



등록특허 10-2639037



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년02월20일

(11) 등록번호 10-2639037

(24) 등록일자 2024년02월16일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/56 (2006.01) A61K 47/50 (2017.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/56 (2013.01)
A61K 47/6813 (2017.08)
(21) 출원번호 10-2017-7014309
(22) 출원일자(국제) 2015년10월23일
심사청구일자 2020년10월23일
(85) 번역문제출일자 2017년05월25일
(65) 공개번호 10-2017-0077185
(43) 공개일자 2017년07월05일
(86) 국제출원번호 PCT/AU2015/050654
(87) 국제공개번호 WO 2016/065409
국제공개일자 2016년05월06일
(30) 우선권주장
2014904326 2014년10월29일 오스트레일리아(AU)
(56) 선행기술조사문헌
KR100731826 B1
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
테바 파마슈티컬즈 오스트레일리아 피티와이 엘티디
오스트레일리아 2113 뉴 사우스 웨일즈주 맥쿼리
파크 에핑 로드 37 레벨 2

(72) 발명자
베렌스 콜렛
오스트레일리아 2113 뉴 사우스 웨일즈주 맥쿼리
파크 에핑 로드 37 레벨 2 테바 파마슈티컬즈 오
스트레일리아 피티와이 엘티디 내

도일 안소니
오스트레일리아 2113 뉴 사우스 웨일즈주 맥쿼리
파크 에핑 로드 37 레벨 2 테바 파마슈티컬즈 오
스트레일리아 피티와이 엘티디 내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인
김진희, 김태홍

전체 청구항 수 : 총 19 항

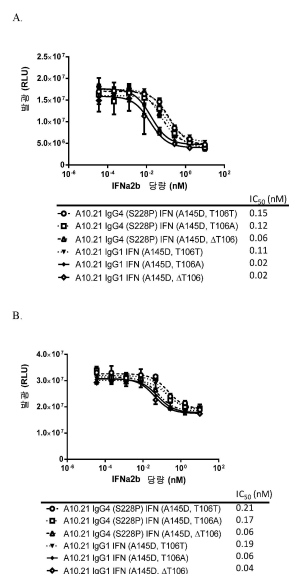
심사관 : 김수진

(54) 발명의 명칭 인터페론 α2b 변이체

(57) 요약

본 발명은, 제1 도메인은 세포 표면 관련 항원에 결합하는 폴리펩티드 리간드를 포함하고, 제2 도메인은 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2의 서열을 갖는 아글리코실화된 인터페론 α2b(IFNα2b)를 포함하는 것인, 제1 도메인 및 제2 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다. 아글리코실화된 IFNα2b는 아글리코실화된 IFNα2b의 활성을 약화시키는 하나 이상의 아미노산 치환 또는 결실을 추가로 포함한다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/6835 (2017.08)

C07K 16/2833 (2013.01)

C07K 16/2896 (2013.01)

C07K 2319/33 (2013.01)

C07K 2319/70 (2013.01)

(72) 발명자

클라크 아담

오스트레일리아 2113 뉴 사우스 웨일스주 맥쿼리
파크 에핑 로드 37 레벨 2 테바 파마슈티컬즈 오스
트레일리아 피티와이 엘티디 내

폴라드 메튜

오스트레일리아 2113 뉴 사우스 웨일스주 맥쿼리
파크 에핑 로드 37 레벨 2 테바 파마슈티컬즈 오스
트레일리아 피티와이 엘티디 내

돔마갈라 테레사

오스트레일리아 2113 뉴 사우스 웨일스주 맥쿼리
파크 에핑 로드 37 레벨 2 테바 파마슈티컬즈 오스
트레일리아 피티와이 엘티디 내

(56) 선행기술조사문헌

KR1020140101744 A*

US20040230040 A1

US20150313965 A1

US20160122410 A1

US20170202962 A1

WO2013059885 A2

THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, VOL. 288,
NO. 1, pp. 247-254(2013.01.04.) 1부.*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명세서

청구범위

청구항 1

제1 및 제2 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드로서, 제1 도메인은 세포 표면 관련 항원에 결합하는 폴리펩티드 리간드를 포함하고, 제2 도메인은 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 갖는 아글리코실화된 인터페론 α 2b(IFN α 2b)를 포함하며, 상기 서열식별번호: 1의 아미노산 서열을 갖는 아글리코실화된 IFN α 2b는, A145D 치환을 추가로 포함하고, 상기 서열식별번호: 2의 아미노산 서열을 갖는 아글리코실화된 IFN α 2b는, A144D 치환을 추가로 포함하고, 상기 치환은 아글리코실화된 IFN α 2b의 활성을 약화시키는 것인 융합 폴리펩티드.

청구항 2

제1항에 있어서, 아글리코실화된 IFN α 2b의 아미노산 서열이, 106번 위치의 잔기가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, V, W 및 Y로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 아글리코실화된 IFN α 2b의 아미노산 서열이, 106번 위치의 잔기가 A인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 아글리코실화된 IFN α 2b의 아미노산 서열이 서열식별번호: 3 내지 30 및 서열식별번호: 32 내지 47로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 융합 폴리펩티드.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서, 세포 표면 관련 항원이 CD38, CD138, RANK-리간드, HM1.24, CD56, CS1, CD20, CD74, IL-6R, Blys(BAFF), BCMA, HLA-SR, HLA-DR, 키니노젠, 베타2 마이크로글로불린, FGFR3, ICAM-1, 매트릭스 타제, CD52, EGFR, GM2, 알파4-인테그린, IFG-1R, KIR, CD3, CD4, CD8, CD24, CD44, CD69, CD71, CD79, CD83, CD86, CD96, HLA, PD-1, ICOS, CD33, CD115, CD11c, CD19, CD52, CD14, FSP1, FAP, PDGFR 알파, PDGFR 베타, ASGR1, ASGR2, FSP1, RTI140/Ti-알파, HTI56, VEGF 수용체, RCHE 유전자의 생성물인 CD241, CD117(c-kit), CD71(트랜스페린 수용체), CD36(트롬보스폰딘 수용체), CD34, CD45RO, CD45RA, CD115, CD168, CD235, CD236, CD237, CD238, CD239 및 CD240으로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 융합 폴리펩티드.

청구항 6

제1항 또는 제2항에 있어서, 폴리펩티드 리간드가 항체 또는 이의 항원 결합부인 융합 폴리펩티드.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 폴리펩티드 리간드가 CD38에 결합하는 항체인 융합 폴리펩티드.

청구항 8

제7항에 있어서, 항체의 VH 서열이 서열식별번호: 48 내지 56 및 58로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 융합 폴리펩티드.

청구항 9

제7항에 있어서, 항체의 VL 서열이 서열식별번호: 81, 82 및 84로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 융합 폴리펩티드.

청구항 10

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 도메인이 펩티드 결합을 통해 제2 도메인에 연결되는 것인 융합 폴리펩티드.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 도메인이 펩티드 결합을 통해 직접 제2 도메인에 연결되는 것인 융합 폴리펩티드.

청구항 12

제1항 또는 제2항에 있어서, 제1 도메인의 C 말단이 제2 도메인의 N 말단에 연결되는 것인 융합 폴리펩티드.

청구항 13

서열식별번호: 31, 61 내지 77, 83 및 87로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열, 및 서열식별번호: 81, 82 및 84로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하는 융합 폴리펩티드.

청구항 14

서열식별번호: 87의 아미노산 서열 및 서열식별번호: 81의 아미노산 서열을 포함하는 융합 폴리펩티드.

청구항 15

제1항, 제2항, 제13항 및 제14항 중 어느 한 항에 기재된 융합 폴리펩티드 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 종양 치료용 조성물.

청구항 16

제15항에 있어서, 종양이 다발성 골수종 또는 비호지킨 림프종으로부터 선택되는 것인 조성물.

청구항 17

제1항, 제2항, 제13항 및 제14항 중 어느 한 항에 기재된 융합 폴리펩티드(들)를 코딩하는, 단리된 폴리뉴클레오티드(들).

청구항 18

제17항의 폴리뉴클레오티드(들) 중 하나 이상을 포함하는 벡터.

청구항 19

제18항의 벡터를 포함하는 형질전환된 세포.

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은, 세포 표면 항원에 대해 표적화되는 리간드 및 아글리코실화된(aglycosylated) 인터페론 α 2b(IFN α 2b)를 포함하는 폴리펩티드, 및 암 치료에 있어서의 상기 폴리펩티드의 용도에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 다수의 펩티드 및 폴리펩티드 분자는 세포 표면 상의 수용체와 상호작용하여, 일반적으로 상기 수용체를 보유하는 세포 내부의 신호 전달 경로를 관여시키는 생물학적 반응을 자극하거나, 억제하거나, 다른 방식으로 조절함으로써 작용하는 것으로 기술되어 왔다. 그러한 분자의 예로는 펩티드 및 폴리펩티드 호르몬, 사이토카인, 케모카인, 성장 인자, 아포토시스 유도 인자 등을 포함한다. 이들 분자는 가용성일 수 있거나, 다른 세포의 표면에 부착되어 있을 수 있다.

[0003] 상기 분자의 생물학적 활성에 기인하여, 일부 분자는 치료제로서의 잠재적 유용성을 갖는다. 예를 들어, 인간 성장 호르몬, 인슐린, 인터페론 IFN α 2b, IFN α 2a, IFN β , 에리트로포이에틴, G-CSF 및 GM-CSF를 비롯한, 여러 종의 펩티드 또는 폴리펩티드 분자가 치료학적 제품으로서 규제 기관의 승인을 받아 왔다. 이들 및 다른 펩티드들 다수는 치료학적 적용에서 잠재능이 있는 것으로 입증되었지만, 이는 또한 인간 환자에게 투여되었을 때에는 독성도 나타내었다. 독성에 대한 한가지 이유는 이들 분자 대부분이 치료학적 효과를 매개하는 것 이외의 세포를 포함하는 다양한 세포 상의 수용체에서의 반응을 일으키기 때문이다. 예를 들어, IFN α 2b가 다발성 골수종 치료를 위해 사용될 때, 그의 유용성은 그가 적어도 부분적으로는 골수종 세포 상의 I형 인터페론 수용체에 결합하여 차례로 증식 감소를 일으키고, 이로써, 질환 진행을 제한하는 데 있다. 그러나, 불행하게도, 상기 IFN은 또한 신체 내의 다수의 다른 정상 세포에도 결합하여 다양한 다른 세포 반응을 일으키고, 이 중 일부는 유해하다(예컨대, 감기 유사 증상, 호중구 감소증, 우울증). 펩티드의 상기와 같은 "오프 타겟(off target)" 활성의 결과는 다수의 펩티드가 약물 후보물질로서 적합하지 않다는 것이다. 이와 관련하여, "오프 타겟 활성"이란, 펩티드의 천연 수용체 상, 그러나, 치료학적 유의한 효과를 매개하는 것 이외의 다른 세포의 표면 상에서의 활성을 의미한다.

[0004] 비록 일부 펩티드, 예컨대, IFN α 2b는 의학적 병태 치료를 위한 것으로 승인은 받았지만, 그의 "오프 타겟" 생물학적 활성에 기인하여 내약성이 불량하다. 오프 타겟 활성 및 연관된 불량한 내약성은 또한 상기 펩티드에 기반한 약물 중 일부는 치료학적 효과를 매개하는 표적 세포에 대하여 최적의 치료학적 효과를 발휘하는 데 충분히 높은 투여량으로는 투여될 수 없다는 것을 의미하기도 한다.

[0005] 유사하게, 1980년대 중반 이래로 인터페론, 특히, IFN α 는 아포토시스를 증가시킬 수 있고, 특정 암 세포의 증식을 감소시킬 수 있다고 알려져 왔다. 이러한 생물학적 활성은 암 세포의 표면 상의 I형 인터페론 수용체에 의해 매개되는데, 이는 자극을 받았을 때, 다양한 신호 전달 경로를 개시시켜 증식을 감소시키고/거나, 최종의 분화 또는 아포토시스를 유도한다. IFN α 는 흑색종, 신장 세포 암종, B 세포 림프종, 다발성 골수종, 만성골수성 백혈병(CML) 및 모발상 세포 백혈병을 비롯한, 몇 종의 암 치료용으로서 FDA의 승인을 받았다. IFN α 가 종양 세포에 대해 미치는 "직접적인" 효과는 상기 세포 상의 I형 IFN 수용체에 직접 결합하고, 아포토시스, 최종의 분화 또는 증식 감소를 자극하는 IFN α 에 의해 매개된다. 비암 세포에 대해 IFN α 가 미치는 한 가지 "간접적인" 효과는 면역계를 자극하는 것인데, 이는 면역계가 종양을 거부하도록 유발함으로써 추가의 항암 효과를 일으킬 수 있다.

[0006] 불행하게도, I형 인터페론 수용체는 대부분의 비암성 세포 상에도 또한 존재한다. IFN α 에 의한 상기 세포 상의 이들 수용체의 활성화는 다수의 염증유발성 사이토카인 및 케모카인 발현을 유발하여 독성을 일으킨다. 상기 독성은 암 세포에 대하여 최대의 항증식성 및 아포토시스 유발 활성을 발휘하는 수준으로 IFN α 를 피험체에게 투약하지 못하게 막는다.

[0007] (Ozzello) 등(문헌 [Breast Cancer Research and Treatment 25:265-76, 1993])은 종양 성장물을 감소시키는 방법으로서, 인간 IFN α 를 종양 표적화 항체에 공유적으로 부착시켜 IFN α 의 직접적인 억제 활성을 종양으로 국재화시키는 것을 기술하였고, 상기 컨쥬게이트가 인간 암의 이종이식편 모델에서 항종양 활성을 갖는다는 것을 입증하였다. 관찰된 항암 활성의 기전은 IFN α 가 암 세포에 미치는 직접적인 효과에 기인하였는데, 이는 상기 실

험에서 사용된 인간 IFN α 가 뮤린 I형 IFN 수용체와 눈에 떨 정도로 상호작용하지 않았기 때문이며, 이는 간접적인 항암 효과도 일으킬 수도 있다. 그러나, 이같은 인간 IFN α 의 뮤린 세포와의 결합 부족 때문에 저자는 유리 IFN α 대비의 항체-IFN α 컨쥬게이트의 독성을 평가할 수 없었다. 상기 저자들은 IFN α 를 항체에 부착시키는 데 화학적 방법을 사용하였다.

[0008] (Alkan) 등 (문헌 [Journal of Interferon Research, volume 4, number 3, p. 355-63, 1984])은 엡스타인-바 바이러스(EBV: Epstein-Barr virus) 막 항원(MA: membrane antigen)에 결합하는 항체에 인간 IFN α 를 부착시키는 것이 EBV-MA 항원을 발현하는 세포로의 그의 항증식 활성을 증가시켰다는 것을 입증하였다. 이러한 효능 증가는 표적 세포에 의한 항원 발현, 및 항체의 결합 특이성, 둘 모두에 의존하였다. 테스트된 세포주는 암 세포주 QIMR-WIL, 골수아구성 백혈병이었다. 저자는 IFN α 를 항체에 부착시키는 것이 종양 성장을 감소시키기 때문에 이는 암 치료용으로서 사용될 수 있다고 제안하였다. (Alkan) 등은 정상적인 항원 음성 세포와 그의 상호작용으로부터 유발되는 상기의 항체-IFN α 컨쥬게이트의 잠재적인 독성은 처리하지 못했다.

[0009] 또한, 항체와 IFN α 사이의 연결은 융합 단백질 구성체를 제조함으로써 달성될 수 있는 것으로도 알려져 있다. 예를 들어, IDEC(W001/97844)에는 종양 항원 CD20을 표적화하는 IgG의 중쇄의 C 말단에의 인간 IFN α 의 직접적인 융합이 개시되어 있다. 다른 그룹들은 IgG 중쇄의 C 말단과 IFN α 사이에 다양한 링커를 사용하는 것을 개시하였다. 예를 들어, US 7,456,257에는 서열 (GGGGS) $_n$ (여기서, n 은 1, 2, 또는 3일 수 있다)으로 이루어진, 개재 세린-글리신이 풍부한(S/G) 링커를 통해 항체 중쇄 불변 영역의 C 말단을 IFN α 에 연결시킬 수 있고, 링커 길이와는 상관없이 융합 단백질 구성체의 IFN α 활성에 있어 어떤 유의적인 차이도 없다고 개시되어 있다.

[0010] (Morrison) 등 (US2011/0104112 A1; 및 문헌 [Xuan C, Steward KK, Timmerman JM, Morrison SL. Targeted delivery of interferon- α via fusion to anti-CD20 results in potent antitumor activity against B-cell lymphoma. Blood 2010;115:2864-71])은 또한 개재 S/G 링커를 이용하여 암 표적화 IgG 항체의 중쇄의 C 말단에 연결된 IFN α 를 개시하였고, IgG 및 링커의 IFN α 에의 융합이, 세포 표면 상에 상응하는 항원을 발현하지 않는 세포에 대한 IFN α 의 활성을 감소시켰다는 것을 관찰하게 되었다. 이들 융합 단백질 구성체의 감소된 IFN 활성은 인간 세포에 대해 작용하는 인간 비융합 단백질 IFN α (유리 IFN α)와 비교하였을 때에는 그다지 크지 않았지만, 뮤린 세포 상의 뮤린 IFN α 에 대해서는 유의적으로 더 큰 것으로 나타났다. 인간 IFN α 를 항체의 C 말단에 융합시킴으로써 이루어진 인간 IFN α 의 활성 감소는 (Morrison) 등에 의해 및 US 7,456,257에서 관찰된 바와 같이, 그다지 크지 않고, 일반적으로 이는 IFN 효능을 감소시키기 때문에 단점인 것으로 여겨진다. 이러한 단점은 예를 들어, IFN α 활성 손실이 관찰되지 않는 방식으로 IFN α 를 종양 표적화 항체에 부착시키는 대안적 전략법을 사용한, (Rossi) 등 (문헌 [Blood vol. 114, No. 18, pp3864-71])에 의해 지적되었다.

[0011] 일반적으로, 선행 기술은 강력한 효능을 지닌 IFN을 사용하고, 상기 IFN을 암 세포로 표적화하는 것을 교시한다. 이러한 접근법은 암 세포에 대한 IFN의 활성을 증가시키지만, 정상적인 "오프 타겟" 세포에 대한 IFN의 활성에 관한 문제는 다루지 않고 있다. 상기 언급된 선행 기술의 예에서, 항체-IFN α 융합 단백질의 인간 IFN α 부분은 인간 세포 표면 상에 상응하는 항원을 발현하지 않는 인간 세포에 노출시켰을 때, 높은 비율로 천연 IFN α 활성을 유지하였다. 이러한 활성은 융합 단백질의 IFN α 부분에 의해 비암성의 정상적인 ("오프 타겟") 세포의 활성화로부터 유발되는 독성을 일으킬 수 있다. 따라서, IFN 기반 약물의 "온 타겟(on target)" 치료학적 효과는 유지시키면서, 상기 약물의 "오프 타겟" 활성은 감소시키는 것이 요구되고 있다. 이러한 유형의 치료제의 표적 특이 활성은 유지시키면서, 동시에, 비표적 독성은 감소시키는 것이 치료학상 유용한 펩티드에 대하여 더욱 큰 치료학적 농도 창을 생성하게 될 것이다. 예를 들어, 정상적인 인간 세포에 대한 그의 효과는 최소화시키면서, 그의 활성이 암 세포에 대해서 이루어질 수 있도록 하는 형태로 인간 IFN α 를 사용하는 것이 바람직할 수 있다. 이상적으로는, 암 세포 상의 I형 인터페론 수용체는 최대로 자극을 받겠지만, 동시에 비암성 세포 상의 같은 수용체는 최소의 자극을 경험하게 될 것이다. 항원을 나타내지 않는 정상 세포 상에서보다는 항원을 나타내는 암 세포 상에서 현저하게 더욱 큰 활성을 가지도록 하는 방식으로 인간 IFN α 를 암 세포로 표적화하는 것이 요구되고 있다. 같은 논리가 잠재적으로 치료학적인 다른 분자, 예컨대, 다른 사이토카인, 펩티드 및 폴리펩티드 호르몬, 케모카인, 성장 인자, 아포토시스 유도 인자 등에도 적용된다.

[0012] 상기 접근법의 논리는 W0 2013/059885, 및 W0 2014/178820에서 입증된 바 있으며, 상기 문헌은 각각 그 개시내용이 본원에서 상호 참조로 포함된다.

발명의 내용

[0013] 제1 측면에서, 본 발명은 제1 도메인은 세포 표면 관련 항원에 결합하는 폴리펩티드 리간드를 포함하고, 제2 도

메인은 서열식별번호(SEQ ID NO): 1 또는 서열식별번호: 2의 서열을 갖는 인간 아글리코실화된 인터페론 α 2b(IFN α 2b)를 포함하고, 여기서, 아글리코실화된 IFN α 2b는 아글리코실화된 IFN α 2b의 활성을 약화시키는 하나 이상의 아미노산 치환 또는 결실을 추가로 포함하는 것인, 제1 도메인 및 제2 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.

- [0014] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 31, 61 내지 77, 83 및 87로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열, 및 서열식별번호: 81, 82 및 84로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.
- [0015] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 87 및 서열식별번호: 81을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.
- [0016] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 79 및 서열식별번호: 85를 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.
- [0017] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 80 및 서열식별번호: 86을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.
- [0018] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 78을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.
- [0019] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 융합 폴리펩티드, 및 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제를 포함하는 조성물을 제공한다.
- [0020] 또 다른 측면에서, 본 발명은 피험체에게 본 발명의 융합 폴리펩티드, 또는 본 발명의 조성물을 투여하는 단계를 포함하고, 여기서, 융합 폴리펩티드의 제1 도메인은 종양의 세포에 결합하는 것인, 피험체에서 종양을 치료하는 방법을 제공한다.
- [0021] 또 다른 측면에서, 본 발명은 융합 폴리펩티드의 제1 도메인이 종양에 결합하는 것인, 종양 치료에서의 본 발명의 융합 폴리펩티드의 용도를 제공한다.
- [0022] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 융합 폴리펩티드(들)를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드(들)를 제공한다.
- [0023] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터를 제공한다.
- [0024] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 벡터를 포함하는 형질전환된 세포를 제공한다.
- [0025] 또 다른 측면에서, 본 발명은, 포유동물 세포에서, 감소된 불균질성(heterogeneity) 및/또는 강화된 FcRn 결합 및/또는 강화된 표적 선택성을 갖는 폴리펩티드 리간드-약화된 IFN α 2b 융합 폴리펩티드를 생성하는 방법으로서, 상기 폴리펩티드 리간드-약화된 IFN α 2b 융합 폴리펩티드를 코딩하는 하나 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 포유동물 세포를 배양하는 단계를 포함하며, 상기 IFN α 2b 서열의 T106은, 상기 포유동물 세포에서 발현될 때 융합 단백질의 IFN α 2b 성분이 아글리코실화되도록 다른 아미노산으로 치환되거나 결실되어 있는 것인 방법을 제공한다.

도면의 간단한 설명

- [0026] 도 1: IFN α 2b의 O-결합 글리코실화의 존재 및 부재하의 IgG1 또는 IgG4 포맷의 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질 이용한 (a) ARP1 및 (b) NCI-H929 세포 치료 시의 항증식 활성.
- 도 2a, b, c, d 및 e. 약화된 IFN α 2b로부터 O-결합 글리코실화 부위를 제거하는 다른 아미노산 치환을 갖는 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 항증식 활성.
- 도 3: IFN α 2b의 O-결합 글리코실화의 존재(T106T) 및 부재(T106A)하의 (a) A10.21 및 (b) A10.43 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 온 타겟 활성.
- 도 4: IFN α 2b의 O-결합 글리코실화의 존재(T106T) 및 부재(T106A)하의 (a) A10.21 및 (b) A10.43 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 오프 타겟 활성.
- 도 5: IFN α 2b의 O-결합 글리코실화의 존재(T106T) 및 부재(T106A 또는 Δ T106)하의 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질에 의한 오프 타겟 활성.
- 도 6: a, b, c, d, e 및 f: 약화된 IFN α 2b로부터 O-결합 글리코실화 부위를 제거하는 다른 아미노산 치환을 갖는 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 오프 타겟 활성.
- 도 7: IFN α 2b의 O-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 부재(T106A)하의 A10.43 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 오프 타겟 활성.

도 8: 다발성 골수종의 무린 모델에서의 종양 치료에서 차선 투여량의, 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 부재(T106A)하의 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 효능.

도 9: IEF 겔 상의 밴드 개수로 사정된, IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 부재(T106A, T106, T106S, T106V, T106G, T106E)하의 하전된 A10.21 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질 중의 개수.

도 10: IEF 겔 상의 밴드 개수로 사정된, IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 부재(T106A), 및 다양한 Fc 이소타입을 포함하는 하전된 A10.21 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질 중의 개수.

도 11: IEF 겔 상의 밴드 개수로 사정된, 항체 불변 영역 중의 YTE 치환의 존재하에서 IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 부재(T106A)하의 하전된 A10.21 (IgG4는 S228P를 포함) 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질 중의 개수.

도 12: IEF 겔 상의 밴드 개수로 사정된, IFN을 약화시키는 다양한 치환의 존재하에서 IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 부재(T106A)하의 하전된 A10.21 (IgG4는 S228P를 포함) 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질 중의 개수.

도 13: IEF 겔 상의 밴드 개수로 사정된, 표적 특이성이 다른 하전된 항체 중; IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 부재(T106A)하의 약화된 IFN α 2b에 융합된 항CD138 항체, 항HLA 항체, 및 항 CD38 항체 (A02.12)(IgG4 모두 S228P를 포함)의 개수.

도 14: IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 및 부재(T106A, T106, T106S, T106V, T106G, T106E)하의 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질(A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D))의 "온 타겟" 활성.

도 15: IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 및 부재(T106A)하인, CD38 상의 상이한 에피토프에 결합하는 2종의 다른 항CD38 항체-약화된 IFN α 2b 융합 단백질(A02.12 및 A10.21, 두 IgG4 모두 S228P를 포함)의 "온 타겟" 활성.

도 16: IFN을 약화시키는 다양한 치환(R33A, R144I, R145Q, A145K 또는 A145G)을 포함하는, IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 및 부재(T106A)하의 A10.21 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질(A10.21 IgG4 (S228P) IFN)의 "온 타겟" 활성.

도 17: 표적 특이성이 다른 항체; IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 부재(T106A)하의 약화된 IFN α 2b에 융합된 항CD138 항체, 및 항HLA 항체(두 IgG4 모두 S228P를 포함)의 "온 타겟" 활성.

도 18: 항체 항체 중쇄 중의 YTE 치환의 존재하에서 IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 및 부재(T106A)하의 A10.21 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질(A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D))의 "온 타겟" 활성.

도 19: IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재(T106T) 및 부재(T106A), 및 다양한 면역글로불린 Fc 이소타입을 포함하는 A10.21 항CD38-약화된 IFN α 2b(A145D) 융합 단백질의 "온 타겟" 활성.

도 20: IFN의 글리코실화를 제거하는 다양한 아미노산 치환, 반감기 연장, IFN 약화를 위한 면역글로불린 불변 영역 중의 YTE 치환, 및 Fc 이소타입의 존재하에서 IFN α 2b의 0-결합 글리코실화의 존재 및 부재하의 A10.21 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 선택성 지수.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0027] 문맥상 달리 요구되지 않는 한, 본 명세서 전역에 걸쳐, "포함하다(comprise)"라는 단어, 또는 예컨대, "포함하다(comprises)" 또는 "포함하는"이라는 파생어는 임의의 다른 요소 또는 완전체, 또는 요소 또는 완전체 군을 배제하는 것이 아니라, 언급된 요소 또는 완전체, 또는 요소 또는 완전체 군을 포함한다는 것을 의미하는 것으로 이해될 것이다.
- [0028] 본 명세서에서 임의의 선행 공개 문헌(또는 그로부터 도출된 정보), 또는 임의의 공지 내용에 관하여 언급하는 것은, 선행 공개 문헌(또는 그로부터 도출된 정보), 또는 공지 내용이 본 명세서와 관련하여 시도되는 분야에서 일반 상식의 일부를 형성한다는 것을 승인하거나, 인정하거나, 또는 어느 형태로든 제안하는 것으로 간주되지 않으며, 간주되지 않아야 한다.
- [0029] 본 명세서에서 언급된 모든 공개 문헌은 그 전문이 본원에서 참고로 포함된다.
- [0030] 본 대상 명세서에서 사용될 때, 단수 형태인 "하나(a, an)" 및 "그"는 문맥상 명확하게 달리 언급되지 않는 한,

복수 개의 측면을 포함한다는 것에 주목하여야 한다. 따라서, 예를 들어, "한 작용제"라고 언급하는 것은 단일 작용제 뿐만 아니라, 2개 이상의 작용제를 포함하고; "한 분자"라고 언급하는 것은 단일 분자 뿐만 아니라, 2개 이상의 분자를 포함하는 등 그러하다.

[0031] 본 발명의 구성체는 관심 세포 상의 세포 표면 수용체로 표적화하는 리간드 및 세포 표면 IFN 수용체에의 친화도가 감소된 약화된 IFN α 2b, 둘 모두의 작용에 기인하여 신호전달 경로를 활성화시키는 것과 관련하여 상승된 항원 선택성 지수를 보이는, 폴리펩티드 리간드-약화된 아글리코실화된 IFN α 2b 융합 구성체이다. 상기 구성체는, 항체-IFN 융합 구성체와 관련하여 IFN 부분은 항원 양성 세포 상의 IFN 활성화는 진행된다 해도 오직 소규모로만 약화되면서, 항원 음성 세포 상의 IFN 활성화는 현저하게 약화되도록 하는 방식으로 돌연변이화될 수 있다는, WO 2013/059885에서 개략적으로 설명된 발견에 기초한다. 상기 구성체는 유리 IFN보다 항원 음성 세포와 비교하여 항원 양성 세포 상에서 10 , 10^2 , 10^3 , 10^4 또는 10^5 배 더 큰 효능을 보인다. 한 실시양태에서, 항체-약화된 IFN 구성체는 약화되지 않은 유리(즉, 항체에 부착되지 않은) IFN와 같이 항원 양성 세포 상에서 효능의 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40% 또는 적어도 50%를 유지시킨다. 추가로, 한 실시양태에서, 항체-약화된 IFN 구성체는 약화되지 않은 유리(즉, 항체에 부착되지 않은) IFN의 최대 활성화의 적어도 30%, 적어도 50%, 적어도 75% 또는 적어도 90%를 유지하고; 이와 관련하여, "최대 활성화"는 용량-반응 곡선의 높은 안정 상태 부분에서의 신호전달 활성화(또는 그의 하류 효과)의 양을 의미하는 것으로 이해하여야 하며, 여기서, 상기 작용제의 추가 증가가 그 반응을 추가로 증가시키지는 않는다.

[0032] 이에, 본 발명자들은 O-글리코실화된 IFN α 2b를 포함하는 구성체와 비교하였을 때 아글리코실화된 IFN α 2b를 포함하는 구성체를 사용함으로써 예상치 못한 이점을 얻을 수 있다는 것을 발견하게 되었다. 일부 실시양태에서, 상기 이점으로는 포유동물 세포 발현 시스템에서 제조되었을 때, O-글리코실화된 IFN α 2b보다 불균질성이 더 적은 생성물을 제공하면서, 온 타겟 활성화 증가, 표적 선택성 증가 및 FcRn에의 친화도 강화 중 하나 이상의 것을 포함한다. FcRn 결합 강화는 Fc 영역을 포함하는 생물학적 치료제의 pK를 개선시키는 데 바람직할 수 있다. 표적 선택성 증가는, 이는 온 타겟 활성화는 실질적으로 유지시키면서, 오프 타겟 독성을 잠재적으로 감소시키므로, 바람직할 수 있다. 불균질성 감소는 포유동물 세포 배양 시스템으로부터의 정제 생성물의 수율을 증가시킬 수 있다.

[0033] 따라서, 제1 측면에서, 본 발명은 제1 도메인은 세포 표면 관련 항원에 결합하는 폴리펩티드 리간드를 포함하고, 제2 도메인은 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2의 서열을 갖는 아글리코실화된 인터페론 α 2b(IFN α 2b)를 포함하고, 여기서, 아글리코실화된 IFN α 2b는 아글리코실화된 IFN α 2b의 활성을 약화시키는 하나 이상의 아미노산 치환 또는 결실을 추가로 포함하는 것인, 제1 및 제2 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0034] 본 발명의 한 실시양태에서, 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열은 106번 위치의 잔기가 A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, V, W 또는 Y인 서열식별번호: 1이다. 이는 인간 IFN α 2b에 일반적으로 존재하는 T106이, 포유동물 세포 배양물에서 제조되었을 때, 상기 위치에서 O-결합 글리코실화를 허용하지 않는 자연적으로 발생된 아미노산으로 치환된 것을 나타낸다. 본 발명의 또 다른 실시양태에서, 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열은 서열식별번호: 2이다. 이는 정상적인 인간 IFN α 2b에서 발견되는 잔기 T106의 결실을 나타내고, 이는 또한 상기 분자에서 발견되는 O-결합 글리코실화 부위를 제거한다. 본원에서 입증되는 바와 같이, 치환 또는 결실은 각각 인간 약화된 IFN α 2b로부터 O-글리코실화 부위를 제거하고, IEF 겔에서 측정되는 바와 같이 분자의 불균질성을 감소시키고, CHO 세포에 의해 발현되었을 때에는 세포 표면 IFN 수용체에 결합하고, 하류 신호전달을 개시할 수 있는 약화된 IFN α 2b의 활성화는 적어도 실질적으로 유지시키면서 이루어진다.

