



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2014년08월27일
(11) 등록번호 10-1434682
(24) 등록일자 2014년08월20일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/32 (2006.01) C40B 30/04 (2006.01)
C40B 40/08 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2008-7016105
(22) 출원일자(국제) 2006년12월01일
심사청구일자 2011년12월01일
(85) 번역문제출일자 2008년07월01일
(65) 공개번호 10-2008-0077246
(43) 공개일자 2008년08월21일
(86) 국제출원번호 PCT/US2006/046046
(87) 국제공개번호 WO 2007/094842
국제공개일자 2007년08월23일
(30) 우선권주장
60/742,185 2005년12월02일 미국(US)
60/805,553 2006년06월22일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
W02005012359 A2*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
제넨테크, 인크.
미합중국 캘리포니아 (우편번호 94080-4990) 사우
쓰샌프란시스코 디엔에이 웨이 1
(72) 발명자
사이두, 사크데브, 에스.
미국 94110 캘리포니아주 샌 프란시스코 사우쓰
반 니스 애비뉴1376
버텔런, 사라, 씨.
미국 94025 캘리포니아주 멘로 파크 아놀드 웨이
796
펠로우스, 프레데릭, 에이.
캐나다 엠4와이이31 온타리오주 토론토 아파트먼
트 #14 웰리스리플레이스 6
(74) 대리인
위혜숙, 양영준

전체 청구항 수 : 총 11 항

심사관 : 안규정

(54) 발명의 명칭 결합 폴리펩티드 및 이들의 용도

(57) 요약

본 발명은 DR5 및 HER-2에 대한 항체 또는 이들의 항원 결합 단편을 제공한다. 항체 및/또는 이들의 항원 결합 단편은 고도로 한정된 아미노산 서열 다양성을 갖는 변이체 CDR을 포함한다. 본 발명은 또한 이들 폴리펩티드를 적어도 파지 또는 바이러스 외피 단백질의 일부, 태그 및 링커와 같은 이중 폴리펩티드에 대한 융합 폴리펩티드로서 제공한다. 또한, 암 및 면역-관련 상태의 치료를 위한 조성물 및 사용 방법이 제공된다.

특허청구의 범위

청구항 1

특정 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드를 선별하는 방법으로서,

(A) 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 생성하는 단계,

여기서 상기 폴리펩티드는 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함하고,

여기서 (i) CDRH1은 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이고, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고;

(ii) CDRH2는 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; 및

(iii) CDRH3은 하기 (a), (b), (c), (d), 또는 (e)를 포함함:

(a) 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 24), 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택됨;

(b) 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 26), 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택됨;

(c) 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 27), 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택됨;

(d) 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 28), 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택됨; 또는

(e) 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X17에서의 아미노산은 S 및 A, C, F, G, I, L, N, P, R, T, W 또는 Y 중 하나로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 F, L, I 및 M으로부터 선택됨;

(B) 조성물로부터 표적 항원에 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 선별하는 단계;

(C) 표적 항원에 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 표적 항원에 결합하지 않는 폴리펩티드로부터 분리하는 단계; 및

(D) 표적 항원에 대해 원하는 친화도를 갖는 표적 항원에 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 확인하는 단계

를 포함하고, 상기 표적 항원은 HER2인 방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 폴리펩티드가 항체인 방법.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 폴리펩티드가 경쇄 가변 도메인을 더 포함하고, CDRL3이 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 25)를 포함하고, 여기서 X1은 위치 91이며, Y, H 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y, S 및 T로부터 선택되고; X4는 Y, S 및 T로부터 선택되고; X5는 S, P 및 Y로부터 선택되는 것인 방법.

청구항 4

제1항 또는 제2항에 있어서, 복수의 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리를 제공하는 단계를 포함하고, 여기서 라이브러리가 적어도 1×10^4 개의 독특한 폴리펩티드를 포함하는 것인 방법.

청구항 5

제1항 또는 제2항에 있어서,

(a) 복수의 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리를 결합하는 조건하에 고정화된 표적 항원과 접촉시켜 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 분리하는 단계; 및

(b) 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 표적 항원에 특이적으로 결합하지 않는 폴리펩티드로부터 분리하고, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 회수하여 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드에 대해 풍부화된 아집단을 획득하는 단계

를 포함하는 방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

(c) 매회 이전 회기 선별로부터 수득한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드에 대해 풍부화된 아집단을 사용하여 각각 단계 (a) 및 (b)를 2회 이상 반복하는 단계

를 더 포함하는 방법.

청구항 7

제4항에 있어서, 라이브러리가 적어도 1×10^5 개의 독특한 폴리펩티드를 포함하는 방법.

청구항 8

제4항에 있어서, 라이브러리가 적어도 1×10^6 개의 독특한 폴리펩티드를 포함하는 방법.

청구항 9

제4항에 있어서, 라이브러리가 적어도 1×10^7 개의 독특한 폴리펩티드를 포함하는 방법.

청구항 10

제4항에 있어서, 라이브러리가 적어도 1×10^8 개의 독특한 폴리펩티드를 포함하는 방법.

청구항 11

제1항 또는 제2항에 있어서,

복수의 폴리펩티드를 디스플레이하는 파지 또는 파지미드 입자의 라이브러리를 구축하는 단계;

입자의 라이브러리와 표적 항원을 접촉시키는 단계; 및
표적 항원에 결합하지 않은 입자로부터 표적 항원에 결합하는 입자를 분리하는 단계
를 포함하는 방법.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

청구항 111

삭제

청구항 112

삭제

청구항 113

삭제

청구항 114

삭제

청구항 115

삭제

청구항 116

삭제

청구항 117

삭제

명세서

[0001] <관련 출원에 대한 상호 참조>

[0002] 본 출원은 미국 제60/742,185호 (2005년 12월 2일 출원) 및 미국 제60/805,553호 (2006년 6월 22일 출원) (이들 출원은 모두 상기 거명을 통해 본원에 참고로 포함됨)에 대한 우선권을 주장하는 비예비 출원이다.

기술분야

[0003] 본 발명은 일반적으로 고도로 제한된 아미노산 레퍼토리를 사용하여 다양화된 변이체 CDR, 및 복수의 상기 서열을 포함하는 라이브러리에 관한 것이다. 본 발명은 또한 이들 변이체 CDR을 포함하는 융합 폴리펩티드에 관한 것이다. 본 발명은 또한 치료적으로 또는 시약으로 사용될 수 있는 신규한 결합 폴리펩티드의 동정에 유용한 방법 및 조성물에 관한 것이다.

배경기술

[0004] 파지 디스플레이 기술은 항원과 같은 리간드에 결합하는 신규한 단백질의 생성 및 선별에 효과적인 도구로 제공되었다. 파지 디스플레이 기술을 이용하면 표적 항원에 고친화도로 결합하는 서열이 빠르게 분류될 수 있는 단백질 변이체의 거대 라이브러리가 생성될 수 있다. 변이체 폴리펩티드를 코딩하는 핵산은 유전자 III 단백질

또는 유전자 VIII 단백질과 같은 바이러스 외피 단백질을 코딩하는 핵산 서열에 융합된다. 단백질 또는 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열이 유전자 III 단백질의 일부를 코딩하는 핵산 서열에 융합된 일가의 파지 디스플레이 시스템이 개발되었다 (문헌 [Bass, S., Proteins, 8:309 (1990)]; [Lowman and Wells, Methods: A Companion to Methods in Enzymology, 3:205 (1991)]). 일가의 파지 디스플레이 시스템에서, 유전자 융합체는 낮은 수준으로 발현되며, 또한 야생형 유전자 III 단백질은 입자의 감염성이 유지되도록 발현된다. 펩티드 라이브러리를 생성하고, 이들 라이브러리를 스크리닝하는 방법은 다수의 특허에 개시되어 있다 (예를 들어, 미국 특허 제 5,723,286호, 미국 특허 제 5,432,018호, 미국 특허 제 5,580,717호, 미국 특허 제 5,427,908호 및 미국 특허 제 5,498,530호).

[0005] 섬유상 파지의 표면 상에서의 펩티드의 발현 및 이. 콜라이(*E. coli*)의 주변세포질 내에서의 기능적 항체 단편의 발현의 입증은 항체 파지 디스플레이 라이브러리의 개발에 중요하였다 (문헌 [Smith et al., Science (1985), 228:1315]; [Skerra and Pluckthun, Science (1988), 240:1038]). 항체 또는 항원 결합 폴리펩티드의 라이브러리는 무작위적인 DNA 서열을 삽입하거나 또는 관련 유전자 부류를 클로닝하여 단일 유전자를 변형시키는 것을 비롯하여 다양한 방식으로 제조된다. 파지 디스플레이를 이용하는 항체 또는 항원 결합 단편의 디스플레이 방법은 미국 특허 제 5,750,373호, 동 제 5,733,743호, 동 제 5,837,242호, 동 제 5,969,108호, 동 제 6,172,197호, 동 제 5,580,717호 및 동 제 5,658,727호에 기재되어 있다. 이어서, 라이브러리를 원하는 특징을 갖는 항체 또는 항원 결합 단백질의 발현에 대해 스크리닝한다.

[0006] 파지 디스플레이 기술은 원하는 특징을 갖는 항체 제조에 이용되는 통상적인 하이브리도마 및 재조합 방법에 비해 여러 이점을 갖는다. 이러한 기술로부터 보다 적은 시간에 동물을 사용하지 않고 다양한 서열을 갖는 거대 항체 라이브러리를 개발할 수 있다. 하이브리도마의 제조 또는 인간화 항체의 제조는 아마도 수개월의 제조 기간을 필요로 할 수 있다. 또한, 파지 항체 라이브러리는 면역 조치가 요구되지 않기 때문에 독성을 나타내거나 낮은 항원성을 갖는 항원의 경우에 생성될 수 있다 (문헌 [Hogenboom, Immunotechniques (1988), 4:1-20]). 파지 항체 라이브러리는 또한 신규한 인간 항체의 생성 및 동정에 이용될 수 있다.

[0007] 항체는 매우 다양한 상태에 사용되는 요법제로 매우 유용해졌다. 예를 들어, HER-2, 종양 항원에 대한 인간화 항체는 암의 진단 및 치료에 유용하다. 항-INF- γ 항체와 같은 다른 항체는 크론병과 같은 염증성 상태를 치료하는데 유용하다. 파지 디스플레이 라이브러리는 면역화된 및 비-면역화된 인간, 생식 계열 서열, 또는 비처치 B 세포 Ig 레퍼토리오로부터 인간 항체를 생성하는데 사용되어 왔다 (문헌 [Barbas & Burton, Trends Biotech (1996), 14:230]; [Griffiths et al., EMBO J. (1994), 13:3245]; [Vaughan et al., Nat. Biotech. (1996), 14:309]; 윈터(Winter) EP 0368684 B1). 비처치 또는 비면역성 항원 결합 라이브러리는 다양한 림프양 조직을 사용하여 생성된다. 이들 라이브러리 중 일부는 상업적으로 입수가능하며, 예컨대 캠브리지(Cambridge) 항체 기술 및 모르포시스(Morphosys)에 의해 개발된 것이 있다 (문헌 [Vaughan et al., Nature Biotech 14:309 (1996)]; [Knappik et al., J. Mol. Biol. 296:57 (1999)]). 그러나, 이들 라이브러리의 대다수는 제한된 다양성을 갖는다.

[0008] 파지 디스플레이 라이브러리로부터 고친화도 항체를 동정 및 단리하는 능력은 치료적 용도를 위해 신규한 인간 항체를 단리하는데 중요하다. 라이브러리로부터의 고친화도 항체의 단리는 전통적으로 적어도 부분적으로는 라이브러리의 크기, 박테리아 세포에서의 생성 효율 및 라이브러리의 다양성에 의존하는 것으로 생각된다. 예를 들어, 문헌 [Knappik et al., J. Mol. Biol. (1999), 296:57]을 참조한다. 라이브러리의 크기는 항체 또는 항원 결합 단백질의 부적절한 폴딩 및 정지 코돈의 존재로 인한 비효율적인 생성에 의해 감소한다. 박테리아 세포에서의 발현은 항체 또는 항원 결합 도메인이 적절하게 폴딩되지 않은 경우에 억제될 수 있다. 발현은 다시 가변/불변 경계 영역의 표면에서 또는 선별된 CDR 잔기에서 잔기를 돌연변이화시켜 개선될 수 있다 (문헌 [Deng et al., J. Biol. Chem. (1994), 269:9533]; [Ulrich et al., PNAS (1995), 92:11907-11911]; [Forsberg et al., J. Biol. Chem. (1997), 272:12430]). 프레임워크 영역의 서열은 항체 파지 라이브러리가 박테리아 세포에서 생성되는 경우에 적절한 폴딩을 제공하는 인자이다.

[0009] 항체 또는 항원 결합 단백질의 다양한 라이브러리의 생성은 또한 고친화도 항체의 단리에 중요하다. 제한된 CDR에서 다양화된 라이브러리는 다양한 접근법을 이용하여 생성된다. 예를 들어, 문헌 [Tomlinson, Nature Biotech. (2000), 18:989-994]을 참조한다. CDR3 영역은 종종 항원 결합에 참여하는 것으로 밝혀졌으므로 일부는 관심의 대상이 되었다. 중쇄 상의 CDR3 영역은 크기, 서열 및 구조적 형태가 크게 달라진다.

[0010] 다르게는 가변 중쇄 및 경쇄의 CDR 영역을 각각의 위치에서 20 가지 아미노산을 모두 사용하여 무작위화시킴으로써 다양성을 생성한다. 20 가지 아미노산을 모두 사용하면 변이체 항체의 큰 서열 다양성이 나타나고, 신규

한 항체를 동정할 기회가 증가하는 것으로 생각된다 (문헌 [Barbas, PNAS 91:3809 (1994)]; [Yelton, DE, J. Immunology, 155:1994 (1995)]; [Jackson, J.R., J. Immunology, 154:3310 (1995)] 및 [Hawkins, RE, J. Mol. Biology, 226:889 (1992)]).

[0011] 또한, 자연 발생 항체에서 아미노산 분포를 반영하기 위해 일부 CDR에서 아미노산 치환군을 한정함으로써 다양성을 생성하려는 시도가 있었다. 문헌 [Garrard & Henner, Gene (1993), 128:103]; [Knappik et al., J. Mol. Biol. (1999), 296:57]을 참조한다. 그러나, 이러한 시도는 성공 여부가 불투명하고, 체계적이고 정량적인 방식으로 적용되지 않았다. 아미노산 변화의 수를 최소화하면서 CDR 영역의 다양성을 생성하는 방법이 시도되었다. 또한, 일부 경우에, 제1 라이브러리가 한 가지 기준 세트에 따라 생성되면 제1 라이브러리의 다양성을 더 향상시키는 것이 바람직할 수 있다. 그러나, 이는 제1 라이브러리가 충분한 다양성을 갖고, 여전히 충분히 작은 크기를 유지하여 수율 등과 같은 실제 제한을 실질적으로 초과하지 않고 추가의 다양성이 도입될 수 있도록 하는 것을 필요로 한다.

[0012] 몇몇 군은 단백질 생성에 필요한 아미노산 레퍼토리의 최소 개수를 이론적 및 실험적으로 분석한 것을 보고하였다. 그러나, 이들 분석은 일반적으로 범위 및 특성이 제한되고, 아미노산 유형의 한정된 세트를 사용하여 복합 기능을 갖는 폴리펩티드를 생성할 가능성과 관련하여 실질적인 회의 및 문제가 남아 있다. 예를 들면, 문헌 [Riddle et al., Nat. Struct. Biol. (1997), 4(10):805-809]; [Shang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1994), 91:8373-8377]; [Heinz et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1992), 89:3751-3755]; [Regan & Degrad, Science (1988), 241:976-978]; [Kamteker et al., Science (1993), 262:1680-1685]; [Wang & Wang, Nat. Struct. Biol. (1999), 6(11):1033-1038]; [Xiong et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1995), 92:6349-6353]; [Heinz et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1992), 89:3751-3755]; [Cannata et al., Bioinformatics (2002), 18(8):1102-1108]; [Davidson et al., Nat. Struct. Biol. (1995), 2(10):856-863]; [Murphy et al., Prot. Eng. (2000), 13(3):149-152]; [Brown & Sauer, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1999), 96:1983-1988]; [Akanuma et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (2002), 99(21):13549-13553]; [Chan, Nat. Struct. Biol. (1999), 6(11):994-996]을 참조한다.

[0013] 따라서, 추가의 다양화, 고수율 발현 등을 위한 추가의 조작에는 충분하나 아직 충분히 변화가능한 정도의 서열 다양성을 갖는 기능적 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리의 생성 방법을 개선시킬 것이 계속 요망되고 있다. 본원에 기재된 본 발명은 이러한 요구를 충족시키며, 다른 이점을 제공한다.

발명의 상세한 설명

[0014] 본 발명은 한정된 다양성을 갖는 서열을 포함하지만 여전히 표적 항원 결합 능력을 보유하고 있는 변이체 CDR을 포함하는 폴리펩티드를 생성하는 간소화되고 유연한 방법을 제공한다. 표적 결합체의 충분한 다양성이 오직 특정 CDR(들) 또는 모든 CDR이 다양화되는 경우에만 생성될 수 있다는 제안에 기초한 통상적인 방법, 및 충분한 다양성이 가장 넓은 범위의 아미노산 치환 (일반적으로, 모든 또는 대부분의 20 가지 아미노산을 사용하는 치환에 의함)에 의존한다는 통상적인 관점과는 달리, 본 발명은 참조 폴리펩티드 또는 공급원 항체의 특정 CDR(들) 또는 특정 개수의 CDR의 다양화에 반드시 의존하지는 않는 고품질의 표적 결합체를 생성할 수 있는 방법을 제공한다. 본 발명은 적어도 부분적으로 표적 항원에 결합할 수 있는 기능성 폴리펩티드를 포함하는 고품질의 고투로 다양한 라이브러리가 고투로 한정된 수의 아미노산 잔기를 갖는 최소 개수의 아미노산 위치를 다양화시켜 생성될 수 있다는 놀랍고도 기대하지 못한 발견에 기초한다. 본 발명의 방법은 적은 수의 아미노산을 코딩하는 한정된 코돈 세트를 사용하는 것에 기초하며, 빠르고, 편리하고 유연하다. 본 발명의 방법에 의해 생성된 폴리펩티드의 한정된 서열 다양성, 및 이에 따라 일반적으로 보다 작아진 집단 (예를 들어, 라이브러리) 크기는 필요 또는 경우에 따라 이들 집단의 추가의 다양화를 허용한다. 이는 일반적으로 통상적인 방법에 의해 제공되지 않는 이점이다. 본 발명에 의해 생성된 후보 결합체 폴리펩티드는 고품질의 표적 결합 특성을 보유하고, 세포 배양에서 고수율로 생성되는 구조적 특징을 갖는다. 본 발명은 이들 결합체 폴리펩티드의 생성 방법, 이들 폴리펩티드의 사용 방법 및 이를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0015] 한 측면에서, 본 발명은 단일 폴리펩티드로서 및 관심있는 표적에 대한 후보 결합체인 복수의 독특한 개별 폴리펩티드의 한 구성원으로서 다양화된 CDR(들) 및 이중 폴리펩티드 서열 (특정 실시양태에서, 바이러스 폴리펩티드의 적어도 일부의 서열)을 포함하는 융합 폴리펩티드를 제공한다. 이러한 폴리펩티드를 포함하는 조성물 (예컨대, 라이브러리)의 다양한 응용 용도, 예를 들면 관심있는 표적에 결합하는 후보 이뮤노글로불린 폴리펩티드 (예를 들어, 항체 및 항체 단편)의 풀로서의 용도가 발견되었다. 이러한 폴리펩티드는 또한 비-이뮤노글로불린 스캐폴드 (예를 들어, 단백질, 예컨대 인간 성장 호르몬 등)를 사용하여 생성될 수 있다. 본 발명은 본 발명의

방법에 따라 생성된 폴리뉴클레오티드 및 폴리펩티드, 및 본 발명의 방법을 실시하는데 사용되고/거나 본 발명의 폴리펩티드/폴리뉴클레오티드 및/또는 조성물을 사용하는 시스템, 키트 및 제품을 비롯한 다양한 측면을 포함한다.

- [0016] 한 측면에서, 본 발명은 H1, H2, H3, L1, L2 및 L3으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 모든 변이체 CDR을 포함하는 폴리펩티드의 생성 방법을 제공하며, 여기서 상기 폴리펩티드는 관심있는 표적 항원에 결합할 수 있고, 상기 방법은 변이체 CDR에 상응하는 참조 CDR에서 적어도 하나 (또는 전체 이하의 임의의 수)의 용매 접근가능하고 고도로 다양한 아미노산 위치를 확인하는 것; 및 (ii) 한정된 코돈 세트 (아래 제공된 "한정된 코돈 세트"의 정의에 따름)를 사용하여 CDR의 변이체 카피를 생성하여 용매 접근가능하고 고도로 다양한 위치에서 아미노산을 변형시키는 것을 포함한다.
- [0017] 본 발명의 방법의 다양한 측면 및 실시양태는 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 풀의 생성 및/또는 사용, 특히 관심있는 표적 항원에 대한 후보 결합체의 선별 및 동정에 유용하다. 예를 들어, 본 발명은 각각 H1, H2, H3, L1, L2 및 L3으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 모든 변이체 CDR을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 생성 방법을 제공하며, 여기서 상기 폴리펩티드는 관심있는 표적 항원에 결합할 수 있고, 상기 방법은 변이체 CDR에 상응하는 참조 CDR에서 적어도 하나 (또는 전체 이하의 임의의 수)의 용매 접근가능하고 고도로 다양한 아미노산 위치를 확인하는 것; 및 (ii) 한정된 코돈 세트를 사용하여 CDR의 변이체 카피를 생성하여 용매 접근가능하고 고도로 다양한 위치에서 아미노산을 변형시키는 것을 포함하고; 이 때 복수의 폴리펩티드는 주형 폴리뉴클레오티드를 변이체 아미노산을 코딩하는 서열에서 고도로 한정된 동의성을 포함하는 올리고뉴클레오티드 세트로 증폭시켜 생성되고, 상기 한정된 동의성은 한정된 코돈 세트의 제한된 수의 코돈 서열을 반영한다.
- [0018] 또다른 예에서, 본 발명은 CDR L1, L2, L3, H1, H2 및 H3으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 모든 CDR을 포함하는 공급원 항체의 경쇄, 중쇄, 또는 경쇄 및 중쇄 둘 모두의 가변 도메인을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 발현 벡터를 구축하는 단계; 및 한정된 코돈 세트를 사용하여 적어도 하나 (또는 전체 이하의 임의의 수)의 용매 접근가능하고 고도로 다양한 아미노산 위치에서 공급원 항체의 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 모든 CDR을 돌연변이화시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0019] 또다른 예에서, 본 발명은 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 디스플레이하는 파지 또는 파지미드 입자의 라이브러리를 구축하는 단계; 표적 항원에 대한 입자의 결합에 적합한 조건하에 입자의 라이브러리와 표적 항원을 접촉시키는 단계; 및 표적 항원에 결합하지 않은 입자로부터 표적 항원에 결합하는 입자를 분리하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.
- [0020] 본원에 기재된 본 발명의 방법들 중 어느 하나에서, 용매 접근가능하고/거나 고도로 다양한 아미노산 위치는 본원에 기재된 기준, 특히 본원에 기재된 위치의 임의의 조합, 예를 들면 본 발명의 폴리펩티드에 대해 기재된 위치의 임의의 조합을 만족시키는 임의의 것일 수 있다 (본원에 보다 상세하게 기재되어 있음). 적합한 변이체 아미노산은 본원에 기재된 기준을 만족시키는 임의의 것, 예를 들면 아래 상세하게 기재된 바와 같은 본 발명의 폴리펩티드에서의 변이체 아미노산일 수 있다.
- [0021] CDR의 다양성 디자인은 CDR의 길이 및/또는 서열의 다양성 디자인을 포함할 수 있다. 예를 들어, CDRH3은 예를 들면 한정된 코돈 세트에 의해 코딩되는 아미노산으로 고도로 다양하고/거나 용매 접근가능한 위치를 변화시켜, 예를 들면 길이를 7 내지 21개 아미노산 길이로 다양화시키고/거나 그의 서열을 다양화시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, CDRH3의 일부는 5 내지 21개, 7 내지 20개, 9 내지 15개 또는 11 내지 13개 범위의 아미노산 길이를 갖고, 19개, 15개, 10개, 8개, 6개, 4개 또는 2개 이하의 아미노산을 코딩하는 코돈 세트와 같은 제한된 수의 아미노산을 코딩하는 한정된 코돈 세트에 의해 코딩되는 하나 이상의 위치에서 변이체 아미노산을 갖는다. 일부 실시양태에서, C 말단은 아미노산 서열 AM, AMDY 또는 DY를 갖는다.
- [0022] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 폴리펩티드의 표적 결합 기능을 보유하는 한 다양한 형태일 수 있다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 융합 폴리펩티드 (즉, 이중 폴리펩티드로부터의 둘 이상의 서열의 융합)이다. 본 발명에 따른 다양화된 CDR을 갖는 폴리펩티드는, 예를 들면 파지 디스플레이에 사용하기 위한 바이러스 외피 단백질의 적어도 일부에 대한 융합 폴리펩티드로서 제조될 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드의 디스플레이에 사용될 수 있는 바이러스 외피 단백질은 단백질 pIII, 주요 외피 단백질 pVIII, Soc (T4 파지), Hoc (T4 파지), gpD (람다 파지), pVI, 또는 이들의 변이체 또는 단편을 포함한다. 일부 실시양태에서, 융합 폴리펩티드는 바이러스 외피 단백질, 예컨대 pIII, pVIII, Soc, Hoc, gpD, pVI, 및 이들의 변이체 또는 단편으로 이루어진 군으로부터 선택된 바이러스 외피 단백질의 적어도 일부에 융합된다.

- [0023] 일부 실시양태에서, 다양화된 CDR을 갖는 폴리펩티드가 하나 이상의 항체 가변 도메인인 경우, 항체 가변 도메인은 ScFv, Fab, ScFv₂, F(ab')₂ 및 F(ab)₂를 비롯한 다양한 포맷의 바이러스의 표면에 디스플레이될 수 있다. 이가 방식의 폴리펩티드 디스플레이의 경우, 특정 실시양태의 융합 단백질은 이량체화 도메인을 포함한다. 이량체화 도메인은 이량체화 서열 및/또는 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 서열을 포함할 수 있다. 이량체화 도메인은 중쇄 가변 또는 불변 도메인 (예를 들어, CH1)의 C-말단에 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 이량체화 도메인의 구조는 항체 가변 도메인이 바이러스 외피 단백질 성분을 갖는 융합 단백질 성분으로 생성되는지 여부 (예를 들어, 이량체화 도메인 뒤에 앰버 정지 코돈이 없음) 또는 항체 가변 도메인이 바이러스 외피 단백질 성분 없이 우세하게 생성되는지 여부 (예를 들어, 이량체화 도메인 뒤에 앰버 정지 코돈이 있음)에 따라 달라질 수 있다. 항체 가변 도메인이 바이러스 외피 단백질 성분을 갖는 융합 단백질로서 우세하게 생성되는 경우, 하나 이상의 디설피드 결합 및/또는 단일 이량체화 서열은 이가 디스플레이를 제공한다. 바이러스 외피 단백질 성분에 융합되지 않고 우세하게 생성되는 항체 가변 도메인 (예를 들어, 앰버 정지 코돈이 있음)의 경우, 이량체화 도메인은 시스테인 잔기 및 이량체화 서열을 모두 포함할 수 있다.
- [0024] 또한, 임의로는 융합 폴리펩티드는 정제, 검출 및/또는 스크리닝에 유용할 수 있는 태그, 예컨대 FLAG, 폴리-his, gD 태그, c-myc, 형광 단백질 또는 β-갈락토시다제를 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 융합 폴리펩티드는 폴리펩티드 태그에 융합된 경쇄 가변 또는 불변 도메인을 포함한다.
- [0025] 본 발명의 또다른 측면에서, 항체 가변 도메인과 같은 폴리펩티드는 단일 공급원 또는 주형 분자로부터 수득한다. 공급원 또는 주형 분자는 원핵 또는 진핵 세포 배양물에서 생성되는 경우에 양호한 수율 및 안정성과 같은 특징을 위해 및/또는 다양한 길이의 CDRH3 영역을 수용하도록 선별 또는 디자인될 수 있다. 주형 분자의 서열은 과거 외피 단백질 성분을 갖는 융합 단백질로서 제시된 경우에 가변 도메인의 폴딩 및/또는 디스플레이가 개선되도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 공급원 항체는 인간화 항체 4D5의 가변 도메인 (경쇄 가변 도메인 (도 1; 서열 1)); (중쇄 가변 도메인 (도 1; 서열 2))의 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 또는 경쇄의 항체 가변 도메인에서, 프레임워크 영역 잔기는 항체 가변 도메인의 폴딩, 수율, 디스플레이 또는 친화도를 개선시키도록 공급원 또는 주형 분자로부터 변형 또는 변화될 수 있다. 일부 실시양태에서, 프레임워크 잔기는 공급원 분자의 프레임워크 위치 내의 아미노산이 자연 발생 항체 또는 하위군 컨센서스(consensus) 서열 내의 위치에서 통상적으로 발견되는 아미노산(들)과 상이한 경우에 공급원 또는 주형 분자로부터 변형되도록 선별된다. 이러한 위치에서의 아미노산은 해당 위치에서의 자연 발생 항체 또는 하위군 컨센서스 서열에서 가장 통상적으로 발견되는 아미노산에 대해 변화될 수 있다. 한 실시양태에서, 중쇄의 프레임워크 잔기 71은 R, V 또는 A일 수 있다. 또다른 예에서, 중쇄의 프레임워크 잔기 93은 S 또는 A일 수 있다. 또다른 예에서, 프레임워크 잔기 94는 R, K 또는 T이거나 또는 MRT에 의해 코딩될 수 있다. 또다른 예에서, 프레임워크 잔기 93은 A이고, 프레임워크 잔기 94는 R이다. 또다른 예에서, 중쇄의 프레임워크 잔기 49는 알라닌 또는 글리신일 수 있다. 경쇄의 프레임워크 잔기는 또한 변화될 수 있다. 예를 들어, 위치 66의 아미노산은 아르기닌 또는 글리신일 수 있다. 야생형 인간화 항체 4D5-8 경쇄 및 중쇄 서열에 대한 프레임워크 영역은 도 6에 나타내었다 (각각 서열 6-9 및 10-13). 경쇄가 위치 66에서 변형되고, 중쇄가 위치 71, 73 및 78에서 변형된 인간화 항체 4D5-8 경쇄 및 중쇄 서열의 변이체 버전에 대한 프레임워크 영역은 도 7에 나타내었다 (각각 서열 14-17 및 18-21).
- [0026] 본 발명의 방법은 CDR 서열의 다양한 세트를 포함하는 매우 다양한 폴리펩티드를 생성할 수 있다. 한 실시양태에서, 하나 이상의 라이브러리는 본원에 기재된 본 발명의 방법을 이용하여 형성된다. 라이브러리는 표적 항원, 예를 들어 인간 DR5 및 HER-2에 대한 결합에 대해 스크리닝된다.
- [0027] 다양성을 제공하도록 무작위화된 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인이 제공된다. 한 실시양태에서, 폴리펩티드는
- [0028] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 S 및 Y로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고;
- [0029] ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고;
- [0030] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-D-Y (서열 31)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, X1은 R, Y 및 M으로부터 선택되고; X2는 Y 및 R

로부터 선택되고; X3은 Y, S, R, P 및 G로부터 선택되고, X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y, S, R 및 H로부터 선택되고; X6은 R, Y 및 S로부터 선택되고; X7은 G, Y 및 S로부터 선택되고; X8은 R, Y 및 S로부터 선택되고; X9는 G, Y 및 S로부터 선택되고; X10은 R, Y 및 S로부터 선택되고; X11은 G, Y 및 S로부터 선택되고; X12는 S, Y, R, G 및 A로부터 선택되고; X13은 G 및 Y로부터 선택되고; X14는 L, M, R, G 및 A로부터 선택되고; X15는 G, F 및 L로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X16은 F이거나 또는 존재하지 않는 것인

[0031] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0032] 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는

[0033] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고;

[0034] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고;

[0035] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 24)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인

[0036] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0037] 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는

[0038] i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고;

[0039] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고;

[0040] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 26)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인

[0041] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0042] 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는

[0043] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고;

[0044] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고;

[0045] iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 27)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인

- [0046] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0047] 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는
- [0048] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고;
- [0049] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고;
- [0050] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 28)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인
- [0051] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0052] 한 측면에서, CDRH1은 서열 524-540 및 189-294 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 11A 또는 도 15의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH1 아미노산 서열을 포함한다. CDRH2는 서열 541-557 및 295-400으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 11A 또는 도 15의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH2 아미노산 서열을 포함한다. CDRH3은 서열 558-574 및 401-506으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 11A 또는 도 15의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0053] 또다른 측면에서, CDRH3에서 X1은 R 및 Y로부터 선택되고; X3은 S이고; X8은 S이고; X9는 Y이고; X10은 Y 또는 R이다. 또다른 실시양태에서, CDRH3은 아미노산 서열 X1-R-S-Y-R-Y-G-S-Y-X10-G-S-Y-X14-F-D-Y (서열 575)를 포함한다.
- [0054] 또다른 측면에서, 폴리펩티드는 인간 DR5에 결합하거나 또는 인간 DR5 및 뮤린(murine) DR5에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 항체이다.
- [0055] 한 실시양태에서, 항체는 i) 아미노산 서열 GFYISSSSIH (서열 576)를 포함하는 CDRH1; ii) 아미노산 서열 SISPSGSGTYADSVKG (서열 577)를 포함하는 CDRH2; 및 iii) 아미노산 서열 YRSYRYGSYYGSYGFYD (서열 578)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는 i) 아미노산 서열 GFYIYSSSIH (서열 579)를 포함하는 CDRH1; ii) 아미노산 서열 SISPSGTYADSVKG (서열 580)를 포함하는 CDRH2; 및 iii) 아미노산 서열 RRSYRYGSYRGSYAFDY (서열 581)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0056] 또다른 측면에서, 폴리펩티드는
- [0057] (i) CDRL3이 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 25)를 포함하고; 여기서 X1은 위치 91이며, Y, H 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y, S 및 T로부터 선택되고; X4는 Y, S 및 T로부터 선택되고; X5는 S, P 및 Y로부터 선택되는 것인 경쇄 가변 도메인을 더 포함한다. 한 실시양태에서, CDRL1은 아미노산 서열 RASQDVNTAVA (서열 29)를 포함한다. 한 실시양태에서, CDRL2는 아미노산 서열 SASSLYS (서열 30)를 포함한다.
- [0058] 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 위치 28이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 50이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; X6은 S 및 Y로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-D-Y (서열 582)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 95이

며, Y 및 R로부터 선택되고; X2는 Y, S 및 R로부터 선택되고; X3은 S, G, Y 및 H로부터 선택되고; X4는 S, G, Y 및 R로부터 선택되고; X5는 G 및 A로부터 선택되고; X6은 F, M, L 및 A로부터 선택되고; X7은 F, M 및 L로부터 선택되거나 또는 존재하지 않는 것인 이류노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0059] 한 측면에서, CDRH1은 서열 189-198 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. CDRH2는 서열 295-304로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. CDRH3은 서열 401-410으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0060] 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 위치 28이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 22)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 50이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-D-Y (서열 583)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 95이며, Y, S 및 G로부터 선택되고; X2는 Y, S, G, R, A 및 M으로부터 선택되고; X3은 G, Y, S 및 R로부터 선택되고; X4는 G, Y 및 F로부터 선택되고; X5는 Y, S, N 및 G로부터 선택되고; X6은 Y, R, H 및 W로부터 선택되고; X7은 G 및 A로부터 선택되고; X8은 F, M, L 및 I로부터 선택되는 것인 이류노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0061] 한 측면에서, CDRH1은 서열 199-216 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. CDRH2는 서열 305-322로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다. CDRH3은 서열 411-428로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열을 포함한다.

[0062] 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는

[0063] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 위치 28이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고;

[0064] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 50이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고;

[0065] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 584)를 포함하고, 여기서 X1은 아미노산 위치 95이며, Y, S, R, G 및 E로부터 선택되고; X2는 Y, S, R 및 G로부터 선택되고; X3은 S, Y, G 및 W로부터 선택되고; X4는 S, Y, G 및 Q로부터 선택되고; X5는 G, Y 및 S로부터 선택되고; X6은 G, Y, S, R 및 V로부터 선택되고; X7은 S, Y, G 및 R로부터 선택되고; X8은 Y, S, G, R, P 및 V로부터 선택되고; X9는 G, A, Y, S 및 R로부터 선택되고; X10은 M, F, G, Y, S 및 R로부터 선택되고; X11은 A, Y, S, G 및 R로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X12는 I, M, F, L, A, G, S, Y, R 및 T로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X13은 F, M, L, G, A, Y, T 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X14는 L, M, F, I, G, Y, A 및 T로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X15는 M, L, Y, G 및 R로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X16은 Y 및 G로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X17은 R, M 및 G로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 P 및 A로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X19는 L이거나 또는 존재하지 않는 것인

[0066] 이류노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0067] 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는

[0068] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1 내지 X5는 시스테인 이외의 자연 발생 아미노산이고;

[0069] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X6-I-X7-P-X8-X9-G-X10-T-X11-Y-A-D-S-V-K-G를 포함하고, 여기서 X6은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고, X6 내지 X11은 시스테인 이외의 자연 발생 아미노산이고;

[0070] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X12-X13-X14-X15-X16-(X17)_n-X18-X19-D-Y를 포함하고, 여기서 X12는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, n은 중쇄 가변 도메인의 기능적 활성을 유지하기에 적합한 수이고, X12 내지 X19는 시스테인 이외의 자연 발생 아미노산인

- [0071] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0072] 한 측면에서, n 은 1 내지 12이다. 한 측면에서, X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고, X6은 Y 및 S로부터 선택된다. 한 측면에서, X6은 Y 및 S로부터 선택되고; X7은 Y 및 S로부터 선택되고; X8은 Y 및 S로부터 선택되고; X9는 Y 및 S로부터 선택되고; X10은 Y 및 S로부터 선택되고; X11은 Y 및 S로부터 선택된다. 한 측면에서, 각각의 위치 X12 내지 X17에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고, X18은 G 및 A로부터 선택되고, X19는 I, M, L 및 F로부터 선택된다. 다른 측면에서, 각각의 위치 X12 내지 X17에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고, X18은 G 및 A로부터 선택되고, X19는 I, M, L 및 F로부터 선택된다. 또다른 방법의 측면에서, 각각의 위치 X12 내지 X17에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고, X18은 G 및 A로부터 선택되고, X19는 I, M, L 및 F로부터 선택된다. 또다른 방법의 측면에서, 각각의 위치 X12 내지 X17에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고, X18은 G 및 A로부터 선택되고, X19는 I, M, L 및 F로부터 선택된다. 한 측면에서, CDRH1은 서열 217-294로부터 선택된 아미노산 서열 또는 도 11의 임의의 CDRH1 서열을 포함한다. 한 측면에서, CDRH2는 서열 323-400으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 도 11의 임의의 CDRH2 서열을 포함한다. 한 측면에서, CDRH3은 서열 429-506으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 도 11의 임의의 CDRH3 서열을 포함한다.
- [0073] 또다른 실시양태에서,
- [0074] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1 내지 X5는 시스테인 이외의 자연 발생 아미노산이고;
- [0075] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X6-I-X7-P-X8-X9-S-X10-T-X11-Y-A-D-S-V-K-G (서열)를 포함하고, 여기서 X6은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고, X6 내지 X11은 시스테인 이외의 자연 발생 아미노산이고;
- [0076] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X12-X13-X14-(X15)_n-X16-X17 (서열)을 포함하고, 여기서 X14는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, n 은 중쇄 가변 도메인의 기능적 활성을 유지하기에 적합한 수이고, X12 내지 X17은 시스테인 이외의 자연 발생 아미노산인
- [0077] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.
- [0078] 한 측면에서, n 은 1 내지 14이다. 또다른 측면에서, X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X1은 W 및 S로부터 선택되고; X2는 W 및 S로부터 선택되고; X3은 W 및 S로부터 선택되고; X4는 W 및 S로부터 선택되고; X5는 W 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X1은 R 및 S로부터 선택되고; X2는 R 및 S로부터 선택되고; X3은 R 및 S로부터 선택되고; X4는 R 및 S로부터 선택되고; X5는 R 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X1은 F 및 S로부터 선택되고; X2는 F 및 S로부터 선택되고; X3은 F 및 S로부터 선택되고; X4는 F 및 S로부터 선택되고; X5는 F 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X6은 Y 및 S로부터 선택되고; X7은 Y 및 S로부터 선택되고; X8은 Y 및 S로부터 선택되고; X9는 Y 및 S로부터 선택되고; X10은 Y 및 S로부터 선택되고; X11은 Y 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X6은 W 및 S로부터 선택되고; X7은 W 및 S로부터 선택되고; X8은 W 및 S로부터 선택되고; X9는 W 및 S로부터 선택되고; X10은 W 및 S로부터 선택되고; X11은 W 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X6은 R 및 S로부터 선택되고; X7은 R 및 S로부터 선택되고; X8은 R 및 S로부터 선택되고; X9는 R 및 S로부터 선택되고; X10은 R 및 S로부터 선택되고; X11은 R 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X6은 F 및 S로부터 선택되고; X7은 F 및 S로부터 선택되고; X8은 F 및 S로부터 선택되고; X9는 F 및 S로부터 선택되고; X10은 F 및 S로부터 선택되고; X11은 F 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X12는 Y 및 S로부터 선택되고; X13은 Y 및 S로부터 선택되고; X14는 Y 및 S로부터 선택되고; X15는 Y 및 S로부터 선택되고; X16은 G 및 A로부터 선택되고; X17은 F, L, I 및 M으로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X12는 W 및 S로부터 선택되고; X13은 W 및 S로부터 선택되고; X14는 W 및 S로부터 선택되고; X15는 W 및 S로부터 선택되고; X16은 G 및 A로부터 선택되고; X17은 F, L, I 및 M으로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X12는 R 및 S로부터 선택되고; X13은 R 및 S로부터 선택되고; X14는 R 및 S로부터 선택되고; X15는 R 및 S로부터 선택되고; X16은 G 및 A로부터 선택되고; X17은 F, L, I 및 M으로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X12는 F 및 S로부터 선택되고; X13은 F 및 S로부터 선택되고; X14는 F 및 S로부터 선택되고; X15는 F 및 S로부터 선택되고; X16은 G 및 A로부터 선택되

고; X17은 F, L, I 및 M으로부터 선택된다.

- [0079] 또다른 측면에서, 각각의 위치 X12 내지 X15에서의 아미노산은 S 및 A, C, F, G, I, L, N, P, R, T, W 및 Y 중 하나로부터 선택되고; X16은 G 및 A로부터 선택되고; X17은 F, L, I 및 M으로부터 선택된다.
- [0080] 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는
- [0081] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고;
- [0082] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고;
- [0083] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X17에서의 아미노산은 S 및 A, C, F, G, I, L, N, P, R, T, W 또는 Y 중 하나로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 F, L, I 및 M으로부터 선택되는 것인
- [0084] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0085] 한 측면에서, CDRH1은 서열 816-842 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 21A의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH1 아미노산 서열을 포함한다. CDRH2는 서열 843-869로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 21A의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH2 아미노산 서열을 포함한다. CDRH3은 서열 870-896으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 21A의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0086] 다른 실시양태에서, 폴리펩티드는
- [0087] (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; 각각의 위치 X1 내지 X5에서의 아미노산은 S 및 Y, W, R 또는 F 중 하나로부터 선택되고;
- [0088] (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 S 및 Y, W, R 또는 F 중 하나로부터 선택되고;
- [0089] (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X19에서의 아미노산은 S 및 Y, W, R 또는 F 중 하나로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 F, L, I 및 M으로부터 선택되는 것인
- [0090] 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0091] 한 측면에서, CDRH1은 서열 924-950 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 24A의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH1 아미노산 서열을 포함한다. CDRH2는 서열 951-977로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 24A의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH2 아미노산 서열을 포함한다. CDRH3은 서열 978-1004로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 서열 또는 도 24A의 서열 중 어느 하나로부터 선택된 하나 이상의 CDRH3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0092] 한 측면에서, 폴리펩티드는 인간 HER-2에 결합한다. 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 항체를 포함한다. 한 실시양태에서, 항체는
- [0093] i) 아미노산 서열 GFSIYSSYIH (서열 821)를 포함하는 CDRH1;
- [0094] ii) 아미노산 서열 SIYPYSGYTSYADSVKG (서열 848)를 포함하는 CDRH2; 및
- [0095] iii) 아미노산 서열 WWSSAFDY (서열 875)를 포함하는 CDRH3
- [0096] 을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 또다른 실시양태에서, 항체는

- [0097] i) 아미노산 서열 GFSIWWSWIH (서열 932)를 포함하는 CDRH1;
- [0098] ii) 아미노산 서열 SISPSGWTSYADSVKG (서열 959)를 포함하는 CDRH2; 및
- [0099] iii) 아미노산 서열 WWSSAMDY (서열 986)를 포함하는 CDRH3
- [0100] 을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 또다른 실시양태에서, 항체는
- [0101] i) 아미노산 서열 GFSISSSYIH (서열 944)를 포함하는 CDRH1;
- [0102] ii) 아미노산 서열 SIYPYSGYTSYADSVKG (서열 971)를 포함하는 CDRH2; 및
- [0103] iii) 아미노산 서열 YYSYALDY (서열 998)를 포함하는 CDRH3
- [0104] 을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 또다른 실시양태에서, 항체는
- [0105] i) 아미노산 서열 GFYISSSSIH (서열 230)를 포함하는 CDRH1;
- [0106] ii) 아미노산 서열 YIYPSSGYTSYADSVKG (서열 336)를 포함하는 CDRH2; 및
- [0107] iii) 아미노산 서열 GYYYSYSGYALDY (서열 442)를 포함하는 CDRH3
- [0108] 을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0109] 또다른 측면에서, 항체는 X1이 Kabat 번호지정에 따라 위치 91이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2가 S, Y 및 F로부터 선택되고; X3이 Y, S 및 F로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 S 및 Y로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 25)를 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 더 포함한다.
- [0110] 또다른 실시양태에서, CDRL3이 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고, X1은 Y 및 S로부터 선택되고, X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 경쇄 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다. 또다른 실시양태에서, 폴리펩티드는 CDRL3이 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고, 각각의 위치 X1 내지 X5에서의 아미노산은 S 및 Y, W, R 또는 F 중 하나로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 경쇄 가변 도메인을 포함한다. 한 측면에서, CDRL3은 서열 83-188, 507-523, 789-815 및 897-923 또는 도 11, 15, 21 또는 24의 CDRL3 서열 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0111] 또다른 실시양태에서,
- [0112] (i) CDRL1이 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하고;
- [0113] (ii) CDRL2가 제2 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하고;
- [0114] (iii) CDRL3이 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-(X4)_n-X5-X6-T (서열)를 포함하고, 여기서 X1 내지 X6은 시스템 이외의 자연 발생 아미노산이고, X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91인
- [0115] 이뮤노글로불린 경쇄 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.
- [0116] 한 측면에서, X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고, X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 P 및 L로부터 선택되고; X6은 F, L, I 및 V로부터 선택된다. 한 측면에서, n은 1 내지 3이다. 한 측면에서, CDRL3은 서열 83-188, 507-523, 789-815 및 897-923으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 도 11, 15, 21 또는 24의 임의의 CDRL3 서열을 포함한다. 한 측면에서, 제1 컨센서스 추가변 서열은 R-A-S-Q-D-V-N-T-A-V-A (서열 29)이다. 한 측면에서, 제2 컨센서스 추가변 서열은 S-A-S-S-L-Y-S (서열 30)이다.
- [0117] 또다른 실시양태에서,
- [0118] (i) CDRL1이 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하고;

- [0119] (ii) CDRL2가 제2 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하고;
- [0120] (iii) CDKL3이 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열)를 포함하고, 여기서 X1 내지 X5는 시스테인 이외의 임의의 자연 발생 아미노산이고, X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91인
- [0121] 이뮤노글로불린 경쇄 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.
- [0122] 한 측면에서, X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고, X1은 Y 및 S로부터 선택되고, X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택된다. 또다른 측면에서, X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고, 각각의 위치 X1 내지 X5에서의 아미노산은 S 및 Y, W, R 및 F 중 하나로부터 선택된다. 한 측면에서, CDRL3은 서열 83-188, 507-523, 789-815 및 897-923으로부터 선택된 아미노산 서열 또는 도 11, 15, 21 또는 24의 임의의 CDRL3 서열을 포함한다. 또다른 측면에서, 제1 컨센서스 추가변 서열은 R-A-S-Q-D-V-N-T-A-V-A (서열 29)이다. 또다른 측면에서, 제2 컨센서스 추가변 서열은 S-A-S-S-L-Y-S (서열 30)이다.
- [0123] 특정 실시양태에서, (a) 임의의 상기 언급된 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 중쇄 항체 가변 도메인, 및 (b) 임의의 상기 언급된 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 경쇄 항체 가변 도메인을 포함하는 둘 이상의 항체 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드가 제공된다.
- [0124] 특정 실시양태에서, 임의의 상기 언급된 중쇄 폴리펩티드에 따른 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드, 및 임의의 상기 언급된 경쇄 폴리펩티드에 따른 이뮤노글로불린 경쇄 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 항체가 제공된다.
- [0125] 특정 측면에서, 상기 언급된 폴리펩티드 및 항체는 중쇄 항체 가변 도메인의 C-말단 영역에 연결된 이량체화 도메인을 더 포함한다. 이러한 특정 측면에서, 이량체화 도메인은 루이신 지퍼 도메인 또는 적어도 하나의 시스테인 잔기를 포함하는 서열을 포함한다. 이러한 특정 측면에서, 이량체화 도메인은 항체로부터의 힌지 영역 및 루이신 지퍼를 포함한다. 특정한 다른 측면에서, 이량체화 도메인은 단일 시스테인이다.
- [0126] 한 실시양태에서, 임의의 상기 언급된 폴리펩티드를 포함하는 융합 폴리펩티드가 제공되며, 여기서 상기 언급된 폴리펩티드를 포함하는 항체 가변 도메인은 바이러스 외피 단백질의 적어도 일부에 융합된다. 한 측면에서, 바이러스 외피 단백질은 단백질 pIII, 주요 외피 단백질 pVIII, Soc, Hoc, gpD, pv1, 및 이들의 변이체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 한 측면에서, 융합 폴리펩티드는 가변 도메인 및 바이러스 외피 단백질 사이에 이량체화 도메인을 더 포함한다. 이러한 한 측면에서, 가변 도메인은 중쇄 가변 도메인이다. 또다른 측면에서, 융합 폴리펩티드는 펩티드 태그에 융합된 가변 도메인을 더 포함한다. 이러한 한 측면에서, 가변 도메인은 경쇄 가변 도메인이다. 이러한 또다른 측면에서, 펩티드 태그는 gD, c-myc, 폴리-his, 형광 단백질 및 베타-갈락토시다제로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0127] 한 실시양태에서, 하나 이상의 상기 기재된 폴리펩티드는 변이체 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및/또는 CDRL3에 상응하는 항체 가변 도메인에 대한 프레임워크 영역 FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4를 더 포함하고, 여기서 프레임워크 영역은 단일 항체 주형으로부터 수득한다. 이러한 특정 실시양태에서, 프레임워크 영역은 각각 항체 4D5 (서열 6-9 및 10-13) 또는 항체 4D5의 변이체 (서열 14-17 및 18-21)의 프레임워크 영역 아미노산 서열에 상응하는 아미노산 서열을 포함한다.
- [0128] 한 실시양태에서, 복수의 하나 이상의 상기 기재된 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리가 제공되고, 여기서 라이브러리는 적어도 1×10^4 개의 독특한 항체 가변 도메인 서열을 갖는다.
- [0129] 또다른 실시양태에서,
- [0130] (a) (i) G가 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1이 위치 28이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열)를 포함하는 CDRH1;
- [0131] (ii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되고; X6이 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열)를 포함하는 CDRH2; 및

- [0132] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산이 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고, 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산이 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18이 G 및 A로부터 선택되고; X19가 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열)를 포함하는 CDRH3
- [0133] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 포함하는, 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 생성 방법이 제공된다.
- [0134] 한 측면에서, 상기 방법은
- [0135] (b) (i) 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL1;
- [0136] (ii) 제2 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL2; 및
- [0137] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열)를 포함하는 CDRL3
- [0138] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 더 포함한다.
- [0139] 한 측면에서, 상기 복수의 폴리펩티드는 복수의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된다.
- [0140] 또다른 실시양태에서,
- [0141] (a) (i) G가 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1이 위치 28이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H를 포함하는 CDRH1;
- [0142] (ii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되고; X6이 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열:X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열)를 포함하는 CDRH2; 및
- [0143] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산이 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산이 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; X18이 G 및 A로부터 선택되고; X19가 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열)를 포함하는 CDRH3
- [0144] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 포함하는, 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 생성 방법이 제공된다.
- [0145] 한 측면에서, 상기 방법은
- [0146] (b) (i) 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL1;
- [0147] (ii) 제2 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL2; 및
- [0148] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이며, X1이 Y 및 S로부터 선택되고, X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T를 포함하는 CDRL3
- [0149] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 더 포함한다.
- [0150] 한 측면에서, 상기 복수의 폴리펩티드는 복수의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된다.

- [0151] 또다른 실시양태에서,
- [0152] (a) (i) G가 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1이 위치 28이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열)를 포함하는 CDRH1;
- [0153] (ii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되고; X6이 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열)를 포함하는 CDRH2; 및
- [0154] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산이 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산이 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18이 G 및 A로부터 선택되고; X19가 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열)를 포함하는 CDRH3
- [0155] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 포함하는, 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 생성 방법이 제공된다.
- [0156] 한 측면에서, 상기 방법은
- [0157] (b) (i) 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL1;
- [0158] (ii) 제2 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL2; 및
- [0159] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이며, X1이 Y 및 S로부터 선택되고, X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열)를 포함하는 CDRL3
- [0160] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 더 포함한다.
- [0161] 한 측면에서, 상기 복수의 폴리펩티드는 복수의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된다.
- [0162] 또다른 실시양태에서,
- [0163] (a) (i) G가 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1이 위치 28이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열)를 포함하는 CDRH1;
- [0164] (ii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되고; X6이 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열)를 포함하는 CDRH2; 및
- [0165] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산이 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산이 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18이 G 및 A로부터 선택되고; X19가 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열)를 포함하는 CDRH3
- [0166] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 포함하는, 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 생성 방법이 제공된다.
- [0167] 한 측면에서, 상기 방법은

- [0168] (b) (i) 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL1;
- [0169] (ii) 제2 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL2; 및
- [0170] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이며, X1이 Y 및 S로부터 선택되고, X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 2)를 포함하는 CDRL3
- [0171] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 더 포함한다.
- [0172] 한 측면에서, 제1 컨센서스 추가변 서열은 Kabat 컨센서스 CDRL1 서열을 포함한다. 이러한 한 측면에서, 제1 컨센서스 추가변 서열은 R-A-S-Q-D-V-N-T-A-V-A (서열 29)이다. 한 측면에서, 제2 컨센서스 추가변 서열은 Kabat 컨센서스 CDRL2 서열을 포함한다. 이러한 한 측면에서, 제2 컨센서스 추가변 서열은 S-A-S-S-L-Y-S (서열 30)이다. 한 측면에서, 상기 복수의 폴리펩티드는 복수의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된다.
- [0173] 한 실시양태에서,
- [0174] (a) (i) G가 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1이 위치 28이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하는 CDRH1;
- [0175] (ii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되고; X6이 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하는 CDRH2; 및
- [0176] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고; X1이 Y, S, G, R 및 E로부터 선택되고; X2가 Y, S, G, R, M 및 A로부터 선택되고; X3이 G, Y, S, R, W 및 H로부터 선택되고, X4가 Y, S, G, R, F 및 Q로부터 선택되고; X5가 G, Y, N, A 및 S로부터 선택되고; X6이 F, M, L, A, R, G, H, W, V, Y 및 S로부터 선택되고; X7이 M, L, G, A, R, F, Y 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X8이 M, L, F, I, R, G, P, V, Y 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X9가 G, Y, R 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X10이 M, F, G, Y, R 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X11이 A, G, Y, R 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X12가 I, M, L, F, A, G, R, T, Y 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X13이 F, M, L, G, A, T, Y 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X14가 L, F, M, I, G, A, T 및 Y로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X15가 M, Y, G, L 및 R로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X16이 Y 및 G로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X17이 R, M 및 G로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18이 P 및 A로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X19가 L이거나 또는 존재하지 않는 것인 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 24)를 포함하는 CDRH3
- [0177] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 포함하는, 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 생성 방법이 제공된다.
- [0178] 한 측면에서, CDRH1은 서열 189-294로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 측면에서, CDRH2는 서열 295-400으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다. 한 측면에서, CDRH3은 서열 401-506으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0179] 한 측면에서, 상기 방법은
- [0180] (b) (i) 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL1;
- [0181] (ii) 제2 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL2; 및
- [0182] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고, X1이 Y 및 S로부터 선택되고, X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아

미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 25)를 포함하는 CDRL3

[0183] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 더 포함한다.

[0184] 한 측면에서, 상기 복수의 폴리펩티드는 복수의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된다.

[0185] 한 실시양태에서,

[0186] (a) (i) G가 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1이 위치 28이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 _)를 포함하는 CDRH1;

[0187] (ii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되고; X6이 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 _)을 포함하는 CDRH2; 및

[0188] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X17에서의 아미노산이 S 및 A, C, F, G, I, L, N, P, R, T, W 또는 Y 중 하나로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18이 G 및 A로부터 선택되고; X19가 F, L, I 및 M으로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19 (서열 _)를 포함하는 CDRH3

[0189] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 포함하는, 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 생성 방법이 제공된다.

[0190] 한 측면에서, 상기 방법은

[0191] (b) (i) 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL1;

[0192] (ii) 제2 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL2; 및

[0193] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고; X1이 Y 및 S로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 Y 및 S로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 _)를 포함하는 CDRL3

[0194] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 더 포함한다.

[0195] 한 실시양태에서,

[0196] (a) (i) G가 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1이 위치 28이고; 각각의 위치 X1 내지 X5에서의 아미노산이 S 및 Y, W, R 또는 F 중 하나로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 _)를 포함하는 CDRH1;

[0197] (ii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산이 S 및 Y, W, R 또는 F 중 하나로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 _)를 포함하는 CDRH2; 및

[0198] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X17에서의 아미노산이 S 및 Y, W, R 또는 F 중 하나로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18이 G 및 A로부터 선택되고; X19가 F, L, I 및 M으로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19 (서열 _)를 포함하는 CDRH3

[0199] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 포함하는, 복수의 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 생성 방법이 제공된다.

[0200] 또다른 측면에서, 상기 방법은

[0201] (b) (i) 제1 컨센서스 추가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 추가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL1;

- [0202] (ii) 제2 컨센서스 초가변 서열 또는 상응하는 컨센서스 초가변 서열과 비교하여 하나 이상의 위치에서 치환을 포함하는 그의 변이체를 포함하는 CDRL2; 및
- [0203] (iii) X1이 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 91이고; 각각의 위치 X1 내지 X5에서의 아미노산이 S 및 Y, W, R 및 F 중 하나로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 _)를 포함하는 CDRL3
- [0204] 을 포함하는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계를 더 포함한다.
- [0205] 한 실시양태에서,
- [0206] (a) CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3으로 이루어진 군으로부터 선택된 공급원 항체의 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 모든 CDR을 포함하는 공급원 항체의 경쇄 가변 도메인, 중쇄 가변 도메인 또는 둘 모두를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 벡터를 구축하는 단계; 및
- [0207] (b) 공급원 항체의 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 모든 CDR을 돌연변이화시켜 상기 기재된 초가변 영역을 하나 이상 생성하는 단계
- [0208] 를 포함하는, 상기 기재된 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 서열 중 하나 이상을 생성하는 방법이 제공된다.
- [0209] 한 실시양태에서,
- [0210] (a) 복수의 하나 이상의 상기 기재된 폴리펩티드를 갖는 조성물을 생성하는 단계;
- [0211] (b) 조성물로부터 표적 항원에 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 선별하는 단계;
- [0212] (c) 표적 항원에 결합하지 않는 폴리펩티드로부터 표적 항원에 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 단리하는 단계; 및
- [0213] (d) 표적 항원에 대해 원하는 친화도를 갖는 표적 항원에 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 확인하는 단계
- [0214] 를 포함하는, 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드의 선별 방법이 제공된다.
- [0215] 한 실시양태에서,
- [0216] (a) 하나 이상의 상기 기재된 라이브러리를 표적 항원과 접촉시키는 단계;
- [0217] (b) 표적 항원에 특이적으로 결합하지 않는 폴리펩티드로부터 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 분리하고, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 회수하고, 약 0.1 nM 내지 약 1000 nM 농도의 표적 항원의 양을 감소시킨 일련의 용액에서 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 인큐베이션하는 단계; 및
- [0218] (c) 표적 항원이 특이적으로 결합하고, 최저 농도의 표적 항원에 결합할 수 있거나 또는 약 0.1 nM 내지 약 200 nM의 친화도를 갖는 하나 이상의 폴리펩티드를 선별하는 단계
- [0219] 를 포함하는, 항체 가변 도메인의 라이브러리로부터 표적 항원에 결합하는 항원 결합 가변 도메인을 선별하는 방법이 제공된다.
- [0220] 한 측면에서, 표적 항원은 HER2 또는 DR5이다. 한 측면에서, 표적 항원의 농도는 약 100 내지 약 250 nM이다. 한 측면에서, 표적 항원의 농도는 약 25 내지 약 100 nM이다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 라이브러리, 클론 또는 폴리펩티드는 표적 항원을 포함하는 항원의 패널에 대해 스크리닝된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원에 특이적으로 결합하며, 패널 상의 임의의 다른 항원과는 실질적으로 교차 반응하지 않는 클론 또는 폴리펩티드가 선별된다. 항원의 패널은 적어도 3개 및 100개 까지의 상이한 항원을 포함할 수 있다. 일부의 경우에, 항원의 패널은 3 내지 100개, 3 내지 50개, 3 내지 25개 또는 3 내지 10개의 상이한 항원을 포함한다.
- [0221] 한 실시양태에서,
- [0222] (a) 복수의 임의의 상기 기재된 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리를 결합에 적합한 조건하에 고정화된 표적 항원과 접촉시켜 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 단리하는 단계;
- [0223] (b) 표적 항원에 특이적으로 결합하지 않는 폴리펩티드로부터 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 분리하고, 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 회수하여 표적 항원에 특이

적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드에 대해 풍부화된 아집단을 수득하는 단계; 및

- [0224] (c) 임의로는, 매회 이전 회의 선별로부터 수득한 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드에 대해 풍부화된 아집단을 사용하여 상기 단계 (a) 및 (b)를 2회 이상 반복하는 단계
- [0225] 를 포함하는, 폴리펩티드의 라이브러리로부터 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드를 선별하는 방법이 제공된다.
- [0226] 한 측면에서, 상기 방법은
- [0227] (d) 아집단을 약 0.1 nM 내지 약 1000 nM 범위의 농도의 표지된 표적 항원과 결합에 적합한 조건하에 인큐베이션하여 혼합물을 형성하는 단계;
- [0228] (e) 혼합물을 표적 항원 상의 표지에 결합하는 고정화제와 접촉시키는 단계;
- [0229] (f) 표지된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 검출하고, 표지된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 표지된 표적 항원으로부터 회수하는 단계; 및
- [0230] (g) 임의로는, 매회 이전 회의 선별로부터 수득한 표지된 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드에 대해 풍부화된 아집단을 사용하고, 이전 회의 선별에서 보다 낮은 농도의 표지된 표적 항원을 사용하여 상기 단계 (d) 내지 (f)를 2회 이상 반복하는 단계를 더 포함한다.
- [0231] 한 측면에서, 상기 방법은 과량의 표지되지 않은 표적 항원을 혼합물에 첨가하는 단계 및 표적 항원에 저친화도로 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 회수하기에 충분한 시간 동안 혼합물을 인큐베이션하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시양태에서, 본원에 기재된 어느 한 방법에서, 하나 이상의 라이브러리, 클론 또는 폴리펩티드는 표적 항원을 포함하는 항원의 패널에 대해 스크리닝된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원에 특이적으로 결합하며, 패널 상의 임의의 다른 항원과는 실질적으로 교차 반응하지 않는 클론 또는 폴리펩티드가 선별된다. 패널의 항원은 적어도 3개 및 100개까지의 상이한 항원을 포함할 수 있다. 일부의 경우에, 항원의 패널은 3 내지 100개, 3 내지 50개, 3 내지 25개 또는 3 내지 10개의 상이한 항원을 포함한다.
- [0232] 한 실시양태에서,
- [0233] (a) 복수의 임의의 상기 기재된 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리를 약 0.1 nM 내지 약 1000 nM 이상의 농도의 표적 항원과 접촉시켜 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 단리하는 단계;
- [0234] (b) 표적 항원으로부터 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 회수하여 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드에 대해 풍부화된 아집단을 수득하는 단계; 및
- [0235] (c) 임의로는, 매회 이전 회의 선별로부터 수득한 아집단을 사용하고, 이전 회에 사용된 농도로부터 감소된 표적 항원의 농도를 사용하여 상기 단계 (a) 및 (b)를 2회 이상 반복하여 최저 농도의 표적 항원에서 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 단리하는 단계
- [0236] 를 포함하는, 표적 항원에 고친화도로 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 단리하는 방법이 제공된다.
- [0237] 한 실시양태에서,
- [0238] (a) 상기 라이브러리를 표지된 표적 항원 및 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드 사이에 하나 이상의 복합체를 형성하는데 적합한 조건하에 약 0.1 nM 내지 약 1000 nM 농도 범위의 표지된 표적 항원과 접촉시키는 단계;
- [0239] (b) 하나 이상의 복합체를 단리하고, 표지된 표적 항원으로부터 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 분리하여 표적 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드에 대해 풍부화된 아집단을 수득하는 단계; 및
- [0240] (c) 임의로는, 매회 이전 회의 선별로부터 수득한 아집단을 사용하고, 이전 회에 사용된 것보다 낮은 농도의 표적 항원을 사용하여 단계 (a) 및 (b)를 2회 이상 반복하는 단계
- [0241] 를 포함하는, 복수의 임의의 상기 기재된 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리로부터 표적 항원에 결합하는 하나 이상의 폴리펩티드를 선별하기 위한 검정이 제공된다. 한 측면에서, 상기 검정은 하나 이상의 복합체에 과량의 표지되지 않은 표적 항원을 첨가하는 것을 더 포함한다. 한 측면에서, 단계 (a) 및 (b)는 2회 반복되고, 이 때 제1회의 선별에서의 표적 항원의 농도는 약 100 nM 내지 약 250 nM이고, 제2회의 선별에서의 표적 항원의 농도

는 약 25 nM 내지 약 100 nM이고, 제3회의 선별에서의 표적 항원의 농도는 약 0.1 nM 내지 약 25 nM이다.

- [0242] 한 실시양태에서,
- [0243] (a) 라이브러리의 제1 샘플을 표적 항원에 대한 폴리펩티드의 결합에 적합한 조건하에 표적 항원과 인큐베이션하는 단계;
- [0244] (b) 라이브러리의 제2 샘플을 표적 항원의 부재하에 인큐베이션하는 단계;
- [0245] (c) 제1 샘플 및 제2 샘플을 각각 고정화된 표적 항원에 대한 폴리펩티드의 결합에 적합한 조건하에 고정화된 표적 항원과 접촉시키는 단계;
- [0246] (d) 각각의 샘플에 대해 고정화된 표적 항원에 결합된 폴리펩티드를 검출하는 단계; 및
- [0247] (e) 제2 샘플로부터의 결합된 폴리펩티드의 양에 대한 제1 샘플로부터의 결합된 폴리펩티드의 양의 비를 계산하여 표적 항원에 대한 폴리펩티드의 친화도를 결정하는 단계
- [0248] 를 포함하는, 복수의 임의의 상기 기재된 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리를 스크리닝하는 방법이 제공된다.
- [0249] 한 측면에서, 표적 항원은 DR5 또는 HER-2이다. 한 측면에서, 표적 항원의 농도는 약 100 내지 약 250 nM이다. 한 측면에서, 표적 항원의 농도는 약 25 내지 약 100 nM이다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 라이브러리, 클론 또는 폴리펩티드는 표적 항원을 포함하는 항원의 패널에 대해 스크리닝된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원에 특이적으로 결합하며, 패널 상의 임의의 다른 항원과는 실질적으로 교차 반응하지 않는 클론 또는 폴리펩티드가 선별된다. 항원의 패널은 적어도 3개 및 100개까지의 상이한 항원을 포함할 수 있다. 일부의 경우, 항원의 패널은 3 내지 100개, 3 내지 50개, 3 내지 25개 또는 3 내지 10개의 상이한 항원을 포함한다.
- [0250] 한 실시양태에서, 하나 이상의 상기 기재된 폴리펩티드는 인간 DR5에 특이적으로 결합한다. 한 측면에서, 폴리펩티드는 인간 DR5에 특이적으로 결합하는 항체이다. 이러한 한 측면에서, 항체는 4D5 항체의 프레임워크 영역을 포함한다. 이러한 한 측면에서, 항체는 변이체 4D5 항체의 프레임워크 영역을 포함한다. 이러한 한 측면에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 이러한 한 측면에서, 항체는 이중특이적 항체이다. 이러한 한 측면에서, 항체는 합성 항체이다.
- [0251] 한 실시양태에서, 항-DR5 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 S 및 Y로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-D-Y (서열 31)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, X1은 R, Y 및 M으로부터 선택되고; X2는 Y 및 R로부터 선택되고; X3은 Y, S, R, P 및 G로부터 선택되고, X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y, S, R 및 H로부터 선택되고; X6은 R, Y 및 S로부터 선택되고; X7은 G, Y 및 S로부터 선택되고; X8은 R, Y 및 S로부터 선택되고; X9는 G, Y 및 S로부터 선택되고; X10은 R, Y 및 S로부터 선택되고; X11은 G, Y 및 S로부터 선택되고; X12는 S, Y, R, G 및 A로부터 선택되고; X13은 G 및 Y로부터 선택되고; X14는 L, M, R, G 및 A로부터 선택되고; X15는 G, F 및 L로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X16은 F이거나 또는 존재하지 않는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0252] 또다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 24)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고;

X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0253] 또다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 26)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0254] 또다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 27)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0255] 또다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 28)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0256] 일부 실시양태에서, 항-DR5 항체는 도 15에 나타난 서열 524 내지 540 중 어느 하나로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1을 포함한다. 항-DR5 항체는 또한 도 15에 나타난 서열 541 내지 557로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2를 포함할 수 있다. 항-DR5 항체는 또한 도 15에 나타난 서열 558 내지 574로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함할 수 있다. 한 측면에서, 인간 DR5에 특이적으로 결합하는 항체는 Fab 1-17 중 어느 하나에 대해 도 15에 열거된 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3 서열에 상응하는 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3 서열을 포함한다.

[0257] 일부 실시양태에서, 항-DR5 항체는 X1의 아미노산 위치가 위치 95이며, X1이 R 및 Y로부터 선택되고; X3이 위치 97이며, S이고; X8이 아미노산 위치 100b이며, S이고; X9가 아미노산 위치 100c이며, Y이고; X10이 아미노산 위치 100d이며, Y 또는 R인 CDRH3을 포함한다. 한 실시양태에서, CDRH3은 아미노산 서열 X1-R-S-Y-R-Y-G-S-Y-

X10-G-S-Y-X14-F-D-Y (서열 575)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 항-DR5 항체는 i) 아미노산 서열 GFYISSSSIH (서열 576)를 포함하는 CDRH1; ii) 아미노산 서열 SISPSGSTYYADSVKG (서열 577)를 포함하는 CDRH2; 및 iii) 아미노산 서열 YRSYRYGSYGSYGFYD (서열 578)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다. 또다른 특정 실시양태에서, 항-DR5 항체는 i) 아미노산 서열 GFYIYSSSIH (서열 579)를 포함하는 CDRH1; ii) 아미노산 서열 SISPSGYSYADSVKG (서열 580)를 포함하는 CDRH2; 및 iii) 아미노산 서열 RRSYRYGSYRGSAFYD (서열 581)를 포함하는 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0258] 일부 실시양태에서, 항-DR5 항체는 X1 및 X2가 Y 또는 S인 경우의 아미노산 서열 GFXILX2SSSIH (서열 598)를 포함하는 CDRH1을 포함한다. 다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 X1, X3, X4 및 X6이 Y 또는 S인 아미노산 서열 X1ISPX3X4GYTX6YADSKVG (서열 599)를 포함하는 CDRH2를 포함한다. 또다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 X3이 Y, S, R, P 및 G로부터 선택되고; X8이 R, Y 및 S로부터 선택되고; X9가 G, Y 및 S로부터 선택되고; X10이 S, Y 및 R로부터 선택되고; X14가 G 및 A로부터 선택되고; X15가 L 및 F로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 YRX3YRYGX8X9X10GSYX14X15DY (서열 596)를 포함하는 CDRH3을 포함한다.

[0259] 일부 실시양태에서, 항-DR5 항체는 1 내지 20 nM의 IC50으로 인간 DR5에 결합한다. 다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 인간 및 뮤린 DR5에 결합한다.

[0260] 항-DR5 항체는 임의로는 (i) CDRL3이 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 25)를 포함하고; 여기서 X1은 위치 91이며, Y, H 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y, S 및 T로부터 선택되고; X4는 Y, S 및 T로부터 선택되고; X5는 S, P 및 Y로부터 선택되는 것인 경쇄 가변 도메인을 더 포함할 수 있다. 항-DR5 항체는 또한 임의로는 CDRL3이 아미노산 서열 QQX1X2X3SPST (서열 597)를 포함하고, 여기서 X1, X2 및 X3은 Y 또는 S인 경쇄 가변 도메인을 포함할 수 있다. 경쇄 가변 도메인은 도 15에 나타난 서열 507 내지 523으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRL3을 더 포함할 수 있다. 항체는 또한 아미노산 서열 RASQDVNTAVA (서열 29)를 포함하는 CDRL1을 더 포함할 수 있다. 항체는 또한 아미노산 서열 SASSLYS (서열 30)를 포함하는 CDRL2를 더 포함할 수 있다.

[0261] 한 측면에서, DR5에 특이적인 항체는 효능제 또는 길항제 활성화에 대해 스크리닝된다. 이러한 항체는 본원에 기재된 바와 같이 아팍토시스 검정과 같은 DR5 수용체 신호전달 검정에서 스크리닝될 수 있다. 효능제 항체는 대조군에 비해 아팍토시스를 증가시키고, 길항제 항체는 아팍토시스를 감소시킨다.

[0262] 한 실시양태에서, 인간 DR5에 특이적으로 결합하는 임의의 상기 기재된 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 한 실시양태에서, 인간 DR5에 특이적으로 결합하는 임의의 상기 기재된 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 제공된다. 한 실시양태에서, 인간 DR5에 특이적으로 결합하는 임의의 상기 기재된 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터로 형질전환된 숙주 세포가 제공된다. 한 실시양태에서, 인간 DR5에 특이적으로 결합하는 임의의 상기 기재된 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 배양하여 폴리뉴클레오티드를 발현시키는 단계를 포함하는 항체 생성 방법이 제공된다. 한 측면에서, 상기 방법은 숙주 세포 배양물로부터 항체를 회수하는 단계를 더 포함한다. 한 측면에서, 상기 방법은 숙주 세포 배양 배지로부터 항체를 회수하는 단계를 더 포함한다.

[0263] 한 실시양태에서, 하나 이상의 항체를 비정상적인 혈관신생과 연관된 장애의 치료를 필요로 하는 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는, 상기 포유동물에서 비정상적인 혈관신생과 연관된 장애를 치료하기 위해 인간 DR5에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 상기 기재된 항체를 사용하는 방법이 제공된다. 일부 실시양태에서, 아팍토시스를 억제하는 DR5에 대한 항체는 세포 사멸의 억제가 바람직한 상태 (예를 들면, 시력 감퇴)에 유용할 수 있다. 한 측면에서, 장애는 암이다. 일부 실시양태에서, 항-DR5 항체는 아팍토시스를 증가시킨다. 이러한 한 측면에서, 암은 유방암, 결장직장암, 비-소세포 폐암, 비-호지킨 림프종 (NHL), 신장암, 전립선암, 간암, 두경부암, 흑색종, 난소암, 중피종 및 다발성 골수종으로부터 선택된다. 또다른 측면에서, 치료는 제2 요법제를 항체와 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 더 포함한다. 이러한 한 측면에서, 제2 요법제는 항-혈관신생제, 항-신생물성 제제, 화학요법제 및 세포독성제로부터 선택된다.

[0264] 한 실시양태에서, 염증성 또는 면역 장애를 앓고 있거나 또는 이들이 발병할 위험이 있는 포유동물을 인간 DR5에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 상기 기재된 항체의 하나 이상의 Fab로 치료하는 단계를 포함하는, 상기 포유동물의 치료 방법이 제공된다. 한 측면에서, 염증성 또는 면역 장애는 류마티스성 관절염이다. 일부 실시양태에서, 항-DR5 항체는 아팍토시스를 증가시킨다.

[0265] 본원에 기재된 방법은 또한 항-HER-2 항체의 단리를 위한 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 항-HER-2 항체는

(i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 위치 28이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 50이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; X6은 S 및 Y로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-D-Y (서열 582)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 95이며, Y 및 R로부터 선택되고; X2는 Y, S 및 R로부터 선택되고; X3은 S, G, Y 및 H로부터 선택되고; X4는 S, G, Y 및 R로부터 선택되고; X5는 G 및 A로부터 선택되고; X6은 F, M, L 및 A로부터 선택되고; X7은 F, M 및 L로부터 선택되거나 또는 존재하지 않는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0266] 또다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 위치 28이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 50이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-D-Y (서열 583)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 95이며, Y, S 및 G로부터 선택되고; X2는 Y, S, G, R, A 및 M으로부터 선택되고; X3은 G, Y, S 및 R로부터 선택되고; X4는 G, Y 및 F로부터 선택되고; X5는 Y, S, N 및 G로부터 선택되고; X6은 Y, R, H 및 W로부터 선택되고; X7은 G 및 A로부터 선택되고; X8은 F, M, L 및 I로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0267] 또다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 위치 28이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고; 여기서 X1은 Kabat 번호지정에 따라 아미노산 위치 50이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2는 S 및 Y로부터 선택되고; X3은 S 및 Y로부터 선택되고; X4는 S 및 Y로부터 선택되고; X5는 S 및 Y로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 584)를 포함하고, 여기서 X1은 아미노산 위치 95이며, Y, S, R, G 및 E로부터 선택되고; X2는 Y, S, R 및 G로부터 선택되고; X3은 S, Y, G 및 W로부터 선택되고; X4는 S, Y, G 및 Q로부터 선택되고; X5는 G, Y 및 S로부터 선택되고; X6은 G, Y, S, R 및 V로부터 선택되고; X7은 S, Y, G 및 R로부터 선택되고; X8은 Y, S, G, R, P 및 V로부터 선택되고; X9는 G, A, Y, S 및 R로부터 선택되고; X10은 M, F, G, Y, S 및 R로부터 선택되고; X11은 A, Y, S, G 및 R로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X12는 I, M, F, L, A, G, S, Y, R 및 T로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X13은 F, M, L, G, A, Y, T 및 S로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X14는 L, M, F, I, G, Y, A 및 T로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X15는 M, L, Y, G 및 R로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X16은 Y 및 G로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X17은 R, M 및 G로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 P 및 A로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X19는 L이거나 또는 존재하지 않는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

[0268] 또 다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 24)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 50% Y, 25% S 및 25% G의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

- [0269] 또 다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 26)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 25% Y, 50% S 및 25% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0270] 또 다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 27)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 38% Y, 25% S, 25% G 및 12% R의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0271] 또다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19-D-Y (서열 28)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X6에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되고; 각각의 위치 X7 내지 X17에서의 아미노산은 20% Y, 26% S, 26% G, 13% R, 1% A, 1% D, 1% E, 1% F, 1% H, 1% I, 1% K, 1% L, 1% M, 1% N, 1% P, 1% Q, 1% T, 1% V 및 1% W의 몰비의 아미노산 풀로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 I, M, L 및 F로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0272] 또다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19 (서열 29)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 및 각각의 위치 X1 내지 X19에서의 아미노산은 S 및 A, C, F, G, I, L, N, P, R, T, W 또는 Y 중 하나로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X19는 F, L, I 및 M으로부터 선택되거나 또는 존재하지 않는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.

