILYNVSLVMSDTAGTCY   |
| 48    | J 세 DNA               | ATGAAGAACCATTTCCTTTCTGGGGAGTCTGGCGGTTTTTATTAAAGCTGTTCATG<br>TGAAAGCCCAAGAAGATGAAAGGATTGTTCTTGTGACAACAATGTAAGTGTGCCCG<br>GATTACTTCCAGGATCATCCGTTCTTCCGAAGATCCTAATGAGGACATTGTGGAGAGA<br>AACATCCGAATTATTGTTCCTCTGAACAACAGGGAGGAATATCTCTGATCCACCTCAC<br>CATTGAGAACAGATTGTGTACCATTTGTCTGACCTCTGTAAAAAATGTGATCCTAC<br>AGAAGTGGAGCTGGATAATCAGATAGTTACTGCTACCCAGAGCAATATCTGTGATGAA<br>GACAGTGTACAGAGACCTGTACACTTATGACAGAAACAAGTGTACACAGCTGTGG<br>TCCCACTCGTATATGGTGGTGGAGACCAAAATGGTGGAAACAGCCTTAACCCAGATGC<br>CTGCTATCCTGACTAA   |
| 49    | J 세 AA                | mknhl1fwgvlavfikavhvkqederivldnkcckcaritsriirssedpnediver<br>niiivp1nnrenisdptsplrtrfvyhlslclckcdptevelndnqvitatqsnicded<br>satetcytydrnkcytavvplvyggetkmvetaltpdacypd  |
| 50    | 인간 CD20<br>아미노산       | MTTPRNSVNGTFPAEPMKGPIAMSGPKPLFRMRMSLVGPTQSFPMRESKTLGAVQIM<br>NGLFHIALGGLLMIPAGIYAPICVTVVYPLWGSIMYIISGSLAATEKNRKLKLVKGM<br>MIMNSLSLFAAISGMILSIMDIINIKISHPLKMESLNFRATHTFYINIYNCEPANPSE<br>KNSPSTQVCYSIQSLFLGLILVMLIFAFQQLVIAGIVENEWKRTCSRPKSNIVLLSA<br>EEKKKEQTEIEKEEVVGLTETSSSQKNEEDIEIPIQEEEEETETNFPPEPPQDESSP<br>IENDSSP   |
| 51    | 리복시맵 IgM<br>중쇄<br>DNA | CAGGTTTCAGCTGCAGCAGCCCGGAGCCGAGCTGGTCAAACCTGGCGCTAGTGTGAAAA<br>TGTCTATCAAGGCATCCGGATACACATTCCTAGCTATAACATGCACTGGGTGAAGCA<br>GACCCCGGCGAGGGGTCTGGAGTGGATCGGAGCTATCTACCCCGGCAACGGAGACACA<br>TCTTATAATCAGAAGTTTAAAGGCAAGGCCACCTGACAGCTGATAAGTCCAGCTCTA<br>CCGATACATGCAGCTGAGTTCACTGACAAGCGAGGACTCCGCCGTGACTATTGCGC<br>CCGGTCCACTTACTATGGCGGAGATTGGTATTTCAATGTGTGGGGAGCAGGCACCACA<br>GTCACCGTCTCGAGCGGAGTGTAGCGCCCCAACCCCTTTCCCGCTCGTCTCCTGTG<br>AGAATTCCCGTCCGATACGAGCAGCGTGGCCGTGGCTGCCTCGCACAGGACTTCCT<br>TCCCGACTCCATCACTTTCTCCTGGAAATACAAGAACAACCTCTGACATCAGCAGCACC<br>CGGGGCTTCCCATCAGTCTGAGAGGGGGCAAGTACGACGCCACCTCACAGGTGTCTGC<br>TGCTTCCAAAGGACGTATGCAAGGACAGAGCAACACGTGGTGTGCAAAAGTCCAGCA<br>CCCCAACGGCAACAAAGAAAGAACGTGCCTCTTCCAGTGATTGCTGAGCTGCCTCCC<br>AAAGTGAGCGTCTTCTGCCACCCCGGAGCGGCTTCTCGGCAACCCCGCAAGTCCA<br>AGCTCATCTGCCAGGCCACGGGTTTCACTCCCGGCGAGATTACAGGTGTCTGGCTGCG<br>CGAGGGGAAGCAGGTGGGGTCTGGCGTCAACACGGACAGGTGCAGGCTGAGGCCAAA<br>GAGTCTGGGCCCACGACCTACAAGGTGACCAGCACACTGACCATCAAAGAGAGCGACT<br>GGCTCAGCCAGAGCATGTTACCTGCCGCGTGGATCACAGGGGCGTACCTTCCAGCA<br>GAATGCGTCTCCATGTGTGTCCCGATCAAGACACAGCCATCCGGGTCTTCCGCCATC<br>CCCCATCCTTTGCCAGCATCTTCTCACCAAGTCCACCAAGTTGACCTGCCTGGTCA<br>CAGACCTGACCACCTATGACAGCGTGACCATCTCCTGGACCCGCCAGAATGGCGAAGC<br>TGTGAAACCCACACCAACATCTCCGAGAGCCACCCCAATGCCACTTTCAGCGCGGTG<br>GGTGAGGCCAGCATCTGCGAGGATGACTGGAATTCCGGGGAGAGGTTACAGTGCACCG<br>TGACCCACACAGACCTGCCCTCGCCACTGAAGCAGACCATCTCCCGGCCAAGGGGT<br>GGCCCTGCACAGGCCCCATGTCTACTTGTGTCACAGCCCGGGAGCAGCTGAACCTG<br>CGGGAGTCGGCCACCATCACGTGCCTGGTGACGGGCTTCTCTCCCGCGGACGTCTTCG<br>TGCAGTGGATGCAGAGGGGGCAGCCCTTGTCCCGGAGAAGTATGTGACCGAGCGCCCC<br>AATGCCTGAGCCCCAGGCCCCAGGCCGCTACTTCGCCCCACAGCATCTGACCGTGTCC<br>GAAGAGGAATGGAACACGGGGGAGACCTACACCTGCGTGGTGGCCATGAGGCCCTGC |

| 서열 번호 | 단축 명칭                | 서열  |
|-------|----------------------|---|
|       |                      | CCACAGGGTCACCGAGAGGACCGTGGACAAAGTCCACCGGTAAACCCACCTGTACAA<br>CGTGTCCTCGGTGTCATGTCCGACACAGCTGGCACCTGCTACTGA  |
| 52    | 리복시암 IgM<br>중쇄 AA    | QVQLQOPGAEIVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHWKQTPGRGLEWIGAIYPNGNDT<br>SYNQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYICARSTYYGGDWYFNVWGAGTT<br>VTVSSGSASAPTLFPLVSCENSPSDTSSVAVGCLAQDFLPDSITFSWKYKNNSDISST<br>RGTFPSVLRGGKYAATSQVLLPSKDVMOGTDEHVYCKVQHPNGNKEKNVLPVIAELPP<br>KVSIVPVRDGTFCNPRKSLICQATGFSRQIQVSWLREGKQVGSVTTDQVQAEAK<br>ESGPTTYKVITSLTIKESDWLSQSMFTCRVDHRLTFQGNASSMCPVDQDTAIRVFAI<br>PPSPASIFLTKSTKLTLCLVTDLTYSVTISWTRONGEAVKHTNISESHPNATPSAV<br>GEASICEEDWNSEGERITCTVTHDLPSPKQTI SRPKGVALHRPDVYLLPPAREQLNL<br>RESATITCLVTGFSPADVFVQMMQRGQPLSPEKYVTSAPMPEPQAFGRYFAHSILTVS<br>EEENWITGETYTCVVAHEALPNRVTERIVDRSTGKFTLYNVSLVMSDTAGTCY-  |
| 53    | 리복시암 경쇄<br>DNA       | CAAAATTGTGCTGTCTCAGAGTCCAGCTATCCTGAGCGCATCTCCCGGAGAGAAGGTGA<br>CCATGACATGCAGAGCCTCCAGCTCTGTCTCCTACATCCACTGGTTCAGCAGAAAGCC<br>CGGCTCCTCCCAAACCCCTGGATCTACGCCACCTCTAACCTGGCTAGTGGTGTGCCT<br>GTCAGGTTTAGTGGATCAGGGTCCGGCACCAGCTACTCTCTGACAATCAGCCGGGTGG<br>ATAGCTGAAGACGCCGCTACATACTATTGCCAGCAGTGGACTTCTAATCCCCCTACCTT<br>CGGCGGAGGGACAAAGCTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATC<br>TTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACCTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTGCTGA<br>ATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATC<br>GGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCCT<br>AGCAGCACCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACAAAGTCTACGCTGCG<br>AAGTCAACCATCAGGGCTGAGCTCGCCGCTCACAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTG<br>TTAG  |
| 54    | 리복시암 경쇄<br>AA        | QIVLSQSPAILSASPEGEKVTMTCRASSSVSYIHWFOQKFGSSPKPWIVATSNLASGVF<br>VRFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPTTFGGGTKLEIKRTVAAPSVPFI<br>PPPSDEQLKSGTASVVLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSL<br>SSITLFLSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-   |
| 55    | 1.5.3 -IgM<br>중쇄 DNA | GAGGTGCAGCTGGTGCACTCCGGCGCCGAGGTGAAGAAGCCCGGCGAGTCCCTGAAGA<br>TCTCCTGCAGAGGGCTCCGGCTACTCCTTCACCTCCTACTGGATCGGCTGGGTGAGGCA<br>GATGCCCGGCAAGGGCTGGAGTGGATGGGCATCATCTACCCCGCGCACTCCGACACC<br>AGGTACTCCCTCCTTCCAGGGCCAGGTGACCATCTCCGCGGACAAGTCCATCACCA<br>CCGCTACCTGCAGTGGTCTCCTGAAGGCTCCGACACCGCCATGTACTACTGCGC<br>CAGGCCTCCTTACGGCTCCGGCTCCCAACTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACC<br>CTGGTGACCGGTGCTCCTCCGGCAGTGTAGCGCCCCAACCTTTTCCCCCTCGTCTCCT<br>GTGAGAATTCCCGTCCGATACGAGCAGCGTGGCCGTTGGCTGCCTCGCACAGGACTT<br>CCTTCCCGACTCCATCACTTTCTCCTGGAATACAAGAACAACCTCTGACATCAGCAGC<br>ACCCGGGGCTTCCATCAGTCTGAGAGGGGGCAAGTACGACGCCACCTCACAGGTGC<br>TGCTGCCTTCCAAGGACGTATGCAGGGCACAGACGAACACGTGGTGTGCAAAAGTCCA<br>GCACCCCAACGGCAACAAAGAAAGAACGTGCCTCTTCCAGTGATTGTGAGCTGCCT<br>CCCAAGTGAGCGTCTTCTGTCACCCCGCGACGGCTTCTTGGGCAACCCCGCAAGT<br>CCAAGCTCATCTGCCAGGCCACGGGTTTCACTCCCGGCGAGATTCAAGTGTCTGGCT<br>GCGCGAGGGGAAGCAGGTGGGGTCTGGCGTCACCACGGACAGGTGCAGGCTGAGGCC<br>AAAGAGTCTGGGGCCACGACCTACAAGGTGACCAGCACACTGACCATCAAAGAGAGCG<br>ACTGGCTCAGCCAGAGCATGTTACCTGCCGCGTGGATCACAGGGGCTGACCTTCCA<br>GCAGAATGCGTCTCCATGTGTGTCCCGCATCAAGACACAGCCATCCGGGTCTTCCGCC<br>ATCCCCCATCTTTGCCAGCATCTTCTCACCAGTCCACCAAGTTGACCTGCCTGG<br>TCACAGACCTGACCACCTATGACAGCGTGACCATCTCCTGGACCCGCCAGAATGGCGA<br>AGCTGTGAAAACCCACACCAACATCTCCGAGAGCCACCCCAATGCCATTTTCAGCGCC<br>GTGGGTGAGGCCAGCATCTGCAGGATGACTGGAATTCCGGGGAGAGGTTACGTGCA<br>CCGTGACCCACACAGACTGCCCTCGCCACTGAAGCAGACCATCTCCCGGCCCAAGGG<br>GGTGGCCCTGCACAGGCCCCGATGTCTACTTGTGTGCCACCGCCGGGAGCAGCTGAAC<br>CTGCCGGAGTCGGCCACCATCACGTGCCTGGTGACGGGCTTCTCTCCCGCGGACGTCT<br>TCGTGCAGTGGATGCAGAGGGGGCAGCCCTTGTCCCGGAGAAGTATGTGACAGCGC<br>CCCAATGCTGAGCCCCAGGCCCCAGGCCGGTACTTCGCCCACAGCATCCTGACCGTG<br>TCCGAAGAGGAATGGAACACGGGGGAGACCTACACCTGCGTGGTGGCCCATGAGGCC<br>TGCCCAACAGGGTCACCGAGAGGACCGTGGACAAGTCCACCGGTAAACCCACCTGT<br>CAACGTGTCCCTGGTCTATGTCCGACACAGCTGGCACCTGCTACTGA |