[0035] 추가 실시양태에서, 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열은 L15A, R22A, R23A, S25A, L26A, F27A, L30A, L30V, K31A, D32A, R33A, R33K, R33Q, H34A, Q40A, D114R, L117A, R120A, R120E, R125A, R125E, K131A, E132A, K133A, K134A, M148A, R149A, S152A, L153A, N156A, (L30A, H57Y, E58N 및 Q61S), (M148A, H57Y, E58N 및 Q61S), (L153A, H57Y, E58N 및 Q61S), (R144A, H57Y, E58N 및 Q61S), (N65A, L80A, Y85A 및 Y89A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 D114A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 L117A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 R120A), (Y85A, Y89A 및 D114A), (D114A 및 R120A), (L117A 및 R120A), (L117A, R120A 및 K121A), (R120A 및 K121A), (R120E 및 K121E), 144번 위치의 R의 A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V 또는 Y로의 치환, 145번 위치의 A의 D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, S, T, V 또는 Y로의 치환, 및 잔기 L161 내지 E165의 결실로 이루어진 군으로부터 선택되는 약화 돌연변이에 의해 변형된 서열식별번호: 1이다.

[0036] 추가의 실시양태에서, 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열은 L15A, R22A, R23A, S25A, L26A, F27A, L30A, L30V,

K31A, D32A, R33A, R33K, R33Q, H34A, Q40A, D113R, L116A, R119A, R119E, R124A, R124E, K130A, E131A, K132A, K133A, M147A, R148A, S149A, L152A, N155A, (L30A, H57Y, E58N 및 Q61S), (M147A, H57Y, E58N 및 Q61S), (L152A, H57Y, E58N 및 Q61S), (R143A, H57Y, E58N 및 Q61S), (N65A, L80A, Y85A 및 Y89A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 D113A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 L116A), (N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 R1190A), (Y85A, Y89A 및 D113A), (D113A 및 R119A), (L116A 및 R119A), (L116A, R119A 및 K120A), (R119A 및 K120A), (R119E 및 K120E), 143번 위치의 R의 A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V 또는 Y로의 치환, 144번 위치의 A의 D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, S, T, V 또는 Y로의 치환, 및 잔기 L160 내지 E164의 결실로 이루어진 군으로부터 선택되는 약화 돌연변이에 의해 변형된 서열식별번호: 2이다.

[0037] 또 다른 실시양태에서, 약화 돌연변이에 의해 변형된 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열은 서열식별번호: 3 내지 30 및 서열식별번호: 32 내지 47로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0038] 또 다른 실시양태에서, 세포 표면 관련 항원은 CD38, CD138, RANK-리간드, HM1.24, CD56, CS1, CD20, CD74, IL-6R, Blys(BAFF), BCMA, HLA-SR, HLA-DR, 키니노젠(키니노젠), 베타2 마이크로글로불린, FGFR3, ICAM-1, 매트립타제, CD52, EGFR, GM2, 알파4-인테그린, IFG-1R, KIR, CD3, CD4, CD8, CD24, CD44, CD69, CD71, CD79, CD83, CD86, CD96, HLA, PD-1, ICOS, CD33, CD115, CD11c, CD19, CD52, CD14, FSP1, FAP, PDGFR 알파, PDGFR 베타, ASGR1, ASGR2, FSP1, RTI140/Ti-알파, HTI56, VEGF 수용체, RCHE 유전자의 생성물인 CD241, CD117(c-kit), CD71(트랜스페린 수용체), CD36(트롬보스폰딘 수용체), CD34, CD45RO, CD45RA, CD115, CD168, CD235, CD236, CD237, CD238, CD239 및 CD240으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0039] 특정 실시양태에서, 폴리펩티드 리간드는 항체 또는 이의 항원 결합부이다.

[0040] 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드 리간드는 CD38에 결합하는 항체이다. 항체의 V_H 서열은 서열식별번호: 48 내지 56 및 58로 이루어진 군으로부터 선택되고, 항체의 V_L 서열은 서열식별번호: 81, 82 및 84로 이루어진 군으로부터 선택되는 것이 바람직하다.

[0041] 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드 리간드는 CD138에 결합하는 항체이다. 항체의 V_H 서열은 서열식별번호: 59이고, 항체의 V_L 서열은 서열식별번호: 85인 것이 바람직하다.

[0042] 또 다른 실시양태에서, 폴리펩티드 리간드는 RANK-리간드에 결합한다. 폴리펩티드 리간드의 서열이 서열식별번호: 57인 것이 바람직하다.

[0043] 또 다른 실시양태에서, 제1 도메인은 펩티드 결합을 통해 제2 도메인에 연결된다. 제1 도메인은 펩티드 결합("길이가 0인 링커")에 의해 직접, 또는 길이가 1 내지 20개의 아미노산 길이인 펩티드 링커를 통해 제2 도메인에 연결될 수 있다. 링커는 (SGGGGS)_n(여기서, n은 1 내지 3이다)일 수 있다. 링커의 예로는 SGGGGS 및 SGGGSGGGGSGGGGS를 포함한다.

[0044] 또 다른 실시양태에서, 제1 도메인의 C 말단이 제2 도메인의 N 말단에 연결되어 있다.

[0045] 또 다른 실시양태에서, 제1 도메인의 아미노산 서열은 글리코실화되어 있다.

[0046] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 31, 61 내지 77, 83 및 87로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열, 및 서열식별번호: 81, 82 및 84로 이루어진 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0047] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 87 및 서열식별번호: 81을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0048] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 79 및 서열식별번호: 85를 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0049] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 80 및 서열식별번호: 86을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0050] 또 다른 측면에서, 본 발명은 서열식별번호: 78을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다.

[0051] 상기 논의로부터 이해되는 바와 같이, 본 발명의 융합 폴리펩티드의 특정 형태는 하기와 같다:

[0052] a. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 A인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.

[0053] b. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 C인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.

[0054] c. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 D인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.

- [0055] d. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 E인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0056] e. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 F인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0057] f. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 G인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0058] g. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 H인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0059] h. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 I인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0060] i. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 K인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0061] j. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 L인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0062] k. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 M인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0063] l. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 N인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0064] m. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 P인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0065] n. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 Q인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0066] o. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 R인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0067] p. T아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 V인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0068] q. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 W인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0069] r. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이, 106번 위치의 잔기가 Y인 서열식별번호: 1인 융합 폴리펩티드.
- [0070] s. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 L15A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0071] t. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 A19W에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0072] u. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 R22A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0073] v. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 R23A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0074] w. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 S25A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0075] x. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 L26A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0076] y. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 F27A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0077] z. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 L30A 또는 L30V에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0078] aa. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 K31A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0079] bb. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 D32A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0080] cc. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 약화 돌연변이 R33A, R33K 또는 R33Q에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0081] dd. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 H34A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.

- [0082] ee. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 Q40A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0083] ff. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 D114R에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 D113R에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0084] gg. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 L117A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 L116A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0085] hh. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 R120A 또는 R120E에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 R119A 또는 R119E에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0086] ii. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 R125A 또는 R125E에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 R124A 또는 R124E에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0087] jj. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 K131A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 K130A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0088] kk. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 E132A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 E131A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0089] ll. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 K133A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 K132A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0090] mm. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 K134A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 K133A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0091] nn. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 M148A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 M147A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0092] oo. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 R149A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 R148A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0093] pp. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 S152A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 S151A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0094] qq. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 L153A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 L152A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0095] rr. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 N156A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 N155A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0096] ss. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 L30A, H57Y, E58N 및 Q61S에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0097] tt. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 M148A, H57Y, E58N 및 Q61S에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 M147A, H57Y, E58N 및 Q61S에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0098] uu. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 L153A, H57Y, E58N 및 Q61S에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 L152A, H57Y, E58N 및 Q61S에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0099] vv. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 R144A, H57Y, E58N 및 Q61S에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 R143A, H57Y, E58N 및 Q61S에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0100] ww. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 N65A, L80A, Y85A 및 Y89A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0101] xx. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 D114A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 D113A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0102] yy. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 L117A에 의해 변형된 서열식

별번호: 1 또는 약화 돌연변이 N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 L116A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.

- [0103] zz. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 R120A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 N65A, L80A, Y85A, Y89A 및 R119A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0104] aaa. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 Y85A, Y89A 및 D114A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 Y85A, Y89A 및 D113A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0105] bbb. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 D114A 및 R120A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 D113A 및 R119A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0106] ccc. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 약화 돌연변이 L117A 및 R120A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 약화 돌연변이 L116A 및 R119A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0107] ddd. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 돌연변이 L117A, R120A 및 K121A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 돌연변이 L116A, R119A 및 K120A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0108] eee. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 돌연변이 R120A 및 K121A에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 돌연변이 R119A 및 K120A에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0109] fff. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 돌연변이 R120E 및 K121E에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 돌연변이 R119E 및 K120E에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0110] ggg. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 144번 위치의 R의 A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V 또는 Y로의 치환에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 143번 위치의 R의 A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V 또는 Y로의 치환에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0111] hhh. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 145번 위치의 A의 D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, S, T, V 또는 Y로의 치환에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 144번 위치의 A의 D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, S, T, V 또는 Y로의 치환에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0112] iii. 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 잔기 L161 내지 E165의 결실에 의해 변형된 서열식별번호: 1 또는 잔기 L161 내지 E165의 결실에 의해 변형된 서열식별번호: 2인 융합 폴리펩티드.
- [0113] jjj. 제1항에 있어서, 아글리코실화된 IFN α 2b의 서열이 서열식별번호: 3 내지 30 및 서열식별번호: 32 내지 47로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 융합 폴리펩티드.
- [0114] 본원에서 사용될 때, "항체"라는 용어는 광범위하게는 면역글로불린(Ig) 분자의 필수적인 에피토프 결합 특징을 보유하는, 2개의 중쇄(H) 및 2개의 경쇄(L)인 4개의 폴리펩티드 채로 구성된 임의의 Ig 분자, 또는 이의 임의의 기능성 단편, 돌연변이체, 변이체 또는 유도체를 지칭한다. 상기 돌연변이체, 변이체 또는 유도체 항체 포맷은 당업계에 공지되어 있고, 그의 비제한적인 실시양태는 하기에서 논의된다.
- [0115] 전장 항체에서, 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역(본원에서 HCVR 또는 V_H 로서 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인 CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역(본원에서 LCVR 또는 V_L 로서 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인 CL로 구성되고, 이는 인간에서는 λ 또는 μ 부류의 것일 수 있다. V_H 영역 및 V_L 영역은 골격 영역(FR: framework region)으로서 지칭되는 보존성이 더욱 큰 영역이 산재되어 있는 상보성 결정 영역(CDR: complementarity determining region)으로서 지칭되는 추가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L 은 아미노 말단부터 카르복시 말단까지 하기 순서로 정렬된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 면역글로불린 분자는 임의의 유형(예컨대, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류(예컨대, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 서브부류의 것일 수 있다.
- [0116] 본원에서 사용될 때, 항체의 "항원 결합 도메인" 또는 "항원 결합부"라는 용어는 항원(예컨대, CD38)에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체 또는 단백질의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체의 항원 결합 기능은 전장 항체의 단편에 의해 수행될 수 있다는 것이 밝혀져 있다. 상기 항체 실시양태는 또한 2개 이상의 상이한 항원들에 특이적으로 결합하는 이중특이적, 2중 특이적 또는 다중특이적 포맷일 수도 있다. 항체의 "항원 결합

부"라는 용어에 포함되는 결합 단편의 예로는 (i) V_L , V_H , C_L 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편인 Fab 단편; (ii) 힌지 영역의 부분 이외에 힌지 영역에서 다이설파이드 브릿지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편들을 포함하는 2가 단편인 F(ab')₂ 단편; (iii) V_H 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; (iv) 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 이루어진 Fv 단편, (v) 단일 가변 도메인을 포함하는 도메인 항체(dAb)(문헌 [Ward *et al.* 1989 Nature 341 544-6], PCT 공보 WO 90/05144 A1(Winter) 등)(상기 문헌은 본원에서 참조로 포함된다)); 및 (vi) 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 추가로, Fv 단편의 두 도메인, V_L 및 V_H 가 별개의 유전자에 의해 코딩되기는 하지만, 이들은 V_L 및 V_H 영역이 쌍을 이루어 1가 분자(단일쇄 Fv(scFv: single chain Fv)로서 공지됨; 예컨대, 예컨대, [Bird *et al.* 1988 Science 242 423-6]; [Huston *et al.* 1988 Proc Natl Acad Sci U S A 85 5879-83] 참조)를 형성하는 단일 단백질 채로서 이들이 제조될 수 있게 하는 합성 링커에 의해 제조할 방법을 이용하여 연결될 수 있다. 상기 단일쇄 항체 또한 항체의 "항원 결합부"라는 용어 내에 포함되는 것으로 의도된다. 단일쇄 항체의 다른 형태, 예컨대, 디아바디 또한 포함한다. 디아바디는 동일한 쇄 상의 V_H 및 V_L 도메인, 두 도메인 사이에서 쌍을 형성하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써 상기 도메인이 또 다른 쇄의 상보적인 도메인과 쌍을 형성하게 하여 2개의 항원 결합 부위를 생성함으로써 상기 V_H 및 V_L 도메인이 단일 폴리펩티드 상에서 발견되어 있는 2가 이중특이적 항체이다(예컨대, 문헌 [Holliger, P., *et al.*, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448]; [Poljak, R. J., *et al.*, 1994, Structure 2:1121-1123]) 참조). 상기 항체 결합부는 당업계에서 공지되어 있다(문헌 [Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering 2001 Springer-Verlag, New York. 790 pp., ISBN 3-540-41354-5]). 한 실시양태에서, 항체 결합부는 Fab 단편이다.

[0117] 본원에 기술된 항체는 인간화 항체일 수 있다. "인간화 항체"라는 용어는 인간 항체의 FR 상으로 이식되어 있거나, 또는 이러한 FR 내로 삽입되어 있는, 비인간 종(예컨대, 마우스, 래트 또는 비인간 영장류)으로부터 유래된 항체의 CDR을 포함하는 인간 유사 가변 영역을 포함하는 단백질을 지칭하는 것으로 이해하여야 한다(상기 유형의 항체는 또한 "CDR-이식된 항체"로도 지칭된다). 인간화 항체는 또한 인간 단백질의 하나 이상의 잔기가 하나 이상의 아미노산 치환에 의해 변형되고/거나, 인간 단백질의 하나 이상의 FR 잔기가 상응하는 비인간 잔기로 대체된 단백질도 포함한다. 인간화 항체는 또한 인간 항체 또는 비인간 항체에서 발견되지 않는 잔기도 포함할 수 있다. 단백질의 임의의 추가 영역(예컨대, Fc 영역)은 일반적으로 인간 영역이다. 인간화는 당업계, 예컨대, US5,225,539, US6,054,297, US7,566,771 또는 US5,585,089에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다. "인간화 항체"라는 용어는 또한 예컨대, US7,732,578에 기술된 바와 같이, 초인간화 항체도 포함한다.

[0118] 본원에 기술된 항체는 인간 항체일 수 있다. 본원에서 사용될 때, "인간 항체"라는 용어는 인간에서, 예컨대, 인간 생식계열 또는 체세포에서 발견된 가변 항체 영역 및 임의적으로 불변 항체 영역, 또는 상기 영역을 사용함으로써 제조된 라이브러리로부터 발견된 가변 항체 영역 및 임의적으로 불변 항체 영역을 갖는 단백질을 지칭한다. "인간" 항체는 인간 서열에 의해 코딩되지 않은 아미노산 잔기, 예컨대, 시험관내 무작위 또는 부위 지정된 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이(특히, 단백질의 소수 잔기, 예컨대, 단백질의 1, 2, 3, 4 또는 5개의 잔기에 보존적 치환 또는 돌연변이를 포함하는 돌연변이)를 포함할 수 있다. 상기 "인간 항체"는 반드시 인간의 면역 반응의 결과로서 발생할 필요는 없고, 오히려 제조할 수단(예컨대, 파지 디스플레이 라이브러리의 스크리닝)의 이용, 및/또는 인간 항체 불변 및/또는 가변 영역을 코딩하는 핵산을 포함하는 트랜스제닉 동물(예컨대, 마우스)에 의해, 및/또는 (예컨대, US5,565,332에 기술된 바와 같은) 가이드된 선택을 이용함으로써 통해 생성될 수 있다. 본 용어는 또한 상기 항체의 친화성 성숙된 형태도 포함한다. 본 개시내용의 목적을 위해, 인간 단백질은 예컨대, US6,300,064 및/또는 US6,248,516에 기술된 바와 같이 인간 항체로부터의 FR, 또는 인간 FR의 컨센서스 서열로부터의 서열을 포함하는 FR을 포함하고, 여기서, CDR 중 하나 이상의 것이 무작위 또는 반무작위 CDR인 단백질도 포함하는 것으로 간주될 것이다.

[0119] 본 발명의 폴리펩티드의 항체 부분은 임의의 부류, 바람직하게는 IgG1, IgG2 또는 IgG4의 전장 항체일 수 있다. 상기 항체의 불변 도메인은 바람직하게는 인간 불변 도메인이다. 상기 항체의 가변 도메인은 비인간으로부터 유래될 수 있거나, 바람직하게는 인간으로부터 유래될 수 있거나 인간화 것일 수 있다. 항체 단편 또한 전장 항체 대신에 사용될 수 있다.

[0120] "항체"라는 용어는 또한 조작된 항체도 포함한다. 이해하는 바와 같이, 조작된 항체의 변형물 다수(예컨대, 마우스 단일클론, 키메라, 인간화 및 인간 단일클론 항체, 단일쇄 가변 항체 단편(scFv's), 미니바디, 압타머뿐만 아니라, 상기 기술된 바와 같은 이중특이적 항체 및 디아바디)가 존재한다.

[0121] 단일 가변 영역 도메인(dAb로 지칭)은 예를 들어, 문헌 ([Ward *et al.*, 1989, Nature 341: 544-546]; [Hamers-

Casterman et al., 1993, Nature 363: 446-448]; [Davies & Riechmann, 1994, FEBS Lett. 339: 285-290])에 개시되어 있다.

- [0122] 미니바디는, 전체 항체의 필수 요소를 단일쇄에서 코딩하는 전체 항체의 작은 버전이다. 적합하게, 미니바디는 예를 들어: 미국 특허 번호 5,837,821에 개시된 바와 같이, 면역글로불린 분자의 힌지 영역 및 CH3 도메인에 융합된 천연 항체의 VH 및 VL 도메인으로 구성된다.
- [0123] 대안적 실시양태에서, 조작된 항체는 비면역글로불린으로부터 유래된 단백질 골격을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항원 결합에 대해 선택된, CDR을 생성하도록 무작위화된 2개의 루프를 갖는 4개 나선 다발 단백질 사이토크롬 b562를 개시하는 문헌 [Ku & Schutz, 1995, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 6552-6556]을 참조할 수 있다.
- [0124] 본 발명의 구성체에서 항원 결합 도메인으로서 사용될 수 있는 비항체 인식 단백질 또는 단백질 도메인 스캐폴드가 다수 존재한다. 이는 세포독성 T 림프구 관련 항원 4(CTLA-4: cytotoxic T lymphocyte-associated 항원 4)(에비바디(Evibody); US7,166,697); 인간 트랜스페린(트랜스바디); 단백질 A의 Z 도메인으로부터의 3개 나선 다발(어피바디(Affibody)); 단량체 또는 삼량체 인간 C형 렉틴 도메인(테트라렉틴); 제10 인간 피브로넥틴 III형 도메인(애드넥틴(AdNectin)); 인간 또는 소 트립신 억제제의 쿠니츠형(Kunitz-type) 도메인; 곤충 데펜신(Defensin) A(IICA29), APPI(쿤티즈(Kuntiz) 도메인); 리포칼린, FABP, 빌린(Bilin) 결합 단백질, 아폴로프로프테인(Apolopropotein) D(안티칼린(Anticalin)); 인간 α -크리스탈린 또는 유비퀴틴 분자(어필린(Affilin)); 트립신 억제제 II(마이크로바디); α 2p8 또는 안키린(Ankyrin) 반복부(반복부 모티프 단백질), 카리브도톡신(Charybdotoxin)(전갈 독소), Min-23, 셀룰로스 결합 도메인(노틴(Knottin)); 네오카지노스타틴(Neocarzinostatin), CBM4-2 및 텐다미스타트(Tendamistat)에 기초한 스캐폴드를 포함한다.
- [0125] 추가로, 상기 기술된 바와 같은 항체 유래의 도메인 또는 비항체 폴드에 의해 제공된 스캐폴드 이외에도, 본 발명에서 리간드 결합 도메인으로서 사용될 수 있는 자연적으로 발생된 리간드 결합 단백질 또는 단백질 도메인이 존재한다. 예를 들어, 리간드 결합 특성을 보유하는 단백질 도메인은 수용체, 신호전달 단백질, 예컨대, Ras 결합 단백질 AF6의 PDZ 모듈, 부착 분자 및 효소의 세포의 도메인을 포함한다.
- [0126] 당업계에서 널리 공지된, 예컨대, 친화성 성숙에 의해 결합을 증가시키는 방법, 또는 예측된 MHC 클래스 II 결합 모티프를 제거함으로써 면역원성을 감소시키는 방법을 이용한다. 본원에 기술된 항체의 치료학적 유용성은 항체의 기능적 특징, 예컨대, 항체 의존적 세포 매개 세포독성(ADCC: antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity), 보체 의존적 세포독성(CDC: complement-dependent cytotoxicity), 혈청 반감기, 생체분포 및 Fc 수용체와의 결합, 또는 상기 중 임의의 것의 조합을 조절함으로써 추가로 증진될 수 있다. 상기 조절은 단백질 조작, 당 조작 또는 화학적 방법에 의해 달성될 수 있다. 상기 활성 중 임의의 것을 증가시키거나 또는 감소시키는 것은 필요한 치료학적 적용에 따라 유리할 수 있다.
- [0127] 당 조작의 예는 문헌 [Shinkawa T. et al., 2003 (J Biol Chem 278: 3466-73)]에 기술된 바와 같은 포텔리전트(Potelligent)® 방법을 이용하였다.
- [0128] 다수의 항체 친화성 성숙 방법이 당업계에 공지되어 있다. 이들 다수는 돌연변이유발 후, 이어서, 개선된 친화성에 대한 선택 및 /또는 스크리닝으로 변이체 단백질의 패널 또는 라이브러리를 생성하는 일반 전략법에 기초한다. 돌연변이유발은 종종 DNA 수준에서 예를 들어, 오류 유발 PCR에 의해(문헌 [Thie, Voedisch et al. 2009, Methods Mol Biol 525: 309-322]), 유전자 서플링에 의해(문헌 [Kolkman and Stemmer 2001, Nat Biotechnol. May; 19(5):423-8]), 돌연변이유발성 화학물질 또는 방사선조사의 이용에 의해, 오류 유발 복제 기구를 갖는 '돌연변이 유발 유전자' 군주의 이용에 의해 (문헌 [(Greener 1996, In Vitro Mutagenesis Protocols. Humana press, NJ)], 또는 천연 친화성 성숙 기구를 활용하는 체세포 과다돌연변이 접근법(문헌 [Peled, Kuang et al. 2008, Annu Rev Immunol. 26:481-511])에 의해 수행된다. 돌연변이유발은 또한 RNA 수준에서 예를 들어, Q β 레플리카제의 이용에 의해 수행될 수도 있다 (문헌 [Kopsidas, Roberts et al. 2006, Immunol Lett. 2006 Nov 15; 107(2):163-8]). 개선된 변이체 단백질의 스크리닝을 가능하게 하는 라이브러리 기반 방법은 다양한 디스플레이 기술, 예컨대, 파지, 효모, 리보솜, 박테리아 또는 포유동물 세포에 기초할 수 있고, 당업계에서 널리 공지되어 있다 (문헌 [Benhar 2007, Expert Opin Biol Ther. May; 7(5): 763-79]). 친화성 성숙은 지정성이 더욱 큰/예측 방법, 예를 들어, 부위 지정된 돌연변이유발 또는 3D 단백질 모델링으로부터의 관찰 결과에 의해 가이드된 유전자 합성에 의해 달성될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Queen, Schneider et al. 1989, PNAS, 86(24): 10029-33], 미국 특허 6,180,370 또는 미국 특허 5,225,539 참조).

- [0129] ADCC를 증가시키는 방법은 문헌 [Ferrara, Bruner et al. 2006, Biotechnol Bioeng; 93:851-61]; [Li, Sethuraman et al. 2006, Nat Biotechnol; 24:210-5]; [Stavenhagen, Gorlatov et al. 2007, Cancer Res; 67:8882-90]; [Shields, Namenuk et al. 2001, J Biol Chem; 276:6591-604]; [Shinkawa, Nakamura et al. 2003, J Biol Chem; 278:3466-73]; 및 WO 2008/006554에 기술되어 있다.
- [0130] CDC를 증가시키는 방법은 문헌 [Idusogie, Wong et al. 2001, J Immunol; 176:346-56]; [Dall'Acqua, Cook et al. 2006, J Biol Chem; 281:23514-24]; [Michaelsen, Aase et al. 1990, Scand J Immunol; 32:517-28]; [Brekke, Bremnes et al. 1993, Mol Immunol; 30:1419-25]; [Tan, Shopes et al. 1990, PNAS; 87:162-6]; 및 [Norderhaug, Brekke et al. 1991, Eur J Immunol; 21:2379-84]에 기술되어 있다.
- [0131] ADCC 및 CDC를 증가시키는 방법을 기술한 참고 문헌으로는 문헌 [Natsume, In et al. 2008, Cancer Res; 68:3863-72]를 포함한다. 상기 참고 문헌들은 각각 그 개시내용이 본원에서 상호 참조로 포함된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드의 항체 성분의 ADCC 및 CDC 활성을 감소시키거나, 또는 제거하는 것이 유리할 수 있으며, 이로써, IFN α 2b 활성은 표적 세포 생존을 조절하는 폴리펩티드의 주요 활성이 된다.
- [0132] 항체 혈청 반감기 및 생체분포를 조절하는 다수의 방법은 이화작용으로부터 IgG를 보호하는 데 있어서 중요한 역할을 하는 수용체인 신생아 Fc 수용체(FcRn)와 항체 사이의 상호작용을 변경하고, 높은 혈청 항체 농도를 유지하는 데 기초한다. (Dall'Acqua) 등은 FcRn에 대한 결합 친화도를 향상시켜 혈청 반감기를 증가시키는 IgG1의 Fc 영역에서의 치환을 기술하였고(문헌 [Dall'Acqua, Woods et al. 2002, J Immunol; 169:5171-80]), M252Y/S254T/T256E(EU 인덱스에 따른 잔기 넘버링) 또는 M265Y/S267T/T269(카바트(Kabat) 넘버링 체계에 따른 잔기 넘버링)의 삼중 치환을 이용한 생체이용률 향상 및 ADCC 활성 조절을 추가로 입증하였다(문헌 [Dall'Acqua, Kiener et al. 2006, J Biol Chem; 279:6213-6]). 미국 특허 번호 6,277,375; 6,821,505; 및 7,083,784 또한 참조할 수 있다. (Hinton) 등은 생체내 반감기를 증가시키는 250번 및 428번 위치에서의 불변 도메인 아미노산 치환을 기술하였다(문헌 [Hinton, Johlf et al. 2004, J Biol Chem; 279:6213-6]; [Hinton, Xiong et al. 2006, J Immunol; 176:346-56]). 미국 특허 번호 7,217,797 또한 참조할 수 있다. (Petkova) 등은 생체내 반감기를 증가시키는 307번, 380번 및 434번 위치에서의 불변 도메인 아미노산 치환을 기술하였다(문헌 [Petkova, Akilesh et al. 2006, Int Immunol; 18:1759-69]). 문헌 [Shields et al 2001, J Biol Chem; 276:6591-604] 및 WO 2000/42072 또한 참조할 수 있다. Fc 수용체와의 결합, 및 이어서, FcRn 결합 및 혈청 반감기를 비롯한, 상기 수용체에 의해 매개되는 후속 기능을 조절하는 불변 도메인 아미노산 치환의 다른 예는 미국 특허 출원 번호 20090142340; 20090068175 및 20090092599에 기술되어 있다. 카바트(Kabat)에서와 같이 EU 인덱스에 따라 넘버링된, 본원에서 "S228P"로 언급되는 치환은 또한 (Kabat) 등 (문헌 [1987 Sequences of proteins of immunological interest. United States Department of Health and Human Services, Washington DC.])에 따라 "S241P"로 언급되었다. 상기 치환은 IgG4 분자의 힌지 영역을 안정화시키며, 상기 힌지 영역의 코어 서열을 IgG1 또는 IgG2 이소타입 항체의 것과 동일하게 만드는 효과를 갖는다. 그 결과, 중쇄의 자발적인 해리 및 재회합은 감소하게 되고, 이는 종종 이중이량체 IgG4 항체가 제조되는 결과를 초래한다.
- [0133] 항체 분자에 연결된 글리칸은 항체와 Fc 수용체 및 글리칸 수용체의 상호작용에 영향을 미침으로써 혈청 반감기를 비롯한 항체 활성에 영향을 미치는 것으로 공지되어 있다(문헌 [Kaneko, Nimmerjahn et al. 2006, Science; 313:670-3]; [Jones, Papac et al. 2007, Glycobiology; 17:529-40]; 및 [Kanda, Yamada et al. 2007, Glycobiology; 17:104-18]). 따라서, 원하는 항체 활성을 조절하는 특정 당형태는 치료학적 이점을 부여할 수 있다. 조작된 당형태를 생성하는 방법은 당업계에 공지되어 있고, 미국 특허 번호 US6,602,684; US7,326,681; US7,388,081 및 WO 2008/006554에 기술된 것을 포함하나, 이에 제한되지 않는다.
- [0134] 폴리에틸렌 글리콜(PEG: polyethylene glycol)의 추가에 의한 반감기의 연장은 예를 들어, 문헌 [Fishburn 2008, J Pharm Sci; 97:4167-83]에 의해 검토된 바와 같이, 단백질의 혈청 반감기를 연장시키는 데 널리 사용되고 있다.
- [0135] 인식되는 바와 같이, 본 발명의 서열 내에서 보존적 아미노산 치환이 이루어질 수 있다. "보존적 치환"이란, 유사한 성질을 가진 아미노산을 의미한다. 본 명세서에서 사용될 때, 하기 아미노산 군이 보존적 치환으로서 간주되어야 한다: H, R 및 K; D, E, N 및 Q; V, I 및 L; C 및 M; S, T, P, A 및 G; 및 F, Y 및 W. 그러나, 구체적으로 언급된 것 이외의 다른 치환이 약화 및/또는 글리코실화 부위에서 이루어질 수 있다고 의도되는 것은 아니다.
- [0136] 본원에서 사용될 때, "세포 표면 관련 항원"이라는 용어는 광범위하게는 제한 없이, 악성 종양 세포 또는 감염

성 또는 외래 세포를 비롯한 세포의 표면 상에서 발현되는 임의의 항원을 지칭한다.