- [0273] 또다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 (i) CDRH1이 아미노산 서열 G-F-X1-I-X2-X3-X4-X5-I-H (서열 22)를 포함하고, 여기서 G는 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 26이며, X1은 위치 28이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; (ii) CDRH2가 아미노산 서열 X1-I-X2-P-X3-X4-G-X5-T-X6-Y-A-D-S-V-K-G (서열 23)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 50이고; X1은 Y 및 S로부터 선택되고; X2는 Y 및 S로부터 선택되고; X3은 Y 및 S로부터 선택되고; X4는 Y 및 S로부터 선택되고; X5는 Y 및 S로부터 선택되고; X6은 Y 및 S로부터 선택되고; (iii) CDRH3이 아미노산 서열 X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13-X14-X15-X16-X17-X18-X19 (서열 24)를 포함하고, 여기서 X1은 Kabat 번호지정 시스템에 따라 위치 95이고, 각각의 위치 X1 내지 X19에서의 아미노산은 S 및 Y, W, R 또는 F 중 하나로부터 선택되거나 또는 존재하지 않고; X18은 G 및 A로부터 선택되고; X19는 F, L, I 및 M으로부터 선택되는 것인 이뮤노글로불린 중쇄 가변 도메인을 포함한다.
- [0274] 일부 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 도 11에 나타낸 서열 189 내지 294로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1을 포함할 수 있다. 항-HER-2 항체는 또한 도 11에 나타낸 서열 295 내지 400으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2를 포함할 수 있다. 항-HER-2 항체는 또한 도 11에 나타낸 서열 401 내지 506으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 도 21A에 나타낸 서열 816 내지 842로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1을 포함할 수 있다. 항-HER-2 항체는 또한 도 21A에 나타낸 서열 843 내지 869로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2를 포함할 수 있다. 항-HER-2 항체는 또한 도 21A에 나타낸 서열 870 내지 896으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 도 24A에 나타낸 서열 924 내지 950으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH1을 포함할 수 있다. 항-HER-2 항체는 또한 도 24A에 나타낸 서열 951 내지 977로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH2를 포함할 수 있다. 항-HER-2 항체는 또한 도 24A에 나타낸 서열 978 내지 1004로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 CDRH3을 포함할 수 있다.
- [0275] 한 측면에서, 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체는 Fab 1-106 중 어느 하나에 대해 도 11에 열거된 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3 서열에 상응하는 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3 서열을 포함한다. 한 측면에서, 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체는 클론 B1-B28 중 어느 하나에 대해 도 21A에 열거된 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3 서열에 상응하는 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3 서열을 포함한다. 또다른 측면에서, 인간 HER2에 특이적으로 결합하는 항체는 클론 G29-G61 중 어느 하나에 대해 도 24A에 열거된 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3 서열에 상응하는 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3 서열을 포함한다.
- [0276] 일부 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 X2 및 X3이 Y 또는 S인 아미노산 서열 GFSIX2X3SYIH (서열 588)를 포함하는 CDRH1을 포함한다. 항-HER-2 항체는 또한 X3이 Y 또는 S인 아미노산 서열 SIYPX3SGYTSYADSKVG (서열 589)를 포함하는 CDRH2를 포함할 수 있다. 항-HER-2 항체는 X4가 Y 또는 S인 아미노산 서열 QQSYXX4PST (서열 587)를 포함하는 CDRL3을 포함하는 가변 경쇄 도메인을 더 포함할 수 있다.
- [0277] 일부 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 X1이 Y 또는 S인 아미노산 서열 GFX1IISYSSIH (서열 590)를 포함한다. 항-HER-2 항체는 X3, X5 및 X6이 Y 또는 S인 아미노산 서열 SIYPX3YGX5TX6YADSKVG (서열 591)를 포함하는 CDRH2를 더 포함할 수 있다.
- [0278] 또다른 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 X1이 Y 또는 S인 아미노산 서열 GFX1ISSSSIH (서열 593)를 갖는 CDRH1을 포함한다. 항-HER-2 항체는 X1, X2 및 X6이 Y 또는 S인 아미노산 서열 X1IX2PSSGYTX6YADSKVG (서열 594)를 갖는 CDRH2를 더 포함할 수 있다. 항-HER-2 항체는 X1이 Y, S 및 R로부터 선택되고; X2가 Y 및 S로부터 선택되고; X3이 G, Y 및 S로부터 선택되고; X4가 G, Y 및 S로부터 선택되고; X4가 Y, S, R 및 G로부터 선택되고; X10이 Y, S 및 G로부터 선택되고; X12가 Y, S, G 및 R로부터 선택되고; X13이 G 및 A로부터 선택되고, X14가 I, F, M 및 L로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 XIX2X3X4YYSYXX10GX12X13X14DY (서열 592)를 갖는 CDRH3을 더 포함할 수 있다.
- [0279] 일부 실시양태에서, 항-HER-2 항체는 임의로는 X1이 Kabat 번호지정에 따라 위치 91이며, S 및 Y로부터 선택되고; X2가 S, Y 및 F로부터 선택되고; X3이 Y, S 및 F로부터 선택되고; X4가 Y 및 S로부터 선택되고; X5가 S 및 Y로부터 선택되는 것인 아미노산 서열 Q-Q-X1-X2-X3-X4-P-X5-T (서열 25)를 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 경쇄 가변 도메인을 더 포함할 수 있다. 경쇄 가변 도메인은 도 11에 나타낸 서열 83 내지 188, 도 21A에 나타낸 서열 789 내지 815 및 도 24A에 나타낸 서열 897 내지 923으로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포

합하는 CDRL3을 더 포함할 수 있다. 항체는 또한 아미노산 서열 RASQDVNTAVA (서열 29)를 포함하는 CDRL1을 더 포함할 수 있다. 항체는 또한 아미노산 서열 SASSLYS (서열 30)를 포함하는 CDRL2를 더 포함할 수 있다.

[0280] 한 측면에서, 폴리펩티드는 HER2에 특이적으로 결합하는 항체이다. 이러한 한 측면에서, 항체는 4D5 항체의 프레임워크 영역을 포함한다. 이러한 한 측면에서, 항체는 변이체 4D5 항체의 프레임워크 영역을 포함한다. 이러한 한 측면에서, 항체는 모노클로날 항체이다. 이러한 한 측면에서, 항체는 이중특이적 항체이다.

[0281] 한 실시양태에서, HER2에 특이적으로 결합하는 임의의 상기 기재된 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드가 제공된다. 한 실시양태에서, HER2에 특이적으로 결합하는 임의의 상기 기재된 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 제공된다. 한 실시양태에서, HER2에 특이적으로 결합하는 임의의 상기 기재된 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터로 형질전환된 숙주 세포가 제공된다. 한 실시양태에서, HER2에 특이적으로 결합하는 임의의 상기 기재된 항체를 코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 배양하여 폴리뉴클레오티드를 발현시키는 단계를 포함하는, 항체 생성 방법이 제공된다. 한 측면에서, 상기 방법은 숙주 세포 배양물로부터 항체를 회수하는 단계를 더 포함한다. 한 측면에서, 상기 방법은 숙주 세포 배양 배지로부터 항체를 회수하는 단계를 더 포함한다.

[0282] 한 실시양태에서, 하나 이상의 항체를 포유동물에게 투여하는 단계를 포함하는, HER2-관련 장애를 치료하기 위해 HER2에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 상기 기재된 항체를 사용하는 방법이 제공된다. 또다른 측면에서, 치료는 제2 요법제를 항체와 동시에 또는 순차적으로 투여하는 단계를 더 포함한다. 이러한 한 측면에서, 제2 요법제는 항-혈관신생 제제, 항-신생물성 제제, 화학요법제 및 세포독성제로부터 선택된다.

[0283] 한 실시양태에서, HER2-관련 장애를 앓고 있거나 또는 이들이 발병할 위험이 있는 포유동물을 HER2에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 상기 기재된 항체의 하나 이상의 Fab로 치료하는 단계를 포함하는, 상기 포유동물을 치료하는 방법이 제공된다. 한 실시양태에서, 하나 이상의 상기 기재된 폴리펩티드는 HER2에 특이적으로 결합한다.

[0284] 한 측면에서, 본 발명의 폴리펩티드는 중쇄 및 경쇄 항체 가변 도메인 중 적어도 하나 또는 둘 모두를 포함하며, 이 때 상기 항체 가변 도메인은 본원에 기재된 바와 같은 1개, 2개 또는 3개의 변이체 CDR (예를 들어, 상기 기재된 바와 같음)을 포함한다.

[0285] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드 (특히, 항체 가변 도메인을 포함하는 폴리펩티드)는 변이체 CDR에 상응하는 항체 가변 도메인에 대한 항체 프레임워크 서열, 예를 들면 FR1, FR2, FR3 및/또는 FR4를 더 포함하며, 이 FR 서열은 단일 항체 주형으로부터 수득한다. 한 실시양태에서, FR 서열은 인간 항체로부터 수득한다. 한 실시양태에서, FR 서열은 인간 컨센서스 서열 (예를 들어, 하위군 III 컨센서스 서열)로부터 수득한다. 한 실시양태에서, 프레임워크 서열은 본원에 기재된 바와 같은 변형된 컨센서스 서열을 포함한다 (예를 들어, 중쇄의 위치 49, 71, 93 및/또는 94에서의 변형 및/또는 경쇄의 위치 66에서의 변형을 포함함). 한 실시양태에서, 프레임워크 영역은 야생형 인간화 항체 4D5-8 경쇄 및 중쇄로부터의 프레임워크 영역의 서열 (도 16 (각각 서열 6-9 및 10-13)에 나타냄)을 갖는다. 한 실시양태에서, 프레임워크 영역은 변이체 버전의 인간화 항체 4D5-8 경쇄 및 중쇄로부터의 프레임워크 영역의 서열을 갖고, 여기서 경쇄는 위치 66에서 변형되고, 중쇄는 위치 71, 73 및 78에서 변형된다 (도 17 (서열 14-17 및 18-21)에 나타냄).

[0286] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 경쇄 및 중쇄 항체 가변 도메인을 포함하며, 여기서 경쇄 가변 도메인은 CDR L1, L2 및 L3으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변이체 CDR을 포함하고, 중쇄 가변 도메인은 CDR H1, H2 및 H3으로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 2개 또는 3개 변이체 CDR을 포함한다.

[0287] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 ScFv이다. 일부 실시양태에서, 이는 Fab 단편이다. 일부 실시양태에서, 이는 $F(ab)_2$ 또는 $F(ab')_2$ 이다. 이에 따라, 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 이량체화 도메인을 더 포함한다. 일부 실시양태에서, 이량체화 도메인은 항체 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인 및 적어도 바이러스 외피 단백질의 일부 사이에 위치한다. 이량체화 도메인은 이량체화 서열 및/또는 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함하는 서열을 포함할 수 있다. 이량체화 도메인은 중쇄 가변 또는 불변 도메인의 C-말단에 직접 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 이량체화 도메인의 구조는 항체 가변 도메인이 바이러스 외피 단백질 성분을 갖는 융합 단백질 성분으로 생성되는지 여부 (이량체화 도메인 뒤에 앰버 정지 코돈이 없음) 또는 항체 가변 도메인이 바이러스 외피 단백질 성분 없이 우세하게 생성되는지 여부 (예를 들어, 이량체화 도메인 뒤에 앰버 정지 코돈이 있음)에 따라 달라질 수 있다. 항체 가변 도메인이 바이러스 외피 단백질 성분과의 융합 단백질로서 우세

하게 생성된 경우, 하나 이상의 디슬피드 결합 및/또는 단일 이량체화 서열은 이가 디스플레이를 제공한다. 바이러스 외피 단백질 성분은 융합되지 않고 우세하게 생성된 항체 가변 도메인의 경우 (예를 들어, 앰버 정지(존재함), 시스테인 잔기 및 이량체화 서열을 모두 포함하는 이량체화 도메인을 갖는 것이 바람직할 수 있으나, 필요한 것은 아니다. 일부 실시양태에서, F(ab)₂의 중쇄는 힌지 영역을 포함하지 않는 이량체화 도메인에서 이량체화된다. 이량체화 도메인은 루이신 지퍼 서열 (예를 들어, GCN4 서열, 예컨대 GRMKQLEDKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGERG (서열 3))을 포함할 수 있다.

[0288] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 경쇄 가변 도메인에 융합된 경쇄 불변 도메인을 더 포함하며, 일부 실시양태에서는 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변이체 CDR을 포함한다. 본 발명의 폴리펩티드의 일부 실시양태에서, 폴리펩티드는 중쇄 가변 도메인에 융합된 중쇄 불변 도메인을 포함하고, 일부 실시양태에서는 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변이체 CDR을 포함한다.

[0289] 일부 경우에, 프레임워크 잔기를 돌연변이화시켜 참조 폴리펩티드 또는 공급원 항체에 대한 변이체가 되도록 하는 것이 바람직할 수 있다. 예를 들어, 중쇄의 프레임워크 잔기 71은 아미노산 R, V 또는 A일 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄의 프레임워크 잔기 93은 아미노산 S 또는 A일 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄의 프레임워크 잔기 94는 아미노산 R, K 또는 T이거나 또는 MRT에 의해 코딩될 수 있다. 또 다른 예에서, 중쇄의 프레임워크 잔기 49는 아미노산 A 또는 G일 수 있다. 경쇄의 프레임워크 잔기는 또한 돌연변이화될 수 있다. 예를 들어, 경쇄의 프레임워크 잔기 66은 아미노산 R 또는 G일 수 있다.

[0290] 본원에 기재된 바와 같이, 변이체 CDR은 단일 참조 폴리펩티드/공급원 항체의 상응하는 CDR에 비해 서열 변이를 갖는 CDR을 나타낸다. 따라서, 본 발명의 단일 폴리펩티드의 CDR은 특정 실시양태에서 단일 참조 폴리펩티드 또는 공급원 항체의 CDR 세트에 상응할 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드는 변이체 CDR들 중 어느 하나 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 폴리펩티드는 변이체 CDRH1 및 변이체 CDRH2를 포함할 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드는 변이체 CDRH1, 변이체 CDRH2 및 변이체 CDRH3을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 변이체 CDRH1, 변이체 CDRH2, 변이체 CDRH3 및 변이체 CDRL3을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 본 발명의 폴리펩티드는 변이체 CDRL1, 변이체 CDRL2 및 변이체 CDRL3을 포함한다. 임의의 본 발명의 폴리펩티드는 변이체 CDRL3을 더 포함할 수 있다. 임의의 본 발명의 폴리펩티드는 변이체 CDRH3을 더 포함할 수 있다.

[0291] 한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 도 7, 19 및 22에 나타난 하나 이상의 변이체 CDR 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 도 11A에 나타난 하나 이상의 변이체 CDR 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 도 15에 나타난 하나 이상의 변이체 CDR 서열을 나타낸다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 도 21A 내지 21B에 나타난 하나 이상의 변이체 CDR 서열을 포함한다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드는 도 24A에 나타난 하나 이상의 변이체 CDR 서열을 포함한다.

[0292] 본 발명의 폴리펩티드는 서로 복합체를 형성할 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 2개의 폴리펩티드를 포함하는 폴리펩티드 복합체를 제공하며, 여기서 각각의 폴리펩티드는 본 발명의 폴리펩티드이고, 상기 폴리펩티드 중 하나는 변이체 CDR H1, H2 및 H3을 적어도 1개, 2개 또는 모두 포함하고, 다른 폴리펩티드는 변이체 경쇄 CDR (예를 들어, CDRL3)을 포함한다. 폴리펩티드 복합체는 제1 및 제2 폴리펩티드 (여기서, 제1 및 제2 폴리펩티드는 본 발명의 폴리펩티드임)를 포함할 수 있으며, 이 때 제1 폴리펩티드는 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변이체 경쇄 CDR을 포함하고, 제2 폴리펩티드는 적어도 1개, 2개 또는 3개의 변이체 중쇄 CDR을 포함한다. 본 발명은 또한 동일한 변이체 CDR 서열을 포함하는 폴리펩티드의 복합체를 제공한다. 복합체 형성은 본원에 기재된 바와 같은 이량체화/다량체화 도메인에서의 이량체화/다량체화 또는 공유결합 상호작용 (예컨대, 디슬피드 연결을 통한) (일부 측면에서는, 이량체화 도메인의 부분임, 예를 들면 이량체화 도메인은 루이신 지퍼 서열 및 시스테인을 함유할 수 있음)을 비롯한 임의의 적합한 기술에 의해 매개될 수 있다.

[0293] 또 다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드 및/또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 복수의 본원에 기재된 임의의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 제공한다. 이들은 대부분 변이체 아미노산을 코딩하는 서열에 동의성을 포함하는 올리고뉴클레오티드 세트를 사용하여 생성된 복수의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩된 폴리펩티드를 포함할 수 있으며, 여기서 상기 동의성은 변이체 아미노산을 코딩하는 한정된 코돈 세트의 다양한 코돈 서열이다. 본 발명의 폴리뉴클레오티드 또는 폴리펩티드 또는 라이브러리를 포함하는 조성물은 키트 또는 제품 (임의로는, 설명서, 완충액 등과 함께 포장됨)의 형태일 수 있다.

[0294] 한 측면에서, 본 발명은 본원에 기재된 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 또 다

른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 서열을 포함하는 벡터를 제공한다. 벡터는, 예를 들면 복제가능한 발현 벡터일 수 있다 (예를 들어, 복제가능한 발현 벡터는 M13, f1, fd, Pf3 파지 또는 이들의 유도체, 또는 램다형 파지, 예컨대 램다, 21, 파이80, 파이81, 82, 424, 434 등, 또는 이들의 유도체일 수 있음). 벡터는 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 서열에 연결된 프로모터 영역을 포함할 수 있다. 프로모터는 폴리펩티드의 발현에 적합한 임의의 것, 예를 들면 lacZ 프로모터 시스템, 알칼리성 포스파타제 phoA 프로모터 (Ap), 박테리오파지 1_{PL} 프로모터 (온도 민감성 프로모터), tac 프로모터, 트립토판 프로모터 및 박테리오파지 T7 프로모터일 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 상기 프로모터 시스템으로 이루어진 군으로부터 선택된 프로모터를 포함하는 벡터를 제공한다.

[0295] 본 발명의 폴리펩티드는 실시자의 필요 및 요구에 따라 임의의 적합한 형태로 디스플레이될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 폴리펩티드는 바이러스 표면, 예를 들면 파지 또는 파지미드 바이러스 입자 상에 디스플레이될 수 있다. 따라서, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드 및/또는 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 바이러스 입자를 제공한다.

[0296] 한 측면에서, 본 발명은 복수의 본 발명의 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 집단을 제공하며, 여기서 각각의 유형의 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드는 본원에 기재된 본 발명의 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오티드이다.

[0297] 일부 실시양태에서, 폴리펩티드 및/또는 폴리뉴클레오티드는 라이브러리로 제공되며, 예를 들면 적어도 약 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 개의 복수의 본 발명의 독특한 폴리펩티드 및/또는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 라이브러리로 제공된다. 또다른 측면에서, 본 발명은 또한 복수의 본 발명의 바이러스 또는 바이러스 입자를 포함하는 라이브러리를 제공하며, 각각의 바이러스 또는 바이러스 입자는 본 발명의 폴리펩티드를 디스플레이한다. 본 발명의 라이브러리는 임의의 개수의 독특한 폴리펩티드 (서열), 예를 들면 적어도 약 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 개의 독특한 폴리펩티드를 디스플레이하는 바이러스 또는 바이러스 입자를 포함할 수 있다.

[0298] 또다른 측면에서, 본 발명은 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0299] 또다른 측면에서, 본 발명은 특이적 표적 항원에 대한 고친화도 결합제의 선별 방법을 제공한다. 이러한 특정 실시양태에서, 특이적 표적 항원은 HER2 또는 DR5를 포함하나 이들로 한정되지는 않는다.

[0300] 본 발명의 방법은 하나 이상의 다양화된 CDR 영역을 갖는 폴리펩티드의 집단 (예를 들어, 폴리펩티드 (예를 들어, 항체 가변 도메인)의 라이브러리)을 제공한다. 이들 라이브러리는 표적 항원에 대한 고친화도 결합제를 확인하기 위해 분류 (선택) 및/또는 스크리닝된다. 한 측면에서, 폴리펩티드 결합제는 라이브러리로부터 표적 항원에 대한 결합 및 친화도에 대해 선별된다. 이러한 선별 전략들 중 하나 이상을 이용하여 선별된 폴리펩티드 결합제는 이어서 친화도 및/또는 특이성 (표적 항원에만 결합하고, 비-표적 항원에는 결합하지 않음)에 대해 스크리닝될 수 있다.

[0301] 한 측면에서, 본 발명의 방법은 하나 이상의 다양화된 CDR 영역을 갖는 복수의 폴리펩티드를 생성하는 단계; 복수의 폴리펩티드를 결합에 적합한 조건하에 표적 항원과 접촉시켜 표적 항원에 대한 결합제에 대해 복수의 폴리펩티드를 분류하는 단계; 표적 항원에 결합하지 않는 것으로부터 표적 항원에 대한 결합제를 분리하는 단계; 결합제를 분리하는 단계; 및 고친화도 결합제 (또는 원하는 결합 친화도를 갖는 임의의 결합제)를 확인하는 단계를 포함한다. 표적 항원에 결합하는 결합제의 친화도는 당업계에 공지된 다양한 기술, 예를 들면 본원에 기재된 바와 같은 경쟁 ELISA를 이용하여 결정할 수 있다. 임의로는, 폴리펩티드는 폴리펩티드 태그, 예컨대 gD, 폴리-his 또는 FLAG에 융합될 수 있으며, 이는 표적 항원에 대한 분류와 함께 결합제를 분류하는데 사용될 수 있다.

[0302] 또다른 실시양태는 a) 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 집단을 결합에 적합한 조건하에 고정화된 표적 항원과 접촉시켜 표적 항원 폴리펩티드 결합제를 분리하는 단계; b) 비결합제로부터 폴리펩티드 결합제를 분리하고, 표적 항원으로부터 결합제를 용출하는 단계; c) 임의로는, 상기 단계 (a) 및 (b)를 1회 이상 (일부 실시양태에서는, 2회 이상) 반복하는 단계를 포함하는, 항체 가변 도메인의 라이브러리로부터 표적 항원에 결합하는 항체 가변 도메인을 분리 또는 선별하는 방법을 제공한다.

[0303] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 d) 폴리펩티드 결합제를 결합에 적합한 조건하에 0.1 nM 내지 1000 nM 범위의

농도를 갖는 표지된 표적 항원과 인큐베이션하여 혼합물을 형성하는 단계; e) 혼합물을 표적 항원 상의 표지에 결합하는 고정화제와 접촉시키는 단계; f) 표지된 표적 항원으로부터 폴리펩티드 결합제를 용출하는 단계; g) 임의로는, 매회 연속적으로 보다 낮은 농도의 표지된 표적 항원을 사용하여 단계 d) 내지 f)를 1회 이상 (일부 실시양태에서, 2회 이상) 반복하는 단계를 더 포함할 수 있다. 임의로는, 상기 방법은 과량의 표지되지 않은 표적 항원을 혼합물에 첨가하는 단계 및 표지된 표적 항원으로부터 저친화도 결합제를 용출하는데 충분한 시간 동안 인큐베이션하는 단계를 포함할 수 있다.

[0304] 본 발명의 또다른 측면은 표적 항원에 대한 고친화도 결합제 (또는 원하는 결합 친화도를 갖는 결합제)를 분리 또는 선별하는 방법을 제공한다. 한 실시양태에서, 상기 방법은 a) 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 집단을 약 0.1 nM 내지 1000 nM 범위의 농도로 제공된 표적 항원에 접촉시켜 표적 항원에 대한 폴리펩티드 결합제를 분리하는 단계; b) 표적 항원으로부터 폴리펩티드 결합제를 분리하는 단계; c) 임의로는, 매회 연속적으로 보다 낮은 농도의 표적 항원을 사용하여 상기 단계 a) 및 b)를 1회 이상 (일부 실시양태에서, 2회 이상) 반복하여 최저 농도의 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드 결합제를 분리하는 단계; d) 폴리펩티드 결합제를 표적 항원의 여러 상이한 희석액과 인큐베이션하여 고친화도 (또는 임의의 원하는 친화도)로 최저 농도의 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드 결합제를 선별하고, 폴리펩티드 결합제의 IC50을 결정하는 단계; 및 e) 표적 항원에 대한 원하는 친화도를 갖는 폴리펩티드 결합제를 확인하는 단계를 포함한다. 상기 친화도는, 예를 들면 약 0.1 nM 내지 200 nM, 0.5 nM 내지 150 nM, 1 nM 내지 100 nM 및/또는 25 nM 내지 75 nM일 수 있다.

[0305] 또다른 실시양태는 a) 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 집단을 결합에 적합한 조건하에 0.1 nM 내지 1000 nM 범위의 농도로 제공된 표지된 표적 항원과 접촉시켜 폴리펩티드 결합제 및 표지된 표적 항원의 복합체를 형성하는 단계; b) 복합체를 분리하고, 표지된 표적 항원으로부터 폴리펩티드를 결합제를 분리하는 단계; c) 임의로는, 매회 보다 낮은 농도의 표적 항원을 사용하여 상기 단계 a) 및 b)를 1회 이상 반복하는 단계를 포함하는, 폴리펩티드 결합제의 분리 또는 선별을 위한 검정을 제공한다. 임의로는, 상기 방법은 폴리펩티드 결합제 및 표적 항원의 복합체를 과량의 표지되지 않은 표적 항원과 접촉시키는 단계를 더 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 방법의 단계들은 2회 반복되며, 제1회의 선별에서의 표적의 농도는 약 100 nM 내지 250 nM 범위이고, 제2회의 선별 (수행되는 경우)에서는 약 25 nM 내지 100 nM 범위이고, 제3회의 선별 (수행되는 경우)에서는 약 0.1 nM 내지 25 nM 범위이다.

[0306] 본 발명은 또한 a) 폴리펩티드 집단의 제1 샘플을 표적 항원에 대한 폴리펩티드의 결합에 적합한 조건하에 표적 항원과 인큐베이션하는 단계; b) 폴리펩티드 집단의 제2 샘플을 표적 항원의 부재를 제외하고는 유사하게 인큐베이션하는 단계; (c) 제1 및 제2 샘플을 각각 고정화된 표적 항원에 대한 폴리펩티드의 결합에 적합한 조건하에 고정화된 표적 항원과 접촉시키는 단계; d) 각 샘플에 대해 고정화된 표적 항원에 결합된 폴리펩티드의 양을 검출하는 단계; e) 제2 샘플에서의 결합된 특정 폴리펩티드의 양에 대한 제1 샘플에서의 결합된 특정 폴리펩티드의 양의 비를 계산하여 표적 항원에 대한 특정 폴리펩티드의 친화도를 결정하는 단계를 포함하는, 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 집단을 스크리닝하는 방법을 포함한다.

[0307] 본원에 기재된 바와 같이 생성된 라이브러리는 또한 특이적 표적에 대한 결합 및 비표적 항원에 대한 결합의 부재에 대해 스크리닝될 수 있다. 한 측면에서, 본 발명은 a) 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 집단을 생성하는 단계; b) 폴리펩티드의 집단을 결합에 적합한 조건하에 표적 항원과 접촉시키는 단계; c) 라이브러리에서 비결합제 폴리펩티드로부터 결합제 폴리펩티드를 분리하는 단계; d) 결합제 폴리펩티드가 비-표적 항원에 결합하는지 여부를 결정하여 표적 항원-특이적 결합제 폴리펩티드를 확인하는 단계; 및 e) 표적 항원-특이적 결합제 폴리펩티드를 분리하는 단계를 포함하는, 항체 가변 도메인의 라이브러리로부터 특이적 표적 항원에 결합하는 본 발명의 항체 가변 도메인과 같은 폴리펩티드에 대한 스크리닝 방법을 제공한다. 일부 실시양태에서, 단계 (e)는 표적 항원으로부터 결합제 폴리펩티드를 용출하고, 상기 결합제 폴리펩티드를 코딩하는 복제가능한 발현 벡터를 증폭시키는 단계를 포함한다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 라이브러리, 클론 또는 폴리펩티드는 표적 항원을 포함하는 항원의 패널에 대해 스크리닝된다. 일부 실시양태에서, 표적 항원에 특이적으로 결합하며, 패널 상의 임의의 다른 항원과는 실질적으로 교차 반응하지 않는 클론 또는 폴리펩티드가 선별된다. 항원의 패널은 적어도 3개 및 100개까지의 상이한 항원을 포함할 수 있다. 일부 경우에, 항원의 패널은 3 내지 100개, 3 내지 50개, 3 내지 25개 또는 3 내지 10개의 상이한 항원을 포함한다.

[0308] 상기 기재된 임의의 분류/선별 방법의 조합은 스크리닝 방법과 함께 수행할 수 있다. 예를 들면, 한 실시양태에서, 폴리펩티드 결합제는 우선 고정화된 표적 항원에 대한 결합에 대해 선별된다. 이어서, 고정화된 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드 결합제는 표적 항원에 대한 결합 및 비표적 항원에 대한 결합의 부재에 대해 스크리닝될 수 있다. 표적 항원에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 결합제는 필요한 경우에 증폭시킬 수 있다. 이들

폴리펩티드 결합체는 소정의 농도의 표지된 표적 항원과 접촉시켜 복합체를 형성함으로써 보다 높은 친화도에 대해 선별될 수 있으며, 이 때 표지된 표적 항원의 농도는 약 0.1 nM 내지 약 1000 nM 범위이고, 복합체는 표적 항원 상의 표지에 결합하는 제제와 접촉시켜 분리된다. 이어서, 폴리펩티드 결합체는 표지된 표적 항원으로부터 용출될 수 있고, 임의로는 선별 회수가 반복되고, 이 때 매회 보다 낮은 농도의 표지된 표적 항원이 사용된다. 이어서, 상기 선별 방법을 이용하여 분리될 수 있는 결합체 폴리펩티드는, 예를 들면 실시예 2 및 4에 기재된 바와 같은 용액 상 ELISA 검정을 이용하거나 또는 당업계에 공지된 다른 통상적인 방법을 이용하여 고친화도에 대해 스크리닝될 수 있다. 본 발명의 방법에 사용되는 본 발명의 폴리펩티드 집단은 선별/스크리닝 단계에 적합한 임의의 형태로 제공될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩티드는 매트릭스에 부착되어 있거나 또는 파지 또는 파지미드 입자와 같은 바이러스 입자의 표면에 존재하는 유리 가용성 형태일 수 있다. 본 발명의 방법의 몇몇 실시양태에서, 복수의 폴리펩티드는 라이브러리 형태로 제공된 복수의 복제가능한 벡터에 의해 코딩된다. 본원에 기재된 선별/스크리닝 방법에서, 결합체 폴리펩티드를 코딩하는 벡터는 선별/스크리닝 단계의 반복 (상기 나타난 바와 같이, 본 발명의 방법에서 임의의 단계임)에 사용하기에 충분한 양의 폴리펩티드를 제공하기 위해 추가로 증폭시킬 수 있다.

- [0309] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0310] a) 본원에 기재된 바와 같은 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 조성물을 생성하는 단계;
- [0311] b) 조성물로부터 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드 결합체를 선별하는 단계;
- [0312] c) 비결합체로부터 폴리펩티드 결합체를 분리하는 단계;
- [0313] d) 분리된 폴리펩티드 결합체로부터 원하는 친화도를 갖는 결합체를 확인하는 단계
- [0314] 를 포함하는, 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드의 선별 방법을 제공한다.
- [0315] 또다른 실시양태에서, 본 발명은
- [0316] a) 본 발명의 항체 가변 도메인의 라이브러리 (본원에 기재된 바와 같음)를 표적 항원과 접촉시키는 단계;
- [0317] b) 비결합체로부터 결합체를 분리하고, 표적 항원으로부터 결합체를 용출하고, 약 0.1 nM 내지 1000 nM의 농도에서 감소하는 양의 표적 항원을 갖는 용액 중에서 결합체를 인큐베이션하는 단계;
- [0318] c) 최저 농도의 표적 항원에 결합할 수 있고, 약 0.1 nM 내지 200 nM의 친화도를 갖는 결합체를 선별하는 단계
- [0319] 를 포함하는, 항체 가변 도메인의 라이브러리로부터 표적 항원에 결합하는 항원 결합 가변 도메인에 대해 선별하는 방법을 제공한다.
- [0320] 일부 실시양태에서, 표적 항원의 농도는 약 100 내지 250 nM이거나, 또는 약 25 내지 100 nM이다.
- [0321] 한 실시양태에서, 본 발명은
- [0322] a) (본원에 기재된 바와 같은) 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리를 결합에 적합한 조건하에 고정화된 표적 항원과 접촉시켜 표적 항원에 대한 폴리펩티드 결합체를 분리하는 단계;
- [0323] b) 라이브러리에서 비결합체로부터 폴리펩티드 결합체를 분리하고, 표적 항원으로부터 결합체를 용출하여 결합체에 대해 풍부화된 아집단을 획득하는 단계; 및
- [0324] c) 임의로는, 매회 이전 회의 선별로부터 수득한 결합체의 아집단을 사용하여 단계 a) 및 b)를 1회 이상 (일부 실시양태에서는, 2회 이상) 반복하는 단계
- [0325] 를 포함하는, 폴리펩티드의 라이브러리로부터 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드를 선별하는 방법을 제공한다.
- [0326] 일부 실시양태에서, 본 발명의 방법은
- [0327] d) 폴리펩티드 결합체의 아집단을 결합에 적합한 조건하에 0.1 nM 내지 1000 nM 범위 농도의 표지된 표적 항원과 인큐베이션하여 혼합물을 형성하는 단계;
- [0328] e) 혼합물을 표적 항원 상의 표지에 결합하는 고정화제와 접촉시키는 단계;
- [0329] f) 표지된 표적 항원에 결합된 폴리펩티드 결합체를 검출하고, 표지된 표적 항원으로부터 폴리펩티드 결합체를 용출하는 단계;
- [0330] g) 임의로는, 매회 이전 회의 선별로부터 수득한 결합체의 아집단을 사용하고, 이전 회보다 낮은 농도의 표지된

표적 항원을 사용하여 상기 단계 d) 내지 f)를 1회 이상 (일부 실시양태에서는, 2회 이상) 반복하는 단계
[0331] 를 더 포함한다.

[0332] 일부 실시양태에서, 이들 방법은 과량의 표지되지 않은 표적 항원을 혼합물에 첨가하는 단계 및 표지된 표적 항원으로부터 저친화도 결합제를 용출하기에 충분한 시간 동안 인큐베이션하는 단계를 더 포함한다.

[0333] 또다른 실시양태에서, 본 발명은

[0334] a) (본원에 기재된 바와 같은) 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리를 적어도 약 0.1 nM 내지 1000 nM 농도의 표적 항원과 접촉시켜 표적 항원에 대한 폴리펩티드 결합제를 단리하는 단계;

[0335] b) 표적 항원으로부터 폴리펩티드 결합제를 분리하여 폴리펩티드 결합제에 대해 풍부화된 아집단을 수득하는 단계; 및

[0336] c) 임의로는, 매회 이전 회의 선별로부터 수득한 결합제의 아집단을 사용하고, 이전 회보다 감소된 농도의 표적 항원을 사용하여 상기 단계 a) 및 b)를 1회 이상 (일부 실시양태에서는, 2회 이상) 반복하여 최저 농도의 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드 결합제를 단리하는 단계

[0337] 를 포함하는, 표적 항원에 대한 고친화도 결합제를 단리하는 방법을 제공한다.

[0338] 한 측면에서, 본 발명은

[0339] a) 라이브러리를 결합에 적합한 조건하에 0.1 nM 내지 1000 nM 범위 농도의 표지된 표적 항원과 접촉시켜 폴리펩티드 결합제 및 표지된 표적 항원의 복합체를 형성하는 단계;

[0340] b) 복합체를 단리하고, 표지된 표적 항원으로부터 폴리펩티드 결합제를 분리하여 결합제에 대해 풍부화된 아집단을 수득하는 단계; 및

[0341] c) 임의로는, 매회 이전 회의 선별로부터 수득한 결합제의 아집단을 사용하고, 이전 회보다 낮은 농도의 표적 항원을 사용하여 상기 단계 a) 및 b)를 1회 이상 (일부 실시양태에서는, 2회 이상) 반복하는 단계

[0342] 를 포함하는, (본원에 기재된 바와 같은) 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리로부터 폴리펩티드 결합제를 선별하는 검정을 제공한다.

[0343] 일부 실시양태에서, 상기 방법은 과량의 표지되지 않은 표적 항원을 폴리펩티드 결합제 및 표적 항원의 복합체에 첨가하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시양태에서, 상기 열거된 단계들은 1회 이상 (일부 실시양태에서는, 2회 이상) 반복되고, 제1회의 선별에서의 표적의 농도는 약 100 nM 내지 250 nM이고, 제2회의 선별에서는 약 25 nM 내지 100 nM이고, 제3회의 선별에서는 약 0.1 nM 내지 25 nM이다.

[0344] 또다른 측면에서, 본 발명은

[0345] a) 라이브러리의 제1 샘플을 표적 항원에 대한 폴리펩티드의 결합에 적합한 조건하에 소정의 농도의 표적 항원과 인큐베이션하는 단계;

[0346] b) 라이브러리의 제2 샘플을 표적 항원없이 인큐베이션하는 단계;

[0347] c) 상기 제1 및 제2 샘플을 각각 고정화된 표적 항원에 대한 폴리펩티드의 결합에 적합한 조건하에 고정화된 표적 항원과 접촉시키는 단계;

[0348] d) 각각의 샘플에 대해 고정화된 표적 항원에 결합된 폴리펩티드를 검출하는 단계;

[0349] e) 제2 샘플로부터의 결합된 폴리펩티드의 양에 대한 제1 샘플로부터의 결합된 폴리펩티드의 양의 비를 계산하여 표적 항원에 대한 폴리펩티드의 친화도를 결정하는 단계

[0350] 를 포함하는, 복수의 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리의 스크리닝 방법을 제공한다.

[0351] 본 발명의 결합제 폴리펩티드의 진단 및 치료 용도가 고려된다. 한 진단적 적용에서, 본 발명은 단백질을 함유할 것으로 생각되는 샘플을 본 발명의 결합제 폴리펩티드에 노출시키는 단계 및 샘플에 대한 결합제 폴리펩티드의 결합을 결정하는 단계를 포함하는, 관심있는 단백질의 존재 여부를 결정하는 방법을 제공한다. 상기 용도를 위해, 본 발명은 결합제 폴리펩티드 및 단백질 검출에 결합제 폴리펩티드를 사용하는 설명서를 포함하는 키트를 제공한다.

[0352] 본 발명은 결합제 폴리펩티드를 코딩하는 단리된 핵산; 핵산, 임의로는 벡터로 형질전환된 숙주 세포에 의해 인

식되는 제어 서열에 작동가능하게 연결된 핵산을 포함하는 벡터; 벡터로 형질전환된 숙주 세포; 상기 숙주 세포를 배양하여 핵산이 발현되도록 하는 단계, 임의로는 숙주 세포 배양물 (예를 들어, 숙주 세포 배양 배지로)로부터 결합제 폴리펩티드를 회수하는 단계를 포함하는 결합제 폴리펩티드의 생성 방법을 더 제공한다.

[0353] 본 발명은 또한 본 발명의 결합제 폴리펩티드 및 담체 (예를 들면, 제약상 허용되는 담체) 또는 희석제를 포함하는 조성물을 제공한다. 치료 용도로 사용되는 상기 조성물은 멸균되며, 동결건조될 수 있다. 또한, 본원에 기재된 증상을 치료하기 위한 의약의 제조에 있어서의 본 발명의 결합제 폴리펩티드의 용도가 고려된다. 조성물은 제2 요법제, 예컨대 화학요법제, 세포독성제 또는 항-혈관신생 제제를 더 포함할 수 있다.

[0354] 본 발명은 유효량의 본 발명의 결합제 폴리펩티드를 포유동물에게 투여하는 것을 포함하는, 포유동물의 치료 방법을 더 제공한다. 상기 방법에서 치료될 포유동물은 비인간 포유동물, 예를 들어 전임상 데이터를 얻기에 적합한 영장류 또는 설치류 (예를 들어, 마우스 또는 래트, 또는 토끼)일 수 있다. 비인간 포유동물은 건강할 수 있거나 (예를 들면, 독성학 연구) 또는 관심있는 결합제 폴리펩티드로 치료될 장애를 앓고 있을 수 있다. 한 실시양태에서, 포유동물은 DR5-관련 장애를 앓고 있다. 또다른 실시양태에서, 포유동물은 HER2-관련 장애를 앓고 있다.

[0355] 한 실시양태에서, 포유동물은 비정상적인 혈관신생 (예를 들면, 병리학적 혈관신생)을 앓고 있거나 또는 이들이 발병할 위험이 있다. 한 특정 실시양태에서, 장애는 결장직장암, 신장 세포 암종, 난소암, 폐암, 비-소세포 폐암 (NSCLC), 기관지폐포 암종 및 췌장암으로 이루어진 군으로부터 선택된 암이다. 또다른 실시양태에서, 장애는 안내 신생혈관형성에 의해 유발된 질환, 예를 들어 당뇨병성 실명, 망막증, 원발성 당뇨병성 망막증, 노화-유도 시력 감퇴 및 피부홍조이다. 또다른 실시양태에서, 치료될 포유동물은 부종 (예를 들어, 뇌 종양과 연관된 부종, 뇌졸중과 연관된 부종 또는 뇌 부종)을 앓고 있거나 이들이 발병할 위험이 있다. 또다른 실시양태에서, 포유동물은 류마티스성 관절염, 염증성 장 질환, 난치성 복수, 건선, 유육종증, 아테롬성 동맥경화증, 패혈증, 화상 및 췌장염으로 이루어진 군으로부터 선택된 장애 또는 질병을 앓고 있거나 이들이 발병할 위험이 있다. 또다른 실시양태에 따라, 포유동물은 다낭성 난소 질환 (POD), 자궁내막증 및 자궁근종으로 이루어진 군으로부터 선택된 비요생식기 질병을 앓고 있거나 이들이 발병할 위험이 있다. 한 실시양태에서, 장애는 세포 생존의 조절 이상 (예를 들면, 비정상적인 양의 세포 사멸)에 의해 초래되는 장애로, 암, 면역계 장애, 신경계 장애 및 혈관계 장애를 포함하나 이들로 한정되지는 않는다. 투여되는 본 발명의 결합제 폴리펩티드의 양은 장애를 치료하는데 치료상 효과적인 양일 것이다. 투여량의 단계적 상승 연구에서, 다양한 투여량의 결합제 폴리펩티드가 포유동물에 투여될 수 있다. 또다른 실시양태에서, 치료상 유효량의 결합제 폴리펩티드가 인간 환자에게 투여되어 그 환자의 장애를 치료한다.

[0356] 한 실시양태에서, 종양, 악성 종양, 및 염증성 또는 면역학적 장애 및/또는 당뇨병 또는 본원에 기재된 다른 인슐린-관련 장애를 비롯한 비정상적인 혈관신생에 관련된 다른 장애의 치료에 유용한 본 발명의 결합제 폴리펩티드는 Fab 또는 scFv 항체이다. 따라서, 이러한 결합제 폴리펩티드는 염증성 또는 면역 질환을 치료하기 위한 의약의 제조에 사용될 수 있다. 본원에 기재된 장애 또는 질병을 앓고 있거나 이들이 발병할 위험이 있는 포유동물은 제2 요법제를 본 발명의 폴리펩티드 (예를 들면, 항체)와 동시에, 순차적으로 또는 조합하여 투여함으로써 치료될 수 있다. 제2 요법제 이외의 다른 요법제가 포유동물에게 투여되거나 또는 원하는 증상에 사용되는 의약의 제조에 사용될 수 있는 것으로 이해되어야 한다.

[0357] 이들 폴리펩티드는 인간 종양이 이식된 마우스 모델에서와 같이 이식된 비-숙주 종양의 성장에서의 숙주 기질 세포 협동의 역할을 이해하는데 사용될 수 있다. 이들 폴리펩티드는 본 발명의 폴리펩티드로 처리한 후에 설치류 또는 토끼에 이식된 종양의 성장을 관찰 또는 모니터링함으로써 치료적 처치를 피할 수 있는 인간 종양을 확인하는 방법에 사용될 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드는 또한 본 발명의 폴리펩티드와 다른 요법제의 조합 요법을 연구 및 평가하는데 사용될 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드는 상기 질환 또는 유사한 질환을 앓고 있는 동물에게 폴리펩티드를 투여하고, 질환의 하나 이상의 징후가 경감되는지 여부를 결정함으로써 다른 질환에서의 관심있는 표적 분자의 역할을 연구하는데 사용될 수 있다.

[0358] 명확하게 하기 위하여, 본원의 상세한 설명에서 달리 구체적으로 또는 문맥상 지시되지 않는 한, 모든 아미노산 번호지정은 Kabat 등에 따른다 (아래 "정의"에서의 추가의 설명 참조).

실시예

[0755] 실시예 1: Tyr, Ser, Gly 및 Arg이 풍부한 CDR 잔기를 갖는 파지-디스플레이된 Fab 라이브러리의 구축

[0756] 파지-디스플레이된 Fab 라이브러리를 파지미드 벡터, Fab-C로 구축하여, Fab 중쇄 및 유전자-3의 소량 외피 단

백질 (P3C)의 C-말단 도메인 사이에 유리 시스테인이 삽입되어 이량체화된 2가 Fab 부분이 디스플레이되었다. 상기 백터는 미국 특허 출원 공개 제20050119455호 및 문헌 [Lee et al., J. Immunol. Meth. 284:119-132 (2004)]에 기재된 바와 같이 구축된 것이었다. 상기 백터 (도 5에 모식적으로 예시함)는 IPTG-유도가능한 P_{tac} 프로모터의 제어를 받는 인간화 항체 4D5 가변 도메인을 포함한다. 인간화 항체 4D5는 중쇄 및 경쇄 중에는 주로 인간 컨센서스 서열 프레임워크 영역을 가지며, HER-2에 특이적인 마우스 모노클로날 항체로부터의 CDR 영역을 갖는다. 항-HER-2 항체의 제조 방법 및 가변 도메인 서열의 정체성(identity)은 미국 특허 제5,821,337호 및 동 제6,054,297호에 기재되어 있다.

[0757] YSGR-A, YSGR-B, YSGR-C 및 YSGR-D의 4종의 라이브러리를 구축하였다. 상기 라이브러리는 모든 3개의 중쇄 CDR 및 경쇄 CDR3에서 무작위화 잔기를 갖도록 구축되었다. 각 라이브러리는 CDRL3의 위치 91 내지 위치 94 및 위치 96, CDRH1의 위치 28 및 위치 30 내지 위치 33, CDRH2의 위치 50, 위치 52 내지 위치 54, 위치 56 및 위치 58, 및 CDRH3의 위치 95 내지 위치 100, 위치 100a, 위치 100b 및 위치 100c에서 무작위화되었다. 각 무작위화 위치에서 허용된 아미노산의 유형 및 비율은 도 8에 기재되어 있다. 추가로, CDRH3의 길이는 위치 95 내지 위치 100a의 7개 야생형 코돈을 6개 내지 17개 코돈으로 대체한 올리고뉴클레오타드를 사용하여 변화시켰다. 따라서, 일부 예에서는 하기하는 바와 같이 중쇄의 위치 100a에 상응하는 코돈이 존재하지 않았다 (예를 들어, 돌연변이유발이 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타드 H3-A6 (서열 35), H3-B6 (서열 47), H3-C6 (서열 59) 또는 H3-D6 (서열 71)을 사용하여 수행된 경우). 도 9A 및 도 9D를 참조한다. 상기 위치에서 허용된 아미노산의 유형 및 비율은 도 8에서 CDRH3의 위치 95 내지 위치 100a에 대하여 기재된 것들과 동일하다.

[0758] 쿤켈의 방법 [Kunkel, T. A., Roberts, J.D. & Zakour, R.A., Methods Enzymol. (1987), 154, 367-382] 및 이전에 기재된 방법 [Sidhu, S.S., Lowman, H.B., Cunningham, B. C. & Wells, J.A., Methods Enzymol. (2000), 328, 333-363]을 이용하여 라이브러리를 구축하였다. 독특한 "정지 주형" 버전의 Fab 디스플레이 백터 Fab-C를 사용하여 실시예 1에 기재한 바와 같은 4종의 라이브러리를 모두 생성하였다.

[0759] 다양화될 위치에 동의성 코돈을 갖는 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타드를 동시에 사용하여, (a) CDR 다양성을 도입하고 (b) 정지 코돈을 복구시켰다. 이러한 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타드의 서열은 도 9A 내지 도 9D에 나타내었다. 모든 라이브러리에 대하여, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3에 각각 올리고뉴클레오타드 H1, H2 및 L3으로 다양성을 도입하였다 (서열 __). 라이브러리 YSGR-A의 경우에는 올리고뉴클레오타드 H3-A6, H3-A7, H3-A8, H3-A9, H3-A10, H3-A11, H3-A12, H3-A13, H3-A14, H3-A15, H3-A16 및 H3-A17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 35 내지 서열 46). 라이브러리 YSGR-B의 경우에는 올리고뉴클레오타드 H3-B6, H3-B7, H3-B8, H3-B9, H3-B10, H3-B11, H3-B12, H3-B13, H3-B14, H3-B15, H3-B16 및 H3-B17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 47 내지 서열 58). 라이브러리 YSGR-C의 경우에는 올리고뉴클레오타드 H3-C6, H3-C7, H3-C8, H3-C9, H3-C10, H3-C11, H3-C12, H3-C13, H3-C14, H3-C15, H3-C16 및 H3-C17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 59 내지 서열 70). 라이브러리 YSGR-D의 경우에는 올리고뉴클레오타드 H3-D6, H3-D7, H3-D8, H3-D9, H3-D10, H3-D11, H3-D12, H3-D13, H3-D14, H3-D15, H3-D16 및 H3-D17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 71 내지 서열 82). 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타드 H3-A6 내지 H3-A17 (서열 35 내지 서열 46), H3-B6 내지 H3-B17 (서열 47 내지 서열 58), H3-C6 내지 H3-C17 (서열 59 내지 서열 70) 및 H3-D6 내지 H3-D17 (서열 71 내지 서열 82) 각각은 중쇄의 위치 93에서 알라닌을 코딩하였다. 무작위화될 모든 CDR에 대한 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타드가 단일 돌연변이유발 반응으로 동시에 혼입되어, 모든 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타드의 동시 혼입은 디자인된 다양성을 각 위치에 도입시키고 모든 TAA 정지 코돈을 동시에 복구시켰다. 따라서, 단독이량체화 시스테인 브릿지 및 P3C에 융합된 Fab 라이브러리 구성원을 코딩하는 오픈 리딩 프레임(open reading frame)이 생성되었다. 돌연변이유발 후에는, 4종의 라이브러리를 조합하여 라이브러리 YSGR-A-D라고 부르는 단일 라이브러리를 생성하였다.

[0760] 돌연변이유발 반응물을 이. 콜라이 SS320 [Sidhu et al., 상기 문헌]으로 전기천공시켰다. 형질전환된 세포를 M13-K07 헬퍼 파지 (미국 매사추세츠주 베버리 소재의 뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs))의 존재하에 밤새 성장시켜서 파지미드 DNA를 캡슐화하고 Fab 단편을 그 표면에 디스플레이한 파지 입자를 생성하였다. 상기 조합된 라이브러리는 독특한 구성원을 3×10^{10} 개 초과로 함유하였다.

[0761] **실시예 2: 천연 라이브러리 YSGR-A-D로부터의 특이적 항체의 선별**

[0762] 라이브러리 YSGR-A-D (상기 실시예 1에서 기재함)로부터의 파지를 수회의 결합 선별을 통해 증식시켜서 인간 DR5 또는 HER-2에 결합하는 클론을 풍부하게 하였다. 결합 선별은 이전에 기재된 방법 [Sidhu et al., 상기 문헌]을 이용하여 수행하였다.

- [0763] 인간 DR5 서열은 표 1에 나타내었다. 표 1에 나타난 바와 같은 DR5의 세포외 도메인이 결합 선별에 이용되었다. 유사하게, 인간 HER-2 서열의 세포외 도메인은 문헌 [Franklin MC. Carey KD. Vajdos FF. Leahy DJ. de Vos AM. Sliwkowski MX. Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex, Cancer Cell. 5(4):317-28, 2004]에 기재된 바와 같이 제조한다. 인간 HER-2 ECD의 서열 (아미노산 23 내지 646)은 프로테인 데이타뱅크 레코드 1S78 (2004)에서 제공된다.
- [0764] NUNC 96웰 맥시소르프(Maxisorp) 면역플레이트를 밤새 4℃에서 5 µg/mL 표적 단백질 (인간 DR5 또는 인간 HER-2)로 코팅하고 2시간 동안 PBT 용액 (0.2% BSA 및 0.05% 트윈 20(Tween 20) (시그마)을 추가로 함유하는 인산염 완충 염수)으로 차단시켰다. 37℃에서 밤새 성장시킨 후에, 이전에 기재된 바와 같이 [Sidhu et al., 상기 문헌] 파지를 PEG/NaCl로 침전시켜 농축시키고 PBT 중에 재현탁시켰다. 파지 용액 (약 10¹² 개 파지/mL)을 상기 코팅된 면역플레이트에 가하였다. 2시간 동안 인큐베이션시켜서 파지 결합을 허용한 후, 상기 플레이트를 PBT로 10회 세척하였다. 결합된 파지를 0.1 M HCl로 10분 동안 용출시키고, 용출액은 1.0 M Tris 염기로 중화시켰다. 용출된 파지는 이. 콜라이 XL1-블루에서 증폭시켜 이후의 선별에 사용하였다.
- [0765] 상기 라이브러리에 대하여, 각 표적 단백질에 대해 5회의 선별을 실시하였다. 각 선별에서의 개개의 클론을 카르베니실린 및 M13-K07이 보충된 2YT 브로쓰 500 µl 중에서 96웰 포맷으로 성장시켰다. 상기 배양 상등액을 파지 ELISA [Sidhu et al., 상기 문헌]에 바로 사용하여 표적 단백질로 코팅된 플레이트에는 결합하지만 BSA로 코팅된 플레이트에는 결합하지 않는 파지-디스플레이된 Fab를 검출하였다. 특이적 결합체는 BSA-코팅된 플레이트에 비해 표적-코팅된 플레이트에서 적어도 10배가 넘는 ELISA 신호를 나타내는 파지 클론으로 정의하였다. 인간 DR5 또는 인간 HER-2와의 결합에 대한 4회 및 5회의 선별 후에 개개의 클론을 스크리닝하였다. 특이적 결합체로 서열 분석을 행하였다. 또한, 스팟 친화도 ELISA, 특이성 ELISA, 특이성 ELISA, 및 본원에 기재한 바와 같은 방법을 이용한 HER2에 대한 친화도를 이용하여 특이적 결합체를 분석하였다 (도 11B 참조). 도 10에 나타난 바와 같이, YSGR-A-D 라이브러리는 2가지 표적 단백질 모두에 대한 특이적 결합체를 생성하였다.
- [0766] 인간 HER-2에 특이적으로 결합된 것으로 확인된 240개의 클론 중에서 106개가 독특한 CDR 서열을 가졌다 (도 11 참조). 상기 독특한 서열은 하기하는 3가지 카테고리에 속하였다: 1) 6개 또는 7개 잔기의 잔기 CDRH3 서열, 2) 8개 잔기의 CDRH3 서열, 및 3) 서열 중에 티로신, 세린 및 글리신을 갖는 중간 길이의 CDR 서열.
- [0767] 항-HER-2 중쇄 가변 도메인은 올리고 라이브러리에 포함되지 않은 짧은 CDRH3 (예를 들어, 95 내지 100a에 상응하는 위치의 6개 또는 7개 아미노산) 서열에 대한 선호도를 나타낸다 (도 12 참조). CDRH3은 N-말단부에서 위치 95의 보존된 티로신 잔기를 보여준다. 다른 보존된 위치는 주로 글리신인 위치 99에서 발견된다. CDRH3에 대한 컨센서스 서열은 **QQSYYX4PST (서열 587)** 이고, CDRH1에 대한 컨센서스 서열은 **GFSIX2X3SYIH (서열 588)** 이고, CDRH2에 대한 컨센서스 서열은 **SIYPX3SGYTSYADSKVG (서열 589)** 이며, 여기서의 X는 컨센서스 잔기가 확인되지 않는 아미노산 위치를 나타내고, 각 CDR에서의 X 위치는 Y 또는 S이다.
- [0768] 8개 아미노산을 갖는 CDRH3을 보유하는 중쇄 가변 도메인은 CDRH3의 N-말단부와 C-말단부 (위치 95 및 위치 100a)에 보존된 글리신을 갖는다. 위치 98에도 티로신이 보존되어 있다. 8개 아미노산 CDRH3의 위치 99는 G, S, A 또는 T와 같은 작은 아미노산에 대해 선호도를 나타낸다. 상기 위치 뒤에는 위치 100에 R, H, Y 및 W와 같은 커다란 아미노산이 존재한다. CDRH1에 대한 컨센서스 서열은 **GFX1ISYSSIH (서열 590)** 이고, CDRH2에 대한 컨센서스 서열은 **SIYPX3YGX5TX6YADSKVG (서열 591)** 이며, 여기서의 X는 컨센서스 잔기가 확인되지 않는 아미노산 위치를 나타내고 Y 또는 S이다.
- [0769] 중간 길이 (예를 들어 약 12개 내지 14개 아미노산)의 CDRH3 영역을 갖는 중쇄 가변 도메인의 분석은 CDRH3 컨센서스 서열 **X1X2X3X4YYSSYYX10GX12X13X14DY (서열 592)** 을 제공하며, 여기서의 X는 컨센서스 잔기가 확인되지 않는 아미노산 위치를 나타내고, X1은 Y, S 및 R로부터 선택되고, X2는 Y 및 S로부터 선택되고, X3은 G, Y 및 S로부터 선택되고, X4는 Y, S, R 및 G로부터 선택되고, X10은 Y, S 및 G로부터 선택되고, X12는 Y, S, G 및 R로부터 선택되고, X13은 G 및 A로부터 선택되며, X14는 I, F, F 및 L로부터 선택된다 (도 14 참조). CDRH3이 루프를 형성하기 때문에, CDRH3에 대한 컨센서스는 몇개 클론에 대한 서열을 2개 아미노산 너머로 이동시켜서 서열의 위치 95가 이 경우에는 클론 52의 서열인 참조 서열의 위치 97과 정렬되도록 하여 개발되었다. 또한, CDRH1에 대한 컨센서스 서열은 **GFX1ISSSSIH (서열 593)** 이고, CDRH2에 대한 컨센서스 서열은 **X1IX2PSSGYTX6YADSKVG (서열 594)** 이며, 여기서의 X는 컨센서스 잔기가 확인되지 않는 아미노산 위치

를 나타내고 Y 또는 S이다.

- [0770] 도 11B에 기재한 바와 같이, 클론 중 몇 개는 0.1 내지 10 nM의 IC₅₀으로 HER2에 결합하였다. 대부분의 경우에, 이들 고친화도 결합체는 VEGF, DR5, 인슐린, 뉴트라비딘, 인간 성장 호르몬, 인간 또는 IGF-1과 같은 다른 항원과 교차-반응성을 거의 갖지 않거나 전혀 갖지 않는다.
- [0771] 도 10에 나타난 바와 같이, Fab를 발현한 144개 클론을 동정하였고, 이것들은 인간 DR5에 대한 특이적 결합제였다. 도 15에 나타난 바와 같이, 서열 분석은 이들 144개 클론에서 18개의 독특한 아미노산 서열을 확인하였다.
- [0772] 이들 결합제 각각의 IC₅₀은 하기하는 바와 같이 경쟁적 파지 ELISA로 결정하였다. NUNC 96웰 맥시소르프 면역플레이트를 밤새 4℃에서 hDR5-ECD (5 µg/mL)로 코팅하고 BSA으로 차단시켰다. Fab를 디스플레이하는 파지는 M13-K07 헬퍼 파지를 첨가하여 이. 콜라이 XL1-블루에서 증식시켰다. 2YT 배지 중에 37℃에서 밤새 성장시킨 후에, 파지를 PEG/NaCl로 침전시켜 농축시키고 인산염 완충 염수 (PBS), 0.5% (w/v) BSA, 0.1% (v/v) 트윈 20 (PBT 완충제) 중에 재현탁시켰다. 파지를 PBT 완충제 중에 계열 희석하고 결합을 측정하여 포화시 신호의 약 50%를 제공하는 파지 농도를 결정하였다. 고정된 포화 농도의 파지를 2시간 동안 hDR5-ECD의 계열 희석물과 예비-인큐베이션시키고, 이후에는 hDR5-ECD로 코팅된 검정 플레이트로 옮겼다. 15분 동안 인큐베이션시킨 후에, 상기 플레이트를 PBS, 0.05% 트윈 20으로 세척하고 양고추냉이 퍼옥시다제/항-M13 항체 접합체 (PBT 완충제 중에 1:5000으로 희석)와 함께 30분 동안 인큐베이션시켰다. 상기 플레이트를 세척하여 TMB 기질로 발색시키고, 1.0 M H₃PO₄로 켄칭(quenching)시켜 450 nm에서 분광학적으로 판독하였다. 항-hDR5 리간드의 결합 친화도를, 고정화된 hDR5-ECD에 대한 파지 결합의 50%를 차단하는 hDR5-ECD의 농도로 정의되는 IC₅₀값으로 결정하였다.
- [0773] 인간 DR5의 세포외 도메인 (서열 595)에 대한 결합에 대하여 클론을 분석하였다. 최저 IC₅₀을 갖는 결합체는 CDRH1에서는 주로 세린이었고, CDRH3에서는 주로 아르기닌이었다 (위치 96 및 위치 99). 중쇄 가변 도메인 CDRH3 영역의 분석은 CDRH3 컨센서스 서열 **YRX3YRYGX8X9X10GSYX14X15DY (서열 596)** 을 제공하였고, 여기서의 X3은 Y, S, R, P 및 G로부터 선택되고, X8은 R, Y 및 S로부터 선택되고, X9는 G 및 Y로부터 선택되고, X10은 S, Y 및 R로부터 선택되고, X14는 G 및 A로부터 선택되고, X15는 L 및 F로부터 선택되며, X는 컨센서스 잔기가 확인되지 않는 아미노산 위치를 나타낸다 (도 16 참조). 또한, CDRL3에 대한 컨센서스 서열은 **QXX1X2X3SPST (서열 597)** 이고, 여기서의 X1, X2 및 X3은 Y 또는 S이며, CDRH1에 대한 컨센서스 서열은 **GFX1LX2SSSIH (서열 598)** 이고, CDRH2에 대한 컨센서스 서열은 **X1ISPX3X4GYTX6YADSKVG (서열 599)** 이며, 여기서의 X는 컨센서스 잔기가 확인되지 않는 아미노산 위치를 나타내고 Y 또는 S이다. 컨센서스 서열은 특히 항체 가변 도메인의 새로운 라이브러리를 형성하는데 사용될 수 있다. CDRH3에서, 위치 97, 100b, 100c, 100h 및 100i에서의 아미노산은 더 높은 친화도에 기여할 수 있다.
- [0774] 또한, 클론을 상기한 경쟁적 파지 ELISA를 사용하여 무린 DR5에 대한 결합에 대하여도 분석하였다. YSGR A-D 라이브러리에서, 인간 DR5와 무린 DR5 둘다에 결합하는 여러개의 클론을 단리하였지만, 무린 DR5에 대한 결합이 친화도가 훨씬 더 낮았다 (도 17 참조). 상기 라이브러리는 무린 DR5와 인간 DR5 둘다에 결합할 수 있는 항체의 단리를 제공하고, 이는 확인된 결합체가 전체 무작위 CDRH3 (모든 20개 아미노산) 및 YS CDRH3 라이브러리에 비해 독특하다는 것을 나타낸다. 각 위치에서 허용된 아미노산의 다양성을 변화시키면, 여러가지 에피토프에 결합하고 독특한 생물학적 기능을 갖는 항체를 제공할 수 있다. 무린 CDR과 인간 CDR 둘다에 결합하는 항-DR5 항체는, 이전에 개발된 라이브러리로부터의 항-DR5 항체와는 다른 에피토프에 결합할 수 있다.
- [0775] **실시예 3: DR5에 대한 결합제의 분석**
- [0776] 인간 DR5에 대한 Apo 2L 리간드의 결합 부위는 이미 맵핑된 바 있고, 결합 부위에 대한 결정 구조도 결정되었다 ([Hymowitz et al., Molecular Cell 4:564 (1999)] 및 WO 01/19861 참조). 결정 구조 및 모델을 사용하여 항-DR5 항체의 결합을 맵핑할 수 있다.
- [0777] 이전의 연구는 인간 DR5에 결합하는 항체를 동정한 바 있다. 이들 항체는 BDF1 및 YSD1이라고 지칭된다. 항체 BDF1은 CDR이 모든 20종의 아미노산으로 무작위화된 라이브러리에서 단리되었고, 다음과 같은 CDR 서열을 갖는

다: 1) **IGKSGIH** (서열 600) 의 CDRH1 서열, 2) **VAVIYPHDGNTAYA** (서열 601) 의 CDR2 서열, 및 3) **RLALVRMWMD** (서열 602) 의 CDRH3 서열. YSD1 항체는 CDR 위치가 티로신 및 세린으로 변화된 라이브러리에서 단리되었고, **YSSYYSSYYSSSSYSY** (서열 603) 의 CDRH3 서열을 갖는다. 인간 DR5에서 이들 항체의 결합 부위는 상기 분자의 N-말단에 위치하고, 주로 C-말단에 존재하는 Apo 2L 리간드의 결합 부위와는 거의 중첩되지 않는다 (50s 루프의 아미노산, 예를 들어 DR5의 아미노산 50 내지 65 및 90s 루프의 아미노산, 예를 들어 DR5의 아미노산 91 내지 104). 이들 항체 각각의 CDRH3 영역의 결합을 나타내는 모델을 도 18에 나타내었다. BDF1 및 YSD1의 CDRH3은 DR5와의 결합에 대하여 중복되고 핫 스팟(hot spot)을 형성한다. YSD1 CDRH3의 결합은 티로신에 의해 매개되고, BFD1의 결합은 LAL 서열에 의해 매개된다. DR5에 대한 YSD1의 결합은 DR5 루이신, 글루타민, 알라닌, 페닐알라닌 및 아르기닌 잔기를 포함한다.

[0778] **실시예 4: Tyr 및 Ser이 풍부한 CDRH1, H2 및 L3 잔기 및 Ser 및 Ala, Cys, Phe, Gly, Ile, Leu, Asn, Pro, Arg, Thr, Trp 또는 Tyr이 풍부한 CDRH3 잔기를 갖는 파지-디스플레이된 Fab 라이브러리의 구축**

[0779] 실시예 1에서 이미 기재한 바와 같이, 파지-디스플레이된 Fab 라이브러리를 파지미드 벡터, Fab-C로 구축하여, Fab 중쇄 및 유전자-3의 소량 외피 단백질 (P3C)의 C-말단 도메인 사이에 유리 시스테인이 삽입되어 이량체화된 2가 Fab 부분이 디스플레이되었다.

[0780] SAH3, SCH3, SFH3, SGH3, SLH3, SNH3, SPH3, SRH3, STH3, SWH3 및 SYH3의 12종의 라이브러리를 구축하였다. 상기 라이브러리는 모든 3개의 중쇄 CDR 및 경쇄 CDR3에서 무작위화 잔기를 갖도록 구축되었다. 각 라이브러리는 CDRL3의 위치 91 내지 위치 94 및 위치 96, CDRH1의 위치 28 및 위치 30 내지 위치 33, CDRH2의 위치 50, 위치 52 내지 위치 54, 위치 56 및 위치 58, 및 CDRH3의 위치 95 내지 위치 100, 위치 100a 내지 위치 100m에서 무작위화되었다. 각 무작위화 위치에서 허용된 아미노산의 유형 및 비율은 도 19A 및 도 19B에 기재되어 있다. 추가로, CDRH3의 길이는 위치 95 내지 위치 100의 6개 야생형 코돈을 4개 내지 17개 코돈으로 대체한 올리고뉴클레오티드를 사용하여 변화시켰다. 상기 위치에서 허용된 아미노산의 유형 및 비율은 도 19A 및 도 19B에서 CDRH3의 위치 95 내지 위치 100에 대하여 기재된 것들과 동일하다.

[0781] 쿤켈의 방법 [Kunkel et al., Methods Enzymol. (1987) 154:367-382] 및 이전에 기재된 방법 [Sidhu et al., Methods Enzymol. (2000) 328:333-363]을 이용하여 라이브러리를 구축하였다. 독특한 "정지 주형" 버전의 Fab 디스플레이 벡터 Fab-C를 사용하여 실시예 1에 기재한 바와 같은 4종의 라이브러리를 모두 생성하였다.

[0782] 다양화될 위치에 동의성 코돈을 갖는 돌연변이유발성 올리고뉴클레오티드를 동시에 사용하여, (a) CDR 다양성을 도입하고 (b) 정지 코돈을 복구시켰다. 이러한 돌연변이유발성 올리고뉴클레오티드의 서열은 도 20A 내지 도 20L에 나타내었다. 모든 라이브러리에 대하여, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3에 각각 올리고뉴클레오티드 H1, H2 및 L3으로 다양성을 도입하였다 (서열 __).

[0783] 라이브러리 SAH3의 경우에는 올리고뉴클레오티드 H3-SA4, H3-SA5, H3-SA6, H3-SA7, H3-SA8, H3-SA9, H3-SA10, H3-SA11, H3-SA12, H3-SA13, H3-SA14, H3-SA15, H3-SA16 및 H3-SA17의 동물 혼합물로 CDRH3에 다양성을 도입하였다 (서열 621 내지 서열 634).

[0784] 라이브러리 SCH3의 경우에는 올리고뉴클레오티드 H3-SC4, H3-SC5, H3-SC6, H3-SC7, H3-SC8, H3-SC9, H3-SC10, H3-SC11, H3-SC12, H3-SC13, H3-SC14, H3-SC15, H3-SC16 및 H3-SC17의 동물 혼합물로 CDRH3에 다양성을 도입하였다 (서열 635 내지 서열 648).

[0785] 라이브러리 SFH3의 경우에는 올리고뉴클레오티드 H3-SF4, H3-SF5, H3-SF6, H3-SF7, H3-SF8, H3-SF9, H3-SF10, H3-SF11, H3-SF12, H3-SF13, H3-SF14, H3-SF15, H3-SF16 및 H3-SF17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 649 내지 서열 662).

[0786] 라이브러리 SGH3의 경우에는 올리고뉴클레오티드 H3-SG4, H3-SG5, H3-SG6, H3-SG7, H3-SG8, H3-SG9, H3-SG10, H3-SG11, H3-SG12, H3-SG13, H3-SG14, H3-SG15, H3-SG16 및 H3-SG17의 동물 혼합물로 CDRH3에 다양성을 도입하였다 (서열 663 내지 서열 676).

[0787] 라이브러리 SIH3의 경우에는 올리고뉴클레오티드 H3-SI4, H3-SI5, H3-SI6, H3-SI7, H3-SI8, H3-SI9, H3-SI10, H3-SI11, H3-SI12, H3-SI13, H3-SI14, H3-SI15, H3-SI16 및 H3-SI17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 677 내지 서열 690).

[0788] 라이브러리 SLH3의 경우에는 올리고뉴클레오티드 H3-SL4, H3-SL5, H3-SL6, H3-SL7, H3-SL8, H3-SL9, H3-SL10,

H3-SL11, H3-SL12, H3-SL13, H3-SL14, H3-SL15, H3-SL16 및 H3-SL17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 691 내지 서열 704).

[0789] 라이브러리 SNH3의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 H3-SN4, H3-SN5, H3-SN6, H3-SN7, H3-SN8, H3-SN9, H3-SN10, H3-SN11, H3-SN12, H3-SN13, H3-SN14, H3-SN15, H3-SN16 및 H3-SN17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 705 내지 서열 718).

[0790] 라이브러리 SPH3의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 H3-SP4, H3-SP5, H3-SP6, H3-SP7, H3-SP8, H3-SP9, H3-SP10, H3-SP11, H3-SP12, H3-SP13, H3-SP14, H3-SP15, H3-SP16 및 H3-SP17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 719 내지 서열 732).

[0791] 라이브러리 SRH3의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 H3-SR4, H3-SR5, H3-SR6, H3-SR7, H3-SR8, H3-SR9, H3-SR10, H3-SR11, H3-SR12, H3-SR13, H3-SR14, H3-SR15, H3-SR16 및 H3-SR17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 733 내지 서열 746).

[0792] 라이브러리 STH3의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 H3-ST4, H3-ST5, H3-ST6, H3-ST7, H3-ST8, H3-ST9, H3-ST10, H3-ST11, H3-ST12, H3-ST13, H3-ST14, H3-ST15, H3-ST16 및 H3-ST17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 747 내지 서열 760).

[0793] 라이브러리 SWH3의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 H3-SW4, H3-SW5, H3-SW6, H3-SW7, H3-SW8, H3-SW9, H3-SW10, H3-SW11, H3-SW12, H3-SW13, H3-SW14, H3-SW15, H3-SW16 및 H3-SW17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 761 내지 서열 774).

[0794] 라이브러리 SYH3의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 H3-SY4, H3-SY5, H3-SY6, H3-SY7, H3-SY8, H3-SY9, H3-SY10, H3-SY11, H3-SY12, H3-SY13, H3-SY14, H3-SY15, H3-SY16 및 H3-SY17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 775 내지 서열 788).

[0795] 무작위화될 모든 CDR에 대한 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타이드가 단일 돌연변이유발 반응으로 혼입되어, 모든 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타이드의 동시 혼입은 디자인된 다양성을 각 위치에 도입시키고 모든 TAA 정지 코돈을 복구시켰다. 따라서, 단독이량체화 시스템인 브릿지 및 P3C에 융합된 Fab 라이브러리 구성원을 코딩하는 오픈 리딩 프레임이 생성되었다. 돌연변이유발 후에는, 12종의 라이브러리를 조합하여 라이브러리 SXH3이라고 부르는 단일 라이브러리를 생성하였다.

[0796] 돌연변이유발 반응물을 이. 콜라이 SS320 [Sidhu et al., 상기 문헌]으로 전기천공시켰다. 형질전환된 세포를 M13-K07 헬퍼 파지 (미국 매사추세츠주 베버리 소재의 뉴 잉글랜드 바이오랩스)의 존재하에 밤새 성장시켜서 파지미드 DNA를 캡슐화하고 Fab 단편을 그 표면에 디스플레이한 파지 입자를 생성하였다. 상기 조합된 라이브러리는 독특한 구성원을 3×10^{10} 개 초과로 함유하였다.

[0797] **실시예 5: 천연 라이브러리 SXH3로부터의 특이적 항체의 선별**

[0798] 라이브러리 SXH3 (상기 실시예 4에서 기재함)으로부터의 파지를 수회의 결합 선별을 통해 증식시켜서 인간 HER2에 결합하는 클론을 풍부하게 하였다. 결합 선별은 이전에 기재된 방법 [Sidhu et al., 상기 문헌]을 이용하여 수행하였다.

[0799] NUNC 96웰 맥시소프 표면플레이트를 밤새 4℃에서 5 µg/mL 표적 단백질 (HER2)로 코팅하고 2시간 동안 PBT 용액 (시그마)으로 차단시켰다. 37℃에서 밤새 성장시킨 후에, 이전에 기재된 바와 같이 [Sidhu et al., 상기 문헌] 파지를 PEG/NaCl로 침전시켜 농축시키고 PBT 중에 재현탁시켰다. 파지 용액 (약 10^{12} 개 파지/mL)을 상기 코팅된 표면플레이트에 가하였다. 2시간 동안 인큐베이션시켜서 파지 결합을 허용한 후, 상기 플레이트를 PBT로 10회 세척하였다. 결합된 파지를 0.1 M HCl로 10분 동안 용출시키고, 용출액은 1.0 M Tris 염기로 중화시켰다. 용출된 파지는 이. 콜라이 XL1-블루에서 증폭시켜 이후의 선별에 사용하였다.

[0800] 상기 라이브러리를 사용하여, 표적 단백질에 대해 6회의 선별을 실시하였다. 각 선별에서의 개개의 클론을 카르베니실린 및 M13-K07이 보충된 2YT 브로쓰 500 µl 중에서 96웰 포맷으로 성장시켰다. 상기 배양 상등액을 파지 ELISA [Sidhu et al., 상기 문헌]에 바로 사용하여 표적 단백질로 코팅된 플레이트에는 결합하지만 BSA로 코팅된 플레이트에는 결합하지 않는 파지-디스플레이된 Fab를 검출하였다. 특이적 결합체는 BSA-코팅된 플레이트에 비해 표적-코팅된 플레이트에서 적어도 10배가 넘는 ELISA 신호를 나타내는 파지 클론으로 정의하였다. 인간 HER-2와의 결합에 대한 4회, 5회 및 6회의 선별 후에 개개의 클론을 스크리닝하였다. 특이적 결합체로 서열

분석을 행하였다. 도 21에 나타난 바와 같이, SXH3 라이브러리는 표적 단백질에 대한 특이적 결합제를 생성하였다.

[0801] HER-2에 특이적으로 결합된 것으로 확인된 72개의 클론 중에서 27개가 독특한 CDR 서열을 가졌다 (도 21A 참조). 상기 독특한 서열은 하기하는 3가지 카테고리에 속하였다: (a) 2원 Tyr/Ser으로 제한되는 무작위화 위치를 갖는 CDR 서열 (클론 번호 B1-5 및 B28), (b) 2원 Trp/Ser으로 제한되는 무작위화 위치를 갖는 CDR 서열 (클론 번호 B6-24), (c) 2원 Phe/Ser으로 제한되는 무작위화 위치를 갖는 CDR 서열 (클론 번호 B25-27). 이들 클론은 또한 HER2에 대해 고도로 특이적이고, 5종의 다른 대조군 단백질인 인간 VEGF, 인간 DR5, 인간 인슐린, 뉴트라비딘, 인간 IGF-1 또는 HGH에 대해 교차-반응성을 디스플레이하지 않았다 (도 21B 참조). 각 클론에 대한 억제 농도는 도 21B에 나타내었다.

[0802] 파지 ELISA를 이용하여, 모든 클론에 대하여 표적 항원과는 다른 6종의 항원 패널과 교차-반응하는 능력을 시험하였다. 파지는 상기한 바와 같은 96웰 포맷으로 생성되었고, 파지 상등액은 PBT 완충제 중에 3배 희석하였다. 희석된 파지 상등액을 인간 VEGF, HER2, 인간 DR5, 인간 인슐린, 뉴트라비딘, 인간 IGF-1, HGH 또는 BSA로 코팅된 플레이트에 옮기고, 1시간 동안 실온에서 완만하게 진탕시키며 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.05% 트윈 20을 포함하는 PBS로 세척하고, 30분 동안 양고추냉이 펌프시다제/항-M13 항체 접합체 (PT 완충제 중에 1:5000으로 희석) (파르마샤(Pharmacia))와 함께 인큐베이션시켰다. 상기 플레이트를 세척하고, 테트라메틸벤지딘 (TMB) 기질 (키르케가르드 앤드 페리 래버러토리즈(Kirkegaard and Perry Laboratories))로 발색시켜 1.0 M H₃PC₄로 켄칭시켰다. 450 nm에서의 흡광도를 분광학적으로 측정하였다. 약한 교차-반응성은 0.2 내지 2.0 사이의 신호로 정의하였고, 강한 교차-반응성은 약 2.0의 신호로 정의하였다. HER2 결합 클론에 대한 결과를 도 21B에 나타내었다. 도 25에 나타난 바와 같이, 단리된 SXH3 클론 중에서 S:R 클론이 평균적으로 가장 높은 비-특이적 결합 (ELISA 검정에서, 450 nm에서의 OD가 0.5 내지 0.6)을 디스플레이한 반면에 S:W, S:Y 및 S:F 클론은 각각 평균적으로 유사하게 낮은 수준의 비-특이적 결합 (ELISA 검정에서, 450 nm에서의 OD가 0 내지 0.1)을 디스플레이하였다.