[0263]



| 서열 번호 | 단축 명칭                   | 서열  |
|-------|-------------------------|---|
| 56    | 1.5.3 IgM 중쇄 AA         | EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVROMPGKGLEWMGIYPGDSDT<br>RYSPTFGQVITISADKSITAYLQWSSLKASDTAMYYCARHPSYSGSPNFDYWQGGT<br>LVTYSSGSASAPTLFPLVSCENSFSDTSSVAVGCLAQDFLPDSITFSWKYKNNSDISS<br>TRGFPSVLRGGKYAATSQVLLPSKDVMOGTDEHVVKVQHPNGNKEKNVPLPVIAELP<br>PKVSVFPVPPRDGFFGNPRKSKLICQATGFSRQIQVSWLREGKQVGSVTTDQVQAEA<br>KESGPTTYKVTSTLTIKESDWLSQSMFTCRVDHRLTFOQNASSMCPDQDTAIRVFA<br>IPPSFASIFLTKSTKLTCLVTDLTYSVTISWTRONGEAVKTHTNISESHPNATFSA<br>VGEASICEDDWNSEGERFTCTVTHTDLPSPKQTIISRPKGVALLHRPDVYLLPPAREQLN<br>LRESATITCLVTGFSPADVFQWMQRGQPLSPEKYVTSAPMPEPQAPGRYFAHSILTV<br>SEEEWNTGETYTCVVAHEALFNRTERTVDKSTGKPTLYNVSLVMSDTAGTCY-   |
| 57    | 1.5.3 경쇄 DNA            | GACATCGTGATGACCCAGACCCCTGTCTCCCCCGTGACCTGGGCGAGCCCGCCT<br>CCATCTCCTGCAGGTCTCCAGTCCCTGGTGTACTCCGACGGCAACACCTACCTGTC<br>CTGGCTCGACGAGAGGCCCGGCCAGCCCCCAGGCTGCTGATCTACAAGATCTCCAAC<br>AGGTTCTCCGGCGTGCCCGACAGGTCTCCGGCTCCGGCGCCGCCACCACTTACCCC<br>TGAAGATCTCCAGGGTGGAGGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCTGCAGGCCAC<br>CCAGTCCCCCTGACCTTCGGCGCGGCCACCAAGGTGGAGATCAAGCGTACGGTGGCT<br>GCACCATCTGCTTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCT<br>CTGTTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGT<br>GGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG<br>GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAAC<br>ACAAAGTCTACGCTGCGAAGTACCCATCAGGCGCTGAGCTCGCCCGTCAAAAGAG<br>CTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG  |
| 58    | 1.5.3 경쇄 AA             | DIVMTQPLSSPVTLGQPAISICRSSQSLVYSEGNITYLSWLOQRPQPPRLIYKISN<br>RFSGVPPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCVQATQFPLTFGGGTGKVEIKRTVA<br>APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQESK<br>DSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC-   |
| 59    | 인간 IgA1 불변 영역 aa P01876 | ASPTSPKVFPLSLCSTQPDGNVVIACLVGQFFPQEPPLSVTWSESGQVARNFPPSQD<br>ASGDLTYTSSQLTLPATQCLAGKSVTCHVKHYTNPSQDVTVPVPCVPSTPTTSPSTPP<br>TPSPSCCHPRLSLHRPALEDLLGSEANLTCTLTGLRDASGVTFTWTPSSGKSASVQGP<br>PERDLGCGYSVSSVLPGCAEPWNHGTFTCTAAYPESKPTPLTATLSKSGNTFRPEVHL<br>LPPSEELALNELVTLTCLARGFSPKDVLRWLQGSQELPREKYLTVASRQEPSPQGT<br>TFAVTSILRVAEDWKKGDTFSCMVGHEALPLAFTQKTIIDRLAGKPTHVNVSVVMAEV<br>DGTCTY   |
| 60    | 인간 IgA2 불변 영역 aa P01877 | ASPTSPKVFPLSLDSTPDQGNVVVACLVGQFFPQEPPLSVTWSESGQVARNFPPSQD<br>ASGDLTYTSSQLTLPATQCPDGKSVTCHVKHYTNPSQDVTVPVPCVPFPFPCCHPRLSL<br>HRPALEDLLGSEANLTCTLTGLRDASGATFTWTPSSGKSASVQGPPEPDLGCGYSVSS<br>VLPGCAEPWNHGTFTCTAAHPELKTPLTANITKSGNTFRPEVHLPPSEELALNEL<br>VTLTCLARGFSPKDVLRWLQGSQELPREKYLTVASRQEPSPQGTTFFAVTSILRVAE<br>DWWKGDFTSCMVGHEALPLAFTQKTIIDRMAGKPTHVNVSVVMAEVDGTCTY  |
| 61    | 인간 분비 성분 친구체            | MLLVLTCLLAVFPAISTKSPIFGPEEVNSVEGNSVSICTYYPPTSVNRHTRKYWCRO<br>GARGGCITLISSEGYVSSKYAGRANLTNFPENGTFVFNIAQLSQDDSGRYKCGLGINS<br>RGLSFDVSLEVSQGPGLLNDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAKRKSLYKQIGLYPV<br>LVIDSSGYVNPNTGRIRLDIQGTQQLFSVVINQLRLSDAGQYLCQAGDDSNNSKKN<br>ADLQVLKPEPELVYEDLRGSVTFHCALGPEVANVAKFLCRQSSGENCDVVNTLGKRA<br>PAFEGRIILLNPQDKDGSFVVTGLRKEDAGRYLCGAHSDGQLQEGSPIQAWQLFVNE<br>ESTIPRSPTVVKGAGGSVAVLCPPYNRKESKSIKYWCLWEGAQNGRCPLLVDSEGVVK<br>AQYEGRLSLLEEPNGTFTVILNQLTSRDAGFYWCLTNGDTLWRTTVEIKIIEGEPNL<br>KVPGNVTAVLGETLKVPCHFPECKESSYEKYWCKWNNTGCQALPSQDEGPSKAFVNCDE<br>NSRLVSLTLNLVTRADEGWYWCYKQGHFYGETAAVYVAVEERKAAGSRDVSIAKADA<br>APDEKVLDSGFREIENKAIQDPRLFAEEKAVADTRQADGSRASVDSGSEEQGGSSR<br>ALVSTLVPLGLVLAVGAVGVARARHRKNVDRVRSIRSYRTDISMSDFENSREFGAND<br>NMGASSITQETSLGGKEEFVATTESTTETKEPKAKRRSSKEEAEMAYKDFLLQSSSTVA<br>AEAQDGPQEA |
| 62    | 정숙한 인간 분비 성분            | RSPIFGPEEVNSVEGNSVSICTYYPPTSVNRHTRKYWCROGARGGCITLISSEGYVSS<br>KYAGRANLTNFPENGTFVFNIAQLSQDDSGRYKCGLGINSRGLSFDVSLEVSQGPGLL<br>NDTKVYTVDLGRTVTINCPFKTENAKRKSLYKQIGLYPVVILVIDSSGYVNPNTGRIR<br>LDIQGTQQLFSVVINQLRLSDAGQYLCQAGDDSNNSKKNADLQVLKPEPELVYEDLR<br>GSVTFHCALGPEVANVAKFLCRQSSGENCDVVNTLGKRAPAFEGRIILLNPQDKDGSF   |

[0264]

| 서열 번호 | 단축 명칭                            | 서열   |
|-------|----------------------------------|--|
|       |                                  | SVVITGLRKEDAGRYLCGAHSDGQLQEGSPIQAWQLFVNEESTIPRSPTVVKGVAGGS<br>VAVLCFYNRKESKSIKYWCLWEGAQNRCPLLVDSGQVKAQYEGRLSLLEEPNGNFTF<br>TVILNQUTSRDAGFYWCLTINGDLTWRTTVEIKIIEGEPNLKVPGNVTAVLGETLKVPC<br>HFPCKFSSYEKYWCKWNNTGCQALPSQDEGPKAFVNCDENSRLVSLTLNLVTRADEG<br>WYWGQVKGHFYGETAAVYVAVEERKAAGSRDVSLLAKADAAPDEKVLDSGFREIENKA<br>TQDPR   |
| 63    | V15J에 대한<br>변형된 J 체<br>서열 전구체    | MGWSYIILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFISYTMHWVRQ<br>APGGQLEWMGYINPRSGYTHYNQKLKDKATLTADKASASTAYMELSSLRSEDTAVYICA<br>RSAYYDYDGFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRTV<br>ITCSASSSVSYMNWYQQKPKGAPKRLIYDTSKLASGVPSRFGSGSGSDFTLTISSLQ<br>PEDFATYYCQQWSSNPPTFGGGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGQEDERIVLVDNKCKC<br>ARITSRIIRSEDPNEDIVERNIRIIVPLNNRENISDPTSPLRTRFVYHLSDLCKKCD<br>PTEVELDNQIVTATQSNICDEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPLVYGGETKMOVETALTP<br>DACYPD  |
| 64    | V15J에 대한<br>성숙한<br>변형된 J 체<br>서열 | QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFISYTMHWVRQAPGGQLEWMGYINPRSGYT<br>HYNQKLKDKATLTADKASASTAYMELSSLRSEDTAVYICARSAYDYDGFAYWGQGLTV<br>TVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRTVITCSASSSVSYMNWYQQK<br>GKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSNPPTF<br>GGGKLEIKGGGGSGGGSGGGSGQEDERIVLVDNKCKCARITSRIIRSEDPNEDIV<br>ERNIRIIVPLNNRENISDPTSPLRTRFVYHLSDLCKKCDPTEVELDNQIVTATQSNIC<br>DEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPLVYGGETKMOVETALTPDACYPD  |
| 65    | J15V에 대한<br>변형된 J 체<br>서열 전구체    | MKNHLLFWGLAVFIKAVHVKAEQDERIVLVDNKCKCARITSRIIRSEDPNEDIVER<br>NIRIIVPLNNRENISDPTSPLRTRFVYHLSDLCKKCDPTEVELDNQIVTATQSNICDE<br>DSATETCYTYDRNKCYTAVVPLVYGGETKMOVETALTPDACYPDGGGGSGGGSGGGSG<br>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFISYTMHWVRQAPGGQLEWMGYINPRSGYT<br>HYNQKLKDKATLTADKASASTAYMELSSLRSEDTAVYICARSAYDYDGFAYWGQGLTV<br>TVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQTQSPSSLSASVGDRTVITCSASSSVSYMNWYQQK<br>GKAPKRLIYDTSKLASGVPSRFGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSNPPTF<br>GGGKLEIK   |
| 66    | J15V에 대한<br>성숙한 변형된<br>J 체 서열    | QEDERIVLVDNKCKCARITSRIIRSEDPNEDIVERNIRIIVPLNNRENISDPTSPLR<br>TRFVYHLSDLCKKCDPTEVELDNQIVTATQSNICDEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPL<br>VYGGGETKMOVETALTPDACYPDGGGGSGGGSGGGSGQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC<br>KASGYTFISYTMHWVRQAPGGQLEWMGYINPRSGYTHYNQKLKDKATLTADKASASTAY<br>MELSSLRSEDTAVYICARSAYDYDGFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIQT<br>MTQSPSSLSASVGDRTVITCSASSSVSYMNWYQQKPKGAPKRLIYDTSKLASGVPSR<br>FGSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYCQQWSSNPPTFGGGTKLEIK  |
| 67    | (GGGGS) <sub>3</sub><br>링크       | GGGGSGGGSGGGGS   |
| 68    | V15J에 대한<br>J 체 DNA 서열           | ATGGGCTGGTCCTACATCATCCTCTTCCTCGTGGCCACAGCCACAGGCGTCCATAGCC<br>AGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCTTGGCGCCAGCGTGAAGGT<br>GAGCTGCAGGCTTCCGGCTACACCTTCATCTCCTACACCATGCAGTGGGTGAGGCAA<br>CGTCTCGGCGAGGCTGGAGTGGATGGGATACATCAACCTCGGTCGGCTATACCC<br>ACTCAATCAGAAGCTGAAGGACAAGGCCACCTGACCGCTGACAAGTCCGCTCCAC<br>CGCTTACATGGAGCTGTCTCCCTGAGGTCCGAGGACACCGCGGTGACTACTGTGCC<br>AGGTCCGCTACTACGACTACGACGGATTGCGTTACTGGGGCCAGGACACCTGGTGA<br>CAGTGAGCTCCGGAGGAGGAGGACGCGCGCGCGCGGACGCGCGCGCGCGGACGCA<br>TATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCTGTGCGCTTCCGTGGCGGACAGGGTGACC<br>ATCACCTGCAGCGCTTCCCTCCTCGGTGCTTACATGAATCGTACAGCAGAAGCGCTG<br>GCAAGGCCCCAAGAGGTGATCTACGACACCTCCAAGCTGGCTCCGGAGTGCCCTTC<br>CAGGTTCAGCGGCTCCGGCTCCGGAACCGACTTCACCTGACCATTAGCTCCCTGCAG<br>CCCGAGGACTTCCGCACTACTACTGCCAGTGGTCCAGCAACCTCCACCTTCG<br>CGGCGGCGACAAAGCTGGAGATCAAGGAGGAGGAGGATCCGGTGGTGGTGGTCTGG<br>CGGAGGTGGATCCCAAGAAGATGAAAGGATTGTTCTTGTGTGACAACAATGTAAGTGT<br>GCCCGGATTACTTCCAGGATCATCCGTTCTTCCGAAGATCCTAATGAGGACATTGTGG<br>AGAGAAACATCCGAATTATTGTTCTCTGAACAACAGGAGAAATATCTCTGATCCAC<br>CTCACCATTTGAGAACCAGATTGTGTACCATTTGTCTGACCTCTGTAAAAAATGTGAT<br>CCTACAGAAGTGGAGCTGGATAATCAGATAGTTACTGCTACCCAGAGCAATATCTGTG<br>ATGAAGACAGTGTACAGAGACCTGTACACTTATGACAGAAACAGTGTACACAGC<br>TGTGGTCCCACTCGTATATGGTGGTGGAGACAAAATGGTGGAAACAGCCTTAACCCCA |

[0265]

| 서열 번호 | 단축 명칭                 | 서열  |
|-------|-----------------------|---|
|       |                       | GATGCTGCTATCCTGACTGA  |
| 69    | J15V에 대한<br>J체 DNA 서열 | ATGAAGAACCATTGCTTTTCTGGGGAGTCTGGCGGTTTTTATTAAGGCTGTTCATG<br>TGAAAGCCCCAAGAAGATGAAAGGATTGTTCTTGTGACAAACAATGTAAGTGTGCCCG<br>GATTACTTCCAGGATCATCCGTTCTTCCGAAGATCCTAATGAGGACATTGTGGAGAGA<br>AACATCCGAATTATTGTTCTCTGAACAACAGGGAGAATATCTCTGATCCCACTCAC<br>CATTGAGAACCAGATTGTGTACCATTTGTCTGACCTCTGTAAAAAATGTGATCCTAC<br>AGAAAGTGGAGCTGGATAATCAGATAGTTACTGCTACCCAGAGCAATATCTGTGATGAA<br>GACAGTGTACAGAGACCTGCTACACTTATGACAGAAACAAGTGTACACAGCTGTGG<br>TCCACTCGTATATGGTGGTGGAGACAAAATGGTGGAAACAGCCTTAACCCAGATGC<br>CTGCTATCCTGACGAGGAGGAGGATCCGGTGGTGGTGGTCTGGCGGAGGTGGATCC<br>CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAAGTGAAGAAGCCTGGCGCCAGCGTGAAG<br>TGAGCTGCAAGGCTTCCGGCTACACCTTCATCTCCTACACCATGCAGTGGTGAGGCA<br>AGCTCCTGGCGAGGCGTGGAGTGGATGGGATACATCAACCTCGGTCCGGCTATACCC<br>CACTACAATCAGAAGCTGAAGGACAAGGCCACCTGACCGCTGACAAGTCCGCTCCCA<br>CGCTTACATGGAGCTGTCTCCTGAGGTCCGAGGACACCGCGGTGACTACTGTGC<br>CAGGTCCGCTACTACGACTACGACGATTGCTTACTGGGGCCAGGACACCTGGTG<br>ACAGTGAAGTCCGAGGAGGAGGACGCGGTGGTGGCGGAAGCGGTGGAGGTGGCAGCG<br>ATATCCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCTGTCCGCTTCCGTGGGCGACAGGGTGAC<br>CATCACCTGCAGCGCTTCTCCTCCGTGTCTACATGAACCTGGTACAGCAGAAGCCT<br>GGCAAGGCCCCAAGAGGTGATCTACGACACCTCCAAGCTGGCTCCGGAGTGCCTT<br>CCAGGTTCCAGCGGCTCCGGCTCCGGAACCGACTTACCTGACCATTAGCTCCCTGCA<br>GCCCGAGGACTTCCGCACTACTACTGCCAGCAGTGGTCCAGCAACCTCCCACTTC<br>GGAGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGTGA |

[0266]

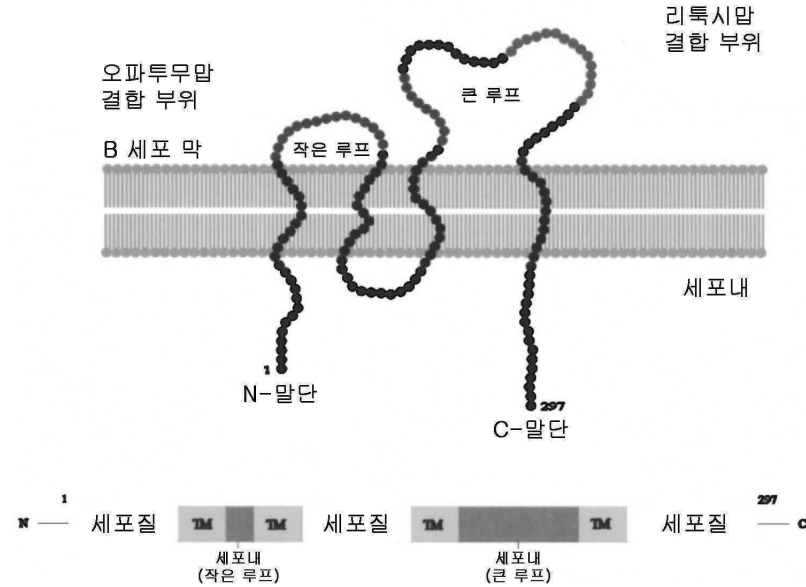


[0267]

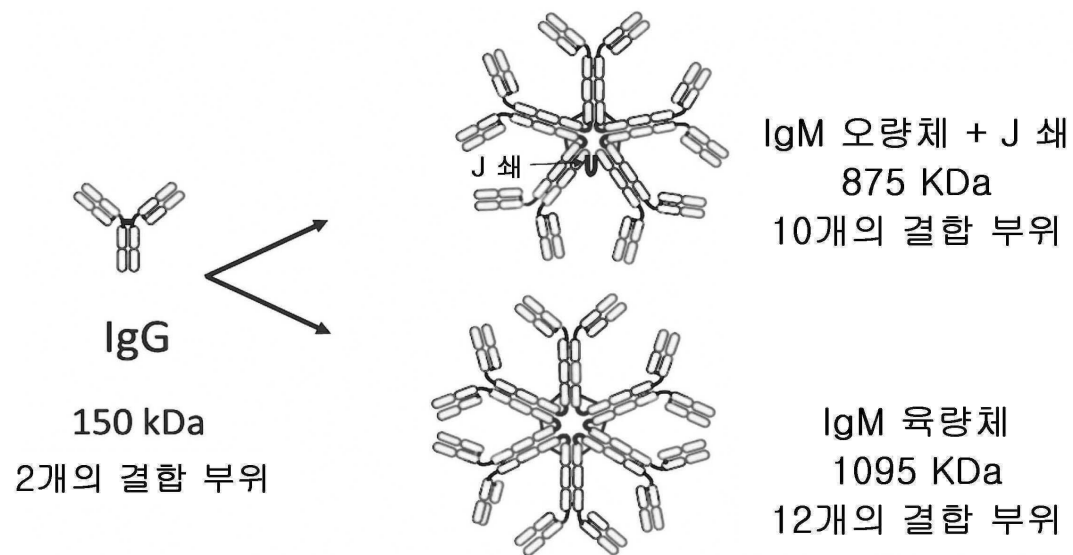
본 개시내용의 범위 및 범주는 상기 기술된 예시적인 실시양태 중 임의의 것으로 제한되지 않아야 하고, 이는 오직 하기 특허청구범위 및 그의 등가물에 따라서만 정의되어야 한다.