[0137] 본 발명의 특정 측면에서, 본 발명의 융합 폴리펩티드 구성체 또는 조성물은 암 환자를 치료하는 데 사용될 수 있다. 본원에서 고려되는 암으로는 세포의 분화된 상이한 세포로의 어떤 분화도 없이 비조절형의 세포 성장(예컨대, 종양 형성)을 특징으로 하는 질환 및 장애 군을 포함한다. 상기 질환 및 장애는 ABL1 프로토온코진, AIDS 관련 암, 청각 신경종, 급성 림프성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 선암, 부신피질 암, 원인불명 골수성 화생, 탈모증, 포상 연부 육종, 항문암, 혈관육종, 재생 불량성 빈혈, 성상 세포종, 모세 혈관 확장성 운동 실조증, 기저 세포 암종(피부), 방광암, 뼈암, 장암, 뇌간 신경교종, 뇌 및 CNS 종양, 유방암, 카르시노이드 종양, 자궁경부암, 소아 뇌 종양, 소아 암, 소아 백혈병, 소아 연조직 육종, 연골육종, 용모암종, 만성 림프성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 결장직장암, 피부 T 세포 림프종, 용기성 피부 섬유 육종, 섬유 조직 형성 소원형 세포 종양, 관 암종, 내분비암, 자궁내막암, 상의세포종, 식도암(esophageal cancer), 유방암, 간외 담관암, 안암, 눈: 흑색종, 망막아종, 난관암, 판코니 빈혈, 섬유육종, 담낭암, 위암, 위장암, 위장 카르시노이드 종양, 비뇨기암, 생식 세포 종양, 임신성 용모성 질환, 신경교종, 부인과 암, 혈액학상의 악성 종양, 모발상 세포 백혈병, 두부경부암, 간세포암, 유전성 유방암, 조직구증, 호지킨병, 인간 유두종 바이러스, 포상기태, 고칼슘혈증, 하인두암, 안구내 흑색종, 섬세포암, 카포시 육종, 신장암, 랑게르한스 세포 조직구증, 후두암, 평활근육종, 백혈병, 리-프라우메니 증후군, 구순암, 지방육종, 간암, 폐암, 림프부종, 림프종, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종, 남성 유방암, 신장의 악성 간상 종양, 수아세포종, 흑색종, 메르켈 세포, 중피종, 전이성 암, 구강암, 다발성 내분비 종양증, 균상 식육종, 골수 형성 이상 증후군, 다발성 골수종, 골수증식성 장애, 비암, 비인두암, 신아세포종, 신경아세포종, 신경섬유종증, 네이메헌 파손 증후군(nijmegen breakage syndrome), 비흑색종 피부암, 비소세포 폐암(NSCLC: non-small-cell-lung-cancer), 안구암, 식도암(oesophageal cancer), 구강암, 구강인두암, 골육종, 장루 난소암, 췌장암, 부비강암, 부갑상선암, 이하선암, 음경암, 말초 신경외배엽성 종양, 뇌하수체암, 진성 적혈구증가증, 전립선암, 희귀암 및 연관 장애, 신장 세포 암종, 망막아종, 횡문근육종, 로트문드-토슨 증후군(Rothmund-Thomson syndrome), 침샘암, 육종, 슈반종, 세자리 증후군, 피부암, 소세포 폐암(SCLC: small cell lung cancer), 소장암, 연조직 육종, 척수 종양, 편평 세포 암종(피부), 위암, 활액막 육종, 고환암, 흉선암, 갑상선암, 이행 세포 암(방광), 이행 세포 암(신우/-요관), 용모성 암, 요도암, 비뇨기암, 유로플라킨, 자궁 육종, 자궁암, 질암, 외음부암, 발텐스트롬 마크로글로불린혈증 및 빌름스 종양을 포함한다. 한 실시양태에서, 종양은 다발성 골수종 또는 비호지킨 림프종으로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0138] 암 치료를 위한 것으로 고려할 때, 본 발명의 융합 구성체의 항체 부분은 종양과 관련된 항원, 즉, 암 세포에 의해 선택적으로 발현되거나, 대부분의 정상 세포와 비교하여 암 세포에서 과발현되는 세포 표면 항원에 결합할 수 있다. 당업계에는 다수의 종양 관련 항원(TAA: tumour-associated antigen)이 공지되어 있다. TAA의 비제한적인 예로는 효소 티로시나제; 흑색종 항원 GM2; 알파태아단백질(AFP: alphafetoprotein); 암배아 항원(CEA: carcinoembryonic antigen); 뮤신 1(MUC1); 인간 표피 성장 인자 수용체(Her2/Neu); 및 T 세포 백혈병/림프종 1(TCL1: T-cell leukemia/lymphoma 1) 발암 단백질을 포함한다. 다수의 상이한 암과 관련된 예시적인 TAA로는 텔로머라제(hTERT); 전립선 특이적 막 항원(PSMA: prostate-specific membrane antigen); 유로키나제 플라스미노겐 활성화인자 및 이의 수용체(uPA/uPAR); 혈관 내피 성장 인자 및 이의 수용체(VEGF: vascular endothelial growth factor/VEGFR); 세포의 매트릭스 메탈로프로테이나제 유도인자(EMMPRIN: extracellular matrix metalloproteinase inducer/CD147); 표피 성장 인자(EGFR: 표피 성장 인자); 혈소판 유래 성장 인자 및 이의 수용체(PDGF: platelet-derived growth factor/PDGFR); 및 c-kit(CD117)가 있다.

[0139] 다른 TAA에 대한 목록은 US 2010/0297076에 제공되어 있으며, 상기 문헌의 개시내용은 본원에서 참조로 포함된다. CD38, CD138, CD79, CS1, 및 HM1.24를 포함하나, 이에 제한되지 않는, 다발성 골수종 백혈병 또는 림프종 세포와 관련된 세포 표면 항원이 특히 관심의 대상이 된다. 한 실시양태에서, 리간드-약화된 IFN 구성체, 예를 들어, 항체-약화된 인터페론 구성체에 대한 항원은 CD38이다.

[0140] CD38은 46 kDa II형 막관통 당단백질이다. 이는 20개의 아미노산으로 이루어진 짧은 N 말단 세포질 테일, 단일 막관통 나선 및 256개의 아미노산으로 이루어진 긴 세포외 도메인을 갖는다(문헌 [Bergsagel, P., Blood; 85:436, 1995] 및 [Liu, Q., Structure, 13:1331, 2005]). 이는 CD4 및 CD8 양성 T 세포, B 세포, NK 세포, 단핵구, 혈장 세포를 비롯한 다수의 면역 세포 상에서, 및 상당 비율의 정상 골수 전구체 세포 상에서 발현된다(문헌 [Malavasi, F., Hum. Immunol. 9:9, 1984]). 그러나, 림프구에서의 발현은 세포의 분화 및 활성화 상태에 의존하는 것으로 보인다. 휴지기 T 세포 및 B 세포는 CD38 발현에 대해 음성을 나타내는 반면, 미성숙 림프구 및 활성화된 림프구는 CD38 발현에 대해 대부분 양성을 띤다(문헌 [Funaro, A., J. Immunol. 145:2390,

1990)). 추가 연구는 비조혈 장기, 예컨대, 췌장, 뇌, 비장 및 간에서의 mRNA 발현을 시사한다(문헌 [Koguma, T., Biochim. Biophys. Acta 1223:160, 1994]).

[0141] CD38은 막관통 신호전달 및 세포 부착에 관여하는 다기능성 외효소이다. 이는 또한 세포의 pH에 의존하여 NAD^+ 및 NADP^+ 를 cADPR, ADPR 및 NAADP로 변환시킬 수 있기 때문에 사이클릭 ADP 리보스 하이드롤라제로도 공지되어 있다. 이들 생성물들은 세포내 Ca^{2+} 동원을 유도함으로써 세포의 타이로신 인산화 및 활성화를 일으킬 수 있다. CD38은 또한 리간드인 CD31과 상호작용할 수 있는 수용체이기도 하다. CD31을 통한 수용체의 활성화는 Ca^{2+} 동원, 세포 활성화, 증식, 분화 및 이동을 비롯한 세포내 이벤트를 일으킨다(문헌 [Deaglio, S., Trends in Mol. Med. 14:210, 2008]에서 검토).

[0142] CD38은 대개의 경우, T 및 B 계통 급성 림프아구성 백혈병, 일부 급성 골수 세포 백혈병, 여포성 중앙 세포 림프종 및 T 림프아구성 림프종의 다발성 골수종 세포 상에서 높은 수준으로 발현된다(문헌 [Malavasi, F., J. Clin Lab Res. 22:73, 1992]). 더욱 최근에, CD38 발현은 B 계통 만성 림프아구성 백혈병(B-CLL: B-lineage chronic lymphoblastic leukemia)에서의 신뢰할 수 있는 예후 마커가 되었다(문헌 [Ibrahim, S., Blood. 98:181, 2001] 및 [Durig, J., Leuk. Res. 25:927, 2002]). 독립적인 그룹은 CD38^+ 클론을 제시하는 B-CLL 환자가 질환의 병기가 더 높은 진행성 병기를 가지고, 화학요법에 대한 반응은 불량하며, 생존 기간은 더 짧은, 바람직하지 못한 임상 과정을 특징으로 한다는 것을 입증하였다(문헌 [Morabito, F., Haematologica. 87:217, 2002]). 림프양 종양 상에서의 CD38의 일관되고, 강화된 발현으로 CD38은 치료학적 항체 기술을 위해 관심의 대상이 되는 표적이 된다.

[0143] 암을 표적화하는 항체-약화된 아글리코실화 IFN α 2b 융합 단백질 구성체의 개발을 위해 바람직한 항원은 체내의 대다수의 다른 비형질전환된 세포 상에서보다 암 세포 상에서 선택적인 또는 더욱 큰 발현을 보이는 항원이다. 상기 항원 중 단백질이 아닌 것의 예로는 스펅고지질, 강글리오시드 GD2(문헌 [Saleh *et al.*, 1993, J. Immunol., 151, 3390-3398]), 강글리오시드 GD3(문헌 [Shitara *et al.*, 1993, Cancer Immunol. Immunother. 36:373-380]), 강글리오시드 GM2(문헌 [Livingston *et al.*, 1994, J. Clin. Oncol. 12:1036-1044]), 강글리오시드 GM3(문헌 [Hoon *et al.*, 1993, Cancer Res. 53:5244-5250]) 및 단백질 또는 당지질 상에서 디스플레이될 수 있는 루이스^x, 루이스^y 및 루이스^{xy} 탄수화물 항원을 포함한다. 단백질 항원의 예로는 HER-2/neu, 인간 유두 종 바이러스-E6 또는 -E7, MUC-1; KS 1/4 범-암종 항원(문헌 [Perez and Walker, 1990, J. Immunol. 142:3662-3667]; [Bumal, 1988, Hybridoma 7(4):407-415]); 난소 암종 항원 CA125(문헌 [Yu *et al.*, 1991, Cancer Res. 51(2):468-475]); 전립선 산성 포스페이트(문헌 [Tailor *et al.*, 1990, Nucl. Acids Res. 18(16):4928]); 전립선 특이 항원(문헌 [Henttu and Vihko, 1989, Biochem. Biophys. Res. Comm. 160(2):903-910]); [Israeli *et al.*, 1993, Cancer Res. 53:227-230]); 흑색종 관련 항원 p97(문헌 [Estin *et al.*, 1989, J. Natl. Cancer Instit. 81(6):445-446]); 흑색종 항원 gp75(문헌 [Vijayasardahl *et al.*, 1990, J. Exp. Med. 171(4):1375-1380]); 전립선 특이 막 항원; 암배아 항원(CEA)(문헌 [Foon *et al.*, 1994, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 13:294]), MUC16(항체로는 MJ-170, MJ-171, MJ-172 및 MJ-173 [US 7,202,346], 3A5[US 7,723,485] 포함), NMB(US 8,039,593), 악성 인간 림프구 항원-APO-1(문헌 [Bernhard *et al.*, 1989, Science 245:301-304]); 고분자량 흑색종 항원(HMW-MAA: high molecular weight melanoma antigen)(문헌 [Natali *et al.*, 1987, Cancer 59:55-63]; [Mittelman *et al.*, 1990, J. Clin. Invest. 86:2136-2144]); 버킷 림프종 항원-38.13; CD19(문헌 [Ghetie *et al.*, 1994, Blood 83:1329-1336]); 인간 B-림프종 항원-CD20(문헌 [Reff *et al.*, 1994, Blood 83:435-445]); GICA 19-9(문헌 [Herlyn *et al.*, 1982, J. Clin. Immunol. 2:135]), CTA-1 및 LEA; CD33(문헌 [Sgouros *et al.*, 1993, J. Nucl. Med. 34:422-430]); 종양태아 항원, 예컨대, 간암에 대한 알파 태아단백질 또는 방광 종양 종양태아 항원(문헌 [Hellstrom *et al.*, 1985, Cancer. Res. 45:2210-2188]); 분화 항원, 예컨대, 인간 폐암종 항원 L6 또는 L20(문헌 [Hellstrom *et al.*, 1986, Cancer Res. 46:3917-3923]); 섬유육종의 항원; 인간 백혈병 T 세포 항원-Gp37(문헌 [Bhattacharya-Chatterjee *et al.*, 1988, J. Immunol. 141:1398-1403]); 종양 특이 이식형의 세포 표면 항원(TSTA: tumor-specific transplantation type of cell-surface antigen), 예컨대, T 항원을 비롯한 바이러스에 의해 유도된 종양 항원, DNA 종양 바이러스 및 RNA 종양 바이러스의 외피 항원; 네오글리코프로테인, 유방암 항원, 예컨대, EGFR(표피 성장 인자 수용체), 다형성 상피 뮤신(PEM: polymorphic epithelial mucin)(문헌 [Hilkens *et al.*, 1992, Trends in Bio. Chem. Sci. 17:359]); 다형성 상피 뮤신 항원; 인간 유지방 구형 항원; 결장직장 종양 관련 항원, 예컨대, TAG-72(문헌 [Yokata *et al.*, 1992, Cancer Res. 52:3402-3408]), CO 17-1A(문헌 [Ragnhammar *et al.*, 1993, Int. J. Cancer 53:751-758]);

분화 항원(문헌 [Feizi, 1985, Nature 314:53-57]), 예컨대, 위 선암종에서 발견된 I(Ma), 골수양 세포에서 발견된 SSEA-1, 유방 상피암에서 발견된 VEP8, VEP9, Myl, VIM-D5, M18 및 M39, 결장직장암에서 발견된 D₁₅₆₋₂₂, TRA-1-85(혈액형 H), 결장 선암종에서 발견된 C14, 폐 선암종에서 발견된 F3, 위암에서 발견된 AH6, 배아 암종 세포에서 발견된 Y 합텐, TL5(혈액형 A), 췌장암에서 발견된 E1 시리즈(혈액형 B) 항원, 배아 암종 세포에서 발견된 FC10.2, 위 선암종 항원, 선암종에서 발견된 CO-514(혈액형 Le^a), CO-43(혈액형 Le^b), A431 세포에서 발견된 G49, 결장암에서 발견된 19.9; 위암 뮤신; 흑색종에서 발견된 R₂₄, 결장 선암종에서 발견된 MH2(혈액형 ALe^b/Le^y), 배아 암종 세포에서 발견된 4.2, D1.1, OFA-1, G₉₂, OFA-2 및 M1:22:25:8, 및 SSEA-3 및 SSEA-4가 있다. 흑색종 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸으로도 공지되어 있는 HMW-MAA(서열식별번호: 433)는 수술에 의해 제거된 양성 모반 및 흑색종 병변의 90% 초과에서 과발현되는, 2,322개의 잔기로 이루어진 막 결합 단백질이다(문헌 [Camploi, et. al, Crit Rev Immunol.;24:267,2004]). 따라서, 상기 단백질은 잠재적인 표적 세포 표면 관련 항원일 수 있다.

[0144] 본 발명의 융합 단백질 구성체로 표적화하기 위한 암 항원의 다른 예(괄호 안에는 암의 예가 제시되어 있다)로는 CD5(T 세포 백혈병/림프종), CA15-3(암종), CA19-9(암종), L6(암종), CA 242(결장직장암), 태반 알칼리성 포스파타제(암종), 전립선 산성 포스파타제(전립선암), MAGE-1(암종), MAGE-2(암종), MAGE-3(암종), MAGE-4(암종), 트랜스페린 수용체(암종), p97(흑색종), MUC1(유방암), MART1(흑색종), CD20(비호지킨 림프종), CD52(백혈병), CD33(백혈병), 인간 융모성 고나도트로핀(암종), CD38(다발성 골수종), CD21(B 세포 림프종), CD22(림프종), CD25(B 세포 림프종), CD37(B 세포 림프종), CD45(급성 골수아구성 백혈병), HLA-DR(B 세포 림프종), IL-2 수용체(T 세포 백혈병 및 림프종), CD40(림프종), CD79(B 세포 백혈병 또는 림프종, 호지킨 림프종), 각종 뮤신(암종), P21(암종), MPG(흑색종), Ep-CAM(상피성 종양), 플레이트 수용체 알파(난소암), A33(결장직장암), G250(신장암), 페리틴(호지킨 림프종), de2-7 EGFR(아교모세포종, 유방암, 및 폐암), 섬유아세포 활성화 단백질(상피성 암) 및 테나신 메탈로프로테이나제(아교모세포종)를 포함한다. 일부 특이적인, 유용한 항체로는 BR64(문헌 [Trail *et al.*, 1997, Cancer Research 57:100 105]), BR96 mAb(문헌 [Trail *et al.*, 1993, Science 261:212-215]), CD40 항원에 대한 mAb, 예컨대, S2C6 mAb(문헌 [Francisco *et al.*, 2000, Cancer Res. 60:3225-3231]) 또는 다른 항CD40 항체, 예컨대, 미국 특허 공개 번호 2003-0211100 및 2002-0142358에 개시된 것; CD30 항원에 대한 mAb, 예컨대, AC10(문헌 [Bowen *et al.*, 1993, J. Immunol. 151:5896-5906]; [Wahl *et al.*, 2002 Cancer Res. 62(13):3736-42]) 또는 MDX-0060(미국 특허 공개 번호 2004-0006215) 및 CD70 항원에 대한 mAb, 예컨대, 1F6 mAb 및 2F2 mAb(예컨대, 미국 특허 공개 번호 2006-0083736 참조) 또는 항체 2H5, 10B4, 8B5, 18E7, 69A7(US 8,124,738)을 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 다른 항체는 다른 문헌에서도 리뷰되었다(문헌 [Franke *et al.*, 2000, Cancer Biother. Radiopharm. 15:459 76]; [Murray, 2000, Semin. Oncol. 27:64 70]; [Breitling, F., and Dubel, S., Recombinant Antibodies, John Wiley, and Sons, New York, 1998]).

[0145] 특정 실시양태에서, 유용한 항체는 표적 세포 상에서 발현된 수용체 또는 수용체 복합체에 결합할 수 있다. 상기 수용체 또는 수용체 복합체는 면역글로불린 유전자 슈퍼패밀리 구성원, 구조적 적합성 단백질, 사이토카인 수용체, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원, 케모카인 수용체, 인테그린, 렉틴, 보체 조절 단백질, 성장 인자 수용체, 호르몬 수용체 또는 신경전달물질 수용체를 포함할 수 있다. 적절한 면역글로불린 슈퍼패밀리 구성원의 비제한적인 예로는 CD2, CD3, CD4, CD8, CD19, CD22, CD79, CD90, CD152/CTLA-4, PD-1, B7-H4, B7-H3, 및 ICOS가 있다. 적합한 TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원의 비제한적인 예로는 TACI, BCMA, CD27, CD40, CD95/Fas, CD134/OX40, CD137/4-1BB, TNFR1, TNFR2, RANK, 오스테오프로테게린, APO 3, Apo2/TRAIL R1, TRAIL R2, TRAIL R3 및 TRAIL R4가 있다. 적합한 인테그린의 비제한적인 예로는 CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD29, CD41, CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e, CD49f, CD103 및 CD104가 있다. 적합한 렉틴의 비제한적인 예는 S형, C형, 및 I형 렉틴이 있다. CEA에 대한 항체의 예는 하기 표 1에 제시되어 있다.

표 1

CEA 항체			
Ab 클론	특허	양수인	주석
COL-1	US 6,417,337	더 다우 케미컬 컴퍼니 (The Dow Chemical Company)	인간화
806.077	US 6,903,203	아스트라제네카 UK 리미티드 (AstraZeneca UK Ltd.)	인간화
T84.66	US 7,776,330	시티 오브 호프 (City of Hope)	인간화

[0146]

[0147]

인간 B 세포 상에서 발현된 CD22 항원에 결합하는 항체로는 예를 들어, HD6, RFB4, UV22-2, To15, 4KB128 및 인간화 항CD22 항체(hLL2)를 포함한다(예컨대, 문헌 [Li *et al.* (1989) *Cell. Immunol.* 111: 85-99]; [Mason *et al.* (1987) *Blood* 69: 836-40]; [Behr *et al.* (1999) *Clin. Cancer Res.* 5: 3304s-3314s]; [Bonardi *et al.* (1993) *Cancer Res.* 53: 3015-3021] 참조).

[0148]

CD33에 대한 항체로는 예를 들어, HuM195(예컨대, 문헌 [Kossmann *et al.* (1999) *Clin. Cancer Res.* 5: 2748-2755; US5693761] 참조) 및 CMA-676(예컨대, 문헌 [Sievers *et al.*, (1999) *Blood* 93: 3678-3684] 참조)을 포함한다.

[0149]

예시적인 항MUC-1 항체로는 Mc5(예컨대, 문헌 [Peterson *et al.* (1997) *Cancer Res.* 57: 1103-1108]; [Ozzello *et al.* (1993) *Breast Cancer Res. Treat.* 25: 265-276] 참조), 및 hCTMO1(예컨대, 문헌 [Van Hof *et al.* (1996) *Cancer Res.* 56: 5179-5185] 참조)을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0150]

예시적인 항TAG-72 항체로는 CC49(예컨대, 문헌 [Pavlinkova *et al.* (1999) *Clin. Cancer Res.* 5: 2613-2619] 참조), B72.3(예컨대, 문헌 [Divgi *et al.* (1994) *Nucl. Med. Biol.* 21: 9-15] 참조), 및 미국 특허 번호 5,976,531에 개시된 것을 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0151]

예시적인 항HM1.24 항체로는 마우스 단일클론 항HM1.24 및 인간화 항HM1.24 IgG1과 항체(예컨대, 문헌 [Ono *et al.* (1999) *Mol. Immuno.* 36: 387-395] 참조)를 포함하나, 이에 한정되지 않는다.

[0152]

특정 실시양태에서, 표적화 모이어티는 항HER2 항체를 포함한다. 더욱 일반적으로는 (Her-2/neu)로 공지되어 있는, erBB 2 유전자는 막관통 수용체를 코딩하는 온코진이다. Her-2/neu에 대하여 여러 항체가 개발되었으며, 이 중 일부는 임상적으로 사용되고 있다. 이러한 항체로는 트라스투주맙(예컨대, 허셉틴(HERCEPTIN)TM; 문헌 [Fornir *et al.* (1999) *Oncology (Huntingt)* 13: 647-58]), TAB-250(문헌 [Rosenblum *et al.* (1999) *Clin. Cancer Res.* 5: 865-874]), BACH-250(상기 문헌 동일), TA1(문헌 [Maier *et al.* (1991) *Cancer Res.* 51: 5361-5369]), 및 미국 특허 번호 5,772,997; 5,770,195에 기술되어 있는 mAb(mAb 4D5; ATCC CRL 10463); 및 미국 특허 번호 5,677,171에 기술되어 있는 mAb를 포함한다.

[0153]

다른 완전 인간 항Her2/neu 항체가 당업자에게 널리 공지되어 있다. 상기 항체로는 C6 항체, 예컨대, C6.5, DPL5, G98A, C6MH3-B1, BID2, C6VLB, C6VLD, C6VLE, C6VLF, C6MH3-D7, C6MH3-D6, C6MH3-D5, C6MH3-D3, C6MH3-D2, C6MH3-D1, C6MH3-C4, C6MH3-C3, C6MH3-B9, C6MH3-B5, C6MH3-B48, C6MH3-B47, C6MH3-B46, C6MH3-B43, C6MH3-B41, C6MH3-B39, C6MH3-B34, C6MH3-B33, C6MH3-B31, C6MH3-B27, C6MH3-B25, C6MH3-B21, C6MH3-B20, C6MH3-B2, C6MH3-B16, C6MH3-B15, C6MH3-B11, C6MH3-B1, C6MH3-A3, C6MH3-A2, 및 C6ML3-9를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 상기 항HER2/neu 항체 및 다른 항체는 미국 특허 번호 6,512,097 및 5,977,322에, PCT 공보 WO 97/00271에, 문헌 [Schier *et al.* (1996) *J Mol Biol* 255: 28-43], [Schier *et al.* (1996) *J Mol Biol*

263: 551-567] 등에 기술되어 있다.

- [0154] 더 일반적으로, 표피 성장 인자 수용체 패밀리의 다양한 구성원에 대한 항체가 본 발명의 구성체에서 표적화 항체 또는 이의 항원 결합부로서 사용하는 데 매우 적합하다. 상기 항체로는 미국 특허 번호 5,844,093 및 5,558,864에, 및 유럽 특허 번호 706,799A에 기술되어 있는 것과 같은 항EGFR 항체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 다른 예시적인 항EGFR 패밀리의 항체로는 항체, 예컨대, C6.5, C6ML3-9, C6MH3-B1, C6-B1D2, F5, HER3.A5, HER3.F4, HER3.H1, HER3.H3, HER3.E12, HER3.B12, EGFR.E12, EGFR.C10, EGFR.B11, EGFR.E8, HER4.B4, HER4.G4, HER4.F4, HER4.A8, HER4.B6, HER4.D4, HER4.D7, HER4.D11, HER4.D12, HER4.E3, HER4.E7, HER4.F8 및 HER4.C7 등을 포함하나, 이에 제한되지 않는다(예컨대, 미국 특허 공개 US 2006/0099205 A1 및 US 2004/0071696 A1(상기 특허는 본원에서 참조로 포함된다)).
- [0155] CD38은 본 발명의 융합 단백질 구성체에 대한 항체 표적으로서 특히 관심의 대상이 된다. CD38에 대한 항체로는 예를 들어, AT13/5(예컨대, 문헌 [Ellis *et al.* (1995) J. Immunol. 155: 925-937] 참조), HB7 등을 포함한다.
- [0156] 본 발명은 또한 본 발명의 융합 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 제공한다. 상기 조성물은 임의의 적합한 보조제, 예컨대, 제한 없이, 희석제, 결합제, 안정제, 완충제, 염, 친유성 용매, 보존제, 에쿠버트 등 중 적어도 1 종을 추가로 포함할 수 있다. 약학적으로 허용되는 보조제가 바람직하다. 상기 멸균 용액, 및 이의 제조 방법에 관한 비제한적인 예는 예컨대, 제한하는 것은 아니지만, 문헌 [Gennaro, Ed., Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, Mack Publishing Co. (Easton, Pa.) 1990]과 같이, 당업계에 널리 공지되어 있다. 당업계에서 널리 공지되어 있거나, 또는 본원에 기술된 바와 같이 항체 조성물의 투여 모드, 가용성 및/또는 안정성에 적합한 약학적으로 허용되는 담체가 통상적으로 선택될 수 있다.
- [0157] 본 조성물에서 유용한 약학적 부형제 및 첨가제로는 단독으로 또는 조합으로 1-99.99 중량% 또는 1-99.99 부피%를 차지하는, 단독으로 또는 조합으로 존재할 수 있는 단백질, 펩티드, 아미노산, 지질 및 탄수화물(예컨대, 단당류, 이당류, 삼당류, 사당류 및 올리고당을 포함하는 당; 유도체화된 당, 예컨대, 알디톨, 알도산, 에스테르화된 당 등; 및 다당류 또는 당 중합체)를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 예시적인 단백질 부형제로는 혈청 알부민, 예컨대, 인간 혈청 알부민(HSA: human serum albumin), 재조합 인간 알부민(rHA: recombinant human albumin), 젤라틴, 카세인 등을 포함한다. 완충능으로도 작용할 수 있는 대표 아미노산으로는 알라닌, 글리신, 아르기닌, 베타인, 히스티딘, 글루탐산, 아스파르트산, 시스테인, 리신, 루신, 이소루신, 발린, 메티오닌, 페닐알라닌, 아스파르트산 등을 포함한다. 한 바람직한 아미노산은 히스티딘이다. 제2 바람직한 아미노산은 아르기닌이다.
- [0158] 본 발명에서 사용되기에 적합한 탄수화물 부형제로는 예를 들어, 단당류, 예컨대, 프럭토스, 말토스, 갈락토스, 글루코스, D-만노스, 소르보스 등; 이당류, 예컨대, 락토스, 수크로스, 트레할로스, 셀로비오스 등; 다당류, 예컨대, 라피노스, 멜레지토스, 말토덱스트린, 텍스트란, 전분 등; 및 알디톨, 예컨대, 만니톨, 크실리톨, 말티톨, 락티톨, 크실리톨 소르비톨(글루시톨), 미요이노시톨 등을 포함한다. 본 발명에서 사용되기에 바람직한 탄수화물 부형제는 만니톨, 트레할로스 및 라피노스이다.
- [0159] 항체 조성물은 완충제 또는 pH 조정제 또한 포함할 수 있고; 전형적으로, 완충제는 유기산 또는 유기 염기로부터 제조되는 염이다. 대표적인 완충제로는 유기산 염, 예컨대, 시트르산, 아스코르브산, 글루콘산, 탄산, 타르타르산, 숙신산, 아세트산 또는 프탈산의 염; 트리스; 트로메타민 하이드로클로라이드; 또는 포스페이트 완충제 또는 아미노산 완충제를 포함한다. 본 조성물에서 사용되기에 바람직한 완충제는 유기산 염, 예컨대, 시트레이트 또는 아미노산이다.
- [0160] 추가로, 본 발명의 조성물은 중합체 부형제/첨가제, 예컨대, 폴리비닐피롤리돈, 피콜(중합체 당), 텍스트레이트(예컨대, 사이클로텍스트린, 예컨대, 2-하이드록시프로필- β -사이클로텍스트린), 폴리에틸렌 글리콜, 향미제, 향미생물제, 감미제, 향산화제, 정전기 방지제, 계면활성제(예컨대, 폴리소르베이트, 예컨대, "트윈(TWEEN)® 20" 및 "트윈® 80"), 지질(예컨대, 인지질, 지방산), 스테로이드(예컨대, 콜레스테롤) 및 킬레이트제(예컨대, EDTA)를 포함할 수 있다.
- [0161] 본 발명에 따른 항체 조성물에서 사용되기에 적합한 상기 및 추가의 공지된 약학적 부형제 및/또는 첨가제는 예컨대, 그의 개시내용이 전체적으로 본원에 참고로 도입되는 문헌 ["Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19th ed., Williams & Williams, (1995)]에, 및 문헌 ["Physician's Desk Reference", 52nd ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (1998)]에(상기 문헌의 개시내용은 그 전문이 본원에서 참조로 포함된다)에 열거되어 있는 바와 같이, 당업계에 공지되어 있다. 바람직한 담체 또는 부형제 물질은 탄수화물(예컨대,

대, 당류 및 알디톨) 및 완충제(예컨대, 시트레이트) 또는 중합체 물질이다.

[0162] 본원에 기술된 본 발명은 구체적으로 기술된 이외의 것으로 쉽게 변형 및 수정될 수 있다는 것을 당업자는 이해할 것이다. 본 발명은 본 정신 및 범주에 포함되는 상기의 모든 변형 및 수정을 포함한다는 것을 이해하여야 한다. 본 발명은 또한 본 명세서에서 개별적으로 또는 총칭하여 언급 또는 명시된 단계, 특징, 조성물 및 화합물 모두, 및 상기 단계 또는 특징들 중 임의의 2개 이상의 것의 임의의 및 모든 조합을 포함한다.

[0163] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술 용어 및 과학 용어는 본 발명의 속하는 당업계의 숙련가가 통상 이해하는 것과 같은 의미를 갖는다. 비록 본원에 기술된 것과 유사하거나, 또는 그와 등가인 임의의 물질 및 방법이 본 발명의 실시 또는 테스트하는 데 사용될 수는 있지만, 바람직한 물질 및 방법은 이제 기술한다.

[0164] **실시예**

[0165] **일반적 방법**

[0166] *HEK-293E 세포에서의 항체-융합 구성체 제조.*

[0167] 본 발명의 융합 폴리펩티드 중의 다수의 도메인의 DNA 서열은 본원에 포함된, 첨부된 서열 목록에 제공되어 있다. 하이스피드 플라스미드 맥시 키트(HiSpeed Plasmid Maxi Kit)(퀴아젠(Qiagen: 미국 캘리포니아주 발렌시아))를 사용하여 단백질 구성체(항체-약화된 IFN α 2b 융합 구성체)를 코딩하는 DNA 플라스미드를 제조한 후, 상업적으로 이용 가능한 형질감염 시약 및 OptiMEM 배지(인비트로젠: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)를 사용하여, 0.45% (w/v) D-(+)-글루코스(시그마(Sigma: 호주 NSW주 캐슬 힐)), 25 μ g/mL 게네티신(인비트로젠(Invitrogen: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)), 및 1 x 글루타맥스(GlutaMAX)(인비트로젠: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)로 보충된 F17 합성 배지에서 성장시킨 HEK293E 세포(CNRC, 캐나다 몬트리올)로 형질감염시켰다. 5% CO₂가 공급되고, 120 rpm으로 진탕되는 인큐베이터에서 6일 동안 발현시킨 후, 배양 배지를 단리하고, 프로테인 A Mab 셀렉트 슈어(Protein A Mab Select SuRe)TM 아가로스 비드(GE 헬쓰케어(GE Healthcare: 미국 뉴저지주 피츠카타웨이))를 사용하여 그에 대해 친화성 정제를 수행하였다. 정제된 단백질 구성체에 대해 PD 미디-트랩(Midi-Trap) G-25 칼럼(GE 헬쓰케어: 미국 뉴저지주 피츠카타웨이) 또는 하이프랩 26/10 디솔팅(HiPrep 26/10 Desalting) 칼럼(하이프랩 디솔팅 하이프랩 26/10 디솔팅(HiTrap Desalting HiPrep 26/10 Desalting))을 사용하여 0.2 M 아르기닌 HCl, 25 mM 시트르산, 71.5 mM 수산화나트륨(pH 6.0)으로 완충제를 교환하였다. 이어서, 50 kDa 아미콘 울트라(Amicon Ultra) 원심분리 필터 장치(밀리포어(Millipore: 미국 매사추세츠주 빌레리카))를 사용하여 정제된 단백질 구성체를 농축시킨 후, 280 nm에서의 흡광도를 판독함으로써 단백질 농도를 측정하였다.