[0803] 경쟁적 파지 ELISA를 이용하여, HER2-결합 파지-디스플레이된 Fab의 결합 친화도를 추정하였다. 파지는 상기한 바와 같은 96웰 포맷으로 생성되었고, 파지 상등액은 PBT 완충제 중에 계열 희석한 후에 HER2로 코팅된 플레이트에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.05% 트윈 20을 포함하는 PBS로 세척하고, 30분 동안 양고추냉이 펌프시다제/항-M13 항체 접합체 (PT 완충제 중에 1:5000으로 희석) (파르마샤)와 함께 인큐베이션시켰다. 상기 플레이트를 세척하고, 테트라메틸벤지딘 (TMB) 기질 (키르케가르드 앤드 페리 래버러토리즈)로 발색시켜 1.0 M H₃PO₄로 켄칭시켰다. 450 nm에서의 흡광도를 분광학적으로 측정하여 포화시 신호의 약 50%를 제공하는 파지 농도를 결정하였다. 포화에 미치지 못하는 고정된 농도의 파지를 PBT 완충제, 또는 250 nM HER2 내지 0.12 nM HER2의 HER2 단백질의 2배 계열 희석물을 함유하는 PBT 완충제 중에서 2배로 희석시켰다. 상기 혼합물을 1시간 동안 실온에서 완만하게 진탕시키며 인큐베이션하였다가 HER2로 코팅된 플레이트로 옮기고, 상기 플레이트를 15분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 상기한 바와 정확하게 동일하게 세척하고 처리하였다. 결합 친화도는 IC₅₀값 (고정화된 항원에 대한 파지 결합의 50%를 차단하는 항원의 농도로 정의됨)으로 추정하였다. 상기 결과를 도 21B에 나타내었다.

[0804] 실시예 6: Ser 및 Phe, Arg, Trp 또는 Tyr이 풍부한 CDR 잔기를 갖는 파지-디스플레이된 Fab 라이브러리의 구축

[0805] 실시예 1에서 이미 기재한 바와 같이, 파지-디스플레이된 Fab 라이브러리를 파지미드 벡터, Fab-C로 구축하여, Fab 중쇄 및 유전자-3의 소량 외피 단백질 (P3C)의 C-말단 도메인 사이에 유리 시스템이 삽입되어 이량체화된 2가 Fab 부분이 디스플레이되었다.

[0806] SFH3, SRH3, SWH3 및 SYH3의 4종의 라이브러리를 구축하였다. 상기 라이브러리는 모든 3개의 중쇄 CDR 및 경쇄 CDR3에서 무작위화 잔기를 갖도록 구축되었다. 각 라이브러리는 CDRL3의 위치 91 내지 위치 94 및 위치 96, CDRH1의 위치 28 및 위치 30 내지 위치 33, CDRH2의 위치 50, 위치 52 내지 위치 54, 위치 56 및 위치 58, 및 CDRH3의 위치 95 내지 위치 100, 위치 100a 내지 위치 100m에서 무작위화되었다. 각 무작위화 위치에서 허용된 아미노산의 유형 및 비율은 도 22에 기재되어 있다. 추가로, CDRH3의 길이는 위치 95 내지 위치 100의 6개 야생형 코돈을 4개 내지 17개 코돈으로 대체한 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 변화시켰다. 상기 위치에서 허용된 아미노산의 유형 및 비율은 도 22에서 CDRH3의 위치 95 내지 위치 100에 대하여 기재된 것들과 동일하다.

[0807] 쿤켈의 방법 [Kunkel, T. A., Roberts, J.D. & Zakour, R.A., Methods Enzymol. (1987), 154, 367-382] 및 이전에 기재된 방법 [Sidhu, S.S., Lowman, H.B., Cunningham, B. C. & Wells, J.A., Methods Enzymol.

(2000), 328, 333-363]을 이용하여 라이브러리를 구축하였다. 독특한 "정지 주형" 버전의 Fab 디스플레이 벡터 Fab-C를 사용하여 실시예 1에 기재한 바와 같은 4종의 라이브러리를 모두 생성하였다.

- [0808] 다양화될 위치에 동의성 코돈을 갖는 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타이드를 동시에 사용하여, (a) CDR 다양성을 도입하고 (b) 정지 코돈을 복구시켰다. 이러한 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타이드의 서열은 도 20 및 도 23에 나타내었다. 라이브러리 SF-표면의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 L3-SF, H1-SF 및 H2-SF 각각으로 CDR-L3, CDR-H1 및 CDR-H2에 다양성을 도입하였고 (서열 __) (도 23), 올리고뉴클레오타이드 H3-SF4, H3-SF5, H3-SF6, H3-SF7, H3-SF8, H3-SF9, H3-SF10, H3-SF11, H3-SF12, H3-SF13, H3-SF14, H3-SF15, H3-SF16 및 H3-SF17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 649 내지 서열 662) (도 20C).
- [0809] 라이브러리 SR-표면의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 L3-SR, H1-SR 및 H2-SR 각각으로 CDR-L3, CDR-H1 및 CDR-H2에 다양성을 도입하였고 (서열 __) (도 23), 올리고뉴클레오타이드 H3-SR4, H3-SR5, H3-SR6, H3-SR7, H3-SR8, H3-SR9, H3-SR10, H3-SR11, H3-SR12, H3-SR13, H3-SR14, H3-SR15, H3-SR16 및 H3-SR17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 733 내지 서열 746) (도 20I).
- [0810] 라이브러리 SW-표면의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 L3-SW, H1-SW 및 H2-SW 각각으로 CDR-L3, CDR-H1 및 CDR-H2에 다양성을 도입하였고 (서열 747 내지 서열 760) (도 23), 올리고뉴클레오타이드 H3-SW4, H3-SW5, H3-SW6, H3-SW7, H3-SW8, H3-SW9, H3-SW10, H3-SW11, H3-SW12, H3-SW13, H3-SW14, H3-SW15, H3-SW16 및 H3-SW17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 761 내지 서열 774) (도 20K).
- [0811] 라이브러리 SY-표면의 경우에는 올리고뉴클레오타이드 L3, H1 및 H2 각각으로 CDR-L3, CDR-H1 및 CDR-H2에 다양성을 도입하였고 (서열 __) (도 20A), 올리고뉴클레오타이드 H3-SY4, H3-SY5, H3-SY6, H3-SY7, H3-SY8, H3-SY9, H3-SY10, H3-SY11, H3-SY12, H3-SY13, H3-SY14, H3-SY15, H3-SY16 및 H3-SY17의 동물 혼합물로 CDR-H3에 다양성을 도입하였다 (서열 775 내지 서열 788) (도 20L).
- [0812] 무작위화될 모든 CDR에 대한 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타이드가 단일 돌연변이유발 반응으로 혼입되어, 모든 돌연변이유발성 올리고뉴클레오타이드의 동시 혼입은 디자인된 다양성을 각 위치에 도입시키고 모든 TAA 정지 코돈을 복구시켰다. 따라서, 단독이량체화 시스템인 브릿지 및 P3C에 융합된 Fab 라이브러리 구성원을 코딩하는 오픈 리딩 프레임이 생성되었다. 돌연변이유발 후에는, 4종의 라이브러리를 조합하여 라이브러리 SX-표면이라고 부르는 단일 라이브러리를 생성하였다.
- [0813] 돌연변이유발 반응물을 이. 콜라이 SS320 [Sidhu et al., 상기 문헌]으로 전기천공시켰다. 형질전환된 세포를 M13-K07 헬퍼 파지 (미국 매사추세츠주 베버리 소재의 뉴 잉글랜드 바이오랩스)의 존재하에 밤새 성장시켜서 파지미드 DNA를 캡슐화하고 Fab 단편을 그 표면에 디스플레이한 파지 입자를 생성하였다. 상기 조합된 라이브러리는 독특한 구성원을 3×10^{10} 개 초과로 함유하였다.
- [0814] **실시예 7: 천연 라이브러리 SX 표면으로부터의 특이적 항체의 선별**
- [0815] 라이브러리 SX-표면 (상기 실시예 6에서 기재함)으로부터의 파지를 수회의 결합 선별을 통해 증식시켜서 인간 HER2에 결합하는 클론을 풍부하게 하였다. 결합 선별은 이전에 기재된 방법 [Sidhu et al., 상기 문헌]을 이용하여 수행하였다.
- [0816] NUNC 96웰 맥시소프 면역플레이트를 밤새 4°C에서 5 μ g/mL 표적 단백질 (인간 HER2)로 코팅하고 2시간 동안 PBT 용액 (시그마)으로 차단시켰다. 37°C에서 밤새 성장시킨 후에, 이전에 기재된 바와 같이 [Sidhu et al., 상기 문헌] 파지를 PEG/NaCl로 침전시켜 농축시키고 PBT 중에 재현탁시켰다. 파지 용액 (약 10^{12} 개 파지/mL)을 상기 코팅된 면역플레이트에 가하였다. 2시간 동안 인큐베이션시켜서 파지 결합을 허용한 후, 상기 플레이트를 PBT로 10회 세척하였다. 결합된 파지를 0.1 M HCl로 10분 동안 용출시키고, 용출액은 1.0 M Tris 염기로 중화시켰다. 용출된 파지는 이. 콜라이 XL1-블루에서 증폭시켜 이후의 선별에 사용하였다.
- [0817] 상기 라이브러리에 대하여, 각 표적 단백질에 대해 6회의 선별을 실시하였다. 각 선별에서의 개개의 클론을 카르베니실린 및 M13-K07이 보충된 2YT 브로쓰 500 μ l 중에서 96웰 포맷으로 성장시켰다. 상기 배양 상등액을 파지 ELISA [Sidhu et al., 상기 문헌]에 바로 사용하여 표적 단백질로 코팅된 플레이트에는 결합하지만 BSA로 코팅된 플레이트에는 결합하지 않는 파지-디스플레이된 Fab를 검출하였다. 특이적 결합체는 BSA-코팅된 플레이트에 비해 표적-코팅된 플레이트에서 적어도 10배가 넘는 ELISA 신호를 나타내는 파지 클론으로 정의하였다. 인간 HER-2와의 결합에 대한 4회, 5회 및 6회의 선별 후에 개개의 클론을 스크리닝하였다. 특이적 결합체로 서열 분석을 행하였다. 도 24에 나타난 바와 같이, SX-표면 라이브러리는 표적 단백질에 대한 특이적 결합체를 생성

하였다.

[0818] HER-2에 특이적으로 결합된 것으로 확인된 81개의 클론 중에서 27개가 독특한 CDR 서열을 가졌다 (도 24A 참조). 상기 독특한 서열은 하기하는 2가지 카테고리에 속하였다: (a) 2원 Tyr/Ser으로 제한되는 무작위화 위치를 갖는 CDR 서열 (클론 번호 G49-61), (b) 2원 Trp/Ser으로 제한되는 무작위화 위치를 갖는 CDR 서열 (클론 번호 G29-48). Tyr/Ser 클론은 HER2에 대해 고도로 특이적이고, 5종의 다른 대조군 단백질인 인간 VEGF, 인간 DR5, 인간 인슐린, 뉴트라비딘, 인간 IGF-1 또는 HGH에 대해 교차-반응성을 디스플레이하지 않았다 (도 24B 참조). 그러나, Trp/Ser 클론 중 일부는 교차-반응성을 나타내었다 (도 24B 참조). 각 클론에 대한 억제 농도는 도 24B에 나타내었다.

[0819] 파지 ELISA를 이용하여, 모든 클론에 대하여 표적 항원과는 다른 6종의 항원 패널과 교차-반응하는 능력을 시험하였다. 파지는 상기한 바와 같은 96웰 포맷으로 생성되었고, 파지 상등액은 PBT 완충제 중에 3배 희석하였다. 희석된 파지 상등액을 인간 VEGF, HER2, 인간 DR5, 인간 인슐린, 뉴트라비딘, 인간 IGF-1, HGH 또는 BSA로 코팅된 플레이트에 옮기고, 1시간 동안 실온에서 완만하게 진탕시키며 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.05% 트윈 20을 포함하는 PBS로 세척하고, 30분 동안 양고추냉이 퍼옥시다제/항-M13 항체 접합체 (PT 완충제 중에 1:5000으로 희석) (파르마샤)와 함께 인큐베이션시켰다. 상기 플레이트를 세척하고, 테트라메틸벤지딘 (TMB) 기질 (키르케가르드 앤드 패리 래버러토리즈)로 발색시켜 1.0 M H₃PO₄로 켄칭시켰다. 450 nm에서의 흡광도를 분광학적으로 측정하였다. 약한 교차-반응성은 0.2 내지 2.0 사이의 신호로 정의하였고, 강한 교차-반응성은 2.0 초과 신호로 정의하였다. SX-표면 클론에 대한 결과를 도 24B에 나타내었다. 도 27에 나타낸 바와 같이, 단리된 SX-표면 클론 중에서 S:R 및 S:W 클론이 평균적으로 가장 높은 비-특이적 결합 (ELISA 검정에서, 450 nm에서의 OD가 각각 0.5 내지 0.6 및 대략 4.0)을 디스플레이한 반면에 S:Y 및 S:F 클론은 각각 평균적으로 유사하게 낮은 수준의 비-특이적 결합 (ELISA 검정에서, 450 nm에서의 OD가 0 내지 0.1)을 디스플레이하였다.

[0820] 경쟁적 파지 ELISA도 이용하여, HER2-결합 파지-디스플레이된 Fab의 결합 친화도를 추정하였다. 파지는 상기한 바와 같은 96웰 포맷으로 생성되었고, 파지 상등액은 PBT 완충제 중에 계열 희석한 후에 HER2로 코팅된 플레이트에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.05% 트윈 20을 포함하는 PBS로 세척하고, 30분 동안 양고추냉이 퍼옥시다제/항-M13 항체 접합체 (PT 완충제 중에 1:5000으로 희석) (파르마샤)와 함께 인큐베이션시켰다. 상기 플레이트를 세척하고, 테트라메틸벤지딘 (TMB) 기질 (키르케가르드 앤드 패리 래버러토리즈)로 발색시켜 1.0 M H₃PO₄로 켄칭시켰다. 450 nm에서의 흡광도를 분광학적으로 측정하여 포화시 신호의 약 50%를 제공하는 파지 농도를 결정하였다. 포화에 미치지 못하는 고정된 농도의 파지를 PBT 완충제, 또는 250 nM HER2 내지 0.12 nM HER2의 HER2 단백질의 2배 계열 희석물을 함유하는 PBT 완충제 중에서 2배로 희석시켰다. 상기 혼합물을 1시간 동안 실온에서 완만하게 진탕시키며 인큐베이션하였다가 HER2로 코팅된 플레이트로 옮기고, 상기 플레이트를 15분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 상기한 바와 정확하게 동일하게 세척하고 처리하였다. 결합 친화도는 IC₅₀값 (고정화된 항원에 대한 파지 결합의 50%를 차단하는 항원의 농도로 정의됨)으로 추정하였다. 상기 결과를 도 24B에 나타내었다.

[0821] 이러한 분석, SXH3 라이브러리 (실시예 6) 및 YSGR-A-D 라이브러리 (실시예 1)로부터의 HER2-결합 클론의 분석을 기초로 하여, 3개 클론 (클론 번호 42 (YSGR-A) 및 B11 (SXH3) 및 G54 (SX-표면))으로부터의 가용성 Fab 단백질을 정제하고 인간 HER2에 대한 결합의 표면 플라즈몬 공명 분석을 실시하였다. BIAcore[®] 데이터는 문헌 [Chen et al., J. Mol. Biol. (1999), 293(4):865-81]에 따라 획득하였다. 간략하게 설명하면, 인간 HER2에 대한 정제된 Fab의 결합 친화도는 BIAcore[®]-A100 표면 플라즈몬 공명 시스템 (미국 뉴저지주 피스카타웨이 소재의 비아코어, 인크.(BIACORE, Inc.))를 이용하여 측정한 결합 및 해리 속도 상수로부터 계산하였다. HER2를 공급업체 (미국 뉴저지주 피스카타웨이 소재의 비아코어, 인크.)의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보다이미드 히드로클로라이드 (EDC) 및 N-히드록시수신이미드 (NHS)를 사용하여 2가지 다른 농도로 바이오센서 칩에 공유 결합으로 커플링시켰다. HER2를 10 mM 아세트산나트륨 (pH 5.0)으로 완충제-교환하고, 대략 2.5 또는 5.0 µg/mL로 희석하였다. HER2의 분취액을 5 µl/분의 유속으로 주입하여 커플링된 단백질의 대략 50 내지 170의 반응 단위 (Response Unit, RU)를 달성하였다. 1 M 에탄올아민 용액을 차단제로서 주입하였다. 역학적 측정을 위해서, 각 Fab의 2배 계열 희석물을 HBT 중에 25°C에서 10 µl/분의 유속으로 각 유동 세포에 주입하였다. BIA평가 소프트웨어 패키지 (미국 뉴저지주 피스카타웨이 소재의 비아코어, 인크.)를 사용하여 2-스팟 글로벌 핏팅을 사용하고 2가지 모두의 유동 세포로부터의 데이터를 조합하여, k_{on}값 및 k_{off}값을 결합 곡선으로부터 결정하였다. 평형 해리 상수, K_D는 k_{off}/k_{on}으로 계산하였다.

BIAcore® 데이터는 도 26A 및 도 26B에 요약되어 있다. 클론 B11은 k_a 가 $1.9 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 이었고, k_d 가 $1.7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이었으며, K_D 가 890 pM이었다. 클론 B11 실험에 대한 $R_{\max 1}$ 은 19 RU이었고, 클론 B11 실험에 대한 $R_{\max 2}$ 는 29 RU이었다 (도 26A). 클론 G54는 k_a 가 $2.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 이었고, k_d 가 $2.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이었으며, K_D 가 11 nM이었다. 클론 G54 실험에 대한 $R_{\max 1}$ 은 21 RU이었고, 클론 G54 실험에 대한 $R_{\max 2}$ 는 34 RU이었다 (도 26A). 클론 YSGR-A-42는 k_a 가 $2.7 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 이었고, k_d 가 $1.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이었으며, K_D 가 570 pM이었다. 클론 42 실험에 대한 $R_{\max 1}$ 은 25 RU이었고, 클론 42 실험에 대한 $R_{\max 2}$ 는 38 RU이었다 (도 26B). 트립토판-함유 클론 (B11)은 티로신-함유 클론 (G54)보다 k_{on} 이 더 신속하였고, 이에 상응하게 K_D 는 더 작았다.

[0822] 항-HER2 항체가 포유동물 세포에서 발현된 HER2에 결합하는 것을 연구하기 위해서, 클론 42 (YSGR-A), B11 (SXH3), G54 (SX-표면) 및 G37 (SX-표면)의 정제된 Fab 단백질이 HER2를 과다발현하는 NR6 섬유아세포에 결합하는 것을 유동 세포 계측으로 연구하였다. 백만개의 NR6-HER2 세포를 10 $\mu\text{g/mL}$ Fab와 함께 1시간 동안 인큐베이션한 후에 Alexa488-접합된 뮤린 항-인간 IgG 항체와 함께 1시간 동안 인큐베이션하였다. 음성 대조군으로서, 발현하지 않는 NR6 세포에 대한 Fab 결합을 연구하였다. 양성 대조군으로는 4D5 Fab를 사용하였다. 도 27에서 입증된 바와 같이, 클론 42, B11, G54 및 G37은 NR6 세포상의 Her2에 특이적으로 결합한다.

[0823] 경쟁적 ELISA를 이용하여 헤르셉틴 및 옴니타그 및 IgG 포맷의 여러가지 HER2 클론 사이의 결합 경쟁을 시험하였다 (관련 클론의 CDR 서열에 관해서는 도 28 참조). 바이오티닐화 HER2 단백질을 PBT 완충제 중에 200 nM에서 0.39 nM까지 계열 희석한 후에 정제된 IgG 단백질로 코팅된 플레이트에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 0.05% 트윈 20을 포함하는 PBS로 세척하고, 30분 동안 양고추냉이 퍼옥시다제/항-M13 항체 접합체 (PT 완충제 중에 1:5000으로 희석) (파르마사)와 함께 30분 동안 인큐베이션시켰다. 상기 플레이트를 세척하고, 테트라메틸벤지딘 (TMB) 기질 (키르케가르드 앤드 패리 래버러토리즈)로 발색시켜 1.0 M H_3PO_4 로 쉼팅시켰다. 450 nm에서의 흡광도를 분광학적으로 측정하여 포화시 신호의 약 50%를 제공하는 바이오티닐화 HER2 농도를 결정하였다. 포화에 미치지 못하는 고정된 농도의 바이오티닐화 HER2를 PBT 완충제, 또는 100 nM의 정제된 IgG 단백질을 함유하는 PBT 완충제 중에서 2배로 희석시켰다. 상기 혼합물을 1시간 동안 실온에서 완만하게 진탕시키며 인큐베이션하였다가 IgG 단백질로 코팅된 플레이트로 옮기고, 상기 플레이트를 15분 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 상기한 바와 같이 세척하고 처리하였다. 도 29에 나타난 바와 같이, HER2 -결합 IgG 중 어느 것도 옴니타그 또는 헤르셉틴에 바이오티닐화 HER2가 결합하는 것을 차단하지 못하였다. IgG는 2개 군에서 서로와의 결합을 차단하였다. 클론 B11, G37, G54 및 YSGR-A-42로 이루어진 한 군은 동일 에피토프에 대하여 경쟁하고 이들 클론 중 임의의 것과 미리 인큐베이션시켜 둔 바이오티닐화 HER2에 대한 결합을 차단하였다. 클론 YSGR-A-27, B27, G43 및 YSGR-D-104로 이루어진 두번째 군은 HER2상의 동일 에피토프에 대하여 경쟁하고 바이오티닐화 HER2에 대한 결합을 차단하였다. 첫번째 군의 클론은 모두가 2번째 군의 클론보다 더 높은 친화도의 결합제이다.

[0824] 본원에서 인용한 모든 간행물 (특허 및 특허 출원서 포함)은 그 전문이 참고로 본원에 포함된다.

표 1

인간 DR5-ECD 폴리펩티드

MSALLILALVGAADVADYKDDDDKLSALITQQDLAPQQRVAPQQRSSPSEG
LCPPGHHIS
EDGRDCISCKYQDYSTHWNDLLFCLRCTRCDSGEVELSPCTTTRNTVCQC
EEGTFREED
SPEMCRKCRGTGCPGRGMVKVGDCTPWSDIECVHKESGTHKSGEAPAVEETVT
SSPGTPASP
CSLS (서열 595)

인간 DR5 폴리펩티드

meqrqgnapa asgarkrhgp gpreargarp glrvpktivl vvaavllivs aesalitqqd lapqqrappq
qkrsspsagl cppghised grdciscyk qdysthwndll fclretrod sgevelspct ttrntvcqce
egtfreedsp emerkertgc prgmvkvgdc tpwsdiecvh kesgiiigt vaavvlivav fvckslwkk
vipylkgics ggggdpervd rssqrpgaed nvineivsil qptqvpeqem evqepaepgt vnumlspgese
hllepaeae srtrllvpa negdptetlr qcfdadfadlv pfdsweplmr klglmdneik vakaeaaghr
dtlytmlikw vnktrgrdasv htllidaletl gerlakqkie dhllssgkfm
ylegnadsal s (서열 604)

류틴 DR5 ECD

GLQRPEESPSPRGPCLAGQYLSEGNCKPCREGIDYTSHSNHSLDSCILCTVCKE
DKVVETR
CNITNTVCRCKPGTFEDKDSPEICQSCSNCTDGEBELTSCPTPRENRKCVSKT
AWASWHK
(서열 605)

Apo-2L 폴리펩티드 서열

1 MetAlaMetMetGluValGlnGlyGlyProSerLeuGlyGlnThrCysValLeuIleValIle
PheThrValLeuLeuGlnSerLeuCys
31 ValAlaValThrTyrValTyrPheThrAsnGluLeuLysGlnMetGlnAspLysTyrSerLy
sSerGlyIleAlaCysPheLeuLysGlu
61 AspAspSerTyrTrpAspProAsnAspGluGluSerMetAsnSerProCysTrpGlnValLy
sTrpGlnLeuArgGlnLeuValArgLys
91 MetIleLeuArgThrSerGluGluThrIleSerThrValGlnGluLysGlnGlnAsnIleSerPr
oLeuValArgGluArgGlyProGln
121 ArgValAlaAlaHisIleThrGlyThrArgGlyArgSerAsnThrLeuSerSerProAsnSerL
ysAsnGluLysAlaLeuGlyArgLys
151 IleAsnSerTrpGluSerSerArgSerGlyHisSerPheLeuSerAsnLeuHisLeuArgAsn
GlyGluLeuValIleHisGluLysGly
181 PheTyrTyrIleTyrSerGlnThrTyrPheArgPheGlnGluGluIleLysGluAsnThrLysA
snAspLysGlnMetValGlnTyrIle
211 TyrLysTyrThrSerTyrProAspProIleLeuLeuMetLysSerAlaArgAsnSerCysTrp
SerLysAspAlaGluTyrGlyLeuTyr
241 SerIleTyrGlnGlyGlyIlePheGluLeuLysGluAsnAspArgIlePheValSerValThrA
snGluHisLeuIleAspMetAspHis
271 GluAlaSerPhePheGlyAlaPheLeuValGly (서열 606)

아미노산 114 내지 281의 Apo-2L 서열

VRERGPQ RVA AHITGTRGRS NTLSSPNSKN EKALGRKINS WESSRSGHSF
LSNLHLRNGE LVIHEKGFY YISQTYFRFQ EEIKENTKND KQMVQYTYKY
TSYPDPILM KSARNCSWSK DAEGLYSTY QGGIFELKEN DRIFVSVTNE
HLIDMDHEAS FFGAFLVG (서열 607)

도면의 간단한 설명

- [0359] 도 1은 4D5 경쇄 및 중쇄 가변 도메인의 서열을 나타낸다 (각각, 서열 1 및 2).
- [0360] 도 2는 인접한 패치를 형성하는 CDR 잔기를 보여주는 인간화 4D5의 3-D 모델 구조를 도시하고 있다. 인접한 패치는 CDRL1의 아미노산 잔기 28, 29, 30, 31 및 32; CDRL2의 아미노산 잔기 50 및 53; CDRL3의 아미노산 잔기 91, 92, 93, 94 및 96; CDRH1의 아미노산 잔기 28, 30, 31, 32, 33; 및 CDRH2의 아미노산 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58에 의해 형성된다.
- [0361] 도 3은 Kabat 데이터베이스로부터의 인간 항체 경쇄 CDR 서열에서의 아미노산의 빈도 (단일 문자 코드에 의해 확인됨)를 보여주고 있다. 특정 아미노산 위치에서 각각의 아미노산의 빈도는 왼쪽에서 해당 위치에서 가장 빈도가 높은 아미노산으로 출발하여 오른쪽으로 가면서 가장 빈도수가 낮은 아미노산으로 나타내었다. 아미노산 아래의 숫자는 해당 위치에서 해당 아미노산을 갖는 Kabat 데이터베이스에서의 자연 발생 서열의 개수를 나타낸다.
- [0362] 도 4는 Kabat 데이터베이스로부터의 인간 항체 중쇄 CDR 서열에서의 아미노산의 빈도 (단일 문자 코드에 의해 확인됨)를 보여주고 있다. 특정 아미노산 위치에서 각각의 아미노산의 빈도는 왼쪽에서 해당 위치에서 가장 빈도가 높은 아미노산으로 출발하여 오른쪽으로 가면서 가장 빈도수가 낮은 아미노산으로 나타내었다. 아미노산 아래의 숫자는 해당 위치에서 해당 아미노산을 갖는 Kabat 데이터베이스에서의 자연 발생 서열의 개수를 나타낸다. 프레임워크 아미노산 위치 71, 93 및 94도 나타내었다.
- [0363] 도 5는 F(ab)₂의 디스플레이를 위한 독립적인 전사체의 발현을 허용하는 이중시스트론(bicistron) 벡터를 개략적으로 도시하고 있다. 적합한 프로모터는 제1 및 제2 시스트론의 발현을 유도한다. 제1 시스트론은 분비 신호 서열 (malE 또는 stII), 경쇄 가변 및 불변 도메인 및 gD 태그를 코딩한다. 제2 시스트론은 분비 신호, 중쇄 가변 도메인 및 불변 도메인 1 (CH1) 및 시스테인 이량체화 도메인을 코딩하는 서열 및 적어도 바이러스 외피 단백질의 일부를 코딩한다.
- [0364] 도 6은 huMAb4D5-8 경쇄 및 중쇄의 프레임워크 영역 서열을 도시하고 있다. 위첨자/볼드체의 숫자는 Kabat에 따른 아미노산 위치를 나타낸다.
- [0365] 도 7은 huMAb4D5-8 경쇄 및 중쇄의 변형된/변이체 프레임워크 영역 서열을 도시하고 있다. 위첨자/볼드체의 숫자는 Kabat에 따른 아미노산 위치를 나타낸다.
- [0366] 도 8은 실시예 1에 기재된 바와 같은, YSGR-A, YSGR-B, YSGR-C 및 YSGR-D 라이브러리에서 각각의 다양화된 CDR 위치에 대한 무작위화 계획을 보여주고 있다.
- [0367] 도 9A 내지 9D는 실시예 3에 기재된 바와 같은 YSGR-A, YSGR-B, YSGR-C 및 YSGR-D 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드를 보여주고 있다. 등물의 DNA 동의성은 코돈 세트 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, N = A/C/G/T, R = A/G, S = G/C, Y = T/C)로 나타내었다. 코돈 세트는 IUB 코드로 나타내었다. H3-A6-H3-A17 올리고뉴클레오타이드에서의 기호 "XXX"는 각각 50/25/25의 몰비에서 Tyr/Ser/Gly-코딩 코돈을 나타낸다. H3-B6-H3-B17 올리고뉴클레오타이드에서의 기호 "XXX"는 각각 25/50/25의 몰비에서 Tyr/Ser/Arg-코딩 코돈을 나타낸다. H3-C6-H3-C17 올리고뉴클레오타이드에서의 기호 "XXX"는 각각 38/25/25/12의 몰비에서 Tyr/Ser/Gly/Arg-코딩 코돈을 나타낸다. H3-D6 내지 H3-D17 올리고뉴클레오타이드에서의 "XXX"는 각각 20/26/26/13/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1의 몰비에서 Tyr/Ser/Gly/Arg/Ala/Asp/Glu/Phe/His/Ile/Lys/Leu/Met/Asn/Pro/Gln/Thr/Val/Trp-코딩 코돈을 나타낸다.
- [0368] 도 10은 실시예 2에 기재된 바와 같은 인간 DR5 또는 인간 HER-2에 대한 선별 과정을 5회 수행한 후에 라이브러리 YSGR-A-D에서의 풍부화 비율을 나타낸다. 숫자는 X/Y로 나타냈으며, 여기서 X는 독특한 클론의 개수를 나타내고, Y는 인간 DR5 또는 인간 HER-2에 특이적으로 결합하는 클론의 개수를 나타낸다. 특이적 클론은 소 혈청 알부민 (BSA)에 대한 결합보다 적어도 10배가 넘는 (450 nm에서 판독한 ELISA 신호에 기초함) 인간 DR5 또는 인간 HER-2에 대한 결합을 나타내는 것으로 확인한다.
- [0369] 도 11A는 인간 HER-2에 결합하는 106개 클론에 대한 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3의 서열을 나타낸다. 도 11B는 도 11A에 열거된 각각의 클론에 대한 ELISA 검정 결과는 나타낸다. 볼드체의 숫자는 강한 결합을 나타낸다 (2 내지 10의 신호)
- [0370] 도 12는 실시예 2에 기재된 바와 같은 YSGR-A-D 라이브러리로부터 단리된 짧은 (예를 들면, 6 내지 7개 잔기) CDRH3 영역을 갖는 인간 HER-2에 특이적인 결합체로부터의 CDRL3, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대한 아미노산 서열을 나타낸다. 컨센서스 서열은 CDRL3, CDRH1 및 CDRH2에 대해 나타내었다 (클론 번호는 도 11에 나타난 번호

에 상응함).

- [0371] 도 13은 실시예 2에 기재된 바와 같은 YSGR-A-D 라이브러리로부터 단리된 8개의 아미노산을 갖는 CDRH3을 갖는 인간 HER-2에 특이적인 결합제로부터의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대한 아미노산 서열을 나타낸다. 컨센서스 서열은 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대해 나타내었다 (클론 번호 1 내지 19는 각각 도 11에의 클론 번호 17, 97, 18, 19, 98, 99, 100, 20, 21, 22, 23, 24, 101, 102, 25, 103, 26, 27 및 28에 상응함).
- [0372] 도 14는 실시예 2에 기재된 바와 같은 YSGR-A-D 라이브러리로부터 단리된 중간 길이의 CDRH3 영역 (예를 들면, 약 12 내지 14개 아미노산)을 갖는 인간 HER-2에 특이적인 결합제로부터의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대한 아미노산 서열을 나타낸다. 컨센서스 서열은 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대해 나타내었다. 컨센서스 서열은 CDRH3 서열의 일부를 2개의 아미노산을 넘어 이동시켜 CDRH3 서열이 위치 95에서 보다 위치 97에서 출발하도록 함으로써 CDRH3에 대해 결정하였다.
- [0373] 도 15는 인간 DR5에 대한 결합제의 CDRL3, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 서열, 및 인간 DR5에 대한 결합제의 일부에 대한 IC50을 나타낸다.
- [0374] 도 16은 실시예 2에 기재된 바와 같은 YSGR-A-D 라이브러리로부터 단리된 인간 DR5에 대해 특이적인 결합제로부터의 CDRL3, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대한 아미노산 서열을 나타낸다. 인간 DR5에 대한 결합을 위한 클론의 IC50을 나타내었다. 뮤린 DR5와 교차 반응하는 클론도 또한 확인되었다. 컨센서스 서열은 CDRL3, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대해 나타내었다 (클론 번호 1 내지 11은 도 15의 클론 번호 10, 11, 12, 8, 7, 13, 5, 9, 6, 15 및 14에 상응함).
- [0375] 도 17은 YSGR-A-D 라이브러리로부터 단리된 인간 DR5에 대해 특이적인 결합제에 관한 결합 곡선을 나타낸다. 특이적인 결합제 중 일부는 또한 뮤린 DR-5에 결합한다.
- [0376] 도 18은 Apo-2L 리간드, YSD1 항체 및 BFD1 항체가 DR5 수용체에 결합하는 위치는 보여주는 3D 모델을 도시하고 있다. 항체의 결합 영역은 서로 중첩된다. 항체의 결합 부위는 Apo-2L 리간드의 결합 부위의 대부분의 잔기로부터 구별된다.
- [0377] 도 19A 및 19B는 실시예 4에 기재된 바와 같은 2원 H3 라이브러리 (SAH3, SCH3, SFH3, SGH3, SIH3, SLH3, SNH3, SPH3, SRH3, STH3, SWH3 및 SYH3)에서의 각각의 다양화된 CDR 위치에 대한 무작위화 계획을 나타낸다. 표시된 아미노산 위치는 Kabat에 따라 번호를 지정하였다.
- [0378] 도 20A 내지 20L은 실시예 4에 기재된 바와 같은 2원 H3 라이브러리 (SAH3 (도 20A), SCH3 (도 20B), SFH3 (도 20C), SGH3 (도 20D), SIH3 (도 20E), SLH3 (도 20F), SNH3 (도 20G), SPH3 (도 20H), SRH3 (도 20I), STH3 (도 20J), SWH3 (도 20K) 및 SYH3 (도 20L))의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오티드를 나타낸다 (서열 618-788). 등물의 DNA 동의성은 코돈 세트 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, N = A/C/G/T, R = A/G, S = G/C, Y = T/C)로 나타내었다. 코돈 세트는 IUB 코드로 나타내었다.
- [0379] 도 21A는 실시예 5에 기재된 바와 같은 풀링 2원 H3 라이브러리 (SXH3)로부터 단리된 HER2에 특이적인 결합제로부터의 CDRL3, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대한 아미노산 서열을 나타낸다 (서열 789-896). 도 21B는 도 21A에 열거한 각각의 클론에 대한 ELISA 검정 결과를 나타낸다. 어두운 음영 부분은 강한 결합을 나타낸다 (2 내지 10의 신호).
- [0380] 도 22는 실시예 6에 기재된 바와 같은 2원 표면 라이브러리 (SY, SW, SR 및 SF)에서의 각각의 다양화된 CDR 위치에 대한 무작위화 계획을 나타낸다. 표시된 아미노산 위치는 Kabat에 따라 번호를 지정하였다.
- [0381] 도 23은 실시예 6에 기재된 바와 같은 특정 2원 표면 라이브러리 (SW, SR 및 SF)의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오티드를 나타낸다 (서열 1005-1013). 등물의 DNA 동의성은 코돈 세트 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, N = A/C/G/T, R = A/G, S = G/C, Y = T/C)로 나타내었다. 코돈 세트는 IUB 코드로 나타내었다.
- [0382] 도 24A는 실시예 8에 기재된 바와 같은 풀링 표면 2원 라이브러리 (SX-표면)로부터 단리된 HER2에 특이적인 결합제로부터의 CDRL3, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에 대한 아미노산 서열을 나타낸다 (서열 897-1004). 도 24B는 도 24A에 열거된 각각의 클론에 대한 ELISA 검정 결과를 나타낸다. 어두운 음영 부분은 강한 결합을 나타내고 (2 내지 10의 신호), 밝은 음영 부분은 약한 결합을 나타낸다 (0.25 내지 2의 신호).
- [0383] 도 25는 본원에서 2원 SXH3 라이브러리 또는 2원 SX-표면 라이브러리로부터 수득한 상이한 2원 아미노산 조합 (Ser:Tyr, Ser:Trp, Ser:Arg 또는 Ser:Phe)을 함유하는 Fab의 특이성을 그래프로 도시하고 있다.

- [0384] 도 26A 및 26B는 3 가지 HER2-결합 클론 (클론 B11, 클론 G54 및 클론 YSGR-A-42)으로부터 고정화된 HER2까지 가용성 Fab 단백질의 표면 플라즈몬 공명 결합 분석을 나타낸다. 클론 B11은 $1.9 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 k_a , $1.7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 의 k_d 및 890 pM의 K_D 를 갖는다. 클론 G54는 $2.0 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 k_a , $2.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 의 k_d 및 11 nM의 K_D 를 갖는다. 클론 YSGR-A-42는 $2.7 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 의 k_a , $1.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 의 k_d 및 570 pM의 K_D 를 갖는다.
- [0385] 도 27은 실시예 7에 기재된 바와 같은 각각의 YSGR (클론 A-42), SX-표면 (클론 G37 및 G54) 및 SXH3 라이브러리 (클론 B11)로부터 NR6 또는 H2NR6-4D5 세포까지로부터 단리된 항-HER2 fab의 결합에 대한 유세포측정 분석 결과를 나타낸다.
- [0386] 도 28은 HER2-결합 IgG B11, G37, G54, YSGR-A-42, YSGR-A-27, B27, G43 및 YSGR-D-104 각각에 대한 CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 CDRL3에 대한 서열을 나타낸다. 도 28은 또한 각 클론의 Fab 버전에 대한 IC50을 나타낸다.
- [0387] 도 29는 옴니타그, 헤르셉틴, 및 각각의 다른 IgG를 갖는 HER2에 대한 결합과 경쟁하는 지정된 HER2-특이적 IgG 각각의 능력을 결정하기 위한 실시예 7에 기재된 경쟁적 결합 검정의 결과를 나타낸다.
- [0388] 본 발명의 수행 방식
- [0389] 본 발명은 CDR 서열 (항체 가변 도메인 서열 포함)을 다양화시키는 신규하고 비통상적이며 매우 간소화되고 유연한 방법, 및 다중도, 일반적으로는 매우 큰 다중도를 갖는 다양화된 CDR (항체 가변 도메인 서열 포함)을 포함하는 라이브러리를 제공한다. 이러한 라이브러리는 예를 들면 결합 친화도 및 화합력과 같은 바람직한 활성을 갖는 합성 항체 클론에 대한 선별 및/또는 스크리닝에 유용한 조합 라이브러리를 제공한다. 이들 라이브러리는 임의의 매우 다양한 표적 항원과 상호작용할 수 있는 이뮤노글로불린 폴리펩티드 서열을 확인하는데 유용하다. 예를 들면, 파지 디스플레이로 발현되는 본 발명의 다양화된 이뮤노글로불린 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리는 관심있는 항원 결합 분자를 선별 및/또는 스크리닝하는, 고처리량의 효율적인 자동 시스템에 특히 유용하고, 이를 제공한다. 본 발명의 방법은 공급원 또는 주형 분자를 최소로 변화시키면서 표적 항원에 대해 고친화도로 결합하는 결합체를 제공하고, 항체 또는 항원 결합 단편이 세포 배양물에서 생성되는 경우에 양호한 생성 수율을 제공하도록 디자인된다.
- [0390] 본 발명의 방법 및 조성물은 다수의 추가의 이점을 제공한다. 예를 들면, 한정된 수의 아미노산을 코딩하는 코돈 세트를 사용하여 (최대 수의 아미노산을 코딩하는 코돈 세트를 사용하는 통상적인 접근법에 반대임) 비교적 간단한 변이체 CDR 서열을 생성할 수 있으나, 이는 여전히 독특한 표적 결합 서열의 충분한 다양성을 보유하고 있다. 본 발명에 따라 생성된 서열 집단의 간소화 특성 (및 일반적으로는 비교적 보다 작은 크기)은 집단 또는 이들의 아집단이 원하는 특성을 보유하는 것으로 확인되면 추가로 다양화되도록 한다.
- [0391] 본 발명의 방법에 의해 수득한 표적 항원 결합체의 서열의 간소화 특성은 개별화된 추가의 서열 변형을 위해 유의하게 큰 공간을 남겨두어 원하는 결과를 달성한다. 예를 들어, 이러한 서열 변형은 보통 친화도 성숙, 인간화 등에서 수행된다. 오직 한정된 수의 아미노산을 코딩하는 한정된 코돈 세트에 대한 다양화에 기초하여, 상이한 한정된 코돈 세트를 사용하여 상이한 에피토프를 표적화함으로써 실시자에게 최대 수의 아미노산에 기초한 무작위화에 비해 다양화 접근법의 보다 큰 대조군을 제공할 수 있다. 한정된 코돈 세트를 사용하는 추가의 이점은 바람직하지 않은 아미노산, 예를 들면 메티오닌 또는 정지 코돈을 과정에서 제거하여 라이브러리의 전체적인 품질 및 생산성을 개선시킬 수 있다는 점이다. 또한, 일부 경우에, 잠재적 결합체의 형태적 다양성을 제한하는 것이 바람직할 수 있다. 본 발명의 방법 및 조성물은 상기 목적을 달성하기 위한 유연성을 제공한다. 예를 들어, 서열 내의 특정 아미노산, 예컨대 티로신의 존재는 보다 적은 회전 형태를 생성한다.
- [0392] 정의
- [0393] 아미노산은 본원에서 단일 문자 코드 또는 3 가지 문자 코드 또는 이 둘 모두로 나타낸다.
- [0394] 용어 "친화도 정제"는 분자가 상대 잔기에 결합되거나 또는 유인된 상태로 불순물로부터 분리되도록 하는 조合物 또는 복합체를 형성하는 화학적 또는 결합 상태에 대한 분자의 특이적 유인 또는 결합에 기초하여 분자를 정제하는 것을 의미한다.
- [0395] 용어 "항체"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 특히 단일 모노클로날 항체 (효능제 및 길항제 항체 포함), 다중에피토프 특이성을 갖는 항체 조성물, 친화도 성숙 항체, 인간화 항체, 키메라 항체, 뿐만 아니라 원하는 생물학적 활성을 나타내는 한 항원 결합 단편 (예를 들어, Fab, F(ab')₂, scFv 및 Fv)도 포함한다. 한 실시양태에서,

용어 "항체"는 또한 인간 항체를 포함한다. 본원에 사용된 "항체 가변 도메인"은 상보성 결정 영역 (CDR; 즉 CDR1, CDR2 및 CDR3) 및 프레임워크 영역 (FR)의 아미노산 서열을 포함하는 항체 분자의 경쇄 및 중쇄의 일부를 나타낸다. V_H 는 중쇄의 가변 도메인을 나타낸다. V_L 는 경쇄의 가변 도메인을 나타낸다. 본 발명에 사용되는 조성물 및 방법에 따라, CDR 및 FR에 배치된 아미노산 위치는 Kabat (문헌 [Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 and 1991)])에 따라 지정될 수 있다. 항체 또는 항원 결합 단편의 아미노산 번호지정은 또한 Kabat의 번호지정에 따른다.

[0396] 본원에 사용된 용어 "상보성 결정 영역" (CDR; 즉 CDR1, CDR2 및 CDR3)은 항원 결합에 존재할 필요가 있는 항체 가변 도메인의 아미노산 서열을 나타낸다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 CDR1, CDR2 및 CDR3으로 확인된 3가지 CDR 영역을 갖는다. 각각의 상보성 결정 영역은 Kabat에 의해 지정된 "상보성 결정 영역"으로부터의 아미노산 잔기 (즉, 경쇄 가변 도메인에서의 약 잔기 24-34 (L1), 50-56 (L2) 및 89-97 (L3) 및 중쇄 가변 도메인에서의 약 잔기 31-35 (H1), 50-65 (H2) 및 95-102 (H3); 문헌 [Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)]) 및/또는 "초가변 루프"로부터의 아미노산 잔기 (즉, 경쇄 가변 도메인에서의 약 잔기 26-32 (L1), 50-52 (L2) 및 91-96 (L3) 및 중쇄 가변 도메인에서의 약 잔기 26-32 (H1), 53-55 (H2) 및 96-101 (H3); 문헌 [Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)])를 포함할 수 있다. 일부 경우에, 상보성 결정 영역은 Kabat에 따라 지정된 CDR 영역 및 초가변 루프 둘 모두로부터의 아미노산을 포함할 수 있다. 예를 들어, 항체 4D5의 중쇄의 CDRH1은 아미노산 26 내지 35를 포함한다. 4D5 항체에서 CDRL1에 대한 컨센서스 서열 (Kabat 정의에 따름)은 R-A-S-Q-D-V-N-T-A-V-A (서열 29)이다. 4D5 항체에서 CDRL2에 대한 컨센서스 서열 (Kabat 정의에 따름)은 S-A-S-S-L-Y-S (서열 30)이다.

[0397] "프레임워크 영역" (이하, "FR")은 CDR 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다. 각각의 가변 도메인은 전형적으로 FR1, FR2, FR3 및 FR4로 확인된 4개의 FR을 갖는다. CDR이 Kabat에 따라 정의된 경우, 경쇄 FR 잔기는 약 잔기 1-23 (LCFR1), 35-49 (LCFR2), 57-88 (LCFR3) 및 98-107 (LCFR4)에 위치하고, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기에서 약 잔기 1-30 (HCFR1), 36-49 (HCFR2), 66-94 (HCFR3) 및 103-113 (HCFR4)에 위치한다. CDR이 초가변 루프로부터의 아미노산 잔기를 포함하는 경우, 경쇄 FR 잔기는 경쇄에서 약 잔기 1-25 (LCFR1), 33-49 (LCFR2), 53-90 (LCFR3) 및 97-107 (LCFR4)에 위치하고, 중쇄 FR 잔기는 중쇄 잔기에서 약 잔기 1-25 (HCFR1), 33-52 (HCFR2), 56-95 (HCFR3) 및 102-113 (HCFR4)에 위치한다. 일부 경우에, CDR이 Kabat에 의해 지정된 CDR 및 초가변 루프 둘 모두로부터의 아미노산을 포함하는 경우, FR 잔기는 이에 따라 조정될 수 있다. 예를 들어, CDRH1이 아미노산 H26-H35를 포함하는 경우, 중쇄 FR1 잔기는 위치 1-25에 있고, FR2 잔기는 위치 36-49에 있다.

[0398] 본원에 사용된 "코돈 세트"는 원하는 변이체 아미노산을 코딩하는데 사용되는 상이한 뉴클레오타이드 트리플렛 서열의 세트를 나타낸다. 코돈 세트에 의해 제공되는 뉴클레오타이드 트리플렛의 모든 가능한 조합을 나타내며 아미노산의 원하는 군을 코딩하게 될 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드의 세트는 예를 들면 고상 합성에 의해 합성될 수 있다. 코돈 디자인의 한 표준 형태는 IUB 코드 형태로, 이는 당업계에 공지되어 있으며 본원에 기재되어 있다. 코돈 세트는 전형적으로 이텔릭체의 3가지 대문자, 예를 들어 *NNK*, *NNS*, *XYZ*, *DVK* 등으로 나타낸다. 특정 위치에서 선택된 뉴클레오타이드 "동시성"을 갖는 올리고뉴클레오타이드의 합성은 당업계에 공지되어 있다 (예를 들면, TRIM 접근법 (문헌 [Knappek et al.; J. Mol. Biol. (1999), 296:57-86]; [Garrard & Henner, Gene (1993), 128:103])). 특정 코돈 세트를 갖는 올리고뉴클레오타이드의 이러한 세트는 시판되는 핵산 합성 장치 (예를 들어, 어플라이드 바이오시스템즈(Applied Biosystems), 미국 캘리포니아주 포스터 시티 소재)를 이용하여 합성되거나 또는 상업적으로 입수할 수 있다 (예를 들어, 라이프 테크놀로지스(Life Technologies), 미국 메릴랜드주 록빌 소재). 따라서, 특정 코돈 세트를 갖는 합성된 올리고뉴클레오타이드 세트는 전형적으로 전체 서열 내에서 코돈 세트에 의해 확립된 차이를 갖는 상이한 서열을 갖는 복수의 올리고뉴클레오타이드를 포함할 것이다. 본 발명에 따라 사용되는 올리고뉴클레오타이드는 가변 도메인 핵산 주형에 대한 혼성화를 허용하는 서열을 가지며, 또한 예를 들면 클로닝 목적에 유용한 제한 효소 부위를 포함할 수 있으나 반드시 그러한 것은 아니다.

[0399] 본원에 사용된 용어 "한정된 코돈 세트" 및 이들의 변이체는 서열 다양성을 생성하는 선행 방법에 전형적으로 사용되는 코돈 세트보다 훨씬 더 제한된 수의 아미노산을 코딩하는 코돈 세트를 나타낸다. 본 발명의 한 측면에서, 서열 다양화에 사용되는 한정된 코돈 세트는 2 내지 10개, 2 내지 8개, 2 내지 6개, 2 내지 4개, 또는 오직 2개의 아미노산을 코딩한다. 일부 실시양태에서, 서열 다양화에 사용되는 한정된 코돈 세트는 적어도 2개 내지 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하의 아미노산을 코딩한다. 전형적인 예에서, 테트라노미날

(tetranomial) 코돈 세트가 사용된다. 테트라노미날 코돈 세트의 예는 당업계에 공지된 바와 같은 RMC, RMG, RRC, RSA, MKC, YMT, RST, KMT, SRC, MRT 및 WMT를 포함한다. 또다른 전형적인 예에서, 바이노미날(binomial) 코돈 세트가 사용된다. 바이노미날 코돈 세트의 예는 TMT, KAT, YAC, WAC, TWC, TYT, YTC, WTC, KTT, YCT, MCG, SCG, MGC, SGT, GRT, GKT 및 GYT를 포함한다. 적합한 한정된 코돈의 결정, 및 특정 한정된 코돈에 의해 코딩되는 특정 아미노산의 확인은 잘 알려져 있으며, 당업자에게 명백할 것이다. CDR 서열의 다양화에 사용되는 적합한 아미노산 세트의 결정은 경험적이고/이거나 당업계에 공지된 기준 (예를 들어, 소수성 및 친수성 아미노산 유형의 조합 등을 포함함)에 의해 지시될 수 있다.

[0400] "Fv" 단편은 완전한 항원 인식 및 결합 부위를 함유하는 항체 단편이다. 이러한 영역은 단단하게 연관된 (자연에서 공유 결합될 수 있음, 예를 들면 scFv) 하나의 중쇄 가변 도메인 및 하나의 경쇄 가변 도메인의 이량체로 구성된다. 이러한 구성에서 각각의 가변 도메인의 3 가지 CDR이 상호작용하여 V_H - V_L 이량체의 표면 상에 항원 결합 부위를 한정한다. 결과적으로, 6개의 CDR 또는 이들의 서브셋이 항체에 항원 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 심지어는 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특이적인 오직 3 가지 CDR을 포함하는 Fv의 절반)도 일반적으로 전체 결합 부위보다 낮은 친화도를 갖지만 항원을 인식 및 결합하는 능력을 갖는다.

[0401] "Fab" 단편은 경쇄의 가변 및 불변 도메인 및 중쇄의 가변 도메인 및 제1 불변 도메인 (CH1)을 함유한다. $F(ab')_2$ 항체 단편은 한 쌍의 Fab 단편을 포함하며, 이들은 일반적으로 이들 사이의 힌지 시스테인에 의해 이들의 카르복시 말단 근처에서 공유결합에 의해 연결된다. 항체 단편의 다른 화학적 커플링은 또한 당업계에 공지되어 있다.

[0402] "단일-쇄 Fv" 또는 "scFv" 항체 단편은 항체의 V_H 및 V_L 도메인을 포함하는데, 이 때 이들 도메인은 단일 폴리펩티드 쇠로 존재한다. 일반적으로, Fv 폴리펩티드는 scFv가 항원 결합을 위해 원하는 구조를 형성할 수 있게 하는, V_H 와 V_L 도메인 사이의 폴리펩티드 링커를 더 포함한다. scFv에 대한 검토를 위해 문헌 [Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)]을 참조한다.

[0403] 용어 "디아바디"는 동일한 폴리펩티드 쇠 (V_H - V_L)에서 경쇄 가변 도메인 (V_L)에 연결된 중쇄 가변 도메인 (V_H)을 포함하는, 2개의 항원-결합 부위가 있는 작은 항체 단편을 나타낸다. 동일한 쇠에서 2개의 도메인이 쌍을 형성하기에는 너무 짧은 링커를 사용함으로써, 도메인은 또다른 쇠의 상보적 도메인과 쌍을 형성하여 2개의 항원-결합 부위를 형성한다. 디아바디는 예를 들어, 유럽 특허 제404,097호; WO 93/11161; 및 문헌 [Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)]에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[0404] 표현 "선형 항체"는 문헌 [Zapata et al., Protein Eng., 8(10):1057-1062 (1995)]에 기재된 항체를 나타낸다. 요컨대, 이들 항체는 한 쌍의 텐덤 Fd 절편 (V_H - C_H1 - V_H - C_H1)을 포함하고, 상보적인 경쇄 폴리펩티드와 함께 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성한다. 선형 항체는 이중특이성 또는 단일특이성일 수 있다.

[0405] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체"는 실질적으로 동질성인 항체 집단으로부터 얻은 항체, 즉 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연 발생 돌연변이를 제외하고는 집단을 포함하는 개별 항체가 동일한 것을 나타낸다. 모노클로날 항체는 단일 항원성 부위에 대해 고도로 특이적이다. 또한, 전형적으로 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지시된 상이한 항체를 포함하는 통상적인 (폴리클로날) 항체 제제와는 달리, 각각의 모노클로날 항체는 항원 상의 단일 결정자에 대해 지시된다. 수식어 "모노클로날"은 항체가 실질적으로 동질성인 항체 집단으로부터 얻어졌다는 특징을 나타내며, 임의의 특정 방법으로 항체를 생성해야하는 것으로 해석되어서는 안된다. 예를 들어, 본 발명에 따라 사용되는 모노클로날 항체는 문헌 [Kohler et al., Nature, 256:495 (1975)]에 최초로 기재된 하이브리도마 방법에 의해 제조하거나, 재조합 DNA 방법 (예를 들어, 미국 특허 제4,816,567호 참조)에 의해 제조할 수 있다. "모노클로날 항체"는 또한 예를 들어, 문헌 [Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)] 및 [Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597(1991)]에 기재된 기술을 이용하여 파지 항체 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0406] 본원의 모노클로날 항체는, 특히 중쇄 및/또는 경쇄의 일부분이 특정 종으로부터 유래되거나 특정 항체 군 또는 하위군에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 상동성이며, 상기 쇠(들)의 나머지 부분이 다른 종으로부터 유래되거나 다른 항체 군 또는 하위군에 속하는 항체의 상응하는 서열과 동일하거나 동질성인 "키메라" 항체 (이뮤노글로불린) 및 이러한 항체의 단편 (단, 원하는 생물학적 활성을 나타내는 경우에 한함)을 포함한다 (미국 특허 제4,816,567호; 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984)]).

- [0407] 비-인간 (예를 들어, 무린) 항체의 "인간화" 형태는 비-인간 이뮤노글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 항체이다. 대부분의 경우, 인간화 항체는 수용자의 초가변 영역으로부터의 잔기가 바람직한 특이성, 친화도 및 역량을 갖는 비-인간 중 (공여자 항체) (예컨대, 마우스, 래트, 토끼, 또는 인간을 제외한 영장류)의 초가변 영역으로부터의 잔기로 교체된 인간 이뮤노글로불린 (수용자 항체)이다. 몇몇 예에서, 인간 이뮤노글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기는 상응하는 비-인간 잔기로 교체된다. 또한, 인간화 항체는 수용자 항체 또는 공여자 항체에서 발견되지 않는 잔기를 포함할 수 있다. 이들 변형은 항체 성능을 추가로 개량하기 위해 수행된다. 일반적으로, 인간화 항체는 실질적으로 모든 하나 이상의 (전형적으로, 2개의) 가변 도메인을 포함할 것이며, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 초가변 루프는 비-인간 이뮤노글로불린의 것에 상응하고, 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 이뮤노글로불린 서열의 것이다. 인간화 항체는 임의로는 적어도 이뮤노글로불린 불변 영역(Fc)의 일부, 전형적으로는 인간 이뮤노글로불린의 불변 영역을 또한 포함할 것이다. 보다 상세한 설명을 위해 문헌 [Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)]; [Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)]; 및 [Presta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)]을 참조한다.
- [0408] "중-의존성 항체"는 제1 포유동물 종으로부터의 항원에 대한 결합 친화도가 제2 포유동물 종으로부터의 항원의 상동체에 대한 결합 친화도보다 더 높은 항체이다. 통상적으로, 중-의존성 항체는 인간 항원에 "특이적으로 결합"하지만 (즉, 결합 친화도 (K_d) 값이 약 1×10^{-7} M 이하, 예를 들면 약 1×10^{-8} M 이하, 추가의 예로는 약 1×10^{-9} M 이하임), 제2의 비-인간 포유동물 종으로부터의 항원의 상동체에 대한 결합 친화도는 인간 항원에 대한 결합 친화도보다 약 50배 이상, 약 500배 이상 또는 약 1,000배 이상 더 낮다. 중-의존성 항체는 상기 정의된 다양한 유형의 항체 중 임의의 항체일 수 있으나, 바람직하게는 인간화 항체 또는 인간 항체이다.
- [0409] 본원에 사용된 "항체 돌연변이" 또는 "항체 변이체"는 중-의존성 항체의 하나 이상의 아미노산 잔기가 변형된 중-의존성 항체의 아미노산 서열 변이체를 나타낸다. 이러한 돌연변이는 반드시 중-의존성 항체와 100% 미만의 서열 동일성 또는 유사성을 가져야 한다. 한 실시양태에서, 항체 돌연변이는 중-의존성 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인의 아미노산 서열과 적어도 75%, 예를 들면 적어도 80%, 예를 들면 적어도 85%, 예를 들면 적어도 90%, 및 예를 들면 적어도 95%의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성을 갖는 아미노산 서열을 가질 것이다. 상기 서열에 대한 동일성 또는 유사성은 본원에서 후보 서열에서 중-의존성 항체 잔기와 동일하거나 (즉, 동일한 잔기) 또는 유사한 (즉, 공통적인 측쇄 성질에 기초한 동일한 잔기로부터의 아미노산 잔기, 아래 참조) 아미노산 잔기의 백분율로 정의하고, 경우에 따라 서열을 정렬하고 갭을 도입시켜 최대 백분율의 서열 동일성을 달성한다. 가변 도메인 이외의 항체 서열로의 N-말단, C-말단 또는 내부 신장, 결실, 또는 삽입이 없는 것이 유효 서열 동일성 또는 유사성으로 간주될 것이다.
- [0410] "단리된" 항체는 그의 천연 환경 성분으로부터 동정 및 분리 및(또는) 회수된 것이다. 그의 천연 환경의 오염 성분은 항체에 대한 진단 또는 치료 용도를 방해하는 물질이고, 효소, 호르몬 및 다른 단백질원성 또는 비단백질원성 용질을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체는 (1) 로우리 (Lowry) 방법에 의해 측정시 항체의 95 중량% 초과, 예를 들면 99 중량% 초과 수준까지, (2) 스피닝 킵 서열분석기를 사용하여 N-말단 또는 내부 아미노산 서열의 적어도 15개의 잔기를 얻기에 충분한 정도까지, 또는 (3) 쿠마시 블루 또는 바람직하게는 은 염색을 사용하여 환원 또는 비환원 조건 하에 SDS-PAGE에 의해 균질하게 될 때까지 정제될 것이다. 단리된 항체는 항체의 자연 환경의 적어도 하나의 성분이 존재하지 않을 것이기 때문에 재조합 세포 내의 제자리 항체를 포함한다. 그러나, 통상적으로 단리된 항체는 하나 이상의 정제 단계에 의해 제조될 것이다.
- [0411] 용어 "길항제"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 시험관내, 계내 또는 생체내에서 본원에 기재된 표적 분자 (예를 들면, DR5 또는 HER-2)의 하나 이상의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전하게 차단, 억제 또는 무력화시키는 임의의 분자를 포함한다. 이러한 DR5의 생물학적 활성의 예는 DR5에 대한 Apo2L/TRAIL의 결합, 아팍토시스의 유도 뿐만 아니라 문헌에 추가로 보고된 것을 포함한다. 이러한 HER-2의 생물학적 활성의 예는 헤레굴린 (heregulin)과 같은 리간드의 결합, HER-2의 티로신 인산화, 증식의 유도 뿐만 아니라 아팍토시스, 및 문헌에 추가로 보고된 것을 포함한다. 길항제는 직접적인 또는 간접적인 방식으로 기능할 수 있다. 예를 들면, 길항제는 표적 분자에 대한 직접적인 결합의 결과로서 시험관내, 계내 또는 생체내에서 표적 분자의 리간드의 하나 이상의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전하게 차단, 억제 또는 무력화시키는 기능을 할 수 있다. 길항제는 또한 예를 들면 또다른 이펙터(effector) 분자를 차단 또는 억제한 결과로서 시험관내, 계내 또는 생체내에서 표적 분자의 하나 이상의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전히 차단, 억제 또는 무력화시키는 기능을 간접적으로 할 수 있다. 길항제 분자는 분자가 표적 분자의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전하게 차단, 억제 또는 무력화시킬 수 있는 "이중" 길항제 활성을 포함할 수 있다.

- [0412] 용어 "효능제"는 가장 넓은 의미로 사용되며, 시험관내, 계내 또는 생체내에서 본원에 기재된 표적 분자 (예를 들면, DR5 또는 HER-2)의 하나 이상의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전하게 향상, 자극 또는 활성화시키는 임의의 분자를 포함한다. DR5의 이러한 생물학적 활성의 예는 Apo-2L의 결합 및 아파토시스 뿐만 아니라 문헌에 추가로 보고된 것을 포함한다. HER-2의 이러한 생물학적 활성의 예는 헤레글린과 같은 리간드의 결합, 수용체의 티로신 인산화, 증식의 유도 뿐만 아니라 아파토시스, 및 문헌에 추가로 보고된 것을 포함한다. 효능제는 직접 또는 간접적인 방식으로 기능할 수 있다. 예를 들면, 효능제는 수용체 활성화 또는 신호 변환을 유발하는 표적 분자에 대한 직접 결합의 결과로서 시험관내, 계내 또는 생체내에서 표적 분자의 하나 이상의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전하게 향상, 자극 또는 활성화시키는 기능을 할 수 있다. 효능제는 또한 예를 들면 또다른 이펙터 분자를 자극시켜 이후에 표적 분자 활성화 또는 신호 변환을 유발하는 결과로서 시험관내, 계내 또는 생체내에서 표적 분자의 하나 이상의 생물학적 활성을 부분적으로 또는 완전하게 향상, 자극 또는 활성화시키는 기능을 간접적으로 할 수 있다. 효능제는 간접적으로 표적 분자 활성화 또는 활성을 향상 또는 증가시키는 기능을 하는 인핸서 분자로서 작용할 수 있을 것으로 생각된다. 예를 들면, 효능제는 포유동물에서 내생 Apo-2L의 활성을 향상시킬 수 있다. 이는 예를 들면 DR5의 예비-복합체화 또는 각각의 리간드와 DR5 수용체의 복합체의 안정화에 의해 수행할 수 있다.
- [0413] "세포", "세포주" 및 "세포 배양물"은 본원에서 상호교환가능하게 사용되며, 이러한 명칭은 세포 또는 세포주의 모든 자손을 포함한다. 따라서, 예를 들면 "형질전환체" 및 "형질전환된 세포"와 같은 용어는 전달 횟수에 관계없이 1차 대상 세포 및 이들로부터 유래된 배양물을 포함한다. 또한, 모든 자손은 의도하거나 또는 의도하지 않은 돌연변이로 인해 DNA 내용물이 정확하게 동일하지 않을 수 있는 것으로 이해해야 한다. 본래 형질전환된 세포에서 스크리닝된 바와 동일한 기능 또는 생물학적 활성을 갖는 돌연변이 자손이 포함된다. 별도의 명칭이 고려되는 경우, 이는 문맥상 명확해질 것이다.
- [0414] 발현에 대해 언급된 경우 "제어 서열"은 특정 숙주 유기체에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 의미한다. 원핵생물에 적합한 제어 서열은, 예를 들면 프로모터, 임의로는 오퍼레이터 서열, 리보솜 결합 부위, 및 아마도 아직 잘 이해되지 않는 다른 서열을 포함한다. 진핵 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호 및 인핸서를 사용하는 것으로 알려져 있다.
- [0415] 용어 "외피 단백질"은 적어도 일부가 바이러스 입자의 표면 상에 존재하는 단백질을 의미한다. 기능적 관점으로부터, 외피 단백질은 숙주 세포에서의 바이러스 조립 과정 동안 바이러스 입자와 연관되고, 또다른 숙주 세포를 감염시킬 때까지 조립된 바이러스와 연관된 상태로 남아있는 임의의 단백질이다. 외피 단백질은 주요 외피 단백질일 수 있거나 또는 부수적 외피 단백질일 수 있다. "주요" 외피 단백질은 바이러스 외피에서 일반적으로 적어도 약 5개 카피, 적어도 약 7개 카피, 적어도 약 10개 카피 이상의 단백질로 존재하는 외피 단백질이다. 주요 외피 단백질은 비리온 하나 당 수십개, 수백개, 심지어는 수천개의 카피로 존재할 수 있다. 주요 외피 단백질의 예는 섬유상 파지의 p8 단백질이다.
- [0416] 특정 검정에서 화학적 물질에 대한 "검출 한계"는 상기 검정에 대한 백그라운드 수준 위에서 검출될 수 있는 상기 물질의 최소 농도이다. 예를 들면, 파지 ELISA에서, 특정 항원 결합 단편을 디스플레이하는 특정 파지에 대한 "검출 한계"는 상기 특정 파지가 항원 결합 단편을 디스플레이하지 않는 대조군 파지에 의해 생성된 것보다 높은 ELISA 신호를 생성하는 파지 농도이다.
- [0417] 본원에 사용된 "DR5 수용체" 또는 "DR5"는 천연 서열 수용체 및 수용체 변이체를 포함한다. 이들 용어는 인간을 비롯한 다양한 포유동물에서 발견되는 DR5 수용체를 포함한다. DR5 수용체는 다양한 인간 조직 계통에서 자연적으로 발생하는 것과 같이 내생적으로 발현될 수 있거나, 또는 재조합 또는 합성 방법에 의해 발현될 수 있다. "천연 서열 DR5 수용체"는 자연에서 유래된 DR5 수용체와 동일한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 따라서, 천연 서열 DR5 수용체는 임의의 포유동물로부터의 자연-발생 DR5 수용체의 아미노산 서열을 가질 수 있다. 이러한 천연 서열 DR5 수용체는 자연으로부터 단리될 수 있거나 또는 재조합 또는 합성 수단에 의해 생성될 수 있다. 용어 "천연 서열 DR5 수용체"는 특히 수용체의 자연-발생 말단절단된 또는 분비된 형태 (예를 들어, 예를 들면 세포의 도메인 서열을 함유하는 가용성 형태), 자연-발생 변이체 형태 (예를 들어, 다르게 스플라이싱된 형태) 및 자연-발생 대립유전자 변이체를 포함한다. 수용체 변이체는 천연 서열 DR5 수용체의 단편 또는 결실 돌연변이를 포함할 수 있다. 인간 DR5의 411 아미노산 서열은 표 1에 나타내었으며, 이는 도 3A의 서열이다 (1998년 11월 19일 WO 98/51793에서 공개됨). 인간 DR5의 전사 스플라이스 변이체는 당업계에 공지되어 있다. 이 DR5 스플라이스 변이체는 1998년 8월 20일에 WO 98/35986에서 공개된 바와 같은, 도 3B 및 3C에 나타난 인간 DR5의 440 아미노산 서열을 코딩한다. 무린 DR5의 폴리펩티드 서열 및 DR5의 세포의 도메인

은 또한 아래 표 1에 나타내었다.

- [0418] DR5의 생물학적 활성은 (a) 생체내 또는 생체외에서 적어도 한 가지 유형의 포유동물 암 세포 또는 바이러스-감염된 세포에서의 아파토티스를 유도 또는 자극하거나 또는 그의 신호를 보내는 능력, 및 (b) 자연-발생 Apo2L/TRAIL 폴리펩티드에 결합할 수 있는 능력을 포함한다. 생물학적 활성, 예컨대 아파토티스를 결정하기 위한 검정은 당업계에 공지된 방법, 예컨대 DNA 단편화 (예를 들면, 문헌 [Marsters et al., Curr. Biology, 6:1669 (1996)] 참조), 카스파제 실험, DR5 결합 (예를 들면, WO 98/51793, 1998년 11월 19일 공개됨)을 이용하여 수행할 수 있다. 용어 "아파토티스" 및 "아파토티스 활성"은 넓은 의미로 사용되며, 전형적으로 세포질의 응축, 세포질막 미세용모의 손실, 핵의 분열, 염색체 DNA의 분해 또는 미토콘드리아 기능의 손실을 비롯한 하나 이상의 특징적인 세포 사건에 의해 수반되는 포유동물에서의 규칙적이거나 또는 제어된 형태의 세포 사멸을 나타낸다. 이러한 활성은 예를 들면 당업계에 공지된 세포 생존력 검정 (예컨대, 알라마 블루(Alamar blue) 검정 또는 MTT 검정), FACS 분석, 카스파제 활성화, DNA 단편화 (예를 들어, 문헌 [Nicoletti et al., J. Immunol. Methods, 139:271-279 (1991)] 참조), 및 폴리-ADP 리보스 중합효소, "PARP", 분해 검정에 의해 결정 및 측정할 수 있다.
- [0419] "DR5 수용체 항체", "DR5 항체" 또는 "항-DR5 항체"는 넓은 의미로 사용되며, 적어도 한 가지 형태의 DR5 수용체에 결합하는 항체를 나타낸다. 임의로는, DR5 항체는 이중 서열 또는 분자에 융합되거나 또는 연결된다. 바람직하게는, 이중 서열은 항체가 보다 고도로 정렬되거나 올리고머 착체를 형성하도록 허용하거나 돕는다. 임의로는, DR5 항체는 DR5 수용체에 결합하지만, 임의의 추가의 Apo-2L 수용체 (예를 들어 DR4, DcR1 또는 DcR2)와 결합하거나 교차 반응하지 않는다. 임의로는, 항체는 DR5 신호전달 활성의 효능제이다. 임의로는, 본 발명의 DR5 항체는 비아코어(BIAcore) 결합 검정 (본원에 기재된 바와 같음)에서 측정된 바와 같이 약 0.1 nM 내지 약 20 mM의 농도 범위에서 DR5 수용체에 결합한다. 임의로는, 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 결합 검정 (예컨대, 아래 실시예에 기재된 경쟁 파지 ELISA)에서 측정된 바와 같이 약 1 nM 내지 약 20 nM의 IC50 값을 나타낸다.
- [0420] 용어 "Apo2L/TRAIL", "Apo-2L" 및 "TRAIL"은 본원에서 표 1에 나타낸 아미노산 서열의 아미노산 잔기 114-281, 잔기 95-281, 잔기 92-281, 잔기 91-281, 잔기 41-281, 잔기 15-281, 또는 잔기 1-281을 포함하는 폴리펩티드, 뿐만 아니라 상기 서열의 생물학적 활성 단편, 결실, 삽입 또는 치환 변이체 서열을 나타내는데 사용된다. Apo-2L 폴리펩티드는 WO 2005100399의 도 1에 기재 및 도시되어 있는 천연 뉴클레오티드 서열에 의해 코딩될 수 있다.
- [0421] "융합 단백질" 및 "융합 폴리펩티드"는 공유결합에 의해 함께 연결된 2개의 부분을 갖는 폴리펩티드를 나타내며, 상기 부분들은 각각 상이한 성질을 갖는 폴리펩티드이다. 상기 성질은 시험관내 또는 생체내 활성과 같은 생물학적 성질일 수 있다. 이 성질은 또한 단순한 화학적 또는 물리적 성질, 예컨대 표적 항원에 대한 결합, 반응의 촉매 작용 등일 수 있다. 상기 2개의 부분은 단일 펩티드 결합 또는 하나 이상의 아미노산 잔기를 함유하는 펩티드 링커를 통해 직접 연결될 수 있다. 일반적으로, 상기 2개의 부분 및 링커는 서로 리딩 프레임 내에 있을 것이다. 특정 실시양태에서, 폴리펩티드의 2개의 부분은 이중 또는 상이한 폴리펩티드로부터 수득한다.
- [0422] "이중 DNA"는 숙주 세포에 도입된 임의의 DNA이다. DNA는 게놈 DNA, cDNA, 합성 DNA 및 이들의 융합 또는 조합 등을 비롯한 다양한 공급원으로부터 유래될 수 있다. DNA는 숙주 또는 수혜자 세포와 동일한 세포 또는 세포 유형으로부터의 DNA 또는 상이한 세포 유형, 예를 들면 포유동물 또는 식물로부터의 DNA를 포함할 수 있다. DNA는 임의로는, 마커 또는 선별 유전자, 예를 들면 항생제 내성 유전자, 온도 내성 유전자 등을 포함할 수 있다.
- [0423] 본원에 사용된 "고도로 다양한 위치"는 공지된 및/또는 자연 발생 항체 또는 항원 결합 단편의 아미노산 서열과 비교하였을 때 해당 위치에서 나타난 다수의 상이한 아미노산을 갖는 경쇄 및 중쇄의 가변 영역에 위치한 이마노산의 위치를 나타낸다. 고도로 다양한 위치는 전형적으로 CDR 영역 내에 있다. 한 측면에서, 공지된 및/또는 자연 발생 항체에서 고도로 다양한 위치를 결정하는 능력은 문헌 [Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 and 1991)]에 제공된 데이터에 의해 용이하게 된다. <http://www.bioinf.org.uk.abs.structures.html>에 위치한 인터넷-기반의 데이터베이스는 경쇄 (<http://www.bioinf.org.uk.abs.lc.align>) 및 중쇄 (<http://www.bioinf.org.uk.abs.hc.align>) 서열의 대규모 수집 및 정렬을 제공하고, 이들 서열에서 고도로 다양한 위치의 결정을 용이하게 한다. 본 발명에 있어서, 아미노산 위치는 해당 위치에서 약 2 내지 약 11개, 약 4 내지 약 9개 및/또는 약 5 내지 약 7개의 상

이한 가능한 아미노산 잔기 변이를 갖는 경우에 고도로 다양하다. 일부 실시양태에서, 아미노산 위치는 해당 위치에서 적어도 약 2개, 적어도 약 4개, 적어도 약 6개 및/또는 적어도 약 8개의 상이한 가능한 아미노산 잔기 변이를 갖는 경우에 고도로 다양하다.

[0424] 본원에 사용된 "라이브러리"는 복수의 항체 또는 항체 단편 서열 (예를 들어, 본 발명의 폴리펩티드), 또는 이들 서열을 코딩하는 핵산, 본 발명의 방법에 따라 이들 서열에 도입된 변이체 아미노산의 조합에서 상이한 서열을 나타낸다.

[0425] "라이게이션"은 2개의 핵산 단편 사이에 포스포디에스테르 결합을 형성하는 과정이다. 2개의 단편의 라이게이션을 위해, 단편의 말단은 서로 상용성이어야 한다. 일부의 경우에, 말단은 엔도뉴클레아제 분해 후에 직접적으로 상용성일 것이다. 그러나, 엔도뉴클레아제 분해 후에 통상적으로 생성되는 지그재그형(staggered) 말단을 우선 블런트형(blunt) 말단으로 전환시켜 라이게이션에 상용성이 되도록 하는 것이 필요할 수 있다. 블런트형 말단을 형성하기 위해, DNA를 4 가지 데옥시리보뉴클레오타이드 트리포스페이트의 존재하에 약 10 유닛의 DNA 중합효소 I 또는 T4 DNA 중합효소의 클레나우 단편으로 15 °C에서 적어도 15 분 동안 적합한 완충액 중에서 처리한다. 이어서, DNA를 페놀-클로로포름 추출 및 에탄올 침전 또는 실리카 정제에 의해 정제한다. 서로 라이게이션되는 DNA 단편을 대략 등물량으로 용액에 넣는다. 용액은 또한 ATP, 리가제 완충액, 및 리가제, 예컨대 T4 DNA 리가제 (DNA 0.5 μ g 당 약 10 유닛)를 함유할 것이다. DNA가 벡터에 라이게이션되는 경우, 벡터를 우선 적절한 제한 엔도뉴클레아제(들)로 분해하여 선형화시킨다. 이어서, 선형화된 단편을 박테리아 알칼리성 포스파타제 또는 송아지 장 포스파타제로 처리하여 라이게이션 단계 동안 자가-라이게이션을 방지한다. 다른 라이게이션 방법도 당업계에 공지되어 있다.

[0426] "돌연변이"는 야생형 서열과 같은 참조 뉴클레오타이드 서열에 비해 뉴클레오타이드(들)이 결실, 삽입 또는 치환된 것이다.

[0427] 본원에 사용된 "자연" 또는 "자연 발생" 항체는 비합성 공급원, 예를 들면 생체외에서 수득한 분화된 항원-특이적 B 세포 또는 그의 상응하는 하이브리도마 세포주, 또는 동물의 혈청으로부터 수득한 항체로부터 동정된 항체를 나타낸다. 이들 항체는 자연 유도된 또는 달리 유도된 임의의 유형의 면역 반응에서 생성된 항체를 포함할 수 있다. 자연 항체는 예를 들면 Kabat 데이터베이스에서 확인되는 바와 같은, 이들 항체를 구성하거나 또는 코딩하는 아미노산 서열 및 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 본원에 사용된 자연 항체는 "합성 항체"와 상이하며, 여기서 합성 항체는 예를 들면 특정 위치에서 하나의 아미노산 또는 하나 초과 아미노산을 상이한 아미노산으로 교체하거나, 결실시키거나 또는 첨가하여 공급원 또는 주형 서열이 변화된 항체 서열을 나타내며, 이 때 상이한 아미노산은 공급원 항체 서열과 상이한 항체 서열을 제공한다.

[0428] 핵산과 관련하여 언급된 "작동가능하게 연결된"은 핵산이 다른 핵산 서열과 기능적 관계로 배치된 것을 의미한다. 예를 들면, 전서열(presequence) 또는 분비 리더에 대한 DNA는 해당 폴리펩티드의 분비에 참여하는 전단백질(preprotein)로서 발현되는 경우 그 폴리펩티드의 DNA에 작동가능하게 연결되고, 프로모터 또는 인핸서는 코딩 서열의 전사에 영향을 미치는 경우 그 코딩 서열에 작동가능하게 연결되며, 리보솜 결합 부위는 번역을 용이하게 하도록 배치될 때 코딩 서열에 작동가능하게 연결된다. 일반적으로 "작동가능하게 연결된"은 연결될 DNA 서열들이 인접하여 위치함을 의미하며, 분비 리더의 경우 인접하여 위치할 뿐만 아니라 리딩 프레임 내에 존재하는 것을 의미한다. 그러나 인핸서는 인접하여 위치할 필요가 없다. 연결은 편리한 제한 효소 부위에서 라이게이션에 의해 달성된다. 이러한 부위가 존재하지 않는 경우, 합성 올리고뉴클레오타이드 어답터 또는 링커를 통상적인 실시예에 따라 사용한다.