## 도면

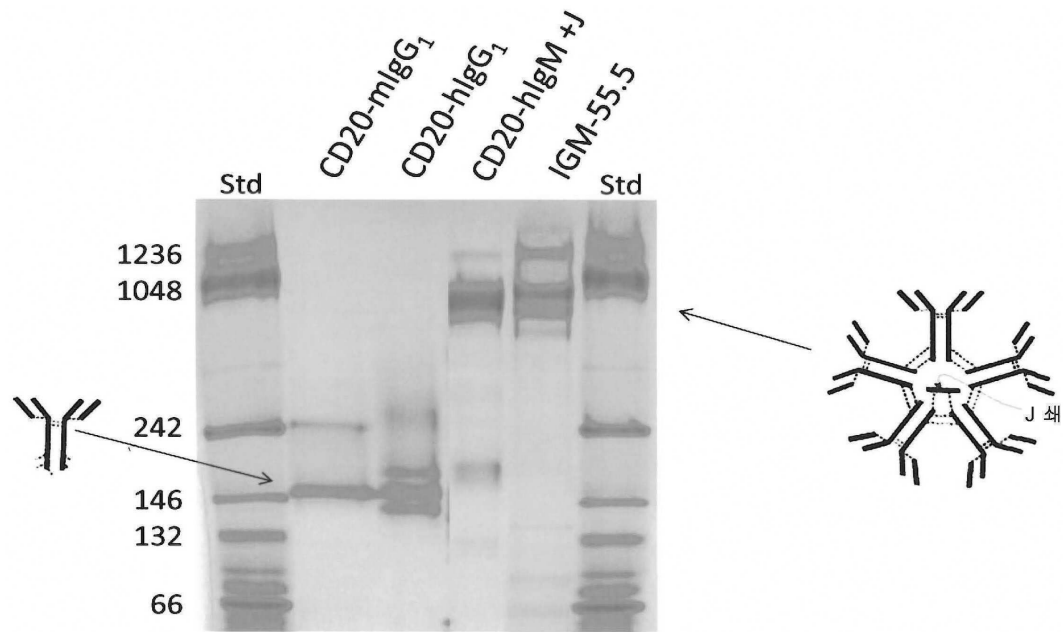
### 도면1



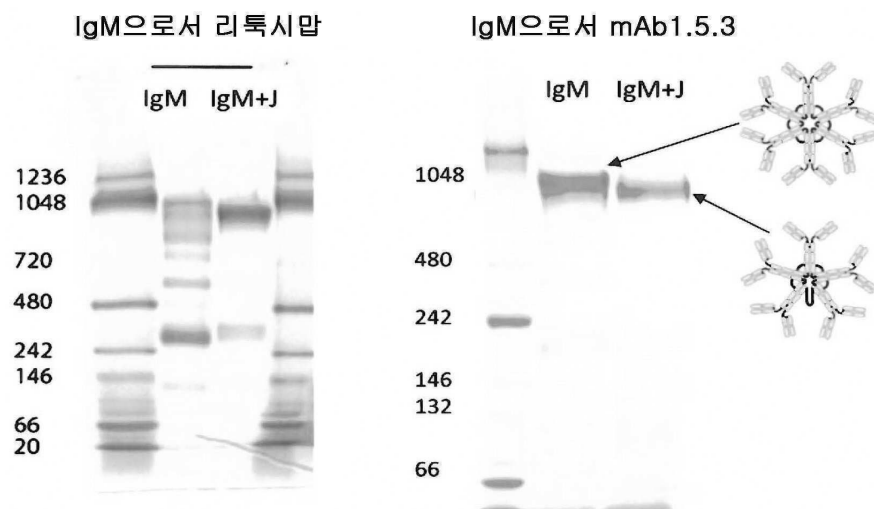
### 도면2



도면3

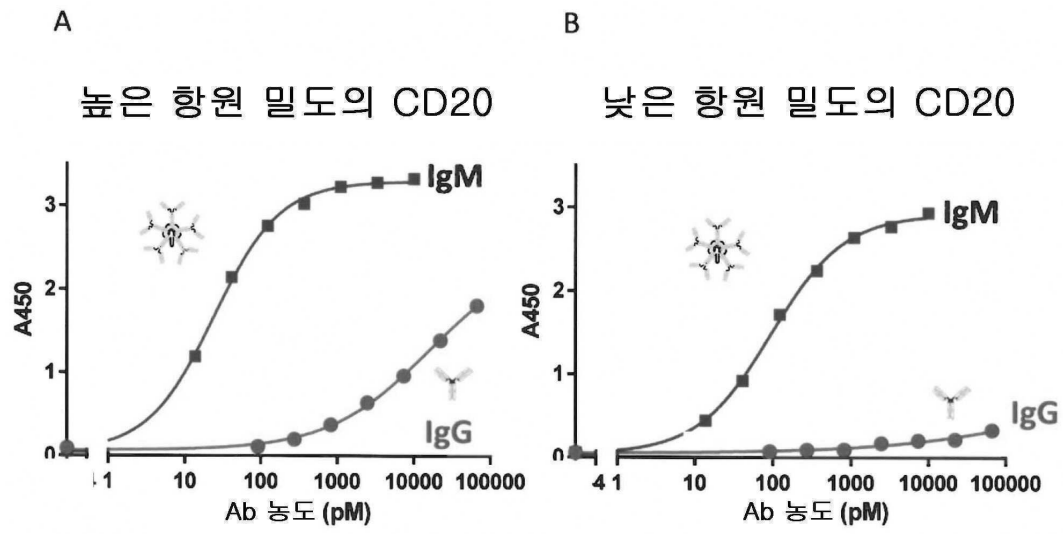


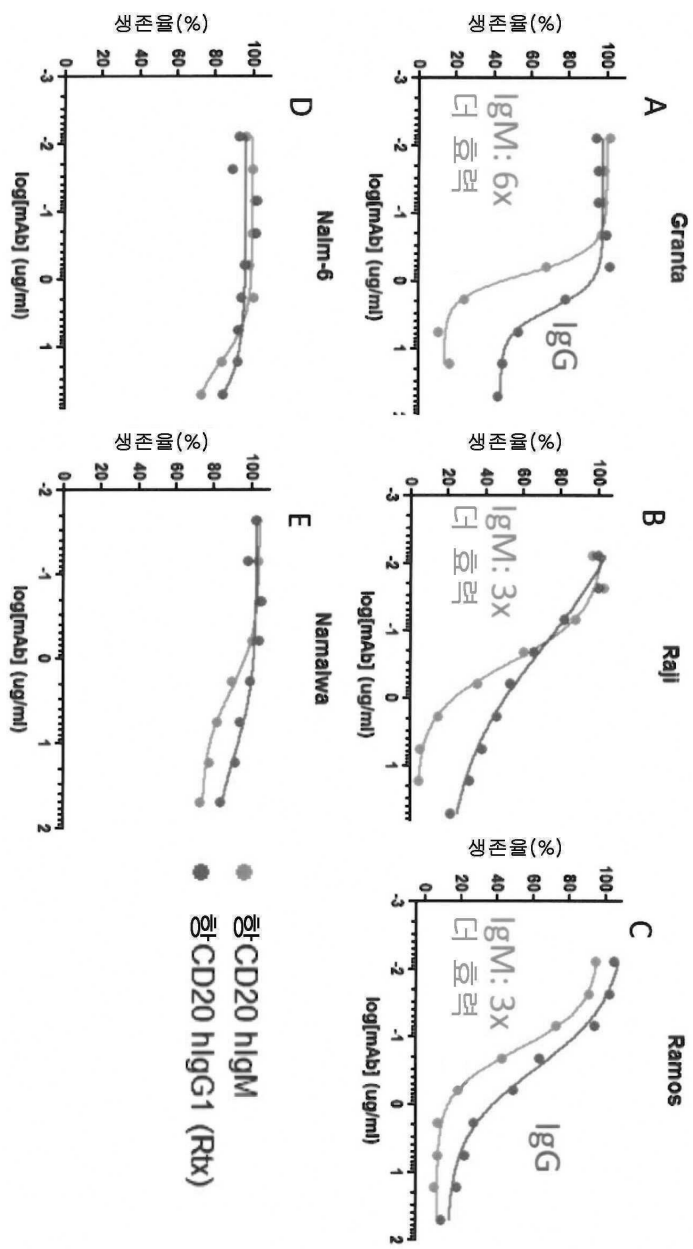
도면4



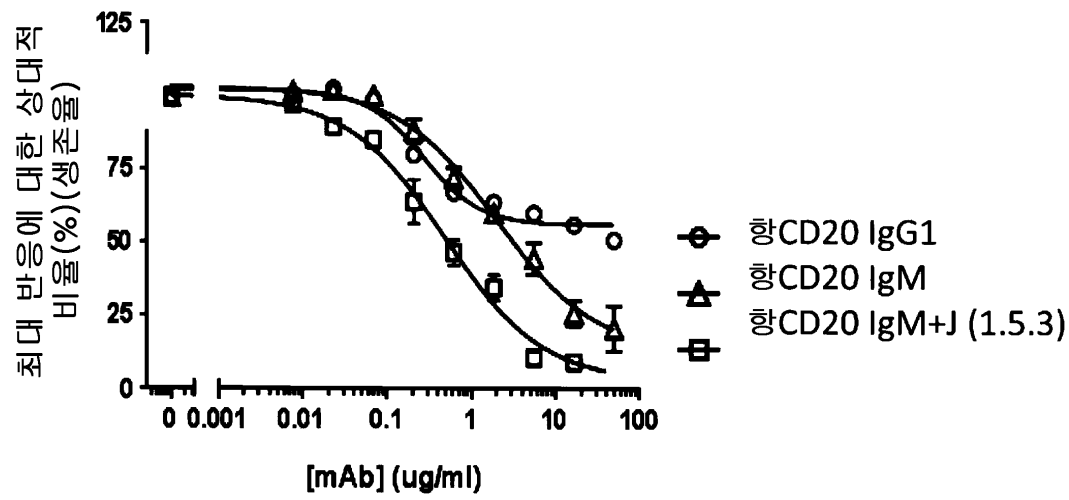


도면5

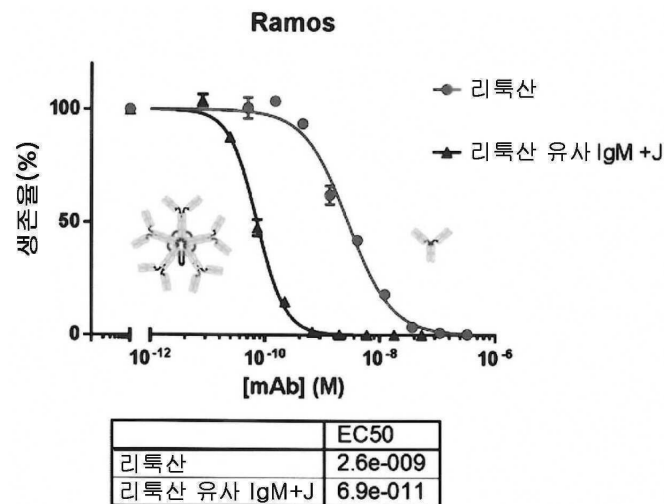




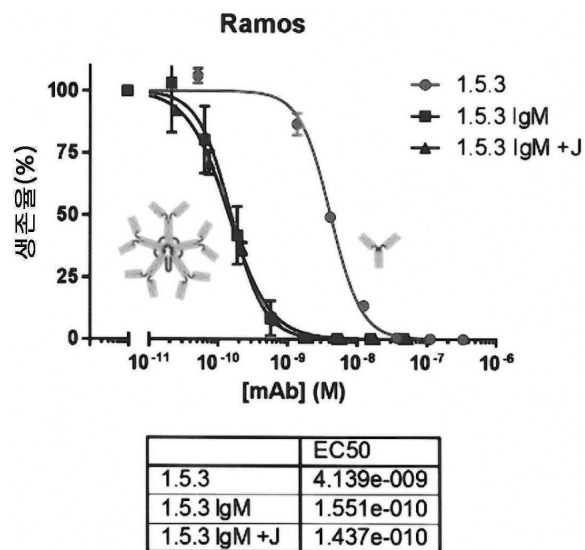
도면7



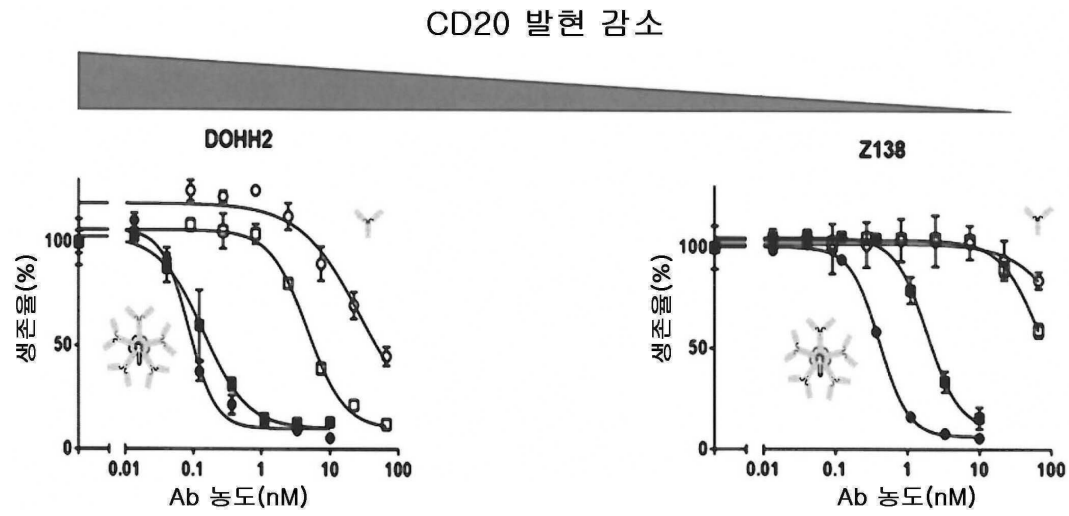
도면8a



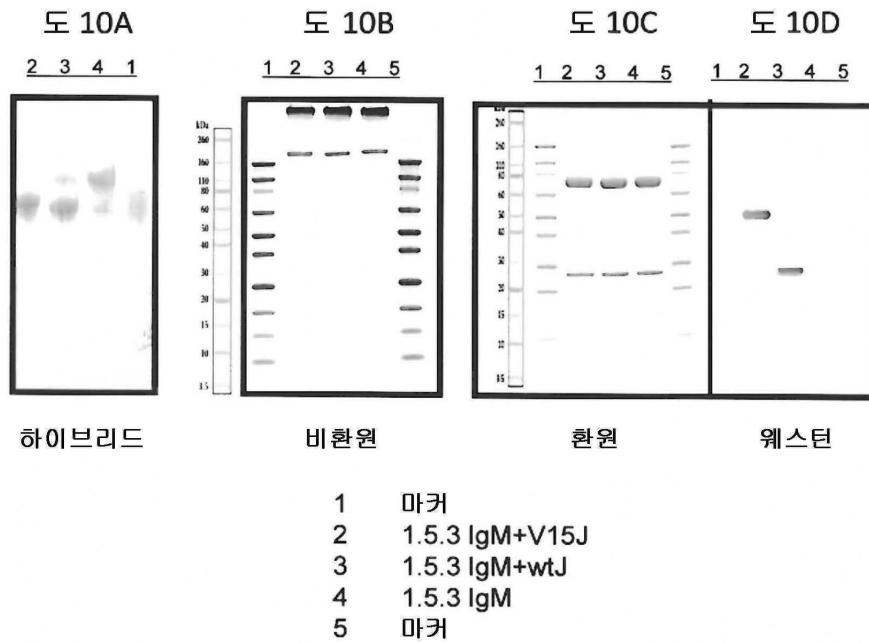
도면8b



도면9

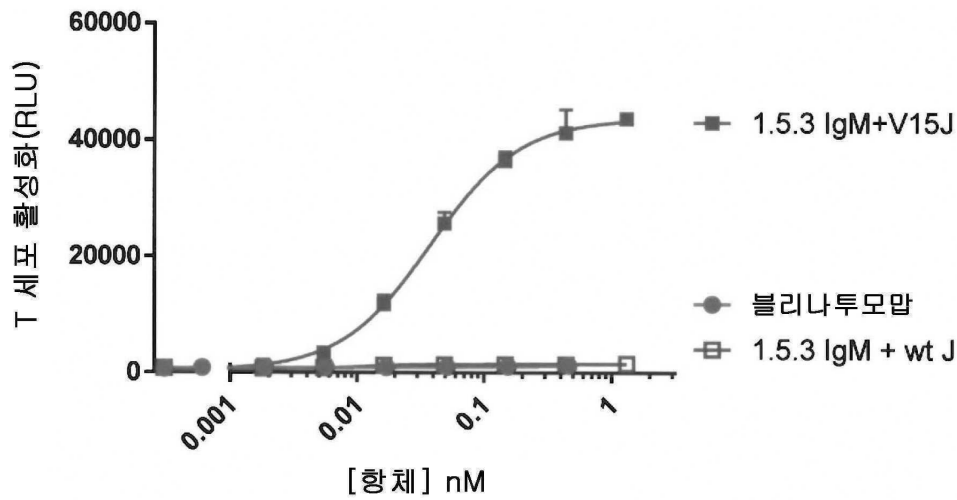


도면10



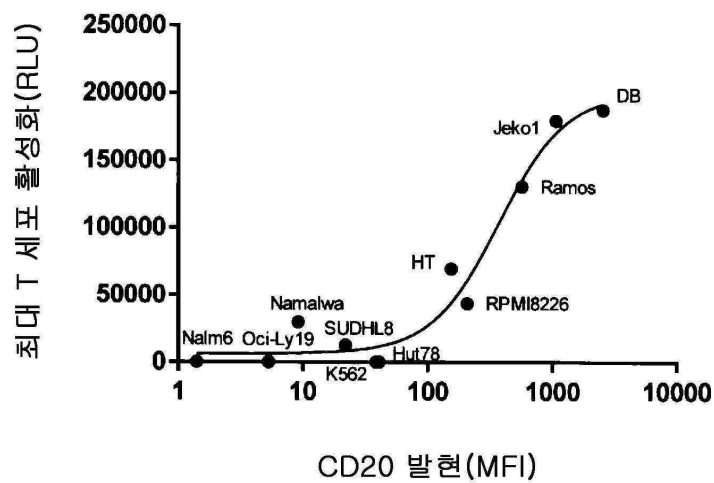


도면11

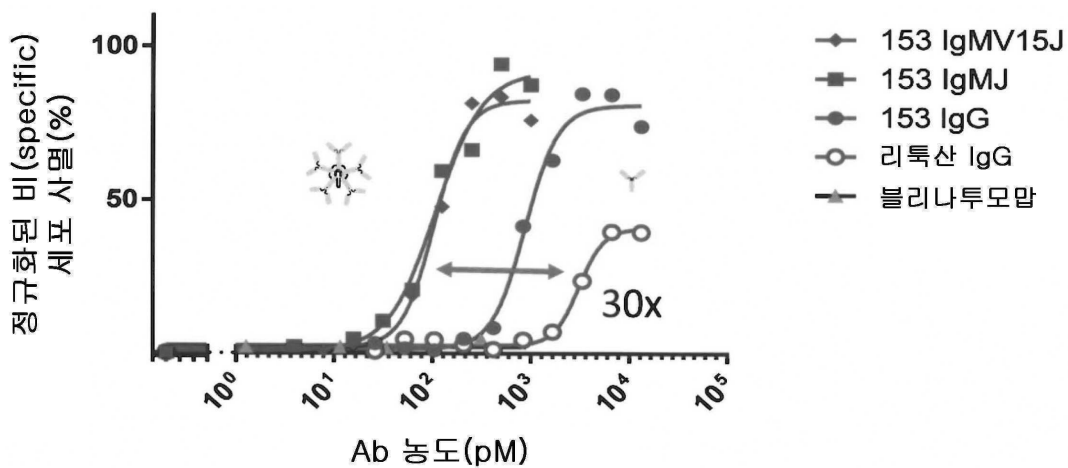


도면12

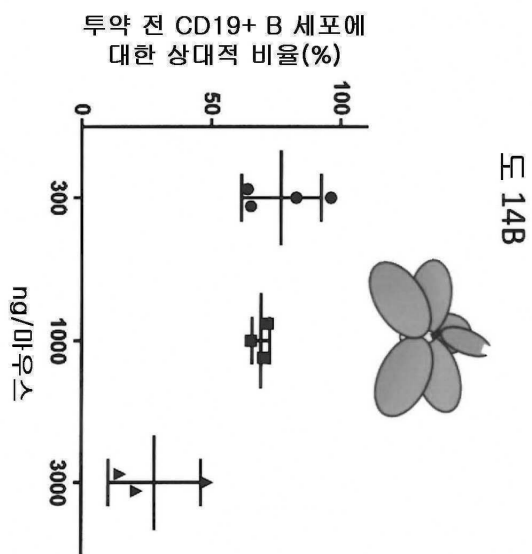
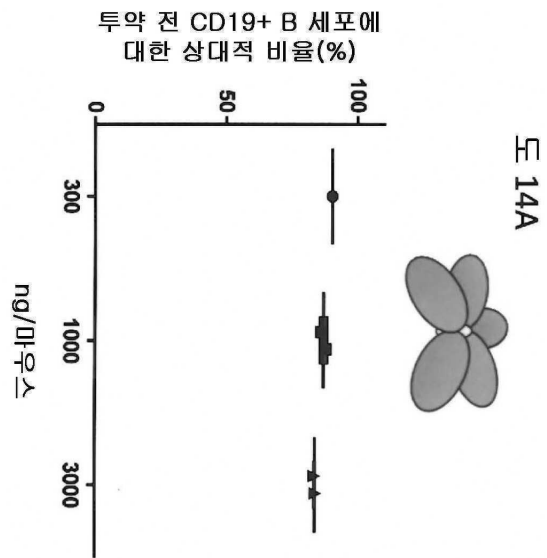
CD20 발현 대 T 세포 활성화  
1.5.3V15J



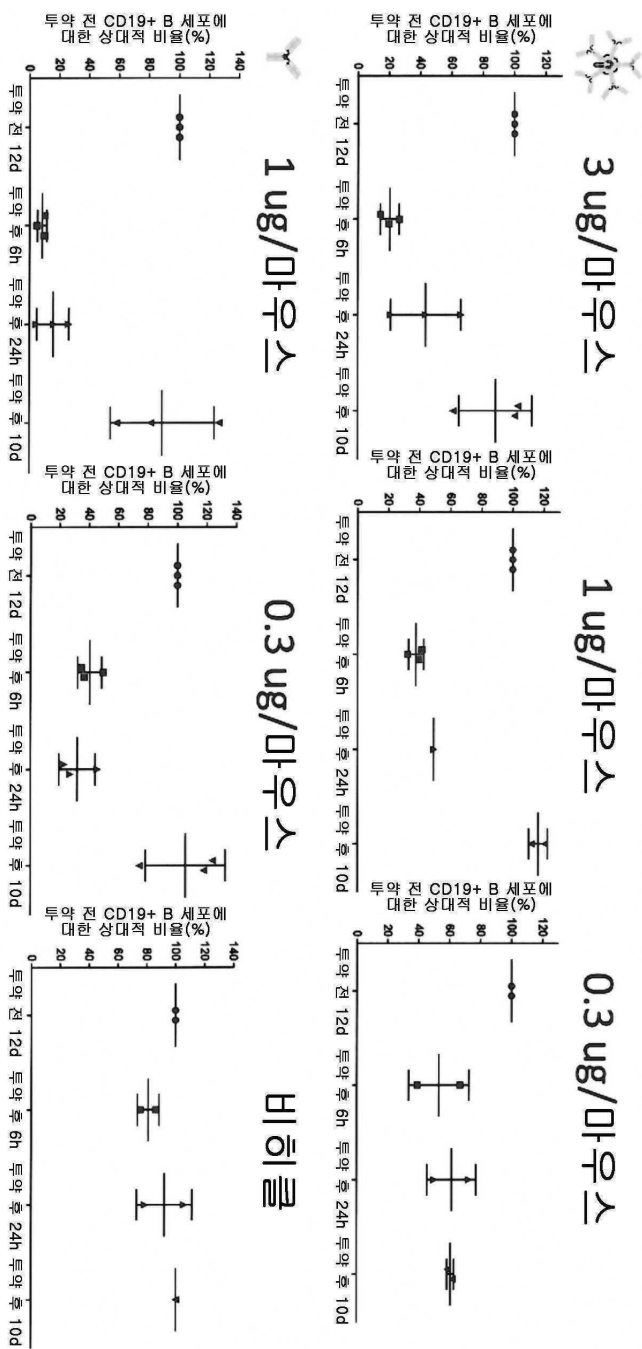
도면13



도면14



도면15



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> IGM BIOSCIENCES, INC.