[0168] *EXPI293 세포에서의 항체-융합 구성체의 제조.*

[0169] 하이스피드 플라스미드 맥시 키트(퀴아젠: 미국 캘리포니아주 발렌시아)를 사용하여 단백질 구성체(항체-IFN α 2b 관련 구성체)를 코딩하는 DNA 플라스미드를 제조한 후, EXPI293 형질감염 키트에 제공된 형질감염 시약 및 OptiMEM 배지(인비트로젠: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)를 사용하여, EXPI 발현 배지(라이프 테크놀로지스(Life Technologies: 미국 캘리포니아주 칼즈배드))에서 성장시킨 EXPI293 세포(라이프 테크놀로지스: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)로 형질감염시켰다. 5% CO₂가 공급되고, 120 rpm으로 진탕되는 인큐베이터에서 3일 동안 발현시킨 후, 배양 배지를 단리하고, 프로테인 A Mab 셀렉트 슈어TM 아가로스 비드(GE 헬쓰케어: 미국 뉴저지주 피츠카타웨이)를 사용하여 그에 대해 친화성 정제를 수행하였다. 정제된 단백질 구성체에 대해 PD 미디-트랩 G-25 칼럼(GE 헬쓰케어: 미국 뉴저지주 피츠카타웨이) 또는 하이프랩 26/10 디솔팅 칼럼(하이프랩 디솔팅 하이프랩 26/10 디솔팅)을 사용하여 0.2 M 아르기닌 HCl(pH 6.0)로 완충제를 교환하였다. 이어서, 50 kDa 아미콘 울트라 원심분리 필터 장치(밀리포어: 미국 매사추세츠주 빌레리카)를 사용하여 정제된 단백질 구성체를 농축시킨 후, 280 nm에서의 흡광도를 판독함으로써 단백질 농도를 측정하였다.

[0170] *CHO 세포에서의 항체-융합 구성체의 제조.*

[0171] 하이스피드 플라스미드 맥시 키트(퀴아젠: 미국 캘리포니아주 발렌시아)를 사용하여 단백질 구성체(항체-IFN α 2b 관련 구성체)를 코딩하는 DNA 플라스미드를 제조한 후, 상업적으로 이용 가능한 형질감염 시약 및 OptiPro SFMTM 배지(인비트로젠: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)를 사용하여, 프리스타일(Freestyle)TM CHO 발현 배지(인비트로젠: 미국 캘리포니아주 칼즈배드)에서 성장시킨 CHO 세포(론자(Lonza))로 형질감염시켰다. 10% CO₂가 공급되고, 120 rpm으로 진탕되는 인큐베이터에서 6일 동안 발현시킨 후, 배양 배지를 단리하고, 프로테인 A Mab 셀렉트 슈어TM 아가로스 비드(GE 헬쓰케어: 미국 뉴저지주 피츠카타웨이)를 사용하여 그에 대해 친화성 정제를

수행하였다. 정제된 단백질 구성체에 대해 PD 미디-트랩 G-25 칼럼(GE 헬스케어: 미국 뉴저지주 피츠카타웨이) 또는 하이프랩 26/10 디솔팅 칼럼(하이프랩 디솔팅 하이프랩 26/10 디솔팅)을 사용하여 0.2 M 아르기닌.HCl, 25 mM 시트르산, 71.5 mM 수산화나트륨(pH 6.0)로 완충제를 교환하였다. 이어서, 50 kDa 아미콘 울트라 원심분리 필터 장치(밀리포어: 미국 매사추세츠주 빌레리카)를 사용하여 정제된 단백질 구성체를 농축시킨 후, 280 nm에서의 흡광도를 판독함으로써 단백질 농도를 측정하였다.

[0172] 항체-IFN α 2b 융합 단백질 구성체의 항원 표적화 활성을 측정하는 방법

[0173] "온 타겟(다우디(Daudi)) 어세이(assay)": 본 어세이는 IFN 수용체, 및 IFN α 2b가 융합된 항체에 의해 표적화되는 항원, 둘 모두를 보이는 세포에 대한 IFN α 2b 및 항체-IFN α 2b 융합 단백질 구성체의 항증식 활성을 정량화하기 위해 사용되었다. 다우디 세포는 세포 표면 관련 항원으로서 CD20 및 CD38 뿐만 아니라, 세포 표면 IFN 수용체, 둘 모두를 발현한다. 프로메가(Promega: 미국 위스콘신주 매디슨)로부터의 시약 셀타이터-글로(CellTiter-Glo)[®](카탈로그 번호 G7570)를 사용하여 다우디 세포의 생존력을 측정하였다. 이는 ATP 정량화에 기초하여 배양물 중의 세포의 생존력을 측정하는 발광 기반 어세이다. 신호 강도는 마이크로타이터 플레이트 웰 중의 생존가능한 세포 개수에 비례한다. 본 어세이의 세부 사항은 하기와 같다:

[0174] 다우디 세포(ATCC(미국 버지니아주 마나사스)로부터 입수)를 T75 플라스크(TPP: 스위스 트라사딘겐), 카탈로그 번호 90076)에서 10% 우태아 혈청(FBS: Fetal Bovine Serum; 하이클론(Hyclone: 미국 유타주 로간), 카탈로그 번호 SH30070.03)을 함유하는 RPMI 1640(메디아테크 인크.(Mediatech, Inc.: 미국 버지니아주 마나사스), 카탈로그 번호 10-040-CV) 중에서 0.5×10^5 내지 0.8×10^5 개의 생존가능한 세포/ml인 바람직한 밀도까지 배양하였다. 400 g로 5분 동안 원심분리하고, 상청액을 경사분리하고, 세포 펠릿을 RPMI 1640 + 10% FBS에 재현탁시킴으로써 세포를 회수하였다. 이어서, 세포를 계수하고, RPMI 1640 + 10% FBS 중 밀도를 3.0×10^5 개의 세포/ml로 조정하였다. 이어서, 50 μ l의 세포 현탁액을 96웰 둥근 바닥 조직 배양 플레이트(이하, "실험 플레이트")(TPP, 카탈로그 번호 92067)의 각 웰 내로 분취하였다. 별도의 멸균 96웰 플레이트(이하, "회석 플레이트"; 코스타(Costar: 미국 뉴욕주 코닝), 카탈로그 번호 3879) 상에서 테스트 물질을 RPMI 1640 + 10% FBS 중에서 이중으로 연속적으로 회석하였다. 이어서, 50 μ l/웰을 회석 플레이트에서 실험 플레이트로 옮겼다. 이어서, 실험 플레이트를 5% CO₂ 존재하에 37°C에서 4일 동안 인큐베이션하였다.

[0175] 제조자에 의해 공급된 어세이 완충제 및 어세이 기질의 혼합물(이하, "셀타이터글로 시약," 제조자의 설명서에 따라 혼합됨)을 100 μ l/웰로 실험 플레이트에 첨가하였다. 상기 플레이트를 2분 동안 진탕시켰다. 이어서, 100 μ l/웰을 실험 플레이트로부터 96웰 평평 바닥 백색 불투명 플레이트(이하, "어세이 플레이트"; BD 바이오사이언시스(BD Biosciences: 미국 뉴저지주 프랭클린 레이크스), NJ 카탈로그 번호 35 3296)로 옮겼다. 어세이 플레이트의 내용물을 실온의 암실에서 15분 동안 안정화시켰다. 상기 플레이트를 발광측정 채널 상의 빅토르 3V 멀티라벨 카운터(Victor 3V Multilabel Counter)(퍼킨 엘머(Perkin Elmer: 미국 매사추세츠주 월섬, 모델# 1420-041) 상에서 판독하고, 발광을 측정하였다. 결과는 "상대적 발광 단위(RLU: relative luminescence units)"로서 제시한다.

[0176] 곡선의 중간점(EC50)을 측정하기 위해 비선형 회귀 및 3 파라미터 곡선 피트를 이용하는 프리즘 5(Prism 5)(그래프패드(Graphpad: 미국 캘리포니아주 샌디에고))를 이용하여 데이터를 분석하였다. 각 테스트 물질에 대해, 유리 IFN α 2b(또는 유리 IFN α 2b 대비의 상대적인 공지된 효능을 갖는 다른 형태의 IFN) 대비의 상대적인 효능을 EC50의 비로서 계산하였다.

[0177] 당업계의 숙련가는 이 또한 사용될 수 있는 세포 생존력을 측정하는 방법으로서 보편적으로 사용되는 다른 어세이들도 다수 존재한다는 것을 이해할 것이다.

[0178] "온 타겟(ARP) 어세이"(이는 또한 본원에서 종종 "표적화된 어세이"로 지칭된다): 다발성 골수종 세포주 ARP-1은 아칸사스 대학 의료 센터(University of Arkansas Medical Center: 미국 아칸사스주 리틀 록)의 골수종 연구소(Myeloma Institute)의 책임자인 (Bart Barlogie MD, PhD)로부터 기증받았다. 상기 세포주는 문헌 [Hardin J. et al. (Interleukin-6 prevents dexamethasone-induced myeloma cell death. Blood; 84:3063, 1994)]에 기술되어 있다. ARP-1 세포(CD38⁺)를 사용하여 CD38 표적화 항체-IFN 융합 단백질을 테스트하였다. 하기 사항: ARP-1을 4.0×10^5 내지 6.0×10^5 개의 세포/ml인 밀도로 배양하였다는 것만을 예외로 하고, 배양 및 어세이 조건은 상기 개략적으로 설명된 다우디 기반 어세이에 대한 것과 동일하였다. 어세이 이전의 ARP-1 농도를

1.0 x 10⁴ 개의 세포/ml로 조정하였다.

실시예 1

항CD38 항체-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 등전점

항CD38 항체-약화된 IFN α 2b 융합 구성체(하기 표 2)를 발현하는, 각종의 일시적으로 형질감염된 세포를 회수하고, Mab 셀렉트 슈어 프로테인 A 칼럼을 사용하여 정제하였다. 샘플을 하이로드 슈퍼텍스(HiLoad Superdex) 200 칼럼을 사용하여 200 mM 아르기닌, 25 mM 히스티딘(pH 6.5)으로 탈염시켰다.

표 2

구성체 표

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	48	81	25	87, 31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, ΔT106)	48	81	110	61
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)	50	81	107	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106A)	50	81	25	68
A10.21 IgG1 IFN (A145D, ΔT106)	50	81		83
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	55	81	107	
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	55	81	25	74

항체 구성체	시열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65

[0183]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106T)		81	107	
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106A)		81	25	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	58	84	107	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	58	84	25	77
Anti-CD138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	
Anti-CD138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	
Anti-HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
Anti-HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

[0184]

[0185]

등전 포커싱 겔을 사용하여 융합 폴리펩티드의 등전점(pI)을 측정하고, 번역 후 변형, 예컨대, 인산화 및 글리코실화에 기인한 단백질의 작은 변화를 검출하였다.

[0186]

겔과 완충제 사이의 밀봉 차단을 보장하기 위해 겔 탱크에 사전 주조된 IEF 겔을 셋업하였다. 이어서, 완충제가 확실히 외부 챔버 안에는 들어가지 못하게 하면서, 200 mL의 1x 캐소드 완충제를 내부 챔버 안에 부었다. 이어서, 500 mL의 1x 애노드 완충제는 외부 챔버 안에 붓고, 탱크의 $\frac{3}{4}$ 을 충전시켰다. 샘플 및 래더를 겔 상에 로딩한 후, 이어서, 100 볼트에서 1시간 동안, 200 볼트에서 1시간 동안 및 500 볼트에서 $\frac{1}{2}$ 시간 동안 전개시켰다. 겔 전개가 끝나자마자, 겔을 꺼내어 30 min 동안 유리 용기 중 TCA 용액 중에서 고정시켰다. 이어서, 겔을 바로 탈이온수로 3회에 걸쳐 세척하였다. 겔을 심플리블루 세이프스테인(SimplyBlue SafeStain)(인비트로젠 라이프 테크놀러지스) 중에서 1시간 내내 염색시키고, 물 중에서 밤새도록 방치하여 탈색시켰다. 스캐너를 이용하여 최종 영상을 스캐닝하였다.

[0187]

인터페론의 트레오닌 106(T106)을 알라닌으로(T106A로 제시), 세린으로(T106S), 발린으로(T106V), 글리신으로(T106G) 또는 글루탐산으로(T106E) 치환시킴으로써, 또는 T106을 결실시킴으로써(Δ T106으로 제시) 항체-약화된 인터페론 융합 구성체의 IFN α 2b의 O-결합 글리코실화 부위를 제거하였다. IEF 겔 상에서의 분리에 의하여 O-결합 글리코실화가 존재하는 구성체 및 O-결합 글리코실화가 부재하는 구성체를 비교함으로써 상기와 같은 변이가 융합 구성체의 pI 및 불균질성에 미치는 영향을 조사하였다.

- [0188] 각 경우에서, 변형되지 않은 T106과 직접 비교하였을 때, 밴드 개수의 감소로 입증되는 바와 같이, T106 결실, 또는 T106의 알라닌, 세린, 발린, 글리신 또는 글루탐산으로의 치환이 IEF 겔 상에서 관찰되는 하전된 종의 개수를 감소시켰으며, 이로써, 융합 구성체의 불균질성도 감소시켰다(도 9). IEF 겔 상의 하전된 종의 개수 감소 및 따라서, T106S를 도입한 분자의 불균질성 감소는 IFN α 2b의 106번 위치에서의 O-결합 글리코실화의 제거와 일치한다.
- [0189] 항체 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 O-결합 글리코실화 부위의 제거는 O-유사 글리코실화된 단백질과 비교하였을 때, pI를 증가시켰다. A10.21의 같은 항체 프론트 엔드를 사용하였을 때, 구성체에서는 항체의 이소타입이 IgG4, IgG1, IgG1 AA(IgG1 L235A, G237A, IgG1의 이펙터 기능이 감소된 형태인 것), IgG2 또는 IgG2 SS(IgG2 (A330S, P331S))인지 여부와 상관없이 상기 경향이 일관되게 나타났다.
- [0190] YTE 치환(M252Y, S254T, T256E)은 가정컨대, 항체의 반감기를 증가시키면서, FcRn에 대한 친화성은 증가시키는 것으로 밝혀졌다. 추가 실험에서는 항체 IFN 융합된 구성체의 다른 부분에서의 치환이 T106 결실 또는 치환으로부터 초래되는 불균질성 감소에 영향을 주는지 여부를 조사하였다. IEF 겔 상에서 글리코실화된 A10.21 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 구성체(YTE, T106T) 및 YTE 치환을 포함하는 비글리코실화 IFN 융합 구성체(YTE, T106A)의 불균질성을 사정하였다. YTE 돌연변이를 보유하는 융합 구성체의 IFN α 2b 성분의 글리코실화 제거가 불균질성을 감소시켰다(도 11).
- [0191] IFN α 2b의 약화는 IFN 수용체와의 결합을 담당하는 중요한 아미노산 잔기의 치환에 의해 달성된다. IFN α 2b 성분의 O-결합 글리코실화의 존재(T106T) 또는 그의 부재(T106A)하의, IFN α 2b에서의 다양한 약화 아미노산 치환을 포함하는 A10.21 IgG4(S228P) IFN 구성체의 하전된 종의 개수를 평가하였다. IFN α 2b의 개별 아미노산 잔기 아르기닌-33, 아르기닌-144 및 알라닌-145를 잔기 33의 경우, 알라닌으로(R33A), 잔기 144의 경우, 이소루신으로(R144I), 또는 잔기 145의 경우, 리신, 글리신, 또는 글루타민으로(A145K, A145G, A145Q) 한번에 하나씩 치환시켰다. 직접 비교하였을 때, 아글리코실화된 IFN 융합 구성체는 그의 글리코실화된 상대물보다 일관되게 더 적은 불균질성을 보였다(도 12).
- [0192] 관찰된 불균질성 감소는 구성체의 항체 부분과는 관계가 없었다. HLA, CD138 및 CD38(항체 A10.21 - 항체 A02.12에 대한 CD38 상의 상이한 에피토프)에 대하여 특이성을 가진 항체(IgG4 (S228P))-약화된 IFN 융합 구성체의 약화된 IFN α 2b 부분 중의 O-결합 글리코실화 부위의 제거 또한 IEF에 의해 검출된 바, 불균질성을 감소시켰다(도 13).
- [0193] **실시예 2**
- [0194] **항체-약화된 인터페론 α 2b 융합 단백질의 항증식 활성**
- [0195] IFN α 2b의 항증식 효과는 직접 및 간접 활성으로 이루어진다. 직접 활성은 세포 주기 정지(문헌 [Matsui et al. 2003]), 사멸 수용체 의존적(문헌 [Crowder et al. 2005]) 및 비의존적(문헌 [Otsuki et al. 1998]) 경로에 의한 아포토시스, 또는 분화(문헌 [Matsui et al. 2003])에 의해 암 세포 성장을 억제시킴으로써 이루어진다. 발광성 세포 생존력 어세이를 이용하여 표적 양성 세포주에 대한 항체-약화된 인터페론 융합 단백질의 표적 특이의 직접적인 세포독성을 측정하였다.
- [0196] 항 CD38-IFN 리드 서열 샘플
- [0197] 구성체(하기 표 3)를 안정하게 클로닝하거나, 또는 일시적으로 형질감염시키고, 회수하고, Mab 셀렉트 슈어 프로테인 A 칼럼을 사용하여 정제하였다. 샘플을 하이로드 슈퍼텍스 200 칼럼을 사용하여 200 mM 아르기닌, 25 mM 히스티딘(pH 6.5)으로 탈염시켰다.

표 3

구성체 표

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	48	81	25	87, 31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, ΔT106)	48	81	110	61
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	48	81	25	31

[0198]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66

[0199]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)	50	81	107	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106A)	50	81	25	68
A10.21 IgG1 IFN (A145D, ΔT106)	50	81	110	83
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	52	81	25	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)		81	25	70
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	

[0200]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106T)		81	107	
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106A)		81	25	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	54	81	107	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	54	81	25	73
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	55	81	107	
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	55	81	25	74
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25	

[0201]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	58	84	107	

[0202]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	58	84	25	77
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106T)	57		107	
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106A)	57		25	78
항CD 138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	
항CD 138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	
항CD HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
항CD HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

[0203]

[0204]

시판용 IFN α 2b

[0205]

세링-플라우(Schering-Plough)로부터 박테리아에 의해 생산된 시판용 IFN α 2b인 인트론(INTRON)® A를 양성 대조군으로서 사용하였다.

[0206]

항증식 활성 측정

[0207]

상기 "다우디 세포 증식 어세이" 및 "ARP-1 세포 증식 어세이"에 기술된 방법을 사용하여 항증식 활성을 측정하였다. 항체-약화된 IFN α 2b 용합 단백질의 항증식 활성 측정을 위해 추가의 세포주 NCI-H929와 함께 ARP-1 세포 증식 어세이 방법을 사용하였다. 일부 일부에서는, 플레이트를 전용 글로맥스® 96 마이크로플레이트 루미노미터(GloMax® 96 Microplate Luminometer) 상에서 판독하였고, 원래의 셀타이터-글로 대신 셀타이터-글로® 2.0 시약을 사용하였으며, 상기 중 어느 것도 결과에 영향을 주지는 않았다. ARP-1/NCI-H929 또는 다우디 세포 증식 어세이를 이용하여 CD38을 제시하는 세포에 대한 IFN 및 항체-약화된 IFN α 2b 용합 단백질 구성체의 항증식 활성을 정량화하였다. 다우디, ARP1 및 NCI-H929 세포는 세포 표면 관련 항원으로서 CD38을 발현한다. 본 어세이의 세부 사항은 하기와 같다.

[0208]

ARP-1/NCI-H929 세포 증식 어세이에서, 프로메가(미국 위스콘신주 매디슨)로부터의 시약 셀타이터-글로® 2.0 (카탈로그 번호 G9242)를 사용하여 세포의 생존력을 측정하였다. 이는 ATP 정량화에 기초하여 배양물 중의 세포의 생존력을 측정하는 발광 기반 어세이이다. 신호 강도는 마이크로타이터 플레이트 웰 중의 생존가능한 세포 개수에 비례한다. 세포(ATCC(미국 버지니아주 마나사스)로부터의 NCI-H929, 및 아칸사스 대학 의료 센터(미국 아칸사스주 리틀 록)의 골수종 연구소의 책임자인 (Bart Barlogie MD, PhD)로부터의 기증물인 ARP-1)를 T75 플라스크(TPP: 스위스 트라스단겐), 카탈로그 번호 90076)에서 10% 우태아 혈청(FBS; 하이클론: 미국 유타주 로간, 카탈로그 번호 SH30070.03)을 함유하는 RPMI 1640(메디아테크 인크.: 미국 버지니아주 마나사스, 카탈로그 번호 10-040-CV) 중에서 0.5×10^5 내지 0.8×10^5 개의 생존가능한 세포/ml인 바람직한 밀도까지 배양하였다. 400 x g로 5분 동안 원심분리하고, 상청액을 경사분리하고, 세포 펠릿을 RPMI 1640 + 10% FBS에 재현탁시킴으로써 세포를 회수하였다. 이어서, 세포를 계수하고, RPMI 1640 + 10% FBS 중 밀도를 3.0×10^5 개의 세포/ml로 조정하였다. 50 μ l의 세포 현탁액을 96웰 둥근 바닥 조직 배양 플레이트(이하, "실험 플레이트")(TPP, 카탈로그 번호 92067)의 각 웰 내로 시딩하였다. 세포를, 테스트 화합물을 첨가하기 전에 1시간 동안 4°C에서 인큐베이션시켰다. 별도의 멸균 96웰 플레이트(이하, "회석 플레이트"; 코스타: 미국 뉴욕주 코닝, 카탈로그 번호 3879) 상에서 테스트 물질을 RPMI 1640 + 10% FBS 중에서 이중으로 연속적으로 회석하였다. 50 μ l/웰을 회석 플레이트에서 실험 플레이트로 옮겼다. 이어서, 실험 플레이트를 5% CO₂ 존재하에 37°C에서 4일 동안 인큐베이션시켰다. "셀타이터-글로® 시약 2.0"을 100 μ l/웰로 실험 플레이트에 첨가하였다. 상기 플레이트를 2분 동안 진탕시켰다. 100 μ l/웰을 실험 플레이트로부터 96웰 평평 바닥 백색 불투명 플레이트(이하, "어세이 플레이트"; BD 바이오사이언시스: 미국 뉴저지주 프랭클린 5 레이크스, NJ 카탈로그 번호 35 3296)로 옮겼다. 이

어서, 어세이 플레이트의 내용물을 실온의 암실에서 15분 동안 안정화시켰다. 상기 플레이트를 글로맥스® 96 마이크로플레이트 루미노미터 상에서 판독하였다. 결과는 "상대적 발광 단위"(RLU)"로서 제시한다.

[0209] IC50을 측정하기 위해 비선형 회귀 및 4 파라미터 곡선 피트를 이용하는 프리즘 5(그래프패드: 미국 캘리포니아 주 샌디에고)를 이용하여 데이터를 분석하였다.

[0210] 트레오닌 106(T106)을 알라닌으로(T106A로 제시), 세린으로(T106S), 발린으로(T106V), 글리신으로(T106G) 또는 글루탐산으로(T106E) 치환시킴으로써, 또는 T106을 결실시킴으로써(Δ T106으로 제시) 항CD38 항체-약화된 인터페론 융합 구성체의 O-결합 글리코실화 부위를 제거하였다. O-결합 글리코실화의 존재 및 부재의 약화된 IFN α 2b에 융합된 A10.21 항CD38 항체를 비교함으로써 세포 증식에 미치는 영향을 조사하였다. ARP1(도 1a) 및 NCI-H929 세포(도 1b), 둘 모두에서 상응하는 O-결합 글리코실화된 융합 단백질, 즉 A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T) 및 A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)와 비교하였을 때, 더 낮은 IC50(nM)으로 나타난 바와 같이, 항체 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 O-결합 글리코실화 부위의 제거가 항증식 활성을 증가시켰다. 항체의 이소타입이 IgG4 및 IgG1인지 여부와 상관없이 상기 경향이 일관되게 나타났다.

[0211] O-결합 글리코실화된 융합 단백질과 비교하였을 때, 더 낮은 IC50(nM)으로 나타난 바와 같이, 트레오닌 106(T106)의 알라닌(T106A), 세린(T106S), 발린(T106V), 글리신(T106G) 또는 글루탐산(T106E)으로의 치환이 항증식 활성을 증가시켰다. NCI-H929 세포에서 모든 비글리코실화 구성체는 그의 글리코실화된 상대물과 비교하였을 때, 더 높은 "온 타겟" 효능을 보였다(도 14).

[0212] 약화된 IFN α 2b 성분으로부터의 O-결합 글리코실화 부위 제거가 항증식 활성에 미치는 영향을 다양한 항CD38 항체-약화된 IFN α 2b 융합 단백질에서 조사하였다. IFN 성분 상의 O-결합 글리코실화 부위를 제거하는 T106에서의 상이한 아미노산 치환(T106A, T106G, T106N, T106F, T106R, T106D, T106E, T106Q, T106H, T106I, T106L, T106K, T106M, T106F, T106P, T106S, T106V, T106Y 및 T106W(하기 표 4))을 갖는 항CD38 항체-약화된 IFN α 2b 융합 단백질 R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D)의 변이체를 조사하였고, 그 결과는 도 2에 제시되어 있다.

[0213] T106 부위에서의 상이한 치환 사이에 효능 수준은 달랐지만, O-결합 글리코실화를 제거하는 것으로 예측되는 모든 치환은 상응하는 O-결합 글리코실화된 단백질과 비교하였을 때, 효능을 증가시켰다(도 2).

표 4

0-결합 글리코실화 제거를 위해 T106에 다양한 아미노산 치환을 가지는 R10A2 항CD38 항체-약화된 IFN 융합 구성체 변이체.

구성체 명칭	서열식별번호		
	중쇄	경쇄	IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25

[0214]

[0215] CD38 상의 상이한 에피토프에 결합하는, 0-결합 글리코실화의 존재 또는 부재의 상이한 두 항CD38 항체 인터페론 융합 단백질(A02.12 및 A10.21)(A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T), A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A), A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T) 및 A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)) 사이의 효능상의 상대적인 변화를 유사한 방식으로 사정하였다. CD38에 대하여 상이한 특이성을 갖는, 항체(IgG4 (S228P)) 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 0-결합 글리코실화 부위 제거가 구성체의 항체 부분의 표적과 상관없이 항증식 활성을 증가시켰다(도 15).

[0216] IFN α2b의 약화는 다양한 약화 치환에 의해 달성된다. 0-결합 글리코실화 존재(T106T) 및 그의 부재(T106A)의, IFN α2b 중 다양한 약화 치환을 갖는 A10.21 IgG4 (S228P) IFN 구성체(하기 표 5)의 항증식 활성 또한 평가하였다. 다양한 약화 치환을 갖는 구성체의 IFN α2b 성분 중의 0-결합 글리코실화 부위 제거 모두 그의 글리코실화된 상대물보다 더 높은 효능을 보였다(도 16).

표 5

0-결합 글리코실화 존재(T106T) 및 그의 부재(T106A)의,
IFN α 2b 중 다양한 약화 치환을 가지는 A10.21 IgG4 (S228P) IFN 구성체.

구성체 명칭	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106A)	48	81	24	67

[0217]

구성체 명칭	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106A)	48	81	24	67

[0218]

[0219]

상이한 결합 표적을 갖는 다른 약화된 IFN α 2b 융합된 항체/단백질이 0-결합 글리코실화 제거의 결과로서 조절된 항증식 활성을 갖는지 여부를 조사하기 위해, 2개의 구성체(0-결합 글리코실화의 존재 또는 부재의, IFN (A145D)에 융합된 항CD138 항체 및 항HLA 항체)(하기 표 6)를 생성하고, 항증식 활성에 대하여 테스트하였다.

[0220]

HLA 및 CD138에 대하여 특이성을 갖는 항체(IgG4 (S228P)) 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 0-결합 글리코실화 부위 제거가 구성체의 항체 부분의 표적과 상관없이 항증식 활성을 증가시켰다. 이는 HLA 및 CD138에 대한 항체 융합 구성체에서 입증되었다(도 17).

표 6

다양한 IFN 융합 단백질 구성체 - O-결합 글리코실화 존재 또는 그의 부재의, IFN (A145D)에 융합된 항CD138 항체 및 항HLA 항체

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
항CD138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	59
항CD138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	59
항HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
항HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

[0221]

[0222] 반감기 연장 또는 이펙터 기능 감소를 위해 Fc 영역에 치환을 포함하는 융합 단백질로부터의 O-결합 글리코실화 제거가 항증식 활성에 미치는 효과

[0223] YTE 치환은 가정컨대, 항체의 반감기를 증가시키면서, FcRn에 대한 친화성은 증가시키는 것으로 밝혀졌다. O-결합 글리코실화의 존재 및 부재하에서 YTE 치환을 함유하는 IFN 융합된 항체를 항증식 활성에 대하여 테스트하였다. A10.21 항CD38 항체-약화된 IFN 융합 단백질에 대한 하기의 변이체를 제조하였다(하기 표 7).

[0224] A10.21 IgG4 (S228P)(A145D, T106A)에의 YTE 치환 도입이 약화된 IFN으로부터의 O-결합 글리코실화 제거에 의해 유발되는 효능 증가에는 영향을 주지 않았다(도 18).

[0225] IgG1 변이체의 Fc 부분에서의 L235A 및 G237A 치환, 및 IgG2 변이체의 Fc 부분에서의 A330S 및 P331S 치환이 이펙터 기능을 감소시킨다. L235A 및 G237A 치환을 함유하는 약화된 IFN 융합된 IgG1 항체 및 A330S 및 P331S 치환을 함유하는 약화된 IFN 융합된 IgG2 항체를 O-결합 글리코실화의 존재 및 부재하에서 항증식 활성에 대해 테스트하였다. A10.21 항CD38 항체-약화된 IFN 융합 단백질에 대한 이들 변이체를 제조하였다(하기 표 7). 항체 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 O-결합 글리코실화 부위 제거는, 항체 구성체에서의 항체의 이소타입이 IgG1 또는 IgG1 AA(IgG1 (L235A, G237A)), IgG2 또는 IgG2 SS(IgG2 (A330S, P331S))인지 여부와 상관없이 효능을 증가시켰다(도 19).

표 7

반감기 연장 또는 이펙터 기능 감소를 위한 Fc 영역 중의 치환으로 구성된
A10.21 융합 단백질

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	52	81	25	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	111	81	25	70
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106T)	112	81	107	
A10.21 IgG2 (A330S, P331S) IFN (A145D, T106A)	112	81	25	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	54	81	107	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	54	81	25	73

[0226]

[0227]

T106의 아미노산 치환 또는 결실에 의한, 항CD38 항체 인터페론 융합 단백질의 약화된 인터페론 부분으로부터의 O-결합 글리코실화 부위 제거가 표적 CD38, CD138 또는 HLA 양성 세포에서 항중식 활성을 증가시켰다(1.3-12 배).

[0228]

실시예 3

[0229]

항체-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 온/오프 타겟 활성

[0230]

인간 인터페론 알파(IFN α 2b) 생체활성(IU/ml)을 정량적으로 측정하기 위해 루시페라제 발현 생체발광을 사용하여 iLite(iLite)TM 리포터 유전자 어세이를 수행하였다. 본 어세이에서 사용되는 세포는 CD38을 발현하고, 이를 사용하여 항CD38-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 '온 타겟' 활성을 측정하였다. 상기 세포는 또한 CD38이 동일한 에피토프를 인식하는 항CD38 항체로 차단될 때, '오프 타겟' 활성을 측정하기 위해서도 사용될 수 있다. 상기 어세이를 이용하여, 항CD38 IFN 융합 단백질이 얼마나 선택적으로 CD38+ 표적 세포에 대해서는 활성을 띠고, CD38이 차단된 세포(모방 CD38⁻ 세포)에 대해서는 비활성을 띠는지를 나타내는 척도인 선택성 지수(SI:

Selectivity Index)를 측정할 수 있다. SI가 클수록, 작용제는 표적에 대하여 더욱 큰 선택성을 띠며, 수치가 1에 가깝다는 것은 표적 또는 비표적에 대한 선택성이 없다는 것을 시사한다. 인트론 A는 인터페론 알파 수용체, IFNAR1/2를 발현하는 세포에 대해서는 활성을 띠지만, 다른 세포 표면 발현 항원(즉, CD38)에 대해서는 비선택성을 띠고, SI는 대략 1인 바, 인트론 A를 양성 대조군으로서 사용하였다.

[0231] 항체-약화된 IFN 구성체

[0232] 사용된 구성체의 서열은 서열 목록에 기재되어 있고, 하기 표 8에 열거되어 있다.

표 8

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	48	81	25	87, 31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, ΔT106)	48	81	110	61
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	

[0233]

항체 구성체	시열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)	50	81	107	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106A)	50	81	25	68
A10.21 IgG1 IFN (A145D, ΔT106)	50	81	110	83
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	52	81	25	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	111	81	25	70
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	54	81	107	

[0234]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	54	81	25	73
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	55	81	107	
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	55	81	25	74
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	58	84	107	

[0235]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	58	84	25	77
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106T)	57		107	
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106A)	57		25	78
항CD138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	
항CD138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	
항HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
항HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

[0236]

[0237]

인트론® A를 양성 대조군으로서 사용하였다.

[0238]

온/오프 타겟 활성 측정

[0239]

상기 "iLite 유전자 리포터 어세이"로서 상기에 기재된 것과 동일한 방법을 이용하여 온/오프 타겟 활성을 측정하였다.