[0429] "파지 디스플레이"는 변이체 폴리펩티드가 파지 (예를 들면, 섬유상 파지) 입자의 표면 상에서 외피 단백질의 적어도 일부에 융합 단백질로서 디스플레이되는 기술이다. 파지 디스플레이의 유용성은 무작위화된 단백질 변이체의 거대 라이브러리가 표적 항원에 고친화도로 결합하는 서열에 대해 빠르고 효율적으로 분류될 수 있다는 사실에 있다. 파지 상에서의 펩티드 및 단백질 라이브러리의 디스플레이는 특정 결합 성질을 갖는 것에 대해 수백만 개의 폴리펩티드를 스크리닝하는데 사용된다. 다가 파지 디스플레이 방법은 섬유상 파지의 유전자 III 또는 유전자 VIII에 대한 융합을 통해 작은 무작위 펩티드 및 작은 단백질을 디스플레이하는데 사용된다 (문헌 [Wells and Lowman, Curr. Opin. Struct. Biol, 3:355-362 (1992)], 및 여기에 인용된 참조문헌). 1가 파지 디스플레이에서, 단백질 또는 펩티드 라이브러리는 유전자 III 또는 그의 일부에 융합되고, 야생형 유전자 III 단백질의 존재하에 낮은 수준으로 발현되어 파지 입자가 하나의 카피의 융합 단백질을 디스플레이하거나 또는 융합 단백질을 디스플레이하지 않는다. 화합력 효과는 다가 파지에 비해 감소하여 분류가 고유의 리간드 친화도에 기초하고, DNA 조작을 간소화하는 파지미드 벡터가 사용된다 (문헌 [Lowman and Wells, Methods:A

companion to Methods in Enzymology, 3:205-0216 (1991)]).

- [0430] "파지미드"는 박테리아 복제 원점, 예를 들면 ColE1, 및 박테리오파지의 유전자내 영역의 하나의 카피를 갖는 플라스미드 벡터이다. 파지미드는 섬유상 박테리오파지 및 람다형 박테리오파지를 비롯한 임의의 공지된 박테리오파지 상에서 사용될 수 있다. 플라스미드는 또한 일반적으로 항생제 내성에 대해 선별가능한 마커를 함유할 것이다. 이들 벡터에 클로닝된 DNA의 절편은 플라스미드로 증식될 수 있다. 파지 입자의 생성에 필수적인 모든 유전자를 갖는 이들 벡터를 보유하는 세포가 제공된 경우, 플라스미드의 복제 방식은 롤링 씨클(rolling circle) 복제로 변화하여 플라스미드 DNA의 한 가닥의 카피를 생성하고, 파지 입자를 패키징한다. 파지미드는 감염성 또는 비-감염성 파지 입자를 형성할 수 있다. 이 용어는 이중 폴리펩티드가 파지 입자의 표면에 디스플레이되도록 유전자 융합체로서 이중 폴리펩티드 유전자에 연결된 파지 외피 단백질 유전자 또는 그의 단편을 함유하는 파지미드를 포함한다.
- [0431] 용어 "파지 벡터"는 이중 유전자를 함유하며 복제될 수 있는 이중 가닥 복제 형태의 박테리오파지를 의미한다. 파지 벡터는 파지 복제 및 파지 입자 형성을 허용하는 파지 복제 원점을 갖는다. 특정 실시양태에서, 파지는 섬유상 박테리오파지, 예컨대 M13, f1, fd, Pf3 파지 또는 이들의 유도체, 또는 람다형 파지, 예컨대 람다, 21, 파이80, 파이81, 82, 424, 434 등, 또는 이들의 유도체이다.
- [0432] "올리고뉴클레오티드"는 공지된 방법 (예컨대 EP 266,032 (1998년 5월 4일에 공개됨)에 기재된 바와 같은 고상 기술을 이용하는 포스포트리에스테르, 포스포이트 또는 포스포르아미디트 화학, 또는 문헌 [Froeshler et al., Nucl. Acids, Res., 14:5399-5407 (1986)]에 기재된 바와 같이 데옥시뉴클레오시드 H-포스포네이트 중간체를 포함)에 의해 화학적으로 합성된 짧은 길이의, 단일- 또는 이중-가닥 폴리데옥시뉴클레오티드이다. 추가의 방법은 아래 정의된 중합효소 연쇄 반응 및 다른 오토프라이머 방법, 및 고체 지지체 상의 올리고뉴클레오티드 합성을 포함한다. 이들 방법은 모두 문헌 [Engels et al., Agnew. Chem. Int. Ed. Engl., 28:716-734 (1989)]에 기재되어 있다. 이들 방법은 유전자의 전체 핵산 서열이 공지되어 있거나 또는 코딩 가닥에 상보적인 핵산 서열이 사용가능한 경우에 이용된다. 대안으로, 표적 아미노산 서열이 공지되어 있는 경우, 각각의 아미노산 잔기에 대해 공지되어 있으며 바람직한 코딩 잔기를 사용하여 잠재적인 핵산 서열을 추정할 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 폴리아크릴아미드 겔 또는 분자채 컬럼 상에서 또는 침전에 의해 정제될 수 있다.
- [0433] DNA는 비-핵산 불순물로부터 분리되는 경우에 "정제"된다. 불순물은 극성, 비극성, 이온성 등일 수 있다.
- [0434] 본원에 사용된 "공급원 항체"는 그의 항원 결합 서열이 본원에 기재된 기준에 따라 다양화를 수행할 때 주형 서열로 사용되는 항체 또는 항원 결합 단편을 나타낸다. 특정 실시양태에서, 항원 결합 서열은 일반적으로 항체 가변 영역, 및 프레임워크 영역을 포함하는 적어도 하나의 CDR을 포함한다.
- [0435] 본원에 사용된 "용매 접근가능한 위치"는 항체 또는 항원 결합 단편의 구조, 구조의 조화 및/또는 모델링된 구조에 기초하여 분자, 예컨대 항체-특이적 항원과의 용매의 접근 및/또는 접촉에 대해 잠재적으로 이용가능한 것으로 결정된 공급원 항체 또는 항원 결합 단편의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역에서의 아미노산 잔기의 위치를 나타낸다. 이들 위치는 전형적으로 CDR 내부 및 단백질의 외면 상에서 발견된다. 항체 또는 항원 결합 단편의 용매 접근가능한 위치는 본원에 정의된 바와 같이 당업계에서 공지된 임의의 수의 알고리즘을 사용하여 결정할 수 있다. 특정 실시양태에서, 용매 접근가능한 위치는 인사이트(Insight)II 프로그램 (액셀리스(Accelrys), 미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재)과 같은 컴퓨터 프로그램을 사용하는 항체 (또는 그의 일부, 예를 들면 항체 가변 도메인, 또는 CDR 절편(들))의 3-차원 모델로부터 좌표를 사용하여 결정된다. 용매 접근가능한 위치는 또한 당업계에 공지된 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Lee and Richards, J. Mol. Biol. 55, 379 (1971)] 및 [Connolly, J. Appl. Cryst. 16, 548 (1983)]). 용매 접근가능한 위치의 결정은 단백질 모델링에 적합한 소프트웨어 및 항체 (또는 그의 일부)로부터 수득한 3-차원 구조 정보를 이용하여 수행할 수 있다. 이들 목적을 위해 사용될 수 있는 소프트웨어는 사이빌(SYBYL) 생물학적 중합체 모듈 소프트웨어 (트리포스 어소시에이츠(Tripos Associates))를 포함한다. 일반적으로, 특정 실시양태에서, 알고리즘 (프로그램)이 사용자 입력 크기 파라미터를 요구하는 경우, 계산에 사용되는 프로브의 "크기"는 반경이 약 1.4 Å 이하인 세트이다. 또한, 퍼스널 컴퓨터용 소프트웨어를 이용하는 용매 접근가능한 영역 및 구역 결정 방법은 문헌 [Pacios (1994) "ARVOMOL/CONTOUR: molecular Surface areas and volumes on Personal Computers." Comput. Chem. 18(4):377-386]; 및 ["Variations of Surface Areas and Volumes in Distinct Molecular Surfaces of Biomolecules." J. Mol. Model. (1995), 1:46-53]에 기재되어 있다.
- [0436] "전사 조절 요소"는 하기 성분들 중 하나 이상을 함유할 것이다: 인핸서 요소, 프로모터, 오퍼레이터 서열, 리프레서 유전자 및 전사 종결 서열. 이들 성분은 당업계에 공지되어 있다 (미국 특허 제5,667,780호).

- [0437] "형질전환체"는 DNA와 연관된 표현형의 발현에 의해 입증되는 (예를 들어, DNA에 의해 코딩되는 단백질에 의해 부여되는 항생제 내성), DNA를 흡수 및 유지하고 있는 세포이다.
- [0438] "형질전환"은 세포가 DNA를 흡수하여 "형질전환체"가 되는 과정을 의미한다. DNA 흡수는 영구적이거나 또는 일시적일 수 있다.
- [0439] "인간 항체"는 인간에 의해 생성된 항체에 상응하는 아미노산 서열을 보유하고/거나 본원에 개시된 임의의 인간 항체 제조 기술을 이용하여 제조된 것이다. 이러한 인간 항체의 정의는 특별히 비-인간 항원-결합 잔기를 포함하는 인간화 항체는 배제한다.
- [0440] "친화도 성숙" 항체는 그의 하나 이상의 CDR에 하나 이상의 변경을 포함하여 이러한 변경(들)을 보유하지 않는 모 항체에 비해 항원에 대한 항체의 친화도가 개선된 것이다. 특정 실시양태에서, 친화도 성숙 항체는 표적 항원에 대해 나노몰 농도 또는 심지어는 피코몰 농도의 친화도를 가질 것이다. 친화도 성숙 항체는 당업계에 공지된 절차에 의해 생성된다. 문헌 [Marks et al. Bio/Technology 10:779-783 (1992)]은 VH 및 VL 도메인 셔플링(shuffling)에 의한 친화도 성숙을 기재하고 있다. CDR 및/또는 프레임워크 잔기의 무작위 돌연변이유발은 문헌 [Barbas et al., Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813 (1994)]; [Schier et al., Gene 169:147-155 (1995)]; [Yelton et al., J. Immunol. 155:1994-2004 (1995)]; [Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995)]; 및 [Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992)]에 기재되어 있다.
- [0441] "Kd" 또는 "Kd 값"은 한 분자와 다른 분자의 상호작용에 대한 해리 상수이다. 한 실시양태에서, Kd 값은 방사성 동위원소 표지된 단백질 결합 검정 (RIA)에 의해 측정된다. 한 실시양태에서, DR5 또는 HER-2에 대한 RIA는, Fab를 각각 일련의 표지되지 않은 DR5 또는 HER-2 분자의 적가의 존재하에 최소 농도의 (¹²⁵I)-표지된 DR5 또는 HER-2로 평형화시킨 후에 결합된 DR5 또는 HER-2 분자를 각각 항-Fab 항체-코팅된 플레이트로 포획하여 DR5 또는 HER-2에 대한 Fab의 용액 결합 친화도를 측정하는 검정에 의해 기재된 바와 같이 항-DR5 또는 HER-2 항체 및 DR5 또는 HER-2 분자에 대한 Fab 버전을 각각 사용하여 수행할 수 있다 (문헌 [Chen, et al., (1999) J. Mol Biol 293:865-881]). 검정을 위한 조건을 수립하기 위해, 마이크로리터 플레이트 (다이넥스; Dynex)를 50 mM 탄산나트륨 (pH 9.6) 중 5 µg/ml의 포획 항-Fab 항체 (카펠 랩스; Cappel Labs)로 밤새 코팅하고, 이어서 PBS 중 2% (중량/부피)의 소 혈청 알부민으로 실온 (대략 23 °C)에서 2 내지 5 시간 동안 차단시킨다. 비-흡착 플레이트 (넌크(Nunc) #269620)에서, 100 pM 또는 26 pM [¹²⁵I] DR5 또는 HER-2를 관심있는 Fab, 예를 들어 Fab-12의 일련의 희석액과 혼합한다 (문헌 [Presta et al., (1997) Cancer Res. 57:4593-4599]). 이어서, 관심있는 Fab를 밤새 인큐베이션하였으나; 안전하게 평형에 도달하도록 하기 위해 인큐베이션을 65 시간 동안 계속할 수 있다. 그 후에, 혼합물을 포획 플레이트로 옮겨 실온에서 1 시간 동안 인큐베이션한다. 이어서, 용액을 제거하고, 플레이트를 PBS 중 0.1% Tween-20으로 8회 세척한다. 플레이트가 건조되었을 때, 150 µl/웰의 신틸란트(scintillant) (마이크로신틸-20(MicroScint-20); 팩커드(Packard))를 첨가하고, 플레이트를 탑카운트(Topcount) 감마 계수기 (팩커드) 상에서 10 분 동안 카운팅한다. 20% 이하의 최대 결합을 제공하는 각 Fab의 농도는 경쟁적 결합 검정에 사용하기 위해 선택된다.
- [0442] 또다른 실시양태에 있어서, Kd 또는 Kd 값은 비아코어(BIAcore; 상표명)-2000 또는 비아코어(상표명)-3000 기기 (비아코어, 인크.(BIAcore, Inc.), 미국 뉴저지주 피스카타웨이 소재)를 사용하는 표면 플라즈몬 공명 검정을 이용하여 측정할 수 있다. 한 실시양태에서, DR5 또는 HER-2 분자에 대한 항-DR5 또는 HER-2 분자 항체의 Kd 값은 각각 하기 프로토콜에 따라 비아코어(상표명) 분석을 이용하여 결정된다. 요컨대, 카르복시메틸화된 텍스트란 바이오센서 칩 (CM5, 비아코어, 인크.)을 공급자의 지침에 따라 N-에틸-N'-(3-디메틸아미노프로필)-카르보디이미드 히드록로라이드 (EDC) 및 N-히드록시숙신이미드 (NHS)로 활성화시킨다. 인간 DR5 또는 HER-2 분자를 10 mM 나트륨 아세테이트 (pH 4.8)를 사용하여 5 µg/ml (약 0.2 µM)로 희석한 후에 5 µl/분의 유속으로 주사하여 대략 10 반응 단위 (RU)의 커플링된 단백질을 달성한다. 인간 DR5 또는 HER-2를 주사한 후에, 1M 에탄올아민을 주사하여 반응하지 않는 기를 차단한다. 동역학 측정을 위해, Fab (0.78 nM 내지 500 nM)의 2-배 연속 희석액을 0.05% Tween 20 (PBST)이 포함된 PBS에 25 °C에서 대략 25 µl/분의 유속으로 주사한다. 결합 속도 (k_{on}) 및 해리 속도 (k_{off})는 간단한 일대일(one-to-one) 랭뮤어(Langmuir) 결합 모델 (비아코어 평가 소프트웨어 버전 3.2(BIAcore Evaluation Software version 3.2))을 이용하고 동시에 결합 및 해리 센서그램(sensorgram)을 피팅하여 계산한다. 평형 해리 상수 (Kd)는 koff/kon 비율로 계산한다. 예를 들어, 문헌 [Chen, Y., et al., (1999) J. Mol Biol 293:865-881]을 참조한다.
- [0443] "장애"는 본 발명의 물질/분자 또는 방법을 사용하는 치료가 유익한 임의의 상태이다. 이는 포유동물이 해당

장애에 걸리기 쉬운 병적 상태를 비롯하여 만성 및 급성 장애 또는 질환을 포함한다. 본원에서 치료될 장애의 비-제한적 예로는 악성 및 양성 종양; 비-백혈병 및 림프성 악성 종양; 뉴런, 신경교, 성상세포, 시상하부 및 다른 선, 대식세포, 상피, 기질 및 포배강 장애; 및 염증성, 면역학적 관련 장애가 있다.

[0444] 용어 "세포 증식성 장애" 및 "증식성 장애"는 어느 정도의 비정상적인 세포 증식과 연관된 장애를 나타낸다. 한 실시양태에서, 세포 증식성 장애는 암이다.

[0445] 본원에 사용된 "종양"은 모든 신생물성 세포 성장 및 증식 (악성 또는 양성 포함) 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 나타낸다. 용어 "암", "암성", "세포 증식성 장애", "증식성 장애" 및 "종양"은 본원에 언급된 바와 같이 상호 배타적으로 사용되지 않는다.

[0446] 용어 "암" 및 "암성"은 전형적으로 조절되지 않은 세포 성장/증식을 특징으로 하는 포유동물에서의 생리학적 상태를 나타내거나 설명한다. 암의 예로는 암종, 림프종, 교아세포종, 육종 및 백혈병이 있으나 이들로 한정되지는 않는다. 이러한 암의 보다 구체적인 예로는 편평상피 세포암, 소세포 폐암, 비-소세포 폐암, 폐의 선암종, 폐의 편평상피 암종, 복막암, 간세포의 암, 위장암, 췌장암, 아교모세포종, 자궁경부암, 난소암, 간암, 방광암, 간세포암, 유방암, 결장암, 결장직장암, 자궁내막 또는 자궁 암종, 침샘 암종, 신장암, 간암, 전립선암, 외음부암, 갑상선암, 간 암종 및 다양한 유형의 두경부암이 있다.

[0447] 용어 "면역 관련 질환"은 포유동물의 면역계의 성분이 포유동물의 이환을 야기, 매개 또는 다른 방식으로 기여하는 질환을 의미한다. 또한, 면역 반응의 자극 또는 개입이 질환의 진행에 대한 개선 효과를 갖는 질환이 포함된다. 상기 용어에는, 자가면역 질환, 면역-매개 염증성 질환, 비-면역 매개 염증성 질환, 감염성 질환, 및 면역결핍 질환이 포함된다. 그 일부가 면역 또는 T 세포 매개성인, 본 발명에 따라 치료될 수 있는 면역 관련 및 염증성 질환의 예로는 전신 홍반성 루푸스, 류마티스성 관절염, 소아 만성 관절염, 척추관절병증, 전신 경화증 (피부경화증), 특발성 염증성 근육병증 (피부근염, 다발성 근염), 쇼그렌 증후군, 전신성 혈관염, 유육종증, 자가면역 용혈성 빈혈 (면역 범혈구 감소증, 발작성 야간혈색소뇨증), 자가면역 혈소판 감소증 (특발성 혈소판 감소 자반증, 면역-매개 혈소판 감소증), 갑상선염 (그레이브스병, 하시모토 갑상선염, 소아 림프구성 갑상선염, 위축 갑상선염), 진성 당뇨병, 면역-매개 신장병 (사구체신염, 세뇨관 간질성 신장염), 중추 및 말초 신경계의 탈수초성 질환, 에컨대 다발성 경화증, 특발성 탈수초성 다발신경병증 또는 기랑-바레(Guillain-Barre) 증후군, 및 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증; 간담즙성 질환, 에컨대 감염성 간염 (A, B, C, D, E형 간염 및 다른 비간친화도 바이러스), 자가면역 만성 활성 간염, 원발성 담즙성 간경변, 육아종 간염, 및 경화성 담관염, 염증성 및 섬유성 폐 질환, 에컨대 염증성 장 질환 (궤양성 대장염: 크론병); 글루텐 민감 장병증, 및 휘플(Whipple) 병, 자가면역 또는 면역-매개 피부 질환, 에컨대 수포성 피부 질환, 다형성 홍반 및 접촉성 피부염, 건선, 알레르기성 질환, 에컨대 천식, 알레르기성 비염, 아토피성 피부염, 음식 과민증 및 두드러기, 폐의 면역학적 질환, 에컨대 호산구성 폐렴이 있다.

[0448] "자가면역 질환"은 본원에서 넓은 일반적인 의미로 사용되며, 정상적인 또는 건강한 조직의 파괴가 자신의 조직 구성 요소에 대한 개별 포유동물의 체액성 또는 세포성 면역 반응으로부터 발생하는 포유동물의 장애 또는 상태를 나타낸다. 이들의 예로는 전신 홍반성 루푸스, 갑상선염, 류마티스성 관절염, 건선, 다발성 경화증, 자가면역 당뇨병 및 염증성 장 질환 (IBD)이 있으나 이들로 한정되지는 않는다.

[0449] 본원에 사용된 "치료"는 치료될 개체 또는 세포의 자연적 과정을 변화시키기 위한 시도로의 임상적 개입을 나타내며, 예방 목적을 위해 또는 임상 병리학적 과정 동안 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는 질환 발생 또는 재발의 예방, 징후의 경감, 질환의 임의의 직접 또는 간접적인 병리학상 결과의 감소, 전이 예방, 질환 진행 속도의 감소, 질환 상태의 개선 및 완화, 및 진정 및 개선된 예후를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 항체는 질환 또는 장애의 발생을 지연시키는데 사용된다.

[0450] "유효량"은 투여시에 필요한 기간 동안 원하는 치료 또는 예방 결과를 달성하는데 효과적인 양을 나타낸다.

[0451] 본 발명의 물질/분자, 효능제 또는 길항제의 "치료상 유효량"은 개체의 질환 상태, 연령, 성별 및 체중, 및 물질/분자, 효능제 또는 길항제가 개체에서 원하는 반응을 도출해내는 능력과 같은 요인에 따라 달라질 수 있다. 치료상 유효량은 또한 물질/분자, 효능제 또는 길항제의 치료상 유익한 효과가 이들의 임의의 독성 또는 유해한 효과를 능가하는 양이다. "예방상 유효량"은 투여시에 필요한 기간 동안 원하는 예방 결과를 달성하는데 효과적인 양을 나타낸다. 전형적으로 예방적 투여량은 질환에 걸리기 전의 대상체 또는 질환 초기 단계의 대상체에서 사용되므로 예방상 유효량은 치료상 유효량보다 적지만, 반드시 그런 것은 아니다.

[0452] 치료 목적에 있어서 "포유동물"은 인간, 가축 및 농장 동물, 비인간 영장류, 및 동물원, 운동경기용 및 애완용

동물, 예컨대 개, 말, 고양이, 소 등을 비롯하여 포유동물로 분류된 임의의 동물을 나타낸다.

[0453] 용어 "항-신생물성 조성물"은 적어도 하나의 활성 요법제, 예를 들어 "항암제"를 포함하는, 암 치료에 유용한 조성물을 나타낸다. 요법제 (항암제)의 예로는, 예를 들어 화학요법제, 성장 억제제, 세포독성제, 방사선 요법에 사용되는 제제, 항-혈관신생 제제, 아팍토시스 제제, 항-미세소관 제제, 및 암 치료를 위한 다른 제제, 예컨대 항-CD20 항체, 상피 성장 인자 수용체 (EGFR) 길항제 (예를 들어, 티로신 키나제 억제제), HER1/EGFR 억제제 (예를 들어, 에를로티닙 (타르세바(Tarceva; 상표명), 혈소판 유래의 성장 인자 억제제 (예를 들어, 글리벡 (Gleevec; 상표명) (이마티닙 메실레이트)), COX-2 억제제 (예를 들어, 셀레코시브), 인터페론, 사이토킨, 및 표적 ErbB3, ErbB4, PDGFR- β , BlyS, APRIL, BCMA 또는 VEGF 수용체(들) 중 하나 이상에 결합하는 길항제 (예를 들어, 중화 항체), TRAIL/Apo2, 및 다른 생물학적 활성 및 유기 화학 제제 등이 있으나 이들로 한정되지는 않는다. 이들의 조합이 또한 본 발명에 포함된다.

[0454] 본원에 사용된 용어 "에피토프 태그가 부착된"은 "에피토프 태그"에 융합된 항체 돌연변이를 나타낸다. 에피토프 태그 폴리펩티드는 그에 대한 항체가 만들어질 수 있는 에피토프를 제공하기에 충분한 잔기를 갖지만, 항체 돌연변이의 활성을 방해하지 않을 정도로 충분히 짧다. 또한, 에피토프 태그는 완전히 유일하여, 바람직하게는 그에 대한 항체가 다른 에피토프와 실질적으로 교차-반응하지 않는다. 적합한 태그 폴리펩티드는 일반적으로 적어도 6개의 아미노산 잔기, 일반적으로는 약 8 내지 50개의 아미노산 잔기 (특정 실시양태에서는, 약 9 내지 30개의 잔기)를 갖는다. 이들의 예로는 flu HA 태그 폴리펩티드 및 그의 항체 12CA5 (문헌 [Field et al. Mol. Cell. Biol. 8:2159-2165 (1988)]); c-myc 태그 및 그에 대한 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 및 9E10 항체 (문헌 [Evan et al., Mol. Cell. Biol. 5(12):3610-3616 (1985)]); 및 헤르페스 단순 바이러스 당단백질 D (gD) 태그 및 그의 항체 (문헌 [Paborsky et al., Protein Engineering 3(6):547-553 (1990)])가 있으나 이들로 한정되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 에피토프 태그는 "샐비지(salvage) 수용체 결합 에피토프"이다.

[0455] 본원에 사용된 용어 "세포독성제"는 세포의 기능을 억제 또는 방해하고/하거나 세포의 파괴를 유발하는 물질을 나타낸다. 이러한 용어는 방사성 동위원소 (예를 들면, At²¹¹, I¹³¹, I¹²⁵, Y⁹⁰, Re¹⁸⁶, Re¹⁸⁸, Sm¹⁵³, Bi²¹², P³² 및 Lu의 방사성 동위원소); 화학요법제, 예를 들면 메토평렉세이트, 아드리아미신, 빈카 알칼로이드 (빈크리스틴, 빈블라스틴, 에토평시드), 독소루비신, 멜팔란, 미토마이신 C, 클로람부실, 다우노루비신 또는 다른 인터칼레이팅제(intercalating agent); 핵산분해 효소와 같은 효소 및 그의 단편; 항생제; 및 독소, 예컨대 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 소분자 독소 또는 효소 활성 독소 (이들의 단편 및/또는 변이체 포함); 및 하기에 개시한 다양한 항종양제 또는 항암제를 포함하는 것으로 간주한다. 다른 세포독성제는 하기에 기재되어 있다. 항종양제는 종양 세포의 파괴를 유발한다.

[0456] "화학요법제"는 암 치료에 유용한 화합물이다. 화학요법제의 예로는 알킬화제, 예컨대 티오테파 및 시톡산 (CYTOXAN; 등록상표) 시클로스포스파미드; 알킬 술포네이트, 예컨대 부술판, 임프로술판 및 피포술판; 아지리딘, 예컨대 벤조도파, 카르보쿠온, 메투레도파 및 우레도파; 에틸렌이민 및 메틸아멜라민 (알트레타민, 트리에틸렌멜라민, 트리에틸렌포스포르아미드, 트리에틸렌티오포스포르아미드 및 트리에틸올로멜라민 포함); 아세토게닌 (특히, 블라타신 및 블라타시논); δ -9-테트라히드로칸나비놀 (드로나비놀, 마리놀(MARINOL; 등록상표)), β -라파론; 라파롤; 콜치신; 베톨린산; 캄프토테신 (합성 유사체 토포테칸 (히캄틴(HYCANTIN; 등록상표), CPT-11 (이리노테칸, 캄프토사르(CAMPTOSAR; 등록상표), 아세틸캄프토테신, 스코폴렉틴 및 9-아미노캄프토테신 포함); 브리오스타틴; 칼리스타틴; CC-1065 (그의 아도젤레신, 카르젤레신 및 비젤레신 합성 유사체 포함); 포도필로톡신; 포도필린산; 테니포시드; 크립토피신 (특히 크립토피신 1 및 크립토피신 8); 돌라스타틴; 듀오카르미신 (합성 유사체, KW-2189 및 CB1-TM1 포함); 엘레우테로빈; 판크라티스타틴; 사르코딕타인; 스폰기스타틴; 질소 머스타드, 예컨대 클로르아부실, 클로르나파진, 콜로포스파미드, 에스트라무스틴, 이포스파미드, 메클로레타민, 메클로레타민 옥시드 히드로클로라이드, 멜팔란, 노벡비친, 페네스테린, 프레드니무스틴, 트로포스파미드, 우라실 머스타드; 니트로스우레아, 예컨대 카르무스틴, 클로로조토신, 포테무스틴, 로무스틴, 니무스틴 및 라님누스틴; 항생제, 예컨대 엔딘 항생제 (예를 들어, 칼리케아미신, 특히 칼리케아미신 γ II 및 칼리케아미신 ω II) (예를 들어, 문헌 [Agnew, Chem Int'l. Ed. Engl., 33: 183-186 (1994)] 참조); 다이네미신, 예컨대 다이네미신 A; 에스페라미신; 뿐만 아니라 네오카르지노스타틴 발색단 및 관련 색소단백질 엔딘 항생제 발색단), 아클라시노마이신, 악티노마이신, 아우트라마이신, 아자세린, 블레오마이신, 캄티노마이신, 카라비신, 카르미노마이신, 카르지노필린, 크로모마이시니스, 닥티노마이신, 다우노루비신, 데토루비신, 6-디아조-5-옥소-L-노르류신, 아드리아마이신(ADRIAMYCIN; 등록상표) 독소루비신 (모르폴리노-독소루비신, 시아노모르폴리노-독소루비신, 2-피롤리노-독소루비신 및 데옥시독소루비신 포함), 에피루비신, 에소루비신, 이다루비신, 마르셀로마이신, 미토마이신, 예컨대 미토마이신 C, 미코페놀산, 노갈라마이신, 올리보마이신, 페플로마이신, 포트피로

마이신, 푸로마이신, 쿠엘라마이신, 로도루비신, 스트렙토니그린, 스트렙토조신, 투베르시딘, 우베니멕스, 지노스타틴, 조루비신; 항-대사물질, 예컨대 메토크렉세이트 및 5-플루오로우라실 (5-FU); 폴산 유사체, 예컨대 테노프테린, 메토크렉세이트, 프테로프테린, 트리메트렉세이트; 퓨린 유사체, 예컨대 플루다라빈, 6-머캅토피린, 티아미프린, 티오구아닌; 피리미딘 유사체, 예컨대 안시타빈, 아자시티딘, 6-아자우리딘, 카르모푸르, 시타라빈, 디데옥시우리딘, 독시플루리딘, 에노시타빈, 플록스우리딘; 안드로겐, 예컨대 칼루스테론, 드로모스타놀론 프로피오네이트, 에피티오스타놀, 메피티오스탄, 테스톨락톤; 항-부신 물질, 예컨대 아미노글루테티미드, 미토탄, 트릴로스탄; 폴산 보충물, 예컨대 프롤린산; 아세글라톤; 알도포스파미드 글리코시드; 아미노레볼린산; 에닐우라실; 암사크린; 베스트라부실; 비산트렌; 에다트렉세이트; 데포파민; 데메콜신; 디아지쿰; 엘포르니틴; 엘립티늄 아세테이트; 에포틸론; 에토글루시드; 갈륨 니트레이트; 히드록시우레아; 렌티난; 로니다이닌; 메이탄시노이드, 예컨대 메이탄신 및 안사미토신; 미토구아존; 미톡산트론; 모피단물; 니트라에린; 펜토스타틴; 페나메트; 피라루비신; 로속산트론; 2-에틸히드라지드; 프로카르바진; PSK(등록상표) 다당류 복합체 (JHS 내츄럴 프로덕츠(JHS Natural Products), 미국 오리곤주 유진 소재); 라족산; 리족신; 시조피란; 스피로게르마늄; 테누아존산; 트리아지쿰; 2,2',2"-트리클로로트리에틸아민; 트리코테센 (특히, T-2 독소, 베라쿠린 A, 로리딘 A 및 안구이딘); 우레탄; 빈데신 (엘디신(ELDISINE; 등록상표), 필데신(FILDESIN; 등록상표)); 다카르바진; 만노무스틴; 미토브로니톨; 미토락톨; 피포브로만; 가시토신; 아라비노시드 ("Ara-C"); 티오테파; 탁소이드, 예를 들어 탁솔(TAXOL; 등록상표) 파클리탁셀 (브리스톨-마이어스 스킵 온콜로지(Bristol-Myers Squibb Oncology), 미국 뉴저지주 프린스턴 소재), 아브락산(ABRAXANE; 상표명), 파클리탁셀의 크레모포르-무함유 알부민-가공된 나노입자 제제 (아메리칸 파마슈티칼 파트너스(American Pharmaceutical Partners), 미국 일리노이주 샴버그 소재), 및 탁소테레(TAXOTERE; 등록상표) 도세탁셀 (롱-프랑 로라(Rhone-Poulenc Rorer), 프랑스 안토니 소재); 클로란부실; 겐시타빈 (겐자르(GEMZAR; 등록상표)); 6-티오구아닌; 머캅토피린; 메토크렉세이트; 백금 유사체, 예컨대 시스플라틴 및 카르보플라틴; 빈블라스틴 (벨반(VELBAN; 등록상표)); 백금; 에토포시드 (VP-16); 이포스파미드; 미톡산트론; 빈크리스틴 (온코빈(ONCOVIN; 등록상표)); 옥살리플라틴; 류코보빈; 비노렐빈 (나벨빈(NAVELBINE; 등록상표)); 노반트론; 에다트렉세이트; 다우노마이신; 아미노프테린; 이반드로네이트; 토포이소머라제 억제제 RFS 2000; 디플루오로메틸오르니틴 (DMFO); 레티노이드, 예컨대 레티노산; 카페시타빈 (젤로다(XELODA; 등록상표)); 이들 중 어느 하나의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체; 뿐만 아니라 이들 중 둘 이상의 조합, 예컨대 CHOP (시클로포스파미드, 독소루비신, 빈크리스틴 및 프레드니솔론의 병용 요법의 약어) 및 FOLFOX (5-FU 및 류코보빈과 함께 옥살리플라틴 (엘록산틴(ELOXATIN; 상표명))을 사용하는 치료 처방의 약어)가 있다.

[0457]

본 정의에는 또한 암의 성장을 촉진시킬 수 있는 호르몬의 효과를 조절, 감소, 차단 또는 억제하는 작용을 하는 항-호르몬 제제가 포함되며, 종종 전신 또는 전체 치료 형태가 포함된다. 이들은 호르몬 자체일 수도 있다. 그 예로는 항-에스트로겐 및 선택적인 에스트로겐 수용체 조절자 (SERM), 예를 들면 타목시펜 (놀바덱스(NOLVADEX; 등록상표) 타목시펜 포함), 에비스타(EVISTA; 등록상표) 탈록시펜, 드롤록시펜, 4-히드록시타목시펜, 트리옥시펜, 케옥시펜, LY117018, 오나프리스톤 및 파레스톤(FARESTON; 등록상표) 토레미펜; 항-프로게스테론; 에스트로겐 수용체 하향-조절자 (ERD); 난소를 억제 또는 차단하는 기능을 하는 제제, 예를 들면 황체형성 호르몬-방출 호르몬 (LHRH) 효능제, 예컨대 루프론(LUPRON; 등록상표) 및 엘리가드(ELIGARD; 등록상표) 류플로리드 아세테이트, 고세렐린 아세테이트, 부세렐린 아세테이트 및 트리프테렐린; 다른 항-안드로겐, 예컨대 플루타미드, 닐루타미드 및 비칼루타미드; 및 부신에서 에스트로겐 생성을 조절하는 효소 아로마타제를 억제하는 아로마타제 억제제, 예를 들어 4(5)-이미다졸, 아미노글루테티미드, 메가세(MEGASE; 등록상표) 메게스트롤 아세테이트, 아로마신(AROMASIN; 등록상표) 엑세메스탄, 포르메스타니, 파드로졸, 리비조르(RIVISOR; 등록상표) 보로졸, 페마라(FEMARA; 등록상표) 레트로졸 및 아리미덱스(ARIMIDEX; 등록상표) 아나스트로졸이 있다. 또한, 이러한 화학요법제의 정의는 비스포스포네이트, 예컨대 클로드로네이트 (예를 들어, 보네포스(BONEFOS; 등록상표) 또는 오스타(OSTAC; 등록상표)), 디드로칼(DIDROCAL; 등록상표) 에티드로네이트, NE-58095, 조메타(ZOMETA; 등록상표) 졸레드론산/졸레드로네이트, 포사막스(FOSAMAX; 등록상표) 알렌드로네이트, 아레디아(AREDIA; 등록상표) 파미드로네이트, 스킴리드(SKELID; 등록상표) 티루드로네이트 또는 악토넬(ACTONEL; 등록상표) 리세드로네이트; 뿐만 아니라 트루사시타빈 (1,3-디옥솔란 뉴클레오시드 시토신 유사체); 안티센스 올리고뉴클레오타이드, 특히 비정상적인 세포 증식과 관련된 신호전달 경로의 유전자의 발현을 억제하는 것, 예를 들어 PKC- α , Raf, H-Ras 및 상피 성장 인자 수용체 (EGF-R); 백신, 예컨대 테라토프(THERATOPE; 등록상표) 백신 및 유전자 요법 백신, 예를 들어 알로벡틴(ALLOVECTIN; 등록상표) 백신, 류벡틴(LEUVECTIN; 등록상표) 백신 및 백시드(VAXID; 등록상표) 백신; 루르토테칸(LURTOTECAN; 등록상표) 토포이소머라제 1 억제제; 아바렐릭스(ABARELIX; 등록상표) rmRH; 라파티닙 디토실레이트 (ErbB-2 및 EGFR 이중 티로신 키나제 소분자 억제

제, GW572016으로도 공지되어 있음); 및 이들 중 어느 하나의 제약상 허용되는 염, 산 또는 유도체가 있다.

- [0458] "성장 억제제"는, 본원에 사용된 경우, 시험관내 또는 생체내에서 그의 성장이 관심있는 표적 분자의 활성화에 의존하는 세포의 성장을 억제하는 화합물 또는 조성물을 나타낸다. 따라서, 성장 억제제는 S-기에서의 표적 분자-의존성 세포의 비율(%)을 상당히 감소시키는 것일 수 있다. 성장 억제제의 예로는 세포 주기 진행을 (S-기 이외의 시기에서) 차단하는 제제, 예컨대 G1 정지 및 M-기 정지를 유도하는 제제가 있다. 종래의 M-기 차단제로는 빈카 (빈크리스틴 및 빈블라스틴), 탁산 및 토포이소머라제 II 억제제, 예컨대 독소루비신, 에피루비신, 다우노루비신, 에토포시드 및 블레오마이신이 있다. G1 정지 여파로 S-기 정지를 초래하는 제제의 예로는 DNA 알킬화제, 예컨대 타목시펜, 프레드니손, 다카르바진, 메클로레타민, 시스플라틴, 메토티렉세이트, 5-플루오로우라실 및 아라-C가 있다. 보다 자세한 정보는 문헌 [Murakami et al., The Molecular Basis of Cancer, Mendelsohn and Israel, eds., "Cell cycle regulation, oncogens, and antineoplastic drugs" (WB Saunders: Philadelphia, 1995), Chapter 1] (특히 제13면)에서 찾을 수 있다. 탁산 (파클리탁셀 및 도세탁셀)은 주목(yew tree)으로부터 유래된 항암 약물이다. 유럽 주목으로부터 유래된 도세탁셀 (탁소테레; 등록상표), 롱-프랑 로라 제품)은 파클리탁셀 (탁술; 등록상표), 브리스톨-마이어스 스킵 제품)의 반합성 유사체이다. 파클리탁셀 및 도세탁셀은 튜불린 이량체로부터의 미세소관이 조립되는 것을 촉진하고 탈중합을 방해함으로써 미세소관을 안정시켜, 세포의 유사분열을 억제한다.
- [0459] "독소루비신"은 안트라사이클린 항생제이다. 독소루비신의 전체 화학명은 (8S-시스)-10-[(3-아미노-2,3,6-트리테옥시- α -L-리코-헥사피라노실)옥시]-7,8,9,10-테트라히드로-6,8,11-트리히드록시-8-(히드록시아세틸)-1-메톡시-5,12-나프타세네디온이다.
- [0460] 본 출원에서 사용된 용어 "전구약물"은 모 약물에 비해 중앙 세포에 대한 세포독성이 적고, 효소에 의해 활성화되거나 활성이 더 높은 모 형태로 전환될 수 있는 제약상 활성 물질의 전구체 또는 유도체 형태를 나타낸다 (예를 들어, 문헌 [Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986)] 및 [Stella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchardt et al., (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)] 참조). 본 발명의 전구약물로는 포스페이트-함유 전구약물, 티오포스페이트-함유 전구약물, 술페이트-함유 전구약물, 펩티드-함유 전구약물, D-아미노산-변형 전구약물, 글리코실화 전구약물, β -락탐-함유 전구약물, 임의로 치환된 페녹시아세트아미드-함유 전구약물 또는 임의로 치환된 페닐아세트아미드-함유 전구약물, 활성이 더 높은 세포독성 유리 약물로 전환될 수 있는 5-플루오로시토신 및 다른 5-플루오로우리딘 전구약물이 있으나, 이에 한정되지는 않는다. 본 발명에서 사용하기 위한 전구약물 형태로 유도체화될 수 있는 세포독성 약물의 예로는 상기 기재한 화학요법제가 있으나, 이에 한정되지는 않는다.
- [0461] 류마티스성 관절염 ("RA") 치료의 경우, 환자에게 본 발명의 항체를 임의의 1종 이상의 하기 약물들과 함께 처치할 수 있다: DMARDS (질환-변형 항-류마티스성 약물 (예를 들어, 메토티렉세이트), NSAI 또는 NSAID (비-스테로이드성 항-염증성 약물), HUMIRA(상표명) (아달리무맙; 애보트 레보러토리즈(Abbott Laboratories)), ARAVA (등록상표) (레플루노미드), REMICADE(등록상표) (인플릭시맙; 미국 켈실베니아주 앨번 소재의 센토커 인크.(Centocor Inc.)), ENBREL(상표명) (이타너셉트; 미국 워싱턴주 소재의 이뮤넥스(Immunex)) 및 COX-2 억제제. RA에 통상적으로 사용되는 DMARD는 히드록시클로로퀸, 술파살라진, 메토티렉세이트, 레플루노미드, 이타너셉트, 인플릭시맙, 아자티오프린, D-페니실라민, 골드(Gold) (경구), 골드 (근육내), 미노시클린, 시클로스포린 및 스탕필로코쿠스(Staphylococcal) 단백질 A 면역흡착제이다. 아달리무맙은 TNF에 결합하는 인간 모노클로날 항체이다. 인플릭시맙은 TNF에 결합하는 키메라 모노클로날 항체이다. 이타너셉트는 인간 IgG1의 Fc 부분에 연결된 인간 75 kD (p75) 중앙 과사 인자 수용체 (TNFR)의 세포외 리간드 결합 부분으로 이루어진 "이뮤노어드헤신" 융합 단백질이다. 통상적인 RA 치료에 대해, 예를 들면 문헌 ["Guidelines for the management of rheumatoid arthritis" Arthritis & Rheumatism 46(2):328-346 (February, 2002)]을 참조한다. 특정 실시양태에서, RA 환자는 메토티렉세이트 (MTX)와 함께 본 발명의 CD20 항체로 처치한다. MTX의 예시 투여량은 약 7.5 내지 25 mg/kg/wk이다. MTX는 경구 또는 피하 투여될 수 있다.
- [0462] 감작성 척추염, 건선 관절염 및 크론병 치료의 경우, 환자는 예를 들면 레미카데(Remicade;등록상표) (인플릭시맙; 미국 켈실베니아주 앨번 소재의 센토커 인크.) 및/또는 ENBREL (이타너셉트; 미국 워싱턴주 소재의 이뮤넥스)과 함께 본 발명의 항체로 처치할 수 있다.
- [0463] SLE 치료의 경우, 환자에게 본 발명의 항체를, 예를 들면 고투여량 코르티코스테로이드 및/또는 시클로포스파미드 (HDCC)와 함께 처치할 수 있다.

- [0464] 건선 치료의 경우, 환자에게 본 발명의 항체를 국소용 스테로이드, 안트라린, 칼시포트리엔, 클로베타졸 및 타자로텐과 같은 국소 치료제, 또는 메토크세이트, 레티노이드, 시클로스포린, PUVA 및 UVB 요법과 함께 투여할 수 있다. 한 실시양태에서는, 건선 환자에게 항체를 시클로스포린과 순차적으로 또는 동시에 처치한다.
- [0465] "단리된" 핵산 분자는 본래 항체 핵산의 자연 공급원에서 연관된 적어도 하나의 오염 핵산 분자로부터 동정 및 분리된 핵산 분자이다. 단리된 핵산 분자는 자연에서 발견되는 형태 또는 설정과 다르다. 따라서, 단리된 핵산 분자는 자연 세포에 존재하는 핵산 분자와 구별된다. 그러나, 단리된 핵산 분자는, 예를 들면 핵산 분자가 자연 세포와 상이한 염색체 위치에 있는 경우에, 본래 항체를 발현시키는 세포에 함유된 핵산 분자를 포함한다.
- [0466] 용어 "제어 서열"은 특정 숙주 유기체 내에서 작동가능하게 연결된 코딩 서열의 발현에 필요한 DNA 서열을 나타낸다. 원핵생물에 적합한 제어 서열은 예를 들어 프로모터, 임의로는 오퍼레이터 서열 및 리보솜 결합 부위를 포함한다. 진핵 세포는 프로모터, 폴리아데닐화 신호 및 인핸서를 이용하는 것으로 알려져 있다.
- [0467] 출발 또는 참조 폴리펩티드 (예를 들어, 공급원 항체 또는 그의 가변 도메인(들)/CDR(들)), 예컨대 융합 단백질 (폴리펩티드) 또는 이중 폴리펩티드 (파지에 대해 이중임)의 "변이체" 또는 "돌연변이"는 1) 출발 또는 참조 폴리펩티드와 상이한 아미노산 서열을 갖고, 2) 자연 또는 인공 (인조) 돌연변이유발을 통해 출발 또는 참조 폴리펩티드로부터 유래된 폴리펩티드이다. 이러한 변이체는, 예를 들어 관심있는 폴리펩티드의 아미노산 서열 내의 잔기의 결실, 및/또는 이들로의 삽입, 및/또는 이들의 치환을 포함한다. 예를 들어, 변이체 아미노산 (공급원 항체/항원 결합 단편의 상응하는 위치에서 발견되는 아미노산과 관련됨)을 갖는 서열을 코딩하는 한정된 코돈 세트를 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 생성된 본 발명의 융합 폴리펩티드는 공급원 항체 및/또는 항원 결합 단편 및/또는 CDR과 관련된 변이체 폴리펩티드일 것이다. 따라서, 변이체 CDR은 출발 또는 참조 폴리펩티드 서열(예컨대, 공급원 항체 및/또는 항원 결합 단편 및/또는 CDR의 서열)과 관련된 변이체 서열을 포함하는 CDR을 나타낸다. 변이체 아미노산은 이러한 맥락에서 출발 또는 참조 폴리펩티드 서열 (예컨대, 공급원 항체 및/또는 항원 결합 단편 및/또는 CDR의 서열)의 상응하는 위치에서의 아미노산과 상이한 아미노산을 나타낸다. 결실, 삽입 및 치환을 임의로 조합하여 최종 변이체 또는 돌연변이 구축물에 도달할 수 있으며, 단 최종 구축물은 원하는 기능적 특성을 보유한다. 본원에 기재된 몇몇 예에서, 결합체 서열은 결실 또는 첨가와 같은 점 돌연변이를 함유한다. 아미노산 변화는 또한 글리코실화 부위의 수 또는 위치를 변화시키는 것과 같이 폴리펩티드의 번역후 과정을 변화시킬 수 있다. 폴리펩티드의 아미노산 서열 변이체의 생성 방법은 미국 특허 제 5,534,615호 (거명을 통해 본원에 참고로 포함됨)에 기재되어 있다.
- [0468] "야생형" 또는 "참조" 서열, 또는 "야생형" 또는 "참조" 단백질/폴리펩티드, 예컨대 외피 단백질 또는 공급원 항체의 CDR 또는 가변 도메인의 서열은 변이체 폴리펩티드가 돌연변이의 도입을 통해 유래된 참조 서열일 수 있다. 일반적으로, 주어진 단백질에 대한 "야생형" 서열은 자연에서 가장 통상적인 서열이다. 이와 마찬가지로, "야생형" 유전자 서열은 자연에서 가장 통상적으로 발견되는 유전자의 서열이다. 돌연변이는 자연적인 과정 또는 인간-유도된 수단을 통해 "야생형" 유전자 (및, 이에 따라 이것이 코딩하는 단백질)에 도입될 수 있다. 이러한 과정의 생성물이 본래 "야생형" 단백질 또는 유전자의 "변이체" 또는 "돌연변이" 형태이다.
- [0469] 본원에 사용된 본 발명의 "복수"의 물질, 예컨대 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오타이드는 일반적으로 2 가지 이상의 유형 또는 종류의 물질의 수집물을 나타낸다. 2 가지 이상의 물질이 특정 아미노산 위치에서 발견되는 변이체 아미노산과 같은 특정한 특징과 관련하여 서로 상이하다면 2 가지 이상의 유형 또는 종류의 물질이 존재한다. 예를 들어, 변이체 CDR의 서열 또는 특정 용매 접근가능하고 고도로 다양한 아미노산 위치에서의 변이체 아미노산을 제외한 서열이 실질적으로 동일하거나 또는 일치하는 2 가지 이상의 본 발명의 폴리펩티드가 존재하는 경우 복수의 본 발명의 폴리펩티드가 존재한다. 또다른 예에서, 변이체 CDR을 코딩하는 서열 또는 특정 용매 접근가능하고 고도로 다양한 아미노산 위치에 대해 변이체 아미노산을 코딩하는 서열을 제외한 서열이 실질적으로 동일하거나 또는 일치하는 2 가지 이상의 본 발명의 폴리뉴클레오타이드가 존재하는 경우 복수의 본 발명의 폴리뉴클레오타이드가 존재한다.
- [0470] 본 발명은 선별된 항원에 대해 고친화도를 가질 수 있는 항체 또는 항원 결합 단편과 같은 신규한 표적 항원 결합 폴리펩티드의 생성 및 단리 방법을 제공한다. 복수의 상이한 결합체 폴리펩티드는 공급원 항체 경쇄 가변 도메인 및/또는 중쇄 가변 도메인에서 선별된 하나 이상의 아미노산 위치를 한정된 코돈 세트의 돌연변이화(다양화)시켜 적어도 하나의 CDR 서열에서 변이체 아미노산을 갖는 결합체 폴리펩티드의 라이브러리를 생성하여 제조하며, 여기서 변이체 아미노산 유형의 수는 최소 (즉, 19개 이하, 15개 이하, 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하, 또는 오직 2개, 일반적으로 적어도 2개)로 유지된다. 아미노산 위치는 예를 들면 공급원 항체의 구조 분석에 의해 결정된 바와 같이 용매 접근가능하고/하거나 공지된 및/또는 자연 발생 이뮤노글로불린 폴

리펩티드 사이에서 고도로 다양한 위치를 포함한다. 본 발명의 제한된 다양화 특성에 의해 제공된 추가의 이점은 고도로 다양하고/거나 용매 접근가능한 위치가 아닌 추가의 아미노산 위치가 또한 실시자의 필요 또는 요구에 따라 다양화될 수 있다는 점이며, 이들 실시양태의 예가 본원에 기재되어 있다.

[0471] 특정 실시양태에서, 용매 접근가능하고 고도로 다양한 아미노산 위치는 CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2, CDRH3, 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 항체 가변 도메인의 CDR 영역 내의 위치이다. 아미노산 위치는 각각 제한된 수의 아미노산을 코딩하는 한정된 코돈 세트를 사용하여 돌연변이화되고, 아미노산의 선택은 일반적으로 각각의 위치에서 공통적으로 발생하는 아미노산에 독립적이다. 일부 실시양태에서, CDR 영역 내의 용매 접근가능하고 고도로 다양한 위치가 돌연변이화되는 경우, 2 내지 10개, 2 내지 8개, 2 내지 6개, 2 내지 4개 및/또는 오직 2개의 아미노산을 코딩하는 코돈 세트가 선별된다. 일부 실시양태에서, CDR 영역 내의 용매 접근가능하고 고도로 다양한 위치가 돌연변이화되는 경우, 2 내지 19개, 2 내지 15개, 2 내지 10개, 3 내지 9개, 4 내지 8개 및/또는 5 내지 7개의 아미노산을 코딩하는 코돈 세트가 선별된다. 일부 실시양태에서, 코돈 세트는 2개 이상 및 19개 이하, 15개 이하, 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하의 아미노산을 코딩한다. CDR 서열은 또한 길이를 변화시켜 다양화될 수 있다. 예를 들어, CDRH3의 경우, 상이한 길이를 갖고/거나 한정된 코돈 세트를 사용하여 선별된 위치에서 무작위화된 변이체 CDRH3 영역을 생성할 수 있다.

[0472] 변이체 CDR을 포함하는 폴리펩티드 라이브러리의 다양성은 최소이지만 충분한 정도의 서열 다양성이 CDR에 도입되도록 하는 제한된 수의 아미노산만을 코딩하는 코돈 세트를 사용하여 디자인된다. CDR에서 돌연변이화되는 위치의 수는 최소화되고, 각각의 위치에서의 변이체 아미노산은 공지된 및/또는 자연 발생 CDR 내의 해당 위치에서 공통적으로 발생하는 것으로 생각되는 아미노산과는 별도로 제한된 수의 아미노산을 포함하도록 디자인된다. 특정 실시양태에서, 적어도 하나의 CDR을 포함하는 단일 항체가 공급원 항체로 사용된다. 놀랍게도 주형으로 단일 공급원 항체를 사용하고 통상적이지 않은 제한된 수의 아미노산 치환을 사용하여 특정 위치에 대한 다양성을 표적화하여 서열 및 크기 다양성을 갖는 항체 가변 도메인의 라이브러리를 생성할 수 있었다.

[0473] 항체 가변 도메인의 다양성 디자인

[0474] 본 발명의 한 측면에서, 항체 가변 도메인의 고품질의 라이브러리가 생성된다. 라이브러리는 CDR 서열의 상이한 서열의 한정된 다양성, 예를 들어 항체 가변 도메인의 다양성을 갖는다. 라이브러리는 예를 들어 DR5 및 인간 HER-2를 비롯한 하나 이상의 항원에 대한 고친화도 결합 항체 가변 도메인을 포함한다. 라이브러리의 다양성은 단일 공급원 항체에서 용매 접근가능하며 고도로 다양한 아미노산 위치를 선별하고, 이 위치를 적어도 하나의 CDR에서 한정된 코돈 세트를 사용하여 돌연변이화시켜 디자인된다. 특정 실시양태에서, 한정된 코돈 세트는 19, 15, 10, 8, 6 또는 4개 미만의 아미노산을 코딩할 수 있거나 또는 2개 아미노산만을 코딩할 수도 있다.

[0475] 한 공급원 항체는 인간화 항체 4D5이지만, 다양화 방법은 서열이 공지되어 있는 다른 공급원 항체에 적용될 수 있다. 공급원 항체는 자연 발생 항체, 합성 항체, 재조합 항체, 인간화 항체, 생식 계통 유래의 항체, 키메라 항체, 친화도 성숙 항체, 또는 그의 항원 결합 단편일 수 있다. 항체는 인간, 마우스 및 래트를 비롯하여 다양한 포유동물 종으로부터 수득할 수 있다. 일부 실시양태에서, 공급원 항체는 친화도 성숙 단계(들) 이전에 최초의 친화도 스크리닝 과정을 1회 이상 수행한 후에 수득한 항체이다. 공급원 항체는 세포 배양액에서 생성되는 경우에 고수율 및 안정성을 제공하도록 선별 또는 변형될 수 있다.

[0476] 항체 4D5는 HER-2 (erbB2)로 알려진 암-연관 항원에 대해 특이적인 인간화 항체이다. 항체는 컨센서스 프레임 워크 영역을 갖는 가변 도메인을 포함하고; 여기서 인간화 항체의 친화도 증가 과정 동안 몇 개의 위치가 마우스 서열로 복구된다. 인간화 항체 4D5의 서열 및 결정 구조는 U.S. 6,054,297, 문헌 [Carter et al, PNAS 89:4285 (1992)]에 기재되어 있고, 결정 구조는 문헌 [J Mol. Biol. 229:969 (1993)] 및 온라인 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?form=6&db=t&Dopt=s&uid=990>, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?form=6&db=t&Dopt=s&uid=991>, 및 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/mmdbsrv.cgi?form=6&db=t&Dopt=s&uid=992>)에 도시되어 있다.

[0477] 항체 가변 도메인에서 다양성을 생성하기 위한 기준은 용매 접근가능한 (상기 정의된 바와 같음) 위치에서 잔기를 돌연변이화시키는 것이다. 이들 위치는 전형적으로 CDR에서 발견되며, 전형적으로는 단백질의 외면에 존재한다. 특정 실시양태에서, 용매 접근가능한 위치는 인사이트II 프로그램 (엑셀리스, 미국 캘리포니아주 샌 디에고 소재)과 같은 컴퓨터 프로그램을 사용하는 항체의 3-차원 모델로부터 좌표를 사용하여 결정된다. 용매 접근가능한 위치는 또한 당업계에 공지된 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Lee and Richards, J. Mol. Biol. 55, 379 (1971)] 및 [Connolly, J. Appl. Cryst. 16, 548 (1983)]). 용매 접근가능한 위치의 결정은 단백질 모델링에 적합한 소프트웨어 및 항체로부터 수득한 3-차원 구조 정보를 이용하여 수행

할 수 있다. 이들 목적을 위해 사용될 수 있는 소프트웨어는 사이빌(SYBYL) 생물학적 중합체 모듈 소프트웨어 (트리포스 어소시에이츠)를 포함한다. 일반적으로, 특정 실시양태에서, 알고리즘 (프로그램)이 사용자 입력 크기 파라미터를 요구하는 경우, 계산에 사용되는 프로브의 "크기"는 약 1.4 Å 이하의 반경으로 설정된다. 또한, 퍼스널 컴퓨터용 소프트웨어를 이용하는 용매 접근가능한 영역 및 구역 결정 방법은 문헌 [Pacios ((1994) "ARVOMOL/CONTOUR: molecular Surface areas and volumes on Personal Computers", Comput. Chem. 18(4):377-386]; 및 ["Variations of Surface Areas and Volumes in Distinct Molecular Surfaces of Biomolecules." J. Mol. Model. (1995), 1:46-53]에 기재되어 있다.

[0478] 일부 경우에, 용매 접근가능한 잔기의 선별은 예를 들어 참조 폴리펩티드 또는 공급원 항체가 그의 3-D 폴딩된 구조일 때 공동으로 최소 인접 패치를 형성하는 용매 접근가능한 잔기를 선택하여 추가로 한정된다. 예를 들어, 도 2에 도시되어 있는 바와 같이, 조밀한 (최소) 인접 패치는 인간화 4D5의 CDRH1/H2/H3/L1/L2/L3에 대해 선별된 잔기에 의해 형성된다. 조밀한 (최소) 인접 패치는 오직 CDR의 전체 범주의 서브셋 (예를 들어, 2-5 CDR), 예를 들어 CDRH1/H2/H3/L3을 포함할 수 있다. 이러한 패치의 형성에 기여하지 않는 용매 접근가능한 잔기는 임의로는 다양화로부터 배제될 수 있다. 이러한 기준에 의해 선별을 개선시키면 경우에 따라 실시자가 다양화될 잔기의 수를 최소화시킬 수 있다. 예를 들어, H1의 잔기 28은 패치의 가장자리 상에 존재하기 때문에 임의로는 다양화에서 배제될 수 있다. 그러나, 이러한 선별 기준은 경우에 따라 반드시 용매 접근가능한 것으로 여겨지지 않을 수 있는 다양화될 잔기를 선택하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 용매 접근가능한 것으로 여겨지지는 않지만, 용매 접근가능한 것으로 여겨지는 다른 잔기와 3-D 폴딩된 구조로 인접 패치를 형성하는 잔기가 다양화를 위해 선별될 수 있다. 그의 한 예는 CDRL1-29이다. 이러한 잔기의 선별은 당업자에게 명백해질 것이며, 그의 적절성은 또한 경험적으로 숙련된 실시자의 필요 및 요구에 따라 결정될 수 있다.

[0479] 각각의 CDR에 대한 인간화 항체 4D5의 결정 구조로부터 확인된 용매 접근가능한 위치는 다음과 같다 (Kabat에 따른 잔기 위치):

[0480] CDRL1: 28, 30, 31, 32

[0481] CDRL2: 50, 53

[0482] CDRL3: 91, 92, 93, 94, 96

[0483] CDRH1: 28, 30, 31, 32, 33

[0484] CDRH2: 50, 52, 52A, 53, 54, 55, 56, 57, 58.

[0485] 또한, 일부 실시양태에서, CDRL1의 잔기 29는 또한 다른 용매 접근가능한 잔기를 포함하는 인접 패치에서의 그의 함유물에 기초하여 선별될 수 있다. 상기 열거된 바와 같은 용매 접근가능한 위치 모두 또는 이들의 서브셋이 본 발명의 방법 및 조성물에서 다양화될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시양태에서, 오직 위치 50, 52, 52a, 53-56 및 58이 CDRH2에서 무작위화된다.

[0486] 돌연변이화될 위치를 선별하는 또다른 기준은 공지된 및/또는 자연 항체의 서열과 비교하였을 때 아미노산 서열에서 변화가 나타나는 위치이다. 고도로 다양한 위치는 공지된 및/또는 자연 항체/항원 결합 단편의 아미노산 서열과 비교하였을 때 그 위치에서 나타난 다수의 상이한 아미노산을 갖는 경쇄 또는 중쇄의 가변 영역에 위치한 아미노산의 위치를 나타낸다. 고도로 다양한 위치는 CDR 영역에 있을 수 있다. CDRH3의 위치는 모두 고도로 다양한 것으로 간주된다. 특정 실시양태에서, 아미노산 잔기는 해당 위치에서 약 2 내지 약 19개 (이 수치는 본원에 기재된 범위에서 달라질 수 있음)의 상이한 가능한 아미노산 잔기 변이를 갖는 경우에 고도로 다양하다.

[0487] 한 측면에서, 공지된 및/또는 자연 발생 항체에서의 고도로 다양한 위치의 확인은 Kabat에 의해 제공된 데이터에 의해 용이해진다 (문헌 [Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1987 and 1991)]). <http://www.bioinf.org.uk/abs/structures.html>에 위치한 인터넷-기반의 데이터베이스는 경쇄 (<http://www.bioinf.org.uk/abs/lc.align>) 및 중쇄 (<http://www.bioinf.org.uk/abs/hc.align>) 서열의 대규모 수집 및 정렬을 제공하고, 이들 서열에서 고도로 다양한 위치의 결정을 용이하게 한다. 공지된 및/또는 자연 발생 경쇄 및 중쇄에서 인간화 항체 4D5의 용매 접근가능한 위치에서의 다양성은 도 3 및 4에 나타내었다.

[0488] 본 발명의 한 측면에서, CDRL1, CDRL2, CDRL3, CDRH1, CDRH2, CDRH3 및 이들의 혼합물로 이루어진 군으로부터 선택된 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개 또는 모든 CDR에서 고도로 다양하며 용매 접근가능한 잔기는 돌연변이

화된다는(즉, 본원에 기재된 바와 같은 한정된 코돈 세트를 사용하여 무작위화시킴). 예를 들어, 폴리펩티드의 집단은 한정된 코돈을 사용하여 CDRL3 및 CDRH3에서 적어도 하나의 용매 접근가능하고/거나 고도로 다양한 잔기를 다양화시켜 생성될 수 있다. 따라서, 본 발명은 한정된 코돈에 의해 코딩된 변이체 아미노산을 갖는 공급원 항체 가변 도메인의 적어도 하나의 CDR의 용매 접근가능하고 고도로 다양한 위치를 적어도 하나 치환시켜 형성된 다수의 신규한 항체 서열을 제공한다. 예를 들어, 변이체 CDR 또는 항체 가변 도메인은 CDRH1의 아미노산 위치 28, 30, 31, 32, 33 및/또는 34 중 하나 이상; 및/또는 CDRH2의 아미노산 위치 50, 52, 52a, 53, 54, 55, 56 및/또는 58 중 하나 이상; 및/또는 CDRH3의 아미노산 위치 95-100, 100a, 100b 및 100c 중 하나 이상; 및/또는 CDRL1의 아미노산 위치 28, 29, 30 및/또는 31 중 하나 이상; 및/또는 CDRL2의 아미노산 위치 50 및/또는 53 중 하나 이상; 및/또는 CDRL3의 아미노산 위치 91, 92, 93, 94, 95 및/또는 96 중 하나 이상에서 변이체 아미노산을 포함할 수 있다. 또다른 예에서, 변이체 CDR 또는 항체 가변 도메인은 CDRH1의 아미노산 위치 28, 30, 31, 32 및/또는 33 중 하나 이상; 및/또는 CDRH2의 아미노산 위치 50, 52, 53, 54, 56 및/또는 58 중 하나 이상; 및/또는 CDRH3의 아미노산 위치 95-100, 100a, 100b 및 100c 중 하나 이상; 및/또는 CDRL1의 아미노산 위치 28, 29, 30 및/또는 31 중 하나 이상; 및/또는 CDRL2의 아미노산 위치 50 및/또는 53 중 하나 이상; 및/또는 CDRL3의 아미노산 위치 91, 92, 93, 94 및/또는 96 중 하나 이상에서 변이체 아미노산을 포함할 수 있다. 이들 위치에서의 변이체 아미노산은 본원에 기재된 바와 같은 한정된 코돈 세트에 의해 코딩된다.

[0489] 상기 논의된 바와 같이, 변이체 아미노산은 한정된 코돈 세트에 의해 코딩된다. 코돈 세트는 아미노산의 원하는 군을 코딩하는데 사용되는 올리고뉴클레오타이드의 세트를 형성하는데 사용될 수 있는 상이한 뉴클레오타이드 트리플렛 서열의 세트이다. 코돈 세트에 의해 제공되는 뉴클레오타이드 트리플렛의 모든 가능한 조합을 나타내며 아미노산의 원하는 군을 코딩하게 될 서열을 함유하는 올리고뉴클레오타이드의 세트는 예를 들면 고상 합성에 의해 합성될 수 있다. 특정 위치에서 선별된 뉴클레오타이드 "동의성"을 갖는 올리고뉴클레오타이드의 합성은 당업계에 공지되어 있다. 특정 코돈 세트를 갖는 뉴클레오타이드의 이러한 세트는 시판되는 핵산 합성 장치(예를 들어, 어플라이드 바이오시스템즈(미국 캘리포니아주 포스터 시티 소재)로부터 입수함)를 이용하여 합성되거나 또는 상업적으로 입수할 수 있다(예를 들어, 라이프 테크놀로지스, 미국 메릴랜드주 록빌 소재). 따라서, 특정 코돈 세트를 갖는 합성된 올리고뉴클레오타이드의 세트는 전형적으로 전체 서열 내에서 코돈 세트에 의해 확립된 차이를 갖는 상이한 서열을 갖는 복수의 올리고뉴클레오타이드를 포함할 것이다. 본 발명에 따라 사용되는 올리고뉴클레오타이드는 가변 도메인 핵산 주형으로의 혼성화를 허용하는 서열을 갖고, 또한 클로닝 목적을 위한 제한 소 부위를 포함할 수 있다.

[0490] 한 측면에서, 인간화 항체 4D5의 CDR에 용매 접근가능하며 고도로 다양한 위치를 하나 이상 차지하도록 한 아미노산의 한정된 레퍼토리가 결정된다(실시자의 요구에 기초하고, 특정 위치에 특이적인 원하는 아미노산, 특정 위치에 존재하지 않는 원하는 특정 아미노산(들), 원하는 라이브러리의 크기, 항원 결합체 관찰 특성 등을 비롯한 임의의 다수의 기준에 기초할 수 있음).

[0491] 공지된 항체의 중쇄 CDR3 (CDRH3)은 다양한 서열, 구조 형태 및 길이를 갖는다. CDRH3은 종종 항원 결합 포켓의 중앙에서 발견되고, 항원 접촉에 참여한다. 이와 같이, CDRH3의 디자인은 CDRH3의 구조 형태를 예측하기 어려울 수 있고 상기 영역에서의 아미노산 다양성이 공지된 항체에서 특히 다양하므로 다른 CDR의 것과는 별개로 개발될 수 있다. 본 발명에 있어서, CDRH3은 CDRH3 내의 특정 위치, 예를 들면 위치 95, 96, 97, 98, 99, 100, 100a, 100b 및 100c(예를 들면, 항체 4D5에서 Kabat 번호지정에 따름)에서 다양성이 생성되도록 디자인된다. 일부 실시양태에서, 다양성은 또한 한정된 코돈 세트를 사용하여 CDRH3 길이를 변화시켜 생성된다. 길이 다양성은 실질적인 비율의 항원 결합 단백질에 함유하는 폴리펩티드 집단의 생성에 적합한 것으로 경험적으로 결정된 임의의 범위에 속할 수 있다. 예를 들어, 서열 X1-X2-X3-X4-X5-(X6)_n-X7-X8-X9-D-Y(서열 4)를 갖는 변이체 CDRH3-함유 폴리펩티드가 생성될 수 있으며, 여기서 X1 내지 X9는 한정된 코돈 세트에 의해 코딩된 아미노산이고, n은 다양한 길이를 가지며, 예를 들어 n = 1-11, 5-11 또는 7-11이다. 가능한 n 값의 다른 예는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 및 11이다. CDRH3 서열 길이에 변화를 제공하는데 사용될 수 있는 올리고뉴클레오타이드의 설명적 실시양태는 도 9A-9D, 도 20A-L 및 도 23에 나타난 것을 포함한다.

[0492] 변이체 아미노산이 특정 CDR, 예를 들어 CDRH3에 도입되어 생성된 라이브러리의 서열 다양성은 변이체 CDR을 항체의 다른 영역, 특히 경쇄 또는 중쇄 가변 서열의 다른 CDR에 변이를 포함하는 다른 CDR과 합하여 증가시킬 수 있는 것으로 생각된다. 상기 세트의 구성원을 코딩하는 핵산 서열은 다른 변이체 아미노산이 코돈 세트를 통해 경쇄 또는 중쇄 서열의 CDR에 도입되어 추가로 다양화될 수 있는 것으로 생각된다. 따라서, 예를 들면 한 실시양태에서, 표적 항원에 결합하는 융합 폴리펩티드로부터의 CDRH3 서열은 다양화된 CDRL3, CDRH1 또는 CDRH2 서열, 또는 다양화된 CDR의 임의의 조합과 조합할 수 있다.

- [0493] 일부 경우에 프레임워크 잔기는, 예를 들면 컨센서스 서열을 반영하거나 또는 안정성 또는 디스플레이를 개선시키기 위해, 공급원 항체 또는 항원 결합 단편의 서열에 대해 달라질 수 있음을 유의해야 한다. 예를 들어, 중쇄에서 프레임워크 잔기 49, 93, 94 또는 71이 달라질 수 있다. 중쇄 프레임워크 잔기 93은 세린 또는 알라닌(해당 위치에서의 인간 컨센서스 서열 아미노산임)일 수 있다. 중쇄 프레임워크 잔기 94는 프레임워크 컨센서스 서열을 반영하기 위해 트레오닌으로부터 아르기닌 또는 리신으로 교체될 수 있다. 변경될 수 있는 프레임워크 잔기의 또다른 예는 중쇄 프레임워크 잔기 71이며, 이는 Kabat 데이터베이스에 나타난 바와 같이 약 1970개의 폴리펩티드에서는 R이고, 약 627개의 폴리펩티드에서는 V이고, 약 527개 폴리펩티드에서는 A이다. 중쇄 프레임워크 잔기 49는 알라닌 또는 글리신일 수 있다. 또한, 임의로는 중쇄 가변 도메인의 3개의 N-말단 아미노산이 제거될 수 있다. 경쇄에서, 임의로는 아미노산 위치 66의 아르기닌이 글리신으로 교체될 수 있다. 한 실시양태에서, 중쇄 프레임워크 잔기 93은 알라닌이고, 중쇄 프레임워크 잔기 94는 아르기닌이다.
- [0494] 한 측면에서, 본 발명은 잠재적 리간드에 충분한 친화도로 결합하는 융합 폴리펩티드를 생성하는데 사용되는 벡터 구축물을 제공한다. 이들 구축물은 융합 폴리펩티드에 존재하는 경우에 Fab 또는 Fab' 항체 단편/부분의 이량체를 형성하는 이량체화 경향이 증가한 중쇄를 제공하는 이량체화가능한 도메인을 포함한다. 이들 이량체화 도메인은, 예를 들어 중쇄 힌지 서열(예를 들어, 융합 폴리펩티드에 존재할 수 있는 TCPPCAPELLG(서열 5)를 포함하는 서열)을 포함할 수 있다. 융합 파지 폴리펩티드 내의 이량체화 도메인은 함께 2개의 융합 폴리펩티드 세트(LC/HC-파지 단백질/단편(예컨대, pIII))를 사용하여 2개의 융합 폴리펩티드 세트 사이에 적합한 연결(예컨대, 중쇄내 디설파이드 브릿지)을 형성한다. 이러한 이량체화 도메인을 함유하는 벡터 구축물은 파지 상에서 항체 가변 도메인, 예를 들면 본원에 기재된 다양화된 융합 단백질의 2가 디스플레이를 달성하는데 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 각각의 단량체 항체 단편(융합 폴리펩티드)의 고유의 친화도는 이량체화 도메인과의 융합에 의해 유의하게 달라지지 않는다. 특정 실시양태에서, 이량체화는 2가 파지 디스플레이를 생성하며, 이는 해리시간(off-rate)이 유의하게 감소된 파지 결합 화합력을 증가시키고, 당업계에 공지된 방법 및 본원에 기재된 방법에 의해 결정될 수 있다. 본 발명의 이량체화 도메인-함유 벡터는 또한 이량체화 도메인 뒤에 앰버 정지 코돈을 포함하거나 포함하지 않을 수 있다.
- [0495] 이량체화는 상이한 디스플레이 특징을 달성하기 위해 변화될 수 있다. 이량체화 도메인은 시스템 잔기, 전장 항체로부터의 힌지 영역, 이량체화 서열, 예컨대 루이신 지퍼 서열 또는 GCN4 지퍼 서열 또는 이들의 혼합물을 포함하는 서열을 포함할 수 있다. 이량체화 서열은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들면 GCN4 지퍼 서열(GRMKQLEDKVEELLSKNYHLENEVARLKKLVGERG)(서열 3)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 이량체화 도메인은 중쇄 가변 또는 불변 도메인 서열의 C-말단 및/또는 중쇄 가변 또는 불변 도메인 서열 및 임의의 바이러스 외피 단백질 성분 서열 사이에 위치한다. 앰버 정지 코돈은 또한 이량체화 도메인의 C-말단에 또는 그 뒤에 존재할 수 있다. 한 실시양태에서, 앰버 정지 코돈에 존재하는 경우, 이량체화 도메인은 적어도 하나의 시스템 및 이량체화 서열, 예컨대 루이신 지퍼를 코딩한다. 또다른 실시양태에서, 앰버 정지 코돈이 존재하지 않는 경우, 이량체화 도메인은 단일 시스템 잔기를 포함할 수 있다.
- [0496] 본 발명의 폴리펩티드는 또한 변이체 폴리펩티드의 디스플레이 또는 폴리펩티드의 정제, 스크리닝 또는 분류, 및 검출을 제공하기 위해 다른 유형의 폴리펩티드에 융합될 수 있다. 파지 디스플레이 관련 실시양태의 경우, 본 발명의 폴리펩티드는 바이러스 외피 단백질의 전부 또는 일부에 융합된다. 바이러스 외피 단백질의 예로는 단백질 pIII, 주요 외피 단백질, pVIII, Soc, Hoc, gpD, pVI 및 이들의 변이체가 있다. 또한, 본 발명의 방법에 따라 생성된 변이체 폴리펩티드는 임의로는 폴리펩티드 마커 또는 태그, 예컨대 FLAG, 폴리히스티딘, gD, c-myc, β -갈락토시다제 등에 융합될 수 있다.
- [0497] 무작위화된 가변 도메인의 라이브러리 생성 방법
- [0498] 선택된 아미노산을 주형 핵산으로 치환시키는 방법은 당업계에 잘 확립되어 있으며, 일부는 본원에 기재되어 있다. 예를 들어, 라이브러리는 쿤켈(Kunkel) 방법을 이용하여 변이체 아미노산으로의 아미노산 치환을 위해 적어도 하나의 CDR 영역에서 용매 접근가능하고/거나 고도로 다양한 위치를 표적화하여 생성될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Kunkel et al., Methods Enzymol. (1987), 154:367-382]을 참조한다. 무작위화된 서열의 생성은 또한 아래 실시예에 기재되어 있다.
- [0499] 올리고뉴클레오타이드의 서열은 CDR에서 CDRH3의 상이한 길이 또는 용매 접근가능하고 고도로 다양한 위치를 위해 디자인된 한정된 코돈 세트를 하나 이상 포함한다. 코돈 세트는 원하는 변이체 아미노산을 코딩하는데 사용되는 상이한 뉴클레오타이드 트리플렛 서열의 세트이다. 코돈 세트는 IUB 코드에 따라 아래 나타낸 바와 같이 특정 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드의 등물의 혼합물을 명명하기 위해 기호를 사용하여 표시할 수 있다. 전형적으

로, 코돈 세트는 3개의 대문자, 예를 들어 KMT, TMT 등으로 표시된다.

- [0500] IUB 코드
- [0501] G 구아닌
- [0502] A 아데닌
- [0503] T 티민
- [0504] C 시토신
- [0505] R (A 또는 G)
- [0506] Y (C 또는 T)
- [0507] M (A 또는 C)
- [0508] K (G 또는 T)
- [0509] S (C 또는 G)
- [0510] W (A 또는 T)
- [0511] H (A 또는 C 또는 T)
- [0512] B (C 또는 G 또는 T)
- [0513] V (A 또는 C 또는 G)
- [0514] D (A 또는 G 또는 T)
- [0515] N (A 또는 C 또는 G 또는 T)
- [0516] 예를 들어, 코돈 세트 TMT에서, T는 뉴클레오타이드 티민이고; M은 A 또는 C일 수 있다. 상기 코돈 세트는 여러 코돈으로 존재할 수 있고, 제한된 수의 아미노산, 즉 티로신 및 세린만을 코딩할 수 있다.
- [0517] 올리고뉴클레오타이드 또는 프라이머 세트는 표준 방법을 이용하여 합성될 수 있다. 한정된 코돈 세트에 의해 제공된 뉴클레오타이드 트리플렛의 가능한 모든 조합을 나타내고, 원하는 한정된 아미노산 군을 코딩하게 되는 서열을 함유하는 올리고뉴클레오타이드의 세트는, 예를 들면 고상 합성에 의해 합성될 수 있다. 특정 위치에 선별된 뉴클레오타이드 "동의성"을 갖는 올리고뉴클레오타이드의 합성은 당업계에 공지되어 있다. 특정 코돈 세트를 갖는 올리고뉴클레오타이드의 이러한 세트는 시판되는 핵산 합성 장치 (예를 들어, 어플라이드 바이오시스템즈(미국 캘리포니아주 포스터 시티 소재)로부터 입수가능함)를 이용하여 합성할 수 있거나 또는 상업적으로 입수할 수 있다 (예를 들어, 라이프 테크놀로지스, 미국 메릴랜드주 록빌 소재). 따라서, 특정 코돈 세트를 갖는 합성된 올리고뉴클레오타이드의 세트는 전형적으로 전체 서열 내에서 코돈 세트에 의해 확립된 차이를 갖는 상이한 서열을 갖는 복수의 올리고뉴클레오타이드를 포함한다. 본 발명에 따라 사용되는 올리고뉴클레오타이드는 CDR (예를 들면, 가변 도메인에 함유된 것과 같은) 핵산 주형으로의 혼성화를 허용하는 서열을 가지며, 또한 클로닝 목적을 위한 제한 효소 부위를 포함할 수 있다.
- [0518] 한 방법에서, 변이체 아미노산을 코딩하는 핵산 서열은 4D5의 항체 가변 도메인과 같은 공급원 또는 주형 폴리펩티드를 코딩하는 핵산 서열의 올리고뉴클레오타이드-매개성 돌연변이유발에 의해 생성될 수 있다. 이 기술은 당업계에 공지된 것으로, 문헌 [Zoller et al. Nucleic Acids Res. 10:6487-6504(1987)]에 기재되어 있다. 요컨대, 변이체 아미노산을 코딩하는 핵산 서열은 원하는 한정된 코돈 세트를 코딩하는 올리고뉴클레오타이드 세트를 DNA 주형에 혼성화시켜 생성되며, 여기서 상기 주형은 가변 영역 핵산 주형 서열을 함유하는 플라스미드의 단일-가닥 형태이다. 혼성화 후에, DNA 중합효소를 사용하여 주형의 전체 제2의 상보성 가닥을 합성하며, 이에 따라 이는 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 혼입하고, 올리고뉴클레오타이드 세트에 의해 제공되는 한정된 코돈 세트를 함유할 것이다. 다른 공급원 또는 주형 분자를 코딩하는 핵산은 공지되어 있거나 또는 쉽게 결정될 수 있다.
- [0519] 일반적으로, 적어도 25개 뉴클레오타이드 길이의 올리고뉴클레오타이드가 사용된다. 최적의 올리고뉴클레오타이드는 돌연변이(들)을 코딩하는 뉴클레오타이드(들)의 어느 한 측면 상에서 주형과 완전히 상보적인 적어도 12 내지 15개의 뉴클레오타이드를 가질 것이다. 이는 올리고뉴클레오타이드가 단일-가닥 DNA 주형 분자에 적절하게 혼성화되

도록 할 것이다. 올리고뉴클레오타이드는 문헌 [Crea et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75:5765 (1978)]에 기재된 것과 같은 당업계에 공지된 기술을 이용하여 쉽게 합성된다.