<120> CD20 BINDING MOLECULES AND USES THEREOF

<130> 57912-152563

<140> PCT/US2016/020920

<141> 2016-03-04

<150> 62/128,284

<151> 2015-03-04

<160> 69

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 1

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala

115 120

<210> 2

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide



<400> 2

Ser Tyr Asn Met His

1 5

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 3

Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 4

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 4

Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val

1 5 10

<210> 5

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 5

Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile

20 25 30  
His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr  
35 40 45

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

<210> 6

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 6

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile His  
1 5 10

<210> 7

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 7

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser  
1 5

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 8

Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 9

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 9

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 Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys 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 Val Val Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145                      150                      155                      160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

                         165                      170                      175

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

                         180                      185                      190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

                         195                      200

<210> 10

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

                         peptide

<400> 10

Val Val Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Trp Tyr Phe Asp Val

1                      5                      10

<210> 11

<211> 200

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

                         polypeptide

<400> 11

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 Ser Ser Val Ser Tyr Met

                         20                      25                      30

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

                         35                      40                      45

Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

                         50                      55                      60

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |    |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|----|--|
| 65  |     |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |     |  |  | 80 |  |
| Asp | Phe | Ala | Thr | Tyr | Tyr | Cys | Gln | Gln | Trp | Ser | Phe | Asn | Pro | Pro | Thr |  |  |    |  |
|     |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |  |  |    |  |
| Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys | Arg | Thr | Val | Ala | Ala | Pro |  |  |    |  |
|     |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |  |  |    |  |
| Ser | Val | Phe | Ile | Phe | Pro | Pro | Ser | Asp | Glu | Gln | Leu | Lys | Ser | Gly | Thr |  |  |    |  |
|     |     |     |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |  |  |    |  |
| Ala | Ser | Val | Val | Cys | Leu | Leu | Asn | Asn | Phe | Tyr | Pro | Arg | Glu | Ala | Lys |  |  |    |  |
|     |     |     |     |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |  |  |    |  |
| Val | Gln | Trp | Lys | Val | Asp | Asn | Ala | Leu | Gln | Ser | Gly | Asn | Ser | Gln | Glu |  |  |    |  |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |  |  |    |  |
| Ser | Val | Thr | Glu | Gln | Asp | Ser | Lys | Asp | Ser | Thr | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser |  |  |    |  |

165 170 175

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

180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu

195 200

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

pept i de

<400> 12

Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His

1                      5                      10

<210> 13

 $\angle$  $211 \triangleright 7$ 

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

### <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

pept i de



<400> 13

Ala Pro Ser Asn Leu Ala Ser

1 5

<210> 14

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 14

Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 15

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 15

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Arg Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Asn Met His Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Leu Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Tyr Val Gly Gly Asp Trp Gln Phe Asp Val Trp Gly

100 105 110

Lys Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 16

<211> 17

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 16

Ala Ile Tyr Pro Leu Thr Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Ser Lys

1

5

10

15

Leu

<210> 17

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 17

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

1

5

10

<210> 18

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 18

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

1

5

10

15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Ile

20

25

30

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

Ala Thr Ser Ala Leu Ala Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

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

Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Leu Ser Asn Pro Pro Thr  
85 90 95

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

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 19

Arg Ala Ser Ser Ser Val Pro Tyr Ile His  
1 5 10

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 20

Ala Thr Ser Ala Leu Ala Ser  
1 5

<210> 21

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 21

Gln Gln Trp Leu Ser Asn Pro Pro Thr

1 5

<210> 22

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Thr

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala

115 120

<210> 23

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence



<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asn Val Trp Gly

100 105 110

Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ala

115 120

<210> 24

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 24

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Thr Ser Ala Ser Tyr Ile

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Thr Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr

35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

Gly Ser Gly Thr Thr Tyr Ser Met Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu  
65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr  
85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
100 105

<210> 25

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 25

Arg Ala Ser Thr Ser Ala Ser Tyr Ile His  
1 5 10

<210> 26

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

<400> 26

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

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Thr Ser Val Ser Tyr Ile  
20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Thr Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr  
35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser  
50 55 60

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

<210> 27

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 27

Arg Ala Ser Thr Ser Val Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 28

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 28

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Thr Ser Val Ser Tyr Ile

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr

35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Thr Tyr Ser Met Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 29

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

<400> 29

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

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Ile

20 25 30

His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr

35 40 45

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Thr Tyr Ser Met Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 30

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

<400> 30

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



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

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

Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
                   115                    120

<210> 31  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
                   peptide

<400> 31  
 Ser Asn Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Trp Phe Phe Asp Val

1                    5                    10  
 <210> 32  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
                   polypeptide

<400> 32  
 Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Ile Thr Ala Ser Pro Gly

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

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

                  100                    105

<210> 33

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide

<400> 33

Arg Ala Ser Ser Ser Val Asn Tyr Met Asp

1                    5                    10

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide

<400> 34

Gln Gln Trp Ser Phe Asn Pro Pro Thr

1                    5

<210> 35

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Glu Ser Thr Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Phe Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide

<400> 36

Ser Thr Tyr Tyr Gly Gly Asp Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 37

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 37

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala

20 25 30

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Met Thr Cys Arg Ala Ser Ser Ser Val

35 40 45

Ser Tyr Ile His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Pro

50 55 60

Trp Ile Tyr Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe

65 70 75 80

Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu

85 90 95

Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn

100 105 110

Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

115 120 125

<210> 38

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 38

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

Ala Arg His Pro Ser Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Asn Phe Asp Tyr Trp  
 100 105 110  
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 39

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide

<400> 39

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly  
 1 5 10

<210> 40

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide

<400> 40

Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe Gln  
 1 5 10 15  
 Gly

<210> 41



<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 41

His Pro Ser Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Asn Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 42

<211> 112

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

<400> 42

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Ala

85 90 95

Thr Gln Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 43

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

1 5 10 15

<210> 44

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 44

Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 45

<211> 9

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
peptide

<400> 45

Val Gln Ala Thr Gln Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 46

<211> 1347

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 46

gccccaaccc ttttcccct cgtctcctgt gagaattccc cgtcggatac gaggcagctg 60

gccgttggtt gcctgcaca ggacttctt cccgactcca tcaatttctc ctggaaatac 120

aagaacaact ctgacatcag cagcacccgg ggcttcccat cagtctgag agggggcaag 180

cacgcagcca cctcacaggt gctgtgcct tccaaggacg tcatgcaggg cacagacgaa 240

cacgtggtgt gcaaagtcca gcacccaac ggcaacaaag aaaagaacgt gcctcttcca 300  
 gtgattgctg agctgcctcc caaagtgagc gtcttcgtcc caccgccga cggtcttctc 360  
 ggcaaccccc gcaagtccaa gctcatctgc caggccacgg gtttcagtcc ccggcagatt 420  
 caggtgtcct ggctgcgcga ggggaagcag gtgggggtctg gcgtcaccac ggaccagggtg 480  
 caggctgagg caaaggagtc tgggaccacg acctacaagg tgaccagcac actgaccatc 540  
 aaagagagcg actggctcag ccagagcatg ttcacctgcc gcgtggatca caggggcctg 600  
 accttcacgc agaatgcgtc ctccatgtgt ggccccgac aagacacagc catccgggtc 660

ttctccatcc ccccatcctt tgccagcatc ttctcacca agtccaccaa gttagacctgc 720  
 ctggtcacag acctgaccac ctatgacagc gtgacctct cctggaccgc ccagaatggc 780  
 gaagctgtga aaaccacac caacatctcc gagagccacc ccaatgccac tttcagcgcc 840  
 gtgggtgagg ccagcatctg cgaggatgac tggaattccg gggagaggtt cacgtgcacc 900  
 gtgaccacac cagacctgcc ctgccactg aagcagacca tctcccggcc caaggggggtg 960  
 gccctgcaca ggcccgatgt ctacttgctg ccaccagccc gggagcagct gaacctgcgg 1020  
 gagtgcggca ccacacgtg cctggtgacg ggcttctctc ccgcggacgt ctctgtgcag 1080

tggatgcaga gggggcagcc ctgtccccg gagaagtatg tgaccagcgc cccaatgcct 1140  
 gagccccagg cccagggccg gtacttcgcc cacagcatcc tgaccgtgtc cgaagaggaa 1200  
 tggaacacgg gggagacctc cacctgcgtg gtggcccatg aggcctgcc caacagggtc 1260  
 accgagagga ccgtggacaa gtccaccggt aaaccacccc tgtacaacgt gtccctggtc 1320  
 atgtccgaca cagctggcac ctgctac 1347

<210> 47

<211> 453

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 47

Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn

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

Tyr Ala Ala Thr Ser Gln Val Leu Leu Pro Ser Lys Asp Val Met Gln

65                      70                      75                      80

Gly Thr Asp Glu His Val Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn

85                      90                      95

Lys Glu Lys Asn Val Pro Leu Pro Val Ile Ala Glu Leu Pro Pro Lys

100                      105                      110

Val Ser Val Phe Val Pro Pro Arg Asp Gly Phe Phe Gly Asn Pro Arg

115                      120                      125

Lys Ser Lys Leu Ile Cys Gln Ala Thr Gly Phe Ser Pro Arg Gln Ile

130                      135                      140

Gln Val Ser Trp Leu Arg Glu Gly Lys Gln Val Gly Ser Gly Val Thr

145                      150                      155                      160

Thr Asp Gln Val Gln Ala Glu Ala Lys Glu Ser Gly Pro Thr Thr Tyr

165                      170                      175

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

180                      185                      190

Ser Met Phe Thr Cys Arg Val Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln Gln

195                      200                      205

Asn Ala Ser Ser Met Cys Val Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg Val

210                      215                      220

Phe Ala Ile Pro Pro Ser Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr

225                      230                      235                      240

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

245                      250                      255

Ile Ser Trp Thr Arg Gln Asn Gly Glu Ala Val Lys Thr His Thr Asn

260 265 270

Ile Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala

275                      280                      285

Ser Ile Cys Glu Asp Asp Trp Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr

290                      295                      300

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

305                      310                      315                      320  
Pro Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro Pro

Ala Arg Glu Gln Leu Asn Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu

340 345 350

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

Gly Gln Pro Leu Ser Pro Glu Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro

370                      375                      380

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

385                      390                      395                      400

Ser Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala

His Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser

420                      425                      430

Thr Gly Lys Pro Thr Leu Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr

435 440 445  
Ala Gly Thr Cys Tyr

450

&lt;210

> 48

<211> 480

<212> DNA

### <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 48

|   |     |
|---|-----|
| atgaagaacc atttgctttt ctggggagtc ctggcggttt ttattaaggc tgttcatgtg | 60  |
| aaagcccaag aagatgaaag gattgttctt gttgacaaca aatgtaagtg tgcccgatt  | 120 |
| acttcagga tcatccgttc ttccgaagat cctaataagg acattgtgga gagaaacatc  | 180 |
| cgaattattg ttctctgaa caacaggag aatatctctg atccacctc accattgaga    | 240 |
| accagatttg gtaccattt gtctgacctc tgtaaaaaat gtgatcctac agaagtggag  | 300 |



ctggataatc agatagttac tgctaccacag agcaatatct gtgatgaaga cagtgtctaca 360  
gagacctgct acacttatga cagaacaag tgctacacag ctgtggtccc actcgtatat 420  
ggtggtgaga ccaaaatggt ggaaacagcc ttaaccccag atgcctgcta tctgactaa 480

<210> 49

<211> 158

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 49

Met Lys Asn His Leu Leu Phe Trp Gly Val Leu Ala Val Phe Ile Lys

1 5 10 15

Ala Val His Val Lys Ala Gln Glu Asp Glu Arg Ile Val Leu Val Asp

20 25 30

Asn Lys Cys Lys Cys Ala Arg Ile Thr Ser Arg Ile Ile Arg Ser Ser

35 40 45

Glu Asp Pro Asn Glu Asp Ile Val Glu Arg Asn Ile Ile Ile Val Pro

50 55 60

Leu Asn Asn Arg Glu Asn Ile Ser Asp Pro Thr Ser Pro Leu Arg Thr

65 70 75 80

Arg Phe Val Tyr His Leu Ser Asp Leu Cys Lys Lys Cys Asp Pro Thr

85 90 95

Glu Val Glu Leu Asp Asn Gln Ile Val Thr Ala Thr Gln Ser Asn Ile

100 105 110

Cys Asp Glu Asp Ser Ala Thr Glu Thr Cys Tyr Thr Tyr Asp Arg Asn

115 120 125

Lys Cys Tyr Thr Ala Val Val Pro Leu Val Tyr Gly Gly Glu Thr Lys

130 135 140

Met Val Glu Thr Ala Leu Thr Pro Asp Ala Cys Tyr Pro Asp

145 150 155

<210> 50

<211> 297

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 50

Met Thr Thr Pro Arg Asn Ser Val Asn Gly Thr Phe Pro Ala Glu Pro

1 5 10 15

Met Lys Gly Pro Ile Ala Met Gln Ser Gly Pro Lys Pro Leu Phe Arg

20 25 30

Arg Met Ser Ser Leu Val Gly Pro Thr Gln Ser Phe Phe Met Arg Glu

35 40 45

Ser Lys Thr Leu Gly Ala Val Gln Ile Met Asn Gly Leu Phe His Ile

50 55 60

Ala Leu Gly Gly Leu Leu Met Ile Pro Ala Gly Ile Tyr Ala Pro Ile

65 70 75 80

Cys Val Thr Val Trp Tyr Pro Leu Trp Gly Gly Ile Met Tyr Ile Ile

85 90 95

Ser Gly Ser Leu Leu Ala Ala Thr Glu Lys Asn Ser Arg Lys Cys Leu

100 105 110

Val Lys Gly Lys Met Ile Met Asn Ser Leu Ser Leu Phe Ala Ala Ile

115 120 125

Ser Gly Met Ile Leu Ser Ile Met Asp Ile Leu Asn Ile Lys Ile Ser

130 135 140

His Phe Leu Lys Met Glu Ser Leu Asn Phe Ile Arg Ala His Thr Pro

145 150 155 160

Tyr Ile Asn Ile Tyr Asn Cys Glu Pro Ala Asn Pro Ser Glu Lys Asn

165 170 175

Ser Pro Ser Thr Gln Tyr Cys Tyr Ser Ile Gln Ser Leu Phe Leu Gly

180 185 190

Ile Leu Ser Val Met Leu Ile Phe Ala Phe Phe Gln Glu Leu Val Ile

195 200 205

Ala Gly Ile Val Glu Asn Glu Trp Lys Arg Thr Cys Ser Arg Pro Lys

210 215 220

Ser Asn Ile Val Leu Leu Ser Ala Glu Glu Lys Lys Glu Gln Thr Ile

225 230 235 240

Glu Ile Lys Glu Glu Val Val Gly Leu Thr Glu Thr Ser Ser Gln Pro

245 250 255

Lys Asn Glu Glu Asp Ile Glu Ile Ile Pro Ile Gln Glu Glu Glu Glu

260 265 270

Glu Glu Thr Glu Thr Asn Phe Pro Glu Pro Pro Gln Asp Gln Glu Ser

275 280 285

Ser Pro Ile Glu Asn Asp Ser Ser Pro

290 295

<210> 51

<211> 1725

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 51

caggttcagc tgcagcagcc cggagccgag ctggtcaaac ctggcgctag tgtgaaatg 60  
tcatgcaagg catccggata cacattcact agctataaca tgcactgggt gaagcagacc 120  
cccggcaggg gtctggagtg gatcggagct atctaccccg gcaacggaga cacatcttat 180  
aatcagaagt ttaaaggcaa ggccaccctg acagctgata agtccagctc taccgcatac 240  
atgcagctga gttcactgac aagcgaggac tccgccgtgt actattgcgc cgggtccact 300