[0240]

인간 IgG 차단 단계를 부가하면서, 대체로는 제조사에 의해 기술된 바와 같이 iLite 리포터 유전자 어세이(PBL 인터페론 소스(PBL Interferon Source: 미국 뉴저지주 피츠카타웨이), 카탈로그 번호 51100)를 수행하였다. iLite 세포주는 "세포 표면 상의 MHC 클래스 II 항원, 특히, 인간 림프구 항원(HLADR) 발현을 특징으로 하는 상업적으로 이용 가능한 전단핵구 인간 세포주로부터 유래된 안정적으로 형질감염된 세포주"로서 제조사에 의해 기술된 것이다. 상기 세포주는 CD38을 발현하고, 안정적으로 형질감염된 루시페라제 유전자를 함유하는데, 이 루시페라제 유전자의 발현은 인터페론 반응 요소(IRE: interferon-response element)에 의해 구동되며, 이로써, 인터페론 활성은 발광 결과에 기초하여 정량화될 수 있다.

[0241]

제조사로부터 공급받은 iLite 플레이트(이하, 어세이 플레이트) 및 희석제를 -80℃ 냉동기에서 꺼내 옮기고, 실온으로 평형화시켰다. 웰당 50 μ L의 희석제를 어세이 플레이트에 첨가하였다. 제조사로부터 공급받은 리포터 세포의 바이알을 -80℃ 냉동기에서 꺼내 옮기고, 37℃ 수조에서 해동시켰다. 25 μ L 분취량의 세포를 어세이 플레이트의 각 웰로 분배하였다. 이어서, RPMI 1640 + 10% FBS(시그마 케미칼즈(Sigma Chemicals: 미국 미주리주 세인트 루이스); 카탈로그 번호 I4506) 중에 희석된 8 mg/mL 인간 IgG를 각 웰당 12.5 μ L씩 첨가하였다. 내용물을 혼합하고, 37℃에서 15분 동안 인큐베이션시켰다. 별도의 "희석 플레이트" 상에서 테스트 물질을 RPMI 1640 + 10% FBS 중에서 이중으로 연속적으로 희석하였다. 이어서, 12.5 μ L의 테스트 물질을 희석 플레이트로부터 어세이 플레이트로 옮겼다. 이어서, 어세이 플레이트를 5% CO₂ 존재하에 37℃에서 17시간 동안 인큐베이션시켰다. 제조사로부터 공급받은 어세이 완충제 및 기질을 -80℃ 냉동기에서 꺼내 옮기고, 2시간 동안 실온으로 평형화시켰다. 웰당 50 μ L의 희석제를 어세이 플레이트에 첨가하였다. 제조사로부터 공급받은 어세이 완충제를 제조사로부터 공급받은 기질 바이알에 첨가하고, 제조사의 설명서에 따라 잘 혼합하여 "발광액"을 생성하였다. 이어서, 100 μ L의 발광액을 어세이 플레이트의 각 웰에 첨가하였다. 플레이트를 2분 동안 진탕시켰다. 이어서, 플레이트를 실온의 암실에서 5분 동안 인큐베이션시키고, 발광측정 채널 상의 빅토르 3V 멀티라벨 카운터 상에서 관독하고, 발광을 측정하고, RLU로서 제시하였다.

[0242]

iLite 어세이에서 항CD38 항체-IFN 융합 단백질 구성체의 오프 타겟 활성을 테스트하기 위해, 제조사로부터 공급받은 희석제를 0.25 mg/mL 항CD38 항체(테스트된 항체-IFN 융합 단백질 구성체와 동일한 CD38 상의 에피토프를 인식하는 항체, iLite 세포 상에서 발현된 CD38에의 항CD38 항체-IFN 융합 단백질 구성체의 임의의 결합을 차단하기 위해)로 보충하였다. 상기 차단 단계 후, 이어서, 항CD38 항체-IFN 융합 단백질 또는 IFN α 2b로 처리

하였다.

- [0243] 곡선의 중간점(EC50)을 측정하기 위해 비선형 회귀 및 3 파라미터 곡선 피트를 이용하는 프리즘 5(그래프패드: 미국 캘리포니아주 샌디에고)를 이용하여 데이터를 분석하였다. 선택성 지수(SI)는 EC50(오프 타겟 활성)/EC50(온 타겟 활성)으로 계산하였다. 선택성 지수(SI)는 항CD38 IFN 융합 단백질이 얼마나 선택적으로 CD38+ 표적 세포에 대해서는 활성을 띠고, CD38이 차단된 세포(모방 CD38⁻ 세포)에 대해서는 비활성을 띠는지를 나타내는 척도이다. 수치가 클수록, 작용제는 표적에 대하여 더욱 큰 선택성을 띠며, 수치가 1에 가깝다는 것은 표적에 대한 선택성이 없다는 것을 시사한다. 인트론 A를 양성 대조군으로서 사용하였으며, 그의 SI는 대략 1이다.
- [0244] 트레오닌 106(T106)을 알라닌으로 치환(T106A로 제시)하여 항CD38 항체-약화된 인터페론 융합 구성체의 O-결합 글리코실화 부위를 제거하였다. O-결합 글리코실화 존재 및 부재의 IFN α2b에 융합된 A10.21 및 A10.43 항CD38 항체를 비교함으로써 활성을 조사하였다.
- [0245] O-결합 글리코실화된 단백질과 비교하였을 때, 항체 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 O-결합 글리코실화 부위 제거(T106A로 제시)는 온 타겟 활성을 약간 증가시켰고(도 3 및 하기 표 9), 오프 타겟 활성은 조금도 증가시키지 않았다. O-결합 글리코실화된 단백질 및 비글리코실화 단백질, 둘 모두 CD38+ 세포에 대하여 높은 선택성을 보인 반면, 인트론 A는 선택성을 보이지 않았다.

표 9

O-결합 글리코실화 존재 및 부재의,
항CD38 항체-약화된 IFN α2b 융합 단백질 A10.21 및 A10.43의 EC50 및 SI

테스트 물질	EC50 (nM)		SI
	온 타겟	오프 타겟	
인트론 A	0.00017	0.00016	0.90
A10.21 IgG4 (S228P) IFN(A145D, T106T)	0.00240	2.33	972
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	0.00182	2.23	1223
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	0.00560	2.31	412
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	0.00124	2.25	1822

- [0246]
- [0247] 융합 단백질의 약화된 IFN으로부터의 O-결합 글리코실화 부위 제거가 온/오프 타겟 활성에 미치는 영향 또한 유사한 방식으로 조사할 수 있다.
- [0248] 항CD38-약화된 IFN 융합 단백질의, 표적 CD38+ 세포에 대한 선택적 활성, 및 CD38이, 표적 음성 세포 상에서 예상되는 활성을 모방하는 (동일 에피토프를 인식하는) 항CD38 항체로 차단되었을 때의 세포에 대한 제한된 활성을 입증하기 위해 iLite™ 리포터 유전자 온-오프 타겟 활성 어세이를 수행하였다.
- [0249] O-결합 글리코실화된 단백질과 비교하였을 때, (T106A 치환에 의한) 항체 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 O-결합 글리코실화 부위 제거는 온 타겟 활성을 약간 증가시켰고, 오프 타겟 활성은 조금도 증가시키지 않았다. O-결합 글리코실화된 항CD38 항체-약화된 인터페론 융합 단백질 및 비글리코실화 항CD38 항체-약화된 인터페론 융합 단백질, 둘 모두 CD38+ 세포에 대하여 높은 선택성을 보인 반면, 인트론 A는 선택성을 보이지 않았다.
- [0250] 항체 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 O-결합 글리코실화 부위 제거 결과로서 선택성 지수의 조절에 대하여 추가로 조사하기 위해, 온-오프 타겟 활성을 다양한 구성체에서 조사하였다. 조사된 변화는 A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T) 구성체를 기준으로 하였다. 이는 트레오닌 106(T106)의 결실, T106의 세린으로의 치환(T106S), YTE 치환(YTE T106T 및 YTE T106A), 알라닌 145의 글루탐산으로의 치환(A145Q)에 의한 IFN 약화, 및 IgG1로의 다양한 항체 이소타입(IgG1 T106T 및 IgG1 T106A)을 포함하였다.
- [0251] 구성체 대다수는 선택성 지수 >1로 나타났고, 표적화된 CD38+ 세포에 대한 선택성 크기는 항CD38 IFN 융합된 구성체에 따라 달랐다(도 20). A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)에서 선택성이 가장 큰 것으로 관찰되었

다.

[0252] 실시예 4

[0253] 항CD38 항체-약화된 IFN α 2b 융합 단백질의 오프 타겟 활성

[0254] HEK-블루(HEK-Blue)TM IFN- α / β 세포는 ISGF3 경로의 활성화를 모니터링함으로써 생체활성 인간 I형 IFN을 검출할 수 있게 한다. HEK-블루TM IFN- α / β 세포를 IFN- α 로 자극시키면, JAK/STAT/ISGF3 경로는 활성화되고, 이어서, SEAP(IFN- α / β 유도성 ISG54 프로모터 제어하의 리포터 유전자) 생산이 유도된다. 상청액 중의 SEAP의 수준은 콰нти-블루(QUANTI-Blue)TM로 쉽게 측정될 수 있다. 상기 리포터 유전자 어레이를 이용하여 항체 인터페론 융합 단백질의 약화된 인터페론 부분으로부터 O-결합 글리코실화의 제거가 미치는 효과를 평가하였다.

[0255] 항체/Fc 융합 단백질 구성체 제조

[0256] 인터페론 융합 단백질을 발현하는 각종의 일시적으로 형질감염된 세포를 회수하고, Mab 셀렉트 슈어 프로테인 A 칼럼을 사용하여 정제하였다. 샘플을 하이로드 슈퍼텍스 200 칼럼을 사용하여 200 mM 아르기닌, 25 mM 히스티딘 (pH 6.5)으로 탈염시켰다.

표 10

항체 구성체	시열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	48	81	25	87, 31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, Δ T106)	48	81	110	61
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	48	81	25	31
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	49	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	49	81	25	62
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144I, T106A)	48	81	24	63
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145K, T106A)	48	81	25	64

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145G, T106A)	48	81	25	64
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106T)	48	81	109	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R33A, T106A)	48	81	13	65
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145Q, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106T)	48	81	107	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145N, T106A)	48	81	25	66
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144N, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106T)	48	81	108	
A10.21 IgG4 (S228P) IFN (R144H, T106A)	48	81	24	67
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106T)	50	81	107	
A10.21 IgG1 IFN (A145D, T106A)	50	81	25	68
A10.21 IgG1 IFN (A145D, ΔT106)	50	81	110	83
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106T)	51	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A) IFN (A145D, T106A)	51	81	25	69
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (L235A, G237A, M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	52	81	25	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	52	81	107	
A10.21 IgG1 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)		81	25	70
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106T)	53	81	107	

[0258]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A10.21 IgG2 IFN (A145D, T106A)	53	81	25	72
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106T)	54	81	107	
A10.21 IgG2 (M252Y, S254T, T256E) IFN (A145D, T106A)	54	81	25	73
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	55	81	107	
A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	55	81	25	74
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25	
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25	
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	58	84	107	

[0259]

항체 구성체	서열식별번호			
	중쇄	경쇄	IFN	VH + IFN
A02.12 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	58	84	25	77
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106T)	57		107	
OPG-Fc (IgG2) IFN (A145D, T106A)	57		25	78
항CD138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	59	85	107	
항CD138 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	59	85	25	
항HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	60	86	107	
항HLA IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	60	86	25	

[0260]

- [0261] 인트론[®] A를 양성 대조군으로서 사용하였다.
- [0262] HEK-블루 어세이에 의한 오프 타겟 활성 측정
- [0263] "HEK-블루 오프 타겟 어세이"에 기술된 것과 동일한 방법을 사용하되, 단, 시딩된 세포, 희석된 항체 및 사용된 상청액의 부피는 예외로 하여, 항체-IFN 융합물의 오프 타겟 활성을 측정하였다. 본 어세이의 세부 사항은 하기와 같다.
- [0264] HEK-블루[™] IFN-알파/β 세포주(인비보젠(InvivoGen: 미국 캘리포니아주 샌디에고))를 사용하여 인터페론-알파/β 수용체(IFNAR: interferon-alpha/β receptor)에 결합할 수 있는 항체-IFN 융합 구성체의 능력을 정량화하는 데 HEK-블루 오프 타겟 어세이를 이용하였다. 대체로는 HEK-블루 IFN-알파/β 세포주의 제조사에 의해 기술된 바와 같이 "오프 타겟(HB-IFN) 어세이"를 수행하였다. HEK-블루[™] IFN-알파/β 세포는, I형 IFN에 의해 유도되는 JAK-STAT 경로의 활성화를 모니터링하도록 특수 디자인된 것이다. 완전한 활성을 띠는 I형 IFN 신호전달 경로를 얻기 위해 인간 STAT2 및 IRF9 유전자를 HEK293 세포 내로 도입함으로써 세포를 생성하였다. HEK-블루[™] IFN-알파/β 세포는 리포터 유전자인 분비된 배아 알칼리성 포스파타제(SEAP: secreted embryonic alkaline phosphatase)를 ISG54 프로모터의 제어하에서 안정적으로 발현한다. ISG54는 I형 IFN에 의해 ISRE 의존 기전을 통해 활성화되는, 널리 공지된 ISG이다. IFN-알파 또는 IFNβ 자극시, HEK-블루[™] IFN-알파/β 세포는 JAK-STAT 경로를 활성화시킨 후, SEAP 리포터 유전자의 발현을 활성화시킨다. SEAP는 배지로 분비되고, 이는 비색 시약 퀀티블루[™]를 사용하여 정량화될 수 있다.
- [0265] 간략하면, HEK-블루 IFN-알파/β 세포(인비보젠: 미국 캘리포니아주 샌디에고, 카탈로그 번호 hkb-ifnab)를 해동시키고, DMEM 배지(메디아테크: 미국 버지니아주 마나사스, 카탈로그 번호 10-013-CV) + 열 불활성화된 10% FBS(하이클론: 미국 유타주 로간, 카탈로그 번호 SH30070.03)(HI FBS) 중에서 배양하였다. 세포 전면생장률이 60-80%에 도달하였을 때, 세포를 셀 스트리퍼(메디아테크, 카탈로그 번호 25-056-C1)로 리프팅하였다. 세포를 DMEM + HI FBS 중에서 2회에 걸쳐 세척하고, 계수하였다. 세포를 DMEM + HI FBS 중에서 2.77×10^5 개의 생존 가능한 세포/ml로 조정하고, 평평 바닥 96웰 조직 배양 플레이트(이하, "실험 플레이트")로 웰당 180 μ l씩 시딩하였다. 이어서, DMEM + HI FBS에 희석된, IFN-알파2b 또는 융합 단백질 구성체를 웰당 20 μ l씩 첨가하였다. 플레이트를 37°C 5% CO₂에서 16-24시간 동안 인큐베이션시켰다. 제조사의 설명서에 따라 퀀티블루(인비보젠, 카탈로그 번호 rep-qb1)를 제조하였다. 퀀티블루(180 μ l)를 평평 바닥 플레이트(이하, "어세이 플레이트")의 각 웰에 시딩하였다. 이어서, 실험 플레이트로부터 각 웰당 20 μ l의 상청액을 어세이 플레이트로 옮겼다. 어세이 플레이트를 37°C에서 1-3시간 동안 인큐베이션시켰다. 몰레큘라 디바이시스(Molecular Devices)로부터의 모델 스펙트라맥스플러스 384 마이크로플레이트 리더(SpectraMaxPlus 384 Microplate Reader) 상에서 620 nm에서의 어세이 플레이트 흡광도를 관독하였다. 그래프 패드 프리즘을 이용하여 데이터를 분석하였다.
- [0266] IFN α2b 중의 O-결합 글리코실화의 존재 또는 부재가 약화된 IFN 융합된 항CD38 항체의 오프 타겟 활성에 미치는 영향을 평가하였다.
- [0267] 트레오닌 106(T106)을 알라닌으로 치환시킴으로써(T106A로 제시), 또는 T106을 결실시킴으로써(ΔT106으로 제시) 항CD38 항체-약화된 인터페론 융합 구성체의 O-결합 글리코실화 부위를 제거하였다. O-결합 글리코실화의 존재 및 부재의 약화된 IFN α2b에 융합된 X10.21 항CD38 항체를 비교함으로써 오프 타겟 활성에 미치는 효과를 조사하였다.
- [0268] O-결합 글리코실화된 단백질, 즉 A10.21 IgG4 IFN (145D, T106T) 및 A10.21 IgG1 IFN (145D, T106T)와 비교하였을 때, 항체 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중의 O-결합 글리코실화 부위 제거가 오프 타겟 활성을 약간 증가시켰다(도 5). 이러한 경향은 이소타입과 상관없이 일관되게 나타났다(도 5). 그러나, IFN α2b(A145D)는 본 어세이에서 심지어 최고 용량으로 사용된 경우에서도조차 SEAP 유도 수준은 제한될 정도로 매우 약화된 상태이다. 그러므로, EC50은 단지 근사값일 뿐이다.
- [0269] O-결합 글리코실화의 제거를 위해 상이한 아미노산 치환을 갖는 약화된 IFN과 융합된 항체((R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D)))의 오프 타겟 활성을 조사하였다. 모든 가능한 아미노산 치환을 테스트하였고, 구성체는 하기 표 11에 열거되어 있다.

표 11

구성체 명칭	서열식별번호		
	중쇄	경쇄	IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	75	82	107
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106C)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	75	82	25

[0270]

구성체 명칭	서열식별번호		
	중쇄	경쇄	IFN
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106W)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Y)	75	82	25
R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106V)	75	82	25

[0271]

[0272] 이들 각 치환들은 0-글리코실화된 IFN 융합된 항체 R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)와 비교하였을 때, 유사하거나, 또는 약간 더 작은 오프 타겟 활성(EC₅₀ 증가)을 보인 것으로 나타났다. 그러나, IFN α 2b(A145D)는 본 어세이에서 심지어 최고 용량으로 사용된 경우에서도 조차 SEAP 유도 수준은 제한될 정도로 매우 약화된 상태이다. 그러므로, EC50은 단지 근사값일 뿐이다.

[0273] 또 다른 항CD38 항체-약화된 IFN α 2b 구성체의 오프 타겟 활성, 및 T106A 치환에 의한 0-결합 글리코실화 제거가 미치는 영향을 조사하였다. A10.43은 A10.21과 비교하였을 때, 중쇄에 7개의 아미노산 변이를 갖는 반면, 두 구성체는 동일한 경쇄 서열을 공유한다(서열 목록 참조). T106A 치환에 의한 0-결합 글리코실화 부위 제거가 A10.43의 오프 타겟 활성을 약간 증가시켰다는 것이 결과로 입증되었다. 그러나, IFN α 2b(A145D)는 본 어세이에서 심지어 최고 용량으로 사용된 경우에서도 조차 SEAP 유도 수준은 제한될 정도로 매우 약화된 상태이다. 그러므로, EC50은 단지 근사값일 뿐이다.

[0274] 0-결합 글리코실화된 단백질과 비교하였을 때, 항체 인터페론 융합 구성체의 약화된 IFN 부분 중 0-결합 글리코실화 부위 제거는 오프 타겟 활성은 조금도 증가시키지 않았고, 온 타겟 활성은 약간 증가시켰다. 0-결합 글리코실화된 항CD38 항체-약화된 인터페론 융합 단백질 및 비글리코실화 항CD38 항체-약화된 인터페론 융합

단백질, 둘 모두 CD38+ 세포에 대하여 높은 선택성을 보인 반면, 인트론 A는 선택성을 보이지 않았다.

[0275] 실시예 5

[0276] 항CD38-약화된 IFN에의 인간 신생아 Fc 수용체(FcRn) 결합의 평가

[0277] 아민 커플링 프로토콜을 사용하여 비아코어(Biacore) T200 증강 장치 중 CM5 센서의 지정된 활성 플로우 셀 상에 폴리-his-태그부착된 FcRn을 고정시켰고, 동시에, 참조 플로우 셀 상에서는 블랭크 고정을 수행하였다. 용액이 확실하게 플로우 셀 상에 미리 농축되도록 하기 위해 poly-his-태그부착된 FcRn 필스를 활성 표면 상에 주입하였다. 이어서, 표면을 50 mM NaOH로 세척하였다. 참조 표면 및 활성 표면, 둘 모두 50:50 EDC/NHS 믹스로 7분 동안 활성화시켰다. 오직 활성 표면 상에서만 10 mM 아세트산 나트륨(pH 5.0) 중 2 µg/mL로 폴리-his-태그부착된 FcRn 필스를 연속 진행시켰다. 일단 150 RU 표적에 도달하고 나면, 두 표면 모두를 7분 동안 1 M 에탄올아민(pH 8.5)을 이용하여 비활성화시켰다. 본 프로토콜을 통해 대략 150 RU의 폴리-his-태그부착된 FcRn이 활성 표면 상에 고정화되었다. 각 활성 표면을 1회 실행을 위해 사용하였다.

[0278] 제바 스피ن 디솔팅 칼럼(Zeba Spin Desalting Column), 7K MWCO, 0.5 mL(피어스(Pierce) 제품 # 89882)를 사용하여 PBS-P 전개 완충제(DPBS, pH 7.4 및 25°C에서 HCl을 이용하여 pH 6.0으로 조정된 0.005% 트윈-20) 중에서 테스트 항체를 탈염시켰다. 탈염 후, 각 샘플의 농도를 1 mg/mL로 조정하였다.

[0279] 어세이 당일, 1 mg/mL 용액을 전개 완충제 중에서 추가로 희석하여 최고 농도를 제조한 후, 1:2로 희석하여 농축액 시리즈를 제조하였다. 50 µl/분의 유동 속도를 사용하여 표면 상에 테스트 샘플을 통과시켰다. 테스트된 모든 농축액에 대하여 회합 단계는 100초인 반면, 해리 단계는 300초였다. 100 mM 트리스, 50 mM NaCl(pH 8.0)의 60초 주입을 사용하여 테스트 항체를 제거함으로써 활성 표면 및 참조 표면을 재생하였다. 결합 상수는 25°C에서 측정하였다.

[0280] R_{max} 가 국소인 것으로 설정되었고, RI(굴절률: refractive index) 파라미터가 국소 파라미터로 설정된, 2 상태 반응 모델을 사용하여 항체 폴리-his-FcRn 결합 상호작용을 평가하였다. 모든 데이터에 대해 이중으로 참조값을 감산하였는데: 먼저, 텍스트란 매트릭스에 결합하는 항체로부터 생성된 참조 셀(블랭크 고정)에서의 신호를 감산하였고, 이어서, 두 번째로는 활성 표면 상에서 0 nM 항체의 신호를 감산하였다.

[0281] 결합 상수는 각 항체에 대하여 2회 이상의 별도의 실행으로 측정하였다. 각 실행에 대해 양성 대조군으로서 항CD38/IFN 샘플과 함께 프롤리아 로트(Prolia Lot) 1035726을 테스트하였다. k_{a1} , k_{d1} , k_{a2} , k_{d2} 및 K_D 의 평균값을 측정하였다.

[0282] 4개의 항CD38/IFN(A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A), A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T) A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A) A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T))의 FcRn 결합에 대한 평균 동력학적 성질 및 친화도 값을 측정하였다. 본 샘플 세트에서, 클론 A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)이 FcRn에 대해 가장 높은 친화도를 보였다.

[0283] 실시예 6

[0284] 마우스 NCI-H929 다발성 골수종 모델에서의 O-결합 글리코실화의 존재 및 부재의 약화된 인터페론 알파 2b에 융합된 항CD38 항체의 효능

[0285] 약물 및 치료:

표 12

Gr.	N	요법 1			
		작용제	μg/동물	경로	스케줄
1 [#]	8	비이클	20	ip	biwk x 5
2	8	A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	20	ip	biwk x 5
3	8	A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	20	ip	biwk x 5
4	8	A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	20	ip	biwk x 5
5	8	A10.43 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	20	ip	biwk x 5

- 대조군

[0286]

[0287]

절차:

[0288]

· 50% 매트릭젤(Matrigel) 중 1×10^7 개의 H929 종양 세포를 이용하여 CR 암컷 CB.17 SCID 마우스 옆구리에 sc로 셋업한다.

[0289]

· 세포 주사량은 0.2 mL/마우스이다.

[0290]

· 출발일 나이: 8 내지 12주령.

[0291]

· 종양의 평균 크기가 170 - 350 mm³에 도달하였을 때, 쌍 매칭을 수행하고, 처리를 시작한다.

[0292]

· 투약 부피 = 0.2 mL/마우스. 체중에 맞게 조절하지 않는다.

[0293]

· 체중: qd x 5, 이어서, 종료시까지 biwk.

[0294]

· 캘리퍼 측정: 종료시까지 biwk.

[0295]

· 종점 TGD. 동물을 개별적으로 모니터링하여야 한다. 실험 종점은 종양 부피가 2,000 mm³일 때, 또는 60일째일 때로, 어느 경우가 먼저 발생하면 그 시점이 종점이 된다. 반응을 보인 동물에서는 그보다 더 긴 기간 동안 진행될 수 있다. 종점에 도달하였을 때, SOP #687에 따라 동물을 안락사시켜야 한다.

[0296]

본 결과는 도 8에 제시되어 있다. 0-결합 글리코실화 존재 및 부재하에서는 거의 등가인 효능이 관찰되었으며, 종양 성장을 저해하는 데 있어서 아글리코실화된 형태가 약간 더 강력한 효능을 보였다.

[0297]

실시예 7

[0298]

0-결합 글리코실화 존재 및 부재의, 약화된 IFN에 융합된 항CD38 항체의 인간 신생아 Fc 수용체(FcRn) 결합 평가에서, 0-결합 글리코실화 부재의 단백질이 FcRn에 대해 가장 높은 친화도를 보였다. 상기 효과를 사이노물구스 원숭이 및 인간화 FcRn 마우스에서 평가할 수 있다.

[0299]

사이노물구스 원숭이 연구

[0300]

+/- O-glyc 비교를 위한 원숭이 연구 디자인

[0301]

· 유치 카테터를 통하여 하기를 3 mg/kg으로 단일 정맥내 주입(1시간)

[0302]

- A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106A)(n=4)

[0303]

- A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106T)(n=4)

[0304]

- A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106A)(n=4)

[0305]

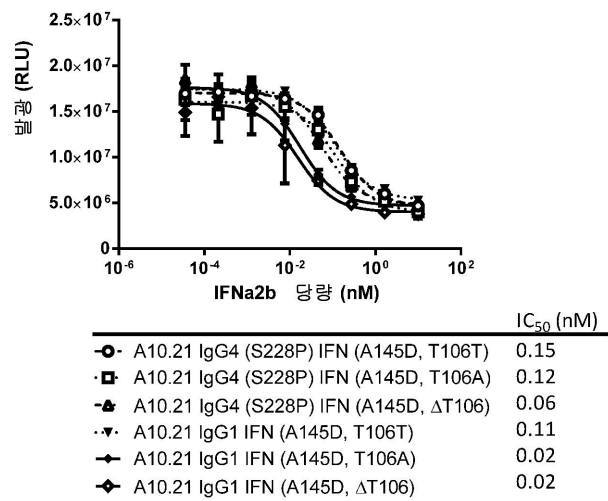
- A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106T)(n=4).

- [0306] · PK 및 PD(즉, 생물학적 효과, 즉, 혈청 네오프테린 수준)을 비교한다.
- [0307] · PK: 모든 원숭이, ≤ 1 ml, 11개 시점(투약 이전, 0분(주입 종료 후 즉시), 주입 후 2, 6, 12, 24, 48, 96, 120, 168 및 240시간째. ELISA에 의해 샘플(80)을 분석한다.
- [0308] · TK 모델링: WinNonlin 테이블 어셈블리(WinNonlin Table Assembly)(비구획 분석).
- [0309] · 임상 병리: 혈액학적 성질 및 혈액 화학적 성질 - 모든 원숭이, 3차례 (치료 이전, 투약 후 24시간째 및 8일째).
- [0310] · 혈청 네오프테린 - 모든 원숭이, 5개의 시점(투약 이전, 투약 후 12, 24, 96, 168시간째)에 3차례.
- [0311] 인간화 *FcRn* 마우스에서의 약동학적 성질 연구
- [0312] 1. 1일째 서른 두 마리(32마리)의 B6.Cg-*Fcgr*^{tm1Dcr}Tg(CAG-FCGRT)276Dcr/DcrJ(JAX 스톡 번호 004919) 암컷 마우스에 1 mg/kg의
 - [0313] - A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106A)(n=8)
 - [0314] - A10.21 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106T)(n=8)
 - [0315] - A10.43 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106A)(n=8)
 - [0316] - A10.43 IgG4 (S228P) IFN (145D, T106T)(n=8)을 IP 주사에 의해 투약한다.
- [0317] 2. 투약 3일 전, 투약 당일 및 그 이후 매주 체중을 측정한다.
- [0318] 3. 케이지 사이드 관찰은 매일 수행하고, 임상적 관찰은 매주 수행한다.
- [0319] 4. 약동학적 성질 혈액 수집: 투약 3일 전 및 투약 후 1, 12, 24, 48 및 72시간, 및 5, 7, 10, 및 14일째 마우스에서 채혈한다(25 μ l). 2개의 코호트에 있는 마우스에서 채혈한다(4마리 마우스/군/코호트).
- [0320] 5. 14일째 마우스 모두 희생시킨다. 최종의 심장천자를 수행하여 혈액을 수집한다.
- [0321] 6. 혈액을 리튬 헤파린 튜브에 수집하고, 4°C에서 2 min 동안 10,000 rpm으로 원심분리한다.
- [0322] 7. A10.21 IgG4 IFN(145D) A106, A10.21 IgG4 IFN(145D) T106, A10.43 IgG4 IFN(145D) A106 또는 A10.43 IgG4 IFN(145D) T106에 대한 결합 ELISA에 의해 분석하기 전에 혈장 샘플을 PBS 중에서 1:10으로 희석하여, 냉동시킨다.

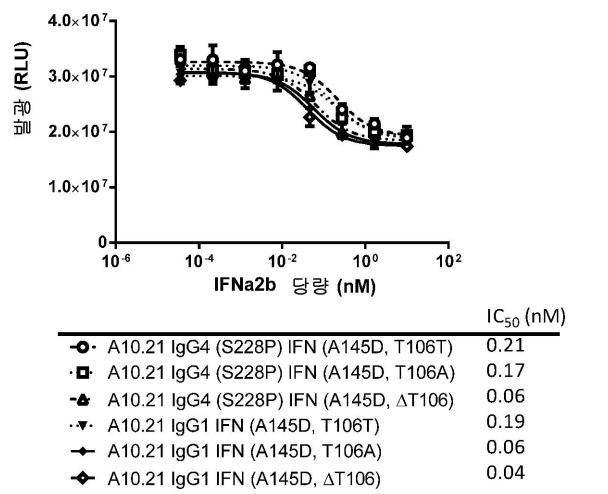
도면

도면1

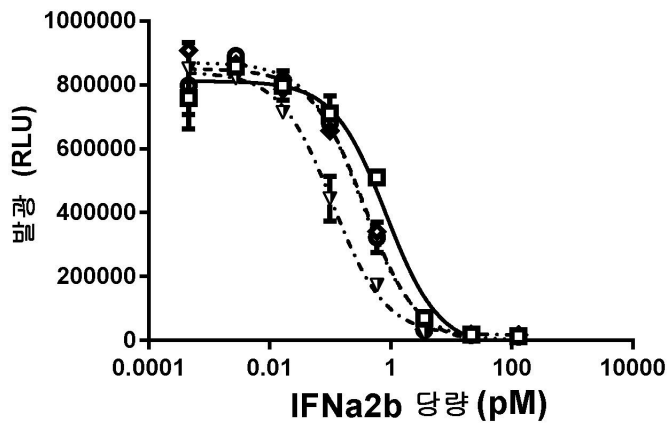
A.



B.