[0520] DNA 주형은 박테리오파지 M13 벡터 (상업적으로 입수가 가능한 M13mp18 및 M13mp19 벡터가 적합함), 또는 문헌 [Viera et al., Meth. Enzymol., 153:3 (1987)]에 기재된 단일-가닥 파지 복제 원점을 함유하는 벡터로부터 유래된 벡터에 의해 생성된다. 따라서, 돌연변이화될 DNA는 단일-가닥 주형을 생성하기 위해 상기 벡터들 중 하나에 삽입할 수 있다. 단일-가닥 주형의 생성은 상기 삼브룩(Sambrook et al) 등의 문헌의 섹션 4.21 내지 4.41에 기재되어 있다.

[0521] 천연 DNA 서열을 변형시키기 위해, 올리고뉴클레오타이드를 적합한 혼성화 조건하에 단일 가닥 주형에 혼성화시킨다. 이어서, DNA 중합효소, 일반적으로는 T7 DNA 중합효소 또는 DNA 중합효소 I의 클레나우(Klenow) 단편을 첨가하고, 합성을 위한 프라이머로서 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 주형의 상보성 가닥을 합성한다. 이에 따라, DNA의 한 가닥이 유전자 1의 돌연변이화된 형태를 코딩하고, 다른 가닥 (본래 주형)이 유전자 1의 변형되지 않은 천연 서열을 코딩하는 이중이합체 분자가 형성된다. 이어서, 상기 이중이합체 분자를 적합한 숙주 세포, 일반적으로는 이. 콜라이 JM101과 같은 원핵생물로 형질전환시킨다. 세포를 성장시킨 후에, 이들을 아가로스 플레이트에 플레이팅하고, 32-포스페이트로 방사성 동위원소 표지된 올리고뉴클레오타이드 프라이머를 사용하여 스크리닝함으로써 돌연변이화된 DNA를 함유하는 박테리아 콜로니를 확인한다.

[0522] 바로 위에 기재된 방법은 플라스미드의 양쪽 가닥이 모두 돌연변이(들)을 함유하는 동종이합체 분자가 생성되도록 변형될 수 있다. 변형은 다음과 같다: 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드는 상기 기재된 바와 같은 단일-가닥 주형에 어닐링된다. 3 가지 데옥시리보뉴클레오타이드, 데옥시리보아데노신 (dATP), 데옥시리보구아노신 (dGTP) 및 데옥시리보티미딘 (dTTP)의 혼합물은 dCTP-(aS)로 불리우는 변형된 티오데옥시리보시토신과 조합된다 (아머샵으로부터 입수할 수 있음). 이 혼합물을 주형-올리고뉴클레오타이드 복합체에 첨가한다. 이 혼합물에 DNA 중합효소를 첨가하면, 돌연변이화된 염기를 제외하고 주형과 동일한 DNA 가닥이 생성된다. 또한, 이러한 새로운 DNA 가닥은 dCTP 대신 dCTP-(aS)를 함유할 것이며, 제한 엔도뉴클레아제 분해로부터 보호하는 기능을 한다. 이중 가닥 이중이합체의 주형 가닥을 적절한 제한 효소로 자른 후에, 주형 가닥은 돌연변이 유발된 부위(들)을 함유하는 영역을 지나서 ExoIII 뉴클레아제 또는 또다른 적절한 뉴클레아제로 분해될 수 있다. 이어서, 반응을 중단시켜 부분적으로만 단일-가닥인 분자 상태로 두었다. 이어서, 4 가지 모든 데옥시리보뉴클레오타이드 트리포스페이트, ATP 및 DNA 리가제의 존재하에 DNA 중합효소를 사용하여 완전한 이중 가닥 DNA 동종이합체를 형성한다. 이어서, 이 동종이합체 분자를 적합한 숙주 세포에 형질전환시킬 수 있다.

[0523] 앞서 나타낸 바와 같이, 올리고뉴클레오타이드 세트의 서열은 주형 핵산에 혼성화되기에 충분한 길이를 갖고, 또한 제한효소 부위를 함유할 수 있지만 반드시 그러한 것은 아니다. DNA 주형은 박테리오파지 M13 벡터, 또는 문헌 [Viera et al. ((1987) Meth. Enzymol., 153:3)]에 기재된 단일-가닥 파지 복제 원점을 함유하는 벡터로부터 유래된 벡터에 의해 생성될 수 있다. 따라서, 돌연변이화될 DNA는 단일 가닥 주형을 생성하기 위해 상기 벡터들 중 하나로 삽입되어야 한다. 단일-가닥 주형의 생성은 삼브룩(Sambrook) 등의 상기 문헌의 섹션 4.21 내지 4.41에 기재되어 있다.

[0524] 또다른 방법에 따라, 라이브러리는 상류 및 하류 올리고뉴클레오타이드 세트를 제공하여 생성될 수 있으며, 이들 세트는 각각 상이한 서열을 갖는 복수의 올리고뉴클레오타이드를 갖고, 상기 상이한 서열은 올리고뉴클레오타이드의 서열 내에 제공된 코돈 세트에 의해 확립된다. 상류 및 하류 올리고뉴클레오타이드 세트는 가변 도메인 주형 핵산 서열과 함께 중합효소 연쇄 반응에 사용되어 PCR 생성물의 "라이브러리"를 생성할 수 있다. PCR 생성물은 확립된 분자 생물학 기술을 사용하여 관련되거나 관련되지 않은 다른 핵산 서열, 예를 들어 바이러스 외피 단백질 성분 및 이량체화 도메인과 융합될 수 있으므로 "핵산 카세트"로 지칭될 수 있다.

[0525] PCR 프라이머의 서열은 CDR 영역에서 용매 접근가능하고 고도로 다양한 위치를 위해 디자인된 하나 이상의 코돈 세트를 포함한다. 상기 기재된 바와 같이, 코돈 세트는 원하는 변이체 아미노산을 코딩하는데 사용되는 상이한 뉴클레오타이드 트리플렛 서열의 세트이다.

[0526] 올리고뉴클레오타이드 세트는 주형으로 가변 영역 핵산 주형 서열을 사용하는 중합효소 연쇄 반응에 사용되어 핵산 카세트를 생성할 수 있다. 가변 영역 핵산 주형 서열은 표적 핵산 서열 (즉, 치환을 위해 표적화된 아미노산을 코딩하는 핵산 서열)을 함유하는 중쇄 또는 경쇄 이뮤노글로불린의 임의의 부분일 수 있다. 가변 영역 핵산 주형 서열은 제1 핵산 가닥 및 상보성 제2 핵산 가닥을 갖는 이중 가닥 DNA 분자의 일부이다. 가변 영역 핵산 주형 서열은 적어도 가변 도메인의 일부를 함유하고, 적어도 하나의 CDR을 갖는다. 일부의 경우에, 가변 영역 핵산 주형 서열은 하나 초과 CDR을 함유한다. 가변 영역 핵산 주형 서열의 상류 부분 및 하류 부분은 상

류 올리고뉴클레오타이드 세트 및 하류 올리고뉴클레오타이드 세트의 구성원과의 혼성화에 대해 표적화될 수 있다.

[0527] 상류 프라이머 세트의 제1 올리고뉴클레오타이드는 제1 핵산 가닥에 혼성화될 수 있고, 하류 프라이머 세트의 제2 올리고뉴클레오타이드는 제2 핵산 가닥에 혼성화될 수 있다. 올리고뉴클레오타이드 프라이머는 하나 이상의 코돈 세트를 포함할 수 있고, 가변 영역 핵산 주형 서열의 일부에 혼성화되도록 디자인될 수 있다. 이들 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 둘 이상의 코돈 세트를 PCR 이후의 PCR 생성물 (즉, 핵산 카세트)에 도입할 수 있다. 항체 가변 도메인을 코딩하는 핵산 서열의 영역에 혼성화되는 올리고뉴클레오타이드 프라이머는 아미노산 치환을 위해 표적화된 CDR 잔기를 코딩하는 부분을 포함한다.

[0528] 상류 및 하류 올리고뉴클레오타이드 세트는 또한 올리고뉴클레오타이드 서열 내에 제한효소 부위가 포함되도록 합성될 수 있다. 이들 제한효소 부위는 추가의 항체 서열을 갖는 발현 벡터로의 핵산 카세트 (즉, PCR 반응 생성물)의 삽입을 용이하게 할 수 있다. 특정 실시양태에서, 제한 효소 부위는 외래 핵산 서열이 도입되거나 또는 본래의 CDR 또는 프레임워크 핵산 서열이 제거되지 않고 핵산 카세트의 클로닝을 용이하게 하도록 디자인된다.

[0529] 핵산 카세트는 생성된 표적화된 아미노산 치환을 함유하는 전체 경쇄 또는 중쇄 서열 또는 일부 경쇄 또는 중쇄 서열의 발현의 발현에 적합한 임의의 벡터에 클로닝될 수 있다. 본 발명에 상세하게 기재된 방법에 따라, 핵산 카세트는 벡터에 클로닝되어 바이러스 외피 단백질의 전부 또는 일부에 융합된 전체 경쇄 또는 중쇄 서열 또는 일부 경쇄 또는 중쇄 서열을 생성하고 (즉, 융합 단백질을 생성함), 입자 또는 세포의 표면 상에 디스플레이된다. 여러 유형의 벡터가 입수가능하고 본 발명의 실시예에 사용될 수 있으나, 파지미드 벡터가 상대적으로 쉽게 구축될 수 있으며 쉽게 증폭될 수 있기 때문에 편리하다. 파지미드 벡터는 일반적으로 당업자에게 공지된 바와 같은, 프로모터, 신호 서열, 표현형 선별 유전자, 복제 원점 부위, 및 다른 필수 성분을 비롯한 다양한 성분을 함유한다.

[0530] 또다른 실시양태에서, 특정 변이체 아미노산 조합이 발현되는 경우에 핵산 카세트는 중쇄 또는 경쇄 가변 도메인을 모두 또는 일부 코딩할 수 있으며 변이체 아미노산 조합을 코딩할 수 있는 서열을 함유한다. 라이브러리에서와 같이 이들 변이체 아미노산 또는 변이체 아미노산의 조합을 함유하는 항체를 생성하는 경우, 핵산 카세트는 추가의 항체 서열, 예를 들어 경쇄 및 중쇄 가변 영역의 가변 또는 불변 도메인을 모두 또는 일부 함유하는 발현 벡터에 삽입할 수 있다. 이들 추가의 항체 서열은 또한 다른 핵산 서열, 예컨대 바이러스 외피 단백질 성분을 코딩하는 서열에 융합되어 융합 단백질을 생성할 수 있다.

[0531] **벡터**

[0532] 본 발명의 한 측면은 바이러스 외피 단백질의 전체 또는 일부에 융합된 CDR-함유 폴리펩티드 (예컨대 항체 가변 도메인) 또는 항체 가변 도메인과 불변 도메인을 포함하는 융합 단백질을 코딩하는 유전자 융합체를 코딩하는 핵산 서열을 포함하는 복제가능한 발현 벡터를 포함한다. 또한, 상기한 바와 같은 다양한 서열을 갖도록 생성된 복수의 융합 폴리펩티드를 포함하는 복수의 상이한 융합 단백질을 코딩하는 복수의 유전자 융합체를 포함하는 다양한 복제가능한 발현 벡터의 라이브러리도 포함한다. 벡터는 다양한 성분을 포함할 수 있고, 여러 벡터들 사이의 항체 가변 도메인 이동을 허용하고/하거나 여러가지 포맷의 융합 단백질 디스플레이를 제공하도록 구축될 수 있다.

[0533] 벡터의 예는 파지 벡터 및 파지미드 벡터 (본원에 예시되어 있고, 앞서 더욱 상세하게 기재하였음)를 포함한다. 파지 벡터는 일반적으로 파지 복제 및 파지 입자 형성을 허용하는 파지 복제 원점을 갖는다. 파지는 일반적으로 섬유상 박테리오파지, 예를 들어 M13, f1, fd, Pf3 파지 또는 그의 유도체, 또는 람다형 파지, 예를 들어 람다, 21, 파이80, 파이81, 82, 424, 434 등 또는 그의 유도체이다.

[0534] 바이러스 외피 단백질이 예로는 감염성 단백질 PIII (때로는 p3이라고 지칭되기도 함), 주요 외피 단백질 PVIII, Soc (T4), Hoc (T4), gpD (박테리오파지 람다의 것), 소량의 박테리오파지 외피 단백질 6 (pVI) (섬유상 파지, [J Immunol Methods. 1999 Dec 10;231(1-2):39-51]), M13 박테리오파지 주요 외피 단백질의 변이체 (P8) [Protein Sci 2000 Apr;9(4):647-54] 등이 있다. 융합 단백질은 파지의 표면에 디스플레이될 수 있고, 적합한 파지 시스템은 M13K07 헬퍼 파지, M13R408, M13-VCS, 및 파이X 174, pJuFo 파지 시스템 [J Virol. 2001 Aug;75(15):7107-13.v], 하이퍼파지(hyperphage) [Nat Biotechnol. 2001 Jan;19(1):75-8]를 포함한다. 특정 실시양태에서, 헬퍼 파지는 M13K07이고, 외피 단백질은 M13 파지 유전자 III 외피 단백질이다. 특정 실시양태에서, 숙주는 이. 콜라이 및 이. 콜라이의 프로테아제 결핍 균주이다. 벡터, 예를 들어 fth1 벡터 [Nucleic Acids Res. 2001 May 15;29(10):E50-0]는 융합 단백질의 발현에 유용할 수 있다.

- [0535] 발현 벡터는 또한 CDR-함유 융합 폴리펩티드 (예를 들어, 항체의 각 서브유닛 또는 그의 단편)를 코딩하는 DNA에 융합된 분비 신호 서열을 가질 수도 있다. 상기 서열은 전형적으로 융합 단백질을 코딩하는 유전자의 5' 바로 앞에 위치하고, 따라서 융합 단백질의 아미노 말단에서 전사될 것이다. 그러나, 특정한 경우에는 상기 신호 서열이 분비될 단백질을 코딩하는 유전자에 대하여 5' 이외의 위치에 존재한다는 것이 입증되었다. 이 서열은, 이것이 박테리아 세포의 내막을 관통하여 부착될 단백질을 표적으로 한다. 신호 서열을 코딩하는 DNA는 신호 서열을 갖는 단백질을 코딩하는 임의의 유전자로부터의 제한 엔도뉴클레아제 단편으로 수득될 수 있다. 적합한 원핵 신호 서열은 예를 들어 LamB 또는 OmpF [Wong et al., Gene, 68:1931 (1983)], MalE, PhoA 및 다른 유전자를 코딩하는 유전자에서 얻을 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명을 실시하기 위한 원핵 신호 서열은 문헌 [Chang et al., Gene 55:189 (1987)]에 기재된 바와 같은 이. 콜라이 열-안정성 장독소 II (STII) 신호 서열 및/또는 malE이다.
- [0536] 상기한 바와 같이, 벡터는 또한 전형적으로 융합 폴리펩티드의 발현을 구동하기 위한 프로모터를 포함한다. 원핵 벡터에서 가장 통상적으로 사용되는 프로모터는 lacZ 프로모터 시스템, 알칼리성 포스파타제 phoA 프로모터 (Ap), 박테리오파지 l_{PL} 프로모터 (온도-민감성 프로모터), tac 프로모터 (lac 레프레서에 의해 조절되는 하이브리드 trp-lac 프로모터), 트립토판 프로모터 및 박테리오파지 T7 프로모터를 포함한다. 프로모터에 관한 일반적인 설명에 대하여는 문헌 [Sambrook et al. 상기 문헌]의 제17장을 참조한다. 이것들이 가장 통상적으로 사용되는 프로모터이지만, 다른 적합한 프로모터가 사용될 수도 있다.
- [0537] 벡터는 다른 핵산 서열, 예를 들어 과지 또는 세포의 표면에서 발현되는 융합 단백질의 검출 또는 정제에 유용할 수 있는 gD 태그, c-Myc 에피토프, 폴리-히스티딘 태그, 형광 단백질 (예를 들어, GFP), 또는 베타-갈락토시다제 단백질을 코딩하는 서열을 포함할 수도 있다. 예를 들어 gD 태그를 코딩하는 핵산 서열도 융합 단백질을 발현하는 세포 또는 바이러스의 양성 또는 음성 선별을 제공한다. 일부 실시양태에서, gD 태그는 바이러스 외피 단백질 성분에 융합되지 않은 항체 가변 도메인에 융합된다. 예를 들어 폴리히스티딘 태그를 코딩하는 핵산 서열은 면역조직화학을 이용하여 특이적 항원에 결합하는 항체 가변 도메인을 비롯한 융합 단백질의 동정에 유용하다. 항원 결합의 검출에 유용한 태그는 바이러스 외피 단백질 성분에 융합되지 않은 항체 가변 도메인 또는 바이러스 외피 단백질 성분에 융합된 항체 가변 도메인에 융합될 수 있다.
- [0538] 본 발명의 실시예에 사용되는 벡터의 또다른 유용한 성분은 표현형 선별 유전자이다. 전형적인 표현형 선별 유전자는 숙주 세포에 항생제 내성을 부여하는 단백질을 코딩하는 것들이다. 이러한 목적에는, 예를 들어 암피실린 내성 유전자 (amp^r) 및 테트라사이클린 내성 유전자 (tet^r)가 쉽게 사용된다.
- [0539] 벡터는 독특한 제한 부위 및 저해가능한 정지 코돈을 함유하는 핵산 서열을 포함할 수도 있다. 독특한 제한 부위는 여러가지 벡터와 발현 시스템 사이에서 항체 가변 도메인을 이동시키는데 유용하며, 세포 배양물에서 전장 항체 또는 항원 결합 단편을 생성하는데 특히 유용하다. 저해가능한 정지 코돈은 융합 단백질의 발현 수준을 제어하고 가용성 항체 단편의 정제를 용이하게 하는데 유용하다. 예를 들어, supE 숙주에서는 앰버 정지 코돈이 Gln으로 관독되어 과지 디스플레이를 가능하게 할 수 있지만, 비-supE 숙주에서는 이것이 정지 코돈으로 관독되어 과지 외피 단백질과 융합되지 않은 가용성 항체 단편이 생성된다. 이러한 합성 서열은 벡터 내의 하나 이상의 항체 가변 도메인에 융합될 수 있다.
- [0540] 때로는, 관심 항체 서열, 예를 들어 변이체 아미노산을 갖는 CDR을 코딩하는 핵산이 벡터 시스템으로부터 쉽게 제거되어 또다른 벡터 시스템에 위치하도록 하는 벡터 시스템을 사용하는 것이 유익하다. 예를 들어, 벡터 시스템에서 적절한 제한 부위를 조작하여 변이체 아미노산을 갖는 항체 또는 항체 가변 도메인을 코딩하는 핵산 서열의 제거를 용이하게 할 수 있다. 제한 서열은 일반적으로 벡터 내에서 유일한 것으로 선택하여, 효율적인 절단 및 새로운 벡터로의 라이게이션을 용이하게 한다. 이어서, 항체 또는 항체 가변 도메인이 외부 융합 서열, 예컨대 바이러스 외피 단백질 또는 다른 서열 태그 없이 벡터에서 발현될 수 있다.
- [0541] 항체 가변 또는 불변 도메인을 코딩하는 핵산 (유전자 1)과 바이러스 외피 단백질 성분을 코딩하는 핵산 (유전자 2) 사이에 종결 또는 정지 코돈을 코딩하는 DNA가 삽입되어 UAG (amber), UAA (ocher) 및 UGA (opal)을 비롯한 이러한 종결 코돈이 생성될 수 있다 [Microbiology, Davis et al., Harper & Row, New York, 1980, pp. 237, 245-47 and 374]. 야생형 숙주 세포에서 발현된 종결 또는 정지 코돈으로 인해, 유전자 2 단백질이 부착되지 않은 유전자 1 단백질 생성물이 합성된다. 그러나, 저해자 숙주 세포에서 성장시키면 검출가능한 양의 융합된 단백질이 합성된다. 이러한 저해자 숙주 세포는 널리 공지되어 있고 기재되어 있으며, 예를 들어 이. 콜라이 저해자 균주 [Bullock et al., BioTechniques 5:376-379 (1987)] 등이 있다. 임의의 허용가능한 방법을 이용하여 종결 코돈이 융합 폴리펩티드를 코딩하는 mRNA에 위치하도록 할 수 있다.

- [0542] 저해가능한 코돈은 항체 가변 또는 불변 도메인을 코딩하는 제1 유전자와 과지 외피 단백질의 적어도 일부를 코딩하는 제2 유전자 사이에 삽입될 수 있다. 대안으로, 저해가능한 종결 코돈은 항체 가변 도메인 중의 마지막 아미노산 트리플렛 또는 과지 외피 단백질 중의 첫번째 아미노산을 대체하여 융합 부위에 인접하도록 삽입될 수 있다. 저해가능한 종결 코돈은 이량체화 도메인의 C-말단부 또는 그 뒤에 위치할 수 있다. 저해가능한 코돈을 함유하는 플라스미드가 저해자 숙주 세포 중에서 성장하는 경우에는 상기 폴리펩티드 및 외피 단백질을 함유하는 융합 폴리펩티드가 검출가능하게 생성된다. 상기 플라스미드가 비-저해자 숙주 세포 중에서 성장하는 경우에는, 삽입된 저해가능한 트리플렛 UAG, UAA 또는 UGA에서 종결되기 때문에 항체 가변 도메인이 실질적으로 과지 외피 단백질과의 융합 없이 합성된다. 비-저해자 세포에서는 항체 가변 도메인이 합성되고, 이것을 숙주 막에 고정시키는 융합된 과지 외피 단백질이 없기 때문에 상기 숙주 세포로부터 분리된다.
- [0543] 일부 실시양태에서, 다양화 (무작위화)시킬 CDR은 주형 서열 (본원에서는 "정지 주형"이라 지칭함)에 조작된 정지 코돈을 가질 수 있다. 이러한 특징은, 관심 변이체 아미노산에 대한 서열(들)을 포함하는 올리고뉴클레오타이드(들)의 혼입으로 인한 주형 서열 중 정지 코돈(들)의 성공적인 복구를 기초로 하여 성공적으로 다양화된 서열의 검출 및 선별을 제공한다. 이러한 특징에 대하여는 하기 실시예에서 추가로 설명한다.
- [0544] 경쇄 및/또는 중쇄 항체 가변 또는 불변 도메인은 바이러스 입자 또는 세포의 표면에서 하나 이상의 융합 폴리펩티드의 상호작용을 위한 추가의 펩티드 서열에 융합될 수도 있다. 이들 펩티드 서열은 본원에서 "이량체화 도메인"이라고 지칭된다. 이량체화 도메인은 하나 이상의 이량체화 서열, 또는 시스테인 잔기를 포함하는 하나 이상의 서열 또는 이들 둘다를 포함할 수 있다. 적합한 이량체화 서열은, 소수성 잔기가 규칙적으로 이격되어 각 단백질 중 소수성 잔기들의 상호작용에 의한 이량체 형성을 허용하는 양친매성 알파 나선을 갖는 단백질의 이량체화 서열을 포함하고, 이러한 단백질 및 그의 일부는 예를 들어 루이신 지퍼 영역을 포함한다. 이량체화 도메인은 하나 이상의 시스테인 잔기 (예를 들어 이량체화 도메인 내에 항체 힌지 서열을 포함시켜 제공됨)를 포함할 수도 있다. 시스테인 잔기는 하나 이상의 디설피드 결합의 형성에 의한 이량체화를 제공할 수 있다. 정지 코돈이 이량체화 도메인 뒤에 존재하는 한 실시양태에서는, 상기 이량체화 도메인이 하나 이상의 시스테인 잔기를 포함한다. 일부 실시양태에서, 이량체화 도메인은 항체 가변 또는 불변 도메인과 바이러스 외피 단백질 성분 사이에 위치한다.
- [0545] 일부의 경우에, 벡터는 단일 항체-과지 폴리펩티드를 예를 들어 외피 단백질에 융합된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 둘다를 함유하는 단일 체 형태로 코딩한다. 이러한 경우, 상기 벡터는 특정 프로모터의 제어하에 1개의 전사체를 발현하는 "단일시스트론(monocistron)"으로 간주된다. 예를 들어, 벡터는 프로모터 (예컨대 알칼리성 포스파타제 (AP) 또는 Tac 프로모터)를 이용하여 VL 도메인 및 VH 도메인을 코딩하고 VL 도메인과 VH 도메인 사이에 링커 펩티드를 갖는 단일시스트론 서열의 발현을 구동할 수 있다. 이러한 시스트론 서열은 신호 서열 (예컨대 이. 콜라이 malE 또는 열-안정성 장독소 II (STII) 신호 서열)의 5' 말단 및 그의 3' 말단에서 바이러스 외피 단백질 (예컨대 박테리오파지 pIII 단백질)이 전체 또는 일부에 연결될 수 있다. 이러한 실시양태의 벡터에 의해 코딩되는 융합 폴리펩티드는 본원에서 "ScFv-pIII"라고 지칭된다. 일부 실시양태에서, 벡터는 그의 3' 말단에서 제2 가변 도메인 서열 (예를 들어 VH)과 바이러스 외피 단백질 서열 사이에 이량체화 도메인 (예컨대 루이신 지퍼)을 코딩하는 서열을 추가로 포함할 수 있다. 이량체화 도메인을 포함하는 융합 폴리펩티드가 이량체화되어 2개 scFv 폴리펩티드의 복합체 (본원에서는 "(ScFv)₂-pIII"라고 지칭됨)를 형성할 수 있다.
- [0546] 다른 경우에서, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역이 별개의 폴리펩티드로 발현될 수 있고, 이러한 "이중시스트론" 벡터는 별개의 전사체들의 발현을 허용한다. 이러한 벡터에서는 Ptac 또는 PhoA 프로모터와 같은 적합한 프로모터가 사용되어 이중시스트론 메세지의 발현을 구동한다. 예를 들어 경쇄 가변 및 불변 도메인을 코딩하는 제1 시스트론은 5' 말단에서 이. 콜라이 malE 또는 열-안정성 장독소 II (STII) 신호 서열과 같은 신호 서열에 연결되고 3' 말단에서는 gD 태그와 같은 태그 서열을 코딩하는 핵산 서열에 연결될 수 있다. 예를 들어 중쇄 가변 도메인 및 불변 도메인 CH1을 코딩하는 제2 시스트론은 그의 5' 말단에서 이. 콜라이 malE 또는 열-안정성 장독소 II (STII) 신호 서열과 같은 신호 서열에 연결되고 3' 말단에서는 바이러스 외피 단백질의 전체 또는 일부에 연결된다.
- [0547] 이중시스트론 메세지를 제공하고 F(ab')₂-pIII를 디스플레이하는 벡터의 한 실시양태에서, Ptac 또는 PhoA (AP) 프로모터와 같은 적합한 프로모터는, 5' 말단에서 이. 콜라이 malE 또는 열-안정성 장독소 II (STII) 신호 서열과 같은 신호 서열에 작동가능하게 연결되고 3' 말단에서는 gD 태그와 같은 태그 서열을 코딩하는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된 경쇄 가변 및 불변 도메인을 코딩하는 제1 시스트론의 발현을 구동한다. 제2 시스트론은 예를 들어 5' 말단에서 이. 콜라이 malE 또는 열-안정성 장독소 II (STII) 신호 서열과 같은 신호 서열에 작동

가능하게 연결된 중쇄 가변 및 불변 도메인을 코딩하고, 3' 말단에는 IgG 힌지 서열과 루이신 지퍼 서열을 포함하고 그 뒤에 바이러스 외피 단백질의 적어도 일부를 포함하는 이량체화 도메인을 갖는다.

[0548] **융합 폴리펩티드의 디스플레이**

[0549] CDR-함유 폴리펩티드 (예를 들어, 항체 가변 도메인)의 융합 폴리펩티드는 세포, 바이러스 또는 파지미드 입자의 표면에 다양한 포맷으로 디스플레이될 수 있다. 이러한 포맷은 단일 채 Fv 단편 (scFv), F(ab) 단편 및 다가 형태의 이들 단편을 포함한다. 예를 들어, 다가 형태는 ScFv, Fab 또는 F(ab')의 이량체를 포함하고, 본원에서 이것들은 각각 (ScFv)₂, F(ab)₂ 및 F(ab')₂라고 지칭된다. 다가 형태의 디스플레이는 몇가지 측면에서 유리한데, 이는 부분적으로는 이것들이 1개 초과와 항원 결합 부위를 보유하여 일반적으로 더 낮은 친화도의 클론이 동정되고 또한 선별 과정 동안에 얼마 안되는(rare) 클론이 보다 효율적으로 분류되게 할 수 있기 때문이다.

[0550] 박테리오파지 표면에 항체 단편을 포함하는 융합 폴리펩티드를 디스플레이하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있고, 예를 들어 특허 공개 제WO 92/01047호 및 본원에 기재되어 있다. 다른 특허 공개 제WO 92/20791호, 동 제WO 93/06213호, 동 제WO 93/11236호 및 동 제WO 93/19172호는 관련 방법을 기재하며, 이들 문헌 모두가 본원에 참고로 포함된다. 다른 간행물은 파지 표면에 디스플레이된 다양한 항원에 대하여 인위적으로 재배열된 V 유전자 레퍼토리를 갖는 항체의 동정을 보여주었다 (예를 들어, [H. R. Hoogenboom & G. Winter, J. Mol. Biol. 227:381-388 (1992)] 및 WO 93/06213 및 WO 93/11236에 개시되어 있음).

[0551] 벡터가 scFv 포맷으로 디스플레이되도록 구축되는 경우, 이것은 항체 가변 경쇄 도메인 및 항체 가변 중쇄 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 포함한다. 전형적으로, 항체 가변 중쇄 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 바이러스 외피 단백질 성분에 융합된다. 항체 가변 도메인 중 하나 또는 둘다는 하나 이상의 CDR 영역에 변이체 아미노산을 가질 수 있다. 항체 가변 경쇄를 코딩하는 핵산 서열은 펩티드 링커를 코딩하는 핵산 서열에 의해 항체 가변 중쇄 도메인에 연결된다. 펩티드 링커는 전형적으로 약 5개 내지 15개의 아미노산을 함유한다. 임의로는, 예를 들어 정제 또는 검출에 유용한 태그를 코딩하는 다른 서열이 항체 가변 경쇄 또는 항체 가변 중쇄 도메인 또는 이들 둘다를 코딩하는 핵산 서열의 3' 말단에 융합될 수 있다.

[0552] 벡터가 F(ab) 디스플레이를 위해 구축되는 경우, 이것은 항체 가변 도메인 및 항체 불변 도메인을 코딩하는 핵산 서열을 포함한다. 가변 경쇄 도메인을 코딩하는 핵산은 경쇄 불변 도메인을 코딩하는 핵산 서열에 융합된다. 항체 중쇄 가변 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 중쇄 불변 CH1 도메인을 코딩하는 핵산 서열에 융합된다. 전형적으로, 중쇄 가변 및 불변 도메인을 코딩하는 핵산 서열은 바이러스 외피 단백질의 전체 또는 일부를 코딩하는 핵산 서열에 융합된다. 항체 가변 경쇄 또는 중쇄 도메인 중 하나 또는 둘다는 하나 이상의 CDR에 변이체 아미노산을 가질 수 있다. 일부 실시양태에서, 중쇄 가변 및 불변 도메인은 바이러스 외피 단백질의 적어도 일부와의 융합체로서 발현되고, 경쇄 가변 및 불변 도메인은 중쇄 바이러스 외피 융합 단백질과는 따로 발현된다. 중쇄 및 경쇄는 공유 결합 또는 비-공유 결합일 수 있는 수단에 의해서 서로 연결될 수 있다. 임의로는, 예를 들어 정제 또는 검출에 유용한 폴리펩티드 태그를 코딩하는 다른 서열이 항체 경쇄 불변 도메인 또는 항체 중쇄 불변 도메인 또는 이들 둘다를 코딩하는 핵산 서열의 3' 말단에 융합될 수 있다.

[0553] 일부 실시양태에서는, 2가 부분, 예를 들어, F(ab)₂ 이량체 또는 F(ab')₂ 이량체가 입자 표면에 변이체 아미노산 치환을 갖는 항체 단편을 디스플레이하는데 사용된다. F(ab')₂ 이량체는 일반적으로 용액 상 항원 결합 검정에서 F(ab) 이량체와 동일한 친화도를 갖지만, F(ab')₂의 경우가 더 높은 화합력 때문에 해리 속도는 감소된다는 것이 밝혀진 바 있다. 따라서, 2가 포맷 (예를 들어, F(ab')₂)은 이것이 더 낮은 친화도의 클론이 동정되게 할 수 있고 또한 선별 과정 동안에 얼마 안되는 클론이 보다 효율적으로 분류되게 할 수 있기 때문에 특히 유용한 포맷이다.

[0554] **숙주 세포로의 벡터 도입**

[0555] 본 발명에 따라 기재된 바와 같이 구축된 벡터는 증폭 및/또는 발현을 위해 숙주 세포로 도입된다. 벡터는 전기천공법, 인산칼슘 침전법 등을 비롯한 표준 형질전환 방법을 이용하여 숙주 세포로 도입될 수 있다. 벡터가 바이러스와 같은 감염성 입자인 경우에는 상기 벡터 그 자체가 숙주 세포로의 진입을 제공한다. 유전자 융합체를 코딩하는 복제가능한 발현 벡터를 함유하는 숙주 세포의 형질감염 및 표준 절차에 따른 파지 입자의 생성은 융합 단백질이 표면에 디스플레이된 파지 입자를 제공한다.

[0556] 복제가능한 발현 벡터는 다양한 방법으로 숙주 세포에 도입된다. 한 실시양태에서, 벡터는 WO/00106717에 기재된 바와 같은 전기천공법을 이용하여 세포에 도입될 수 있다. 세포를 표준 배양 브로쓰(broth) 중에서 임의로

는 약 6시간 내지 48시간 (또는 OD₆₀₀ = 0.6 내지 0.8이 될 때까지) 동안 약 37℃에서 배양하여 성장시키고, 이후에는 브로쓰를 원심분리하여 상등액을 제거 (예를 들어 경사분리)한다. 일부 실시양태에서, 초기 정제는 세포 펠렛을 완충액 (예를 들어 1.0 mM HEPES pH 7.4) 중에 재현탁한 후에 재-원심분리하고 상등액을 제거하는 것을 포함한다. 이로써 수득된 세포 펠렛은 묽은 글리세롤 (예를 들어 5 내지 20% v/v) 중에 재현탁하고 다시 재-원심분리하여 세포 펠렛을 형성하고 상등액을 제거한다. 최종 세포 농도는 세포 펠렛을 물 또는 묽은 글리세롤 중에 원하는 농도로 재현탁하여 달성된다.

[0557] 특정 실시양태에서, 수용자 세포는 본 발명의 전기천공 감응성 이. 콜라이 균주이고, 이것은 이. 콜라이 균주 SS320 [Sidhu et al., Methods Enzymol. (2000), 328:333-363]이다. 균주 SS320은 MC1061 세포를 XL1-블루 세포와 생식 에피솜 (F' 플라스미드) 또는 XL1-블루(XL1-BLUE)를 MC1061 세포로 전달하기에 충분한 조건하에서 교배시켜 제조되었다. 균주 SS320은 미국 10801 버지니아주 만나사스 유니버시티 볼러버드 소재의 아메리칸 타입 컬처 콜렉션(American Type Culture Collection, ATCC)에 1998년 6월 18일자로 기탁 번호 제98795호로 기탁되어 있다. 균주 중에서의 파지 복제를 가능하게 하는 임의의 F' 에피솜이 본 발명에 사용될 수 있다. 적합한 에피솜은 ATCC에 기탁된 균주들로부터 입수가가능하거나 시판되고 있다 (CJ236, CSH18, DHF', JM101, JM103, JM105, JM107, JM109, JM110), KS1000, XL1-블루, 71-18 등).

[0558] 전기천공 동안 더 높은 DNA 농도 (약 10×)를 사용하면 형질전환 효율이 증가되고 숙주 세포로 형질전환되는 DNA의 양이 증가된다. 또한, 높은 세포 농도를 사용하는 것은 효율도 증가시킨다 (약 10×). 전달되는 DNA의 양이 많을 수록 더 높은 다양성을 갖고 조합 라이브러리의 독특한 구성원 수가 더 많은 더욱 대규모의 라이브러리가 생성된다. 형질전환된 세포는 일반적으로 항생제-함유 배지에서의 성장으로 선별된다.

[0559] 선택된 표적에 대한 결합제의 선별 (분류) 및 스크리닝

[0560] 표적 항원 결합제를 동정하기 위하여 다양한 순열 및 여러 방법으로 파지 디스플레이를 이용하는 것은 당업계에 널리 수립되어 있다. 한 접근법은 융합 폴리펩티드를 코딩하는 유전자 융합체에 작동가능하게 연결된 전사 조절 요소를 함유하는 변이체 복제가능한 벡터 군을 구축하는 단계, 적합한 숙주 세포를 형질전환시키는 단계, 형질전환된 세포를 배양하여 표면에 융합 폴리펩티드를 디스플레이하는 파지 입자를 형성하는 단계, 및 이후 재조합 파지 입자를 표적 항원과 접촉시켜서 입자 집단 중 적어도 일부가 그러한 입자들 중에서 선별 과정 동안에 결합하지 않는 입자에 비하여 결합하는 입자의 서브세트를 증가시키고 풍부하게 하려는 목적으로 상기 표적에 결합하게 함으로써 선별 또는 분류를 행하는 과정을 포함한다. 선별된 풀은, 상이하거나 동일한 엄격도로 동일 표적에 대해 추가로 분류하기 위해서 새로운 XL1-블루 세포와 같은 숙주 세포를 감염시켜서 증폭시킬 수 있다. 이어서, 이로써 생성된 변이체 풀을 표적 항원에 대하여 스크리닝하여 신규한 고친화도 결합 단백질들을 동정한다. 이러한 신규 고친화도 결합 단백질은 치료제, 길항제 또는 효능제, 및/또는 진단 시약 및 연구용 시약으로서 유용할 수 있다.

[0561] 변이체 아미노산을 포함하는 항체 가변 도메인과 같은 융합 폴리펩티드는 파지, 파지미드 입자 또는 세포의 표면에서 발현된 후에, 융합 폴리펩티드 군의 구성원이 전형적으로 관심 항원인 표적 항원에 결합하는 능력에 대하여 선별 및/또는 스크리닝할 수 있다. 표적에 대한 결합제의 선별 과정은 항체 가변 도메인에 대하여 친화도를 갖는 일반 단백질, 예컨대 단백질 L 또는 파지상에 디스플레이된 항체 또는 항체 단편에 결합하는 태그 특이적 항체에 대한 분류에 포함될 수도 있으며, 올바르게 폴딩된 항체 단편 (융합 폴리펩티드)을 디스플레이하는 라이브러리 구성원을 풍부하게 하는데 이용될 수 있다.

[0562] 표적 단백질, 예를 들어 DR5 수용체 및 HER-2는 자연 공급원으로부터 단리될 수도 있고 당업계 공지의 절차에 따라 재조합 방법으로 제조될 수도 있다. 인간 및 무린 DR5의 서열은 표 1에 기재되어 있다. HER-2 ECD의 서열 및 제조법은 문헌 [Franklin MC. Carey KD. Vajdos FF. Leahy DJ. de Vos AM. Sliwkowski MX. Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex, Cancer Cell. 5(4):317-28, 2004]에 기재되어 있다. HER-2의 세포외 도메인 아미노산 23 내지 646의 서열은 프로테인 데이터뱅크 레코드 (Protein DataBank Record) 1S78 (2004)에서 제공된다. 표적 항원은 치료상 관심이 있는 수많은 분자를 포함할 수 있다.

[0563] 친화도에 따라 선별 (분류)하는 다양한 전략을 이용할 수 있다. 일례는 고체 지지체 방법 또는 플레이트 분류 또는 고정화된 표적 분류이다. 또다른 예는 용액-결합 방법이다.

[0564] 고체 지지체 방법의 경우, 표적 단백질은 적합한 고체 또는 반-고체 매트릭스에 부착될 수 있다. 이러한 매트릭스는 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들어 아가로스 비드, 아크릴아미드 비드, 유리 비드, 셀룰로스, 각종

아크릴산 공중합체, 히드록시알킬 메타크릴레이트 겔, 폴리아크릴산 및 폴리메타크릴산 공중합체, 나일론, 중성 및 이온성 담체 등이 있다. 표적 단백질을 매트릭스에 부착시키는 것은, 예를 들어 문헌 [Methods in Enzymology, 44 (1976)]에 기재된 방법 또는 당업계에 공지된 다른 수단에 의해 달성될 수 있다.

[0565] 표적 항원을 매트릭스에 부착시킨 후, 고정화된 표적물을 적어도 파지 입자 집단의 서브세트와 고정화된 표적 항원의 결합에 적합한 조건하에서 융합 폴리펩티드를 발현하는 라이브러리와 접촉시킨다. 통상적으로, pH, 이온 강도, 온도 등을 비롯한 상기 조건은 생리적 조건을 모방할 것이다. 고정화된 표적에 결합된 입자 ("결합체")는, 세척에 의해 상기 표적에 결합하지 않는 입자로부터 분리된다. 세척 조건을 조정하여 고친화도 결합체를 제외한 모두가 제거되도록 할 수 있다. 결합체는 고정화된 표적으로부터 다양한 방법으로 해리될 수 있다. 이러한 방법은 야생형 리간드 (예를 들어 과량의 표적 항원)를 사용한 경쟁적 해리, pH 및/또는 이온 강도의 변경, 및 당업계에 공지된 방법을 포함한다. 전형적으로, 결합체의 선택은 적합한 용출 물질, 예컨대 0.1 M HCl과 같은 산 또는 리간드를 사용하여 친화도 매트릭스로부터 용출시키는 것을 포함한다. 리간드의 농도를 증가시키면서 용출시키면, 디스플레이된 결합 분자를 친화도가 더 높은 순서로 용출시킬 수 있다.

[0566] 결합체를 단리한 후에, 적합한 숙주 세포를 결합제인 바이러스 입자 (및 예를 들어 바이러스 입자가 파지미드 입자인 경우와 같이 필요하다면 헬퍼 파지)로 감염시켜서 이것을 상기 세포 중에서 재-증폭시킬 수 있으며, 원하는 융합 폴리펩티드를 디스플레이하는 입자의 증폭에 적합한 조건하에 숙주 세포를 배양한다. 이어서, 파지 입자를 수집하여 선별 과정을 표적 항원의 결합체가 풍부해질 때까지 1회 이상 반복한다. 임의의 회수의 선별 또는 분류를 이용할 수 있다. 선별 또는 분류 절차 중 하나는 일반적 친화도의 단백질, 예컨대 단백질 L 또는 gD 단백질 또는 폴리히스티딘 태그에 대한 항체와 같이 디스플레이된 폴리펩티드에 존재하는 폴리펩티드 태그에 대한 항체에 결합하는 결합체를 단리하는 것을 포함할 수 있다. 대조선별(counterselction)은 1종 이상의 비-표적 항원에 대하여도 원치않는 결합을 나타내는 결합체를 단리하기 위한 1회 이상의 선별 또는 분류에 포함될 수 있다.

[0567] 본 발명의 한 측면은 "용액-결합 방법"이라 불리는 신규한 선별 방법을 이용하여 본 발명의 라이브러리에 대하여 선별하는 것을 포함한다. 본 발명은 통상적인 용액 분류 방법에 비해 훨씬 더 개선된 효율을 갖는 용액 상 분류를 허용한다. 용액 결합 방법은 무작위 라이브러리로부터 원래의 결합체를 찾아내거나 또는 특정 결합 클론 또는 클론군의 친화도가 개선되도록 디자인된 라이브러리로부터 개선된 결합체를 찾아내는데 이용될 수 있다. 상기 방법은 복수의 폴리펩티드, 예를 들어 파지 또는 파지미드 입자에 디스플레이된 것들 (라이브러리)을 태그 분자로 표지되거나 그와 융합된 표적 항원과 접촉시키는 것을 포함한다. 태그는 바이오틴 또는 특정 결합제를 이용할 수 있는 다른 부분일 수 있다. 용액 상의 엄격도는 제1 용액 결합 상 중의 표지된 표적 항원의 농도를 감소시켜서 달라지게 할 수 있다. 엄격도를 더욱 증가시키기 위해서는 제1 용액 결합 상을 이용한 후에 제1 용액 상 중에서 표지된 표적과 초기 결합시킨 후에 고농도의 미표지 표적 항원을 갖는 제2 용액 상을 이용할 수 있다. 통상적으로, 제2 상 (포함되는 경우)에는 표지된 표적에 비해 100배 내지 1000배의 미표지 표적이 사용된다. 제1 용액 상을 인큐베이션하는 기간은 수분 내지 1시간 내지 2시간 또는 평형에 도달하기까지의 더 오랜 시간으로 달라질 수 있다. 이러한 제1 상 중에서의 결합에 더 짧은 시간을 이용한다면, 신속한 결합시간(on-rate)을 갖는 결합체를 편향(bias)시키거나 선별할 수 있다. 제2 상 중에서의 인큐베이션 기간 및 온도를 변화시켜 엄격도를 증가시킬 수 있다. 이것은 표적에서 떨어져 나오는 (해리시간) 속도가 느린 결합체에 대한 선별 편향을 제공한다. 복수의 폴리펩티드 (파지/파지미드 입자에 디스플레이된 것들)를 표적 항원과 접촉시킨 후, 표지된 표적에 결합된 파지 또는 파지미드 입자는 결합하지 않은 파지로부터 분리된다. 결합 용액 상으로부터의 입자-표적 혼합물은, 이것을 표지된 표적 부분과 접촉시키고 이것이 짧은 시간 (예를 들어, 2분 내지 5분) 동안 표지된 표적 부분과 결합하는 분자에 결합되도록 하여 단리한다. 표지된 표적 항원의 초기 농도는 약 0.1 nM 내지 약 1000 nM 범위일 수 있다. 결합된 입자를 용출시키고, 다음 회의 분류를 위해 증식시킬 수 있다. 특정 실시양태에서, 매번의 분류마다 표지된 표적 항원의 농도를 더 낮게 하여 여러 회의 분류를 수행한다.

[0568] 예를 들어, 약 100 nM 내지 250 nM의 표지된 표적 항원을 사용한 초기 분류 또는 선별은 광범위한 범위의 친화도를 포괄하기에 충분해야 하지만, 이 인자는 실험적으로 및/또는 전문인의 원하는 것에 맞춰 결정될 수 있다. 제2회의 선별에서는 약 25 nM 내지 100 nM의 표지된 표적 항원이 사용될 수 있다. 제3회의 선별에서는 약 0.1 nM 내지 25 nM의 표지된 표적 항원이 사용될 수 있다. 예를 들어 100 nM 결합체의 친화도를 개선시키기 위해서는, 20 nM로 시작한 후에 5 nM 및 1 nM의 표지된 표적으로 진행하다가 훨씬 더 낮은 농도, 예를 들어 약 0.1 nM의 표지된 표적 항원으로 진행하는 것이 바람직할 수 있다.

[0569] 통상적인 용액 분류는 스트렙타비딘-코팅된 비드와 같은 비드의 사용을 수반하는데, 이것은 사용하기에 매우 성

가시고 흔히 파지 결합제 회수의 효율이 매우 낮다. 비드를 사용한 통상적인 용액 분류에는 2분 내지 5분보다 훨씬 더 오랜 시간이 소요되며, 고처리량 자동화를 적용하는 것은 상기한 본 발명보다 덜 편리하다.

[0570] 본원에 기재한 바와 같이, 고체 지지체 및 용액 분류 방법의 조합은 원하는 특징을 갖는 결합제를 분리하는데 유리하게 사용될 수 있다. 표적 항원에 대하여 수회에 걸친 선별/분류 후에는, 선별된 풀로부터 개개의 클론을 스크리닝하여 원하는 성질/특징을 갖는 특이적 결합제를 확인하는 것이 일반적이다. 일부 실시양태에서, 스크리닝 과정은 라이브러리 후보들의 고처리량 스크리닝을 허용하기 위한 자동화 시스템으로 수행된다.

[0571] 2가지 주요 스크리닝 방법을 하기한다. 그러나, 당업계에 공지된 다른 방법이 본 발명의 방법에 사용될 수도 있다. 제1 스크리닝 방법은 고정화된 표적 항원을 이용한 파지 ELISA 검정을 포함하는데, 이것은 비-결합 클론으로부터 특정 결합 클론의 동정을 제공한다. 특이성은 표적으로 코팅된 웰 및 BSA 또는 다른 비-표적 단백질로 코팅된 웰에서 클론을 동시 검정하여 결정될 수 있다. 상기 검정은 고처리량 스크리닝을 위해 자동화가능하다.

[0572] 한 실시양태는 복수의 폴리펩티드를 포함하는 복제가능한 발현 벡터의 라이브러리를 생성하고, 상기 라이브러리를 결합에 적합한 조건하에 표적 항원 및 1종 이상의 비-표적 항원과 접촉시키고, 상기 라이브러리 중의 폴리펩티드 결합제를 비-결합체로부터 분리하고, 표적 항원에는 결합하고 비-표적 항원에는 결합하지 않는 결합제를 동정하고, 상기 결합제를 표적 항원으로부터 용출시키며, 특정 항원에 결합하는 폴리펩티드 결합제를 포함하는 복제가능한 발현 벡터를 증폭시킴으로써, 항체 가변 도메인의 라이브러리로부터 특정 표적 항원에 결합하는 항체 가변 도메인을 선별하는 방법을 제공한다.

[0573] 제2 스크리닝 검정은 저친화도를 갖는 클론으로부터 고친화도를 갖는 클론을 고처리량 방식으로 스크리닝하는 친화도 스크리닝 검정이다. 이 검정에서는 각 클론을, 소정의 기간 (예를 들어, 30분 내지 60분) 동안 특정 농도의 표적 항원과 함께 제1 인큐베이션하고 또한 제1 인큐베이션하지 않고 표적 코팅된 웰에 잠시 (예를 들어, 5분 내지 15분) 적용하여 검정한다. 이어서, 예를 들어 항-M13 HRP 접합체를 사용하는 통상의 파지 ELISA 방법을 이용하여 결합된 파지를 결정한다. 표적과 예비-인큐베이션시킨 웰 및 표적 항원과 예비-인큐베이션시키지 않은 다른 웰의 2개 웰의 결합 신호 비율은 친화도의 지표이다. 제1 인큐베이션을 위한 표적의 농도 선택은 관심 친화도 범위에 따라 달라진다. 예를 들어, 10 nM을 넘는 친화도를 갖는 결합제를 원한다면, 제1 인큐베이션에서는 흔히 100 nM의 표적이 사용된다. 특정 회의 분류로부터 일단 결합제를 찾아내었으면 (선별), 이들 클론을 친화도 스크리닝 검정으로 스크리닝하여 더 높은 친화도를 갖는 결합제를 동정할 수 있다.

[0574] 상기한 임의의 분류/선별 방법의 조합은 스크리닝 방법과 조합될 수 있다. 예를 들어 한 실시양태에서는, 폴리펩티드 결합제가 고정화된 표적 항원과의 결합에 대하여 우선 선별된다. 이어서, 고정화된 표적 항원에 결합하는 폴리펩티드 결합제를 증폭시키고 표적 항원에 결합하고 비-표적 항원에는 결합하지 않는 것에 대하여 스크리닝할 수 있다. 표적 항원에 특이적으로 결합하는 폴리펩티드 결합제를 증폭시킨다. 이어서, 이들 폴리펩티드 결합제를 약 0.1 nM 내지 약 1000 nM 농도 범위의 표지된 표적 항원과 접촉시켜서 복합체를 형성함으로써 더 높은 친화도에 대하여 선별할 수 있고, 복합체는 표적 항원상의 표지에 결합하는 작용제와의 접촉을 통해 분리한다. 이어서, 폴리펩티드 결합제를 표지된 표적 항원으로부터 용출시키고, 임의로는 수회의 선별을 반복하며 매번마다 표지된 표적 항원을 더 낮은 농도로 사용한다. 이어서, 이러한 선별 방법으로 분리한 고친화도 폴리펩티드 결합제를 당업계에 공지된 다양한 방법 (일부는 본원에 기재되어 있음)으로 고친화도에 대하여 스크리닝할 수 있다.

[0575] 이러한 방법들은 많은 수의 클론에 대하여 시간이 오래 걸리고 복잡한 경쟁 친화도 검정을 수행하지 않고도 고친화도를 갖는 클론을 찾아낼 수 있다. 많은 클론에 대한 복잡한 검정을 수행하는 집중적인 측면은 흔히 선별로부터 최상의 클론을 찾아내는데 있어서 유의한 장애이다. 이러한 방법은 선별 과정으로부터 유사한 친화도를 갖는 여러 결합제를 회수할 수 있는 경우의 친화도 개선 효과에 특히 유용하다. 상이한 클론들은 파지 또는 파지미드 입자상에서의 발현/디스플레이 효율이 매우 상이할 수 있다. 더 고도로 발현된 이러한 클론들은 회수될 기회가 더 높다. 즉, 선별이 변이체의 디스플레이 또는 발현 수준에 의해 편향될 수 있다. 본 발명의 용액-결합 분류 방법은 고친화도를 갖는 결합제를 찾기 위한 선별 과정을 개선시킬 수 있다. 이러한 방법은 최상의 결합제를 신속하고 쉽게 스크리닝하는데 유의한 이점을 제공하는 친화도 스크리닝 검정이다.

[0576] 항체 또는 항원 결합 단편은 기능적 활성, 예를 들어 길항제 또는 효능제 활성에 대하여 추가로 선별될 수 있다. 예를 들어, 항-HER-2 항체는 HER-2의 티로신 인산화를 억제하거나 암 세포 증식을 억제하거나 암 세포의 아파토시스를 유도하는 능력에 대하여 선별될 수 있다. 이러한 활성을 확인하고 측정하는 검정법은 예를 들어 WO 98/17797에 기재되어 있다.

- [0577] 추가로, 항-DR5 항체는 암 세포의 아폽토시스를 유도하고/하거나 염증성 세포의 기능을 억제하는 능력에 대하여 선별될 수 있다. 다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 DR5와의 결합에 대하여 Apo-2L과 경쟁하는 능력에 대하여 선별된다. 다른 실시양태에서, 항-인간 DR5 항체는 무린 및/또는 시노몰구스(cynomolgous) DR5와의 결합에 대하여 선별된다. 생물학적 활성을 결정하는 검정은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 DNA 단편화 (예를 들어 문헌 [Marsters et al., Curr. Biology, 6:1669 (1996)] 참조), 카스파제 불활성화, DR5 결합 (예를 들어 1998년 11월 19일자로 공개된 WO 98/51793 참조)을 이용하여 수행될 수 있다. 아폽토시스는 세포질의 응축, 세포질막 미세융모의 손실, 핵의 분열, 염색체 DNA의 분해 또는 미토콘드리아 기능의 소실을 확인하여 결정할 수 있다. 이러한 활성은 예를 들어 당업계에 공지된 세포 생존력 검정 (예컨대 알라마르 블루(Alamar blue) 검정 또는 MTT 검정), FACS 분석, 카스파제 활성화, DNA 단편화 (예를 들어 문헌 [Nicoletti et al., J. Immunol. Methods, 139:271-279 (1991)] 참조) 및 폴리-ADP 리보스 폴리머라제 "PARP"의 절단 검정으로 결정하고 측정할 수 있다.
- [0578] 한 실시양태에서, 아폽토시스에 대한 검정은 96웰 조직 배양 플레이트에서 대조군 표준물 및 항-DR5 항체의 2배 계열 희석물을 제조하는 것을 포함한다. Apo-2 리간드 (아미노산 114 내지 281, PCT/US00/17579에 기재되어 있음)를 비교용으로 시험하였다. Colo-205 (20000개 세포/웰) 인간 결장 암종 세포 (ATCC)를 96웰 플레이트에 접종하였다. 상기 플레이트를 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 24시간의 인큐베이션 기간 중 마지막 3 시간 동안에는 웰에 알라마즈블루(AlamazBlue) (트레크 다이아그노스틱 시스템즈, 인크.(Trek Diagnostic Systems, Inc.))를 첨가하였다. 530 nm에서의 여기 및 590 nm에서의 방출을 이용한 96웰 형광측정기로 형광을 판독하였다. 이 결과는 상대적 형광 유닛 (RFU)으로 나타났다.
- [0579] 표적 항원에 대한 결합 및/또는 기능적 검정으로 결합제를 동정한 후에는 핵산을 추출할 수 있다. 이어서, 추출된 DNA를 이. 콜라이 숙주 세포를 형질전환시키는데 바로 이용할 수도 있고, 또는 대안으로는 예를 들어 적합한 프라이머를 사용한 PCR로 코딩 서열을 증폭시키고 임의의 전형적인 서열분석 방법으로 서열분석을 행할 수 있다. 결합제의 가변 도메인 DNA는 제한 효소 소화시킨 후에 단백질 발현을 위한 벡터로 삽입할 수 있다.
- [0580] 본 발명의 방법에 따라 생성된, 서열 다양성이 제한된 CDR(들)을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 집단을 사용하여, 도 11, 도 15, 도 21A 및 도 24A에 기재된 것들을 포함하는 다양한 표적에 대한 결합제를 분리할 수 있다. 이들 결합제는 제한된 코돈을 사용하여 생성된 다양한 서열을 포함하는 하나 이상의 변이체 CDR을 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 변이체 CDR은 제한된 코돈 세트의 아미노산 치환 및/또는 CDRH3 길이 변화로 인한 아미노산 삽입으로 생성된 서열 다양성을 포함하는 CDRH3이다. 본 발명의 융합 폴리펩티드 생성에 유용한 예시적인 올리고뉴클레오타이드는 도 9A 내지 도 9D, 도 20A 내지 도 20L 및 도 23에 열거한 것들을 포함한다. 하나 이상의 변이체 CDR이 조합될 수 있다. 일부 실시양태에서, 오직 CDRH3만이 다양화된다. 다른 실시양태에서, CDRH3을 포함하는 2개 이상의 중쇄 CDR가 변이체이다. 다른 실시양태에서, CDRH3을 제외한 하나 이상의 중쇄 CDR이 변이체이다. 일부 실시양태에서, 하나 이상의 중쇄 및 하나 이상의 경쇄 CDR이 변이체이다. 일부 실시양태에서, CDR H1, H2, H3, L1, L2 및 L3 중 하나 이상, 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상, 5개 이상 또는 모두가 변이체이다.
- [0581] 일부의 경우에, 하나 이상의 다양화된 경쇄 CDR을 하나 이상의 다양화된 중쇄 CDR을 포함하는 폴리펩티드 집단에서 분리한 신규한 결합제와 조합시키는 것이 유익할 수 있다. 상기 과정은 2단계 과정이라 지칭될 수 있다. 2단계 과정의 예는 하나 이상의 CDR을 무작위화하여 생성한 하나 이상의 라이브러리 내에서 결합제 (일반적으로 더 낮은 친화도의 결합제)를 우선 결정하는 것을 포함하며, 이때 각 라이브러리에서 무작위화된 CDR은 상이하거나 또는 동일한 CDR이 무작위되어 상이한 서열을 생성한다. 이어서, 중쇄 라이브러리로부터의 결합제를 예를 들어 쿨켈의 기술과 같은 돌연변이유발 기술 또는 새로운 경쇄 라이브러리를 고정된 경쇄만을 갖는 기존의 중쇄 결합제로 클로닝 (절단-접착(cut-and-paste) (예를 들어 여러가지 CDR 서열들을 함께 라이게이션함))함으로써 경쇄 CDR에서 CDR 다양성으로 무작위화할 수 있다. 이후, 상기 풀을 1종 이상의 표적에 대하여 추가로 분류하여 친화도가 증가된 결합제를 동정할 수 있다. 예를 들어, H1/H2/H3을 분류하여 수득한 결합제 (예를 들어, 저 친화도 결합제)를 L1/L2/L3 다양성의 라이브러리와 융합시켜서 원래의 고정된 L1/L2/L3을 대체할 수 있고, 이후에는 상기 신규 라이브러리를 관심 표적에 대하여 추가로 분류하여 또다른 세트의 결합제 (예를 들어, 고친화도 결합제)를 수득한다. 임의의 다양한 표적 항원에 대하여 더 높은 결합 친화도를 디스플레이하는 신규한 항체 서열을 동정할 수 있다.
- [0582] 일부 실시양태에서, 본 발명의 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리를 복수회의 분류에 적용시키며, 여기서 매회의 분류는 그 이전 회의 분류시에 수득한 결합제를 이전 회(들)의 표적 항원(들)과는 다른 표적 항원과 접촉시키는 것을 포함한다. 표적 항원은 서열에 상동성이 있는 것이 바람직하지만 반드시 그래야 하는 것은 아니고,

예를 들어 관련은 있으나 별개의 폴리펩티드 과의 구성원, 예를 들어 사이토킨 (예를 들어, 알파 인터페론 아형) 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0583] **변이체 CDR-함유 폴리펩티드를 포함하는 라이브러리의 생성**

[0584] 변이체 CDR 폴리펩티드의 라이브러리는 항체 가변 도메인 중 하나 이상의 CDR에서 용매 접근가능하고/하거나 고도로 다양한 위치를 돌연변이화시켜 생성될 수 있다. CDR 중 일부 또는 모두는 본 발명의 방법으로 돌연변이화시킬 수 있다. 일부 실시양태에서, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 중의 위치를 돌연변이화시켜서 단일 라이브러리를 형성하거나, 또는 CDRL3 및 CDRH3 중의 위치를 돌연변이화시켜서 단일 라이브러리를 형성하거나, 또는 CDRL3 및 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 중의 위치를 돌연변이화시켜서 단일 라이브러리를 형성함으로써 다양한 항체 라이브러리를 생성하는 것이 바람직할 수 있다.

[0585] 예를 들어 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3에서 용매 접근가능하고/하거나 고도로 다양한 위치에 돌연변이를 갖는 항체 가변 도메인의 라이브러리가 생성될 수 있다. CDRL1, CDRL2 및 CDRL3에 돌연변이를 갖는 또다른 라이브러리가 생성될 수 있다. 이들 라이브러리를 서로와 병용하여 원하는 친화도의 결합체를 생성할 수도 있다. 예를 들어, 표적 항원과의 결합에 대하여 중쇄 라이브러리를 1회 이상 선별한 후에는 결합체의 친화도를 증가시키기 위한 추가의 이후 선별을 위해 경쇄 라이브러리를 중쇄 결합체 집단으로 대체할 수 있다.

[0586] 한 실시양태에서, 라이브러리는 중쇄 서열 가변 영역의 CDRH1, CDRH2 및/또는 CDRH3 영역 및/또는 경쇄 서열 가변 영역 CDRL3 영역에서 원래의 아미노산을 한정된 세트의 변이체 아미노산으로 치환하여 생성된다. 본 발명에 따라, 이러한 라이브러리는 복수의 항체 서열을 함유할 수 있고, 여기서의 서열 다양성은 중쇄 서열의 CDRH3 영역에 주로 존재한다.

[0587] 한 측면에서, 라이브러리는 인간화 항체 4D5 서열, 또는 인간화 항체 4D5 서열의 프레임워크 아미노산 서열과 관련하여 생성될 수 있다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52 내지 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95, 96, 97, 98, 99, 100, 100a, 100b 및 100c, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 8에서 "YSGR-A" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52 내지 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95, 96, 97, 98, 99, 100, 100a, 100b 및 100c, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 8에서 "YSGR-B" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52 내지 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95, 96, 97, 98, 99, 100, 100a, 100b 및 100c, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 8에서 "YSGR-C" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52 내지 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95, 96, 97, 98, 99, 100, 100a, 100b 및 100c, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 8에서 "YSGR-D" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 100b 및 100c의 아미노산 위치는 CDRH3의 길이에 따라 여러가지 알파벳형 식별자를 가질 수 있지만, 이들 위치는 위치 101 앞쪽의 마지막 2개의 CDRH3 위치이다. 적합한 올리고뉴클레오타이드 서열의 예로는 도 9A 내지 도 9D에 열거한 것들 등이 있으나 이에 제한되지 않으며, 당업자가 본원에 기재된 기준에 따라 결정할 수 있다.

[0588] 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19A에서 "SAH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19A에서 "SCH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19A에서 "SFH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19A에서 "SGH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19A에서 "SIH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m,

및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19A에서 "SLH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. CDRH3의 길이가 다양하기 때문에, 위치 101 앞쪽의 마지막 2개의 위치는 CDRH3의 길이에 따라 여러가지 알파벳형 식별자를 가질 수 있지만, 이들 위치는 위치 101 앞쪽의 마지막 2개의 CDRH3 위치이다. 적합한 올리고뉴클레오타이드 서열의 예로는 도 20A 내지 도 20L에 열거한 것들 등이 있으나 이에 제한되지 않으며, 당업자가 본원에 기재된 기준에 따라 결정할 수 있다.

[0589] 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19B에서 "SNH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19B에서 "SPH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19B에서 "SRH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19B에서 "STH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19B에서 "SWH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 19B에서 "SYH3" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. CDRH3의 길이가 다양하기 때문에, 위치 101 앞쪽의 마지막 2개의 위치는 CDRH3의 길이에 따라 여러가지 알파벳형 식별자를 가질 수 있지만, 이들 위치는 위치 101 앞쪽의 마지막 2개의 CDRH3 위치이다. 적합한 올리고뉴클레오타이드 서열의 예로는 도 20A 내지 도 20L에 열거한 것들 등이 있으나 이에 제한되지 않으며, 당업자가 본원에 기재된 기준에 따라 결정할 수 있다.

[0590] 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 22에서 "SY" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 22에서 "SW" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 22에서 "SR" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. 특정 실시양태에서, 라이브러리는 적어도 CDRH1의 잔기 28 및 30 내지 33, CDRH2의 잔기 50, 52, 53, 54, 56 및 58, CDRH3의 잔기 95 내지 100m, 및 CDRL3의 잔기 91 내지 94 및 96을 도 22에서 "SF" 라이브러리로 나타낸 바와 같이 기재한 아미노산으로 치환시켜 생성된다. CDRH3의 길이가 다양하기 때문에, 위치 101 앞쪽의 마지막 2개의 위치는 CDRH3의 길이에 따라 여러가지 알파벳형 식별자를 가질 수 있지만, 이들 위치는 위치 101 앞쪽의 마지막 2개의 CDRH3 위치이다. 적합한 올리고뉴클레오타이드 서열의 예로는 도 23에 열거된 것들 등이 있으나 이에 제한되지 않으며, 당업자가 본원에 기재된 기준에 따라 결정할 수 있다.

[0591] 특정 실시양태에서, 라이브러리는 다른 라이브러리들을 폴링하여 생성된다. 한 실시양태에서, "SXH3" 라이브러리는 본원에서 사용한 바와 같이 SAH3, SCH3, SFH3, SGH3, SIH3, SLH3, SNH3, SPH3, SRH3, STH3, SWH3 및 SYH3 라이브러리를 포함한다. 또다른 실시양태에서, "SX-표면" 라이브러리는 "SY", "SW", "SR" 및 "SF" 라이브러리를 포함한다.

[0592] 또다른 실시양태에서, 여러가지 CDRH3 디자인이 고친화도 결합제를 단리하고 다양한 에피토프에 대한 결합제를 단리하는데 이용된다. CDRH3에서의 다양성을 위해서, H3의 길이가 상이한 다중 라이브러리를 따로 구축한 후에 조합하여 표적 항원에 대한 결합제를 선별할 수 있다. 이 라이브러리에서 생성된 CDRH3의 길이 범위는 10개 내지 21개, 11개 내지 21개, 12개 내지 21개, 13개 내지 21개, 14개 내지 21개, 15개 내지 21개, 16개 내지 21개, 17개 내지 21개, 18개 내지 21개, 19개 내지 21개, 20개 내지 21개 아미노산일 수 있지만, 이와는 다른 길이도 생성될 수 있다. 상기한 바와 같이, 다양성은 CDRH1 및 CDRH2에서도 생성될 수 있다. 라이브러리의 한 실시양태에서, H1 및 H2에서의 다양성은 도 9A 내지 도 9D, 도 20A 내지 도 20L 및 도 23에 예시된 올리고뉴클레

오티드를 이용하여 생성된다. 다양한 서열을 갖는 다른 올리고뉴클레오티드도 사용될 수 있다. 올리고뉴클레오티드는 실제적인 필요성 및 전문인이 원하는 바에 따라 단독으로 사용될 수도 있고, 임의의 다양한 조합으로 풀링될 수도 있다. 일부 실시양태에서, 중쇄 CDR에서의 무작위화 위치는 도 8, 도 9, 도 11, 도 15, 도 19, 도 21, 도 22, 도 23 및 도 24에 열거한 것들을 포함한다.

[0593] 다중 라이브러리는 풀링될 수 있고, 본원에 기재한 바와 같은 고체 지지체 선별법 및 용액 분류 방법을 이용하여 분류될 수 있다. 다중 분류 전략이 이용될 수 있다. 예를 들어, 한 변형법은 고체에 결합된 표적에 대한 분류 및 이후 융합 폴리펩티드에 존재할 수 있는 태그 (예를 들어 항-gD 태그)에 대한 분류 및 이후 고체에 결합된 표적에 대한 또다른 분류를 수행하는 것을 포함한다. 대안으로, 상기 라이브러리는 고체 표면에 결합된 표적에 대하여 우선 분류될 수 있고, 이후에는 용출된 결합제를 표적 항원의 농도를 낮추가면서 용액 상 결합으로 분류한다. 여러가지 분류 방법의 조합을 이용하는 것은 고도로 발현된 서열에 대해서만 최소한의 선별을 제공하고, 수많은 여러가지 고친화도 클론의 선별을 제공한다.

[0594] 상기한 바와 같이 풀링된 라이브러리로부터 단리된 결합제 중, 일부의 예에서는 경쇄에 제한된 다양성을 제공하여 친화도를 추가로 개선시킬 수 있다는 것이 발견되었다. 경쇄 다양성은 CDRL3 중의 아미노산 위치 91 내지 96 또는 그의 서브세트를 다양화하여 생성될 수 있지만 반드시 그래야 하는 것은 아니다. 한 실시양태에서, 무작위화 위치는 도 8, 도 9, 도 11, 도 15, 도 19, 도 21, 도 22, 도 23 및 도 24에 열거한 것들이다.

[0595] 이들 실시양태의 라이브러리에서 단리된 고친화도 결합제는 박테리아 및 진핵 세포 배양물에서 높은 수율로 쉽게 생성된다. 벡터는 gD 태그, 바이러스 외피 단백질 성분 서열과 같은 서열을 쉽게 제거하고/하거나 불변 영역 서열에 부가되어 전장 항체 또는 항원 결합 단편이 고수율로 생성되도록 디자인될 수 있다. 임의의 조합의 코돈 세트 및 CDR은 본 발명의 방법에 따라 다양화될 수 있다.

[0596] 벡터, 숙주 세포 및 재조합 방법

[0597] 본 발명의 항체 폴리펩티드를 재조합 생성하기 위해서, 이것을 코딩하는 핵산을 단리하여 추가의 클로닝 (DNA의 증폭) 또는 발현을 위한 복제가능한 벡터에 삽입한다. 상기 항체를 코딩하는 DNA는 통상적인 절차 (예를 들어, 상기 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용함)를 이용하여 쉽게 단리되고 서열분석된다. 많은 벡터가 이용가능하다. 벡터의 선택은 부분적으로는 사용될 숙주 세포에 따라 달라진다. 일반적으로, 숙주 세포는 원핵 또는 진핵 (일반적으로 포유동물) 기원이다.

[0598] 원핵 숙주 세포를 이용한 항체 생성:

[0599] 벡터 구축

[0600] 본 발명의 항체의 폴리펩티드 성분을 코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열은 표준 재조합 기술로 수득할 수 있다. 원하는 폴리뉴클레오티드 서열을 하이브리도마 세포와 같은 항체-생성 세포에서 단리하여 서열분석할 수 있다. 대안으로, 폴리뉴클레오티드는 뉴클레오티드 합성기 또는 PCR 기술로 합성될 수 있다. 상기 폴리펩티드를 코딩하는 서열이 일단 수득되면, 이것을 원핵 숙주에서 이중 폴리뉴클레오티드를 복제하고 발현할 수 있는 재조합 벡터에 삽입한다. 본 발명의 목적상, 당업계에서 이용가능하고 공지되어 있는 많은 벡터들을 사용할 수 있다. 적절한 벡터의 선택은 주로 벡터에 삽입될 핵산의 크기 및 그 벡터로 형질전환될 특정 숙주 세포에 따라 달라질 것이다. 각각의 벡터는 그의 기능 (이중 폴리뉴클레오티드의 증폭 또는 발현, 또는 둘다) 및 그것이 존재하는 특정 숙주 세포와의 상용성에 따라 여러가지 성분들을 함유한다. 벡터 성분들로는 일반적으로 복제 원점, 선별 마커 유전자, 프로모터, 리보솜 결합 부위 (RBS), 신호 서열, 이중 핵산 삽입물 및 전사 종결 서열 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0601] 일반적으로, 숙주 세포와 상용성인 종에서 유래된 레플리콘(replicon) 및 제어 서열을 함유하는 플라스미드 벡터가 이들 숙주와 병용된다. 벡터는 통상적으로 복제 부위를 보유할 뿐만이 아니라 또한 형질전환된 세포에서 표현형 선별을 제공할 수 있는 마커 서열도 보유한다. 예를 들어, 이. 콜라이는 이. 콜라이 종에서 유래된 플라스미드인 pBR322를 사용하여 형질전환되는 것이 전형적이다. pBR322는 암피실린 (Amp) 및 테트라사이클린 (Tet) 내성을 코딩하는 유전자를 함유하고, 따라서 형질전환된 세포를 확인하는 용이한 수단을 제공한다. pBR322, 그의 유도체, 또는 다른 미생물 플라스미드 또는 박테리오파지 역시 내인성 단백질의 발현을 위해 미생물 유기체에 의해 사용될 수 있는 프로모터를 함유할 수도 있고, 또는 그러한 프로모터를 함유하도록 변형될 수 있다. 특정 항체의 발현에 사용되는 pBR322 유도체의 예는 미국 특허 제5,648,237호 (Carter et al.)에 상세하게 기재되어 있다.

[0602] 또한, 숙주 미생물과 상용가능한 레플리콘 및 제어 서열을 함유하는 파지 벡터는 이들 숙주와 관련된 형질전환

백터로 사용될 수 있다. 예를 들어, λGEM.TM.-11과 같은 박테리오파지는 이. 콜라이 LE392와 같은 감수성 숙주 세포를 형질전환시키는데 사용될 수 있는 재조합 백터의 제조에 사용될 수 있다.

[0603] 본 발명의 발현 백터는 각각의 폴리펩티드 성분을 코딩하는 2개 이상의 프로모터-시스트론 쌍을 포함할 수 있다. 프로모터는 발현을 조정하는 시스트론의 상류 (5')에 위치하는 비-번역 조절 서열이다. 원핵 프로모터는 전형적으로 유도가능한 부류와 구성적(constitutive) 부류의 2가지 부류에 속한다. 유도가능한 프로모터는 배양 조건에서의 변화, 예를 들어 영양분의 존재 또는 부재 또는 온도 변화에 대한 반응에서의 제어하에 시스트론의 전사를 증가된 수준으로 개시하는 프로모터이다.

[0604] 다양한 잠재적인 숙주 세포에 의해 인식되는 많은 수의 프로모터가 널리 공지되어 있다. 선택된 프로모터는, 제한 효소 소화를 통해 공급원 DNA로부터 프로모터를 제거하고, 단리된 프로모터 서열을 본 발명의 백터에 삽입함으로써 경쇄 또는 중쇄를 코딩하는 시스트론 DNA에 작동가능하게 연결될 수 있다. 천연 프로모터 서열 및 많은 이중 프로모터는 둘다 표적 유전자의 증폭 및/또는 발현을 지시하는데 사용될 수 있다. 일부 실시양태에서, 이중 프로모터는 일반적으로 천연 표적 폴리펩티드 프로모터에 비해 발현된 표적 유전자가 더 높은 수준으로 전사되고 더 높은 수율로 생성되도록 하기 때문에 사용된다.

[0605] 원핵 숙주와의 사용에 적합한 프로모터는 PhoA 프로모터, β-갈락타마제 및 락토스 프로모터 시스템, 트립토판(trp) 프로모터 시스템 및 하이브리드 프로모터, 예를 들어 tac 또는 trc 프로모터를 포함한다. 그러나, 박테리아에서 기능적인 다른 프로모터 (예컨대 다른 공지의 박테리아 또는 파지 프로모터)도 적합하다. 이것들의 뉴클레오티드 서열은 공개되어 있으며, 이로써 당업자는 임의의 필요한 제한 부위를 제공하는 링커 또는 어댑터를 사용하여 이것들을 표적 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 시스트론에 작동가능하게 라이게이션시킬 수 있다 [Siebenlist et al. (1980) Cell 20:269].

[0606] 본 발명의 한 측면에서, 재조합 백터 내의 각 시스트론은 발현된 폴리펩티드가 막을 관통하여 전위되도록 하는 분비 신호 서열 성분을 포함한다. 일반적으로, 상기 신호 서열은 백터의 성분일 수도 있고, 또는 백터로 삽입되는 표적 폴리펩티드 DNA의 일부일 수도 있다. 본 발명의 목적을 위해 선택된 신호 서열은 숙주 세포가 인식하고 프로세싱 (즉, 신호 펩티다제에 의한 절단)하는 것이어야 한다. 이중 폴리펩티드에 천연인 신호 서열을 인식하고 프로세싱하지 못하는 원핵 숙주 세포의 경우에는, 상기 신호 서열을 예를 들어 알칼리성 포스파타제, 페니실리나제, Ipp 또는 열-안정성 장독소 II (STII) 리더, LamB, PhoE, PeIB, OmpA 및 MBP로 구성된 군에서 선택된 원핵 신호 서열로 치환한다. 본 발명의 한 실시양태에서, 발현 시스템의 2가지 시스트론 둘다에 사용되는 신호 서열은 STII 신호 서열 또는 그의 변이체이다.

[0607] 또다른 측면에서, 본 발명에 따른 이뮤노글로불린의 생성은 숙주 세포의 세포질에서 일어날 수 있기 때문에 각 시스트론 내에는 분비 신호 서열이 존재할 필요가 없다. 이와 관련하여, 이뮤노글로불린 경쇄 및 중쇄가 발현, 폴딩 및 조립되어 세포질 내에서 기능적인 이뮤노글로불린을 형성한다. 특정 숙주 균주 (예를 들어, 이. 콜라이 trxB⁻ 균주)는 디설피드 결합의 형성에 유리한 세포질 상태를 제공하며, 이로써 발현된 단백질 서브유닛이 적당하게 폴딩 및 조립된다 [Proba and Pluckthun Gene, 159:203 (1995)].