tactatggcg gagattggta tttcaatgtg tggggagcag gcaccacagt caccgtctcg 360  
agcggcagtg ctagegcccc aaccttttc cccctcgtct cctgtgagaa ttccccgtcg 420  
gatacagca gctggccgt tggtgcctc gcacaggact tccttcccga ctccatcact 480  
ttctcctgga aatacaagaa caactctgac atcagcagca cccggggctt cccatcagtc 540  
ctgagagggg gcaagtacgc agccacctca caggtgctgc tgccttccaa ggacgtcatg 600  
cagggcacag acgaacacgt ggtgtgcaaa gtccagcacc ccaacggcaa caaagaaaag 660  
aacgtgcctc ttccagtgat tgctgagctg cctcccaaag tgagcgtctt cgtcccaccc 720

cgcgacggct tcttcggcaa cccccgcaag tccaagctca tctgccagc caggggtttc 780  
agtccccggc agattcaggt gtcttggtg cgcgagggga agcaggtggg gtctggcgtc 840

accacggacc aggtgcaggc tgaggccaaa gagtctgggc ccacgaccta caaggtgacc 900  
 agcacactga ccatcaaaga gacgactgg ctgagccaga gcatgttcac ctgccgcgtg 960  
 gatcacaggg gcctgacctt ccagcagaat gcgtcctcca tgtgtgtccc cgatcaagac 1020  
 acagccatcc gggctcttcgc catcccccca tcctttgcca gcatcttctt caccaagtcc 1080  
 accaagttag cctgcctggt cacagacctg accacctatg acagcgtgac catctcctgg 1140

acccgccaga atggcgaagc tgtgaaaacc cacaccaaca tctccgagag ccacccaat 1200  
 gccactttca gcgccgtggg tgaggccagc atctgcgagg atgactggaa ttccggggag 1260  
 aggttcacgt gcaccgtgac ccacacagac ctgccctcgc cactgaagca gaccatctcc 1320  
 cggccaagg ggggtggcct gcacaggccc gatgtctact tgctgccacc agcccgggag 1380  
 cagctgaacc tgcgggagtc ggccaccatc acgtgcctgg tgacgggctt ctctcccgcg 1440  
 gacgtcttcg tgcagtggat gcagaggggg cagcccttgt ccccgagaa gtatgtgacc 1500  
 agcgcccaaa tgcctgagcc ccaggcccca ggccggtact tcgccacag catcctgacc 1560

gtgtccgaag aggaatggaa cacgggggag acctacacct gcgtggtggc ccatgaggcc 1620  
 ctgcccaaca gggtcaccga gaggacctg gacaagtcca ccggtaaacc caccctgtac 1680  
 aacgtgtccc tggatcatgc cgacacagct ggacacctgct actga 1725

<210> 52

<211> 574

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 52

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Met Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Asn Met His Trp Val Lys Gln Thr Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Ala Ile Tyr Pro Gly Asn Gly Asp Thr Ser Tyr Asn Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |    |  |     |  |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|--|----|--|-----|--|
| 65  |     |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     |     | 75  |     |     |     |  |  | 80 |  |     |  |
| Met | Gln | Leu | Ser | Ser | Leu | Thr | Ser | Glu | Asp | Ser | Ala | Val | Tyr | Tyr | Cys |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |  |  |    |  |     |  |
| Ala | Arg | Ser | Thr | Tyr | Tyr | Gly | Gly | Asp | Trp | Tyr | Phe | Asn | Val | Trp | Gly |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |  |  |    |  |     |  |
| Ala | Gly | Thr | Thr | Val | Thr | Val | Ser | Ser | Gly | Ser | Ala | Ser | Ala | Pro | Thr |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |  |  |    |  |     |  |
| Leu | Phe | Pro | Leu | Val | Ser | Cys | Glu | Asn | Ser | Pro | Ser | Asp | Thr | Ser | Ser |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 130 |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |    |  |     |  |
| Val | Ala | Val | Gly | Cys | Leu | Ala | Gln | Asp | Phe | Leu | Pro | Asp | Ser | Ile | Thr |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |  |  |    |  | 160 |  |
| Phe | Ser | Trp | Lys | Tyr | Lys | Asn | Asn | Ser | Asp | Ile | Ser | Ser | Thr | Arg | Gly |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |  |  |    |  |     |  |
| Phe | Pro | Ser | Val | Leu | Arg | Gly | Gly | Lys | Tyr | Ala | Ala | Thr | Ser | Gln | Val |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 180 |     |     |     |     | 185 |     |     |     |     | 190 |  |  |    |  |     |  |
| Leu | Leu | Pro | Ser | Lys | Asp | Val | Met | Gln | Gly | Thr | Asp | Glu | His | Val | Val |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 195 |     |     |     |     | 200 |     |     |     |     | 205 |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |    |  |     |  |
| Cys | Lys | Val | Gln | His | Pro | Asn | Gly | Asn | Lys | Glu | Lys | Asn | Val | Pro | Leu |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 210 |     |     |     |     | 215 |     |     |     |     | 220 |  |  |    |  |     |  |
| Pro | Val | Ile | Ala | Glu | Leu | Pro | Pro | Lys | Val | Ser | Val | Phe | Val | Pro | Pro |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 225 |     |     |     |     | 230 |     |     |     |     | 235 |  |  |    |  | 240 |  |
| Arg | Asp | Gly | Phe | Phe | Gly | Asn | Pro | Arg | Lys | Ser | Lys | Leu | Ile | Cys | Gln |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 245 |     |     |     |     | 250 |     |     |     |     | 255 |  |  |    |  |     |  |
| Ala | Thr | Gly | Phe | Ser | Pro | Arg | Gln | Ile | Gln | Val | Ser | Trp | Leu | Arg | Glu |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 260 |     |     |     |     | 265 |     |     |     |     | 270 |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |  |  |    |  |     |  |
| Gly | Lys | Gln | Val | Gly | Ser | Gly | Val | Thr | Thr | Asp | Gln | Val | Gln | Ala | Glu |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 275 |     |     |     |     | 280 |     |     |     |     | 285 |  |  |    |  |     |  |
| Ala | Lys | Glu | Ser | Gly | Pro | Thr | Thr | Tyr | Lys | Val | Thr | Ser | Thr | Leu | Thr |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 290 |     |     |     |     | 295 |     |     |     |     | 300 |  |  |    |  |     |  |
| Ile | Lys | Glu | Ser | Asp | Trp | Leu | Ser | Gln | Ser | Met | Phe | Thr | Cys | Arg | Val |  |  |    |  |     |  |
|     |     |     |     |     | 305 |     |     |     |     | 310 |     |     |     |     | 315 |  |  |    |  | 320 |  |



Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln Gln Asn Ala Ser Ser Met Cys Val  
325 330 335

Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg Val Phe Ala Ile Pro Pro Ser Phe  
340 345 350

Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys Leu Thr Cys Leu Val Thr  
355 360 365

Asp Leu Thr Thr Tyr Asp Ser Val Thr Ile Ser Trp Thr Arg Gln Asn  
370 375 380

Gly Glu Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile Ser Glu Ser His Pro Asn  
385 390 395 400

Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser Ile Cys Glu Asp Asp Trp  
405 410 415

Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val Thr His Thr Asp Leu Pro  
420 425 430

Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro Lys Gly Val Ala Leu His  
435 440 445

Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala Arg Glu Gln Leu Asn Leu  
450 455 460

Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val Thr Gly Phe Ser Pro Ala  
465 470 475 480

Asp Val Phe Val Gln Trp Met Gln Arg Gly Gln Pro Leu Ser Pro Glu  
485 490 495

Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro Glu Pro Gln Ala Pro Gly Arg  
500 505 510

Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser Glu Glu Glu Trp Asn Thr  
515 520 525

Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His Glu Ala Leu Pro Asn Arg  
530 535 540

Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr Gly Lys Pro Thr Leu Tyr  
545 550 555 560

Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr Cys Tyr

565

570

<210> 53

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polynucleotide

<400> 53

|   |     |
|---|-----|
| caaattgtgc tgctcagag tccagctatc ctgagcgcat ctcccggaga gaagtgacc   | 60  |
| atgacatgca gagcctccag ctctgtctcc tacatccact ggttcagca gaagcccggc  | 120 |
| tcctcccaaa aaccctggat ctacgccacc tctaacctgg ctagtgggtg gcctgtcagg | 180 |
| tttagtggat cagggtccgg caccagctac tctctgacaa tcagccgggt ggaggctgaa | 240 |
| gacgccgcta catactattg ccagcagtgg acttctaate ccctacctt cggcggaggg  | 300 |
| acaaagctgg agatcaagcg tacggtggct gcaccatctg tcttcattt cccgccatct  | 360 |
| gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa ctctatccc  | 420 |

|   |     |
|---|-----|
| agagaggcca aagtacagtg gaagtggtat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag | 480 |
| agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgtg  | 540 |
| agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcacca tcagggcctg  | 600 |
| agctcggccc tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgtt ag                    | 642 |

<210> 54

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

<400> 54

Gln Ile Val Leu Ser Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Ala Ser Pro Gly

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

Ala Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Val Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu

65 70 75 80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Thr Ser Asn Pro Pro Thr

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 55

<211> 1728

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide

<400> 55

gaggtgcagc tgggtgcagtc cggcgccgag gtgaagaagc cggcgagtc cctgaagatc 60

tcctgcaagg gctccggcta ctcttcacc tctactgga tcggctgggt gaggcagatg 120

cccggcaagg gcctggagtg gatgggcac atctacccg gcgactccga caccaggtac 180

tccccctcct tccagggcca ggtgaccatc tccgccgaca agtccatcac caccgcctac 240

ctgcagtggc cctccctgaa ggcctccgac accgccatgt actactgcgc caggcacccc 300

tcctacggct cgggctcccc caacttcgac tactggggcc agggcaccct ggtgaccgtg 360

tcctccggca gtgctagcgc cccaaccctt tccccctcg tctcctgtga gaattccccg 420

tcggatacga gcagcgtggc cgttggctgc ctgcacagg acttccttcc cgactccatc 480

actttctcct ggaatacaaa gaacaactct gacatcagca gcacccgggg cttcccatca 540

gtcctgagag ggggcaagta cgcagccacc tcacaggtgc tgctgccttc caaggacgtc 600

atgcagggca cagacgaaca cgtggtgtgc aaagtccagc accccaacgg caacaaagaa 660

aagaacgtgc ctcttcagct gattgctgag ctgcctccca aagtgagcgt cttcgtccca 720

ccccgcgacg gcttcttcgg caacccccgc aagtccaagc tcacttgcca ggccacgggt 780

ttcagtcctc ggcagattca ggtgtcctgg ctgcgcgagg ggaagcaggt ggggtctggc 840

gtcaccacgg accaggtgca ggctgaggcc aaagagctctg ggcccacgac ctacaaggtg 900

accagcacac tgaccatcaa agagagcgac tggtcagcc agagcatgtt cacctgccgc 960

gtggatcaca ggggcctgac cttccagcag aatgcgtcct ccatgtgtgt ccccgatcaa 1020

gacacagcca tccgggtctt cgccatcccc ccatcctttg ccagcatctt cctcaccaag 1080

tccaccaagt tgacctgect ggtcacagac ctgaccacct atgacagcgt gaccatctcc 1140

tggacccgcc agaattggcga agctgtgaaa acccacacca acatctccga gagccacccc 1200

aatgccattt tcagcgcctg ggggtgaggcc agcatctgcg aggatgactg gaattccggg 1260

gagaggttca cgtgcaccgt gaccacaca gacctgccct cgccactgaa gcagaccatc 1320

tcccgcccca aggggggtggc cctgcacagg cccgatgtct acttgctgcc accagcccgg 1380

gagcagctga acctgcggga gtcggccacc atcacgtgcc tggtagcggg cttctctccc 1440

gcggacgtct tcgtgcagtg gatgcagagg gggcagccct tgtccccgga gaagtatgtg 1500

accagcgcgc caatgcctga gccccaggcc ccaggccggg acttcgcca cagcatcctg 1560

accgtgtccg aagaggaatg gaacacgggg gagacctaca cctgcgtggg ggcccatgag 1620

gccttgccca acagggtcac cgagaggacc gtggacaagt ccaccggtaa acccacctg 1680

tacaactgtt ccttggtcat gtccgacaca gctggcacct gctactga 1728

<210> 56

<211> 575

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 56

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

1 5 10 15  
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30  
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45  
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60  
Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Thr Thr Ala Tyr

65 70 75 80  
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95  
Ala Arg His Pro Ser Tyr Gly Ser Gly Ser Pro Asn Phe Asp Tyr Trp

100 105 110  
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ser Ala Ser Ala Pro

115 120 125  
Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn Ser Pro Ser Asp Thr Ser

130 135 140  
Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp Phe Leu Pro Asp Ser Ile

145 150 155 160  
Thr Phe Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser Asp Ile Ser Ser Thr Arg

165 170 175  
Gly Phe Pro Ser Val Leu Arg Gly Gly Lys Tyr Ala Ala Thr Ser Gln

180 185 190  
Val Leu Leu Pro Ser Lys Asp Val Met Gln Gly Thr Asp Glu His Val

195 200 205  
Val Cys Lys Val Gln His Pro Asn Gly Asn Lys Glu Lys Asn Val Pro

210 215 220  
Leu Pro Val Ile Ala Glu Leu Pro Pro Lys Val Ser Val Phe Val Pro



225                      230                      235                      240  
 Pro Arg Asp Gly Phe Phe Gly Asn Pro Arg Lys Ser Lys Leu Ile Cys  
                          245                      250                      255  
 Gln Ala Thr Gly Phe Ser Pro Arg Gln Ile Gln Val Ser Trp Leu Arg  
  
                          260                      265                      270  
 Glu Gly Lys Gln Val Gly Ser Gly Val Thr Thr Asp Gln Val Gln Ala  
                          275                      280                      285  
 Glu Ala Lys Glu Ser Gly Pro Thr Thr Tyr Lys Val Thr Ser Thr Leu  
                          290                      295                      300  
 Thr Ile Lys Glu Ser Asp Trp Leu Ser Gln Ser Met Phe Thr Cys Arg  
 305                      310                      315                      320  
 Val Asp His Arg Gly Leu Thr Phe Gln Gln Asn Ala Ser Ser Met Cys  
  
                          325                      330                      335  
 Val Pro Asp Gln Asp Thr Ala Ile Arg Val Phe Ala Ile Pro Pro Ser  
                          340                      345                      350  
 Phe Ala Ser Ile Phe Leu Thr Lys Ser Thr Lys Leu Thr Cys Leu Val  
                          355                      360                      365  
 Thr Asp Leu Thr Thr Tyr Asp Ser Val Thr Ile Ser Trp Thr Arg Gln  
                          370                      375                      380  
 Asn Gly Glu Ala Val Lys Thr His Thr Asn Ile Ser Glu Ser His Pro  
  