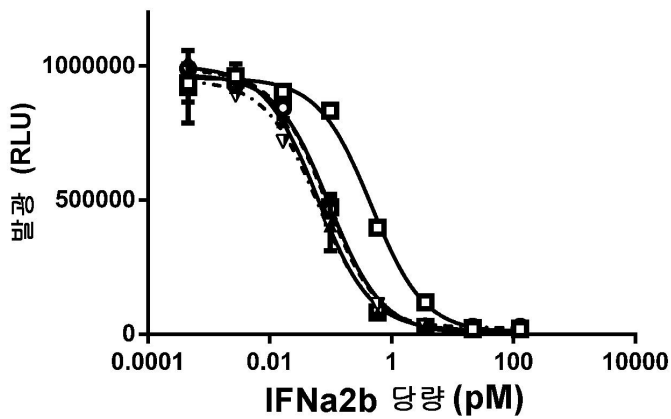


도면2a



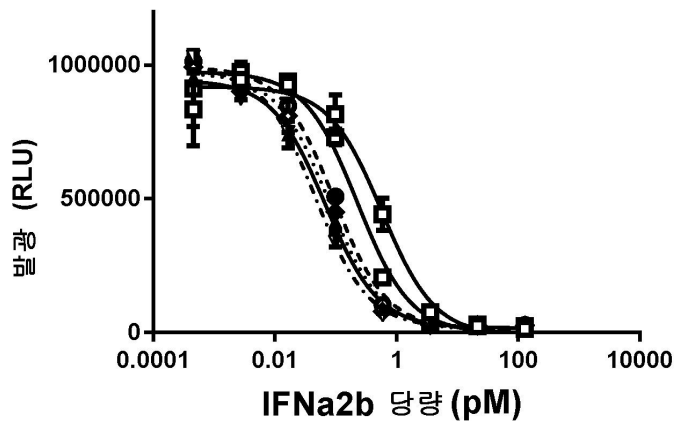
	IC ₅₀ (pM)
□ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	0.84
▽ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)	0.11
◆ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106D)	0.33
● R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106E)	0.37

도면2b



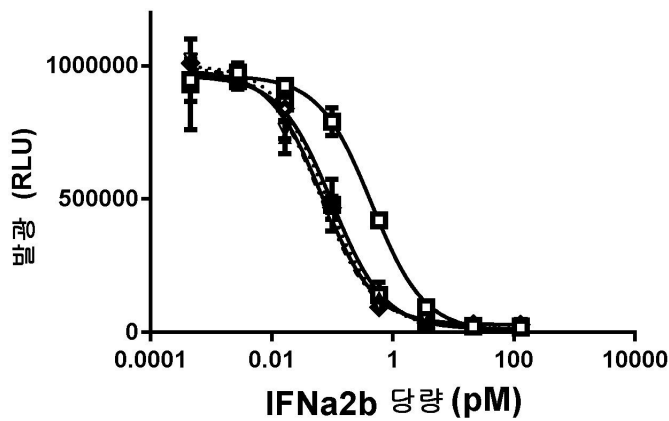
	IC ₅₀ (pM)
□ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	0.46
▲ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106F)	0.06
▽ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106G)	0.06
● R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106H)	0.08
□ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106I)	0.09

도면2c



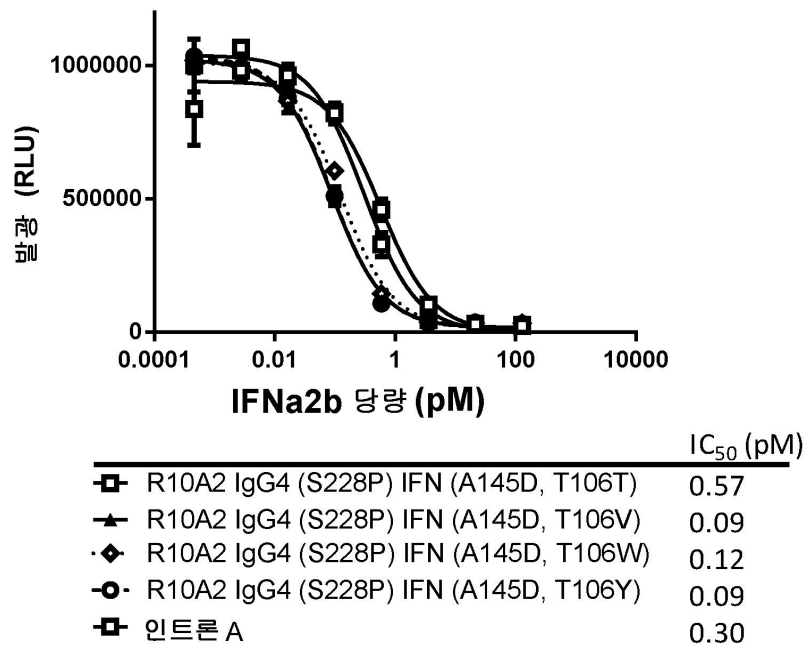
	IC ₅₀ (pM)
□ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	0.57
▲ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106K)	0.07
▼ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106L)	0.05
◆ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106M)	0.08
● R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106N)	0.09
□ 인트론 A	0.22

도면2d



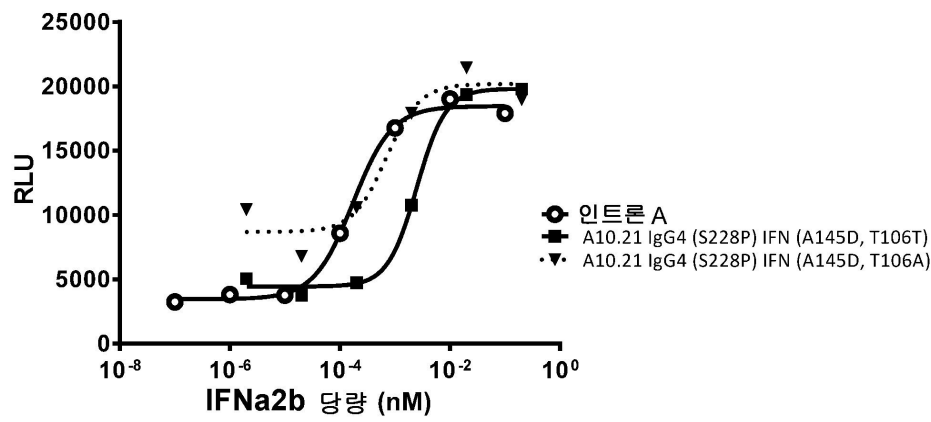
	IC ₅₀ (pM)
□ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106T)	0.45
▲ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106P)	0.07
▼ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106Q)	0.06
◆ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106R)	0.08
■ R10A2 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106S)	0.10

도면2e

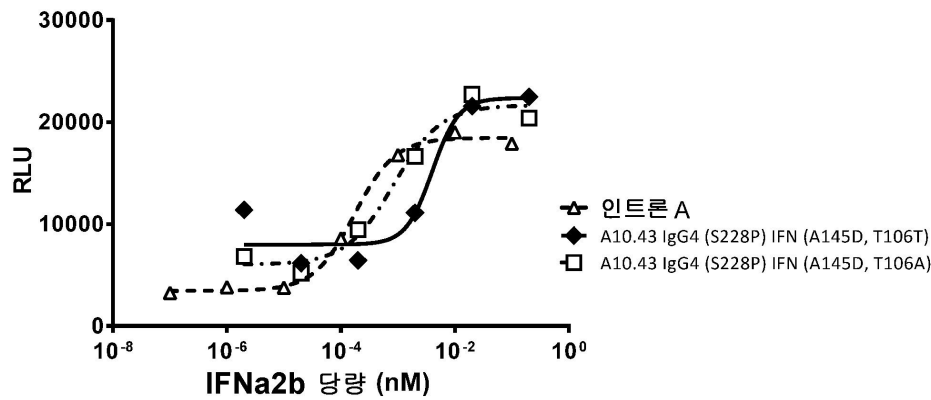


도면3

A.

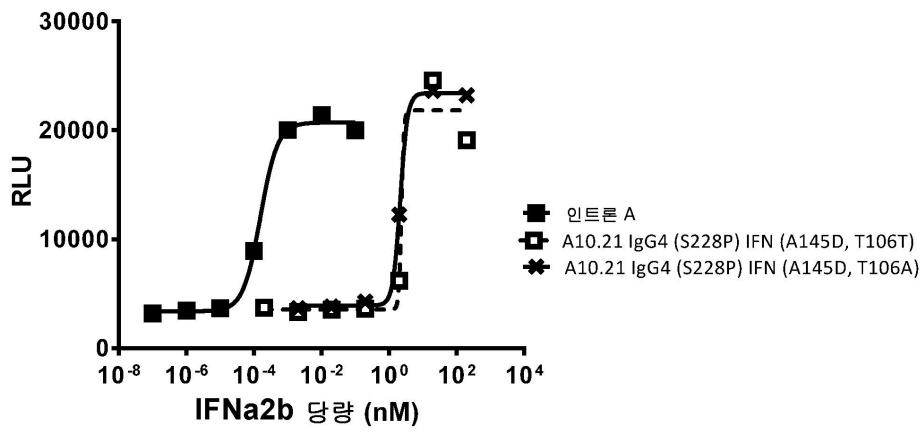


B.

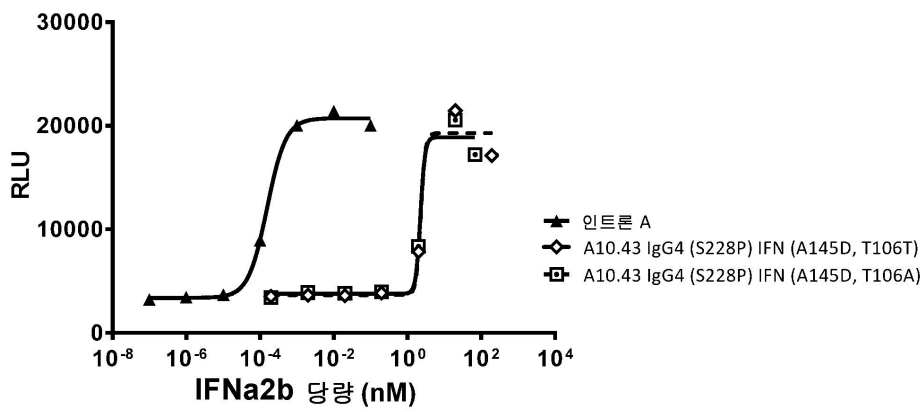


도면4

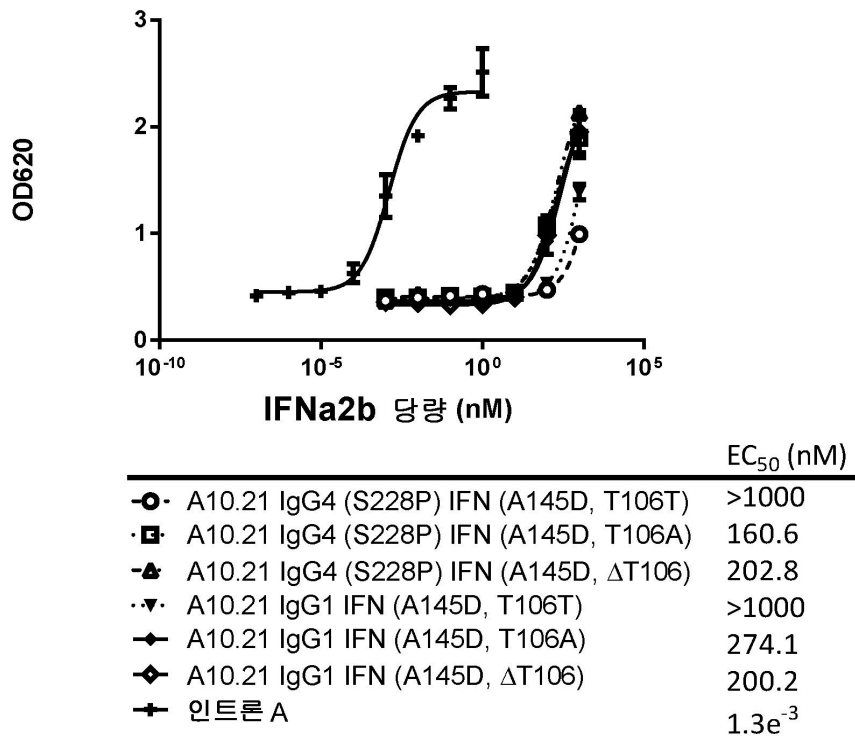
A.



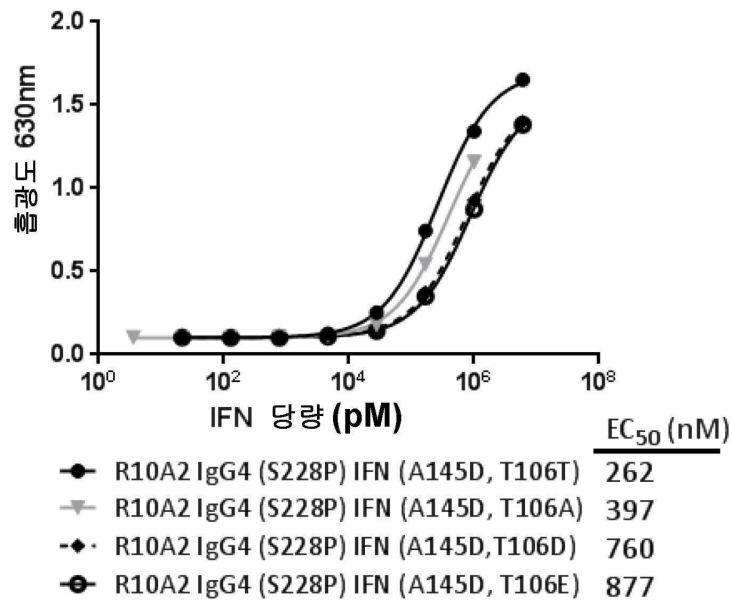
B.



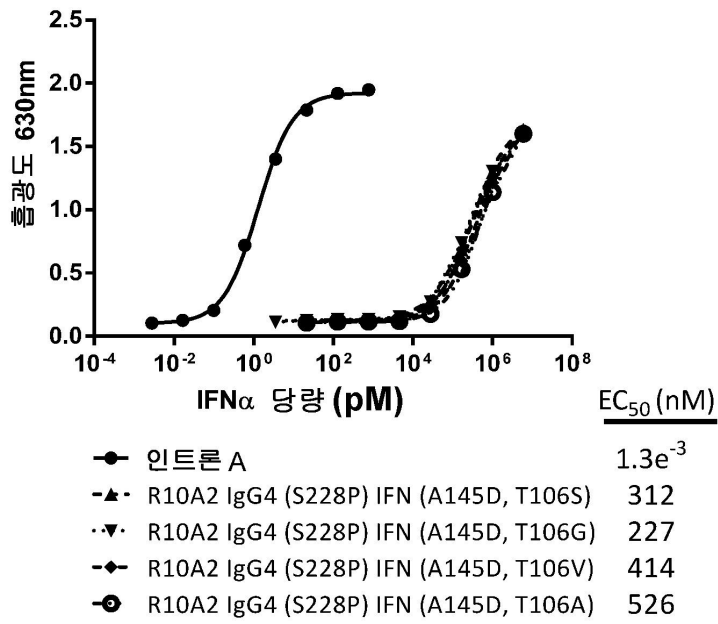
도면5



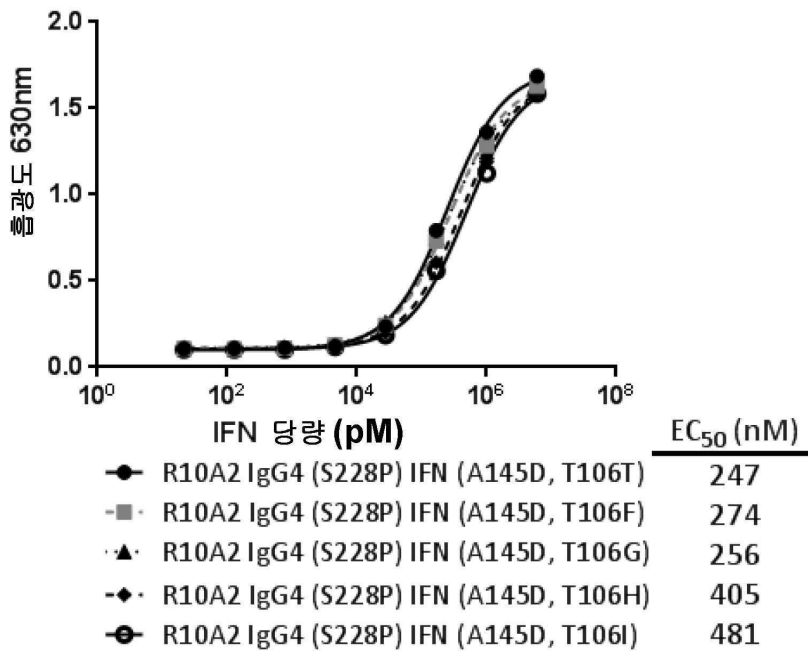
도면6a



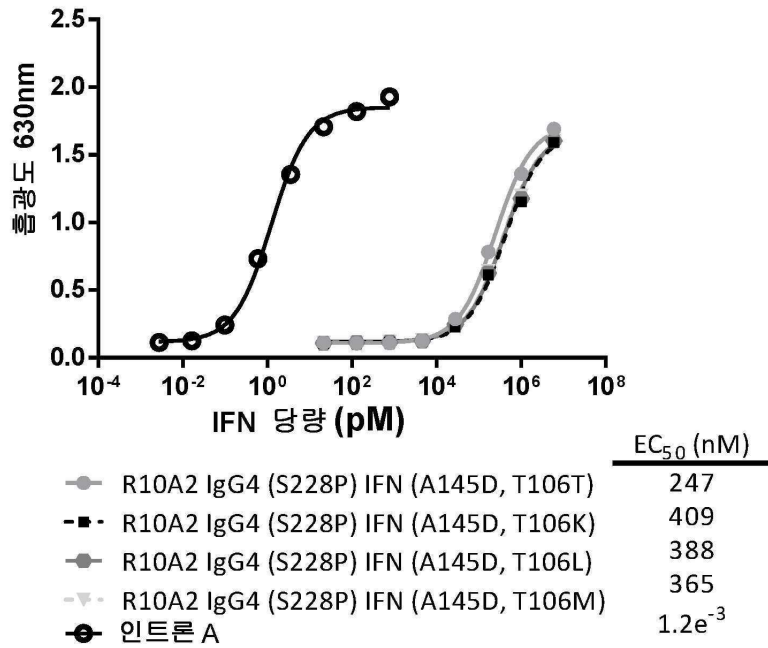
도면6b



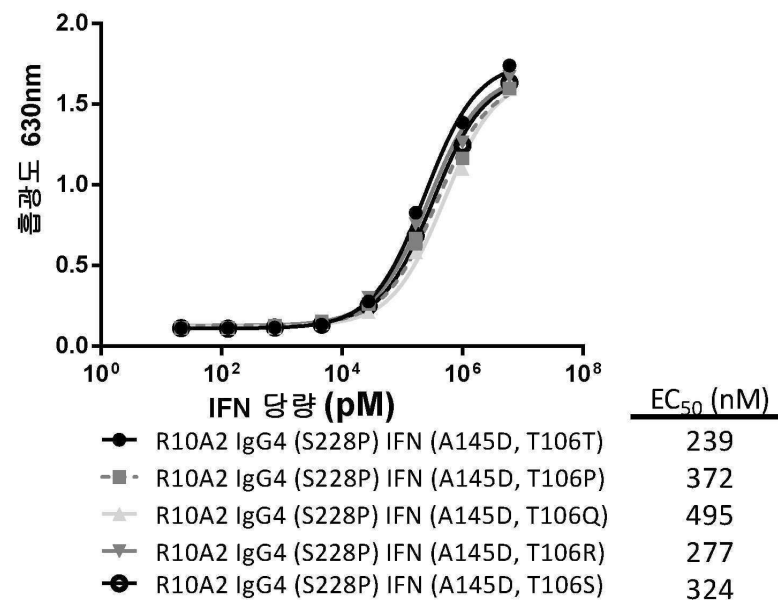
도면6c



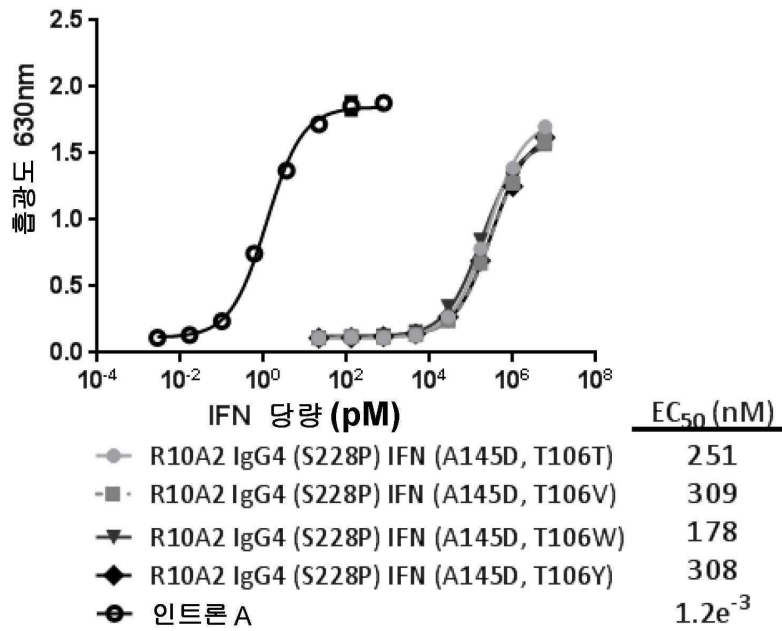
도면6d



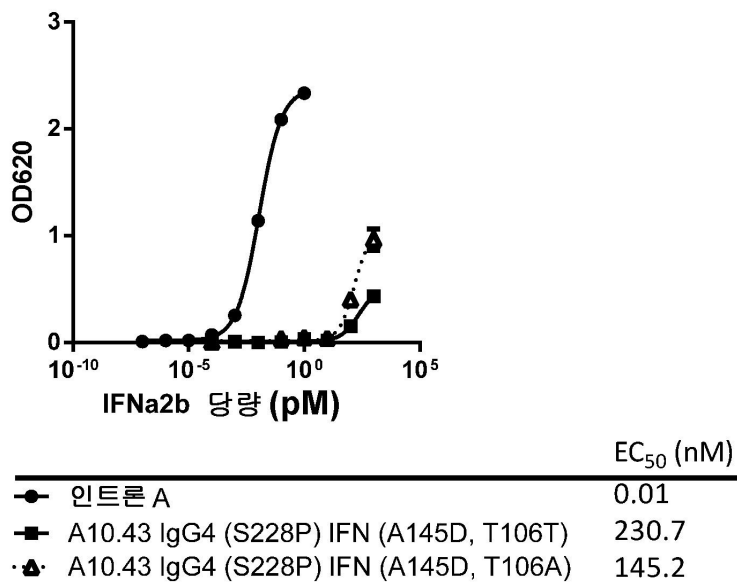
도면6e



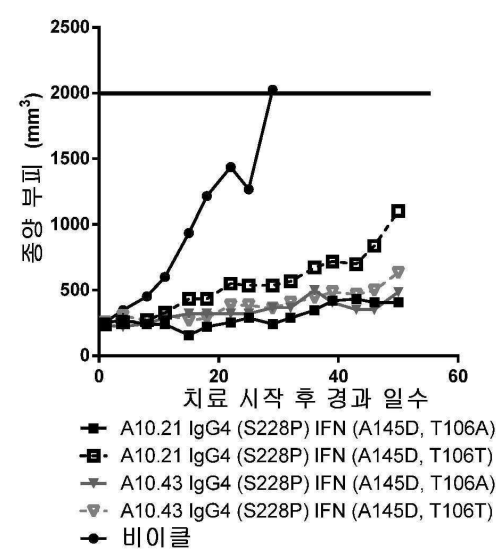
도면6f



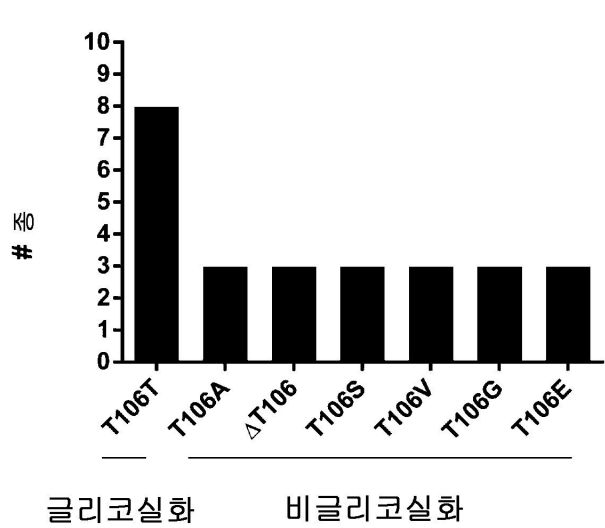
도면7



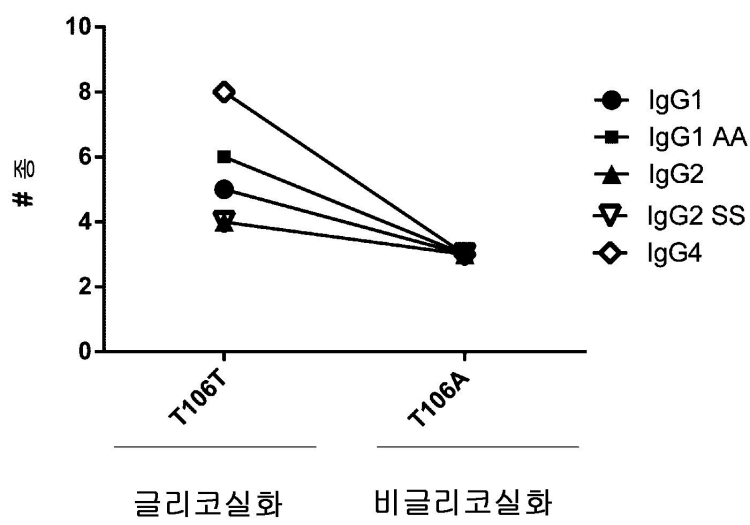
도면8



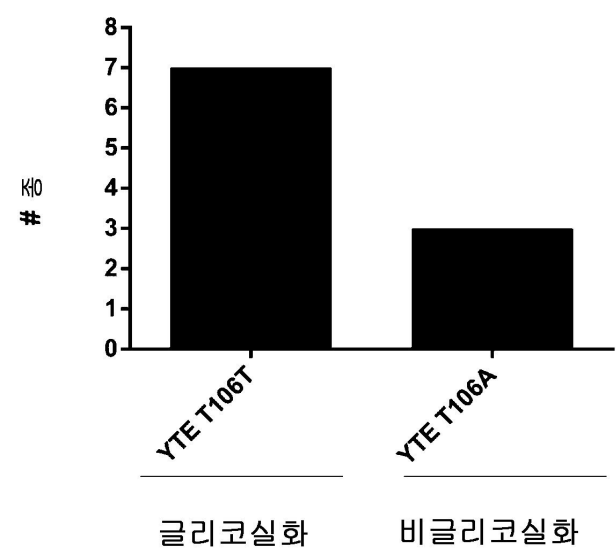
도면9



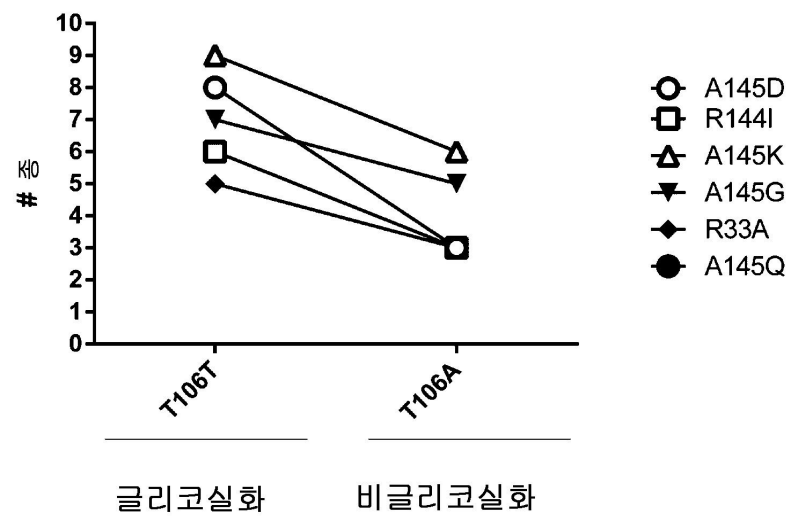
도면10



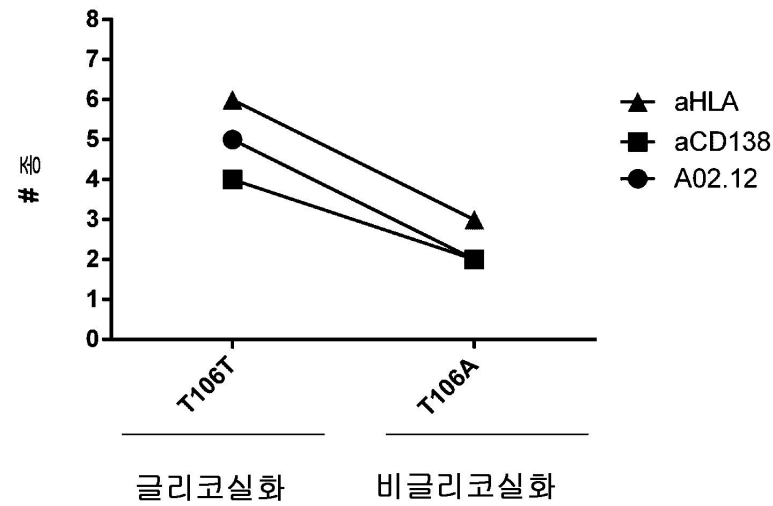
도면11



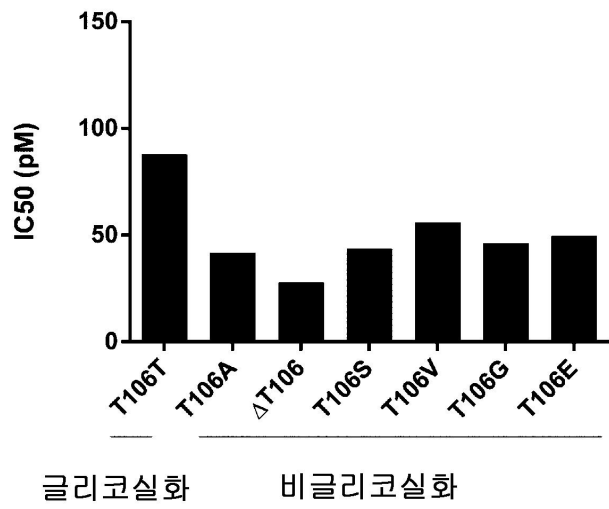
도면12



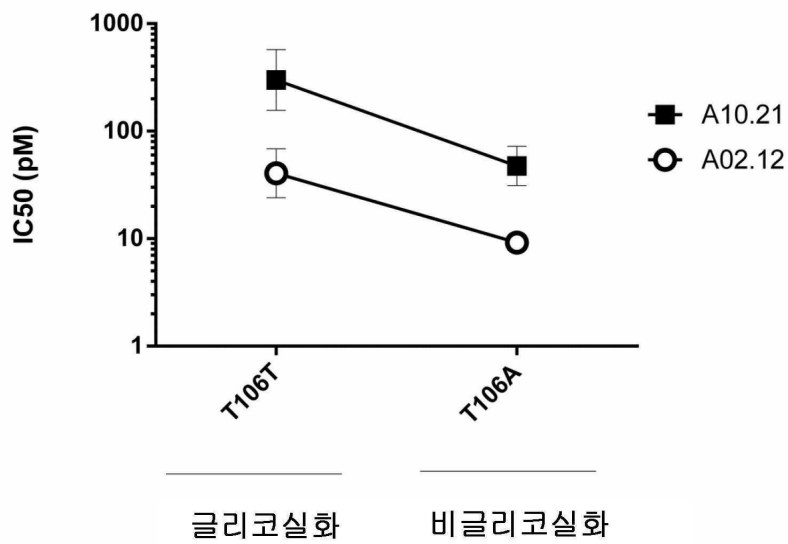
도면13



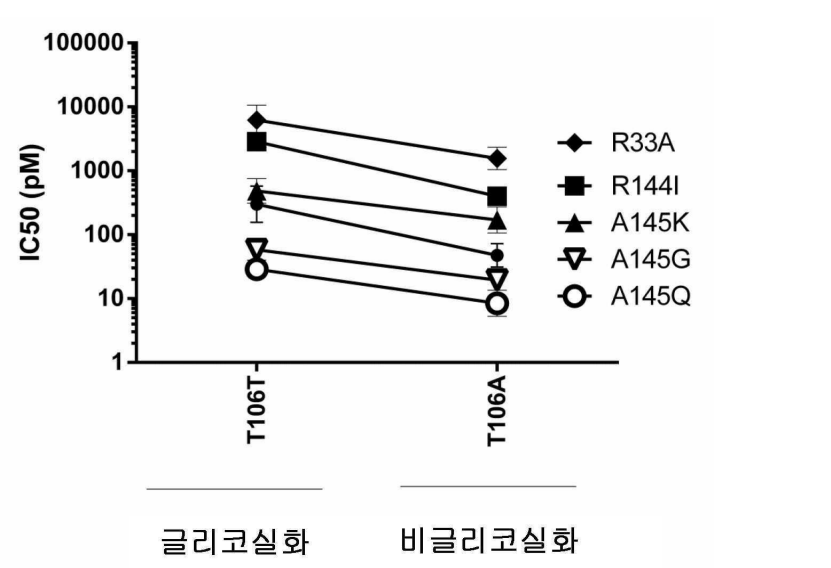
도면14



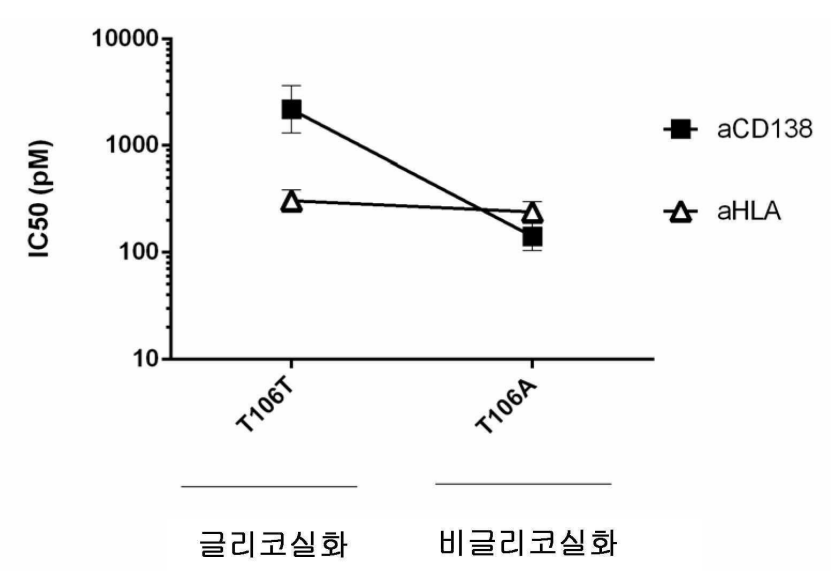
도면15



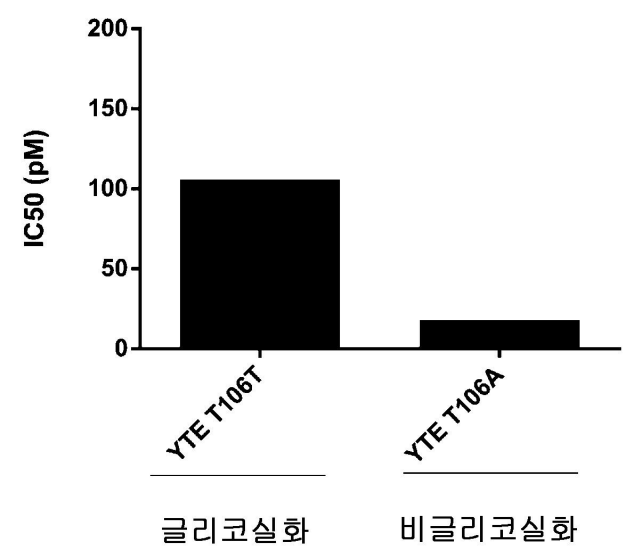
도면16



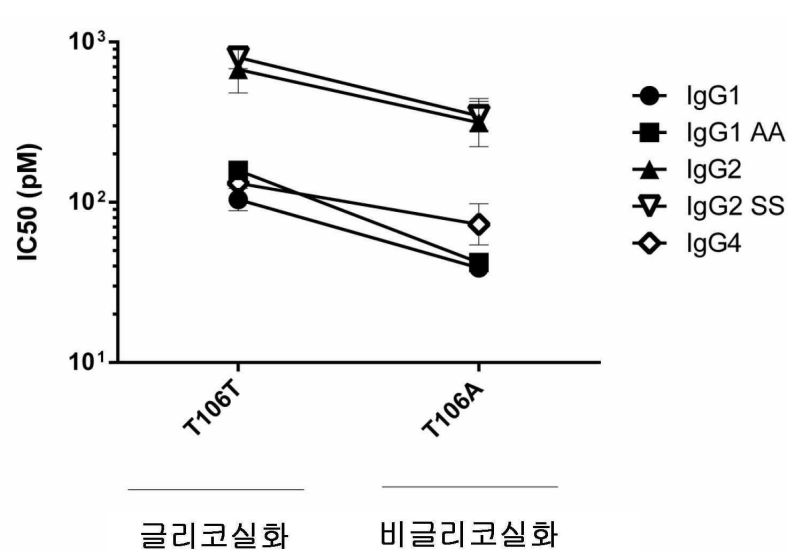
도면17



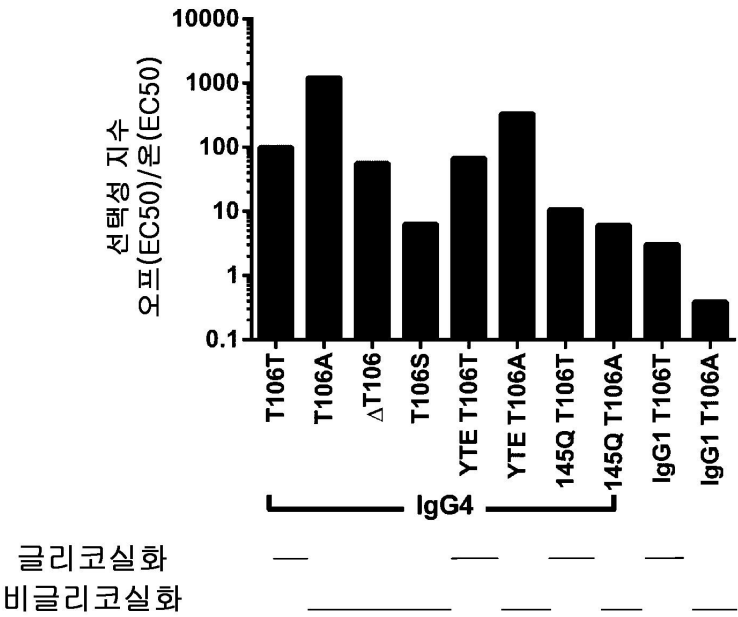
도면18



도면19



도면20



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Teva Pharmaceuticals Australia Pty Ltd