[0608] 본 발명은 발현된 폴리펩티드 성분들의 정량적인 비율을 조정하여 분비되고 적당하게 조립되는 본 발명의 항체의 수율을 최대화할 수 있는 발현 시스템을 제공한다. 이러한 조정은 적어도 부분적으로는 폴리펩티드 성분들에 대한 번역 강도를 동시에 조정함으로써 달성된다.

[0609] 번역 강도를 조정하는 기술 중 하나가 미국 특허 제5,840,523호 (Simmons et al.)에 개시되어 있다. 이것은 시스트론 내 번역 개시 영역 (TIR)의 변이체를 이용한다. 주어진 TIR에 있어서, 일련의 아미노산 또는 핵산 서열 변이체가 소정 범위의 번역 강도로 생성될 수 있고, 이로써 특정쇄의 원하는 발현 수준을 위해서 상기 인자를 조정하는 편리한 수단이 제공된다. 뉴클레오티드 서열에서의 침묵(silent) 변화가 바람직하지만, TIR 변이체는 아미노산 서열을 변경시킬 수 있는 코돈 변화를 일으키는 통상적인 돌연변이유발 기술로 생성될 수 있다. TIR에서의 변경으로는 예를 들어 신호 서열에서의 변경을 동반하는, 샤인-달가르노(Shine-Dalgarno) 서열의 수 또는 이격 거리에서의 변경 등을 들 수 있다. 돌연변이체 신호 서열을 생성하는 한가지 방법은, 코딩 서열의 시작부에서 신호 서열의 아미노산 서열을 변화시키지 않는 (즉, 상기 변화가 침묵임) "코돈 뱅크(bank)"를 생성하는 것이다. 이것은 각 코돈의 3번째 뉴클레오티드 위치를 변화시켜 수행될 수 있다. 추가로, 루이신, 세린 및 아르기닌과 같은 일부 아미노산은 뱅크 생성에 복잡성을 더할 수 있는 여러가지 첫번째 위치와 두번째 위치를 갖는다. 이러한 돌연변이유발 방법은 문헌 [Yansura et al. (1992) METHODS: A Companion to Methods in Enzymol. 4:151-158]에 상세하게 기재되어 있다.

- [0610] 특정 실시양태에서, 벡터 세트는 그 안의 각 시스템에 대하여 소정 범위의 TIR 강도를 갖고 생성된다. 이러한 제한된 세트는 각 세의 발현 수준 뿐만이 아니라 각종 TIR 강도 조합하의 원하는 항체 생성물의 수율에 대한 비교를 제공한다. 미국 특허 제5,840,523호 (Simmons et al.)에 상세하게 기재된 바와 같이, TIR 강도는 리포터 유전자의 발현 수준을 정량하여 결정될 수 있다. 번역 강도의 비교를 기초로 하여, 본 발명의 발현 벡터 구축물과 조합시키고자 하는 개개의 TIR을 선별한다.
- [0611] 본 발명의 항체 발현에 적합한 원핵 숙주 세포는 원시박테리아(*Archaeobacteria*) 및 진정박테리아(*Eubacteria*), 예를 들어 그람(Gram)-음성 또는 그람-양성 유기체를 포함한다. 유용한 박테리아의 예로는 에세리히아(*Escherichia*) (예를 들어, 이. 콜라이), 바실리(*Bacilli*) (예를 들어, 비. 섭틸리스(*B. subtilis*)), 엔테로박테리아(*Enterobacteria*), 슈도모나스(*Pseudomonas*) 종 (예를 들어, 피. 에루기노사(*P. aeruginosa*)), 살모넬라 티피무리움(*Salmonella typhimurium*), 세라티아 마르세스칸스(*Serratia marcescans*), 클렙시엘라(*Klebsiella*), 프로테우스(*Proteus*), 쉬겔라(*Shigella*), 리조비아(*Rhizobia*), 비트레오실라(*Vitreoscilla*) 또는 파라코쿠스(*Paracoccus*) 등이 있다. 한 실시양태에서는 그람-음성 세포가 사용된다. 한 실시양태에서는 이. 콜라이 세포가 본 발명에서의 숙주로 사용된다. 이. 콜라이 균주의 예는 균주 W3110 ([Bachmann, Cellular and Molecular Biology, vol. 2 (Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1987), pp. 1190-1219], ATCC 기탁 번호 27,325) 및 그의 유도체, 예를 들어 유전자형 W3110 $\Delta fhuA$ ($\Delta tonA$) ptr3 lac Iq lacL8 $\Delta ompT \Delta (nmpc-fepE)$ degP41 kan^R을 갖는 균주 33D3 (미국 특허 제5,639,635호)을 포함한다. 다른 균주 및 그의 유도체, 예를 들어 이. 콜라이 294 (ATCC 31,446), 이. 콜라이 B, 이. 콜라이_X 1776 (ATCC 31,537) 및 이. 콜라이 RV308 (ATCC 31,608) 역시 적합하다. 이러한 예는 제한하는 것이 아니고 예시하는 것이다. 규정된 유전자형을 갖는 상기 언급한 박테리아 중 임의의 것의 유도체 구축 방법은 당업계에 공지되어 있고, 예를 들어 문헌 [Bass et al., Proteins, 8:309-314 (1990)]에 기재되어 있다. 일반적으로, 박테리아 세포 내에서의 레플리콘의 복제력을 고려하여 적절한 박테리아를 선택할 필요가 있다. 예를 들어, pBR322, pBR325, pACYC177 또는 pKN410과 같은 널리 공지된 플라스미드가 레플리콘을 제공하는데 사용되는 경우에는 이. 콜라이, 세라티아 또는 살모넬라 종이 숙주로서 적합하게 사용될 수 있다. 전형적으로, 숙주 세포는 최소량의 단백질을 분비해야 하며, 추가의 프로테아제 억제제를 세포 배양물에 혼입하는 것이 바람직할 수 있다.
- [0612] 항체 생성
- [0613] 숙주 세포는 상기한 발현 벡터로 형질전환되고, 적절하다면 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선별하거나, 또는 원하는 서열을 코딩하는 유전자를 증폭시키도록 변형시킨 통상적인 영양분 배지에서 배양된다.
- [0614] 형질전환은 DNA를 원핵 숙주로 도입하여 상기 DNA가 염색체의 요소로서 또는 염색체 통합체로서 복제가능하도록 하는 것을 의미한다. 사용되는 숙주 세포에 따라서, 그러한 세포에 적절한 표준 기술을 이용하여 형질전환을 수행한다. 염화칼슘을 사용한 칼슘 처리법이 실질적인 세포벽 장벽을 함유하는 박테리아 세포에 일반적으로 사용된다. 또다른 형질전환 방법은 폴리에틸렌 글리콜/DMSO를 이용한다. 사용되는 또다른 기술은 전기천공이다.
- [0615] 본 발명의 폴리펩티드를 생성하는데 사용되는 원핵 세포는 당업계에 공지되어 있고 선택된 숙주 세포의 배양에 적합한 배지 중에서 성장시킨다. 적합한 배지의 예로는 루리아 브로쓰(Luria Broth, LB) 및 필요한 영양분 보충물 등이 있다. 일부 실시양태에서, 배지는 또한 발현 벡터의 구축물을 기초로 하여 선택된 선별제를 함유하여, 해당 발현 벡터를 함유하는 원핵 세포의 성장을 선택적으로 허용할 수도 있다. 예를 들어, 암피실린 내성 유전자를 발현하는 세포의 성장을 위해서는 암피실린을 배지에 첨가한다.
- [0616] 또한, 탄소, 질소 및 무기 인산염 공급원에 추가되는 임의의 필요한 보충물이 단독으로 도입되거나 또다른 보충물 또는 배지, 예컨대 복합 질소 공급원과의 혼합물로 도입되어 적절한 농도로 포함될 수도 있다. 임의로, 배양 배지는 글루타티온, 시스테인, 시스타민, 티오글리콜레이트, 디티오에리트릴 및 디티오트레이톨로 구성된 군에서 선택된 1종 이상의 환원제를 함유할 수 있다.
- [0617] 원핵 숙주 세포는 적합한 온도에서 배양된다. 이. 콜라이 성장을 위해서는 예를 들어 약 20℃ 내지 약 39℃, 약 25℃ 내지 약 37℃, 및/또는 약 30℃ 범위의 온도가 이용될 수 있다. 배지의 pH는 주로 숙주 유기체에 따라 약 5 내지 약 9 범위의 임의의 pH일 수 있다. 이. 콜라이의 경우에는 pH가 약 6.8 내지 약 7.4일 수 있고, 약 7.0일 수 있다.
- [0618] 본 발명의 발현 벡터에 유도가능한 프로모터가 사용된다면, 단백질의 발현은 프로모터의 활성화에 적합한 조건하에 유도된다. 본 발명의 한 측면에서, PhoA 프로모터가 폴리펩티드의 전사를 제어하는데 사용된다. 따라서, 형질전환된 숙주 세포는 유도를 위해 인산염-제한 배지에서 배양된다. 인산염-제한 배지는 C.R.A.P 배지 (예를

들어 문헌 [Simmons et al., J. Immunol. Methods (2002), 263:133-147] 참조)일 수 있다. 당업계에 공지된 바와 같이, 사용되는 벡터 구축물에 따라 다양한 다른 유도인자가 사용될 수 있다.

[0619] 한 실시양태에서, 본 발명의 발현된 폴리펩티드는 숙주 세포의 세포형질로 분비되고 그로부터 회수된다. 전형적으로, 단백질 회수는 일반적으로 삼투 쇼크, 초음파처리 또는 용해와 같은 수단으로 미생물을 파괴하는 것을 포함한다. 일단 세포가 파괴되면, 세포 부스러기 또는 온전한 세포는 원심분리 또는 여과로 제거할 수 있다. 단백질은 예를 들어 친화도 수지 크로마토그래피를 이용하여 추가로 정제할 수 있다. 대안으로, 단백질이 배양 배지로 이동되도록 하여 거기서 분리할 수 있다. 세포를 배양물로부터 제거할 수 있고, 생성된 단백질의 추가 정제를 위해서 배양 상등액을 여과 및 농축할 수 있다. 발현된 폴리펩티드는 폴리아크릴아미드 겔 전기영동 (PAGE) 및 웨스턴 블롯 검정과 같은 통상적으로 공지된 방법을 이용하여 추가로 분리 및 동정할 수 있다.

[0620] 본 발명의 한 측면에서, 항체 생성은 발효 공정을 통해 다량으로 수행된다. 재조합 단백질의 생성에는 각종 대규모 유가(fed-batch) 발효 절차를 이용할 수 있다. 대규모 발효는 1000 리터 이상의 용량을 갖는다. 특정 실시양태에서, 대규모 발효기는 약 1,000 내지 100,000 리터의 용량을 갖는다. 이들 발효기는 교반기 임펠러를 사용하여 산소 및 영양분, 특히 글루코스 (통상의 탄소/에너지 공급원)를 분배시킨다. 소규모 발효는 일반적으로 부피 용량이 대략 100 리터 이하인 발효기 중에서의 발효를 지칭하고, 약 1 리터 내지 약 100 리터의 범위일 수 있다.

[0621] 발효 공정에서, 단백질 발현의 유도는 전형적으로 세포를 적합한 조건하에서 원하는 밀도, 예를 들어 약 180 내지 220의 OD₅₅₀까지 성장시킨 후에 개시되는데, 이 단계에서는 세포가 초기 정지 상에 있다. 당업계에 공지되어 있고 상기한 바와 같이, 사용하는 벡터 구축물에 따라 다양한 유도인자를 사용할 수 있다. 세포는 유도 전에 더 짧은 기간 동안 성장시킬 수 있다. 세포는 일반적으로 약 12시간 내지 50시간 동안 유도하지만, 더 길거나 더 짧은 유도 시간을 이용할 수도 있다.

[0622] 본 발명의 폴리펩티드의 생성 수율 및 품질을 개선시키기 위해서, 각종 발효 조건을 변형시킬 수 있다. 예를 들어, 분비된 항체 폴리펩티드의 적당한 조립 및 폴딩을 개선시키기 위해서, 샤페론 단백질, 예컨대 Dsb 단백질 (DsbA, DsbB, DsbC, DsbD 및/또는 DsbG) 또는 FkpA (샤페론 활성을 갖는 펩티딜프롤릴 시스,트랜스-이소머라제)를 과다발현하는 추가의 벡터를 사용하여 숙주 원핵 세포를 동시형질전환시킬 수 있다. 샤페론 단백질은 박테리아 숙주 세포에서 생성된 이중 단백질의 적당한 폴딩 및 용해를 용이하게 하는 것으로 입증된 바 있다 ([Chen et al. (1999) J. Bio. Chem. 274:19601-19605], 미국 특허 제6,083,715호 (Georgiou et al.), 미국 특허 제6,027,888호 (Georgiou et al.), [Bothmann and Pluckthun (2000) J. Biol. Chem. 275:17100-17105], [Ramm and Pluckthun (2000) J. Biol. Chem. 275:17106-17113], [Arie et al. (2001) Mol. Microbiol. 39:199-210]).

[0623] 발현된 이중 단백질 (특히, 단백질분해에 민감한 것들)의 단백질분해를 최소화하기 위해서, 단백질분해 효소가 결핍된 특정 숙주 균주를 본 발명에 사용할 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포 균주를 프로테아제 III, OmpT, DegP, Tsp, 프로테아제 I, 프로테아제 Mi, 프로테아제 V, 프로테아제 VI 및 이들의 조합물과 같은 공지의 박테리아 프로테아제를 코딩하는 유전자에서 유전자 돌연변이(들)가 일어나도록 변형시킬 수 있다. 몇가지 이. 콜라이 프로테아제-결핍 균주가 이용가능하며 예를 들어 [Joly et al. (1998), 상기 문헌], 미국 특허 제 5,264,365호 (Georgiou et al.), 미국 특허 제5,508,192호 (Georgiou et al.), [Hara et al., Microbial Drug Resistance, 2:63-72 (1996)]에 기재되어 있다.

[0624] 한 실시양태에서, 단백질분해 효소가 결핍되어 있고 1종 이상의 샤페론 단백질을 과다발현하는 플라스미드로 형질전환된 이. 콜라이 균주가 본 발명의 발현 시스템에서의 숙주 세포로 사용된다.

[0625] 항체 정제

[0626] 한 실시양태에서, 본원에서 생성된 항체 단백질을 추가로 정제하여, 추가의 검정 및 사용을 위한 실질적으로 균질한 제제를 수득한다. 당업계에 공지된 표준 단백질 정제 방법을 이용할 수 있다. 하기하는 절차는 적합한 정제 절차를 예시한다: 면역친화도 또는 이온 교환 컬럼에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카 또는 양이온 교환 수지, 예컨대 DEAE에서의 크로마토그래피, 크로마토포커싱(chromatofocusing), SDS-PAGE, 황산암모늄 침전, 및 예를 들어 세파덱스(Sephadex) G-75를 사용한 겔 여과.

[0627] 한 측면에서, 고체 상에 고정화된 단백질 A(Protein A)를 본 발명의 항체 생성물을 면역친화도 정제하는데 사용한다. 단백질 A는 항체의 Fc 영역에 고친화도로 결합하는 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 유래의 41 kD 세포벽 단백질이다 [Lindmark et al (1983) J. Immunol. Meth. 62:1-13]. 특정 실시양태에서, 단백질 A가

고정화된 고체 상은 유리 또는 실리카 표면을 포함하는 컬럼이다. 특정 실시양태에서, 단백질 A가 고정화된 고체 상은 다공성 조절된 유리 컬럼 또는 규산 컬럼이다. 몇몇 용도에서는, 오염물질의 비-특이적 접촉을 방지하기 위한 시도로서 컬럼을 글세올과 같은 시약으로 코팅해 둔다.

[0628] 정제의 제1 단계로서, 상기한 바와 같이 세포 배양으로 수득한 제제를 단백질 A 고정화된 고체 상에 적용하여, 관심 항체가 단백질 A에 특이적으로 결합하도록 한다. 이어서, 고체 상을 세척하여 그 고체 상에 비-특이적으로 결합된 오염물질을 제거한다. 마지막으로, 관심 항체를 용출시켜 고체 상에서 회수한다.

[0629] 진핵 숙주 세포를 이용한 항체 생성:

[0630] 일반적으로, 벡터 성분은 신호 서열, 복제 원점, 하나 이상의 마커 유전자, 인핸서 요소, 프로모터, 및 전사 종결 서열 중 하나 이상을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0631] (i) 신호 서열 성분

[0632] 진핵 숙주 세포에 사용하기 위한 벡터는 또한 신호 서열을 함유하거나 또는 관심 성숙 단백질 또는 폴리펩티드의 N-말단에 특이적 절단 부위를 갖는 다른 폴리펩티드를 함유할 수 있다. 특정 실시양태에서, 선택된 이중 신호 서열은 숙주 세포에 의해 인식되고 프로세싱되는 (즉, 신호 펩티다제에 의해 절단됨) 것이다. 포유동물 세포 발현시에는, 포유동물 신호 서열 및 또한 바이러스 분비 리더, 예를 들어 단순 허피스 gD 신호를 이용할 수 있다.

[0633] 이러한 전구체 영역에 대한 DNA는 항체를 코딩하는 DNA와 리딩 프레임에 맞게 라이게이션된다.

[0634] (ii) 복제 원점

[0635] 일반적으로, 포유동물 발현 벡터에는 복제 원점 성분이 필요하지 않다. 예를 들어, 전형적으로 SV40 원점이 사용될 수 있는데 이는 단지 이것이 초기 프로모터를 함유하기 때문이다.

[0636] (iii) 선별 유전자 성분

[0637] 발현 벡터 및 클로닝 벡터는 선별가능한 마커라고도 불리는 선별 유전자를 함유할 수 있다. 전형적인 선별 유전자는 (a) 항생제 또는 다른 독소, 예를 들어, 암피실린, 네오마이신, 메토틱세이트 또는 테트라사이클린에 내성을 부여하는 단백질, (b) 관련이 있는 영양요구성 결핍을 보완하는 단백질, 또는 (c) 복합 배지에서 얻을 수 없는 중요 영양분을 제공하는 단백질을 코딩한다.

[0638] 선별법의 일례는 숙주 세포의 성장을 정지시키는 약물을 이용한다. 이중 유전자로 성공적으로 형질전환된 세포는 약물 내성을 부여하는 단백질을 생성하기 때문에 상기한 선별법에서 생존한다. 이러한 우세한 선별의 예는 약물인 네오마이신, 마이코페놀산 및 하이그로마이신을 이용한다.

[0639] 포유동물 세포에 적합한 선별가능한 마커의 또다른 예는 항체 핵산의 흡수에 감응성이 있는 세포의 동정을 가능케 하는 것들, 예를 들어 DHFR, 티미딘 키나제, 메탈로티오네인-I 및 메탈로티오네인-II (예를 들어, 영장류 메탈로티오네인 유전자), 아데노신 데아미나제, 오르니틴 데카르복실라제 등이다.

[0640] 예를 들어, DHFR 선별 유전자로 형질전환된 세포는 우선 모든 형질전환체를 DHFR의 경쟁적 길항제인 메토틱세이트 (Mtx)를 함유하는 배양 배지 중에서 배양하여 동정된다. 야생형 DHFR이 사용된 경우에 적절한 숙주 세포는 DHFR 활성이 결핍된 차이나스 햄스터 난소 (Chinese hamster ovary, CHO) 세포주 (예를 들어, ATCC CRL-9096)이다.

[0641] 대안으로, 항체, 야생형 DHFR 단백질, 및 또다른 선별가능한 마커, 예컨대 아미노글리코시드 3'-포스포트랜스퍼라제 (APH)를 코딩하는 DNA 서열로 형질전환되거나 동시형질전환된 숙주 세포 (특히, 내인성 DHFR을 함유하는 야생형 숙주)는 선별가능한 마커에 대한 선별제, 예를 들어 아미노글리코시드 항생제, 예를 들어 카나마이신, 네오마이신 또는 G418을 함유하는 배지 중에서의 세포 성장으로 선별될 수 있다. 미국 특허 제4,965,199호를 참조한다.

[0642] (iv) 프로모터 성분

[0643] 발현 벡터 및 클로닝 벡터는 통상적으로 숙주 유기체에 의해 인식되고 항체 폴리펩티드 핵산에 작동가능하게 연결된 프로모터를 함유한다. 프로모터 서열은 진핵생물에 대하여 알려져 있다. 실제로, 모든 진핵 유전자는 전사 개시 부위로부터 대략 25개 내지 30개 염기 상류에 AT-풍부 영역을 갖는다. 많은 유전자들의 전사 출발부로부터 70개 내지 80개 염기 상류에 존재하는 또다른 서열은 CNCAAT (서열 585) 영역이며, 여기서의 N은 임의의

뉴클레오타이드일 수 있다. 대부분의 진행 유전자의 3' 말단에는 AATAAA (서열 586) 서열이 있는데, 이것은 코딩 서열의 3' 말단에 폴리 A 테일을 부가하는 신호일 수 있다. 이들 서열 모두가 진행 발현 벡터로 적합하게 삽입된다.

[0644] 포유동물 숙주 세포에서 벡터로부터의 항체 폴리펩티드 전사는 예를 들어 폴리오마 바이러스, 계두 바이러스, 아데노바이러스 (예컨대 아데노바이러스 2), 소 유두종 바이러스, 조류 육종 바이러스, 사이토메갈로바이러스, 레트로바이러스, B형 간염 바이러스 및 시미안(Simian) 바이러스 40 (SV40)과 같은 바이러스의 게놈에서 수득한 프로모터, 이중 포유동물 프로모터, 예를 들어 액틴 프로모터 또는 이뮤노글로불린 프로모터, 열충격 프로모터 등이 숙주 세포 시스템과 상용가능하다면 이것들에 의해 제어된다.

[0645] SV40 바이러스의 초기 및 후기 프로모터는 SV40 바이러스 복제 원점도 함유하는 SV40 제한 단편으로 편리하게 수득된다. 인간 사이토메갈로바이러스의 극초기(immediate early) 프로모터는 HindIII E 제한 단편으로 편리하게 수득된다. 소 유두종 바이러스를 벡터로 사용하여 포유동물 숙주에서 DNA를 발현하기 위한 시스템은 미국 특허 제4,419,446호에 개시되어 있다. 이러한 시스템의 변형은 미국 특허 제4,601,978호에 기재되어 있다. 또한, 마우스 세포에서 단순 허피스 바이러스의 티미딘 키나제 프로모터 제어하의 인간 β -인터페론 cDNA 발현에 관한 문헌 [Reyes et al., Nature 297:598-601 (1982)]을 참조한다. 대안으로, 라우스 육종(Rous Sarcoma) 바이러스 장쇄 말단 반복부를 프로모터로 사용할 수도 있다.

[0646] (v) 인헨서 요소 성분

[0647] 고등 진핵생물에 의해 본 발명의 항체 폴리펩티드를 코딩하는 DNA를 전사시키는 것은, 종종 인헨서 서열을 벡터에 삽입하여 증가된다. 포유동물 유전자 (글로빈, 엘라스타제, 알부민, α -태아단백질 및 인슐린)로부터의 많은 인헨서 서열이 현재 공지되어 있다. 그러나, 전형적으로는 진행 세포 바이러스의 인헨서를 사용할 것이다. 예로는 복제 원점의 뒤쪽에 위치하는 SV40 인헨서 (bp 100 내지 270), 사이토메갈로바이러스 초기 프로모터 인헨서, 복제 원점의 뒤쪽에 위치하는 폴리오마 인헨서 및 아데노바이러스 인헨서 등이 있다. 또한, 진행 프로모터를 활성화하는 인헨서 요소에 대한 문헌 [Yaniv, Nature 297:17-18 (1982)]도 참조한다. 인헨서는 항체 폴리펩티드-코딩 서열에 대하여 위치 5' 또는 3'에서 벡터로 스플라이싱될 수 있다. 특정 실시양태에서, 인헨서는 프로모터로부터 5' 부위에 위치한다.

[0648] (vi) 전사 종결 성분

[0649] 진행 숙주 세포에서 사용되는 발현 벡터는 전형적으로 전사 종결 및 mRNA의 안정화에 필요한 서열도 함유할 것이다. 이러한 서열들은 진행 또는 바이러스 DNA 또는 cDNA의 5' 비-번역 영역에서 이용가능한 것이 통상적이고, 때로는 진행 또는 바이러스 DNA 또는 cDNA의 3' 비-번역 영역에서 이용가능하다. 이들 영역은 항체를 코딩하는 mRNA의 비-번역 부분에 폴리아데닐화 단편으로 전사되는 뉴클레오타이드 절편을 함유한다. 유용한 전사 종결 성분 중 하나는 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 영역이다. WO 94/11026 및 본원에 개시된 발현 벡터를 참조한다.

[0650] (vii) 숙주 세포의 선별 및 형질전환

[0651] 본원에서 벡터 중의 DNA를 클로닝하거나 발현시키는데 적합한 숙주 세포는 척추동물 숙주 세포를 비롯하여 본원에 기재한 고등 진핵 세포를 포함한다. 배양 (조직 배양)으로 척추동물 세포를 증식시키는 것은 통상적인 절차가 되어 왔다. 유용한 포유동물 숙주 세포주의 예는 SV40으로 형질전환된 원숭이 신장 CV1 세포주 (COS-7, ATCC CRL 1651), 인간 배아 신장 세포주 (293, 또는 현탁 배양으로 성장시키기 위해 서브클로닝한 293 세포 [Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977)]), 베이비 햄스터 신장 세포 (BHK, ATCC CCL 10), 차이니스 햄스터 난소 세포/-DHFR (CHO, [Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)]), 마우스 세르톨리 세포 (TM4, [Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)]), 원숭이 신장 세포 (CV1 ATCC CCL 70), 아프리카 그린 원숭이 신장 세포 (VERO-76, ATCC CRL-1587), 인간 자궁경부 암종 세포 (HELA, ATCC CCL 2), 개 신장 세포 (MDCK, ATCC CCL 34), 버팔로 래트 간 세포 (BRL 3A, ATCC CRL 1442), 인간 폐 세포 (W138, ATCC CCL 75), 인간 간 세포 (Hep G2, HB 8065), 마우스 유방 종양 (MMT 060562, ATCC CCL51), TRI 세포 [Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)], MRC 5 세포, FS4 세포 및 인간 간암 세포주 (Hep G2) 등이다.

[0652] 숙주 세포는 항체 생성을 위한 상기 발현 또는 클로닝 벡터로 형질전환시켜서, 적절하다면 프로모터를 유도하거나, 형질전환체를 선별하거나, 또는 원하는 서열을 코딩하는 유전자를 증폭시키도록 변형시킨 통상적인 영양 배지 중에서 배양한다.

[0653] (viii) 숙주 세포의 배양

[0654] 본 발명의 항체를 생성하는데 사용되는 숙주 세포는 다양한 배지 중에서 배양될 수 있다. Ham's F10 (시그마 (Sigma)), 최소 필수 배지 (Minimal Essential Medium, MEM) (시그마), RPMI-1640 (시그마) 및 돌베코 개질된 이글 배지 (Dulbecco's Modified Eagle's Medium, DMEM), 시그마)와 같은 시판 배지가 숙주 세포 배양에 적합하다. 또한, [Ham et al., Meth. Enz. 58:44 (1979)], [Barnes et al., Anal. Biochem. 102:255 (1980)], 미국 특허 제4,767,704호, 동 제4,657,866호, 동 제4,927,762호, 동 제4,560,655호 또는 동 제5,122,469호, WO 90/03430, WO 87/00195 또는 미국 특허 Re. 30,985에 기재된 임의의 배지를 숙주 세포를 위한 배양 배지로 사용할 수 있다. 이들 배지 중 임의의 것에 필요에 따라 호르몬 및/또는 다른 성장 인자 (예컨대 인슐린, 트랜스페린 또는 표피 성장 인자), 염 (예컨대 염화나트륨, 칼슘, 마그네슘 및 인산염), 완충제 (예컨대 HEPES), 뉴클레오타이드 (예컨대 아데노신 및 티미딘), 항생제 (예컨대 겐타마이신(GENTAMYCIN)TM 약물), 미량 원소 (통상적으로 마이크로몰 범위의 최종 농도로 존재하는 무기 화합물로 정의됨) 및 글루코스 또는 등가의 에너지 공급원을 보충할 수 있다. 임의의 다른 필요한 보충물질을 당업자에게 공지된 적절한 농도로 포함시킬 수도 있다. 온도, pH 등과 같은 배양 조건은 발현을 위해 선택된 숙주 세포에 대하여 앞서 기재한 사항이며, 당업자에게 명백할 것이다.

[0655] (ix) 항체의 정제

[0656] 제조할 기술을 이용할 때, 항체는 세포내 생성될 수도 있고 배지로 직접 분비될 수도 있다. 항체가 세포내 생성되는 경우에는 제1 단계로서 숙주 세포 또는 용해된 단편인 미립자 부스러기를 예를 들어 원심분리 또는 한외여과 등으로 제거한다. 항체가 배지로 분비되는 경우, 이러한 발현 시스템으로부터의 상등액은 시판되는 단백질 농축 필터, 예를 들어 아미콘(Amicon) 또는 밀리포어 펠리콘(Millipore Pellicon) 한외여과 장치를 이용하여 우선 농축시키는 것이 일반적이다. PMSF와 같이 단백질을 분해할 염을 억제하기 위한 프로테아제 억제제를 전술한 단계 중 임의의 단계에 포함시킬 수 있고, 우발적인 오염물질의 성장을 방지하기 위한 항생제를 포함시킬 수 있다.

[0657] 세포로부터 제조한 항체 조성물은 예를 들어 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 및 친화도 크로마토그래피를 이용하여 정제할 수 있다. 친화도 리간드로서 단백질 A의 적합성은 항체 중에 존재하는 임의의 이뮤노글로불린 Fc 도메인의 중 및 이소형(isotype)에 따라 달라진다. 단백질 A는 인간 $\gamma 1$, $\gamma 2$ 또는 $\gamma 4$ 중쇄를 기초로 하여 항체를 정제하는데 사용될 수 있다 [Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62:1-13 (1983)]. 단백질 G(Protein G)는 모든 마우스 이소형 및 인간 $\gamma 3$ 에 대하여 권고된다 [Guss et al., EMBO J. 5:1567-1575 (1986)]. 친화도 리간드가 부착되는 매트릭스가 가장 흔히 사용되는 아가로스이지만, 다른 매트릭스도 이용가능하다. 기계적으로 안정적인 매트릭스, 예컨대 다공성 조절된 유리 또는 폴리(스티렌디비닐)벤젠은 아가로스 사용으로 달성될 수 있는 것보다 더욱 신속한 유속 및 더 짧은 처리 시간을 허용한다. 항체가 C₃ 도메인을 포함하는 경우에는 베이커본드(Bakerbond) ABXTM수지 (미국 뉴저지주 필립스버그 소재의 제이.티.베이커(J. T. Baker))가 정제에 유용하다. 회수할 항체에 따라, 다른 단백질 정제 기술, 예를 들어 이온 교환 컬럼에서의 분획화, 에탄올 침전, 역상 HPLC, 실리카에서의 크로마토그래피, 헤파린 세파로스(SEPHAROSE)TM에서의 크로마토그래피, 음이온 또는 양이온 교환 수지 (예컨대 폴리아스파르트산 컬럼)에서의 크로마토그래피, 크로마토포커싱, SDS-PAGE 및 황산암모늄 침전을 이용할 수도 있다.

[0658] 임의의 예비 정제 단계(들) 후, 관심 항체 및 오염물질을 포함하는 혼합물에 대하여 약 2.5 내지 4.5 사이 pH의 용출 완충제를 사용하는 낮은 pH의 소수성 상호작용 크로마토그래피를 실시할 수 있다. 특정 실시양태에서, 낮은 pH의 소수성 상호작용 크로마토그래피를 낮은 염 농도 (예를 들어, 약 0 내지 0.25 M 염)에서 수행한다.

[0659] 활성 검증

[0660] 본 발명의 항체는 당업계에 공지된 각종 검증법에 의해 그들의 물리적/화학적 성질 및 생물학적 기능에 대하여 특징규명될 수 있다.

[0661] 정제된 이뮤노글로불린은 N-말단 서열분석, 아미노산 분석, 비-변성 크기 배제 고압 액체 크로마토그래피(HPLC), 질량 분광법, 이온 교환 크로마토그래피 및 파파인 소화 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 일련의 검정을 통해서 추가로 특징규명될 수 있다.

[0662] 특정 실시양태에서, 본원에서 생성된 이뮤노글로불린을 이것들의 생물학적 활성에 대하여 분석한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 이뮤노글로불린을 이것들의 항원 결합 활성에 대하여 시험한다. 당업계에 공지되어 있고 본원에서 이용될 수 있는 항원 결합 검증으로는 웨스턴 블롯, 방사선면역검정, ELISA (효소-결합 면역흡착

검정), "샌드위치" 면역검정, 면역침전 검정, 형광 면역검정 및 단백질 A 면역검정과 같은 기술을 이용한 임의의 직접적 또는 경쟁적 결합 검정 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0663] 항체 또는 항원 결합 단편은 기능적 활성, 예를 들어 길항제 또는 효능제 활성에 대하여 추가로 선별될 수 있다. 예를 들어 항-HER-2 항체는 HER-2의 티로신 인산화를 억제하거나 암 세포 증식을 억제하거나 암 세포의 아파토시스를 유도하는 능력에 대하여 선별될 수 있다. 이러한 활성을 확인하고 측정하는 검정법은 예를 들어 WO 98/17797에 기재되어 있다.

[0664] 추가로, 항-DR5 항체는 암 세포의 아파토시스를 유도하고/하거나 염증성 세포의 기능을 억제하는 능력에 대하여 선별될 수 있다. 다른 실시양태에서, 항-DR5 항체는 DR5와의 결합에 대하여 Apo-2L과 경쟁하는 능력에 대하여 선별된다. 다른 실시양태에서, 항-인간 DR5 항체는 뮤린 및/또는 시노몰구스 DR5와의 결합에 대하여 선별된다. 생물학적 활성을 결정하는 검정은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 DNA 단편화 (예를 들어 문헌 [Marsters et al., Curr. Biology, 6:1669 (1996)] 참조), 카스파제 불활성화, DR5 결합 (예를 들어 1998년 11월 19일자로 공개된 WO 98/51793 참조)을 이용하여 수행될 수 있다. 아파토시스는 세포질의 응축, 세포질막 미세융모의 손실, 핵의 분열, 염색체 DNA의 분해 또는 미토콘드리아 기능의 소실을 확인하여 결정할 수 있다. 이러한 활성은 예를 들어 당업계에 공지된 세포 생존력 검정 (예컨대 알라마르 블루 검정 또는 MTT 검정), FACS 분석, 카스파제 활성화, DNA 단편화 (예를 들어 문헌 [Nicoletti et al., J. Immunol. Methods, 139:271-279 (1991)] 참조) 및 폴리-ADP 리보스 폴리머라제 "PARP"의 절단 검정으로 결정하고 측정할 수 있다.

[0665] 한 실시양태에서, 아파토시스에 대한 검정은 96웰 조직 배양 플레이트에서 대조군 표준물 및 항-DR5 항체의 2배 계열 희석물을 제조하는 것을 포함한다. Apo-2 리간드 (아미노산 114 내지 281, PCT/US00/17579에 기재되어 있음)를 비교용으로 시험하였다. Colo-205 (20000개 세포/웰) 인간 결장 암종 세포 (ATCC)를 96웰 플레이트에 접종하였다. 상기 플레이트를 37°C에서 24시간 동안 인큐베이션하였다. 24시간의 인큐베이션 기간 중 마지막 3시간 동안에는 웰에 알라마르블루 (트레크 다이아그노스틱 시스템즈, 인크.)를 첨가하였다. 530 nm에서의 여기 및 590 nm에서의 방출을 이용한 96웰 형광측정기로 형광을 판독하였다. 이 결과는 상대적 형광 유닛 (RFU)으로 나타났다.

[0666] 한 실시양태에서, 본 발명은 이펙터 기능의 일부만을 보유하고 전체를 보유하지는 않는 변경된 항체를 고려하며, 이것은 항체의 생체내 반감기가 중요하지만 특정 이펙터 기능 (예컨대 보체 및 ADCC)은 불필요하거나 해가 되는 용도에서 원하는 후보가 되게 한다. 특정 실시양태에서, 생성된 이뮤노글로불린의 Fc 활성을 측정하여 오직 원하는 성질만이 유지되도록 한다. 시험관내 및/또는 생체내 세포독성 검정을 수행하여 CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/고갈을 확인할 수 있다. 예를 들어, Fc 수용체 (FcR) 결합 검정을 수행하여 상기 항체가 Fc γ R 결합 능력은 없지만 (따라서, ADCC 활성이 없는 것과 마찬가지로), FcRn 결합 능력은 보유한다는 것을 확인할 수 있다. ADCC를 매개하는 주요 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII만을 발현하지만, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII 및 Fc γ RIII를 발현한다. 조혈 세포에서의 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991)]의 제464면에 있는 표 3에 정리되어 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하는 시험관내 검정의 예는 미국 특허 제5,500,362호 또는 동 제5,821,337호에 기재되어 있다. 이러한 검정에 유용한 이펙터 세포로는 말초 혈 단핵 세포 (PBMC) 및 천연 킬러 (Natural Killer, NK) 세포 등이 있다. 대안으로 또는 추가로, 관심 분자의 ADCC 활성은 예를 들어 문헌 [Clynes et al. PNAS (USA) 95:652-656 (1998)]에 개시된 것과 같은 동물 모델 등에서 생체내 평가될 수 있다. 또한, Clq 결합 검정을 실시하여 항체가 Clq와 결합할 수 없어서 CDC 활성이 없다는 것을 확인할 수도 있다. 보체 활성화를 평가하기 위해서는, 예를 들어 문헌 [Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996)]에 기재된 바와 같은 CDC 검정을 수행할 수 있다. FcRn 결합 및 생체내 제거/반감기에 대한 결정 또한 당업계에 공지된 방법, 예를 들어 실시예 단락에 기재된 방법을 이용하여 수행할 수 있다.

[0667] 인간화 항체

[0668] 본 발명은 인간화 항체를 포함한다. 비인간 항체를 인간화하는 다양한 방법이 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 인간화 항체에는 비-인간 공급원으로부터 유래된 하나 이상의 아미노산 잔기가 도입되어 있을 수 있다. 이들 비-인간 아미노산 잔기는 흔히 "임포트(import)" 잔기라고 지칭되며, 전형적으로는 "임포트" 가변 도메인으로부터 얻는다. 본질적으로, 인간화는 인간 항체의 상응하는 서열을 초가변 영역 서열로 치환함으로써 윈터 (Winter) 등의 방법 ([Jones et al. (1986) Nature 321:522-525], [Riechmann et al. (1988) Nature 332:323-327], [Verhoeyen et al. (1988) Science 239:1534-1536])에 따라 수행할 수 있다. 따라서, 이러한 "인간화" 항체는 무손상 인간 가변 도메인보다 실질적으로 더 적은 서열이 비-인간 종 유래의 상응하는 서열로 치환된 키

메라 항체 (미국 특허 제4,816,567호)이다. 실제로, 인간화 항체는 전형적으로 일부 초가변 영역 잔기 및 가능하게는 일부 FR 잔기를 설치류 항체의 유사 부위에서 유래된 잔기로 치환시킨 인간 항체이다.

[0669] 인간화 항체 제조에 사용할 경쇄와 중쇄 둘다의 인간 가변 도메인을 선택하는 것은 항원성을 감소시키는데 매우 중요하다. 소위 "베스트-피트(best-fit)" 방법에 따라, 공지된 인간 가변 도메인 서열의 전체 라이브러리를 대상으로 설치류 항체의 가변 도메인 서열을 스크리닝한다. 이어서, 설치류의 서열에 가장 근접한 인간 서열을 인간화 항체를 위한 인간 프레임워크로 수용한다 ([Sims et al. (1993) J. Immunol. 151:2296], [Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901]). 또다른 방법은 경쇄 또는 중쇄의 특정 하위군에 속하는 모든 인간 항체의 컨센서스 서열로부터 유래된 특정한 프레임워크를 사용하는 것이다. 동일한 프레임워크를 여러가지 상이한 인간화 항체를 제조하는데 사용할 수 있다 ([Carter et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285], [Presta et al. (1993) J. Immunol. 151:2623]).

[0670] 또한, 항원에 대한 고친화도 및 기타 유리한 생물학적 성질을 보유하도록 항체를 인간화하는 것도 중요하다. 이 목적을 달성하기 위한 한 방법에 따라, 모 서열 및 인간화 서열의 3차원 모델을 이용하여 모 서열 및 다양한 개념적인 인간화 생성물을 분석하는 과정을 통해 인간화 항체를 제조한다. 3차원적 이뮤노글로불린 모델은 통상적으로 당업자에게 이용되고 있고 공지되어 있다. 선택된 후보 이뮤노글로불린 서열의 가능한 3차원적 입체 구조를 예시하고 디스플레이하는 컴퓨터 프로그램을 이용할 수 있다. 이 디스플레이의 정밀검사는, 후보 이뮤노글로불린 서열의 기능수행에 있어서 잔기가 기여할 수 있는 역할의 분석, 즉 후보 이뮤노글로불린이 그의 항원에 결합하는 능력에 영향을 주는 잔기의 분석을 허용한다. 이러한 방법을 통해, FR 잔기는 원하는 항체 특성이 얻어지도록, 예를 들어 표적 항원(들)에 대한 친화도가 증가되도록 수용 서열과 임포트 서열로부터 선별 및 조합될 수 있다. 통상적으로, 초가변 영역 잔기는 항원 결합에 영향을 주는데 있어서 직접적으로 또한 가장 실질적으로 관여한다.

[0671] 항체 변이체

[0672] 한 측면에서, 본 발명은 Fc 영역을 포함하는 Fc 폴리펩티드의 계면에 헤테로이량체화를 용이하게 하고/하거나 촉진시키는 변형을 포함하는 항체 단편을 제공한다. 이러한 변형은 제1 Fc 폴리펩티드로의 돌출부 및 제2 Fc 폴리펩티드로의 함몰부 도입을 포함하며, 상기 돌출부는 함몰부 내에 위치하여 상기 제1 Fc 폴리펩티드와 제2 Fc 폴리펩티드의 복합체 형성을 촉진시킬 수 있다. 이러한 변형을 갖는 항체의 제조 방법은 예를 들어 미국 특허 제5,731,168호에 기재된 바와 같이 당업계에 공지되어 있다.

[0673] 일부 실시양태에서, 본원에 기재한 항체의 아미노산 서열 변형(들)이 고려된다. 예를 들어, 항체의 결합 친화도 및/또는 다른 생물학적 성질을 개선시키는 것이 바람직할 수 있다. 항체의 아미노산 서열 변이체는 항체 핵산에 적절한 뉴클레오티드를 도입하거나 펩티드 합성을 통해 제조된다. 이러한 변형의 예로는 항체 아미노산 서열 내 잔기로부터의 결실 및/또는 상기 잔기로의 삽입 및/또는 상기 잔기의 치환 등이 있다. 결실, 삽입 및 치환의 임의의 조합은 최종 구축물에 존재하도록 만들어질 수 있지만, 이러한 최종 구축물은 원하는 특징을 보아야 한다. 아미노산 변경은 서열이 만들어지는 시기에 해당 항체의 아미노산 서열에 도입될 수 있다.

[0674] 본 발명의 아미노산 서열을 함유하는 항체 또는 폴리펩티드의 반감기를 증가시키기 위해서, 예를 들어 미국 특허 제5,739,277호에 기재되어 있는 바와 같이 셀비지 수용체 결합 에피토프를 항체 (특히, 항체 단편)에 부착시킬 수 있다. 예를 들어, 셀비지 수용체 결합 에피토프를 코딩하는 핵산 분자가 본 발명의 폴리펩티드 서열을 코딩하는 핵산에 프레임에 맞게(in frame) 연결되어, 조작된 핵산 분자에 의해 발현된 융합 단백질이 셀비지 수용체 결합 에피토프 및 본 발명의 폴리펩티드 서열을 포함하도록 할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "셀비지 수용체 결합 에피토프"는 IgG 분자의 생체내 혈청 반감기 증가를 담당하는 IgG 분자 (예컨대, IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄)의 Fc 영역의 에피토프를 지칭한다 (예를 들어, 문헌 [Ghetie, V et al., (2000) Ann. Rev. Immunol. 18:739-766]의 표 1). Fc 영역에 치환이 있고 혈청 반감기가 증가된 항체는 또한 WO 00/42072 (Presta, L.), WO 02/060919, [Shields, R.L., et al., (2001) JBC 276(9):6591-6604], [Hinton, P.R., (2004) JBC 279(8):6213-6216]에도 기재되어 있다. 또다른 실시양태에서, 혈청 반감기는 예를 들어 다른 폴리펩티드 서열을 부착시켜 증가될 수도 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체 또는 본 발명의 아미노산 서열을 함유하는 다른 폴리펩티드를 혈청 알부민, 또는 FcRn 수용체 또는 혈청 알부민 결합 펩티드와 결합하는 혈청 알부민의 일부에 부착시켜서, 혈청 알부민이 항체 또는 폴리펩티드에 결합되도록 할 수 있고, 예를 들어 이러한 폴리펩티드 서열은 WO 01/45746에 개시되어 있다. 한 실시양태에서, 부착시킬 혈청 알부민 펩티드는 **DICLPWGCLW (서열 608)**의 아미노산 서열을 포함한다. 또다른 실시양태에서, 본 발명에 따른 Fab의 반감

기는 이러한 방법으로 증가된다. 또한, 혈청 알부민 결합 펩티드 서열에 관한 문헌 [Dennis, M.S., et al., (2002) JBC 277(38):35035-35043]을 참조한다.

[0675] 돌연변이유발에 바람직한 위치인 항체의 특정 잔기 또는 영역을 동정하는데 유용한 방법은 문헌 [Cunningham and Wells (1989) Science, 244:1081-1085]에 기재된 바와 같이 "알라닌 스캐닝 돌연변이유발법"이라 불린다. 본원에서는, 표적 잔기의 잔기 또는 기 (예컨대, arg, asp, his, lys 및 glu와 같은 대전된 잔기)를 동정하여 중성이거나 음으로 대전된 아미노산 (예를 들어, 알라닌이나 폴리알라닌)으로 대체시켜서, 아미노산과 항원과의 상호작용에 영향을 준다. 이어서, 치환에 대해 기능적 감수성을 나타내는 이들 아미노산 위치를, 치환 부위에 또는 치환 부위 대신에 추가의 변이체 또는 다른 변이체를 도입함으로써 개량시킨다. 이처럼, 아미노산 서열 변이를 도입할 부위는 미리 결정되지만, 돌연변이의 성질 자체가 미리 결정될 필요는 없다. 예를 들어, 주어진 부위에서의 돌연변이 성능을 분석하기 위해서는, 표적 코돈 또는 표적 영역에서 ala 스캐닝이나 무작위 돌연변이유발을 수행하고, 발현된 이뮤노글로불린을 원하는 활성에 대해 스크리닝한다.

[0676] 아미노산 서열 삽입으로는, 1개의 잔기 내지 100개 이상의 잔기를 함유하는 폴리펩티드 길이 범위의 아미노-말단 및/또는 카르복실-말단 융합, 및 단일 또는 다중 아미노산 잔기의 서열내 삽입 등이 있다. 말단 삽입의 예로는 N-말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 세포독성 폴리펩티드에 융합된 항체 등이 있다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 (예를 들어 ADEPT에 대한 효소) 또는 폴리펩티드를 항체의 N-말단 또는 C-말단에 융합시킨 것을 포함한다.

[0677] 또다른 유형의 변이체는 아미노산 치환 변이체이다. 이들 변이체에서는 항체 분자에서 하나 이상의 아미노산 잔기가 다른 잔기로 대체되어 있다. 치환 돌연변이유발에 가장 관심이 있는 부위는 초가변 영역을 포함하지만, FR 변형 또한 고려된다. 하기 표 2에서는 "바람직한 치환"이라는 제목 하에 보존적 치환을 나타내었다. 이러한 치환이 생물학적 활성의 변화를 일으키면, 하기 표에서 "예시적 치환"으로 나타내거나 아미노산 부류에 관하여 아래에서 더 설명한 바와 같은 보다 실질적인 변화를 도입하여 생성물을 스크리닝할 수 있다.

표 2

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

[0678]

[0679] 항체의 생물학적 성질의 실질적 변형은 (a) 치환 영역에서의 폴리펩티드 주쇄의 구조를, 예를 들어 시이트 또는 나선 형태로서 유지하거나, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성을 유지하거나, 또는 (c) 측쇄의 크기를 유지하는데 미치는 효과가 유의하게 다른 치환을 선택함으로써 달성된다. 아미노산은 그의 측쇄 성질에 있어서

의 유사성에 따라 다음과 같은 군으로 나눌 수 있다 [A. L. Lehninger, in Biochemistry, second ed., pp. 73-75, Worth Publishers, New York (1975)]:

- [0680] (1) 비-극성: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (T), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M)
- [0681] (2) 대전되지 않은 극성: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q)
- [0682] (3) 산성: Asp (D), Glu (E)
- [0683] (4) 염기성: Lys (K), Arg (R), His (H).

대안으로, 자연 발생 잔기는 공통적인 측쇄 성질을 기초로 하여 다음과 같은 군으로 나눌 수 있다:

- [0685] (1) 소수성: 노르루이신, Met, Ala, Val, Leu, Ile,
- [0686] (2) 중성 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln,
- [0687] (3) 산성: Asp, Glu,
- [0688] (4) 염기성: His, Lys, Arg,
- [0689] (5) 쇠 배향에 영향을 미치는 잔기: Gly, Pro,
- [0690] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0691] 비-보존적 치환은 이들 부류 중 하나의 구성원을 다른 부류로 교환시키는 것이다. 이와 같이 치환되는 잔기는 보존적 치환 부위로 도입될 수도 있고 나머지 (보존되지 않는) 부위로 도입될 수도 있다.

[0692] 한가지 유형의 치환 변이체는 모 항체 (예를 들어 인간화 또는 인간 항체)의 하나 이상의 추가변 영역 잔기를 치환하는 것을 포함한다. 일반적으로, 추가 개발을 위해 선택되어 생성된 변이체(들)은 이들이 유래된 모 항체에 비해 개선된 생물학적 성질을 가질 것이다. 이러한 치환 변이체를 생성하는 편리한 방법은 파지 디스플레이를 이용한 친화도 성숙을 포함한다. 간략하게 설명하면, 몇몇 추가변 영역 부위 (예컨대, 6개 내지 7개 부위)를 돌연변이화시켜서 각 부위에서 모든 가능한 아미노산 치환을 생성한다. 이렇게 생성된 항체는 각 입자 내에 패키징된 M13의 유전자 III 생성물과의 융합물로서 섬유상 파지 입자에 디스플레이된다. 이후, 상기 파지-디스플레이된 변이체를 본원에 개시된 바와 같이 이들의 생물학적 활성 (예컨대, 결합 친화도)에 대해 스크리닝한다. 변형시킬 후보 추가변 영역 부위를 동정하기 위하여, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발을 수행하여 항원 결합에 유의하게 기여하는 추가변 영역 잔기를 동정할 수 있다. 대안으로 또는 추가로, 항원-항체 복합체의 결정 구조를 분석하여 항체와 항원 사이의 접촉 지점을 동정하는 것이 유익할 수 있다. 이러한 접촉 잔기와 이웃 잔기는 본원에서 연구된 기술에 따라 치환시킬 후보이다. 일단 이러한 변이체가 생성되면, 변이체 패널을 본원에 기재한 바와 같이 스크리닝하고, 1종 이상의 관련 검정에서 우수한 성질을 갖는 항체를 추가 개발을 위해 선별할 수 있다.

[0693] 항체의 아미노산 서열 변이체를 코딩하는 핵산 분자는 당업계에 공지된 다양한 방법으로 제조된다. 이들 방법으로는, 자연 공급원으로부터의 단리 (자연 발생 아미노산 서열 변이체의 경우) 또는 올리고뉴클레오타이드-매개 (또는 부위-지정) 돌연변이유발, PCR 돌연변이유발, 및 항체의 먼저 제조된 변이체 또는 비-변이체 버전의 카세트 돌연변이유발에 의한 제조 등이 있지만, 이에 제한되지 않는다.

[0694] 본 발명의 이뮤노글로불린 폴리펩티드의 Fc 영역에 하나 이상의 아미노산 변형을 도입하여 Fc 영역 변이체를 생성하는 것이 바람직할 수 있다. Fc 영역 변이체는 힌지 시스테인의 아미노산 위치를 비롯한 하나 이상의 아미노산 위치에서의 아미노산 변형 (예를 들어 치환)을 포함하는 인간 Fc 영역 서열 (예를 들어, 인간 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 또는 IgG₄ Fc 영역)을 포함할 수 있다.

[0695] 본 명세서의 기재 및 당업계의 교시내용에 따라, 일부 실시양태에서는 본 발명의 방법에 사용되는 항체를 야생형 대응 항체와 비교할 때 이것이 예를 들어 Fc 영역에서 하나 이상의 변형을 포함할 수 있다고 여겨진다. 그럼에도 불구하고, 이들 항체는 그의 야생형 대응물과 비교할 때 실질적으로 치료 유용성에 필요한 동일한 특징을 보유한다. 예를 들어, WO 99/51642 등에 기재된 바와 같이, Clq 결합 및/또는 보체-의존적 세포독성 (CDC)을 변경시키는 (즉, 개선시키거나 감소시키는) 특정 변형이 Fc 영역에 가해질 수 있다고 여겨진다. 또한, Fc 영역 변이체의 다른 예에 관한 문헌 [Duncan & Winter Nature 322:738-40 (1988)], 미국 특허 제5,648,260호, 미국 특허 제5,624,821호 및 WO 94/29351을 참조한다.

[0696] 면역접합체

[0697] 본 발명은 또한 세포독성제, 예컨대 화학요법제, 약물, 성장 억제제, 독소 (예를 들어 박테리아, 진균, 식물 또는 동물 기원의 효소 활성 독소 또는 그의 단편) 또는 방사능 동위원소 (즉, 방사성접합체)에 접합된 항체를 포함하는 면역접합체, 또는 항체-약물 접합체 (ADC)에 관한 것이다.

[0698] 세포독성제 또는 세포증식억제제, 즉, 암 치료시에 종양 세포를 사멸시키거나 억제하는 약물의 국소 전달을 위한 항체-약물 접합체 ([Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614], [Niculescu-Duvaz and Springer (1997) Adv. Drg Del. Rev. 26:151-172], 미국 특허 제4,975,278호)의 사용은 약물 부분을 종양으로 표적화 전달하는 것과 그 안에서의 세포내 축적을 이론적으로 허용하며, 이때 이들 미접합 약물 작용제의 전신 투여는 제거하고자 하는 종양 세포 뿐만이 아니라 정상적인 세포에게도 허용가능하지 않은 수준의 독성을 초래할 수 있다 ([Baldwin et al., (1986) Lancet pp. (Mar. 15, 1986):603-05], [Thorpe, (1985) "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review," in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, A. Pinchera et al. (eds.), pp. 475-506]). 이 때문에, 최소의 독성을 갖는 최대 효능이 요구된다. 폴리클로날 항체와 모노클로날 항체 둘다 이러한 전략에 유용하다고 보고된 바 있다 [Rowland et al., (1986) Cancer Immunol. Immunother., 21:183-87]. 이러한 방법에 사용되는 약물로는 다우노마이신, 독소루비신, 메토틱세이트 및 빈테신 등이 있다 [Rowland et al., (1986) 상기 문헌]. 항체-독소 접합체에 사용되는 독소로는 박테리아 독소, 예컨대 디프테리아 독소, 식물 독소, 예컨대 리신, 소분자(small molecule) 독소, 예컨대 겔라나마이신 ([Mandler et al (2000) Jour. of the Nat. Cancer Inst. 92(19):1573-1581], [Mandler et al (2000) Bioorganic & Med. Chem. Letters 10:1025-1028], [Mandler et al (2002) Bioconjugate Chem. 13:786-791]), 메이탄시노이드 (EP 1391213, [Liu et al., (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623]) 및 칼리케아미신 ([Lode et al (1998) Cancer Res. 58:2928], [Hinman et al (1993) Cancer Res. 53:3336-3342]) 등이 있다. 독소는 미세소관 결합, DNA 결합, 또는 토포이소머라제 억제 등을 비롯한 메카니즘을 통해 이들의 세포독성 및 세포증식억제 효과에 영향을 줄 수 있다. 몇몇 세포독성 약물은 커다란 항체 또는 단백질 수용체 리간드와 접합되면 불활성이 되거나 덜 활성이 되는 경향이 있다.

[0699] 제발린(ZEVALIN)[®] (이브리투모맵 티옥세탄, 바이오젠/인टे크(Biogen/Idec))은 정상 및 악성 B 림프구의 표면에 존재하는 CD20 항원에 대한 무인 IgG1 카파 모노클로날 항체 및 ¹¹¹In 또는 ⁹⁰Y 방사성동위원소로 구성되어 티오우레아 링커-킬레이터로 결합된 항체-방사성동위원소 접합체이다 ([Wiseman et al (2000) Eur. Jour. Nucl. Med. 27(7):766-77], [Wiseman et al (2002) Blood 99(12):4336-42], [Witzig et al (2002) J. Clin. Oncol. 20(10):2453-63], [Witzig et al (2002) J. Clin. Oncol. 20(15):3262-69]). 제발린은 B-세포 비-호지킨 림프종 (NHL)에 대한 활성을 갖지만, 이것을 투여하면 대부분의 환자에서 심각하고 지속적인 혈구감소증이 초래된다. 마일로타르그(MYLOTARG)[™] (겔투주맵 오조가마이신, 웨스 파마슈티칼스(Wyeth Pharmaceuticals))는 칼리케아미신에 연결된 hu CD33 항체로 구성된 항체 약물 접합체로서, 2000년도에 급성 골수성 백혈병의 주사 치료용으로 승인을 받았다 ([Drugs of the Future (2000) 25(7):686], 미국 특허 제4,970,198호, 동 제 5,079,233호, 동 제5,585,089호, 동 제5,606,040호, 동 제5,693,762호, 동 제5,739,116호, 동 제5,767,285호, 동 제5,773,001호). 디술피드 링커 SPP를 통해 메이탄시노이드 약물 부분 DM1에 연결된 huC242 항체로 이루어진 항체 약물 접합체인 칸투주맵 메르탄신 (이뮤노젠, 인크.(Immunogen, Inc.))은 결장암, 췌장암, 위암 등과 같이 CanAg를 발현하는 암을 치료하기 위한 임상 II기 시험이 진행 중이다. 메이탄시노이드 약물 부분, DM1에 연결된 항-전립선 특이적 막 항원 (PSMA) 모노클로날 항체로 이루어진 항체 약물 접합체인 MLN-2704 (밀레니엄 파마슈티칼스(Millennium Pharm.), BZL 바이올로지스(BZL Biologies), 이뮤노젠, 인크.)는 전립선 종양의 잠재적 치료용으로 개발되고 있다. 아우리스타틴 펩티드, 아우리스타틴 E (AE) 및 모노메틸아우리스타틴 (MMAE), 돌라스타틴의 합성 유사체는 키메라 모노클로날 항체 cBR96 (암종의 루이스(Lewis) Y에 특이적임) 및 cAC10 (혈액계 악성종양의 CD30에 특이적임)에 접합되었고 [Doronina et al (2003) Nature Biotechnology 21(7):778-784], 치료제로의 개발이 진행 중이다.

[0700] 이러한 면역접합체의 생성에 유용한 화학요법제는 앞서 기재한 바 있다. 사용될 수 있는 효소 활성 독소 및 그의 단편으로는 디프테리아 A쇄, 디프테리아 독소의 비-결합 활성 단편, 외독소 A쇄 (슈도모나스 에루기노사 유래의 것), 리신 A쇄, 아브린 A쇄, 모데신 A쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르디이(*Aleurites fordii*) 단백질, 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나(*Phytolaca americana*) 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아(*momordica charantia*) 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스(*sapaonaria officinalis*) 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센 등이 있으나 이에 제한되지

않는다. 각종 방사선헌종이 방사성접합된 항체의 생성에 이용가능하다. 예로는 ^{212}Bi , ^{131}I , ^{131}In , ^{90}Y 및 ^{186}Re 등이 있다. 항체와 세포독성제의 접합체는 각종 이관능성 단백질-커플링제, 예를 들어 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티올)프로피오네이트 (SPDP), 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스(p-아지도벤조일)핵산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트) 및 비스-활성 불소 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠) 등을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌 [Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이트도벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사선헌종을 접합시키기 위한 예시적 킬레이팅제이다. WO 94/11026을 참조한다.

[0701] 항체 및 하나 이상의 소분자 독소, 예컨대 칼리케아미신, 메이탄시노이드, 트리코테센 및 CC1065, 및 독소 활성을 갖는 이들 독소의 유도체의 접합체도 본원에서 고려된다.

[0702] *메이탄신 및 메이탄시노이드*

[0703] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체 (전장 또는 단편)는 하나 이상의 메이탄시노이드 분자에 접합된다.

[0704] 메이탄시노이드는 미세소관 중합을 억제하여 작용하는 체세포분열 억제제이다. 메이탄신은 동아프리카 관목 메이테누스 세라타(*Maytenus serrata*)에서 최초로 단리되었다 (미국 특허 제3,896,111호). 이후, 특정 미생물도 메이탄시노이드, 예를 들어 메이탄시놀 및 C-3 메이탄시놀 에스테르 (미국 특허 제4,151,042호)를 생성한다는 것이 발견되었다. 합성 메이탄시놀 및 그의 유도체 및 유사체는 예를 들어 미국 특허 제4,137,230호, 동 제4,248,870호, 동 제4,256,746호, 동 제4,260,608호, 동 제4,265,814호, 동 제4,294,757호, 동 제4,307,016호, 동 제4,308,268호, 동 제4,308,269호, 동 제4,309,428호, 동 제4,313,946호, 동 제4,315,929호, 동 제4,317,821호, 동 제4,322,348호, 동 제4,331,598호, 동 제4,361,650호, 동 제4,364,866호, 동 제4,424,219호, 동 제4,450,254호, 동 제4,362,663호 및 동 제4,371,533호에 개시되어 있으며, 상기 문헌의 개시내용은 그 전문이 참고로 본원에 포함된다.

[0705] *메이탄시노이드-항체 접합체*

[0706] 메이탄신 및 메이탄시노이드의 치료 지수를 개선시키고자 하는 시도로서, 메이탄신 및 메이탄시노이드를 종양 세포 항원에 특이적으로 결합하는 항체에 접합시켰다. 메이탄시노이드를 함유하는 면역접합체 및 이것의 치료 용도는 예를 들어 미국 특허 제5,208,020호, 동 제5,416,064호 및 유럽 특허 EP 0 425 235 B1에 개시되어 있으며, 상기 문헌의 개시내용은 그 전문이 참고로 본원에 포함된다. 문헌 [Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 (1996)]은 인간 결장직장암에 대한 모노클로날 항체 C242에 연결된 DM1이라 지칭되는 메이탄시노이드를 포함하는 면역접합체를 기재한다. 상기 접합체는 배양된 결장암 세포에게 고도로 세포독성인 것으로 밝혀졌고, 생체내 종양 성장 검정에서 항-종양 활성을 나타내었다. 문헌 [Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992)]은 메이탄시노이드가 디설피드 링커를 통해 인간 결장암 세포주의 항원에 결합하는 뮤린 항체 A7에 접합되거나 HER-2/neu 종양유전자와 결합하는 또다른 뮤린 모노클로날 항체 TA.1에 접합된 면역접합체를 기재한다. TA.1-메이탄시노이드 접합체의 세포독성을 세포 1개 당 3×10^5 개 HER-2 표면 항원을 발현하는 인간 유방암 세포주 SK-BR-3에 대하여 시험관내 시험하였다. 상기 약물 접합체는 유리 메이탄시노이드 약물과 유사한 정도의 세포독성을 나타냈고, 항체 분자 1개 당의 메이탄시노이드 분자 수를 증가시키면 증가될 수 있었다. A7-메이탄시노이드 접합체는 마우스에서 낮은 전신 세포독성을 나타냈다.

[0707] *항체-메이탄시노이드 접합체 (면역접합체)*

[0708] 항체-메이탄시노이드 접합체는 메이탄시노이드 분자에 항체를 화학적으로 연결시키되 항체 또는 메이탄시노이드 분자의 생물학적 활성을 유의하게 감소시키지 않도록 하여 제조된다. 항체 분자 1개 당 평균 3개 또는 4개의 메이탄시노이드 분자가 접합된 것이 해당 항체의 기능 또는 용해도에 부정적인 영향을 미치지 않으면서 표적 세포의 세포독성을 증진시키는데 효능이 있는 것으로 나타났지만, 독소/항체의 1개 분자라고 하더라도 네이키드 (naked) 항체를 사용하는 것보다는 세포독성을 증진시킬 것이라 예상된다. 메이탄시노이드는 당업계에 널리 공지되어 있으며, 공지의 기술로 합성될 수도 있고 자연 공급원으로부터 단리될 수도 있다. 적합한 메이탄시노이드는 예를 들어 미국 특허 제5,208,020호 및 상기 언급된 다른 특허 및 비-특허 간행물에 개시되어 있다. 특정 실시양태에서, 메이탄시노이드는 메이탄시놀 및 메이탄시놀 분자의 방향족 고리 또는 다른 위치에서 변형된 메

이탄시놀 유사체, 예를 들어 각종 메이탄시놀 에스테르이다.

- [0709] 항체-메이탄시노이드 접합체를 제조하기 위한 연결기는 당업계에 많이 공지되어 있으며, 예를 들어 미국 특허 제5,208,020호 또는 유럽 특허 0 425 235 B1 및 [Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992)]에 개시되어 있는 것을 포함한다. 상기 특허 문헌에 개시되어 있는 바와 같이, 연결기는 디술피드기, 티오에테르기, 산-불안정 기, 광-불안정 기, 펩티다제-불안정 기 또는 에스테라제-불안정 기를 포함한다.
- [0710] 항체와 메이탄시노이드의 접합체는 각종 이관능성 단백질 커플링제, 예를 들어 N-숙신이미달-3-(2-피리딜티오)프로피오네이트 (SPDP), 숙신이미달-4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트, 이미노티올란 (IT), 이미도에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디프이미테이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미달 수베레이트), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스(p-아지도벤조일)헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트) 및 비스-활성 불소 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠) 등을 사용하여 제조될 수 있다. 특정 실시양태에서, 커플링제는 N-숙신이미달-3-(2-피리딜티오)프로피오네이트 (SPDP) [Carlsson et al., Biochem. J. 173:723-737 (1978)] 및 N-숙신이미달-4-(2-피리딜티오)펜타노에이트 (SPP)를 포함하여 디술피드 연결부를 제공한다.
- [0711] 링커는 연결의 유형에 따라 메이탄시노이드 분자에 여러 위치에서 부착될 수 있다. 예를 들어, 에스테르 연결부는 통상적인 커플링 기술로 히드록실기와 반응시켜 형성할 수 있다. 상기 반응은 히드록실기를 갖는 C-3 위치, 히드록시메틸로 변형된 C-14 위치, 히드록실기로 변형된 C-15 위치 및 히드록실기를 갖는 C-20 위치에서 일어날 수 있다. 한 실시양태에서, 상기 연결부는 메이탄시놀의 C-3 위치 또는 메이탄시놀 유사체에서 형성된다.
- [0712] 칼리케아미신
- [0713] 또다른 관심 면역접합체는 하나 이상의 칼리케아미신 분자에 접합된 항체를 포함한다. 칼리케아미신 과의 항생제는 피코몰 이하 농도에서 이중 가닥 DNA 파괴를 생성할 수 있다. 칼리케아미신 과의 접합체 제조에 관해서는 미국 특허 제5,712,374호, 동 제5,714,586호, 동 제5,739,116호, 동 제5,767,285호, 동 제5,770,701호, 동 제5,770,710호, 동 제5,773,001호, 동 제5,877,296호 (모두가 아메리칸 시아나미드 컴퍼니(American Cyanamid Company)의 특허)를 참조한다. 사용될 수 있는, 칼리케아미신의 구조적 유사체로는 γ_1^I , α_2^I , α_3^I , N-아세틸- γ_1^I , PSAG 및 Θ_1^I 등이 있지만, 이에 제한되지 않는다 ([Hinman et al., Cancer Research 53:3336-3342 (1993)], [Lode et al., Cancer Research 58:2925-2928 (1998)] 및 앞서 언급한 아메리칸 시아나미드의 미국 특허). 항체와 접합될 수 있는 또다른 항-중양 약물은 항-엽산제인 QFA이다. 칼리케아미신과 QFA는 둘다 세포 내 작용 부위를 가지며 세포질막을 쉽게 관통하지 못한다. 따라서, 항체-매개 내재화에 의한 이들 작용제의 세포 내 흡수는 세포독성 효과를 크게 증진시킨다.
- [0714] 기타 세포독성제
- [0715] 본 발명의 항체에 접합될 수 있는 다른 항-중양제로는 BCNU, 스트렙토조이신, 빈크리스틴 및 5-플루오로우라실, 미국 특허 제5,053,394호, 동 제5,770,710호에 기재된, 통칭하여 LL-E33288 복합체로 공지된 부류의 작용제 및 또한 에스페라미신 (미국 특허 제5,877,296호) 등이 있다.
- [0716] 사용될 수 있는 효소 활성 독소 및 그의 단편으로는 디프테리아 A쇄, 디프테리아 독소의 비-결합 활성 단편, 외독소 A쇄 (슈도모나스 애틀리노사 유래의 것), 리신 A쇄, 아브린 A쇄, 모데신 A쇄, 알파-사르신, 알레우리테스 포르다이 단백질, 디안틴 단백질, 피톨라카 아메리카나 단백질 (PAPI, PAPII 및 PAP-S), 모모르디카 카란티아 억제제, 쿠르신, 크로틴, 사파오나리아 오피시날리스 억제제, 겔로닌, 미토겔린, 레스트릭토신, 페노마이신, 에노마이신 및 트리코테센 등이 있다. 예를 들어 1993년 10월 28일자로 공개된 WO 93/21232를 참조한다.
- [0717] 본 발명은 항체 및 핵분해 활성 (예를 들어, 리보뉴클레아제 또는 DNA 엔도뉴클레아제, 예를 들어 데옥시리보뉴클레아제, DNase)을 갖는 화합물 사이에 형성된 면역접합체를 추가로 고려한다.
- [0718] 중양의 선택적 파괴를 위해서, 항체는 고도로 방사능인 원자를 포함할 수 있다. 방사성접합 항체의 생성에는 다양한 방사능 동위원소를 이용할 수 있다. 예로는 At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} , P^{32} , Pb^{212} 및 Lu의 방사성 동위원소 등이 있다. 접합체를 검출에 사용하는 경우, 이것은 섬광조영 연구를 위한 방사능 원자, 예를 들어 tc^{99m} 또는 I^{123} , 또는 핵 자기 공명 (NMR) 영상화 (자기 공명 영상화, MRI라고도 알려져 있음)를 위한 스핀 표지, 예를 들어 다시 요오드-123, 요오드-131, 인듐-111, 불소-19, 탄소-13, 질소-15, 산소-17, 가

돌리늄, 망간 또는 철을 포함할 수 있다.

[0719] 방사능 표지 또는 다른 표지가 공지된 방법으로 접합체에 혼입될 수 있다. 예를 들어, 펩티드는 생합성될 수도 있고, 또는 예를 들어 수소 대신에 불소-19를 포함하는 적합한 아미노산 전구체를 사용한 화학적 아미노산 합성으로 합성될 수도 있다. 표지, 예컨대 ^{99m}Tc 또는 ^{123}I , ^{186}Re , ^{188}Re 및 ^{111}In 은 펩티드 중의 시스테인 잔기를 통해 부착될 수 있다. 이트륨-90은 리신 잔기를 통해 부착될 수 있다. 요오드-123은 요오도젠(ODOGEN) 방법 [Fraker et al (1978) Biochem. Biophys. Res. Commun. 80:49-57]을 이용하여 혼입할 수 있다. 문헌 ["Monoclonal Antibodies in Immunoscinigraphy" (Chatal, CRC Press 1989)]은 다른 방법을 상세하게 기재하고 있다.

[0720] 항체와 세포독성제의 접합체는 각종 이관능성 단백질-커플링제, 예를 들어 N-숙신이미딜-3-(2-피리딜디티오)프로피오네이트 (SPDP), 숙신이미딜-4-(N-말레이미도메틸)시클로헥산-1-카르복실레이트, 이미노티올란 (IT), 이미노에스테르의 이관능성 유도체 (예컨대, 디메틸 아디프이미데이트 HCl), 활성 에스테르 (예컨대, 디숙신이미딜 수베레이트), 알데히드 (예컨대, 글루타르알데히드), 비스-아지도 화합물 (예컨대, 비스(p-아지도벤조일)헥산디아민), 비스-디아조늄 유도체 (예컨대, 비스-(p-디아조늄벤조일)-에틸렌디아민), 디이소시아네이트 (예컨대, 톨루엔 2,6-디이소시아네이트) 및 비스-활성 불소 화합물 (예컨대, 1,5-디플루오로-2,4-디니트로벤젠) 등을 사용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 리신 면역독소는 문헌 [Vitetta et al., Science 238:1098 (1987)]에 기재된 바와 같이 제조될 수 있다. 탄소-14-표지된 1-이소티오시아네이트벤질-3-메틸디에틸렌 트리아민펜타아세트산 (MX-DTPA)은 항체에 방사성핵종을 접합시키기 위한 예시적 킬레이팅제이다. WO 94/11026을 참조한다. 링커는 세포에서 세포독성 약물의 방출을 용이하게 하는 "절단가능한 링커"일 수 있다. 예를 들어, 산-불안정 링커, 펩티다제-감수성 링커, 광-불안정 링커, 디메틸 링커 또는 디설피드-함유 링커 ([Chan et al., Cancer Research 52:127-131 (1992)], 미국 특허 제5,208,020호)가 사용될 수 있다.

[0721] 본 발명의 화합물은 하기하는 교차-링커 시약으로 제조된 ADC를 특별히 고려하지만 이에 제한되지는 않는다: 시판되는 (예를 들어, 미국 일리노이주 록크포드 소재의 피어스 바이오테크놀로지, 인크.(Pierce Biotechnology, Inc.)에서 시판함) BMPS, EMCS, GMBS, HBVS, LC-SMCC, MBS, MPBH, SBAP, SIA, SIAB, SMCC, SMPB, SMPH, 술포-EMCS, 술포-GMBS, 술포-KMUS, 술포-MBS, 술포-SIAB, 술포-SMCC, 술포-SMPB 및 SVSB (숙신이미딜-(4-비닐술포)벤조에이트). 문헌 [2003-2004 Applications Handbook and Catalog]의 제467면 내지 제498면을 참조한다.

[0722] 항체 약물 접합체의 제조

[0723] 본 발명의 항체 약물 접합체 (ADC)에서, 항체 (Ab)는 항체 1개 당 하나 이상의 약물 부분 (D), 예를 들어 약 1개 내지 약 20개의 약물 부분에 링커 (L)를 통해 접합된다. 하기 화학식 I의 ADC는 (1) 항체의 친핵성기와 2가 링커 시약의 반응으로 공유 결합을 통한 Ab-L의 형성 및 이후 약물 부분 D와의 반응, 및 (2) 약물 부분의 친핵성기와 2가 링커 시약의 반응으로 공유 결합을 통한 D-L의 형성 및 이후 항체의 친핵성기와의 반응을 포함하는, 당업자에게 공지된 유기 화학 반응, 조건 및 시약을 이용하여 여러 경로로 제조될 수 있다:

화학식 I

[0724] $\text{Ab}-(\text{L}-\text{D})_p$

[0725] 항체의 친핵성기로는 (i) N-말단 아민기, (ii) 측쇄 아민기, 예를 들어 리신, (iii) 측쇄 티올기, 예를 들어 시스테인, 및 (iv) 항체가 글리코실화된 당 히드록실기 또는 아미노기 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 아민기, 티올기 및 히드록실기는 친핵성이고, (i) 활성 에스테르, 예컨대 NHS 에스테르, HOBt 에스테르, 할로포르메이트 및 산 할라이드, (ii) 알킬 및 벤질 할라이드, 예컨대 할로아세트아미드, (iii) 알데히드기, 케톤기, 카르복실기 및 말레이미드기를 비롯하여 링커 부분 및 링커 시약상의 친핵성기와 반응하여 공유 결합을 형성할 수 있다. 특정 항체는 환원가능한 쇠간 디설피드, 즉 시스테인 브릿지를 갖는다. 항체는 DTT (디티오트레이톨)와 같은 환원제로 처리하여 링커 시약과의 접합에 대하여 반응성이 되도록 할 수 있다. 따라서, 각각의 시스테인 브릿지는 이론적으로 2개의 반응성 티올 친핵체를 형성할 수 있다. 추가의 친핵성기를 리신과 2-이미노티올란 (트라우트(Traut) 시약)의 반응을 통해 항체에 도입하여 아민이 티올로 전환되도록 할 수 있다.

[0726] 본 발명의 항체 약물 접합체는 또한 항체에 링커 시약 또는 약물의 친핵성 치환체와 반응할 수 있는 친핵성 부분을 도입하는 변형을 가하여 생성할 수도 있다. 글리코실화된 항체의 당은 예를 들어 과요오드산염 산화 시약으로 산화시켜서 링커 시약 또는 약물 부분의 아민기와 반응할 수 있는 알데히드기 또는 케톤기를 형성할 수 있다. 이로써 생성되는 이민 슈프(Schiff) 염기기는 안정적인 연결부를 형성할 수도 있고, 또는 예를 들어 보로

하이드라이드 시약을 사용하여 환원시켜서 안정적인 아민 연결부를 형성할 수도 있다. 한 실시양태에서, 글리코실화된 항체의 탄수화물 부분과 갈락토스 옥시다제 또는 나트륨 메타-과요오드산염과의 반응은 단백질 중에 카르보닐 (알데히드 및 케톤)기를 생성할 수 있는데, 이것은 약물 (헤르만슨(Hermanson), 바이오컨쥬게이트 테크닉스(Bioconjugate Techniques))의 적절한 기와 반응할 수 있다. 또다른 실시양태에서, N-말단 세린 또는 트레오닌 잔기를 함유하는 단백질은 나트륨 메타-과요오드산염과 반응하여 제1 아미노산 위치에 알데히드를 생성할 수 있다 ([Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138-146], 미국 5362852). 이러한 알데히드는 약물 부분 또는 링커 친핵체와 반응할 수 있다.

[0727] 유사하게, 약물 부분상의 친핵성 기로는 (i) 활성 에스테르, 예컨대 NHS 에스테르, HOBt 에스테르, 할로포르메이트, 및 산 할라이드, (ii) 알킬 및 벤질 할라이드, 예컨대 할로아세트아미드, (iii) 알데히드기, 케톤기, 카르복실기 및 말레이미드기를 비롯하여 링커 부분 및 링커 시약상의 친핵성 기와 반응하여 공유 결합을 형성할 수 있는 아민기, 티올기, 히드록실기, 히드라이드기, 옥심기, 히드라진기, 티오세미카르바존기, 히드라진 카르복실레이트기 및 아릴히드라이드기 등이 있으나 이에 제한되지 않는다.

[0728] 대안으로, 항체 및 세포독성제를 포함하는 융합 단백질은 예를 들어 재조합 기술 또는 펩티드 합성으로 제조될 수 있다. DNA의 길이는 접합체에서 서로 인접하거나 또는 접합체의 원하는 성질을 파괴하지 않는 링커 펩티드를 코딩하는 영역으로 분리된 2개 부분을 코딩하는 각각의 영역을 포함할 수 있다.

[0729] 또다른 실시양태에서, 항체는 항체-수용체 접합체를 환자에게 투여한 후에 청정제를 사용하여 순환계로부터 미결합 접합체를 제거한 다음에 세포독성제 (예를 들어 방사성핵종)에 접합된 "리간드" (예를 들어 아비딘)를 투여하는 중앙 예비-표적화에 이용되는 "수용체" (예를 들어 스트렙타비딘)에 접합될 수 있다.