 385                      390                      395                      400  
 Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala Ser Ile Cys Glu Asp Asp  
                          405                      410                      415  
 Trp Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr Val Thr His Thr Asp Leu  
                          420                      425                      430  
 Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg Pro Lys Gly Val Ala Leu  
                          435                      440                      445  
 His Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro Pro Ala Arg Glu Gln Leu Asn  
  
                          450                      455                      460  
 Leu Arg Glu Ser Ala Thr Ile Thr Cys Leu Val Thr Gly Phe Ser Pro  
 465                      470                      475                      480

Ala Asp Val Phe Val Gln Trp Met Gln Arg Gly Gln Pro Leu Ser Pro  
485 490 495

Glu Lys Tyr Val Thr Ser Ala Pro Met Pro Glu Pro Gln Ala Pro Gly  
500 505 510

Arg Tyr Phe Ala His Ser Ile Leu Thr Val Ser Glu Glu Glu Trp Asn

515 520 525  
Thr Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala His Glu Ala Leu Pro Asn  
530 535 540

Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser Thr Gly Lys Pro Thr Leu  
545 550 555 560

Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr Ala Gly Thr Cys Tyr  
565 570 575

<210> 57

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polynucleotide

<400> 57

|   |     |
|---|-----|
| gacatcgtga tgaccagac cccctgtcc tccccgtga ccctgggcca gcccgcctcc    | 60  |
| atctcctgca ggtcctccca gtcctgggtg tactccgacg gcaacaccta cctgtcctgg | 120 |
| ctgcagcaga ggcccggcca gccccccagg ctgctgatct acaagatctc caacaggttc | 180 |
| tccggcgtgc ccgacaggtt ctccggctcc ggcgccggca ccgacttcac cctgaagatc | 240 |
| tccagggtgg aggccgagga cgtgggcgtg tactactgcg tgcaggccac ccagttcccc | 300 |
| ctgaccttcg gcggcggcac caaggtggag atcaagcgta cggtaggtgc accatctgtc | 360 |

|   |     |
|---|-----|
| ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg | 420 |
| ctgaataact tctatccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa  | 480 |
| tccggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc | 540 |
| agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacagaaac acaaagtcta cgctgcgaa     | 600 |
| gtacccatc agggcctgag ctgccccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgttag  | 660 |

<210> 58

<211> 219

<212> PRT

### <213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide

&lt;400&gt; 58

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

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ala | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Lys | Ile |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
| Ser | Arg | Val | Glu | Ala | Glu | Asp | Val | Gly | Val | Tyr | Tyr | Cys | Val | Gln | Ala |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
| Thr | Gln | Phe | Pro | Leu | Thr | Phe | Gly | Gly | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
| Arg | Thr | Val | Ala | Ala | Pro | Ser | Val | Phe | Ile | Phe | Pro | Pro | Ser | Asp | Glu |
|     |     | 115 |     |     |     |     |     | 120 |     |     |     | 125 |     |     |     |

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Gln | Leu | Lys | Ser | Gly | Thr | Ala | Ser | Val | Val | Cys | Leu | Leu | Asn | Asn | Phe |
| 130 |     |     |     |     |     | 135 |     |     |     |     | 140 |     |     |     |     |
| Tyr | Pro | Arg | Glu | Ala | Lys | Val | Gln | Trp | Lys | Val | Asp | Asn | Ala | Leu | Gln |
| 145 |     |     |     |     | 150 |     |     |     |     | 155 |     |     |     |     | 160 |
| Ser | Gly | Asn | Ser | Gln | Glu | Ser | Val | Thr | Glu | Gln | Asp | Ser | Lys | Asp | Ser |
|     |     |     |     | 165 |     |     |     |     | 170 |     |     |     |     | 175 |     |
| Thr | Tyr | Ser | Leu | Ser | Ser | Thr | Leu | Thr | Leu | Ser | Lys | Ala | Asp | Tyr | Glu |
|     |     |     | 180 |     |     |     |     |     | 185 |     |     |     | 190 |     |     |

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215

<210> 59

<211> 353

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

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

1

5

10

15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe

20

25

30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val

35

40

45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr

50

55

60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly

65

70

75

80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp

85

90

95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro

100

105

110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser

115

120

125

Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

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

180

185

190

Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr

195 200 205  
Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn  
210 215 220

Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu  
225 230 235 240  
Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg Gly Phe Ser  
245 250 255  
Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln Glu Leu Pro  
260 265 270  
Arg Glu Lys Tyr Leu Thr Trp Ala Ser Arg Gln Glu Pro Ser Gln Gly  
275 280 285

Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala Ala Glu Asp  
290 295 300  
Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu  
305 310 315 320  
Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ala Gly Lys Pro  
325 330 335  
Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys  
340 345 350

Tyr

<210> 60

<211> 340

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

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

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr

50

55

60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Pro Asp Gly

65

70

75

80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp

85

90

95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Pro Pro Pro Cys Cys His Pro

100

105

110

Arg Leu Ser Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser

115

120

125

Glu Ala Asn Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly

130

135

140

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

145

150

155

160

Pro Pro Glu Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu

165

170

175

Pro Gly Cys Ala Gln Pro Trp Asn His Gly Glu Thr Phe Thr Cys Thr

180

185

190

Ala Ala His Pro Glu Leu Lys Thr Pro Leu Thr Ala Asn Ile Thr Lys

195

200

205

Ser Gly Asn Thr Phe Arg Pro Glu Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser

210

215

220

Glu Glu Leu Ala Leu Asn Glu Leu Val Thr Leu Thr Cys Leu Ala Arg

225

230

235

240

Gly Phe Ser Pro Lys Asp Val Leu Val Arg Trp Leu Gln Gly Ser Gln

245

250

255

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

260

265

270

Ser Gln Gly Thr Thr Thr Phe Ala Val Thr Ser Ile Leu Arg Val Ala

275

280

285

Ala Glu Asp Trp Lys Lys Gly Asp Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His



290 295 300  
Glu Ala Leu Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Met Ala

305 310 315 320  
Gly Lys Pro Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp

325 330 335

Gly Thr Cys Tyr

340

<210> 61

<211> 764

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Met Leu Leu Phe Val Leu Thr Cys Leu Leu Ala Val Phe Pro Ala Ile

1 5 10 15

Ser Thr Lys Ser Pro Ile Phe Gly Pro Glu Glu Val Asn Ser Val Glu

20 25 30

Gly Asn Ser Val Ser Ile Thr Cys Tyr Tyr Pro Pro Thr Ser Val Asn

35 40 45

Arg His Thr Arg Lys Tyr Trp Cys Arg Gln Gly Ala Arg Gly Gly Cys

50 55 60

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

65 70 75 80

Arg Ala Asn Leu Thr Asn Phe Pro Glu Asn Gly Thr Phe Val Val Asn

85 90 95

Ile Ala Gln Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gly Arg Tyr Lys Cys Gly Leu

100 105 110

Gly Ile Asn Ser Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val Ser

115 120 125

Gln Gly Pro Gly Leu Leu Asn Asp Thr Lys Val Tyr Thr Val Asp Leu

130 135 140

Gly Arg Thr Val Thr Ile Asn Cys Pro Phe Lys Thr Glu Asn Ala Gln

145                      150                      155                      160  
 Lys Arg Lys Ser Leu Tyr Lys Gln Ile Gly Leu Tyr Pro Val Leu Val  
                                  165                      170                      175  
 Ile Asp Ser Ser Gly Tyr Val Asn Pro Asn Tyr Thr Gly Arg Ile Arg  
                                  180                      185                      190  
 Leu Asp Ile Gln Gly Thr Gly Gln Leu Leu Phe Ser Val Val Ile Asn  
                                  195                      200                      205  
 Gln Leu Arg Leu Ser Asp Ala Gly Gln Tyr Leu Cys Gln Ala Gly Asp  
                                  210                      215                      220  
  
 Asp Ser Asn Ser Asn Lys Lys Asn Ala Asp Leu Gln Val Leu Lys Pro  
 225                      230                      235                      240  
 Glu Pro Glu Leu Val Tyr Glu Asp Leu Arg Gly Ser Val Thr Phe His  
                                  245                      250                      255  
 Cys Ala Leu Gly Pro Glu Val Ala Asn Val Ala Lys Phe Leu Cys Arg  
                                  260                      265                      270  
 Gln Ser Ser Gly Glu Asn Cys Asp Val Val Val Asn Thr Leu Gly Lys  
                                  275                      280                      285  
  
 Arg Ala Pro Ala Phe Glu Gly Arg Ile Leu Leu Asn Pro Gln Asp Lys  
                                  290                      295                      300  
 Asp Gly Ser Phe Ser Val Val Ile Thr Gly Leu Arg Lys Glu Asp Ala  
 305                      310                      315                      320  
 Gly Arg Tyr Leu Cys Gly Ala His Ser Asp Gly Gln Leu Gln Glu Gly  
                                  325                      330                      335  
 Ser Pro Ile Gln Ala Trp Gln Leu Phe Val Asn Glu Glu Ser Thr Ile  
                                  340                      345                      350  
  
 Pro Arg Ser Pro Thr Val Val Lys Gly Val Ala Gly Gly Ser Val Ala  
                                  355                      360                      365  
 Val Leu Cys Pro Tyr Asn Arg Lys Glu Ser Lys Ser Ile Lys Tyr Trp  
                                  370                      375                      380  
 Cys Leu Trp Glu Gly Ala Gln Asn Gly Arg Cys Pro Leu Leu Val Asp  
 385                      390                      395                      400

Ser Glu Gly Trp Val Lys Ala Gln Tyr Glu Gly Arg Leu Ser Leu Leu  
405 410 415

Glu Glu Pro Gly Asn Gly Thr Phe Thr Val Ile Leu Asn Gln Leu Thr  
420 425 430

Ser Arg Asp Ala Gly Phe Tyr Trp Cys Leu Thr Asn Gly Asp Thr Leu  
435 440 445

Trp Arg Thr Thr Val Glu Ile Lys Ile Ile Glu Gly Glu Pro Asn Leu  
450 455 460

Lys Val Pro Gly Asn Val Thr Ala Val Leu Gly Glu Thr Leu Lys Val  
465 470 475 480

Pro Cys His Phe Pro Cys Lys Phe Ser Ser Tyr Glu Lys Tyr Trp Cys  
485 490 495

Lys Trp Asn Asn Thr Gly Cys Gln Ala Leu Pro Ser Gln Asp Glu Gly  
500 505 510

Pro Ser Lys Ala Phe Val Asn Cys Asp Glu Asn Ser Arg Leu Val Ser  
515 520 525

Leu Thr Leu Asn Leu Val Thr Arg Ala Asp Glu Gly Trp Tyr Trp Cys  
530 535 540

Gly Val Lys Gln Gly His Phe Tyr Gly Glu Thr Ala Ala Val Tyr Val  
545 550 555 560

Ala Val Glu Glu Arg Lys Ala Ala Gly Ser Arg Asp Val Ser Leu Ala  
565 570 575

Lys Ala Asp Ala Ala Pro Asp Glu Lys Val Leu Asp Ser Gly Phe Arg  
580 585 590

Glu Ile Glu Asn Lys Ala Ile Gln Asp Pro Arg Leu Phe Ala Glu Glu  
595 600 605

Lys Ala Val Ala Asp Thr Arg Asp Gln Ala Asp Gly Ser Arg Ala Ser  
610 615 620

Val Asp Ser Gly Ser Ser Glu Glu Gln Gly Gly Ser Ser Arg Ala Leu  
625 630 635 640

Val Ser Thr Leu Val Pro Leu Gly Leu Val Leu Ala Val Gly Ala Val

645 650 655  
Ala Val Gly Val Ala Arg Ala Arg His Arg Lys Asn Val Asp Arg Val  
660 665 670

Ser Ile Arg Ser Tyr Arg Thr Asp Ile Ser Met Ser Asp Phe Glu Asn  
675 680 685

Ser Arg Glu Phe Gly Ala Asn Asp Asn Met Gly Ala Ser Ser Ile Thr  
690 695 700

Gln Glu Thr Ser Leu Gly Gly Lys Glu Glu Phe Val Ala Thr Thr Glu  
705 710 715 720

Ser Thr Thr Glu Thr Lys Glu Pro Lys Lys Ala Lys Arg Ser Ser Lys  
725 730 735

Glu Glu Ala Glu Met Ala Tyr Lys Asp Phe Leu Leu Gln Ser Ser Thr  
740 745 750

Val Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Pro Gln Glu Ala  
755 760

<210> 62

<211> 585

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Lys Ser Pro Ile Phe Gly Pro Glu Glu Val Asn Ser Val Glu Gly Asn  
1 5 10 15

Ser Val Ser Ile Thr Cys Tyr Tyr Pro Pro Thr Ser Val Asn Arg His  
20 25 30

Thr Arg Lys Tyr Trp Cys Arg Gln Gly Ala Arg Gly Gly Cys Ile Thr  
35 40 45

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

Asn Leu Thr Asn Phe Pro Glu Asn Gly Thr Phe Val Val Asn Ile Ala  
65 70 75 80

Gln Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gly Arg Tyr Lys Cys Gly Leu Gly Ile

85 90 95

Asn Ser Arg Gly Leu Ser Phe Asp Val Ser Leu Glu Val Ser Gln Gly

100 105 110

Pro Gly Leu Leu Asn Asp Thr Lys Val Tyr Thr Val Asp Leu Gly Arg

115 120 125

Thr Val Thr Ile Asn Cys Pro Phe Lys Thr Glu Asn Ala Gln Lys Arg

130 135 140

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

145 150 155 160

Ser Ser Gly Tyr Val Asn Pro Asn Tyr Thr Gly Arg Ile Arg Leu Asp

165 170 175

Ile Gln Gly Thr Gly Gln Leu Leu Phe Ser Val Val Ile Asn Gln Leu

180 185 190

Arg Leu Ser Asp Ala Gly Gln Tyr Leu Cys Gln Ala Gly Asp Asp Ser

195 200 205

Asn Ser Asn Lys Lys Asn Ala Asp Leu Gln Val Leu Lys Pro Glu Pro

210 215 220

Glu Leu Val Tyr Glu Asp Leu Arg Gly Ser Val Thr Phe His Cys Ala

225 230 235 240

Leu Gly Pro Glu Val Ala Asn Val Ala Lys Phe Leu Cys Arg Gln Ser

245 250 255

Ser Gly Glu Asn Cys Asp Val Val Val Asn Thr Leu Gly Lys Arg Ala

260 265 270

Pro Ala Phe Glu Gly Arg Ile Leu Leu Asn Pro Gln Asp Lys Asp Gly

275 280 285

Ser Phe Ser Val Val Ile Thr Gly Leu Arg Lys Glu Asp Ala Gly Arg

290 295 300

Tyr Leu Cys Gly Ala His Ser Asp Gly Gln Leu Gln Glu Gly Ser Pro

305 310 315 320

Ile Gln Ala Trp Gln Leu Phe Val Asn Glu Glu Ser Thr Ile Pro Arg

325 330 335

Ser Pro Thr Val Val Lys Gly Val Ala Gly Gly Ser Val Ala Val Leu  
340 345 350

Cys Pro Tyr Asn Arg Lys Glu Ser Lys Ser Ile Lys Tyr Trp Cys Leu  
355 360 365

Trp Glu Gly Ala Gln Asn Gly Arg Cys Pro Leu Leu Val Asp Ser Glu  
370 375 380

Gly Trp Val Lys Ala Gln Tyr Glu Gly Arg Leu Ser Leu Leu Glu Glu  
385 390 395 400