<120> Interferon alpha 2b variants

<130> 35241105/WJP

<160> 112

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human interferon alpha-2-b with mutation at amino acid position
106

<220><221> VARIANT

<222> (106)..(106)

<223> Xaa can be any amino acid selected from A, C, D, E, F, G, H, I,
K, L, M, N, P, Q, R, V, W, Y

<400> 1

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

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

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

130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 2

<211> 164

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human Interferon alpha-2-b with deletion of amino acid at
 position 106

<400> 2

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

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

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 100 105 110
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 115 120 125
 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala
 130 135 140

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 145 150 155 160
 Arg Ser Lys Glu

<210> 3

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutation L15A

<400> 3

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Ala Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45
 Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60
 Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80
 Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 4
 <211> 165
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutation A19W

<400> 4
 Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Trp Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

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

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 5

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation R22A

<400> 5

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Ala Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210

> 6

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation R23A

<400> 6

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Ala Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 7

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutation S25A

<400> 7

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

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

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 8

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation L26A

<400> 8

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

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

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

130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 9

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation F27A

<400> 9

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Ala Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 10

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation L30X, where X can be any amino acid selected
from A, V

<220><221> VARIANT

<222> (30)..(30)

<223> Xaa can be any amino acid selected from A, V

<400> 10

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

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

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

130	135	140
Ala	Glu	Ile
Met	Arg	Ser
Phe	Ser	Leu
Ser	Thr	Asn
Leu	Gln	Glu
Ser		
145	150	155
160		
Leu	Arg	Ser
Lys	Glu	
165		

<210> 11

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation K31A

<400> 11

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Ala Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 12

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation D32A

<400> 12

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Ala

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 13

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation R33X, where X can be any amino acid selected

from K, A, Q

<220><221> VARIANT

<222> (33)..(33)

<223> Xaa can be any amino acid selected from K, A, Q

<400> 13

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Xaa His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 14

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutation H34A

<400> 14

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg Ala Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 15

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutation Q40A

<400> 15

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30
Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Ala Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60
Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80
Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 16

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation D114R

<400> 16

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

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

Ala	Cys	Val	Ile	Gln	Gly	Val	Gly	Val	Ala	Glu	Thr	Pro	Leu	Met	Lys	
			100						105						110	
Glu	Arg	Ser	Ile	Leu	Ala	Val	Arg	Lys	Tyr	Phe	Gln	Arg	Ile	Thr	Leu	
			115						120						125	
Tyr	Leu	Lys	Glu	Lys	Lys	Tyr	Ser	Pro	Cys	Ala	Trp	Glu	Val	Val	Arg	
			130						135						140	
Ala	Glu	Ile	Met	Arg	Ser	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Glu	Ser	
			145						150						155	
															160	

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 17

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation L117A

<400> 17

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

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

100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Ala Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210

> 18

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutation R120X where X can be any amino acid selected
 from A, E

<220><221> VARIANT

<222> (120)..(120)

<223> Xaa can be any amino acid selected from A, E

<400> 18

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20

25

30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Xaa Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 19

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation R125X where X can be any amino acid selected
from A, E

<220><221> VARIANT

<222> (125)..(125)

<223> Xaa can be any amino acid selected from A, E

<400> 19

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

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

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Xaa Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 20

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutation K131A

<400> 20

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Ala Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 21

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation E132A

<400> 21

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80
 Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Ala Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 22

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutation K133A

<400> 22

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

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Ala Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210

> 23

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutation K134A

<400> 23

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

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

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Ala Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 24

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutation R144X where X can be any amino acid selected
from A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V, Y

<220><221> VARIANT

<222> (144)..(144)

<223> Xaa can be any amino acid selected from A, D, E, G, H, I, K, L,
N, Q, S, T, V, Y

<400> 24

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

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

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Xaa
130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 25

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation A145X where X can be any amino acid selected
from D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, Y

<220><221> VARIANT

<222> (145)..(145)

<223> Xaa can be any amino acid selected from D, E, G, H, I, K, L, M,
N, Q, R, S, T, V, Y

<400> 25

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

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

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Xaa Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 26

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation M148A

<400> 26

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140

Ala Glu Ile Ala Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 27

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutation R149A

<400> 27

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

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

85 90 95
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Ala Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 28

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation S152A

<400> 28

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ala Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145	150	155	160
Leu Arg Ser Lys Glu			
165			
<210>	29		
<211>	165		
<212>	PRT		
<213>	Artificial		
<220><223>	Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising attenuating mutation L153A		
<400>	29		
Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met			
1	5	10	15
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp			
	20	25	30
Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln			
	35	40	45
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe			
50	55	60	
Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu			
65	70	75	80
Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu			
	85	90	95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys			
	100	105	110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu			
115	120	125	
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg			
130	135	140	
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Ala Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser			
145	150	155	160
Leu Arg Ser Lys Glu			
165			

<210

> 30

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation N156A

<400> 30

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Ala Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 31

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A592D, T553X) where X can be any amino

acid selected from A, G, E, S, V

<220><221> VARIANT

<222> (553)..(553)

<223> Xaa can be any amino acid selected from A, G, E, S, V

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys

435 440 445
Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu

450 455 460
Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg

465 470 475 480
His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys

485 490 495
Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn

500 505 510
Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu

515 520 525
Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala

530 535 540
Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Xaa Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

545 550 555 560
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr

565 570 575
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp

580 585 590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu

595 600 605
Arg Ser Lys Glu

610
<210> 32

<211> 165
<212> PRT

<213> Artificial
<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutations L30A, H57Y, E58N and Q61S
<400> 32

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Ala Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 33

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutations R33A, H57Y, E58N and Q61S

<400> 33

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Ala His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu Tyr Asn Met Ile Ser Gln Ile Phe
50 55 60

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

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 34

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutations M148A, H57Y, E58N and Q61S

<400> 34

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

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

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 35

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutations L153A, H57Y, E58N and Q61S

<400> 35

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

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

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Ala Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 36

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutations R144A, H57Y, E58N and Q61S

<400> 36

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

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

85 90 95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Ala

130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 37

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutations N65A,L80A, Y85A, Y89A

<400> 37

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Ala Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Ala

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210> 38

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutations N65A,L80A, Y85A, Y89A and D114A

<400> 38

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

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

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110
 Glu Ala Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 39

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutations N65A,L80A, Y85A, Y89A and L117A

<400> 39

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Ala Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Ala

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Ala Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 40

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutations N65A,L80A, Y85A, Y89A and R120A

<400> 40

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Ala Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Ala

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Ala Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 41

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutations Y85A, Y89A and R120A

<400> 41

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Ala Thr Glu Leu Ala Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Ala Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210

> 42

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutations D114A,R120A

<400> 42

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Ala Ser Ile Leu Ala Val Ala Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210

> 43

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising

attenuating mutations L117A,R120A

<400> 43

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

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

 100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Ala Ala Val Ala Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu
 165

<210

> 44

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutations L117A,R120A,K121A

<400> 44

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110

Glu Asp Ser Ile Ala Ala Val Ala Ala Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210

> 45

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutations R120A,K121A

<400> 45

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60
Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80
Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Ala Ala Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210

> 46

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutations R120E,K121E

<400> 46

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

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

 100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Glu Glu Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210

> 47

<211> 160

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Aglycosylated (T106A) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating deletion of residues L161-E165

<400> 47

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

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

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys

100 105 110
Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu

115 120 125
Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg

130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

145 150 155 160

<210> 48

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted as IgG4 incorporating hinge
stabilisation substitution S228P

<400> 48

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175

 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240

 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365

 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 49

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted as an IgG4 incorporating hinge
 stabilisation substitution S228P and YTE residues substituted in
 positions 252, 254, 256 respectively

<400> 49

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro			
210	215	220	
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu			
245	250	255	
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu			
260	265	270	
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
275	280	285	
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
290	295	300	
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
305	310	315	320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile			
325	330	335	
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
340	345	350	
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
355	360	365	

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 50

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted as an IgG1

<400> 50

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
210	215	220	
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
245	250	255	
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
260	265	270	
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
275	280	285	
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg			
290	295	300	
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
325	330	335	
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
340	345	350	
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
355	360	365	

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys

450

<210> 51

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted as an IgG1 incorporating
substitutions L238A and G240A to reduce effector function

<400> 51

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

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

35

40

45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445
Gly Lys

450

<210> 52

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted as an IgG1 incorporating
substitutions L235A and G237A (reduce effector function) and
M255Y, S257T, T259E

<400> 52

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

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

20 25 30
Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile

245 250 255

Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

 325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

 340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

 355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

 370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

 405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

 420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

 435 440 445
Gly Lys

450

<210> 53

<211> 446

<212

> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted onto an IgG2 backbone

<400> 53

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

50

55

60

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

100

105

110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115

120

125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180

185

190

Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195

200

205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val

210

215

220

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe

225

230

235

240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245

250

255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260

265

270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275

280

285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val

290 295 300
Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335
Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 54

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted onto an IgG2 backbone
incorporating substitutions M251Y, S253T and T255E

<400> 54

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35	40	45	
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe			
50	55	60	
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln			
100	105	110	
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val			
210	215	220	
Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe			
225	230	235	240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro			
245	250	255	
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val			
260	265	270	
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr			
275	280	285	

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 290 295 300

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

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

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

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

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

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400

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

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

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 55

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.43 formatted onto an IgG4 backbone
 incorporating the hinge stabilisation substitution S228P

<400> 55

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 Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Asp Ser
 20 25 30

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

35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

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

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

 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

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

385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 56

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.152 formatted as an IgG4 incorporating the
hinge stabilisation substitution S228P

<400> 56

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

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

35	40	45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala		
130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro		
210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu		
260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

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

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

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

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

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

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

<210> 57

<211> 401

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> OPG-Fc construct

<400> 57

Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His
1 5 10 15

Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His
20 25 30

Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr

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

100 105 110
Gly Thr Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe
115 120 125
Phe Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn
130 135 140
Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr His
145 150 155 160
Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Glu Arg Lys

165 170 175
Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro
180 185 190
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
195 200 205
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
210 215 220
Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

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

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

290 295 300

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

305 310 315 320

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

325 330 335

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu

340 345 350

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

355 360 365

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

370 375 380

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

385 390 395 400

Lys

<210> 58

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> X2.12 VH sequence formatted as an IgG4 (S228P)

<400> 58

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr

325 330 335

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

340 345 350

Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440 445

<210> 59

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-CD138 VH sequence formatted onto an IgG4 (S228P) backbone

<400> 59

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Leu Pro Gly Thr Gly Arg Thr Ile Tyr Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

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

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

370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435 440 445
 Lys

<210> 60

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-HLA VH sequence formatted onto IgG4 incorporating the hinge
 stabilising substitution S228P

<400> 60

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Ser Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Thr Ser Tyr
 20 25 30

Gly Val His Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu
 35 40 45
 Gly Val Ile Trp Ser Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Asn Ala Ala Phe Ile

50	55	60	
Ser Arg Leu Ser Ile Arg Lys Asp Asn Ser Lys Ser Gln Val Phe Phe			
65	70	75	80
Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala			
	85	90	95
Arg Thr Phe Thr Thr Ser Thr Ser Ala Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln			
	100	105	110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ala Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
	115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala			
	130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
	165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
	180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys			
	195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro			
	210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr			
	245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu			
	260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
	275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
	290	295	300

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445

<210> 61

<211> 611

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21VH sequence formatted onto IgG4 backbone incorporating
 hinge stabilisation substitution S228P and the deletion of
 Threonine residue at position 553 (ie:T106 in interferon
 sequence)

<400> 61

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

35	40	45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala		
130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro		
210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu		
260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320

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

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys
 435 440 445

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 450 455 460
 Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
 465 470 475 480
 His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495
 Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525
 Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala

530 535 540
 Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp
 545 550 555 560
 Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu
 565 570 575

Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp Glu
 580 585 590
 Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg
 595 600 605

Ser Lys Glu

610

<210> 62

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG4 IFN

<400> 62

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

Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30

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

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro			
210	215	220	
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val			
225	230	235	240
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu			
245	250	255	
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu			
260	265	270	
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys			
275	280	285	
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser			
290	295	300	
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys			
305	310	315	320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile			
325	330	335	
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro			
340	345	350	
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu			
355	360	365	

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

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

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

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys
435 440 445

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
545 550 555 560

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp
580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
595 600 605

Arg Ser Lys Glu

610

<210> 63

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG4 IFN

<400> 63

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro		
210	215	220
Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val		
225	230	235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr		
245	250	255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu		
260	265	270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys		
275	280	285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser		
290	295	300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys		
305	310	315
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile		
325	330	335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro		
340	345	350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu		
355	360	365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn		
370	375	380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser		
385	390	395
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg		
405	410	415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu		
420	425	430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys		
435	440	445

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
545 550 555 560

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Ile Ala
580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
595 600 605

Arg Ser Lys Glu
610

<210> 64

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG4 IFN

<220><221> VARIANT

<222> (592)..(592)

<223> Where Xaa can be any amino acid selected from G, K

<400> 64

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

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

 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln

 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val

 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320
Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350
Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
405 410 415
Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys
435 440 445
Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
450 455 460
Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
465 470 475 480
His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
485 490 495
Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn

500 505 510
 Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525
 Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540
 Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

545 550 555 560
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575
 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Xaa
 580 585 590
 Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605
 Arg Ser Lys Glu

610

<210> 65

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG4 IFN

<400> 65

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

50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

 245 250 255
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu
 260 265 270
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys
 435 440 445
 Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 450 455 460
 Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Ala
 465 470 475 480
 His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495
 Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510
 Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525
 Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540
 Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575
 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala

580 585 590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
595 600 605
Arg Ser Lys Glu
610
<210> 66
<211> 612
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> A10.21 IgG4 IFN
<220><221> VARIANT
<222> (592)..(592)
<223> Where Xaa can be any amino acid selected from the group Q, N

<400> 66
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190

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

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

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

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

385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys
 435 440 445

 Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 450 455 460
 Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
 465 470 475 480
 His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 485 490 495
 Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510

 Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525
 Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540
 Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 545 550 555 560
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 565 570 575

 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Xaa
 580 585 590
 Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 595 600 605
 Arg Ser Lys Glu
 610
 <210> 67
 <211> 612
 <212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG4 IFN

<220><221> VARIANT

<222> (591)..(591)

<223> Where Xaa can be any amino acid selected from H, N

<400> 67

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

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

20 25 30
Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln

100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser

145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val

165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

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

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

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

 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys
 435 440 445

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu

450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg

465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys

485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn

500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu

515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala

530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

545 550 555 560

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

565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Xaa Ala

580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu

595 600 605

Arg Ser Lys Glu

610

<210> 68

<211> 615

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG1 IFN

<400> 68

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

1 5 10 15

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

20	25	30	
Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe			
50	55	60	
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln			
100	105	110	
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
210	215	220	
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
245	250	255	
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
260	265	270	

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr
450 455 460
Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu

465 470 475 480
Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln
485 490 495

Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
500 505 510
Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu

515 520 525
 Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp

530 535 540
 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu
 545 550 555 560
 Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile
 565 570 575
 Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val
 580 585 590
 Val Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln

595 600 605

Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu

610 615

<210> 69

<211> 615

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG1 IFN

<400> 69

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

35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

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

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr

450 455 460

Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu

465 470 475 480

Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln

485 490 495
Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln

500 505 510

Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu

515 520 525

Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp

530 535 540

Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu

545 550 555 560

Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile

565 570 575

Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val

580 585 590

Val Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln
595 600 605

Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
610 615

<210> 70
<211> 615
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> A10.21 IgG1 IFN
<400> 70

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp

210 215 220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile

245 250 255
Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

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

305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445
Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr

450 455 460
Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu

465 470 475 480
Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln

485 490 495
Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln

500 505 510
Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu

515 520 525
Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp

530 535 540
Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu

545 550 555 560
Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile

565 570 575
Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val

580 585 590
Val Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln

595 600 605
Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu

610 615

<210> 71

<211> 615

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG1 IFN

<400> 71

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

1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala

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

195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
 210 215 220
 Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Ala Gly Ala
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile

245 250 255
Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu

260 265 270
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

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

305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu

325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445
Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr

450 455 460
Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu

465 470 475 480
Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln

485 490 495

Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 500 505 510
 Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
 515 520 525
 Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
 530 535 540
 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu
 545 550 555 560
 Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile
 565 570 575
 Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val
 580 585 590
 Val Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln
 595 600 605
 Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 610 615
 <210> 72
 <211> 611
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> A10.21 IgG2 IFN
 <400> 72
 Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val

210 215 220

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335
 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Cys Asp
 435 440 445
 Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu
 450 455 460
 Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His

 465 470 475 480
 Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala
 485 490 495
 Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu
 500 505 510
 Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp
 515 520 525
 Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys

 530 535 540
 Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp
 545 550 555 560
 Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu
 565 570 575

Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp Glu
580 585 590
Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg
595 600 605
Ser Lys Glu
610
<210> 73
<211> 611
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> A10.21 IgG2 IFN
<400> 73
Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30
Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
100 105 110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val

210 215 220

Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile Thr Arg Glu Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Cys Asp

435 440 445
Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu

450 455 460
Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His

465 470 475 480
Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala

485 490 495
Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu

500 505 510
Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp

515 520 525
Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys

530 535 540
Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp

545 550 555 560
Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu

565 570 575
Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp Glu

580 585 590
Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg

595 600 605
Ser Lys Glu

610

<210> 74

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.43 IgG4 IFN

<400> 74

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 Val Ser Gly Tyr Thr Leu Thr Asp Ser

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

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

340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys

435 440 445

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu

450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg

465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys

485 490 495
Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn

500 505 510
Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu

515 520 525
Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala

530 535 540
Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

545 550 555 560
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr

565 570 575
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp

580 585 590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu

595 600 605
Arg Ser Lys Glu

610

<210> 75

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> R10A2 IgG4 IFN

<220><221> VARIANT

<222> (553)..(553)

<223> Where Xaa can be any amino acid selected from A, C, D, E, F, G,

H, I, L, K, M, N, P, Q, R, S, V, W, Y

<400> 75

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Met Asn Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe

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

 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

 180 185 190
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
 225 230 235 240
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

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

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

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

305 310 315 320

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

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

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

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

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

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys

435 440 445

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn

500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala

530 535 540
Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Xaa Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
545 550 555 560
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr

565 570 575
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp
580 585 590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
595 600 605
Arg Ser Lys Glu
610

<210> 76

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.152 IgG4 IFN

<400> 76

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

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

115 120 125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
145 150 155 160

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro
210 215 220

Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260 265 270
Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

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

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

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

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

385 390 395 400

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

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

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys
435 440 445

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu

450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
485 490 495

Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
500 505 510

Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu

515 520 525

Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
545 550 555 560

Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp

580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
595 600 605

Arg Ser Lys Glu

610

<210> 77

<211> 613

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A02.12 IgG4 IFN

<400> 77

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His

195 200 205
Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly

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

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

340 345 350
Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
355 360 365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
370 375 380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
385 390 395 400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser

405 410 415
Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
420 425 430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
435 440 445

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 450 455 460
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

 465 470 475 480
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 485 490 495
 Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 500 505 510
 Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 515 520 525
 Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

 530 535 540
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys
 545 550 555 560
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 565 570 575
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 580 585 590
 Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser

 595 600 605
 Leu Arg Ser Lys Glu
 610
 <210> 78
 <211> 566
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> OPG-Fc (IgG2) IFN
 <400> 78
 Glu Thr Phe Pro Pro Lys Tyr Leu His Tyr Asp Glu Glu Thr Ser His
 1 5 10 15
 Gln Leu Leu Cys Asp Lys Cys Pro Pro Gly Thr Tyr Leu Lys Gln His
 20 25 30

Cys Thr Ala Lys Trp Lys Thr Val Cys Ala Pro Cys Pro Asp His Tyr

35 40 45

Tyr Thr Asp Ser Trp His Thr Ser Asp Glu Cys Leu Tyr Cys Ser Pro

50 55 60

Val Cys Lys Glu Leu Gln Tyr Val Lys Gln Glu Cys Asn Arg Thr His

65 70 75 80

Asn Arg Val Cys Glu Cys Lys Glu Gly Arg Tyr Leu Glu Gly Glu Phe

85 90 95

Cys Leu Lys His Arg Ser Cys Pro Pro Gly Phe Gly Val Val Gln Ala

100 105 110

Gly Thr Pro Glu Arg Asn Thr Val Cys Lys Arg Cys Pro Asp Gly Phe

115 120 125

Phe Ser Asn Glu Thr Ser Ser Lys Ala Pro Cys Arg Lys His Thr Asn

130 135 140

Cys Ser Val Phe Gly Leu Leu Leu Thr Gln Lys Gly Asn Ala Thr His

145 150 155 160

Asp Asn Ile Cys Ser Gly Asn Ser Glu Ser Thr Gln Lys Glu Arg Lys

165 170 175

Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro

180 185 190

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

195 200 205

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

210 215 220

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

225 230 235 240

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val

245 250 255

Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

260 265 270

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

275 280 285
 Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

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

 355 360 365
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 370 375 380
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 385 390 395 400
 Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu
 405 410 415
 Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys

 420 425 430
 Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe
 435 440 445
 Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile
 450 455 460
 Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr
 465 470 475 480
 Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu

 485 490 495
 Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met
 500 505 510
 Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr
 515 520 525

Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val
 530 535 540
 Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu

 545 550 555 560
 Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 565
 <210> 79
 <211> 614
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Anti-CD138 IgG4 IFN
 <400> 79
 Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Met Met Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Thr Gly Tyr Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Ile Glu Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly His Gly Leu Glu Trp Ile

 35 40 45
 Gly Glu Ile Leu Pro Gly Thr Gly Arg Thr Ile Tyr Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Lys Ala Thr Phe Thr Ala Asp Ile Ser Ser Asn Thr Val Gln
 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 Arg Asp Tyr Tyr Gly Asn Phe Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp

 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr

210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

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

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

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

405 410 415
Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435 440 445
Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu

450 455 460
Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys

465 470 475 480
Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe

485 490 495
Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile

500 505 510
Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr

515 520 525
Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu

530 535 540
Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met

545 550 555 560
Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr

565 570 575
Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val

580 585 590
Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu

595 600 605
Ser Leu Arg Ser Lys Glu

610

<210> 80

<211> 612

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-HLA IgG4 IFN

<400> 80

Gln Val Gln Leu Lys Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Gln Pro Ser Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Met Asn Ser Leu Gln Ala Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro

180 185 190

Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys

195 200 205

Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro

210 215 220

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

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325 330 335

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

340 345 350

Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys

435 440 445

Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu

450 455 460

Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg

465 470 475 480

His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys

485 490 495
Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn

500 505 510
Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu

515 520 525
Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala

530 535 540
Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

545 550 555 560
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr

565 570 575
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp

580 585 590
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu

595 600 605
Arg Ser Lys Glu

610

<210> 81

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 and A10.43 light chain

<400> 81

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 Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Ser Asp

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

35 40 45
Tyr Lys Ala Ser Asn Asp Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Met Gln Ser Asn Thr His Pro Arg

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 82

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> R10A2 light chain

<400> 82

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

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Met Asn Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Asp Ser Asp

20 25 30

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

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

100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 83

<211> 614

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A10.21 IgG1 IFN

<400> 83

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

1 5 10 15

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

20	25	30	
Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met			
35	40	45	
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe			
50	55	60	
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln			
100	105	110	
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val			
115	120	125	
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala			
130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
165	170	175	
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
180	185	190	
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
210	215	220	
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
245	250	255	
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
260	265	270	

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr
 450 455 460
 Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu
 465 470 475 480
 Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln
 485 490 495
 Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 500 505 510
 Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu

515 520 525
 Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
 530 535 540
 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Glu Thr Pro Leu Met
 545 550 555 560
 Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr
 565 570 575
 Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val

580 585 590
 Arg Asp Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu
 595 600 605

Ser Leu Arg Ser Lys Glu

610

<210> 84

<211> 222

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> A02.12 lambda light chain

<400> 84

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

1 5 10 15

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

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

35 40 45
 Leu Leu Tyr Tyr Tyr Ser Asp Ser His Lys Gly Gln Gly Ser Gly Val

50 55 60
 Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Lys Asp Val Ser Thr Asn Ser Gly Ile

65 70 75 80

Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys

85 90 95
 Met Thr Trp Ser Ser Asn Gly Ser Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln

100 105 110
 Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe
 115 120 125
 Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys
 130 135 140
 Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala

 145 150 155 160
 Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys
 165 170 175
 Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro
 180 185 190
 Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu
 195 200 205
 Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215 220
 <210> 85
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> Anti-CD138 light chain
 <400> 85
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Ala Ser Gln Gly Ile Asn Asn Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Glu Leu Leu Ile
 35 40 45

 Tyr Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Ile Gly Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Lys Leu Pro Arg

85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 86

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Anti-HLA light chain

<400> 86

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

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

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

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

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

65						70						75						80
Glu	Asp	Leu	Ala	Val	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Asp	Tyr	Ser	Ser	Pro	Pro			
85					90					95								
Trp	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Leu	Glu	Ile	Arg	Arg	Thr	Val	Ala			
100					105					110								
Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser			
115					120					125								
Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu			
130					135					140								
Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser			
145					150					155					160			
Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu			
165					170					175								
Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val			
180					185					190								
Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys			
195					200					205								
Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys												
210					215													
<210>	87																	
<211>	612																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial																	
<220><223>	A10.21 IgG4 (S228P) IFN (A145D, T106A)																	
<400>	87																	
Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala			
1			5			10			15									
Thr	Val	Lys	Ile	Ser	Cys	Lys	Val	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Asp	Ser			
20					25					30								
Val	Met	Asn	Trp	Val	Gln	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Met			

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

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

 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Cys
 435 440 445
 Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 450 455 460
 Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
 465 470 475 480
 His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys

 485 490 495
 Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 500 505 510
 Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 515 520 525
 Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 530 535 540

Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Ala Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

545 550 555 560

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

565 570 575

Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Asp

580 585 590

Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu

595 600 605

Arg Ser Lys Glu

610

<210> 88

<211> 495

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> IFN alpha-2-beta

<400> 88

tgtgatctgc ctcaaaccca cagcctgggt agcaggagga ccttgatgct cctggcacag	60
atgaggagaa tctctctttt ctctgcttg aaggacagac atgactttgg atttcccag	120
gaggagtttg gcaaccagtt ccaaaaggct gaaaccatcc ctgtcctcca tgagatgac	180
cagcagatct tcaatctctt cagcacaaag gactcatctg ctgcttgga tgagaccctc	240
ctagacaaat tctacactga actctaccag cagctgaatg acctggaagc ctgtgtgata	300
caggggggtgg ggggtgacaga gactcccctg atgaaggagg actccattct ggctgtgagg	360

aaatacttcc aaagaatcac tctctatctg aaagagaaga aatacagccc ttgtgcctgg	420
gaggttgta gagcagaaat catgagatct ttttctttgt caacaaactt gcaagaaagt	480
ttaagaagta aggaa	495

<210> 89

<211> 1341

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide of 10.21 as an IgG2 incorporating S228P

<400> 89

gaagtgcagc tggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac cggcgctac cgtgaagatc	60
--	----

tcctgcaagg tgtccggcta caccttcacc gactccgtga tgaactgggt gcagcaggcc 120

cctggcaagg gcctggaatg gatgggctgg atcgaccccg agtacggcag aaccgacgtg 180

gccgagaagt tccagggcag agtgaccatc accgccgaca cctccaccga caccgcctac 240

atggaactgt cctccctgcg gagcgaggac accgccgtgt actactgcgc ccggaccaag 300

tacaactccg gctacggctt cccctactgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgtcctcc 360

gcctccacca agggccctc cgtgttccct ctggccctt gctcccgtc cacctccgag 420

tctaccgccg ctctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgagcctgt gacagtgtcc 480

tggaaactctg gcgccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtctcc 540

ggcctgtact cctgtctc cgtcgtgacc gtgccttcca gctccctggg caccaagacc 600

tacacctgta acgtggacca caagccctcc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 660

aagtacggcc ctccctgcc cccctgccct gccctgaat ttctgggcgg accttccgtg 720

ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 780

tgcgtggtgg tggacgtgtc ccaagaggac cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 840

ggcgtggaag tgcacaagc caagaccaag ccagagagg aacagttcaa ctccacctac 900

cgggtggtgt ccgtgctgac cgtgtgtcac caggactggc tgaacggcaa agaatacaag 960

tgcaaagtct ccaacaagg cctgccctcc agcatcgaag agaccatctc caaggccaag 1020

ggacagcccc gcgagcccca ggtgtacacc ctgcccccta gccaagagga aatgaccaag 1080

aaccaggtgt cctgacctg cctcgtgaag ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1140

tgggagtcca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc 1200

gacggctcct tcttctgta ctctcggtg accgtggaca agtcccgtg gcaagagggc 1260

aacgtgttct cctgctcgt gatgcagag gcctgcaca accactacac ccagaagtcc 1320

ctgtccctga gcctgggcaa g 1341

<210> 90

<211> 1341

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of 10.43 as an IgG4 incorporating S228P