[0730] 항체 유도체

[0731] 본 발명의 항체는 당업계에서 공지되어 있고 쉽게 입수가능한 추가의 비-단백질성 부분을 함유하도록 추가로 변형될 수 있다. 특정 실시양태에서, 항체의 유도체화에 적합한 부분은 수용성 중합체이다. 수용성 중합체의 비-제한적인 예로는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG), 에틸렌 글리콜/프로필렌 글리콜의 공중합체, 카르복시메틸셀룰로스, 텍스트란, 폴리비닐 알콜, 폴리비닐 피롤리돈, 폴리-1,3-디옥솔란, 폴리-1,3,6-트리옥산, 에틸렌/말레산 무수물 공중합체, 폴리아미노산 (단독중합체 또는 무작위 공중합체), 및 텍스트란 또는 폴리(n-비닐 피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 단독중합체, 폴리프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 공중합체, 폴리옥시에틸화 폴리에틸렌 (예를 들어, 글리세롤), 폴리비닐 알콜 및 이들의 혼합물 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온알데히드는 물 중에서의 안정성으로 인해 제조에 유리할 수 있다. 상기 중합체는 임의의 분자량을 가질 수 있고, 분지된 것일 수도 있고 분지되지 않은 것일 수도 있다. 항체에 부착된 중합체의 수는 다양할 수 있고, 1개 초과 중합체가 부착된 경우에 이것들은 동일한 분자일 수도 있고 상이한 분자일 수도 있다. 일반적으로, 유도체화에 사용되는 중합체의 수 및/또는 유형은 개선시킬 항체의 특정 성질 또는 기능, 항체 유도체가 정해진 조건하에서 요법에 사용될 것인지의 여부 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 사항들에 관한 고려를 기초로 하여 결정할 수 있다.

[0732] 제약 제제

[0733] 본 발명의 항체를 포함하는 치료 제제는 원하는 정도의 순도를 갖는 항체를 임의의 생리적으로 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합하여 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)], 수용액 제제, 동결건조된 제제 또는 기타 건조된 제제 형태로서 저장용으로 제조된다. 허용가능한 담체, 부형제 또는 안정화제는 사용되는 투여량과 농도에서 수용자에게 비독성이고, 포스페이트, 시트레이트, 히스티딘 및 기타 유기산과 같은 완충제; 아스코르브산 및 메티오닌을 비롯한 항산화제; 보존제 (예를 들어 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤즈에토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 알콜 또는 벤질 알콜; 메틸 파라벤 또는 프로필 파라벤과 같은 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸; 저분자량 (약 10개 잔기 미만) 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴 또는 이뮤노글로불린과 같은 단백질; 폴리비닐피롤리돈과 같은 친수성 중합체, 글리신, 글루타민, 아스파라진, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신과 같은 아미노산; 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 비롯한 단당류, 이당류 및 기타 탄수화물; EDTA와 같은 킬레이팅제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨과 같은 당; 나트륨과 같은 염-형성 반대이온; 금속 복합체 (예컨대, Zn-단백질 복합체); 및/또는 트윈(TWEEN)TM, 플루로닉스(PLURONICS)TM 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)과 같은 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0734] 본원에서의 제제는 또한 치료될 특정 증상에 필요한 1종 초과의 활성 화합물을 함유할 수도 있다. 이러한 특정

실시양태에서, 상기 화합물들은 서로 부정적인 영향을 주지 않는 상보적 활성을 보유한다. 이러한 분자는 의도한 목적에 유효한 양으로 함께 적합하게 존재한다.

[0735] 활성 성분은 또한 콜로이드성 약물 전달 시스템 (예컨대, 리포솜, 알부민 미소구, 마이크로에멀전, 나노입자 및 나노캡슐) 또는 마크로에멀전 중에서 예를 들어 코아세르베이션 기술이나 계면 중합에 의해 제조된 마이크로캡슐, 예를 들어 히드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴-마이크로캡슐 및 폴리-(메틸메타크릴레이트) 마이크로캡슐 등에 각각 포획될 수도 있다. 이러한 기술은 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)]에 개시되어 있다.

[0736] 생체내 투여에 사용되는 약제는 멸균된 것이어야 한다. 이것은 예를 들어 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 쉽게 달성된다.

[0737] 서방형 약제가 제조될 수 있다. 서방형 약제의 적합한 예로는, 매트릭스가 성형 용품, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐 형태로 된, 본 발명의 이뮤노글로불린을 함유하는 고체 소수성 중합체의 반투과성 매트릭스 등이 있다. 서방형 매트릭스의 예로는 폴리에스테르, 히드로겔 (예컨대, 폴리(2-히드록시에틸-메타크릴레이트) 또는 폴리(비닐알콜)), 폴리락티드 (미국 특허 제3,773,919호), L-글루탐산과 γ 에틸-L-글루타메이트의 공중합체, 비-분해성 에틸렌 비닐 아세테이트, 루프론 데포(LUPRON DEPOT)TM (락트산-글리콜산 공중합체와 루프롤라이드 아세테이트로 구성된 주사용 미소구)와 같은 분해성 락트산-글리콜산 공중합체 및 폴리-D-(-)-3-히드록시부티르산 등이 있다. 에틸렌-비닐 아세테이트 및 락트산-글리콜산과 같은 중합체는 100일 넘게 분자들을 방출시킬 수 있지만, 특정 히드로겔은 단백질을 더 짧은 기간 동안 방출시킨다. 캡슐화 이뮤노글로불린이 신체 내에 오래 머물러 있는 경우, 이것들은 37°C에서의 습기 노출로 인해 변성되거나 응집되어 생물학적 활성이 손실되고 면역원성에 변화가 일어날 수 있다. 관련 메카니즘에 따라 안정화를 위한 합리적인 전략이 디자인될 수 있다. 예를 들어, 응집 메카니즘이 티오-디설피드 교환을 통한 분자간 S-S 결합 형성이라는 것이 발견된다면, 안정화는 설피드릴 잔기를 변형시키고 산성 용액으로부터 동결건조시키고 수분 함량을 제어하고 적절한 첨가제를 사용하고 특정 중합체 매트릭스 조성물을 개발하여 달성될 수 있다.

[0738] 용도

[0739] 본 발명의 항체는 예를 들어 시험관내, 생체외 및 생체내 치료 방법에 사용될 수 있다. 본 발명의 항체는 특이적 항원 활성을 시험관내, 생체외 및/또는 생체내 부분적 또는 완전히 차단하는 길항제로 사용될 수 있다. 추가로, 본 발명의 항체 중 적어도 일부는 다른 종의 항원 활성을 중화시킬 수 있다. 따라서, 본 발명의 항체는 예를 들어 항원을 함유하는 세포 배양물, 인간 대상체 또는 본 발명의 항체가 교차 반응하는 항원을 갖는 다른 포유동물 대상체 (예를 들어 침팬지, 개코원숭이, 명주원숭이, 게잡이원숭이 및 붉은털원숭이, 돼지 또는 마우스)에서 특이적 항원 활성을 억제하는데 사용될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 상기 항체를 항원과 접촉시켜서 항원 활성이 억제되도록 하여 항원 활성을 억제하는데 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 항원은 인간 단백질 분자이다.

[0740] 한 실시양태에서, 본 발명의 항체는 항원 활성이 해로운 장애를 앓고 있는 대상체에게 본 발명의 항체를 투여하여 상기 대상체에서의 항원 활성이 억제되도록 하는 것을 포함하는, 항원 활성이 해로운 장애를 앓고 있는 대상체에서의 항원 억제 방법에 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 상기 항원은 인간 단백질 분자이고, 상기 대상체는 인간 대상체이다. 대안으로, 상기 대상체는 본 발명의 항체가 결합하는 항원을 발현하는 포유동물일 수 있다. 추가로, 상기 대상체는 항원이 도입된 (예를 들어, 항원의 투여 또는 항원 트랜스젠(transgene)의 발현에 의한 도입) 포유동물일 수 있다. 본 발명의 항체는 인간 대상체에게 치료 목적으로 투여될 수 있다. 추가로, 본 발명의 항체는 이뮤노글로불린이 교차 반응하는 항원을 발현하는 비-인간 포유동물 (예를 들어, 영장류, 돼지 또는 마우스)에게 수의학적 목적으로 또는 인간 질환의 동물 모델로서 투여될 수 있다. 후자의 경우, 이러한 동물 모델은 본 발명의 항체의 치료 효능을 평가 (예를 들어, 투여량 및 투여 기간의 시험)하는데 유용할 수 있다.

[0741] 치료상 유용한 본 발명의 차단 또는 길항제 항체의 예로는 항-HER-2 항체 등이 있으나 이에 제한되지 않는다. 예를 들어, 본 발명의 항-HER-2 항체는 악성 및 양성 종양; 비-백혈병 및 림프양 악성종양; 신경세포, 아교세포, 성상세포, 시상하부 및 다른 분비선(glandular), 대식세포, 상피, 간질 및 분할강 장애; 및 염증성, 항원성 및 면역학적 장애를 포함하지만 이에 제한되지 않는 1종 이상의 항원 분자의 비정상적인 발현 및/또는 활성과 관련이 있는 질환, 장애 또는 상태의 치료, 억제, 진행 방지, 재발 방지/지연, 경감 또는 예방을 위해 사용될 수 있다.

- [0742] 한 측면에서, 본 발명의 차단 항체는 리간드 항원에 특이적이고, 리간드 항원을 포함하는 리간드-수용체 상호작용을 차단하거나 저해하여 항원 활성을 억제하여 상응하는 신호 경로 및 다른 분자 또는 세포 사건을 억제한다. 본 발명은 또한 리간드 결합을 반드시 방지하지는 않지만 수용체 활성화를 저해하여 통상적으로 리간드 결합에 의해 개시되는 임의의 반응을 억제하는 수용체-특이적 항체를 특징으로 한다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 또한 바람직하게는 리간드-수용체 복합체에 결합하거나 또는 오직 리간드-수용체 복합체에만 결합하는 항체를 포함한다. 본 발명의 항체는 특정 항원 수용체의 효능제로서 작용하여 리간드-매개 수용체 활성화의 전체 또는 일부 활성을 강화시키거나 증진시키거나 활성화시킬 수도 있다.
- [0743] HER-2 관련 장애 또는 상태 및 진단 검정은 미국 특허 제6,387,371호에 기재되어 있으며, 상기 문헌은 본원에 참고로 포함된다. 또한 WO 98/17797을 참조한다. 치료 유효량의 항-HER-2 수용체 항체를 환자에게 투여하면 종양 세포 성장이 억제되며, 암 치료에 유용하다. 트라투주맙 (제넨테크, 인크.(Genentech, Inc.))은 HER-2 과다발현/HER-2 유전자 증폭 암, 특히 전이성 유방암 (MBC)의 치료를 위해 HER-2 세포외 도메인에 대해 지시된 재조합 인간화 모노클로날 항체이다. 상기 항체는 다른 암, 특히 HER-2를 과다발현하는 암의 치료에 유용하다. 상기 항체는 또한 환자에게 다른 치료제, 예를 들어, 파클리탁셀 또는 타르세바(Tarceva)[®]와 병용 투여될 수도 있다.
- [0744] 일부 실시양태에서, 항-DR5 항체는 암 세포의 아파토시스를 유도한다. 일부 실시양태에서, 항-DR5 항체는 DR5의 효능제이다. 다른 실시양태에서, 상기 항체는 DR5에 대한 결합에 대해 Apo-2L과 경쟁한다.
- [0745] 상기한 바와 같이, 본 발명의 DR5 항체는 여러가지 유용성을 갖는다. 예를 들어, DR5 효능제 항체는 포유동물에서의 병리 상태, 예를 들어 암 또는 면역-관련 질환을 치료하는 방법에 사용될 수 있다. 면역-관련 상태로는 류마티스성 관절염, 전신 홍반성 루푸스, 경피증, 특발성 염증성 근장애, 쇼그렌 증후군, 전신 혈관염, 유육종증, 자가면역성 용혈성 빈혈, 갑상선염, 면역-관련 신장 질환, 예를 들어 사구체신염, 탈수초 질환, 예를 들어 다발성 경화증, 자가면역 피부 질환, 예를 들어 건선, 염증성 및 여과 폐 질환, 및 알러지 질환, 예를 들어 천식 등이 있다.
- [0746] 포유동물에서 본원에 기재한 각종 병리 상태의 진단은 당업자가 내릴 수 있다. 예를 들어 포유동물에서 암 또는 면역-관련 질환을 진단 또는 검출할 수 있는 진단 기술은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 암은 촉진(촉診), 혈액 분석, X선 조사, NMR 등을 포함하지만 이에 제한되지 않는 기술을 통해 확인될 수 있다. 면역-관련 질환 역시 쉽게 확인될 수 있다. 예를 들어, 전신 홍반성 루푸스에서 상기 질환의 중추 매개자는 자가 단백질/조직에 대한 자가 반응성 항체의 생성 및 이후 면역-매개 염증의 생성이다. 신장, 폐, 근육격계, 피부점막, 눈, 중추 신경계, 심혈관계, 위장관, 골수 및 혈액을 비롯한 여러 장기 및 시스템이 임상적으로 영향을 받는다. 의료 전문인은 면역 및/또는 염증성 반응의 개입이 유익한 수많은 질환에 대해 잘 알고 있다.
- [0747] 특정 실시양태에서, 세포독성제와 접합된 항체를 포함하는 면역접합체가 환자에게 투여된다. 일부 실시양태에서, 이것이 결합된 면역접합체 및/또는 항원은 세포에 의해 내재화되어, 상기 면역접합체가 결합하는 표적 세포를 사멸시키는데 있어서의 상기 면역접합체의 치료 효능을 증가시킨다. 한 실시양태에서, 세포독성제는 표적 세포 내의 핵산을 표적으로 하거나 그러한 핵산을 방해한다. 이러한 세포독성제의 예로는 본원에 기재한 임의의 화학요법제 (예컨대 메타탄시노이드 또는 칼리케아미신), 방사능 동위원소 또는 리보뉴클레아제 또는 DNA 엔도뉴클레아제 등이 있다.
- [0748] 본 발명의 항체는 요법에서 단독으로 사용될 수도 있고 다른 조성물과 조합되어 사용될 수도 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 또다른 항체, 화학요법제(들) (화학요법제의 각테일 포함), 다른 세포독성제(들), 항-혈관신생 제제(들), 사이토킨 및/또는 성장 억제제(들)과 동시에 투여될 수 있다. 본 발명의 항체가 종양 성장을 억제하는 경우, 역시 종양 성장을 억제하는 1종 이상의 다른 치료제(들)과 병용하는 것이 특히 바람직할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 예를 들어 결합조직암, 전이성 유방암 및 신장암을 비롯하여 본원에 기재한 임의의 질환을 치료하는 치료법에서 항-VEGF 항체 (예를 들어, 아바스틴(AVASTIN)) 및/또는 항-ErbB 항체 (예를 들어 헤르셉틴[®] 항-HER-2 항체)와 병용될 수 있다. 대안으로 또는 추가로, 상기 환자는 조합된 방사능 요법 (예를 들어 외부 빔 조사 또는 방사능 표지된 작용제, 예컨대 항체를 사용한 요법)을 받을 수 있다. 이러한 상기 조합 요법은 조합된 투여 (여기서, 2종 이상의 작용제가 동일 제제 또는 별개의 제제에 포함됨) 및 분리 투여를 포함하며, 이 경우에 본 발명의 항체 투여는 부가적인 요법(제)의 투여 이전 및/또는 이후에 수행될 수 있다.
- [0749] 본 발명의 항체 (및 부가적인 치료제)는 비경구, 피하, 복강내, 폐내 및 비내 및 원한다면 국소 처치, 병소내 투여를 비롯한 임의의 적합한 수단으로 투여된다. 비경구 주입은 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하

투여를 포함한다. 추가로, 항체는 특히 항체의 투여량을 감소시켜 가면서 펄스(pulse) 주입으로 적합하게 투여된다. 투여는 부분적으로는 투여가 금방 끝나는 것인지 또는 만성적으로 이루어지는지의 여부에 따라서 예를 들어 정맥내 또는 피하 주사와 같은 주사를 비롯한 임의의 적합한 경로로 행해질 수 있다.

[0750] 본 발명의 항체 조성물은 양호한 의료 관행에 부합되는 방식으로 제제화되고 계량되어 투여될 것이다. 이와 관련하여 고려할 요인으로서는 치료될 특정 장애, 치료를 받는 특정 포유동물, 개개의 환자의 임상적 상태, 장애의 원인, 작용제의 전달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄, 및 의료 전문인에게 공지된 다른 요인 등이 있다. 항체가 해당 장애의 예방 또는 치료를 위해 현재 사용되는 1종 이상의 작용제와 함께 제제화될 필요는 없지만, 임의로는 그렇게 제제화된다. 이러한 다른 작용제의 유효량은 제제 중에 존재하는 본 발명의 항체의 양, 장애 또는 처치의 유형, 및 상기 논의한 다른 요인 등에 따라 달라진다. 이것들은 일반적으로 본원에서 사용된 것과 동일한 투여량 및 투여 경로로 이용되거나 또는 이전에 사용된 투여량의 약 1% 내지 99% 정도로 이용된다.

[0751] 질환의 예방 또는 치료를 위해서 본 발명의 항체의 적절한 투여량 (단독으로 사용되거나 화학요법제와 같은 다른 작용제와 병용되는 경우)은 치료될 질환의 유형, 항체의 유형, 질환의 중증도 및 기간, 항체가 예방용으로 투여되는지 치료용으로 투여되는지의 여부, 이전의 요법, 환자의 임상적 병력 및 항체에 대한 반응 및 담당 의사의 판단에 따라 달라질 것이다. 항체는 적합하게는 환자에게 1회 또는 일련의 처치에 걸쳐 투여된다. 질환의 유형 및 중증도에 따라, 항체 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 15 mg/kg (예를 들어 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg)이 예를 들어 1회 이상의 분리 투여 또는 연속 주입으로 환자에게 투여되는 초기 후보 투여량이다. 한 전형적인 1일 투여량은 상기 언급한 요인에 따라 약 1 $\mu\text{g/kg}$ 내지 100 mg/kg 이상의 범위일 수 있다. 수일 이상에 걸친 반복 투여의 경우, 상태에 따라 질환 증상의 원하는 저해가 달성될 때까지 처치가 지속된다. 항체 투여량의 일례는 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg의 범위이다. 따라서, 약 0.5 mg/kg, 2.0 mg/kg, 4.0 mg/kg 또는 10 mg/kg (또는 이들의 임의의 조합) 중 하나 이상의 투여량이 환자에게 투여될 수 있다. 이러한 투여량은 간헐적으로, 예를 들어 매주마다 또는 매 3주마다 (예를 들어 환자에게 항체의 약 2회 내지 약 20회, 예를 들어 약 6회 투여가 행해지도록) 투여될 수 있다. 처음에는 더 높은 양으로 투여한 후에 1회 이상 더 낮은 투여량을 투여할 수 있다. 투여법의 일례는 약 4 mg/kg의 초기 투여량으로 투여한 후에 약 2 mg/kg의 항체 투여량을 매주 유지시키는 것을 포함한다. 그러나, 다른 투여법이 유용할 수 있다. 이러한 요법의 진행은 통상적인 기술 및 검정으로 쉽게 모니터링된다.

[0752] 제조 용품

[0753] 본 발명의 또다른 측면에서, 상기한 장애의 치료, 예방 및/또는 진단에 유용한 물질을 함유하는 제조 용품이 제공된다. 상기 제조 용품은 용기, 및 상기 용기상에 있거나 또는 그 안에 들어있는 라벨 또는 패키지 삽입물을 포함한다. 적합한 용기의 예로는 병, 바이알, 시린지 등이 있다. 용기는 유리 또는 플라스틱과 같은 다양한 재료로 제조될 수 있다. 용기는 단독이거나 상기 상태의 치료, 예방 및/또는 진단에 효과적인 또다른 조성물과 조합된 조성물을 보유하며, 멸균된 입구를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백일 수도 있고, 또는 피하용 주사 바늘이 관통할 수 있는 마개가 달린 바이알일 수도 있음). 상기 조성물 중 1종 이상의 활성 작용제는 본 발명의 항체이다. 라벨 또는 패키지 삽입물은 상기 조성물이 선택된 상태, 예컨대 암의 치료에 사용된다는 것을 나타낸다. 추가로, 제조 용품은 (a) 본 발명의 항체를 포함하는 조성물이 들어 있는 제1 용기, 및 (b) 추가의 세포독성제를 포함하는 조성물이 들어 있는 제2 용기를 포함할 수 있다. 본 발명의 이러한 실시양태에서의 제조 용품은 제1 및 제2 항체 조성물이 특정 상태, 예를 들어 암을 치료하는데 사용될 수 있음을 나타내는 패키지 삽입물을 추가로 포함할 수 있다. 대안으로 또는 추가로, 제조 용품은 주사용 정균수 (BWF1), 인산염 완충 염수, 링거(Ringer's) 용액 및 텍스트로스 용액과 같은 제약상 허용가능한 완충제를 포함하는 제2 (또는 제3)의 용기를 추가로 포함할 수 있다. 이것은 다른 완충제, 희석제, 필터, 바늘 및 시린지를 비롯하여 상업적인 입장과 사용자의 입장에서 바람직한 다른 물질을 추가로 포함할 수 있다.

[0754] 본 발명에 대하여 일반적으로 기재하였지만, 본 발명은 하기하는 실시예를 통해 보다 쉽게 이해될 것이며, 이러한 실시예는 예시하기 위한 것이지 제한하려는 것이 아니다.

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys
 Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly
 Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His
 Tyr Thr Thr Pro Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

(서열 1)

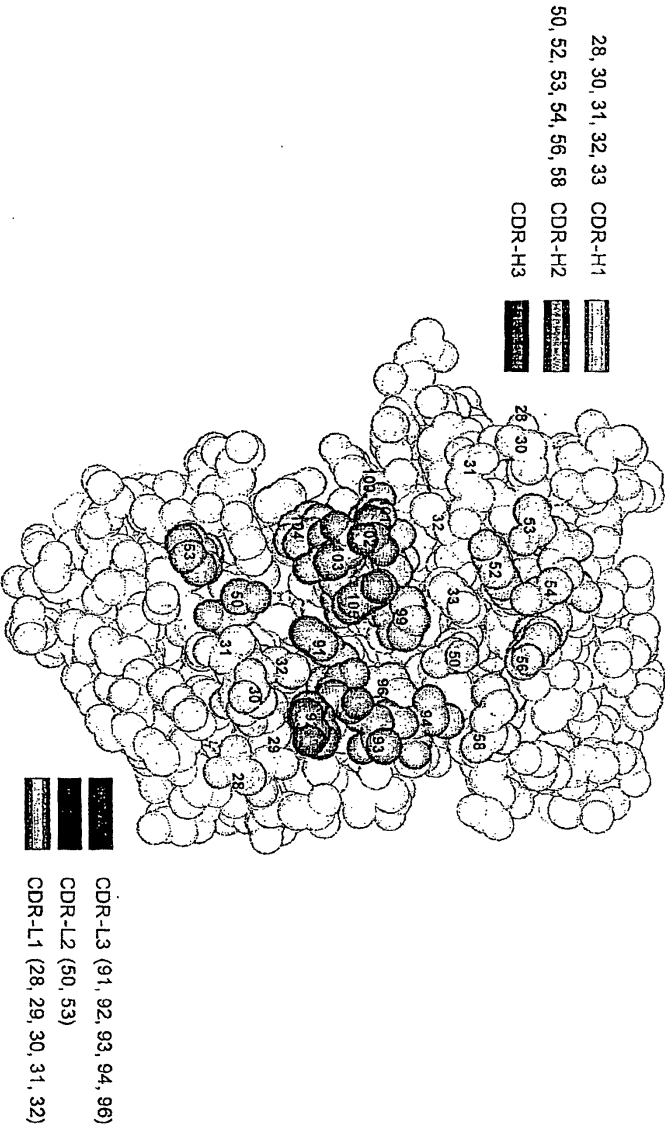
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 Glu Trp Val Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
 Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Ser Leu Arg Ala Glu Asp
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

(서열 2)

도면

도면1

도면2



LC 란도

28	S	N	V	D	G	I	T	L	X		
29	511	262	258	186	178	44	39	16	35		
30	612	272	254	192	147	70	T	D	A	X	
31	849	176	169	86	81	63	29	28	17	45	
32	676	496	170	47	29	28	25	18	53		
	1055	128	97	77	61	40	25	69			
50	G	A	D	W	K	L	E	S	X		
53	386	341	294	151	116	91	39	30	82		
	S	N	T	K	I	R	X				
	345	438	407	41	23	23	58				
91	Y	S	R	A	G	H	X				
92	849	196	169	118	61	41	148	H	I	X	
	Y	G	N	S	D	L	T	43	38	91	
93	362	356	248	193	114	94	64	R	X		
	S	N	Q	T	H	G	D	35	112		
94	738	346	117	101	66	51	47	P	V	I	N
	S	T	W	Y	L	F	A	43	33	24	18
96	386	365	288	172	114	79	46	X			X
	Y	Y	W	F	I	R	P	X			40
	L	205	176	140	117	115	46	121			
	264										

도면4

HC 빈도

[illegible]

huMab4D5-8 경쇄의 프레임워크 서열

LC-FR1 ¹Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
 Thr Ile Thr Cys²³ (서열 6)

LC-FR2 ³⁵Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr⁴⁹ (서열 7)

LC-FR3 ⁵⁷Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Arg Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys⁸⁸ (서열 8)

LC-FR4 ⁹⁸Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys¹⁰⁷ (서열 9)

huMab4D5-8 중쇄의 프레임워크 서열

HC-FR1 ¹Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser²⁵ (서열 10)

HC-FR2 ³⁶Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val⁴⁸ (서열 11)

HC-FR3 ⁶⁶Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn⁸³
 Ser^{83a} Leu^{83b} Arg^{83c} Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys⁹² (서열 12)

HC-FR4 ¹⁰³Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser¹¹³ (서열 13)

위치 66(밀줄)에서 변형된 huMAb4D5-8 경쇄의 프레임워크 서열

LC-FR1 ¹Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
 Thr Ile Thr Cys²³ (서열 14)

LC-FR2 ³⁵Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr⁴⁹ (서열 15)

LC-FR3 ⁵⁷Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys⁸⁸ (서열 16)

LC-FR4 ⁹⁸Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys¹⁰⁷ (서열 17)

위치 71, 73 및 78(밀줄)에서 변형된 huMAb4D5-8 중쇄의 프레임워크 서열

HC-FR1 ¹Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
 Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser²⁵ (서열 18)

HC-FR2 ³⁶Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val⁴⁸ (서열 19)

HC-FR3 ⁶⁶Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn⁸³
 Ser^{83a} Leu^{83b} Arg^{83c} Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys⁹² (서열 20)

HC-FR4 ¹⁰³Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser¹¹³ (서열 21)

CDR	위치	YSGR-A-라이브러리		YSGR-B-라이브러리		YSGR-C-라이브러리		YSGR-D-라이브러리	
		아미노산 유형	아미노산 풀배	아미노산 유형	아미노산 풀배	아미노산 유형	아미노산 풀배	아미노산 유형	아미노산 풀배
L3	91	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	92	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	93	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	94	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
H1	96	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	28	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	30	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	31	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
H2	32	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	33	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	52	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
H3	53	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	54	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	56	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
	58	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50	Y,S	50,50
H3	95								
	96								
	97	Y,S,G	50,25,25	Y,S,R	25,50,25	Y,S,G,R	38,25,25,12	Y,S,G,R,A,D, E,F,H,I,K,L, M,N,P,Q,T,V, W	20,26,26,13,1,1,1, 1,1,1,1,1,1,1,1,1, 1,1,1
	98								
100c	99								
	100								
	100a	G,A	50,50	G,A	50,50	G,A	50,50	G,A	50,50
	100b	I,M,L,F	25,25,25,25	I,M,L,F	25,25,25,25	I,M,L,F	25,25,25,25	I,M,L,F	25,25,25,25

도면9A

YSGR-A, YSGR-B, YSGR-C 및 YSGR-D 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = T/C, R = A/G, 및 N = A/T/G/C). 기호 "XXX"는 각각 50/25/25의 몰비에서 Tyr/Ser/Gly-코딩 코돈을 나타냄

H1

GCA GCT TCT GGC TTC TMT ATT TMT TMT TMT TMT ATA CAC TGG GTG CGT (서열 32)

H2

CTG GAA TGG GTT GCA TMT ATT TMT CCA TMT TMT GGT TMT ACT TMT TAT GCC GAT AGC GTC (서열 33)

L3

ACT TAT TAC TGT CAG CAA TMT TMT TMT TMT CCA TMT ACG TTC GGA CAG GGT ACC (서열 34)

H3-A6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 35)

H3-A7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 36)

H3-A8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 37)

H3-A9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 38)

H3-A10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 39)

H3-A11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 40)

H3-A12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 41)

H3-A13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 42)

H3-A14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 43)

H3-A15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 44)

H3-A16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 45)

H3-A17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 46)

도면9B

YSGR-B 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드.동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y=T/C, R=A/G, 및 N=A/T/G/C). 기호 "XXX"는 각각 25/50/25의 몰비에서 Tyr/Ser/Arg-코딩 코돈을 나타냄.

H3-B6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 47)

H3-B7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 48)

H3-B8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 49)

H3-B9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 50)

H3-B10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 51)

H3-B11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 52)

H3-B12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 53)

H3-B13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 54)

H3-B14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 55)

H3-B15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 56)

H3-B16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 57)

H3-B17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 58)

도면9C

YSGR-C 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y=T/C, R=A/G, 및 N=A/T/G/C). 기호 "XXX"는 각각 38/25/25/12의 몰비에서 Tyr/Ser/Gly/Arg-코딩 코돈을 나타냄

H3-C6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 59)

H3-C7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 60)

H3-C8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 61)

H3-C9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 62)

H3-C10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 63)

H3-C11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 64)

H3-C12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 65)

H3-C13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 66)

H3-C14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 67)

H3-C15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 68)

H3-C16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 69)

H3-C17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 70)

도면9D

YSGR-D 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동위성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y=T/C, R=A/G, 및 N=A/T/G/C). 기호 "XXX"는 각각 20/26/26/13/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1/1의 물비에서 Tyr/Ser/Gly/Arg/Ala/ Asp/Glu/Phe/His/Ile/Lys/Leu/Met/Asn/Pro/Gln/Thr/Val/Trp- 코딩 코돈을 나타냄

H3-D6
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 71)
H3-D7
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 72)
H3-D8
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 73)
H3-D9
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 74)
H3-D10
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 75)
H3-D11
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 76)
H3-D12
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 77)
H3-D13
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 78)
H3-D14
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 79)
H3-D15
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 80)
H3-D16
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 81)
H3-D17
GTC TAT TAT TGT GCT CGC XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX XXX GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 82)

도면10

파지 ELISA에 의해 관찰된 특이적 결합제의 수. (독특한 클론/특이적 결합제).

라이브러리	
YSGR-A-D	
인간 HER-2 결합제	106/240
인간 DR5 결합제	18/144

도면11A

HER2 결합 클론

CDR1		CDR1		CDR2		CDR3	
Gene	NO	Gene	NO	Gene	NO	Gene	NO
1	89	2	90	3	91	4	92
5	93	6	94	7	95	8	96
9	97	10	98	11	99	12	100
13	101	14	102	15	103	16	104
17	105	18	106	19	107	20	108
21	109	22	110	23	111	24	112
25	113	26	114	27	115	28	116
29	117	30	118	31	119	32	120
33	121	34	122	35	123	36	124
37	125	38	126	39	127	40	128
41	129	42	130	43	131	44	132
45	133	46	134	47	135	48	136
49	137	50	138	51	139	52	140
53	141	54	142	55	143	56	144
57	145	58	146	59	147	60	148
61	149	62	150	63	151	64	152
65	153	66	154	67	155	68	156
69	157	70	158	71	159	72	160
73	161	74	162	75	163	76	164
77	165	78	166	79	167	80	168
81	169	82	170	83	171	84	172
85	173	86	174	87	175	88	176
89	177	90	178	91	179	92	180
93	181	94	182	95	183	96	184
97	185	98	186	99	187	100	188
101	189	102	190	103	191	104	192
105	193	106	194	107	195	108	196
109	197	110	198	111	199	112	200
113	201	114	202	115	203	116	204
117	205	118	206	119	207	120	208
121	209	122	210	123	211	124	212
125	213	126	214	127	215	128	216
129	217	130	218	131	219	132	220
133	221	134	222	135	223	136	224
137	225	138	226	139	227	140	228
141	229	142	230	143	231	144	232
145	233	146	234	147	235	148	236
149	237	150	238	151	239	152	240
153	241	154	242	155	243	156	244
157	245	158	246	159	247	160	248
161	249	162	250	163	251	164	252
165	253	166	254	167	255	168	256
169	257	170	258	171	259	172	260
173	261	174	262	175	263	176	264
177	265	178	266	179	267	180	268
181	269	182	270	183	271	184	272
185	273	186	274	187	275	188	276
189	277	190	278	191	279	192	280
193	281	194	282	195	283	196	284
197	285	198	286	199	287	200	288
201	289	202	290	203	291	204	292
205	293	206	294	207	295	208	296
209	297	210	298	211	299	212	300
213	301	214	302	215	303	216	304
217	305	218	306	219	307	220	308
221	309	222	310	223	311	224	312
225	313	226	314	227	315	228	316
229	317	230	318	231	319	232	320
233	321	234	322	235	323	236	324
237	325	238	326	239	327	240	328
241	329	242	330	243	331	244	332
245	333	246	334	247	335	248	336
249	337	250	338	251	339	252	340
253	341	254	342	255	343	256	344
257	345	258	346	259	347	260	348
261	349	262	350	263	351	264	352
265	353	266	354	267	355	268	356
269	357	270	358	271	359	272	360
273	361	274	362	275	363	276	364
277	365	278	366	279	367	280	368
281	369	282	370	283	371	284	372
285	373	286	374	287	375	288	376
289	377	290	378	291	379	292	380
293	381	294	382	295	383	296	384
297	385	298	386	299	387	300	388
301	389	302	390	303	391	304	392
305	393	306	394	307	395	308	396
309	397	310	398	311	399	312	400
313	401	314	402	315	403	316	404
317	405	318	406	319	407	320	408
321	409	322	410	323	411	324	412
325	413	326	414	327	415	328	416
329	417	330	418	331	419	332	420
333	421	334	422	335	423	336	424
337	425	338	426	339	427	340	428
341	429	342	430	343	431	344	432
345	433	346	434	347	435	348	436
349	437	350	438	351	439	352	440
353	441	354	442	355	443	356	444
357	445	358	446	359	447	360	448
361	449	362	450	363	451	364	452
365	453	366	454	367	455	368	456
369	457	370	458	371	459	372	460
373	461	374	462	375	463	376	464
377	465	378	466	379	467	380	468
381	469	382	470	383	471	384	472
385	473	386	474	387	475	388	476
389	477	390	478	391	479	392	480
393	481	394	482	395	483	396	484
397	485	398	486	399	487	400	488
401	489	402	490	403	491	404	492
405	493	406	494	407	495	408	496
409	497	410	498	411	499	412	500
413	501	414	502	415	503	416	504
417	505	418	506	419	507	420	508
421	509	422	510	423	511	424	512
425	513	426	514	427	515	428	516
429	517	430	518	431	519	432	520
433	521	434	522	435	523	436	524
437	525	438	526	439	527	440	528
441	529	442	530	443	531	444	532
445	533	446	534	447	535	448	536
449	537	450	538	451	539	452	540
453	541	454	542	455	543	456	544
457	545	458	546	459	547	460	548
461	549	462	550	463	551	464	552
465	553	466	554	467	555	468	556
469	557	470	558	471	559	472	560
473	561	474	562	475	563	476	564
477	565	478	566	479	567	480	568
481	569	482	570	483	571	484	572
485	573	486	574	487	575	488	576
489	577	490	578	491	579	492	580
493	581	494	582	495	583	496	584
497	585	498	586	499	587	500	588
501	589	502	590	503	591	504	592
505	593	506	594	507	595	508	596
509	597	510	598	511	599	512	600

도면11B

<100nm 전하도도 결합

0.25 내지 2

12 내지 10

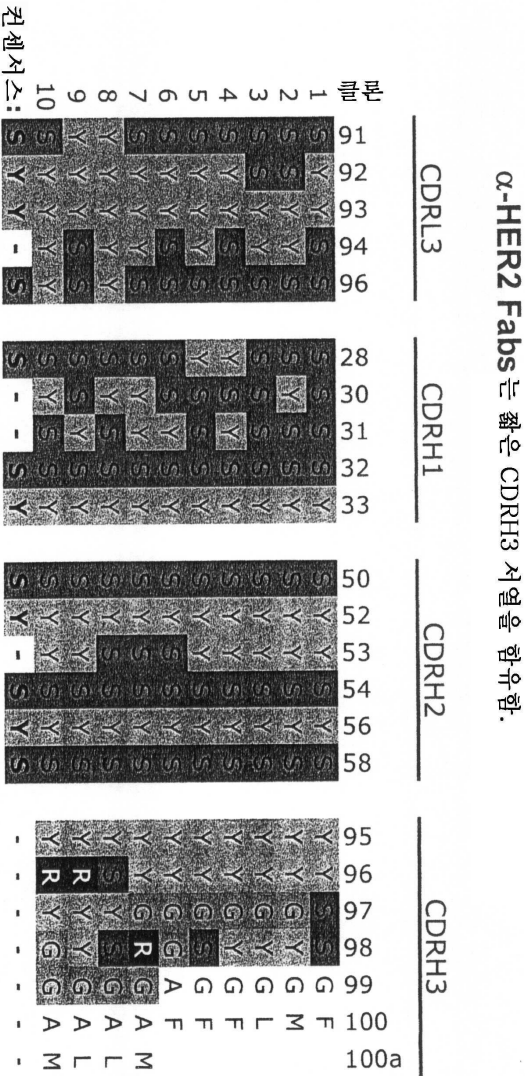
스펙트럼도 ELISA

특이성 ELISA

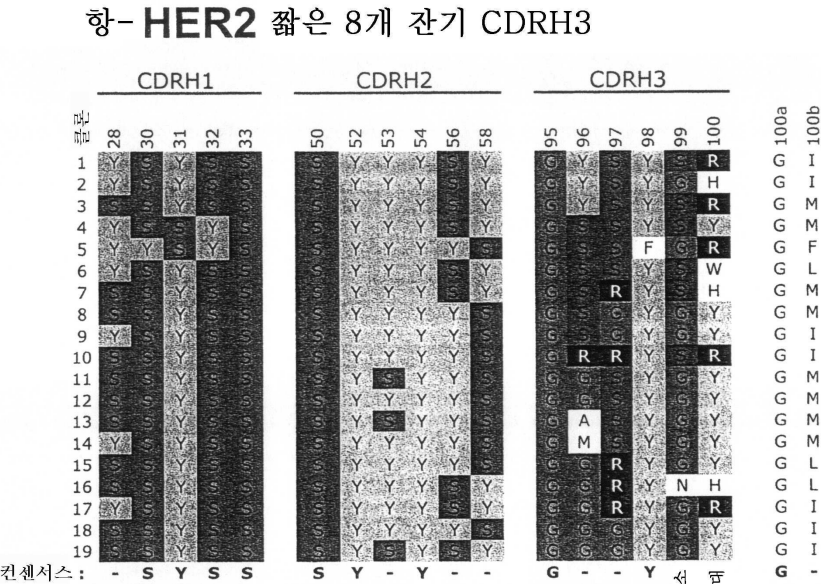
Tab-파라미터
결합 친화도

w/100 nm HER2	w/100 nm HER2	비	인간 VEGF	인간 HER2	인간 DMS	인간 뉴로비린	인간 성장 호르몬	인간 IGF-1	소형 단백질	소형 단백질	LC50 오차 +/- (nm)
0.20	1.80	0.94	0.10	4.40	-0.07	-0.05	0.07	0.04	0.07	-0.02	
0.18	1.49	0.67	0.15	3.74	0.01	0.04	0.13	0.12	0.19	-0.02	6.34 1.03
0.17	1.81	0.67	0.15	3.88	0.01	0.01	0.11	0.09	0.11	0.01	
0.28	2.35	0.98	0.24	5.76	0.02	0.10	0.21	0.23	0.39	0.03	
0.23	2.58	1.08	0.14	4.23	-0.04	0.01	0.08	0.08	0.17	-0.04	1.58 0.07
0.27	2.30	0.94	0.15	3.94	0.01	0.04	0.11	0.10	0.17	0.01	
0.38	2.54	1.01	0.25	3.35	0.05	0.23	0.19	0.30	0.40	0.04	
0.49	3.16	1.08	0.21	3.56	0.02	0.09	0.16	0.14	0.23	0.01	2.38 0.13
0.49	2.88	0.81	0.10	4.10	0.01	0.04	0.27	0.27	0.40	0.05	
0.39	3.12	1.08	0.27	4.57	0.03	0.12	0.20	0.28	0.36	0.00	
N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	
N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	
2.55	2.60	0.98	0.19	4.40	0.01	0.15	0.15	0.29	0.34	0.04	
2.07	2.00	1.03	0.28	3.64	0.25	0.14	0.14	0.14	0.14	0.04	
1.47	0.87	0.94	0.29	3.94	0.10	0.12	0.10	0.14	0.27	0.33	
2.03	2.47	0.83	0.12	4.20	0.02	0.00	0.07	0.11	0.19	-0.01	
2.94	3.84	0.77	0.38	3.76	0.16	0.01	0.09	0.10	0.18	0.07	
2.82	2.94	0.88	0.38	3.76	0.06	0.24	0.17	0.47	0.52	0.05	
2.89	2.95	0.95	0.18	4.16	-0.01	0.04	0.10	0.14	0.23	0.21	
2.03	1.80	0.80	0.32	3.73	0.05	0.12	0.14	0.14	0.25	0.41	
2.79	3.17	0.88	0.22	3.76	0.03	0.11	0.15	0.39	0.40	0.08	
3.76	3.30	1.02	0.30	3.62	0.40	0.33	0.27	0.77	0.88	1.18	
2.33	0.93	0.18	0.76	-0.01	0.06	0.01	0.06	0.06	0.24	0.30	0.01
3.33	3.65	0.91	0.19	4.19	0.02	0.14	0.15	0.38	0.37	0.04	
3.03	3.23	0.94	0.23	4.20	0.05	0.32	0.20	0.43	0.46	0.02	
3.43	3.18	0.93	0.25	3.60	0.01	0.06	0.01	0.12	0.18	0.17	0.01
3.26	3.58	0.91	0.17	3.71	-0.03	0.02	0.11	0.21	0.23	-0.01	
1.95	0.09	0.94	0.17	3.91	0.02	-0.02	0.10	0.09	0.18	-0.01	
N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	
N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	
1.73	2.20	0.80	0.24	3.86	0.01	0.16	0.20	0.34	0.48	0.01	
0.24	0.24	0.21	0.17	3.76	0.01	0.08	0.06	0.11	0.11	0.01	3.12 0.37
0.10	0.23	-0.07	0.20	4.28	-0.02	0.03	0.16	0.11	0.17	-0.01	
0.30	0.39	-0.16	0.20	3.72	0.00	0.04	0.14	0.20	0.23	-0.01	1.61 0.33
0.34	0.34	0.27	0.23	4.13	0.00	0.05	0.15	0.15	0.15	0.00	
0.27	0.31	-0.15	0.18	3.80	-0.03	0.03	0.14	0.15	0.19	0.00	
0.66	2.93	-0.23	0.18	3.76	-0.01	0.02	0.10	0.12	0.20	0.01	2.44 0.24
0.71	2.63	0.25	0.20	3.86	-0.00	0.03	0.13	0.13	0.00	0.00	
0.44	2.89	0.18	0.14	3.82	-0.04	0.01	0.09	0.11	0.18	-0.03	2.34 0.20
0.22	0.73	-0.15	0.20	4.00	0.01	0.02	0.10	0.10	0.10	0.00	
0.27	2.63	0.13	0.20	3.76	-0.04	0.52	0.09	0.10	0.14	-0.03	
0.11	1.29	0.08	0.16	4.35	-0.02	0.01	0.12	0.14	0.18	0.03	0.32 0.01
0.21	0.61	0.00	0.18	3.76	-0.01	0.02	0.12	0.12	0.18	0.01	
0.18	0.19	-0.13	0.11	3.76	0.16	0.00	0.09	0.09	0.18	-0.01	2.41 0.22
0.27	2.60	-0.13	0.19	3.76	-0.02	-0.01	0.11	0.12	0.17	-0.02	2.78 0.26
0.30	0.18	-0.18	0.21	4.21	0.01	0.01	0.11	0.11	0.11	0.00	3.46 0.40
0.32	0.46	0.16	0.32	4.30	0.01	0.02	0.11	0.12	0.19	-0.01	
0.34	0.50	0.21	0.14	3.74	-0.03	0.02	0.10	0.10	0.15	-0.01	4.97 0.37
0.30	0.92	0.18	0.16	3.76	-0.01	0.01	0.11	0.11	0.11	0.00	1.62 0.28
0.37	2.93	0.15	0.17	3.76	0.40	0.65	0.12	0.12	0.21	0.21	
0.62	2.78	0.25	0.12	4.45	-0.05	-0.02	0.10	0.12	0.15	0.00	3.70 0.28
0.58	0.28	0.25	0.15	3.76	-0.01	0.01	0.11	0.11	0.11	0.00	
0.35	2.40	0.18	0.16	3.76	-0.04	0.01	0.13	0.10	0.16	-0.01	3.42 0.15
0.15	0.21	-0.10	0.29	4.04	-0.02	0.03	0.15	0.14	0.17	0.01	
0.32	2.78	0.27	0.16	3.84	-0.04	0.02	0.12	0.12	0.13	0.00	
0.38	2.51	0.18	0.42	4.04	-0.02	0.03	0.15	0.11	0.20	-0.01	
0.34	2.98	0.14	0.15	3.71	-0.05	0.02	0.11	0.08	0.21	-0.01	
0.35	0.15	0.15	0.15	3.76	-0.01	0.05	0.11	0.11	0.11	0.00	1.39 0.09
0.25	0.46	-0.12	0.14	3.92	-0.05	0.05	0.14	0.07	0.14	-0.03	1.69 0.13
0.34	2.56	0.16	0.10	4.39	-0.00	0.01	0.11	0.11	0.11	0.00	
0.24	0.12	-0.11	0.11	3.76	-0.03	0.19	0.11	0.12	0.15	0.00	
0.64	0.96	-0.24	0.17	4.17	0.00	0.07	0.17	0.23	0.38	0.04	
0.65	0.65	0.18	0.18	3.76	-0.01	0.01	0.10	0.10	0.10	0.00	
0.53	0.10	-0.28	0.12	4.10	-0.02	0.01	0.10	0.09	0.17	-0.01	
0.64	2.65	-0.27	0.17	3.89	-0.04	0.01	0.11	0.10	0.19	-0.01	
0.31	0.43	-0.07	0.10	4.04	-0.04	0.04	0.11	0.11	0.11	0.00	
0.39	0.33	-0.22	0.13	3.76	-0.03	0.01	0.11	0.11	0.17	-0.01	3.15 0.16
0.98	2.28	0.88	0.36	4.34	-0.01	0.03	0.12	0.15	0.26	0.00	
0.63	0.67	0.15	0.15	3.76	-0.01	0.01	0.10	0.10	0.11	0.00	
0.08	1.21	-0.12	0.58	3.76	0.32	1.39	0.45	1.13	0.30	0.17	
0.34	2.67	0.15	0.16	3.48	-0.02	0.03	0.12	0.18	0.24	0.00	2.25 0.18
0.41	2.91	0.37	0.18	3.76	0.01	0.08	0.08	0.08	0.08	0.00	
0.78	2.87	0.30	0.15	3.76	0.06	0.08	0.12	0.15	0.26	0.00	
0.61	2.88	0.24	0.13	3.76	-0.02	0.02	0.10	0.11	0.21	-0.03	
0.20	0.20	0.19	0.21	3.18	0.90	0.90	0.78	1.57	0.79	0.00	
0.36	2.38	0.18	0.55	3.45	0.31	0.86	0.41	1.19	0.84	0.12	
0.21	2.04	-0.14	0.45	3.76	-0.01	0.04	0.14	0.15	0.28	0.03	
0.22	0.22	0.22	0.21	3.68	0.01	0.01	0.11	0.11	0.11	0.00	
0.23	2.79	-0.11	0.18	4.35	0.00	0.03	0.15	0.11	0.24	0.00	0.38 0.05
1.57	1.98	0.80	0.20	3.00	0.00	0.06	0.17	0.15	0.29	0.01	
0.21	0.21	0.21	0.19	3.76	-0.07	0.06	0.12	0.10	0.10	0.00	
3.14	3.57	0.88	0.27	3.67	0.05	0.27	0.19	0.25	0.38	0.05	
0.13	0.13	0.13	0.13	3.76	-0.01	0.01	0.10	0.10	0.10	0.00	
0.11	0.15	-0.10	0.35	4.06	0.44	0.10	0.17	0.22	0.33	0.23	
0.29	2.66	0.04	0.12	3.76	-0.05	0.34	0.12	0.16	0.23	0.00	
0.28	0.91	0.18	0.15	3.76	-0.01	0.01	0.10	0.10	0.10	0.00	0.41 0.02
3.48	3.38	1.03	0.18	3.76	0.07	0.15	0.16	0.27	0.35	0.02	
0.77	3.33	-0.25	0.20	3.76	0.04	0.10	0.18	0.22	0.21	0.04	
0.38	0.38	0.38	0.20	3.76	0.04	0.10	0.18	0.22	0.21	0.04	
0.08	2.47	-0.07	0.47	3.76	0.08	0.07	0.14	0.17	0.35	0.02	
0.27	1.89	0.18	0.18	4.04	0.10	0.11	0.09	0.13	0.30	0.03	
0.09	0.52	0.07	0.17	3.76	0.01	0.01	0.11	0.11	0.11	0.00	
0.20	0.13	-0.13	0.12	3.99	0.08	0.01	0.09	0.11	0.17	0.00	3.54 0.22
N/D	N/D	N/D	3.52	3.37	5.79	3.42	3.91	3.34	3.57	3.34	
0.37	0.35	0.37	0.37	3.76	-0.02	0.12	0.12	0.12	0.12	0.00	2.54 0.21
0.24	0.24	-0.11	0.08	3.92	-0.08	0.14	0.07	0.07	0.19	0.02	1.25 0.24
1.55	1.85	0.05	0.30	4.04	-0.05	0.51	0.16	0.40	0.65	0.05	
2.23	2.65	0.89	0.19	4.30	-0.08	0.21	0.18	0.19	0.32	0.07	
2.24	2.76	0.81	0.16	4.06	-0.06	0.20	0.17	0.20	0.26	0.00	
2.30	2.67	0.86	0.14	4.12	-0.15	0.07	0.03	0.07	0.10	0.01	
1.62	1.91	0.85	0.18	3.24	0.10	0.21	0.12	0.18	0.29	0.05	
2.01	2.01	0.85	0.20	3.76	0.00	0.12	0.12	0.12	0.12	0.00	
2.01	3.02	0.67	0.08	3.92	-0.14	0.06	0.04	0.04	0.10	0.00	
1.61	1.70	0.95	0.13	3.92	-0.13	0.10	0.05	0.08	0.13	0.03	
1.61	1.70	0.95	0.13	3.92	-0.13	0.10	0.05	0.08	0.13	0.03	

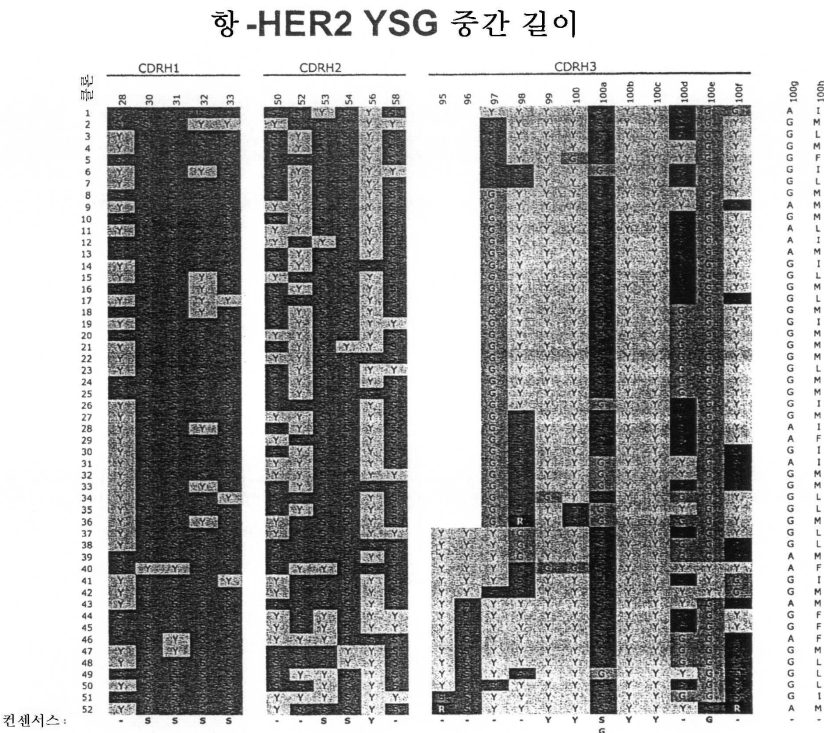
도면12



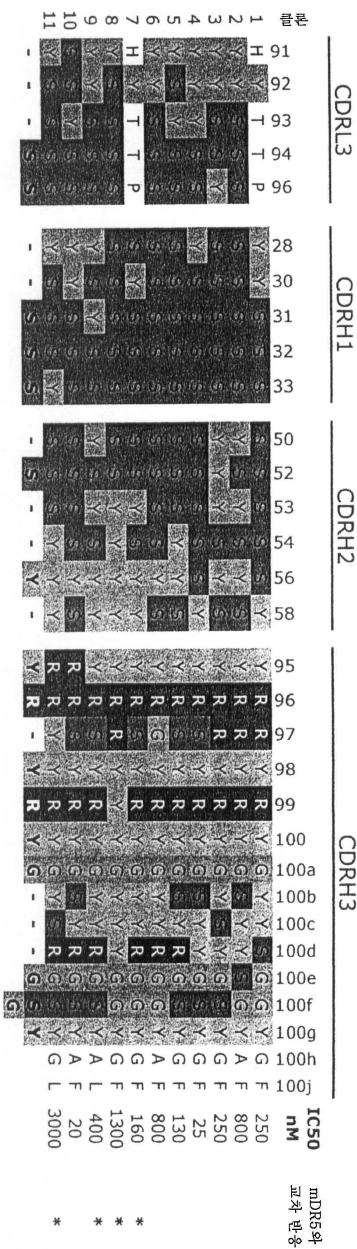
도면13



도면14

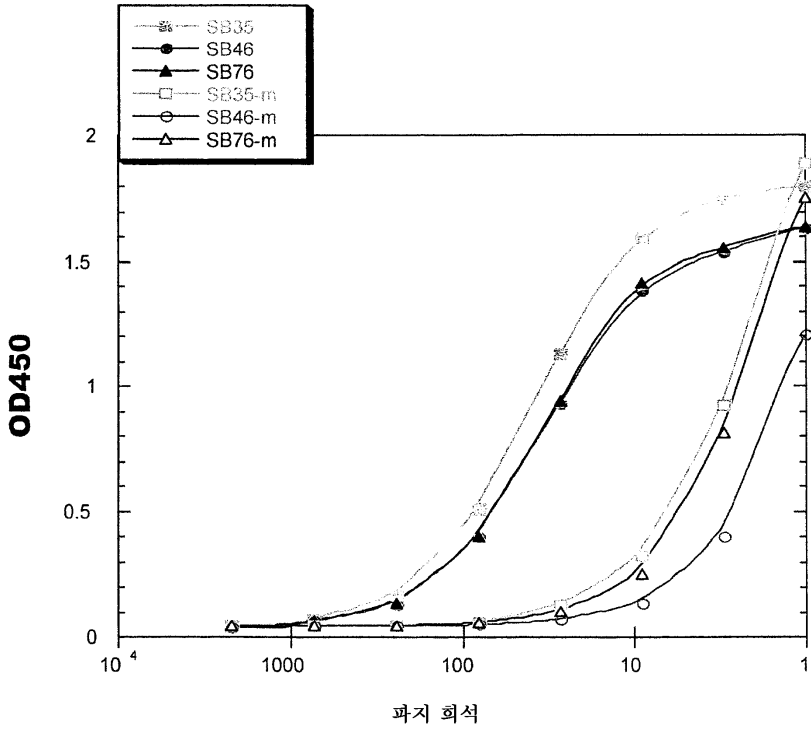


도면16

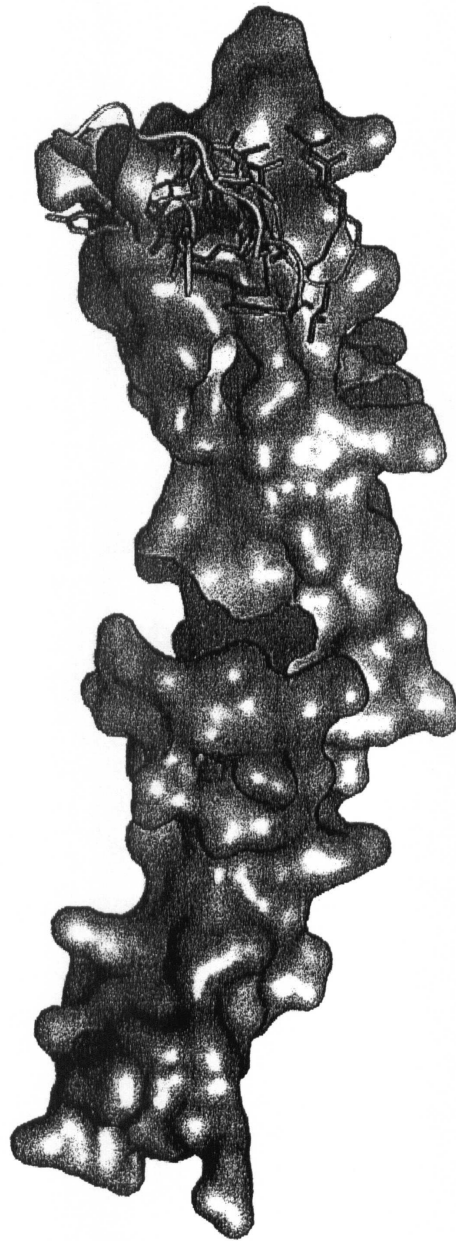


도면17

인간 및 뮤린 DR5에 대한 DR5 결합



도면18



도면19A

2원 H3 라이브러리													
CDR	위치	SAH3		SCH3		SFH3		SGH3		SIH3		SLH3	
		아미노산 유형	아미노산 물비	아미노산 유형	아미노산 물비	아미노산 유형	아미노산 물비	아미노산 유형	아미노산 물비	아미노산 유형	아미노산 물비	아미노산 유형	아미노산 물비
L3	91	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	92	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	93	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	94	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	96	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
H1	28	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	30	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	31	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	32	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	33	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
H2	50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	52	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	53	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	54	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	56	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
H3	58	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	95												
	96												
	97	S,A	50, 50	S,C	50, 50	S,F	50, 50	S,G	50, 50	S,I	50, 50	S,L	50, 50
	98												
	99												
	100												
100x		G, A	50, 50	G, A	50, 50	G, A	50, 50	G, A	50, 50	G, A	50, 50	G, A	50, 50
100x		I, M, L, F	25, 25, 25, 25	I, M, L, F	25, 25, 25, 25	I, M, L, F	25, 25, 25, 25	I, M, L, F	25, 25, 25, 25	I, M, L, F	25, 25, 25, 25	I, M, L, F	25, 25, 25, 25

2월 H3 라이브러리													
CDR	위치	SNH3		SPH3		SRH3		STH3		SWH3		SYH3	
		아이노산 유형	아이노산 분비	아이노산 유형	아이노산 분비	아이노산 유형	아이노산 분비	아이노산 유형	아이노산 분비	아이노산 유형	아이노산 분비	아이노산 유형	아이노산 분비
L3	91	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	92	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	93	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	94	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	96	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
H1	28	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	30	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	31	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	32	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	33	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
H2	50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	52	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	53	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	54	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	56	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
H3	58	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50	S,Y	50, 50
	95												
	96												
	97	S,N	50, 50	S,P	50, 50	S,R	50, 50	S,T	50, 50	S,W	50, 50	S,Y	50, 50
	98												
100x	99												
	100	G,A	50, 50	G,A	50, 50	G,A	50, 50	G,A	50, 50	G,A	50, 50	G,A	50, 50
	100x	I,M,L,F	25, 25, 25, 25	I,M,L,F	25, 25, 25, 25	I,M,L,F	25, 25, 25, 25	I,M,L,F	25, 25, 25, 25	I,M,L,F	25, 25, 25, 25	I,M,L,F	25, 25, 25, 25

도면20A

SAH3, SCH3, SFH3, SGH3, SIH3, SLH3, SNH3, SPH3, SRH3, STH3, SWH3 및 SYH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H1
GCA GCT TCT GGC TTC TMT ATT TMT TMT TMT TMT ATA CAC TGG GTG CGT (서열 618)

H2
CTG GAA TGG GTT GCA TMT ATT TMT CCA TMT TMT GGT TMT ACT TMT TAT GCC GAT AGC
GTC (서열 619)

L3
ACT TAT TAC TGT CAG CAA TMT TMT TMT TMT CCA TMT ACG TTC GGA CAG GGT ACC (서열 620)

H3-SA4
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 621)

H3-SA5
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 622)

H3-SA6
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 623)

H3-SA7
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 624)

H3-SA8
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 625)

H3-SA9
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 626)

H3-SA10
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT GST WTK GAC TAC
TGG GGT CAA GGA (서열 627)

H3-SA11
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 628)

H3-SA12
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 629)

H3-SA13
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 630)

H3-SA14
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT
GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 631)

H3-SA15
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT
KCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 632)

H3-SA16
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT
KCT KCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 633)

H3-SA17
GTC TAT TAT TGT GCT CGC KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT KCT
KCT KCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 634)

도면20B

SCH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SC4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 635)

H3-SC5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 636)

H3-SC6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 637)

H3-SC7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 638)

H3-SC8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 639)

H3-SC9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 640)

H3-SC10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 641)

H3-SC11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 642)

H3-SC12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 643)

H3-SC13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 644)

H3-SC14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 645)

H3-SC15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 646)

H3-SC16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 647)

H3-SC17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC TSC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 648)

도면20C

SFH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SF4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 649)

H3-SF5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 650)

H3-SF6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 651)

H3-SF7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 652)

H3-SF8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 653)

H3-SF9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 654)

H3-SF10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 655)

H3-SF11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 656)

H3-SF12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 657)

H3-SF13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 658)

H3-SF14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 659)

H3-SF15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 660)

H3-SF16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 661)

H3-SF17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC TYC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 662)

도면20D

SGH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SG4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 663)

H3-SG5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 664)

H3-SG6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 665)

H3-SG7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 666)

H3-SG8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 667)

H3-SG9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC GST WTK GAC TAC
TGG GGT CAA GGA (서열 668)

H3-SG10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 669)

H3-SG11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 670)

H3-SG12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 671)

H3-SG13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC
GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 672)

H3-SG14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC
RGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 673)

H3-SG15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC
RGC RGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 674)

H3-SG16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC
RGC RGC RGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 675)

H3-SG17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC RGC
RGC RGC RGC RGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 676)

도면20E

SIH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동위성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SI4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 677)

H3-SI5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 678)

H3-SI6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 679)

H3-SI7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 680)

H3-SI8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 681)

H3-SI9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC GST WTK GAC TAC
TGG GGT CAA GGA (서열 682)

H3-SI10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 683)

H3-SI11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 684)

H3-SI12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 685)

H3-SI13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC
GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 686)

H3-SI14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC
AKC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 687)

H3-SI15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC
AKC AKC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 688)

H3-SI16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC
AKC AKC AKC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 689)

H3-SI17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC AKC
AKC AKC AKC AKC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 690)

도면20F

SLH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SL4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (SEQ (서열 691))

H3-SL5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 692)

H3-SL6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 693)

H3-SL7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 694)

H3-SL8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 695)

H3-SL9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 696)

H3-SL10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 697)

H3-SL11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 698)

H3-SL12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 699)

H3-SL13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 700)

H3-SL14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 701)

H3-SL15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 702)

H3-SL16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 703)

H3-SL17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA TYA GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 704)

도면20G

SNH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SN4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 705)

H3-SN5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 706)

H3-SN6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 707)

H3-SN7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 708)

H3-SN8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 709)

H3-SN9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC GST WTK GAC TAC
TGG GGT CAA GGA (서열 710)

H3-SN10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 711)

H3-SN11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 712)

H3-SN12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 713)

H3-SN13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC
GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 714)

H3-SN14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC
ARC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 715)

H3-SN15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC
ARC ARC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 716)

H3-SN16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC
ARC ARC ARC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 717)

H3-SN17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC ARC
ARC ARC ARC ARC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 718)

도면20H

SPH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SP4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (SEQ ID
(서열 719)

H3-SP5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 720)

H3-SP6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 721)

H3-SP7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 722)

H3-SP8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 723)

H3-SP9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 724)

H3-SP10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT GST WTK GAC TAC
TGG GGT CAA GGA (서열 725)

H3-SP11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 726)

H3-SP12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 727)

H3-SP13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 728)

H3-SP14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT
GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 729)

H3-SP15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT
YCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 730)

H3-SP16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT
YCT YCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 731)

H3-SP17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT YCT
YCT YCT YCT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 732)

도면20I

SRH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SR4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 733)

H3-SR5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 734)

H3-SR6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 735)

H3-SR7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 736)

H3-SR8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 737)

H3-SR9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 738)

H3-SR10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 739)

H3-SR11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 740)

H3-SR12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC
GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 741)

H3-SR13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC
MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 742)

H3-SR14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC
MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 743)

H3-SR15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC
MGC MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 744)

H3-SR16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC
MGC MGC MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 745)

H3-SR17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC MGC
MGC MGC MGC MGC MGC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 746)

도면20J

STH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-ST4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 747)

H3-ST5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 748)

H3-ST6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA.
(서열 749)

H3-ST7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 750)

H3-ST8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 751)

H3-ST9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 752)

H3-ST10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST WTK GAC TAC
TGG GGT CAA GGA (서열 753)

H3-ST11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 754)

H3-ST12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 755)

H3-ST13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 756)

H3-ST14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 757)

H3-ST15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST
ASC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 758)

H3-ST16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST
ASC ASC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 759)

H3-ST17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC ASC ASC ASC ASC ASC ASC ASC GST
ASC ASC ASC GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 760)

도면20K

SWH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드로 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SW4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 761)

H3-SW5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 762)

H3-SW6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 763)

H3-SW7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 764)

H3-SW8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 765)

H3-SW9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 766)

H3-SW10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG GST WTK GAC TAC
TGG GGT CAA GGA (서열 767)

H3-SW11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 768)

H3-SW12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 769)

H3-SW13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 770)

H3-SW14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG
GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 771)

H3-SW15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG
TSG GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 772)

H3-SW16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG
TSG TSG GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 773)

H3-SW17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG TSG
TSG TSG TSG GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 774)

도면20L

SYH3 라이브러리의 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드. 동물의 DNA 동의성은 IUB 코드 나타냄 (W = A/T, K = G/T, M = A/C, S = G/C, Y = C/T, R = A/G).

H3-SY4

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 775)

H3-SY5

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA
(서열 776)

H3-SY6

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA
GGA (서열 777)

H3-SY7

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT GST WTK GAC TAC TGG GGT
CAA GGA (서열 778)

H3-SY8

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT GST WTK GAC TAC TGG
GGT CAA GGA (서열 779)

H3-SY9

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT GST WTK GAC TAC
TGG GGT CAA GGA (서열 780)

H3-SY10

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT GST WTK GAC
TAC TGG GGT CAA GGA (서열 781)

H3-SY11

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT GST WTK
GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 782)

H3-SY12

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT GST
WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 783)

H3-SY13

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT
GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 784)

H3-SY14

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT
TMT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 785)

H3-SY15

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT
TMT TMT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 786)

H3-SY16

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT
TMT TMT TMT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 787)

H3-SY17

GTC TAT TAT TGT GCT CGC TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT TMT
TMT TMT TMT TMT GST WTK GAC TAC TGG GGT CAA GGA (서열 788)

도면21A

HER2-결합 클론 SXH3

[illegible]

도면21B

450nm에서의 ELISA 신호								Fab-파지 IC50 (nM)	
번호	인간 VEGF	인간 HER2	인간 DR5	인간 인슐린	뉴트라비딘	인간 IGF-1	소 혈청 알부민	IC50 (nM)	오차 +/-
B1	0.03	4.10	0.01	0.08	0.01	0.02	0.00	6.28	0.38
B2	0.01	5.92	0.00	0.05	0.01	0.02	-0.01	4.40	0.42
B3	0.01	4.67	-0.01	0.05	0.00	0.02	-0.01	5.77	0.47
B4	0.05	5.92	0.01	0.08	0.00	0.01	-0.02	14.64	1.04
B5	0.00	3.96	0.00	0.08	-0.01	0.00	-0.02	9.26	0.80
B6	0.05	5.92	0.00	0.06	0.02	0.02	-0.02	0.82	0.09
B7	0.05	4.32	0.00	0.05	0.05	0.01	-0.03	2.54	0.48
B8	0.10	4.46	0.01	0.07	0.04	0.07	-0.03	2.10	0.30
B9	0.04	4.15	0.00	0.02	0.04	0.02	-0.02	0.72	0.10
B10	0.03	3.91	0.00	0.04	0.02	0.03	-0.02	3.76	0.50
B11	0.07	5.92	-0.02	0.12	0.08	0.05	-0.02	0.85	0.03
B12	0.09	4.26	0.00	0.06	0.09	0.10	0.00	6.66	0.42
B13	0.01	3.92	0.01	0.12	0.03	0.04	-0.01	1.10	0.07
B14	0.13	4.74	0.02	0.09	0.07	0.03	0.01	1.36	0.32
B15	0.03	3.87	0.01	0.05	0.02	0.02	0.01	1.75	0.24
B16	0.03	5.92	0.01	0.06	0.02	0.01	0.01	1.77	0.10
B17	0.03	5.92	0.01	0.04	0.04	0.02	0.01	5.76	0.32
B18	0.01	3.83	0.01	0.04	0.02	0.03	0.01	0.93	0.37
B20	0.04	5.92	0.06	0.03	0.01	0.05	-0.03	1.56	0.39
B21	0.01	5.92	0.01	0.08	0.02	0.03	0.00	1.64	0.04
B22	0.00	5.92	0.03	0.02	0.03	0.02	0.03	2.72	0.29
B23	0.03	5.92	0.06	0.03	0.03	0.01	-0.01	1.46	0.07
B24	0.03	4.42	0.04	0.01	0.00	-0.02	-0.02	2.03	0.21
B25	0.04	5.92	0.03	0.08	0.03	-0.01	0.02	70.40	6.80
B26	0.01	5.92	0.02	0.04	0.02	-0.01	0.00	>100	N/D
B27	0.03	4.67	0.00	0.06	0.01	-0.02	0.01	71.70	6.50
B28	0.00	4.10	-0.01	0.07	0.03	-0.01	0.01	N/D	N/D

2원 표면 라이브리

CDR	위치	SY		SW		SR		SF	
		아미노산 유형	아미노산 분비	아미노산 유형	아미노산 분비	아미노산 유형	아미노산 분비	아미노산 유형	아미노산 분비
L3	91	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	92	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	93	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	94	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
H1	96	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	28	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	30	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	31	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
H2	32	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	33	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	50	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	52	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
H3	53	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	54	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	56	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	58	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
H3	95	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	96	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	97	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	98	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
H3	99	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	100	S,Y	50, 50	S,W	50, 50	S,R	50, 50	S,F	50, 50
	100x	G,A	50, 50	G,A	50, 50	G,A	50, 50	G,A	50, 50
	100x	I, M, L, F	25, 25, 25, 25	I, M, L, F	25, 25, 25, 25	I, M, L, F	25, 25, 25, 25	I, M, L, F	25, 25, 25, 25

도면23

SF, SR, SW 라이브러리 구축에 사용되는 돌연변이유발 올리고뉴클레오타이드
 등물의 DNA 동의성은 IUB 코드 (M = A/C, S = G/C, Y = C/T)로 나타냄.