Pro Gly Asn Gly Thr Phe Thr Val Ile Leu Asn Gln Leu Thr Ser Arg  
405 410 415

Asp Ala Gly Phe Tyr Trp Cys Leu Thr Asn Gly Asp Thr Leu Trp Arg  
420 425 430

Thr Thr Val Glu Ile Lys Ile Ile Glu Gly Glu Pro Asn Leu Lys Val  
435 440 445

Pro Gly Asn Val Thr Ala Val Leu Gly Glu Thr Leu Lys Val Pro Cys  
450 455 460

His Phe Pro Cys Lys Phe Ser Ser Tyr Glu Lys Tyr Trp Cys Lys Trp  
465 470 475 480

Asn Asn Thr Gly Cys Gln Ala Leu Pro Ser Gln Asp Glu Gly Pro Ser  
485 490 495

Lys Ala Phe Val Asn Cys Asp Glu Asn Ser Arg Leu Val Ser Leu Thr  
500 505 510

Leu Asn Leu Val Thr Arg Ala Asp Glu Gly Trp Tyr Trp Cys Gly Val  
515 520 525

Lys Gln Gly His Phe Tyr Gly Glu Thr Ala Ala Val Tyr Val Ala Val  
530 535 540

Glu Glu Arg Lys Ala Ala Gly Ser Arg Asp Val Ser Leu Ala Lys Ala  
545 550 555 560

Asp Ala Ala Pro Asp Glu Lys Val Leu Asp Ser Gly Phe Arg Glu Ile  
565 570 575

Glu Asn Lys Ala Ile Gln Asp Pro Arg

580 585

<210> 63

<211> 412

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 63

Met Gly Trp Ser Tyr Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15  
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys

20 25 30  
Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe

35 40 45  
Ile Ser Tyr Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu

50 55 60  
Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Arg Ser Gly Tyr Thr His Tyr Asn

65 70 75 80  
Gln Lys Leu Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ala Ser

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

100 105 110  
Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr

115 120 125  
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser

130 135 140  
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln

145 150 155 160  
Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr

165 170 175  
Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys

180 185 190



Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala

195 200 205  
Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe  
210 215 220  
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr  
225 230 235 240  
Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys  
245 250 255  
Leu Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

260 265 270  
Gly Gly Ser Gln Glu Asp Glu Arg Ile Val Leu Val Asp Asn Lys Cys  
275 280 285  
Lys Cys Ala Arg Ile Thr Ser Arg Ile Ile Arg Ser Ser Glu Asp Pro  
290 295 300  
Asn Glu Asp Ile Val Glu Arg Asn Ile Arg Ile Ile Val Pro Leu Asn  
305 310 315 320  
Asn Arg Glu Asn Ile Ser Asp Pro Thr Ser Pro Leu Arg Thr Arg Phe

325 330 335  
Val Tyr His Leu Ser Asp Leu Cys Lys Lys Cys Asp Pro Thr Glu Val  
340 345 350  
Glu Leu Asp Asn Gln Ile Val Thr Ala Thr Gln Ser Asn Ile Cys Asp  
355 360 365  
Glu Asp Ser Ala Thr Glu Thr Cys Tyr Thr Tyr Asp Arg Asn Lys Cys  
370 375 380  
Tyr Thr Ala Val Val Pro Leu Val Tyr Gly Gly Glu Thr Lys Met Val

385 390 395 400  
Glu Thr Ala Leu Thr Pro Asp Ala Cys Tyr Pro Asp  
405 410

<210> 64

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polypeptide

<400> 64

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr

20 25 30

Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Tyr Ile Asn Pro Arg Ser Gly Tyr Thr His Tyr Asn Gln Lys Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser

130 135 140

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala

145 150 155 160

Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220  
 Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile  
 225 230 235 240  
 Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 245 250 255  
 Gln Glu Asp Glu Arg Ile Val Leu Val Asp Asn Lys Cys Lys Cys Ala  
 260 265 270  
 Arg Ile Thr Ser Arg Ile Ile Arg Ser Ser Glu Asp Pro Asn Glu Asp

275 280 285  
 Ile Val Glu Arg Asn Ile Arg Ile Ile Val Pro Leu Asn Asn Arg Glu  
 290 295 300  
 Asn Ile Ser Asp Pro Thr Ser Pro Leu Arg Thr Arg Phe Val Tyr His  
 305 310 315 320  
 Leu Ser Asp Leu Cys Lys Lys Cys Asp Pro Thr Glu Val Glu Leu Asp  
 325 330 335  
 Asn Gln Ile Val Thr Ala Thr Gln Ser Asn Ile Cys Asp Glu Asp Ser

340 345 350  
 Ala Thr Glu Thr Cys Tyr Thr Tyr Asp Arg Asn Lys Cys Tyr Thr Ala  
 355 360 365  
 Val Val Pro Leu Val Tyr Gly Gly Glu Thr Lys Met Val Glu Thr Ala  
 370 375 380  
 Leu Thr Pro Asp Ala Cys Tyr Pro Asp  
 385 390

<210> 65

<211> 415

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide

<400> 65

Met Lys Asn His Leu Leu Phe Trp Gly Val Leu Ala Val Phe Ile Lys

1 5 10 15

Ala Val His Val Lys Ala Gln Glu Asp Glu Arg Ile Val Leu Val Asp  
20 25 30

Asn Lys Cys Lys Cys Ala Arg Ile Thr Ser Arg Ile Ile Arg Ser Ser  
35 40 45

Glu Asp Pro Asn Glu Asp Ile Val Glu Arg Asn Ile Arg Ile Ile Val  
50 55 60

Pro Leu Asn Asn Arg Glu Asn Ile Ser Asp Pro Thr Ser Pro Leu Arg  
65 70 75 80

Thr Arg Phe Val Tyr His Leu Ser Asp Leu Cys Lys Lys Cys Asp Pro  
85 90 95

Thr Glu Val Glu Leu Asp Asn Gln Ile Val Thr Ala Thr Gln Ser Asn  
100 105 110

Ile Cys Asp Glu Asp Ser Ala Thr Glu Thr Cys Tyr Thr Tyr Asp Arg  
115 120 125

Asn Lys Cys Tyr Thr Ala Val Val Pro Leu Val Tyr Gly Gly Glu Thr  
130 135 140

Lys Met Val Glu Thr Ala Leu Thr Pro Asp Ala Cys Tyr Pro Asp Gly  
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val  
165 170 175

Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val  
180 185 190

Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr Thr Met  
195 200 205

His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr  
210 215 220

Ile Asn Pro Arg Ser Gly Tyr Thr His Tyr Asn Gln Lys Leu Lys Asp  
225 230 235 240

Lys Ala Thr Leu Thr Ala Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu  
245 250 255

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

260 265 270  
 Ser Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 275 280 285  
 Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 290 295 300  
 Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu  
 305 310 315 320

Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser  
 325 330 335  
 Ser Val Ser Tyr Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro  
 340 345 350  
 Lys Arg Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser  
 355 360 365  
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser  
 370 375 380

Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser  
 385 390 395 400  
 Ser Asn Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 405 410 415

<210> 66

<211> 393

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polypeptide

<400> 66

Gln Glu Asp Glu Arg Ile Val Leu Val Asp Asn Lys Cys Lys Cys Ala  
 1 5 10 15

Arg Ile Thr Ser Arg Ile Ile Arg Ser Ser Glu Asp Pro Asn Glu Asp  
 20 25 30  
 Ile Val Glu Arg Asn Ile Arg Ile Ile Val Pro Leu Asn Asn Arg Glu  
 35 40 45

Asn Ile Ser Asp Pro Thr Ser Pro Leu Arg Thr Arg Phe Val Tyr His  
 50 55 60  
 Leu Ser Asp Leu Cys Lys Lys Cys Asp Pro Thr Glu Val Glu Leu Asp  
 65 70 75 80  
  
 Asn Gln Ile Val Thr Ala Thr Gln Ser Asn Ile Cys Asp Glu Asp Ser  
 85 90 95  
 Ala Thr Glu Thr Cys Tyr Thr Tyr Asp Arg Asn Lys Cys Tyr Thr Ala  
 100 105 110  
 Val Val Pro Leu Val Tyr Gly Gly Glu Thr Lys Met Val Glu Thr Ala  
 115 120 125  
 Leu Thr Pro Asp Ala Cys Tyr Pro Asp Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
 130 135 140  
  
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala  
 165 170 175  
 Ser Gly Tyr Thr Phe Ile Ser Tyr Thr Met His Trp Val Arg Gln Ala  
 180 185 190  
 Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Arg Ser Gly  
 195 200 205  
  
 Tyr Thr His Tyr Asn Gln Lys Leu Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Ala  
 210 215 220  
 Asp Lys Ser Ala Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser  
 225 230 235 240  
 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Ala Tyr Tyr Asp Tyr  
 245 250 255  
 Asp Gly Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 260 265 270  
  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp  
 275 280 285  
 Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp

290 295 300  
 Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met Asn  
 305 310 315 320  
 Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Asp  
 325 330 335

Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly  
 340 345 350  
 Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp  
 355 360 365  
 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Pro Thr Phe  
 370 375 380

Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys  
 385 390

<210> 67

<211> 15

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 peptide

<400> 67

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

<210> 68

<211> 1239

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
 polynucleotide

<400> 68

atgggctggt cctacatcat cctcttcttc gtggccacag ccacaggcgt ccatagccag 60

gtgcagctgg tgcagtcgg cgccgaagtg aagaagcctg ggcgcagcgt gaaggtgagc 120

tgcaaggctt cggctacac cttcatctcc tacaccatgc actgggtgag gcaagctcct 180



ggccagggcc tggagtggat gggatacatc aaccctcggg ccggtatatac ccactacaat 240  
cagaagctga aggacaaggc caccctgacc gctgacaagt ccgcctccac cgcttacatg 300  
gagctgtcct ccctgaggtc cgaggacacc gccgtgtact actgtgccag gtccgcctac 360  
tacgactacg acggattcgc ttactggggc cagggcaccc tggtgacagt gagtccgga 420  
ggaggaggca gcggcgggcg cggcagcggc ggcgggcgga gcgatatcca gatgaccag 480  
agcccttcca gccgtgccgc ttccgtgggc gacagggtga ccatcacctg cagcgcttcc 540

tcctccgtgt cctacatgaa ctggtaccag cagaagcctg gcaaggcccc caagaggctg 600  
atctacgaca cctccaagct ggctccgga gtgccttcca ggttcagcgg ctccggctcc 660  
ggaaccgact tcacctgac cattagctcc ctgcagcccg aggacttcgc cacctactac 720  
tgccagcagt ggtccagcaa ccctcccacc ttcgggggcg gcacaaagct ggagatcaag 780  
ggaggaggag gatccggtgg tgggtgttct ggcgagggtg gatcccaaga agatgaaagg 840  
attgttcttg ttgacaaca atgtaagtgt gcccggatta cttccaggat catccgttct 900  
tccgaagatc ctaatgagga cattgtggag agaaacatcc gaattattgt tcctctgaac 960

aacagggaga atatctctga tcccacctca ccattgagaa ccagatttgt gtaccatttg 1020  
tctgacctct gtaaaaaatg tgatctaca gaagtggagc tggataatca gatagttact 1080  
gctaccaga gcaatatctg tgatgaagac agtgtacag agacctgcta cacttatgac 1140  
agaaacaagt gctacacagc tgtgttccca ctggtatag gtggtgagac caaatgggtg 1200  
gaaacagcct taacccaga tgctgctat cctgactga 1239

<210> 69

<211> 1248

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Description of Artificial Sequence: Synthetic  
polynucleotide

<400> 69

atgaagaacc atttgctttt ctggggagtc ctggcggttt ttattaaggc tgttcatgtg 60  
aaagcccaag aagatgaaag gattgttctt gttgacaaca aatgtaagtg tgcccgatt 120  
acttccagga tcatccgttc ttccgaagat cctaagagg acattgtgga gagaaacatc 180  
cgaattattg ttctctgaa caacaggag aatatctctg atccacctc accattgaga 240  
accagatttg tgtaccattt gtctgacctc tgtaaaaaat gtgacctac agaagtggag 300  
ctggataatc agatagttac tgctaccag agcaatatct gtgatgaaga cagtgtaca 360

|  |      |
|--|------|
| gagacctgct acacttatga cagaaacaag tgctacacag ctgtgggtccc actcgtatat | 420  |
|  |      |
| ggtgggtgaga ccaaaatggt ggaaacagcc ttaaccccag atgcctgcta tcctgacgga | 480  |
| ggaggaggat ccggtggtgg tggttctggc ggaggtggat cccaggtgca gctgggtcag  | 540  |
| tccggcgccg aagtgaagaa gcctggcgcc agcgtgaagg tgagctgcaa ggcttccggc  | 600  |
| tacaccttca tctcctacac catgcactgg gtgaggcaag ctctggcca gggcctggag   | 660  |
| tggatgggat acatcaaccc tcggtccggc tatacccact acaatcagaa gctgaaggac  | 720  |
| aaggccacc tgaccgctga caagtccgc tccaccgctt acatggagct gtcctccctg    | 780  |
| aggtccgagg acaccgccgt gtactactgt gccaggtccg cctactacga ctacgacgga  | 840  |
|  |      |
| ttcgcttact ggggccaggg caccctggig acagtgaagt ccggaggagg aggcagcggg  | 900  |
| ggtggcgga gcggtggagg tggcagcgat atccagatga cccagagccc ttccagcctg   | 960  |
| tccgcttccg tggcgacag ggtgaccatc acctgcagcg cttcctctc cgtgtcctac    | 1020 |
| atgaactggt accagcagaa gcctggcaag gcccccaaga ggctgatcta cgacacctcc  | 1080 |
| aagctggcct ccggagtgcc ttccaggttc agcggctccg gctccggaac cgacttcacc  | 1140 |
| ctgaccatta gtcctctgca gcccaggac ttgccacct actactgcca gcagtggtec    | 1200 |
| agcaaccctc ccaccttcgg aggcggcaca aagctggaga tcaagtga               | 1248 |