<400> 90

caggtgcagc tggcgcagtc tggcgcgcaa gtgaagaac ctggcgcctc cgtgaaggtg 60

tcctgcaagg tgtccggcta caccctgacc gactccgtga tgaactgggt ccgacaggcc 120

cctggcaagg gcctggaatg gatgggctgg atcgaccccg agtacggcag aaccgacgtg 180

gcccagaaat tccagggcag agtgacatg accgccgaca cctccaccga caccgcctac 240
atggaactgt cctccctgcg gagcaggac accgccgtgt actactgcgc ccggaccaag 300

tacaactccg gctacggctt cccctactgg ggccagggca ccaccgtgac cgtgtcctct 360
gcttcacca agggccctc cgtgttcct ctggccctt gctcccgtc cacctccgag 420
tctaccgcc ctctgggtg cctggtcaag gactacttcc ccgagcctgt gacagtgtcc 480
tggaactctg gcgccctgac ctccggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc 540
ggcctgtact cctgtcctc cgtcgtgacc gtgccttcca gctccctggg caccaagacc 600
tacacctgta acgtggacca caagccctcc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 660
aagtacggcc ctccctgccc cccctgccct gccctgaat ttctgggcgg accttccgtg 720

ttcctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 780
tgcgtggtgg tggacgtgtc ccaagaggac ccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 840
ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag ccagagagg aacagttcaa ctccacctac 900
cgggtggtgt ccgtgctgac cgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agaatacaag 960
tgcaaagtct ccaacaaggg cctgccctcc agcatcgaaa agaccatctc caaggccaag 1020
ggacagcccc gcgagcccca ggtgtacacc ctgcccccta gccaagagga aatgaccaag 1080
aaccaggtgt cctgacctg cctcgtgaag ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1140

tgggagtcca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc 1200
gacggctcct tcttctgta ctctcggtg accgtggaca agtcccgtg gcaagagggc 1260
aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtec 1320
ctgtccctga gcctgggcaa g 1341

<210> 91
<211> 1344
<212> DNA
<213> Artificial
<220><223> Polynucleotide of 2.12 formatted an an IgG4 incorporating S228P
<400> 91

cagctgcagc tgcaggaatc tggccctggc ctctgaagc ccagcgagac actgagcctg 60

acctgtaccg tgtccggcgg cagcatcagc agcagctcct actactggtc ctggatcaga 120
cagcaccccg gcaagggcct ggaatggatc ggctacatct actacagcgg cagcaccaac 180
tacaaccca gcctgaagtc cagagtgacc atcagctggg acaccagcaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgagcagcgt gacagccgcc gataccggc tgtactactg tgccagagtg 300

ggcggagctg gcggtggcc tctggatgtg tggggacagg gcaccaccgt gacagtgtcc 360
tcagctagca ccaagggccc cagcgtgttc cctctggccc cttgtagcag aagcaccagc 420
gagtctacag ccgccctggg ctgcctcgtg aaggactact ttcccagacc cgtcaccgtg 480

tcctggaact ctggcgctct gacaagcggc gtgcacacct ttccagccgt gctgcagagc 540
agcggcctgt actctctgag cagcgtcgtg accgtgccc gctctagcct gggcaccaag 600
acctacacct gtaacgtgga ccacaagccc agcaacacca aggtggacaa gcgggtggaa 660
tctaagtacg gccctccctg ccctccttgc ccagccctg aatttctggg cggaccctcc 720
gtgttctgt tcccccaaa gcccaaggac accctgatga tcagccggac cccgaagtg 780
acctgcgtgg tgggtgatgt gtcccaggaa gatcccaggg tgcagttcaa ttggtacgtg 840
gacggcgtgg aagtgcacaa cgccaagacc aagcccagag aggaacagtt caacagcacc 900

taccgggtgg tgtccgtgct gacagtgtg caccaggact ggctgaacgg caaagagtac 960
aagtgaagg tgtccaacaa gggcctgcct agcagcatcg agaaaacat cagcaaggcc 1020
aagggccagc ccgcgaacc tcaggtgtac aactgcccc ctagccagga agagatgacc 1080
aagaaccagg tgtccctgac ctgtctcgtg aaaggcttct accctccga tatcgccgtg 1140
gaatgggaga gcaacggcca gcccgagaac aactacaaga ccaccccc tgtgctggac 1200
agcgacggct cattcttct gtacagcaga ctgaccgtgg acaagagccg gtggcaggaa 1260
ggcaacgtgt tcagctgcag cgtgatgcac gaggcctgc acaaccacta caccagaag 1320

tcctgtccc tgtctctggg caag 1344

<210> 92

<211> 1341

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide of R10A2 formatted as an IgG4 incorporating S228P

<400> 92

gaagtccagc tgcagcagtc tggccccgaa gtgggcagac ctggtcctc cgtgaagatc 60
tcctgcaagg cctccggcta caccitcacc gactccgtga tgaactgggt caagcagtct 120
cccgccagg gcctggaatg gatcggtatg atcgaccccg agtacggcag aaccgacgtg 180
gccgagaagt tcaagaagaa ggccaccctg accgccgact cctccagctc caccgectac 240

atctacctgt ccggcctgac ctccaggac accgccacct acttttgcgc ccggaccaag 300
tacaacagcg gctacggctt ccctactgg ggacagggct ctctcgtgac agtgtcctca 360
gcctccacca agggccccctc cgtgttcct ctggccccctt gctcccgtc caccctcgag 420

tctaccgccg ctctgggctg cctggtgaaa gactacttcc ccgagcctgt gaccgtgagc 480
 tggaaactctg gcgcctgac ctccggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtctcc 540
 ggccctgtact cctgtcctc cgtggtgaca gtgccctcct ccagcctggg caccaagacc 600
 tacacctgta acgtggacca caagccctcc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 660

aagtacggcc ctccctgccc cccctgccct gccctgaat ttctgggcgg accttccgtg 720
 tttctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 780
 tgcgtggtgg tggacgtgtc ccaggaagat ccagaggtgc agttcaattg gtacgtggac 840
 ggctggaag tgcacaacgc caagaccaag ccagagagg aacagttcaa ctccacctac 900
 cgggtggtgt ccgtgctgac cgtgctgcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 960
 tgcaaggtgt ccaacaaggc cctgccctcc agcatcgaaa agaccatctc caaggccaag 1020
 ggccagcccc gcgagcccca ggtgtacacc ctgcccccta gccaggaaga gatgaccaag 1080

aaccaggtgt cctgacctg tctggtgaaa ggcttctacc cctccgacat tgccgtggaa 1140
 tgggagtcca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc 1200
 gacggctcct tcttctgta ctctcggtg acagtggata agtcccgtg gcaggaaggc 1260
 aacgtgttct cctgcagcgt gatgcacgag gccctgcaca accactatac ccagaagtcc 1320
 ctgtccctga gcctgggcaa g 1341

<210> 93
 <211> 642
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Polynucleotide sequence of R10A2 VK
 <400> 93

gacatcgtga tgacctagag cccacactcc atctccatca gcgtgggcga gcgcgtgacc 60

atgaactgca aggcctccca gaacgtggac agcgacgtgg actggtatca gcagaaaacc 120
 ggccagtccc ccaagctgct gatctacaag gccagcaaca gatacccg cgtgcccgac 180
 aggttcaccg gctctggctc tggaaaccgac ttacattca ccatcagcaa catgcaggcc 240
 gaggatctgg ccgtgtacta ctgtatgcag tccaacaccc acccccggac cttcggcgga 300
 ggcaccaaac tggaactgaa gcggaccgtg gccgtccca gcgtgttcat cttccccccc 360
 agcgacgagc agctgaagag cggcaccgcc agcgtggtct gcctgctgaa caacttctac 420
 ccccgaggag ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagtctgg caacagccag 480

gaaagcgtca ccgagcagga cagcaaggat agcacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaggtcac ccaccagggc 600
ctgtctagcc ccgtcaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 94

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of VK used to generate antibody 10.21 and
antibody 10.43

<400> 94

gacatccaga tgaccagtc cccctccagc ctgtccgctt ccgtgggcga cagagtgacc 60
atcacatgca aggcctccca gaacgtggac tccgacgtgg actggtatca gcagaagccc 120

ggcaaggccc ccaagctgct gatctacaag gcctccaacg actacaccgg cgtgccctcc 180
agattctccg gctccggctc tggcaccgac ttacattca ccatctccag cctgcagccc 240
gaggatatcg ccacctacta ctgcatgcag agcaacaccc acccccggac cttcggcgga 300
ggcaccaagg tggaaatcaa gcggaccgtg gccgtccct ccgtgttcat ctcccaccc 360
tccgacgagc agctgaagtc cggcaccgcc tccgtcgtgt gcctgtgaa caattctac 420
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaagggt gacaacgccc tgcagtccgg caactccaa 480
gagtcctga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact cccgtcctc caccctgacc 540

ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgc ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 95

<211> 1341

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of 10.152 formatted as an IgG4
incorporating S228P

<400> 95

gaagtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ccggcgctac cgtgaagatc 60
tcctgcaagg tgtccggcta caccttcacc gactccgtga tgaactgggt gcagcagcat 120
cccggaagg gcctggaatg gatgggctgg atcgaccccg agtacggcag aaccgacgtg 180

gccgagaagt tccagggcag agtgaccatc accgccgaca cctccaccga caccgcctac 240
atggaactgt cctccctgcg gagegaggac accgccgtgt actactgcgc ccggaccaag 300

tacaactccg gctacggctt cccctactgg ggccaggga ccaccgtgac cgtgtcctct 360
gcctccacca agggccctc cgtgttcct ctggccctt gctcccggtc cacctccgag 420
tctaccgccg ctctgggtg cctgttcaag gactacttcc ccgagcctgt gacagtgtcc 480
tggaactctg gcgcccgtg ctccggcgtg cacaccttcc ctgccgtgct gcagtcctcc 540
ggcctgtact cctgtcctc cgtcgtgacc gtgccttcca gtcctctggg caccaagacc 600

tacacctgta acgtggacca caagccctcc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 660
aagtacggcc ctccctgccc cccctgccct gccctgaat ttctgggcgg accttccgtg 720
ttctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatct cccggacccc cgaagtgacc 780
tgcgtggtgg tggacgtgtc ccaagaggac cccgaggtgc agttcaattg gtacgtggac 840
ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag ccagagagg aacagttcaa ctccacctac 900
cgggtggtgt ccgtgctgac cgtgtgtcac caggactggc tgaacggcaa agaatacaag 960
tgcaaagtct ccaacaaggg cctgccctcc agcatcgaaa agaccatctc caaggccaag 1020

ggacagcccc gcgagcccca ggtgtacacc ctgcccccta gccaagagga aatgaccaag 1080
aaccaggtgt cctgacctg cctcgtgaag ggcttctacc cctccgatat cgccgtggaa 1140
tgggagtcca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggactcc 1200
gacggctcct tcttctgta ctctcggtg accgtggaca agtcccgtg gcaagagggc 1260
aacgtgttct cctgctccgt gatgcacgag gccctgcaca accactacac ccagaagtec 1320
ctgtccctga gcctgggcaa g 1341

<210> 96

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Amino acid sequence of 10.152 light chain

<400> 96

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 Gln Ala Ser Gln Asn Val Asp Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Asn Asp Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

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

115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 97

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of 10.152 light chain

<400> 97

gacatccaga tgactcagag cccgtcctcg ctttcggctt ccgtcggcga ccgcgtgacc 60

atcacttgtc aggcgtcgca gaacgtcgat tccgacgtgg actggtacca acagaagccg 120

gggaaagcgc ccaagctgct gatctacaag gcctccaatg attacactgg agtccttagc 180

cggttcagcg gatcagggtc gggaacggac ttcactttta ccatctcaag cctccaacca 240

gaagatattg ccacctatta ctgcgcacaa tcaaacaccc acccgagaac cttcggcgga 300

ggaaccaagg tggagatcaa acgtacgggtg gcggcgccca gcgtgttcat ctccccacc 360
agcgacgagc agctgaagtc cggcacagcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420
ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcagagcgg caacagccag 480
gaaagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgc ccaccagggc 600
ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 98

<211> 666

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of 2.12 light chain

<400> 98

caggccgtgc tgaccagcc tgcctccctg tctgcctctc ctggcgagtc cgccagactg 60
acctgcaccc tgcctccga catcaactg cggtactaca acatctactg gtatcagcag 120
aagcccggca gccccccag atacctgctg tactactact ccgactccca caagggccag 180

ggctccggcg tgcctccag attctccggc tccaaggacg tgtccaccaa ctccggcatc 240
ctgtgatct cgggctgca gtccgaggac attgccacct actactgcat gacttggagc 300
agcaacggca gcggcgtgtt cggcgaggagc acccagctga ccgtcctagg tcagcccaag 360
gccgctccca gcgtgacct gttccccca agcagcgagg aactgcaggc caacaaggcc 420
accctggtgt gcctgatcag cgacttctac cctggggccg tgaccgtggc ctggaaggcc 480
gatagcagcc ctgtgaaggc cggcgtggaa accaccaccc cctccaagca gagcaacaac 540
aaatacgccg ccagcagcta cctgtccctg acccccagag agtgggaagtc ccaccggtcc 600

tacagctgcc aggtgacaca cgagggcagc accgtggaaa agaccgtggc cccaccagag 660
tgcagc 666

<210> 99

<211> 642

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of Anti-CD138 kappa light chain

<400> 99

gacatccaga tgaccagag cacatcctct ctgagcgctt ccctgggcga tcgcgtgact 60
atcagttgca gcgttccca agggattaac aattacctca actggtacca gcagaagccc 120

gacggaaccg tcgagctgct catctattac acatctacgc tgcaaagcgg cgtgccttcc 180

aggttctcag ggagcgggtc cggaactgat tactctctga ccattagcaa tctcgaacca 240

gaagacatcg gcacatatta ctgtcagcag tactccaagc tgccccggac ttttggggga 300

ggcaccaaac tggagatcaa gcgtacgggtg gcggcgccca gcgtgttcat cttcccaccc 360

agcgacgagc agctgaagtc cggcacagcc agcgtggtgt gcctgctgaa caacttctac 420

ccccgcgagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgccc tgcaagcggg caacagccag 480

gaaagcgtga ccgagcagga cagcaaggac tccacctaca gcctgagcag caccctgacc 540

ctgagcaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gcgaagtgac ccaccagggc 600

ctgtccagcc ccgtgaccaa gagcttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 100

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of Anti-CD138 IgG4 (S228P)

<400> 100

caggtgcagc tccaacagag cggctccgaa ctgatgatgc ctggggcctc tgtcaagatt 60

tcctgcaaag ctaccggcta cacattcagc aactattgga ttgagtgggt gaagcagcgc 120

ccagggcacg gtctggagtg gatcgagag atcctgccag gcaccgggag gactatttac 180

aatgaaaagt ttaaaggaaa ggccacattc accgcagaca tctctagcaa cactgttcaa 240

atgcagctct ccctctgac ctccaggat agcgccgtgt attactgtgc tcggagagac 300

tactatggca atttttacta tgctatggat tactggggac agggcacatc tgtgaccgtc 360

agctccgcta gcaccaaggg ccccgagctg tccccctgg ccctttagtag cagaagcacc 420

agcgagagca cagccgcctt gggctgcctg gtgaaagact acttccccga gcccgtcacc 480

gtgtcctgga acagcggagc cctgaccagc ggctgcaca ctttccagc cgtgctgcag 540

agcagcggcc tgtacagcct gagcagcgtg gtgacagtgc cctccagcag cctgggcacc 600

aagacctaca cctgtaacgt ggaccacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagcgggtg 660

gaatctaagt acggcccacc ctgccccccc tgecctgccc ctgaatttct gggcgggacc 720

tccgtgttcc tgttcccccc aaagcccaag gacacctga tgatcagccg gacccccgaa 780

gtgacctgcg tgggtgtgga cgtgtcccag gaagatcccg aggtccagtt caattggtac 840

gtggacggcg tggaagtgca caacgccaag accaagccca gagaggaaca gttcaacagc 900

acctaccggg tgggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaagag 960

tacaagtgca aagtctccaa caagggcctg cccagctcca tcgagaaaac catcagcaag 1020

gccaaaggcc agccccgcga gcctcaggtg tacacactgc cccccagcca ggaagagatg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgtctg gtgaaaggct tctaccccag cgatatcgcc 1140

gtggaatggg agagcaacgg ccagcccag aacaactaca agaccacccc cctgtgctg 1200

gacagcgacg gcagcttctt cctgtactcc cggtgaccg tggacaagag ccggtggcag 1260

gaaggcaacg tcttcagctg cagcgtgatg cagaggccc tgcacaacca ctaccccag 1320

aagtcctga gcctgagcct gggcaag 1347

<210> 101

<211> 1341

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of Anti-HLA IgG4 (S228P)

<400>

101

caggtccaac tcaagcagtc cggtcggggg ctggtccagc catctcaatc actgtctctt 60

acttgaccg tgtccgatt cagcctgacc tcatacggag tgcatgggt gcggcagcct 120

cccggaag gactggagt gctcggagtc atttggtccg gtggatcaac tgactacaat 180

gccgctttca tcagcaggct gagcattcgg aaggacaact ctaagagcca agtgttcttc 240

aagatgaact cactccagc cgatgacacc gccatctact attgtgccag aaccttcacc 300

accagcacct ctgcatggt tgcatactgg ggccagggca ctctgtgac cgtgtcagct 360

gctagcacca agggccccag cgtgttcccc ctggccccct gtagcagaag caccagcgag 420

agcacagccg cctgggctg cctggtgaaa gactacttcc ccgagcccg caccgtgtcc 480

tggaacagcg gagccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cagccgtgct gcagagcagc 540

ggcctgtaca gcctgagcag cgtggtgaca gtgccctcca gcagcctggg caccaagacc 600

tacacctgta acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagcg ggtggaatct 660

aagtacggcc caccctgccc cccctgccc gccctgaat ttctgggcgg accctccgtg 720

ttctgttcc ccccaaagcc caaggacacc ctgatgatca gccggacccc cgaagtgacc 780

tgctgtgtg tggacgtgtc ccaggaagat cccgaggtcc agttcaattg gtacgtggac 840

ggcgtggaag tgcacaacgc caagaccaag cccagagagg aacagttcaa cagcacctac 900

cgggtggtgt ccgtgtgac cgtgtgtcac caggactggc tgaacggcaa agagtacaag 960

tgcaaagtct ccaacaagg cctgcccagc tccatcgaga aaaccatcag caaggccaag 1020

ggccagcccc gcgagcctca ggtgtacaca ctgccccca gccaggaaga gatgaccaag 1080

aaccaggtgt ccctgacctg tctggtgaaa ggcttctacc ccagcgatat cgccgtggaa 1140
tgggagagca acggccagcc cgagaacaac tacaagacca cccccctgt gctggacagc 1200
gacggcagct tcttctgtga ctcccggtg accgtggaca agagccggtg gcaggaaggc 1260

aacgtcttca gctgcagcgt gatgcacgag gcctgcaca accactacac ccagaagtcc 1320
ctgagcctga gcctgggcaa g 1341

<210> 102

<211> 645

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of Anti-HLA VK

<400> 102

tctatcgtca tgacctagac cccgaagttc ctccctggtgt cagctggtga tcgggtgacc 60
atcacttgta aggcctctca gtctgtctca aacgacgtcg catggtacca acaaaagcct 120
gggcagtcac ctaagcttct gatctactat gcttccaatc gctacaccgg cgtgcccagc 180
aggttcaccg gatcagggtg cggaaccgac ttcaccttta ctatttcac cgtgcaggcc 240

gaggacctcg ccgtgtatth ctgccagcaa gattacagca gccaccctg gactttcggc 300
ggaggaacta aactggaaat tagacgtacg gtggcggcgc ccagcgtgtt catcttccca 360
cccagcgacg agcagctgaa gtccggcaca gccagcgtgg tgtgcctgct gaacaacttc 420
taccctcgcg aggccaaagt gcagtggaag gtggacaacg ccctgcagag cggcaacagc 480
caggaaagcg tgaccgagca ggacagcaag gactccacct acagcctgag cagcacctg 540
accctgagca aggccgacta cgagaagcac aaggtgtacg cctgcgaagt gaccaccag 600
ggcctgtcca gcccgtgac caagagcttc aaccggggcg agtgc 645

<210> 103

<211> 1203

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Polynucleotide sequence of OPG-Fc

<400> 103

gaaacctttc cgccgaaata tctgcattat gatgaagaaa ccagccatca gctgctgtgc 60
gataaatgcc cgccgggacg ctatctgaaa cagcattgca ccgcgaaatg gaaaaccgtg 120
tgcgcgccgt gcccgatca ttattatacc gatagctggc ataccagcga tgaatgcctg 180
tattgcagcc cgggtgtgcaa agaactgcag tatgtgaaac aggaatgcaa ccgcacccat 240

aaccgcgtgt gcgaatgcaa agaaggccgc tatctggaag gcgaattttg cctgaaacat	300
cgcagctgcc cgccgggctt tggcgtggtg caggcgggca ccccggaacg caacaccgtg	360
tgcaaacgct gcccgatgg ctttttttagc aacgaaacca gcagcaaagc gccgtgccgc	420
aaacatacca actgcagcgt gtttggcctg ctgctgaccc agaaaggcaa cgcgacccat	480
gataacattt gcagcggcaa cagcgaagc acccagaaag aacgcaaag ctgctggaa	540
tgcccgccgt gcccgccgcc gccgtggcg ggcccgagcg tgtttctgtt tccgccgaaa	600
ccgaaagata cctgatgat tagccgcacc ccggaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg	660
agccatgaag atccggaagt gcagtttaac tggatatgtg atggcgtgga agtcataac	720
gcgaaaacca aaccgcgcga agaacagttt aacagcacct ttcgcgtggt gagcgtgctg	780
accgtggtgc atcaggattg gctgaacggc aaagaatata aatgcaaagt gagcaacaaa	840
ggcctgccgg cgccgattga aaaaaccatt agcaaaacca aaggccagcc gcgcgaaccg	900
caggtgtata cctgccgcc gagccgcga gaaatgacca aaaaccaggt gagcctgacc	960
tgcttggtga aaggctttta tccgagcgt attgcgtggt aatgggaaag caacgccag	1020
ccggaataca actataaac caccgcccg atgctggata gcgatggcag cttttttctg	1080
tatagcaaac tgaccgtgga taaaagccgc tggcagcagg gcaacgtgtt tagctgcagc	1140
gtgatcatg aagcgtgca taaccattat acccagaaaa gcctgagcct gagcccgggc	1200
aaa	1203
<210> 104	
<211> 1350	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide sequence of 10.21 formatted as an IgG1	
<400> 104	
gaagtgcagc tggatgcagc tggcggcga gtgaagaaac ctggcgccac cgtgaagatc	60
agctgcaagg tgtccggcta caccttcacc gacagcgtga tgaactgggt gcagcagcc	120
cctggcaagg gcctggaatg gatgggatgg atcgaccccg agtacggcag aaccgacgtg	180
gccgagaagt tccagggcag agtgaccatc accgccgaca ccagcaccga caccgcctac	240
atggaactga gcagcctgcg gagcaggac accgccgtgt actactgtgc ccgaccaag	300
tacaacacgc gctacggctt cccctactgg ggccagggca caaccgtgac agtgtcctca	360
gctagacca agggacccag cgtgttcct ctggccctca gcagcaagag cacatctggc	420
ggaacagccg ccctgggctg cctcgtgaag gactactttc ccgagcctgt caccgtgtct	480

tggaactctg gcgccctgac aagcggcgtg cacacctttc cagccgtgct gcagagcagc 540
 ggccctgtact ctctgagcag cgtcgtgaca gtgcccagct ctagcctggg caccagacc 600
 tacatctgca acgtgaacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa ggtggaaccc 660

 aagagctgcg acaagaccca cacctgtccc ccttgtcctg ccccgaact gctgggaggc 720
 ccttcctgtg tctgtttccc cccaaagccc aaggacaccc tgatgatcag ccggaccccc 780
 gaagtgacct gcgtgggtgt ggatgtgtcc cagcaggacc ctgaagtga gttcaattgg 840
 tacgtggacg gcgtggaagt gcacaacgcc aagaccaagc ccagagagga acagtacaac 900
 agcacctacc ggggtggtgt cgtgctgaca gtgctgcacc aggactggct gaacggcaaa 960
 gagtacaagt gcaagggtgt caacaaggcc ctgcctgccc ccatcgagaa aacctacgc 1020
 aaggccaagg gccagccccc cgaaccccag gtgtacacac tgccccaag cagggacgag 1080

 ctgaccaaga accaggtgtc cctgacctgt ctgctgaaag gctttctacc ctccgatatc 1140
 gccgtggaat gggagagcaa cggccagccc gagaacaact acaagaccac cccccctgtg 1200
 ctggacacg acggctcatt cttcctgtac agcaagctga ccgtggacaa gtcccgggtg 1260
 cagcagggca acgtgttcag ctgcagcgtg atgcacgagg cctgcacaa cactacacc 1320
 cagaagtccc tgacctgag ccccggaag 1350

 <210> 105
 <211> 1338
 <212> DNA
 <213> Artificial
 <220><223> Polynucleotide sequence of 10.21 IgG2
 <400> 105

 gaagtgcagc tgggtgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgccac cgtgaagatc 60

 agctgcaagg tgtccggcta caccitcacc gacagcgtga tgaactgggt gcagcaggcc 120
 cctggcaagg gcctggaatg gatgggatgg atcgacccc agtacggcag aaccgacgtg 180
 gccgagaagt tccagggcag agtgaccatc accgcccaga ccagcaccga caccgcctac 240
 atggaactga gcagcctgcg gagcaggac accgccgtgt actactgtgc ccggaccaag 300
 tacaacacg gctacggctt cccctactgg ggccagggca caaccgtgac agtgtctca 360
 gccagacca agggccccag cgtgttcccc ctggccccct gcagcagaag caccagcgag 420
 agcacagccg ccctgggctg cctggtgaag gactacttcc ccgagcccgt gacagtgagc 480

 tggaacacg gcagccctgac ctccggtgta cacaccttcc ccgccgtgct gcagagcagc 540
 ggccctgtact ccctgagcag cgtggtgacc gtgcccagca gcaacttcgg caccagacc 600

tacacctgca acgtggacca caagcccagc aacaccaagg tggacaagac cgtggagagg	660
aagtgtctgcg tggagtgtccc cccctgccca gccccccag tggccggacc ctccgtgttt	720
ctgttcccc ccaagcccaa ggacacctg atgatcagca ggacccccga ggtgacctgc	780
gtggtggtgg acgtgagcca cgaggatccg gaggtgcagt tcaactggta cgtggacggc	840
gtggaggtgc acaacgcca gaccaagccc agagaggagc agtttaacag caccttcagg	900
gtggtgtccg tgctgacctg ggtgcaccag gactggctga acggcaagga atacaagtgc	960
aaggtctcca acaagggcct gccagcccc atcgagaaaa ccatcagcaa gaccaagggc	1020
cagccacggg agccccaagt gtataacctg cccccagcc gggaggagat gaccaagaac	1080
caggtgtccc tgacctgtct ggtgaagggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg	1140
gagagcaacg gccagccga gaacaactac aagaccacc ccccatgct ggacagcgac	1200
ggcagcttct tctgtactc caagctgaca gtggacaagt ccaggtggca gcagggaac	1260
gtgttcagct gcagcgtgat gcacaggcc ctgcacaacc actacacca gaagagcctg	1320
agcctgtccc cggcaag	1338
<210> 106	
<211> 1491	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220><223> Polynucleotide sequence of 10.21 IgG3	
<400> 106	
gaagtgcagc tggatgcagtc tggcgccgaa gtgaagaaac ctggcgccac cgtgaagatc	60
agctgaagg tgtccggcta caccttcacc gacagcgtga tgaactgggt gcagcaggcc	120
cctggcaagg gcctggaatg gatgggatgg atcgaccccg agtacggcag aaccgacgtg	180
gccgagaagt tccagggcag agtgaccatc accgcccaga ccagcaccga caccgcctac	240
atggaactga gcagcctgcg gacgaggac accgcccgtgt actactgtgc ccgaccaag	300
tacaacagcg gctacggctt cccctactgg ggccaggcca caaccgtgac agtgtcctca	360
gcgagacca aaggcccag cgtgtttccg ctggcgccgt gcagccgag caccagcggc	420
ggcaccgcgg cgtgtggctg cctgtgaaa gattattttc cggaaccggt gaccgtgagc	480
tggaacagcg gcgcgtgac cagcggcgtg cataccttc cggcgggtgt gcagagcagc	540
ggcctgtata gcctgagcag cgtggtgacc gtgccgagca gcagcctggg caccagacc	600
tatacctgca acgtgaacca taaaccgagc aacaccaaag tggataaacg cgtggaactg	660
aaaaccccgc tggcgatgac caccatacc tgcccgcgt gcccggaacc gaaaagctgc	720

gataccccgc cgccgtgccc gcgctgcccc gaaccgaaaa gctgcgatac cccgccgccg 780
 tgccccgcgt gcccgaacc gaaaagctgc gataccccgc cgccgtgccc gcgctgcccc 840
 gcgccggaac tgctgggagg cccgagcgtg tttctgttcc cgccgaaacc gaaagatacc 900
 ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat 960
 ccggaagtgc agtttaaatg gtatgtggat ggctggaag tgcataacgc gaaaacaaa 1020
 ccgcgcgaag aacagttaa cagcaccttt cgctggtga gcgtgctgac cgtgctgcat 1080
 caggattggc tgaacggcaa agaataaaa tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg 1140

ccgattgaaa aaaccattag caaaacaaa ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc 1200
 ctgccgccga gccgcgaaga aatgacaaa aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa 1260
 ggcttttacc cgagcgatat tgcggtggaa tgggaaagca gcggccagcc gaaaacaac 1320
 tataacacca ccccgccgat gctggatagc gatggcagct ttttctgta tagcaactg 1380
 accgtggata aaagccgtg gcagcagggc aacattttta gctgcagcgt gatgcatgaa 1440
 gcgctgcata accgctttac ccagaaaagc ctgagcctga gccgggcaa a 1491

<210> 107

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Glycosylated (T106T) human interferon alpha-2-b comprising
 attenuating mutation A145X where X can be any amino acid selected
 from D, E, G, H, I, K, L, M, N, Q, R, S, T, V, Y

<220><221> VARIANT

<222> (145)..(145)

<223> Xaa can be any amino acid selected from D, E, G, H, I, K, L, M,
 N, Q, R, S, T, V, Y

<400> 107

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60
Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80
Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

				85					90					95					
Ala	Cys	Val	Ile	Gln	Gly	Val	Gly	Val	Thr	Glu	Thr	Pro	Leu	Met	Lys				
				100					105					110					
Glu	Asp	Ser	Ile	Leu	Ala	Val	Arg	Lys	Tyr	Phe	Gln	Arg	Ile	Thr	Leu				
				115					120					125					
Tyr	Leu	Lys	Glu	Lys	Lys	Tyr	Ser	Pro	Cys	Ala	Trp	Glu	Val	Val	Arg				
				130					135					140					
Xaa	Glu	Ile	Met	Arg	Ser	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Glu	Ser				

Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 108

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Glycosylated (T106T) human interferon alpha-2-b comprising attenuating mutation R144X where X can be any amino acid selected from A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V, Y

<220><221> VARIANT

 $\langle 222 \rangle \quad (144), \dots, (144)$

<223> Xaa can be any amino acid selected from A, D, E, G, H, I, K, L, N, Q, S, T, V, Y

<400> 108

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15

Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30

Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

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

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Xaa
130 135 140
Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160
Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 109

<211> 165

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Glycosylated (T106T) human interferon alpha-2-b comprising
attenuating mutation R33X, where X can be any amino acid selected

from K, A, Q

<220><221> VARIANT

<222> (33)..(33)

<223> Xaa can be any amino acid selected from K, A, Q

<400> 109

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
1 5 10 15
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
20 25 30

Xaa His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
35 40 45

Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
50 55 60

Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
65 70 75 80

Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
85 90 95

Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys
100 105 110

Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
115 120 125

Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
130 135 140

Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
145 150 155 160

Leu Arg Ser Lys Glu
165

<210> 110

<211> 164

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Human interferon alpha-2-b comprising with deletion of amino acid

at position 106 and comprising attenuating mutation A144X where

X, can be any amino acid selected from D, E, G, H, I, K, L, M, N,

Q, R, S, T, V, Y

<220><221> VARIANT

<222> (144)..(144)

<223> Xaa can be any amino acid selected from D, E, G, H, I, K, L, M,

N, Q, R, S, T, V, Y

<400> 110

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met

1 5 10 15
Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp

20 25 30
Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln

35 40 45
Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe

50 55 60
Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu

65 70 75 80
Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu

85 90 95
Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu

100 105 110
Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr

115 120 125
Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Xaa

130 135 140
Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu

145 150 155 160
Arg Ser Lys Glu

<210> 111

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted as an IgG1 incorporating
substitutions M255Y, S257T, T259E

<400> 111

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

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

20	25	30
Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met		
35	40	45
Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe		
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln		
100	105	110
Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val		
115	120	125
Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala		
130	135	140
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser		
145	150	155
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val		
165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro		
180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys		
195	200	205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp		
210	215	220
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly		
225	230	235
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Tyr Ile		
245	250	255
Thr Arg Glu Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu		
260	265	270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

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

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

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys
450

<210> 112

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> VH sequence of 10.21 formatted onto an IgG2 backbone
incorporating substitutions A330S and P331S

<400> 112

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

1 5 10 15
 Thr Val Lys Ile Ser Cys Lys Val Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
 20 25 30
 Val Met Asn Trp Val Gln Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asp Pro Glu Tyr Gly Arg Thr Asp Val Ala Glu Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Thr Ser Thr Asp 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 Thr Lys Tyr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Pro Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala

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

195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
 210 215 220
 Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val

290 295 300
Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335
Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350
Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415
Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445