H1-SF

GCA GCT TCT GGC TTC TYC ATT TYC TYC TYC TYC ATA CAC TGG GTG CGT (서열
 1005)

H2-SF

CTG GAA TGG GTT GCA TYC ATT TYC CCA TYC TYC GGT TYC ACT TYC TAT GCC GAT
 AGC GTC (서열 1006)

L3-SF

ACT TAT TAC TGT CAG CAA TYC TYC TYC TYC CCA TYC ACG TTC GGA CAG GGT ACC
 (서열 1007)

H1-SR

GCA GCT TCT GGC TTC MGC ATT MGC MGC MGC MGC ATA CAC TGG GTG CGT
 (서열 1008)

H2-SR

CTG GAA TGG GTT GCA MGC ATT MGC CCA MGC MGC GGT MGC ACT MGC TAT GCC
 GAT AGC GTC (서열 1009)

L3-SR

ACT TAT TAC TGT CAG CAA MGC MGC MGC MGC CCA MGC ACG TTC GGA CAG GGT
 ACC (서열 1010)

H1-SW

GCA GCT TCT GGC TTC TSG ATT TSG TSG TSG TSG ATA CAC TGG GTG CGT (서열
 1011)

H2-SW

CTG GAA TGG GTT GCA TSG ATT TSG CCA TSG TSG GGT TSG ACT TSG TAT GCC GAT
 AGC GTC (서열 1012)

L3-SW

ACT TAT TAC TGT CAG CAA TSG TSG TSG TSG CCA TSG ACG TTC GGA CAG GGT ACC
 (서열 1013)

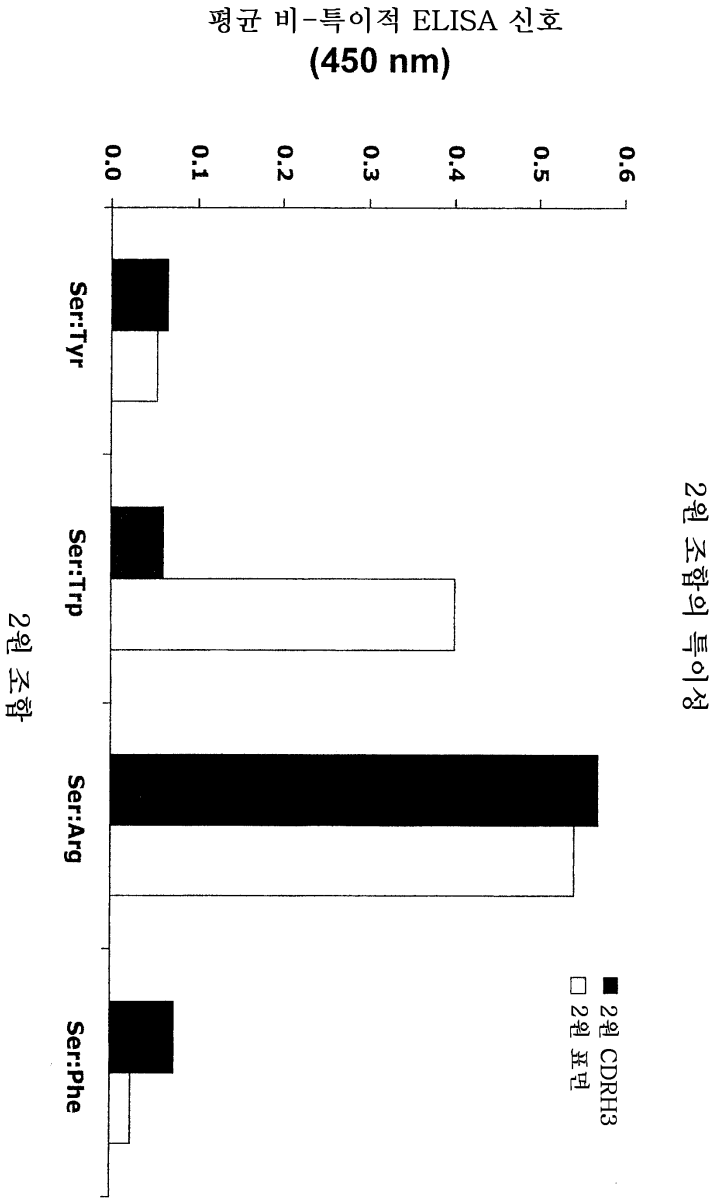
도면24A

HER2- 결합 클론 SX-포면																																																		
CDR13																																																		
번	번	CDRH1																																																
번	번	CDRH2																																																
번	번	CDRH3																																																
629	88	Q	S	W	W	P	P	W	T	897	G	F	S	I	W	S	W	I	H	924	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	951	W	S	S	A	I	95							
630	89	Q	S	W	W	P	P	S	T	898	G	F	S	I	W	S	W	I	H	925	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	952	W	S	S	A	I	96							
631	90	Q	S	W	W	P	P	S	T	899	G	F	S	I	W	S	W	I	H	926	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	953	W	S	S	A	I	97							
632	91	Q	S	W	W	P	P	W	T	900	G	F	S	I	W	S	W	I	H	927	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	954	W	S	S	S	A	I	98						
633	92	Q	S	W	W	P	P	S	T	901	G	F	S	I	W	S	W	I	H	928	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	955	W	S	S	S	A	I	99						
634	93	Q	S	W	W	P	P	S	T	902	G	F	S	I	W	S	W	I	H	929	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	956	W	S	S	S	A	I	100						
635	94	Q	S	W	W	P	P	S	T	903	G	F	S	I	S	W	S	W	I	H	930	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	957	W	S	S	S	A	I	100a					
636	95	Q	S	W	W	P	P	S	T	904	G	F	S	I	W	S	W	I	H	931	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	958	W	S	S	S	A	I	100b						
637	96	Q	S	W	W	P	P	S	T	905	G	F	S	I	W	S	W	I	H	932	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	959	W	S	S	S	A	I	100c						
640	97	Q	S	W	W	P	P	S	T	906	G	F	S	I	W	S	W	I	H	933	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	960	W	S	S	W	G	L	100d						
641	98	Q	S	W	S	W	P	S	T	907	G	F	S	I	W	S	S	S	I	H	934	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	961	S	S	W	S	S	A	I	100e				
642	99	Q	S	W	S	W	P	S	T	908	G	F	S	I	W	S	S	S	I	H	935	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	962	S	S	W	S	S	A	I	100f				
643	100	Q	S	S	S	S	P	S	T	909	G	F	S	I	S	S	S	W	I	H	936	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	963	S	S	S	S	S	W	A	I	100g			
644	101	Q	S	W	S	W	P	S	T	910	G	F	S	I	S	S	S	S	I	H	937	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	964	S	S	S	S	S	W	A	I	100h			
646	102	Q	S	W	S	W	P	S	T	911	G	F	S	I	W	S	S	S	I	H	938	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	965	S	S	W	S	S	W	S	A	I	100i		
648	103	Q	S	W	S	W	P	S	T	912	G	F	S	I	W	S	S	S	I	H	939	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	966	S	S	W	S	S	W	S	A	I	100j		
649	104	Q	S	Y	S	P	S	T	913	G	F	S	I	Y	S	Y	I	H	940	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	967	Y	Y	S	Y	A	I	101							
650	105	Q	S	Y	S	P	S	T	914	G	F	S	I	S	Y	S	Y	I	H	941	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	968	Y	Y	S	Y	A	I	102						
651	106	Q	S	Y	S	P	S	T	915	G	F	S	I	S	S	S	Y	I	H	942	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	969	Y	Y	S	Y	A	I							
653	107	Q	S	Y	S	P	P	S	T	916	G	F	S	I	S	S	S	Y	I	H	943	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	970	Y	Y	S	S	A	F						
654	108	Q	S	Y	S	P	P	S	T	917	G	F	S	I	S	S	S	Y	I	H	944	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	971	Y	Y	S	S	A	F						
655	109	Q	S	Y	S	P	P	S	T	918	G	F	S	I	Y	S	S	Y	I	H	945	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	972	Y	Y	S	S	A	F						
656	110	Q	S	Y	S	P	P	S	T	919	G	F	S	I	S	S	S	Y	I	H	946	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	973	Y	Y	S	S	A	F						
658	111	Q	S	S	S	S	P	S	T	920	G	F	S	I	S	S	S	Y	I	H	947	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	974	S	S	Y	S	Y	Y	S	Y	A	I		
659	112	Q	S	Y	S	P	P	S	T	921	G	F	S	I	S	S	S	Y	I	H	948	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	975	Y	Y	S	S	Y	Y	S	Y	A	I		
660	113	Q	S	Y	S	P	P	S	T	922	G	F	S	I	Y	S	S	S	Y	I	H	949	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	976	Y	Y	S	S	Y	Y	S	Y	A	I	
661	114	Q	S	Y	S	P	P	S	T	923	G	F	S	I	Y	S	S	S	Y	I	H	950	S	I	S	P	S	G	W	T	S	Y	A	D	S	V	K	G	977	Y	Y	S	S	S	S	Y	Y	A	I	

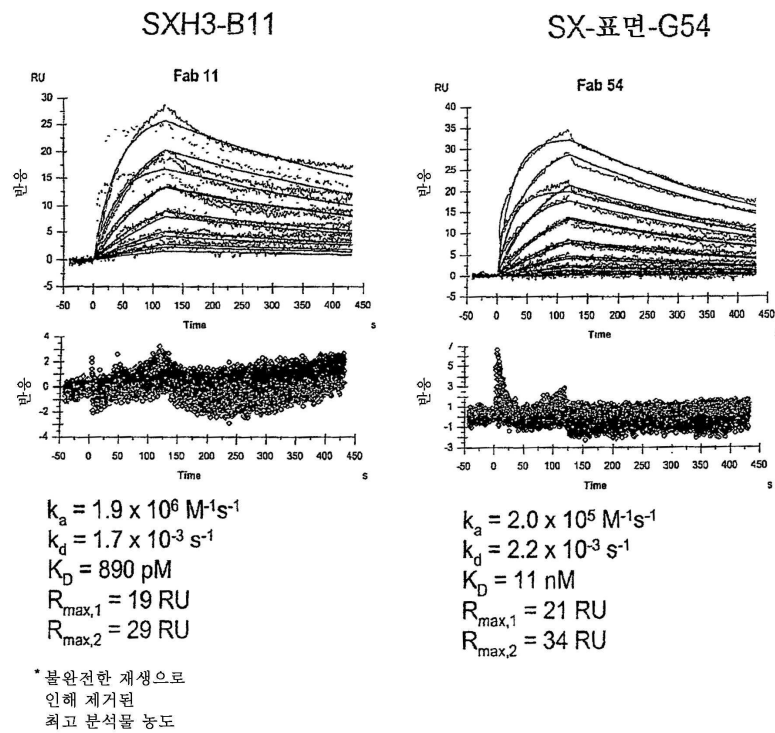
도면24B

번호	450nm에서의 ELISA 신호							Fab-파지 IC50	
	인간 VEGF	인간 HER2	인간 DR5	인간 인슐린	뉴트라비딘	인간 IGF-1	소 혈청 알부민	IC50 (nM)	오차 +/-
G29	0.33	4.67	0.06	0.26	0.26	0.32	0.02	1.96	0.22
G30	0.13	3.73	0.04	0.19	0.17	0.29	0.01	1.26	0.21
G31	0.09	3.70	0.07	0.22	0.12	0.26	-0.01	1.66	0.07
G32	0.35	3.82	0.13	0.48	0.33	0.52	0.08	1.12	0.14
G33	0.09	4.14	0.11	0.10	0.06	0.15	0.00	1.70	0.10
G34	0.16	3.52	0.13	0.18	0.18	0.35	0.01	1.06	0.27
G35	0.31	5.92	0.12	0.37	0.29	0.25	0.03	0.65	0.14
G36	0.38	3.86	0.14	0.29	0.26	0.30	0.01	1.20	0.19
G37	0.23	4.04	0.21	0.45	0.32	0.32	0.03	0.31	0.09
G40	0.31	3.88	0.10	2.64	0.45	0.85	0.03	1.80	0.30
G41	0.04	5.92	0.04	0.08	0.08	0.07	0.01	51.00	6.00
G42	0.02	5.63	0.17	0.14	0.06	0.07	0.03	43.00	7.00
G43	0.13	4.67	0.06	0.14	0.29	0.37	0.03	22.00	3.00
G44	0.04	4.67	0.06	0.11	0.13	0.29	-0.02	29.00	3.00
G46	0.02	4.13	0.03	0.07	0.07	0.10	0.00	73.00	11.00
G48	0.09	3.69	0.04	0.04	0.01	0.01	0.01	67.00	11.00
G49	0.02	3.50	0.04	0.04	0.00	0.05	0.01	3.13	0.37
G50	0.12	5.92	0.11	0.05	0.10	0.10	0.02	7.94	0.42
G51	0.05	4.13	0.10	0.03	0.04	0.08	-0.01	3.28	0.24
G53	0.00	3.93	0.02	0.02	0.08	0.08	-0.03	9.75	1.76
G54	0.05	5.92	0.06	0.05	0.03	0.05	-0.02	2.44	0.73
G55	0.05	3.99	0.06	0.04	0.06	0.05	-0.03	6.52	0.73
G56	0.01	5.92	0.08	0.11	0.05	0.07	-0.01	7.13	0.88
G58	0.05	3.73	0.08	0.08	0.06	0.36	0.00	15.10	0.82
G59	0.02	3.45	0.05	0.02	0.05	0.04	0.00	6.80	0.99
G60	0.07	4.24	0.08	0.07	0.03	0.09	-0.01	79.80	17.20
G61	0.09	3.73	0.09	0.07	0.12	0.09	-0.02	145.00	42.00

도면25

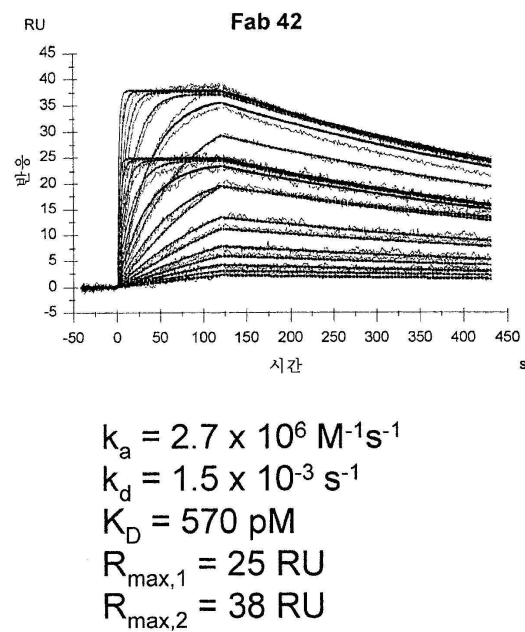


도면26A



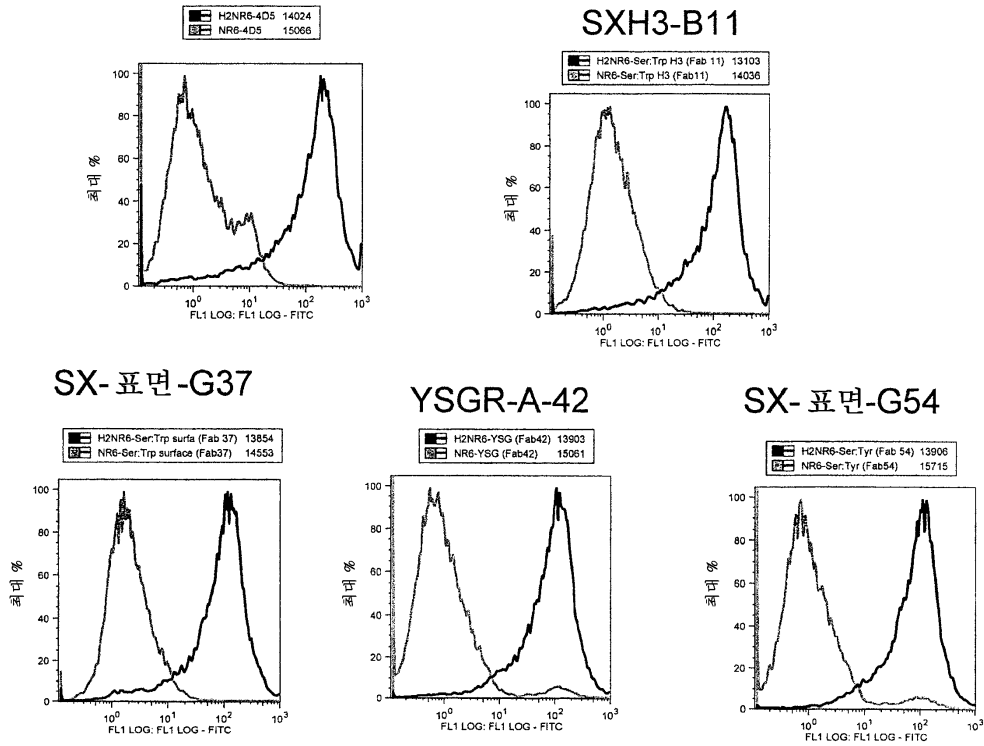
도면26B

YSGR-A-42



도면27

정제된 항-HER2 Fab를 갖는 FAC
4D5 Fab 양성 대조군



도면28

[illegible]

29면도

ELISA 실험 @ 450 nm

인큐베이전된 IgG @ 100 nM	코팅된 IgG									
	SXH3-B11	SX-포면-G37	YSGR-A-42	SX-포면-G54	YSGR-A-27	SXH3-B27	SX-포면-G43	YSGR-D-104	음성타입	제로셀컨
SXH3-B11	0.10	0.06	0.07	0.06	1.54	0.24	1.22	0.96	1.60	1.55
SX-포면-G37	0.11	0.06	0.08	0.06	1.73	0.49	1.58	1.22	1.72	1.68
YSGR-A-42	0.09	0.06	0.06	0.05	1.87	1.18	1.57	1.40	1.53	1.45
SX-포면-G54	0.32	0.16	0.30	0.13	1.55	0.27	1.37	1.23	1.48	1.15
YSGR-A-27	2.10	1.17	1.80	2.02	0.06	0.08	0.05	0.16	1.28	1.13
SXH3-B27	1.97	1.12	1.95	1.70	0.11	0.06	0.05	0.16	1.33	1.16
SX-포면-G43	2.02	1.20	1.93	1.76	0.12	0.07	0.04	0.20	1.30	1.14
YSGR-D-104	2.25	1.32	2.28	1.83	0.10	0.07	0.06	0.14	1.78	1.02

결합 차단에 대한 양성 대조군
결합 경쟁

서열목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Sidhu, Sachdev S.
Birtalan, Sara
Fellouse, Frederic
- <120> BINDING POLYPEPTIDES AND USES THEREOF

<130> 11669.291USU1

<140> NEW FILING

<141> 2006-12-01

<150> 60/742,185

<151> 2005-12-02

<150> 60/805,553

<151> 2006-06-22

<160> 1013

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic 4D5 light chain variable domain

<400> 1

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

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

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

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

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95

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

<210> 2
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic 4D5 heavy chain variable domain

<400> 2

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

Ser Arg Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 3
<211> 35
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 3

Gly Arg Met Lys Gln Leu Glu Asp Lys Val Glu Glu Leu Leu Ser Lys
1 5 10 15

Asn Tyr His Leu Glu Asn Glu Val Ala Arg Leu Lys Lys Leu Val Gly
20 25 30

Glu Arg Gly
35

<210> 4
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
N, P, Q, T, V, or W

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
N, P, Q, T, V, or W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
 N, P, Q, T, V, or W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
 N, P, Q, T, V, or W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
 N, P, Q, T, V, or W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
 N, P, Q, T, V, or W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
 N, P, Q, T, V, or W, and can be various lengths

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
 N, P, Q, T, V, or W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
 N, P, Q, T, V, or W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> X is independently either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M,
 N, P, Q, T, V, or W

<400> 4

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
1 5 10

<210> 5

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic heavy chain hinge sequence

<400> 5

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10

<210> 6

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5-8 LC-FR1

<400> 6

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
20

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5 LC-FR2

<400> 7

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 8

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5 LC-FR3

<400> 8

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Arg	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	

Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 9

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5 LC-FR4

<400> 9

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
1				5					10

<210> 10

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5-8 HC-FR1

<400> 10

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 11

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5 HC-FR2

<400> 11

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
1 5 10

<210> 12

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5 HC-FR3

<400> 12

Arg Phe Thr Ile Ser Ala Asp Thr Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln
1 5 10 15

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
20 25 30

<210> 13
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic huMAb4D5 HC-FR4

<400> 13

Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser
1				5					10	

<210> 14
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic huMAb4D5-8 LC-FR1

<400> 14

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
						20

<210> 15
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

<400> 15

Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr
1				5					10					15

<210> 16
 <211> 32
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5 LC-FR3

<400> 16

Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr
1				5					10					15	

Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys
			20					25					30		

<210> 17

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5 LC-FR4

<400> 17

Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys
1				5				10	

<210> 18

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic huMAb4D5-8 HC-FR1

<400> 18

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser

20

25

<210> 19
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic huMAb4D5 HC-FR2

<400> 19

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 1 5 10

<210> 20
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic huMAb4D5 HC-FR3

<400> 20

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

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 20 25 30

<210> 21
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic huMAb4D5 HC-FR4

<400> 21

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X is either Y or S

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> X is either Y or S

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X is either Y or S

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (7)..(7)
<223> X is either Y or S

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (8)..(8)
<223> X is either Y or S

<400> 22

Gly Phe Xaa Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Ile His
1 5 10

<210> 23
<211> 17
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X is either Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X is either Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X is either Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X is either Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X is either Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X is either Y or S

<400> 23

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

Gly

<210> 24
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is either Y, G, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X is either Y, G, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either Y, G, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is either Y, G, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is either Y, G, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is either Y, G, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> X is either Y, G, or S, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> X is either G or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (19)..(19)
 <223> X is either I, M, L, or F

<400> 24

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa
1				5					10						15	

Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr
			20	

<210> 25
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is either Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is either Y or S

<400> 25

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
 1 5

<210> 26
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is either Y, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X is either Y, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either Y, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is either Y, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)

<223> X is either Y, R, or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X is either Y, R, or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> X is either Y, S, or R, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> X is either G or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (19)..(19)
 <223> X is either I, M, L, or F

<400> 26

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
 20

<210> 27
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<220>

<221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is either Y, G, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X is either Y, G, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either Y, G, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is either Y, G, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is either Y, G, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is either Y, G, R, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)

<223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> X is either Y, S, G, R, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> X is either G or A

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (19)..(19)

<223> X is either I, M, L, or F

<400> 27

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
20

<210> 28

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
or W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
or W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
or W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
or W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
or W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
or W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,

W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (15)..(15)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (16)..(16)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> X is either Y, G, S, R, A, D, E, F, H, I, K, L, M, N, P, Q, T, V,
W, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (18)..(18)

<223> X is either G or A

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (19)..(19)

<223> X is either I, M, L, or F

<400> 28

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
20

<210> 29

<211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic Kabat consensus CDRL1

<400> 29

Arg Ala Ser Gln Asp Val Asn Thr Ala Val Ala
 1 5 10

<210> 30
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic Kabat consensus CDRL2

<400> 30

Ser Ala Ser Ser Leu Tyr Ser
 1 5

<210> 31
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is either R, Y, or M

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X is either Y or R

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either Y, S, R, P, or G

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is either Y, S, R, or H

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is either R, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X is either G, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is either R, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> X is either G, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X is either R, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> X is either G, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> X is either S, Y, R, G, or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> X is either G or Y

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> X is either L, M, R, G, or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> X is either G, F, L, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> X is either F or no amino acid

<400> 31

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Asp Tyr

<210> 32
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H1

<400> 32
 gcagcttctg gcttctmatt tmttmtmtmt atacactggg tgcgt

45

<210> 33
 <211> 58
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H2

<400> 33
 ctggaatggg ttgcatmtat ttmtccatmt tggttmtact tmttatgccg atagcgtc 58

<210> 34
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic L3

<400> 34
 acttattact gtcagcaatm ttmtttmtt ccatmtacgt tcggacaggg tacc 54

<210> 35
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-A6

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 35
 gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnngstw tkgactactg gggtcaagga 60

<210> 36
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-A7

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 36
 gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnng stwtkgacta ctggggtcaa 60

gga 63

<210> 37
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-A8

<220>

<221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 37

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 38
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-A9

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 38

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnngstwt kgactactgg 60

ggtcaagga

69

<210> 39

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-A10

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(21)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 39

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnngs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 40
<211> 75
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-A11

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 40

gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngstwtkgac 60

tactggggtc aagga

75

<210> 41

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-A12

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 41
 gtctattatt gtgctcgcmn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnngstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 42
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-A13

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(27)

<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(30)

<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(33)

<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(36)

<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 42

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnngst 60

wtkgactact ggggtcaagg a

81

<210> 43

<211> 84

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-A14

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(21)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (55)..(57)
 <223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (58)..(60)
 <223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 43
 gtctattatt gtgctcgcmn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

gstwtkgact actggggtca agga 84

<210> 44
 <211> 87
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-A15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(27)

<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(30)

<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(33)

<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(36)

<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (58)..(60)

<223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (61)..(63)

<223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 44

gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnngstwtkg actactgggg tcaagga 87

<210> 45

<211> 90

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-A16

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (55)..(57)
 <223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (58)..(60)
 <223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (61)..(63)
 <223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (64)..(66)
 <223> N64 to N66 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 45

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnnnnnngstw tkgactactg gggtaagga 90

<210> 46
<211> 93
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-A17

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (58)..(60)

<223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (61)..(63)

<223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (64)..(66)

<223> N64 to N66 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (67)..(69)

<223> N67 to N69 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, or GGG

<400> 46

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnnnnnnnng stwtkgacta ctggggtcaa gga 93

<210> 47

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-B6

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(21)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 47
 gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnngstw tkgactactg gggtcaagga 60

<210> 48
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-B7

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 48
 gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnng stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 49
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-B8

<220>

<221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 49

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 50
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-B9

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 50

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnngstwt kgactactgg 60

ggtcaagga

69

<210> 51

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-B10

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(21)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 51

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnngs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 52
<211> 75
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-B11

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 52

gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngstwtkgac 60

tactggggtc aagga 75

<210> 53

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-B12

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 53
 gtctattatt gtgctcgcmn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnngstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 54
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-B13

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(27)

<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(30)

<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(33)

<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(36)

<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 54

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnngst 60

wtkgactact ggggtcaagg a

81

<210> 55

<211> 84

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-B14

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(21)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (55)..(57)
 <223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (58)..(60)
 <223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 55
 gtctattatt gtgctcgcmn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

gstwtkgact actgggggtca agga 84

<210> 56
 <211> 87
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-B15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(27)

<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(30)

<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(33)

<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(36)

<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (58)..(60)

<223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (61)..(63)

<223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 56

gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnngstwtkg actactgggg tcaagga

87

<210> 57

<211> 90

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-B16

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (55)..(57)
 <223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (58)..(60)
 <223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (61)..(63)
 <223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (64)..(66)
 <223> N64 to N66 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 57

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnnnnnngstw tkgactactg gggtaagga 90

<210> 58
<211> 93
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-B17

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (58)..(60)

<223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (61)..(63)

<223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (64)..(66)

<223> N64 to N66 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (67)..(69)

<223> N67 to N69 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 58

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnnnnnnnng stwtkgacta ctgggggtcaa gga 93

<210> 59

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C6

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(21)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 59
 gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnngstw tkgactactg gggtcaagga 60

<210> 60
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-C7

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 60
 gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnng stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 61
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-C8

<220>

<221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, GGA, GGT, GGC, GGG, AGT, AGC, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 61

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 62
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C9

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 62

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnngstwt kgactactgg 60

ggtcaagga

69

<210> 63

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C10

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(21)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 63

gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnngs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 64
<211> 75
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C11

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 64

gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngstwtkgac 60

tactggggtc aagga

75

<210> 65

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C12

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<400> 65
 gtctattatt gtgctcgcmn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnngstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 66
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-C13

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG, AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(27)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(30)

<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(33)

<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(36)

<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<400> 66

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnngst 60

wtkgactact ggggtcaagg a

81

<210> 67

<211> 84

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C14

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(21)

<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (55)..(57)
 <223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (58)..(60)
 <223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<400> 67
 gtctattatt gtgctcgcmn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

gstwtkgact actggggtca agga 84

<210> 68
 <211> 87
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-C15

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (25)..(27)

<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(30)

<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(33)

<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(36)

<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (58)..(60)

<223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (61)..(63)

<223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<400> 68

gtctattatt gtgctcgenn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnngstwtkg actactgggg tcaagga

87

<210> 69

<211> 90

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C16

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(21)
 <223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(24)
 <223> N22 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(27)
 <223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (28)..(30)
 <223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (31)..(33)
 <223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (34)..(36)
 <223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(39)
 <223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (40)..(42)
 <223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature
 <222> (43)..(45)
 <223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (46)..(48)
 <223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(51)
 <223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(54)
 <223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (55)..(57)
 <223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (58)..(60)
 <223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (61)..(63)
 <223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (64)..(66)
 <223> N64 to N66 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<400> 69

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnnnnnngstw tkgactactg gggtaagga 90

<210> 70
<211> 93
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C17

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(21)
<223> N19 to N21 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(24)
<223> N21 to N24 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(27)
<223> N25 to N27 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (28)..(30)
<223> N28 to N30 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (31)..(33)
<223> N31 to N33 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>
<221> misc_feature
<222> (34)..(36)
<223> N34 to N36 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(39)

<223> N37 to N39 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (40)..(42)

<223> N40 to N42 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (43)..(45)

<223> N43 to N45 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (46)..(48)

<223> N46 to N48 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (49)..(51)

<223> N49 to N51 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (52)..(54)

<223> N52 to N54 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (55)..(57)

<223> N55 to N57 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (58)..(60)

<223> N58 to N60 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG,

AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (61)..(63)

<223> N61 to N63 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (64)..(66)

<223> N64 to N66 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<220>

<221> misc_feature

<222> (67)..(69)

<223> N67 to N69 are independently either TAT, TAC, TCA, TCT, TCC, TCG, AGT, AGC, GGA, GGT, GGC, GGG, CGA, CGT, CGC, CGG. AGA, or AGG

<400> 70

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnnnnnnnng stwtkgacta ctggggtcaa gga 93

<210> 71

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C6

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(36)

<223> N19 to N36 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC, TGA, TAA, TAG

<400> 71

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnngstw tkgactactg gggtcaagga 60

<210> 72

<211> 63

<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C7

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(39)
<223> N19 to N39 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
TGA, TAA, TAG

<400> 72
gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnng stwtkgacta ctggggtcaa 60

gga 63

<210> 73
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C8

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(42)
<223> N19 to N42 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
TGA, TAA, TAG

<400> 73
gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nngstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 74
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C9

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(45)

<223> N19 to N45 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC, TGA, TAA, TAG

<400> 74

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnngstwt kgactactgg 60

ggtcaagga

69

<210> 75

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C10

<220>

<221> misc_feature

<222> (19)..(48)

<223> N19 to N48 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC, TGA, TAA, TAG

<400> 75

gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnngs twtkgactac 60

tggggtcaag ga

72

<210> 76

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic H3-C11

<220>

<221> misc_feature
 <222> (19)..(51)
 <223> N19 to N51 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
 TGA, TAA, TAG

<400> 76
 gtctattatt gtgctgcnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn ngstwtkgac 60

tactggggtc aagga 75

<210> 77
 <211> 78
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-C12

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(54)
 <223> N19 to N54 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
 TGA, TAA, TAG

<400> 77
 gtctattatt gtgctgcnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnngstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 78
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic H3-C13

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (19)..(57)
 <223> N19 to N57 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
 TGA, TAA, TAG

<400> 78
gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnngst 60

wtkgactact ggggtcaagg a 81

<210> 79
<211> 84
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C14

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(60)
<223> N19 to N60 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
TGA, TAA, TAG

<400> 79
gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

gstwtkgact actggggtca agga 84

<210> 80
<211> 87
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C15

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(63)
<223> N19 to N63 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
TGA, TAA, TAG

<400> 80
gtctattatt gtgctcgcn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnngstwtkg actactgggg tcaagga 87

<210> 81
<211> 90
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C16

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(66)
<223> N19 to N66 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
TGA, TAA, TAG

<400> 81
gtctattatt gtgctgcnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnnnnngstw tkgactactg gggtaagga 90

<210> 82
<211> 93
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic H3-C17

<220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(69)
<223> N19 to N69 is any combination of A, T, C, or G, except TGT, TGC,
TGA, TAA, TAG

<400> 82
gtctattatt gtgctgcnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn 60

nnnnnnnnng stwtkgacta ctgggtcaa gga 93

<210> 83
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 1 CDRL3

<400> 83

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 84
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 2 CDRL3

<400> 84

Gln Gln Ser Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 85
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 3 CDRL3

<400> 85

Gln Gln Ser Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 86
 <211> 9

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 4 CDRL3

<400> 86

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 87
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 5 CDRL3

<400> 87

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 88
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 6 CDRL3

<400> 88

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 89
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 7 CDRL3

<400> 89

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 8 CDRL3

<400> 90

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 9 CDRL3

<400> 91

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 10 CDRL3

<400> 92

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 11 CDRL3

<400> 93

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 12 CDRL3

<400> 94

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 13 CDRL3

<400> 95

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 96
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 14 CDRL3

<400> 96

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 97
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 15 CDRL3

<400> 97

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 98
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 16 CDRL3

<400> 98

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 99
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 17 CDRL3

<400> 99

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 100
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 18 CDRL3

<400> 100

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 101
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 19 CDRL3

<400> 101

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 102
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 20 CDRL3

<400> 102

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 21 CDRL3

<400> 103

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 104

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 22 CDRL3

<400> 104

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 105

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 23 CDRL3

<400> 105

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 106

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 24 CDRL3

<400> 106

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 107

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 25 CDRL3

<400> 107

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 108

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 26 CDRL3

<400> 108

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 109

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 27 CDRL3

<400> 109

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 110

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 28 CDRL3

<400> 110

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 111

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 29 CDRL3

<400> 111

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Ser Thr

1 5

<210> 112
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 30 CDRL3

<400> 112

Gln Gln Ser Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 113
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 31 CDRL3

<400> 113

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 114
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 32 CDRL3

<400> 114

Gln Gln Ser Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 115
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 33 CDRL3

<400> 115

Gln Gln Ser Phe Ser Ser Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 116
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 34 CDRL3

<400> 116

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 117
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 35 CDRL3

<400> 117

Gln Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 118
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 36 CDRL3

<400> 118

Gln Gln Ser Phe Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 119

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 37 CDRL3

<400> 119

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 120

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 38 CDRL3

<400> 120

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 121

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 39 CDRL3

<400> 121

Gln Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 40 CDRL3

<400> 122

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 123

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 41 CDRL3

<400> 123

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 124

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 42 CDRL3

<400> 124

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 125

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 43 CDRL3

<400> 125

Gln Gln Ser Phe Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 126

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 44 CDRL3

<400> 126

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 127

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 45 CDRL3

<400> 127

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 128
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 46 CDRL3

<400> 128

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 129
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 47 CDRL3

<400> 129

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 130
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 48 CDRL3

<400> 130

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 131
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 49 CDRL3

<400> 131

Gln Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 132
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 50 CDRL3

<400> 132

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 133
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 51 CDRL3

<400> 133

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 134
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 52 CDRL3

<400> 134

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 135

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 53 CDRL3

<400> 135

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 136

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 54 CDRL3

<400> 136

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 55 CDRL3

<400> 137

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 138

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 56 CDRL3

<400> 138

Gln Gln Ser Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 139

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 57 CDRL3

<400> 139

Gln Gln Ser Ser Phe Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 140

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 58 CDRL3

<400> 140

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 141

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 59 CDRL3

<400> 141

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 142

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 60 CDRL3

<400> 142

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 143

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 61 CDRL3

<400> 143

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 62 CDRL3

<400> 144

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 63 CDRL3

<400> 145

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 146
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 64 CDRL3

<400> 146

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 147
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 65 CDRL3

<400> 147

Gln Gln Ser Phe Ser Ser Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 148
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 66 CDRL3

<400> 148

Gln Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 149
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 67 CDRL3

<400> 149

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 150
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 68 CDRL3

<400> 150

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 151

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 69 CDRL3

<400> 151

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 152

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 70 CDRL3

<400> 152

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 71 CDRL3

<400> 153

Gln Gln Ser Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 154

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 72 CDRL3

<400> 154

Gln Gln Ser Ser Phe Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 155

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 73 CDRL3

<400> 155

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 156

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 74 CDRL3

<400> 156

Gln Gln Ser Ser Ser Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 157

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 75 CDRL3

<400> 157

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 158

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 76 CDRL3

<400> 158

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 159

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 77 CDRL3

<400> 159

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 78 CDRL3

<400> 160

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 161
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 79 CDRL3

<400> 161

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 162
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 80 CDRL3

<400> 162

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 163
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 81 CDRL3

<400> 163

Gln Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 164
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 82 CDRL3

<400> 164

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 165
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 83 CDRL3

<400> 165

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 166
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 84 CDRL3

<400> 166

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 167

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 85 CDRL3

<400> 167

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 86 CDRL3

<400> 168

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 169

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 87 CDRL3

<400> 169

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 170

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 88 CDRL3

<400> 170

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 171

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 89 CDRL3

<400> 171

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 172

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 90 CDRL3

<400> 172

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 173

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 91 CDRL3

<400> 173

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 174

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 92 CDRL3

<400> 174

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 175

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 93 CDRL3

<400> 175

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 176
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 94 CDRL3

<400> 176

Gln Gln Ser Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 177
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 95 CDRL3

<400> 177

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 178
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 96 CDRL3

<400> 178

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 179
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 97 CDRL3

<400> 179

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 180
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 98 CDRL3

<400> 180

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 181
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 99 CDRL3

<400> 181

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
 1 5

<210> 182
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 100 CDRL3

<400> 182

Gln Gln Ser Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 183

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 101 CDRL3

<400> 183

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 184

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 102 CDRL3

<400> 184

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 185

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 103 CDRL3

<400> 185

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 186

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 104 CDRL3

<400> 186

Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 187

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 105 CDRL3

<400> 187

Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 188

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 106 CDRL3

<400> 188

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 1 CDRH1

<400> 189

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 190

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 2 CDRH1

<400> 190

Gly Phe Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 191

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 3 CDRH1

<400> 191

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 192
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 4 CDRH1

<400> 192

Gly Phe Tyr Ile Ser Tyr Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 193
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 5 CDRH1

<400> 193

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 194
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 6 CDRH1

<400> 194

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 195
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 7 CDRH1

<400> 195

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 196
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 8 CDRH1

<400> 196

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 197
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 9 CDRH1

<400> 197

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 198
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 10 CDRH1

<400> 198

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 199

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 11 CDRH1

<400> 199

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 200

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 12 CDRH1

<400> 200

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Tyr	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 201

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 13 CDRH1

<400> 201

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 202

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 14 CDRH1

<400> 202

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 203

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 15 CDRH1

<400> 203

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 204

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 16 CDRH1

<400> 204

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 205

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 17 CDRH1

<400> 205

Gly Phe Tyr Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 206

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 18 CDRH1

<400> 206

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 207

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 19 CDRH1

<400> 207

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Tyr Ser Ile His

1 5 10

<210> 208
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 20 CDRH1

<400> 208

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 209
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 21 CDRH1

<400> 209

Gly Phe Tyr Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 210
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 22 CDRH1

<400> 210

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 211
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 23 CDRH1

<400> 211

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 212
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 24 CDRH1

<400> 212

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 213
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 25 CDRH1

<400> 213

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 214
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 26 CDRH1

<400> 214

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 215

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 27 CDRH1

<400> 215

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 216

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 28 CDRH1

<400> 216

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 217

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 29 CDRH1

<400> 217

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 218

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 30 CDRH1

<400> 218

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 219

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 31 CDRH1

<400> 219

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 32 CDRH1

<400> 220

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 221

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 33 CDRH1

<400> 221

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 222

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 34 CDRH1

<400> 222

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 223

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 35 CDRH1

<400> 223

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 224
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 36 CDRH1

<400> 224

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 225
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 37 CDRH1

<400> 225

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 226
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 38 CDRH1

<400> 226

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 227
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 39 CDRH1

<400> 227

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 228
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 40 CDRH1

<400> 228

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 229
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 41 CDRH1

<400> 229

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 230
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 42 CDRH1

<400> 230

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 231

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 43 CDRH1

<400> 231

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 232

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 44 CDRH1

<400> 232

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 233

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 45 CDRH1

<400> 233

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 234

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 46 CDRH1

<400> 234

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Tyr	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 235

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 47 CDRH1

<400> 235

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Tyr	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 236

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 48 CDRH1

<400> 236

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 237

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 49 CDRH1

<400> 237

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 238

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 50 CDRH1

<400> 238

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 239

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 51 CDRH1

<400> 239

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 240
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 52 CDRH1

<400> 240

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 241
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 53 CDRH1

<400> 241

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 242
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 54 CDRH1

<400> 242

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 243
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 55 CDRH1

<400> 243

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 244
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 56 CDRH1

<400> 244

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 245
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 57 CDRH1

<400> 245

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 246
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 58 CDRH1

<400> 246

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 247

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 59 CDRH1

<400> 247

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Tyr	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 248

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 60 CDRH1

<400> 248

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 249

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 61 CDRH1

<400> 249

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 250

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 62 CDRH1

<400> 250

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 251

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 63 CDRH1

<400> 251

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 252

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 64 CDRH1

<400> 252

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 253

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 65 CDRH1

<400> 253

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 254

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 66 CDRH1

<400> 254

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 255

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 67 CDRH1

<400> 255

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Tyr Ser Ile His

1 5 10

<210> 256
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 68 CDRH1

<400> 256

Gly Phe Ser Ile Tyr Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 257
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 69 CDRH1

<400> 257

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 258
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 70 CDRH1

<400> 258

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 259
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 71 CDRH1

<400> 259

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Tyr	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 260
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 72 CDRH1

<400> 260

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 261
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 73 CDRH1

<400> 261

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 262
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 74 CDRH1

<400> 262

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 263

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 75 CDRH1

<400> 263

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 264

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 76 CDRH1

<400> 264

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 265

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 77 CDRH1

<400> 265

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 266

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 78 CDRH1

<400> 266

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 267

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 79 CDRH1

<400> 267

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 268

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 80 CDRH1

<400> 268

Gly Phe Ser Ile Tyr Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 269

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 81 CDRH1

<400> 269

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 270

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 82 CDRH1

<400> 270

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 271

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 83 CDRH1

<400> 271

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 272
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 84 CDRH1

<400> 272

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
 1 5 10

<210> 273
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 85 CDRH1

<400> 273

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
 1 5 10

<210> 274
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 86 CDRH1

<400> 274

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
 1 5 10

<210> 275
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 87 CDRH1

<400> 275

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 276
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 88 CDRH1

<400> 276

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 277
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 89 CDRH1

<400> 277

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 278
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 90 CDRH1

<400> 278

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 279

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 91 CDRH1

<400> 279

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 280

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 92 CDRH1

<400> 280

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 281

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 93 CDRH1

<400> 281

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 282

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 94 CDRH1

<400> 282

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1				5					10

<210> 283

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 95 CDRH1

<400> 283

Gly	Phe	Phe	Ile	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Ile	His
1				5					10

<210> 284

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 96 CDRH1

<400> 284

Gly Phe Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 285

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 97 CDRH1

<400> 285

Gly Phe Tyr Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 286

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 98 CDRH1

<400> 286

Gly Phe Tyr Ile Tyr Ser Tyr Ser Ile His
1 5 10

<210> 287

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 99 CDRH1

<400> 287

Gly Phe Tyr Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 288
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 100 CDRH1

<400> 288

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
 1 5 10

<210> 289
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 101 CDRH1

<400> 289

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
 1 5 10

<210> 290
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 102 CDRH1

<400> 290

Gly Phe Tyr Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
 1 5 10

<210> 291
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 103 CDRH1

<400> 291

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 292
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 104 CDRH1

<400> 292

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1				5					10

<210> 293
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 105 CDRH1

<400> 293

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1				5					10

<210> 294
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 106 CDRH1

<400> 294

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1				5					10

<210> 295

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 1 CDRH2

<400> 295

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

Gly

<210> 296

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 2 CDRH2

<400> 296

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

Gly

<210> 297
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 3 CDRH2

<400> 297

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

Gly

<210> 298
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 4 CDRH2

<400> 298

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

Gly

<210> 299
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 5 CDRH2

<400> 299

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

Gly

<210> 300

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 6 CDRH2

<400> 300

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

Gly

<210> 301

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 7 CDRH2

<400> 301

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

Gly

<210> 302
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 8 CDRH2

<400> 302

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

Gly

<210> 303
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 9 CDRH2

<400> 303

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

Gly

<210> 304
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 10 CDRH2

<400> 304

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

Gly

<210> 305

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 11 CDRH2

<400> 305

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

Gly

<210> 306

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 12 CDRH2

<400> 306

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

Gly

<210> 307
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 13 CDRH2

<400> 307

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

Gly

<210> 308
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 14 CDRH2

<400> 308

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

Gly

<210> 309
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 15 CDRH2

<400> 309

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

Gly

<210> 310

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 16 CDRH2

<400> 310

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

Gly

<210> 311

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 17 CDRH2

<400> 311

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

Gly

<210> 312
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 18 CDRH2

<400> 312

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

Gly

<210> 313
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 19 CDRH2

<400> 313

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

Gly

<210> 314
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 20 CDRH2

<400> 314

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

Gly

<210> 315

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 21 CDRH2

<400> 315

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

Gly

<210> 316

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 22 CDRH2

<400> 316

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

Gly

<210> 317
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 23 CDRH2

<400> 317

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

Gly

<210> 318
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 24 CDRH2

<400> 318

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

Gly

<210> 319
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 25 CDRH2

<400> 319

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

Gly

<210> 320

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 26 CDRH2

<400> 320

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

Gly

<210> 321

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 27 CDRH2

<400> 321

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

Gly

<210> 322
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 28 CDRH2

<400> 322

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

Gly

<210> 323
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 29 CDRH2

<400> 323

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

Gly

<210> 324
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 30 CDRH2

<400> 324

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

Gly

<210> 325

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 31 CDRH2

<400> 325

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

Gly

<210> 326

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 32 CDRH2

<400> 326

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

Gly

<210> 327
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 33 CDRH2

<400> 327

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

Gly

<210> 328
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 34 CDRH2

<400> 328

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

Gly

<210> 329
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 35 CDRH2

<400> 329

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

Gly

<210> 330

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 36 CDRH2

<400> 330

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

Gly

<210> 331

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 37 CDRH2

<400> 331

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

Gly

<210> 332
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 38 CDRH2

<400> 332

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

Gly

<210> 333
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 39 CDRH2

<400> 333

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

Gly

<210> 334
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 40 CDRH2

<400> 334

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

Gly

<210> 335

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 41 CDRH2

<400> 335

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

Gly

<210> 336

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 42 CDRH2

<400> 336

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

Gly

<210> 337
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 43 CDRH2

<400> 337

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

Gly

<210> 338
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 44 CDRH2

<400> 338

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

Gly

<210> 339
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 45 CDRH2

<400> 339

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

Gly

<210> 340

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 46 CDRH2

<400> 340

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

Gly

<210> 341

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 47 CDRH2

<400> 341

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

Gly

<210> 342
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 48 CDRH2

<400> 342

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

Gly

<210> 343
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 49 CDRH2

<400> 343

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

Gly

<210> 344
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 50 CDRH2

<400> 344

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

Gly

<210> 345

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 51 CDRH2

<400> 345

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

Gly

<210> 346

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 52 CDRH2

<400> 346

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

Gly

<210> 347
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 53 CDRH2

<400> 347

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

Gly

<210> 348
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 54 CDRH2

<400> 348

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

Gly

<210> 349
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 55 CDRH2

<400> 349

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

Gly

<210> 350

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 56 CDRH2

<400> 350

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

Gly

<210> 351

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 57 CDRH2

<400> 351

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

Gly

<210> 352
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 58 CDRH2

<400> 352

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

Gly

<210> 353
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 59 CDRH2

<400> 353

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

Gly

<210> 354
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 60 CDRH2

<400> 354

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

Gly

<210> 355

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 61 CDRH2

<400> 355

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

Gly

<210> 356

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 62 CDRH2

<400> 356

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

Gly

<210> 357
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 63 CDRH2

<400> 357

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

Gly

<210> 358
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 64 CDRH2

<400> 358

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

Gly

<210> 359
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 65 CDRH2

<400> 359

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

Gly

<210> 360

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 66 CDRH2

<400> 360

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

Gly

<210> 361

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 67 CDRH2

<400> 361

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

Gly

<210> 362
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 68 CDRH2

<400> 362

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

Gly

<210> 363
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 69 CDRH2

<400> 363

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

Gly

<210> 364
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 70 CDRH2

<400> 364

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

Gly

<210> 365

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 71 CDRH2

<400> 365

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

Gly

<210> 366

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 72 CDRH2

<400> 366

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

Gly

<210> 367
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 73 CDRH2

<400> 367

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

Gly

<210> 368
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 74 CDRH2

<400> 368

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

Gly

<210> 369
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 75 CDRH2

<400> 369

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

Gly

<210> 370

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 76 CDRH2

<400> 370

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

Gly

<210> 371

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 77 CDRH2

<400> 371

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

Gly

<210> 372
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 78 CDRH2

<400> 372

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

Gly

<210> 373
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 79 CDRH2

<400> 373

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

Gly

<210> 374
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 80 CDRH2

<400> 374

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

Gly

<210> 375

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 81 CDRH2

<400> 375

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

Gly

<210> 376

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 82 CDRH2

<400> 376

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

Gly

<210> 377
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 83 CDRH2

<400> 377

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

Gly

<210> 378
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 84 CDRH2

<400> 378

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

Gly

<210> 379
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 85 CDRH2

<400> 379

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

Gly

<210> 380

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 86 CDRH2

<400> 380

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

Gly

<210> 381

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 87 CDRH2

<400> 381

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

Gly

<210> 382
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 88 CDRH2

<400> 382

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

Gly

<210> 383
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 89 CDRH2

<400> 383

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

Gly

<210> 384
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 90 CDRH2

<400> 384

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

Gly

<210> 385

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 91 CDRH2

<400> 385

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

Gly

<210> 386

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 92 CDRH2

<400> 386

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

Gly

<210> 387
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 93 CDRH2

<400> 387

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

Gly

<210> 388
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 94 CDRH2

<400> 388

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

Gly

<210> 389
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 95 CDRH2

<400> 389

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

Gly

<210> 390

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 96 CDRH2

<400> 390

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

Gly

<210> 391

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 97 CDRH2

<400> 391

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

Gly

<210> 392
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 98 CDRH2

<400> 392

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

Gly

<210> 393
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 99 CDRH2

<400> 393

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

Gly

<210> 394
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 100 CDRH2

<400> 394

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

Gly

<210> 395

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 101 CDRH2

<400> 395

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

Gly

<210> 396

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 102 CDRH2

<400> 396

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

Gly

<210> 397
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 103 CDRH2

<400> 397

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

Gly

<210> 398
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 104 CDRH2

<400> 398

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

Gly

<210> 399
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 105 CDRH2

<400> 399

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

Gly

<210> 400

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 106 CDRH2

<400> 400

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

Gly

<210> 401

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 106 CDRH2

<400> 401

Tyr	Tyr	Ser	Ser	Gly	Phe	Asp	Tyr
1				5			

<210> 402

<211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 2 CDRH3

<400> 402

Tyr Tyr Gly Tyr Gly Met Asp Tyr
 1 5

<210> 403
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 3 CDRH3

<400> 403

Tyr Tyr Gly Tyr Gly Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 404
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 4 CDRH3

<400> 404

Tyr Tyr Gly Tyr Gly Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 405
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 5 CDRH3

<400> 405

Tyr Tyr Gly Ser Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 406

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 6 CDRH3

<400> 406

Tyr Tyr Gly Gly Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 407

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 7 CDRH3

<400> 407

Tyr Tyr Gly Arg Gly Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 408

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 8 CDRH3

<400> 408

Tyr Ser Tyr Ser Gly Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 409

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 9 CDRH3

<400> 409

Tyr Arg Tyr Tyr Gly Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 410

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 10 CDRH3

<400> 410

Tyr Arg Tyr Gly Gly Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 411

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 11 CDRH3

<400> 411

Tyr Tyr Gly Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 412

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 12 CDRH3

<400> 412

Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 413

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 13 CDRH3

<400> 413

Ser Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 414

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 14 CDRH3

<400> 414

Ser Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 415
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 15 CDRH3

<400> 415

Ser Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 416
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 16 CDRH3

<400> 416

Ser Gly Gly Tyr Ser Arg Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 417
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 17 CDRH3

<400> 417

Gly Tyr Ser Tyr Ser Arg Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 418
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 18 CDRH3

<400> 418

Gly	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Arg	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 419
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 19 CDRH3

<400> 419

Gly	Ser	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 420
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 20 CDRH3

<400> 420

Gly	Ser	Gly	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 421
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 21 CDRH3

<400> 421

Gly	Ser	Gly	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 422

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 22 CDRH3

<400> 422

Gly	Arg	Arg	Tyr	Ser	Arg	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 423

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 23 CDRH3

<400> 423

Gly	Gly	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 424

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 24 CDRH3

<400> 424

Gly	Gly	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 425

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 25 CDRH3

<400> 425

Gly	Gly	Arg	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 426

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 26 CDRH3

<400> 426

Gly	Gly	Arg	Tyr	Gly	Arg	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 427

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 27 CDRH3

<400> 427

Gly Gly Gly Tyr Gly Tyr Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 428

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 28 CDRH3

<400> 428

Gly Gly Gly Tyr Gly Tyr Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 429

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 29 CDRH3

<400> 429

Tyr Tyr Tyr Ser Gly Gly Ser Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 430

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 30 CDRH3

<400> 430

Ser Tyr Ser Ser Tyr Tyr Ser Ser Gly Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 431
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 31 CDRH3

<400> 431

Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 432
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 32 CDRH3

<400> 432

Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Gly Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 433
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 33 CDRH3

<400> 433

Ser Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 434
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 34 CDRH3

<400> 434

Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 435
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 35 CDRH3

<400> 435

Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 436
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 36 CDRH3

<400> 436

Ser	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Phe	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 437
 <211> 14
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 37 CDRH3

<400> 437

Ser	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 438

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 38 CDRH3

<400> 438

Ser	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 439

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 39 CDRH3

<400> 439

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 440

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 40 CDRH3

<400> 440

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5				10					

<210> 441

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 41 CDRH3

<400> 441

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5				10					

<210> 442

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 42 CDRH3

<400> 442

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Ala	Leu	Asp	Tyr
1				5				10					

<210> 443

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 43 CDRH3

<400> 443

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 444

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 44 CDRH3

<400> 444

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 445

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 45 CDRH3

<400> 445

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 446

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 46 CDRH3

<400> 446

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 447
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 47 CDRH3

<400> 447

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 448
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 48 CDRH3

<400> 448

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Ser Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 449
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 49 CDRH3

<400> 449

Gly Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 450
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 50 CDRH3

<400> 450

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 451
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 51 CDRH3

<400> 451

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 452
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 52 CDRH3

<400> 452

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 453
 <211> 14
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 53 CDRH3

<400> 453

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 454

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 54 CDRH3

<400> 454

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 455

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 55 CDRH3

<400> 455

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 456

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 56 CDRH3

<400> 456

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 457

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 57 CDRH3

<400> 457

Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 458

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 58 CDRH3

<400> 458

Gly	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10				

<210> 459

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 59 CDRH3

<400> 459

Gly Ser Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 460

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 60 CDRH3

<400> 460

Gly Ser Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 461

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 61 CDRH3

<400> 461

Gly Ser Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Gly Ser Gly Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 462

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 62 CDRH3

<400> 462

Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Ser Ala Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 463
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 63 CDRH3

<400> 463

Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Ser Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 464
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 64 CDRH3

<400> 464

Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Ser Gly Ser Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 465
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 65 CDRH3

<400> 465

Gly Ser Gly Tyr Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr Gly Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 466
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 66 CDRH3

<400> 466

Gly Ser Tyr Ser Gly Tyr Tyr Tyr Gly Tyr Gly Leu Asp Tyr
 1 5 10

<210> 467
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 67 CDRH3

<400> 467

Gly Arg Tyr Ser Gly Tyr Tyr Gly Gly Tyr Gly Met Asp Tyr
 1 5 10

<210> 468
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 68 CDRH3

<400> 468

Tyr Tyr Tyr Ser Ser Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr Ala Phe Asp Tyr
 1 5 10 15

<210> 469
 <211> 15
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 69 CDRH3

<400> 469

Tyr	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 470

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 70 CDRH3

<400> 470

Tyr	Arg	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 471

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 71 CDRH3

<400> 471

Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 472

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 72 CDRH3

<400> 472

Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 473

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 73 CDRH3

<400> 473

Tyr	Gly	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Ser	Gly	Ser	Ala	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 474

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 74 CDRH3

<400> 474

Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 475

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 75 CDRH3

<400> 475

Arg	Arg	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Ser	Tyr	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 476

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 76 CDRH3

<400> 476

Arg	Arg	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Arg	Ser	Tyr	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 477

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 77 CDRH3

<400> 477

Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 478

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 78 CDRH3

<400> 478

Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Gly	Leu	Asp	Tyr

1 5 10 15

<210> 479
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 79 CDRH3

<400> 479

Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 480
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 80 CDRH3

<400> 480

Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ala	Phe	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 481
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 81 CDRH3

<400> 481

Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Gly	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 482
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 82 CDRH3

<400> 482

Tyr	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 483
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 83 CDRH3

<400> 483

Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 484
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic HER2 binding clone 84 CDRH3

<400> 484

Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Phe	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 485
 <211> 16
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 85 CDRH3

<400> 485

Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Gly	Phe	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 486

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 86 CDRH3

<400> 486

Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Ala	Phe	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 487

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 87 CDRH3

<400> 487

Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Gly	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 488

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 88 CDRH3

<400> 488

Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 489

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 89 CDRH3

<400> 489

Tyr	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 490

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 90 CDRH3

<400> 490

Tyr	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Ser	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 491

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 91 CDRH3

<400> 491

Ser	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Ser	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 492

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 92 CDRH3

<400> 492

Arg	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Arg	Ala	Met	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 493

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 93 CDRH3

<400> 493

Ser	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Gly	Gly	Met	Asp
1				5					10					15	

Tyr

<210> 494

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 94 CDRH3

<400> 494

Tyr Arg Tyr Tyr Tyr Ser Arg Tyr Gly Tyr Arg Tyr Tyr Tyr Tyr Tyr
1 5 10 15

Arg Ala Leu Asp Tyr
20

<210> 495
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 95 CDRH3

<400> 495

Arg Tyr Ser Ser Gly Met Asp Tyr
1 5

<210> 496
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 96 CDRH3

<400> 496

Tyr Ser His Ser Gly Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 497
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 97 CDRH3

<400> 497

Gly	Tyr	Ser	Tyr	Gly	His	Gly	Ile	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 498

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 98 CDRH3

<400> 498

Gly	Ser	Ser	Phe	Gly	Arg	Gly	Phe	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 499

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 99 CDRH3

<400> 499

Gly	Ser	Ser	Tyr	Ser	Trp	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 500

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 100 CDRH3

<400> 500

Gly Ser Arg Tyr Ser His Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 501

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 101 CDRH3

<400> 501

Gly Ala Ser Tyr Gly Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 502

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 102 CDRH3

<400> 502

Gly Met Ser Tyr Gly Tyr Gly Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 503

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 103 CDRH3

<400> 503

Gly Gly Arg Tyr Asn His Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 504
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 104 CDRH3

<400> 504

Glu	Tyr	Tyr	Gln	Gly	Tyr	Gly	Pro	Tyr	Arg	Ser	Thr	Tyr	Gly	Leu	Asp
1			5					10					15		

Tyr

<210> 505
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic HER2 binding clone 105 CDRH3

<400> 505

Ser	Ser	Trp	Ser	Ser	Arg	Gly	Val	Ser	Tyr	Ser	Arg	Thr	Ala	Gly	Gly
1			5					10					15		

Met Asp Tyr

<210> 506
<211> 20
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> synthetic HER2 binding clone 106 CDRH3

<400> 506

Glu	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Val	Ser	Gly	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Thr	Arg	Gly
1				5					10					15	

Gly	Pro	Asp	Tyr
			20

<210> 507

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 1 CDRL3

<400> 507

Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Ser	Thr
1				5				

<210> 508

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 2 CDRL3

<400> 508

Gln	Gln	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Pro	Ser	Thr
1				5				

<210> 509

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 3 CDRL3

<400> 509

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 510
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 4 CDRL3

<400> 510

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 511
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 5 CDRL3

<400> 511

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 512
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 6 CDRL3

<400> 512

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 513

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 7 CDRL3

<400> 513

Gln Gln Tyr Ser Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 514

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 8 CDRL3

<400> 514

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 515

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 9 CDRL3

<400> 515

Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Pro Ser Thr

1 5

<210> 516
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 10 CDRL3

<400> 516

Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr
1 5

<210> 517
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 11 CDRL3

<400> 517

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 518
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 12 CDRL3

<400> 518

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 519
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 13 CDRL3

<400> 519

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 520
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 14 CDRL3

<400> 520

Gln Gln Tyr Ser Ser Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 521
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 15 CDRL3

<400> 521

Gln Gln Ser Ser Tyr Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 522
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 16 CDRL3

<400> 522

Gln	Gln	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Pro	Ser	Thr
1				5				

<210> 523

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 17 CDRL3

<400> 523

Gln	Gln	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Pro	Ser	Thr
1				5				

<210> 524

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 1 CDRH1

<400> 524

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 525

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 2 CDRH1

<400> 525

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 526

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 3 CDRH1

<400> 526

Gly	Phe	Tyr	Ile	Tyr	Ser	Tyr	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 527

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 4 CDRH1

<400> 527

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 528

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 5 CDRH1

<400> 528

Gly Phe Ser Ile Tyr Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 529

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 6 CDRH1

<400> 529

Gly Phe Tyr Ile Ser Tyr Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 530

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 7 CDRH1

<400> 530

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 531

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 8 CDRH1

<400> 531

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Ser Ile His

1 5 10

<210> 532
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 9 CDRH1

<400> 532

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 533
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 10 CDRH1

<400> 533

Gly Phe Tyr Ile Tyr Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 534
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 11 CDRH1

<400> 534

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Ile His
1 5 10

<210> 535
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 12 CDRH1

<400> 535

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 536
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 13 CDRH1

<400> 536

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 537
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 14 CDRH1

<400> 537

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 538
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 15 CDRH1

<400> 538

Gly	Phe	Tyr	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 539

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 16 CDRH1

<400> 539

Gly	Phe	Tyr	Ile	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 540

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 17 CDRH1

<400> 540

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 541

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 1 CDRH2

<400> 541

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

Gly

<210> 542

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 2 CDRH2

<400> 542

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

Gly

<210> 543

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 3 CDRH2

<400> 543

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

Gly

<210> 544
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 4 CDRH2

<400> 544

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

Gly

<210> 545
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 5 CDRH2

<400> 545

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

Gly

<210> 546
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 6 CDRH2

<400> 546

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

Gly

<210> 547

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 7 CDRH2

<400> 547

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

Gly

<210> 548

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 8 CDRH2

<400> 548

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

Gly

<210> 549
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 9 CDRH2

<400> 549

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

Gly

<210> 550
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 10 CDRH2

<400> 550

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

Gly

<210> 551
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 11 CDRH2

<400> 551

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

Gly

<210> 552

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 12 CDRH2

<400> 552

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

Gly

<210> 553

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 13 CDRH2

<400> 553

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

Gly

<210> 554
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 14 CDRH2

<400> 554

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

Gly

<210> 555
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 15 CDRH2

<400> 555

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

Gly

<210> 556
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 16 CDRH2

<400> 556

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

Gly

<210> 557

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 17 CDRH2

<400> 557

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

Gly

<210> 558

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic DR5 binding clone 1 CDRH3

<400> 558

Arg	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Arg	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 559

<211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 2 CDRH3

<400> 559

Arg	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ser	Tyr	Arg	Ser	Ser	Ser	Tyr	Gly	Met	Asp	Tyr
1			5					10						15	

<210> 560
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 3 CDRH3

<400> 560

Tyr	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Leu	Asp	Tyr
1			5					10						15	

<210> 561
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 4 CDRH3

<400> 561

Arg	Arg	Tyr	Ser	Arg	Tyr	Tyr	Arg	Tyr	Ser	Ser	Arg	Tyr	Arg	Gly	Phe
1			5					10						15	

Asp Tyr

<210> 562
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 5 CDRH3

<400> 562

Tyr	Arg	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Gly	Tyr	Gly	Phe	Asp
1				5					10					15	

Tyr

<210> 563
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 6 CDRH3

<400> 563

Tyr	Arg	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Arg	Gly	Ser	Tyr	Ala	Leu	Asp
1				5					10					15	

Tyr

<210> 564
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 7 CDRH3

<400> 564

Tyr Arg Ser Tyr Arg Tyr Gly Ser Tyr Arg Gly Ser Tyr Gly Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 565
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 8 CDRH3

<400> 565

Tyr Arg Ser Tyr Arg Tyr Gly Ser Tyr Tyr Gly Ser Tyr Gly Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 566
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 9 CDRH3

<400> 566

Tyr Arg Arg Tyr Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Gly Gly Tyr Gly Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 567
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 10 CDRH3

<400> 567

Tyr	Arg	Arg	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Gly	Tyr	Gly	Phe	Asp
1				5					10					15	

Tyr

<210> 568
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 11 CDRH3

<400> 568

Tyr	Arg	Arg	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	Ala	Phe	Asp
1				5					10					15	

Tyr

<210> 569
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 12 CDRH3

<400> 569

Tyr Arg Arg Tyr Arg Tyr Gly Tyr Ser Tyr Gly Ser Tyr Gly Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 570
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 13 CDRH3

<400> 570

Tyr Arg Gly Tyr Arg Tyr Gly Tyr Tyr Arg Gly Gly Tyr Ala Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 571
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic DR5 binding clone 14 CDRH3

<400> 571

Arg Arg Tyr Tyr Arg Tyr Gly Tyr Ser Arg Gly Ser Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 572
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 15 CDRH3

<400> 572

Arg	Arg	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Arg	Gly	Ser	Tyr	Ala	Phe	Asp
1				5					10					15	

Tyr

<210> 573
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 16 CDRH3

<400> 573

Arg	Arg	Pro	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Arg	Ser	Arg	Gly	Tyr	Tyr	Ala	Phe	Asp
1				5					10					15	

Tyr

<210> 574
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic DR5 binding clone 17 CDRH3

<400> 574

Met Arg Arg Tyr His Tyr Gly Arg Tyr Ser Gly Ala Tyr Gly Leu Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 575
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X is either R or Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (10)..(10)
<223> X is either Y or R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14)..(14)
<223> X is either R or Y

<400> 575

Xaa Arg Ser Tyr Arg Tyr Gly Ser Tyr Xaa Gly Ser Tyr Xaa Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 576
<211> 10
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 576

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 577

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 577

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

Gly

<210> 578

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 578

Tyr	Arg	Ser	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Gly	Ser	Tyr	Gly	Phe	Asp
1				5					10					15	

Tyr

<210> 579
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 579

Gly Phe Tyr Ile Tyr Ser Ser Ser Ile His
 1 5 10

<210> 580
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 580

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

Gly

<210> 581
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 581

Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Gly Ser Tyr Arg Gly Ser Tyr Ala Phe Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 582
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> X is either R or Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (2)..(2)
<223> X is either R, S, or Y

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (3)..(3)
<223> X is either S, G, Y, or H

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X is either S, G, Y, or R

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(5)
<223> X is either G or A

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X is either F, M, L, or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X is either F, M, L, or no amino acid

<400> 582

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
 1 5

<210> 583
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is either G, S, or Y

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X is either Y, S, G, R, A, or M

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either G, R, S, or Y

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is either F, G, or Y

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is either G, N, S, or Y

<220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)
 <223> X is either H, R, W, or Y

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X is either A or G

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is either F, I, L, or M

<400> 583

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 584
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is either Y, S, R, G, or E

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X is either Y, S, R, or G

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either S, Y, G, or W

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)

<223> X is either S, Y, G, or W

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> X is either G, Y, or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (6)..(6)

<223> X is either G, Y, S, R, or V

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (7)..(7)

<223> X is either S, Y, G, or R

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X is either Y, S, G, R, P, or V

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> X is either G, A, R, S, or Y

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X is either M, F, G, Y, S, or R

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (11)..(11)

<223> X is either A, G, R, S, Y, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (12)..(12)

<223> X is either A, F, G, I, L, M, R, S, T, Y, or no amino acid

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> X is either A, F, G, L, M, S, T, Y, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> X is either L, M, F, I, G, Y, A, T, or no amion acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> X is either M, L, Y, G, R, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> X is either G, Y, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> X is either G, R, M, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> X is either A, P, or no amino acid

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (19)..(19)
 <223> X is either L or no amino acid

<400> 584

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
 20

<210> 585
 <211> 6
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
<223> synthetic sequence upstream of transcription initiation

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> N can be any nucleotide

<400> 585
cncaat

6

<210> 586
<211> 6
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic signal

<400> 586
aataaa

6

<210> 587
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (6)..(6)
<223> X is either Y or S

<400> 587

Gln Gln Ser Tyr Tyr Xaa Pro Ser Thr
1 5

<210> 588

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is independently either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is independently either Y or S

<400> 588

Gly	Phe	Ser	Ile	Xaa	Xaa	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 589
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is independently either Y or S

<400> 589

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

Gly

<210> 590
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either Y or S

<400> 590

Gly	Phe	Xaa	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 591
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is independently either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is independently either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X is independently either Y or S

<400> 591

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

Gly

<210> 592

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X is either Y, S, or R

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> X is either Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X is either G, Y, or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> X is either Y, S, R, or G

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X is either Y, S, or G

<220>

<221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> X is either Y, S, G, or R

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (13)..(13)
 <223> X is either G or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> X is either M, I, F, or L

<400> 592

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Xaa	Gly	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr
1				5					10					15	

<210> 593
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either Y or S

<400> 593

Gly	Phe	Xaa	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5				10	

<210> 594
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X is independently Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X is independently Y or S

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X is independently Y or S

<400> 594

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

Gly

<210> 595

<211> 184

<212> PRT

<213> homo sapiens

<400> 595

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

Tyr	Lys	Asp	Asp	Asp	Asp	Lys	Leu	Ser	Ala	Leu	Ile	Thr	Gln	Gln	Asp
		20					25						30		

Leu	Ala	Pro	Gln	Gln	Arg	Val	Ala	Pro	Gln	Gln	Lys	Arg	Ser	Ser	Pro
		35					40				45				

Ser Glu Gly Leu Cys Pro Pro Gly His His Ile Ser Glu Asp Gly Arg
50 55 60

Asp Cys Ile Ser Cys Lys Tyr Gly Gln Asp Tyr Ser Thr His Trp Asn
65 70 75 80

Asp Leu Leu Phe Cys Leu Arg Cys Thr Arg Cys Asp Ser Gly Glu Val
85 90 95

Glu Leu Ser Pro Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Val Cys Gln Cys Glu
100 105 110

Glu Gly Thr Phe Arg Glu Glu Asp Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys
115 120 125

Arg Thr Gly Cys Pro Arg Gly Met Val Lys Val Gly Asp Cys Thr Pro
130 135 140

Trp Ser Asp Ile Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Thr Lys His Ser
145 150 155 160

Gly Glu Ala Pro Ala Val Glu Glu Thr Val Thr Ser Ser Pro Gly Thr
165 170 175

Pro Ala Ser Pro Cys Ser Leu Ser
180

<210> 596
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<220>
<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)
 <223> X is either Y, S, R, P, or G

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is either R, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> X is either G, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X is either S, Y, or R

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> X is either G or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> X is either L or F

<400> 596

Tyr	Arg	Xaa	Tyr	Arg	Tyr	Gly	Xaa	Xaa	Xaa	Gly	Ser	Tyr	Xaa	Xaa	Asp
1			5						10					15	

Tyr

<210> 597
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is independently Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is independently Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is independently Y or S

<400> 597

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 598
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is independently either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is independently either Y or S

<400> 598

Gly Phe Xaa Ile Xaa Ser Ser Ser Ile His
 1 5 10

<210> 599
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is independently either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is independently either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is independently either Y or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X is independently either Y or S

<400> 599

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

Gly

<210> 600
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic BDF1 CDRH1

<400> 600

Ile Gly Lys Ser Gly Ile His
1 5

<210> 601

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic BDF1 CDRH2

<400> 601

Val Ala Val Ile Tyr Pro His Asp Gly Asn Thr Ala Tyr Ala
1 5 10

<210> 602

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic BDF1 CDRH3

<400> 602

Arg Leu Ala Leu Val Arg Met Trp Met Asp
1 5 10

<210> 603

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 603

Tyr Ser Ser Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Ser Ser Ser Ser Tyr Ser Tyr
1 5 10 15

<210> 604

<211> 411

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 604

Met Glu Gln Arg Gly Gln Asn Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala Arg Lys
1 5 10 15

Arg His Gly Pro Gly Pro Arg Glu Ala Arg Gly Ala Arg Pro Gly Leu
20 25 30

Arg Val Pro Lys Thr Leu Val Leu Val Val Ala Ala Val Leu Leu Leu
35 40 45

Val Ser Ala Glu Ser Ala Leu Ile Thr Gln Gln Asp Leu Ala Pro Gln
50 55 60

Gln Arg Ala Ala Pro Gln Gln Lys Arg Ser Ser Pro Ser Glu Gly Leu
65 70 75 80

Cys Pro Pro Gly His His Ile Ser Glu Asp Gly Arg Asp Cys Ile Ser
85 90 95

Cys Lys Tyr Gly Gln Asp Tyr Ser Thr His Trp Asn Asp Leu Leu Phe
100 105 110

Cys Leu Arg Cys Thr Arg Cys Asp Ser Gly Glu Val Glu Leu Ser Pro
115 120 125

Cys Thr Thr Thr Arg Asn Thr Val Cys Gln Cys Glu Glu Gly Thr Phe

130

135

140

Arg Glu Glu Asp Ser Pro Glu Met Cys Arg Lys Cys Arg Thr Gly Cys
145 150 155 160

Pro Arg Gly Met Val Lys Val Gly Asp Cys Thr Pro Trp Ser Asp Ile
165 170 175

Glu Cys Val His Lys Glu Ser Gly Ile Ile Ile Gly Val Thr Val Ala
180 185 190

Ala Val Val Leu Ile Val Ala Val Phe Val Cys Lys Ser Leu Leu Trp
195 200 205

Lys Lys Val Leu Pro Tyr Leu Lys Gly Ile Cys Ser Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Asp Pro Glu Arg Val Asp Arg Ser Ser Gln Arg Pro Gly Ala Glu Asp
225 230 235 240

Asn Val Leu Asn Glu Ile Val Ser Ile Leu Gln Pro Thr Gln Val Pro
245 250 255

Glu Gln Glu Met Glu Val Gln Glu Pro Ala Glu Pro Thr Gly Val Asn
260 265 270

Met Leu Ser Pro Gly Glu Ser Glu His Leu Leu Glu Pro Ala Glu Ala
275 280 285

Glu Arg Ser Gln Arg Arg Arg Leu Leu Val Pro Ala Asn Glu Gly Asp
290 295 300

Pro Thr Glu Thr Leu Arg Gln Cys Phe Asp Asp Phe Ala Asp Leu Val
305 310 315 320

Pro Phe Asp Ser Trp Glu Pro Leu Met Arg Lys Leu Gly Leu Met Asp
325 330 335

Asn Glu Ile Lys Val Ala Lys Ala Glu Ala Ala Gly His Arg Asp Thr
340 345 350

Leu Tyr Thr Met Leu Ile Lys Trp Val Asn Lys Thr Gly Arg Asp Ala
355 360 365

Ser Val His Thr Leu Leu Asp Ala Leu Glu Thr Leu Gly Glu Arg Leu
370 375 380

Ala Lys Gln Lys Ile Glu Asp His Leu Leu Ser Ser Gly Lys Phe Met
385 390 395 400

Tyr Leu Glu Gly Asn Ala Asp Ser Ala Leu Ser
405 410

<210> 605
<211> 120
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 605

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

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

Asp Tyr Thr Ser His Ser Asn His Ser Leu Asp Ser Cys Ile Leu Cys
35 40 45

Thr Val Cys Lys Glu Asp Lys Val Val Glu Thr Arg Cys Asn Ile Thr
50 55 60

Thr Asn Thr Val Cys Arg Cys Lys Pro Gly Thr Phe Glu Asp Lys Asp
65 70 75 80

Ser Pro Glu Ile Cys Gln Ser Cys Ser Asn Cys Thr Asp Gly Glu Glu
85 90 95

Glu Leu Thr Ser Cys Thr Pro Arg Glu Asn Arg Lys Cys Val Ser Lys
100 105 110

Thr Ala Trp Ala Ser Trp His Lys
115 120

<210> 606

<211> 281

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 606

Met Ala Met Met Glu Val Gln Gly Gly Pro Ser Leu Gly Gln Thr Cys
1 5 10 15

Val Leu Ile Val Ile Phe Thr Val Leu Leu Gln Ser Leu Cys Val Ala
20 25 30

Val Thr Tyr Val Tyr Phe Thr Asn Glu Leu Lys Gln Met Gln Asp Lys
35 40 45

Tyr Ser Lys Ser Gly Ile Ala Cys Phe Leu Lys Glu Asp Asp Ser Tyr
50 55 60

Trp Asp Pro Asn Asp Glu Glu Ser Met Asn Ser Pro Cys Trp Gln Val
65 70 75 80

Lys Trp Gln Leu Arg Gln Leu Val Arg Lys Met Ile Leu Arg Thr Ser
85 90 95

Glu Glu Thr Ile Ser Thr Val Gln Glu Lys Gln Gln Asn Ile Ser Pro
100 105 110

Leu Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly
115 120 125

Thr Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu
130 135 140

Lys Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly
145 150 155 160

His Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile
165 170 175

His Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe
180 185 190

Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln
195 200 205

Tyr Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys
210 215 220

Ser Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr
225 230 235 240

Ser Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile
245 250 255

Phe Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala
260 265 270

Ser Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
275 280

<210> 607
<211> 168
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic Apo-2L

<400> 607

Val Arg Glu Arg Gly Pro Gln Arg Val Ala Ala His Ile Thr Gly Thr
1 5 10 15

Arg Gly Arg Ser Asn Thr Leu Ser Ser Pro Asn Ser Lys Asn Glu Lys
20 25 30

Ala Leu Gly Arg Lys Ile Asn Ser Trp Glu Ser Ser Arg Ser Gly His
35 40 45

Ser Phe Leu Ser Asn Leu His Leu Arg Asn Gly Glu Leu Val Ile His
50 55 60

Glu Lys Gly Phe Tyr Tyr Ile Tyr Ser Gln Thr Tyr Phe Arg Phe Gln
65 70 75 80

Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys Gln Met Val Gln Tyr
85 90 95

Ile Tyr Lys Tyr Thr Ser Tyr Pro Asp Pro Ile Leu Leu Met Lys Ser
100 105 110

Ala Arg Asn Ser Cys Trp Ser Lys Asp Ala Glu Tyr Gly Leu Tyr Ser
115 120 125

Ile Tyr Gln Gly Gly Ile Phe Glu Leu Lys Glu Asn Asp Arg Ile Phe
130 135 140

Val Ser Val Thr Asn Glu His Leu Ile Asp Met Asp His Glu Ala Ser
145 150 155 160

Phe Phe Gly Ala Phe Leu Val Gly
165

<210> 608
<211> 6
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(3)
<223> X are any amino acid, except cysteine

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (4)..(4)
<223> X is any amino acid, except cysteine and can vary in length

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (5)..(6)
<223> X are any amino acids, except cysteine

<400> 608

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5

<210> 609
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(5)

<223> X is S or any one of Y, W, R, or F

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 609

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr
1 5

<210> 610

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> X are any amino acid, except cysteine

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220>

<221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 610

Gln Gln Xaa Xaa Xaa Xaa Pro Xaa Thr

1 5

<210> 611
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(17)
<223> X is S and one of A, C, F, G, I, L, W, P, R, T, W, or Y, or are
not present

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (18)..(18)
<223> X is G or A, or is not present

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (19)..(19)
<223> X is F, L, I, or M, or is not present

<400> 611

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa

<210> 612
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is S and one of Y, W, R, or F

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(8)
 <223> X is S and one of Y, W, R, or F

<400> 612

Gly	Phe	Xaa	Ile	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Ile	His
1			5					10	

<210> 613
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is S and one of Y, W, R, or F

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is S and one of Y, W, R, or F

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(6)
 <223> X is S and one of Y, W, R, or F

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is S and one of Y, W, R, or F

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X is S and one of Y, W, R, or F

<400> 613

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

Gly

<210> 614
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(5)
 <223> X is any naturally occurring amino acid, except cysteine

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (6)..(8)
 <223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 614

Gly	Phe	Xaa	Ile	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Ile	His
1			5					10	

<210> 615
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> X is any amino acid, except cysteine

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> X is any amino acid, except cysteine

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (5)..(6)

<223> X is any amino acid, except cysteine

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> X is any amino acid, except cysteine

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> X is any amino acid, except cysteine

<400> 615

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

Gly

<210> 616

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(5)
 <223> X is any amino acid, except cystine

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is any amino acid, except cysteine, and can vary in length

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(8)
 <223> X is any amino acid, except cysteine

<400> 616

Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Xaa	Asp	Tyr
1				5					10

<210> 617
 <211> 21
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(1)
 <223> X is either Y, S, G, R, or E

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (2)..(2)
 <223> X is either Y, S, G, R, M, or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (3)..(3)
 <223> X is either Y, S, G, R, W, or H

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (4)..(4)
 <223> X is either Y, S, G, R, F, or Q

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (5)..(5)
 <223> X is either G, Y, N, A, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (6)..(6)
 <223> X is either F, M, L, A, R, G, H, W, V, Y, or S

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (7)..(7)
 <223> X is either M, L, G, A, R, F, Y, or S, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (8)..(8)
 <223> X is either M, L, F, I, R, G, P, V, Y, or S, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (9)..(9)
 <223> X is either G, Y, R, or S, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (10)..(10)
 <223> X is either M, F, G, Y, R, or S, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (11)..(11)
 <223> X is either A, G, Y, R, or S, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (12)..(12)
 <223> X is either I, M, F, A, G, R, T, Y, or S, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)
 <223> X is either F, M, L, G, A, T, Y, or S, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (14)..(14)
 <223> X is either L, F, M, I, G, A, T, or Y, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> X is either M, Y, G, L, or R, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (16)..(16)
 <223> X is either Y or G, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (17)..(17)
 <223> X is either R, M, or G, or is not present

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (18)..(18)
 <223> X is either G or A

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (19)..(19)
 <223> X is either F, M, L, or I

<400> 617

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Asp Tyr
 20

<210> 618
 <211> 48
 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 618

gcagcttctg gcttctmtat ttmttttmt tmtatacact gggtgcgt 48

<210> 619

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 619

ctggaatggg ttgcatmtat ttmtccatmt tmtggtmta cttmttatgc cgatagcgtc 60

<210> 620

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 620

acttattact gtcagcaatm ttmttttmt ccatmtacgt tcggacaggg tacc 54

<210> 621

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 621

gtctattatt gtgetcgekc tkctkctket gstwtkgact actggggtca agga 54

<210> 622
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 622
 gtctattatt gtgctcgckc tkctkctkct kctgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 623
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 623
 gtctattatt gtgctcgckc tkctkctkct kctkctgstw tkgactactg ggggtcaagga 60

<210> 624
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 624
 gtctattatt gtgctcgckc tkctkctkct kctkctkctg stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 625
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 625
gtctattatt gtgctcgckc tkctkctket kctkctkctk ctgstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 626
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 626
gtctattatt gtgctcgckc tkctkctket kctkctkctk ctkctgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 627
<211> 72
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 627
gtctattatt gtgctcgckc tkctkctket kctkctkctk ctkctkctgs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 628
<211> 75
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 628

gtctattatt gtgctcgckc tktkctkct kctkctkctk ctkctkctkc tgstwtkgac	60
tactggggtc aagga	75
<210> 629 <211> 78 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 629 gtctattatt gtgctcgckc tktkctkct kctkctkctk ctkctkctkc tktgstwtk	60
gactactggg gtcaagga	78
<210> 630 <211> 81 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 630 gtctattatt gtgctcgckc tktkctkct kctkctkctk ctkctkctkc tktkctgst	60
wtkgactact ggggtcaagg a	81
<210> 631 <211> 84 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 631 gtctattatt gtgctcgckc tktkctkct kctkctkctk ctkctkctkc tktkctkct	60

gstwtkgact actggggtca agga	84
<210> 632	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 632	
gtctattatt gtgctcgckc tkctkctket kctkctkctk ctkctkctkc tkctkctket	60
kctgstwtkg actactgggg tcaagga	87
<210> 633	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 633	
gtctattatt gtgctcgckc tkctkctket kctkctkctk ctkctkctkc tkctkctket	60
kctkctgstw tkgactactg ggggtcaagga	90
<210> 634	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 634	
gtctattatt gtgctcgckc tkctkctket kctkctkctk ctkctkctkc tkctkctket	60
kctkctkctg stwtkgacta ctggggtcaa gga	93

<210> 635
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 635
 gtctattatt gtgctcgcts ctsctsetsc gswtkgact actgggggtca agga 54

<210> 636
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 636
 gtctattatt gtgctcgcts ctsctsetsc tscgswtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 637
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 637
 gtctattatt gtgctcgcts ctsctsetsc tsctscgsw tkgactactg gggtcaagga 60

<210> 638
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 638
gtctattatt gtgctcgcts ctsctsetsc tsctsetscg stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 639
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 639
gtctattatt gtgctcgcts ctsctsetsc tsctsetset scgstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 640
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 640
gtctattatt gtgctcgcts ctsctsetsc tsctsetset sctscgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 641
<211> 72
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 641
gtctattatt gtgctcgcts ctsctsetsc tsctsetset sctsetscgs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 642
<211> 75
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 642
gtctattatt gtgctcgcts ctscctctsc tsctscstct scstscstcs cgstwtkgac 60

tactggggtc aagga 75

<210> 643
<211> 78
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 643
gtctattatt gtgctcgcts ctscctctsc tsctscstct scstscstcs ctscgstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 644
<211> 81
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 644
gtctattatt gtgctcgcts ctscctctsc tsctscstct scstscstcs ctscstcgst 60

wtkgactact ggggtcaagg a	81
<210> 645	
<211> 84	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 645	
gtctattatt gtgctcgctc ctscctctsc tsctscctsc scctscctsc ctscctctsc	60
gstwtkgact actggggtca agga	84
<210> 646	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 646	
gtctattatt gtgctcgctc ctscctctsc tsctscctsc scctscctsc ctscctctsc	60
tscgstwtkg actactgggg tcaagga	87
<210> 647	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 647	
gtctattatt gtgctcgctc ctscctctsc tsctscctsc scctscctsc ctscctctsc	60
tsctscgstw tkgactactg ggggtcaagga	90

<210> 648
 <211> 93
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 648
 gtctattatt gtgctcgctc ctsctcctsc tsctcctcct scctcctcctc ctsctcctsc 60

tsctcctcscg stwtkgacta ctgggggtcaa gga 93

<210> 649
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 649
 gtctattatt gtgctcgcty ctyctyctyc gstwtkgact actgggggtca agga 54

<210> 650
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 650
 gtctattatt gtgctcgcty ctyctyctyc tycgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 651
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 651

gtctattatt gtgctcgcty cttyctyctyc tyctycgstw tkgactactg gggtaagga 60

<210> 652

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 652

gtctattatt gtgctcgcty cttyctyctyc tyctyctygc stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga

63

<210> 653

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 653

gtctattatt gtgctcgcty cttyctyctyc tyctyctyct ycgstwtkga ctactggggt 60

caagga

66

<210> 654

<211> 69

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 654

gtctattatt gtgctcgcty cttyctyctyc tyctyctyct yctycgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 655
<211> 72
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 655
gtctattatt gtgctcgcty ctyctyctyc tyctyctyct yctyctycgs twtkgactac 60

tgggggtcaag ga 72

<210> 656
<211> 75
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 656
gtctattatt gtgctcgcty ctyctyctyc tyctyctyct yctyctycty cgstwtkgac 60

tactgggggtc aagga 75

<210> 657
<211> 78
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 657
gtctattatt gtgctcgcty ctyctyctyc tyctyctyct yctyctycty ctycgstwtk 60

gactactggg gtcaagga	78
<210> 658	
<211> 81	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 658	
gtctattatt gtgctcgcty ctctctctyc tyctctctct yctctctcty ctctctcgst	60
wtkgactact ggggtcaagg a	81
<210> 659	
<211> 84	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 659	
gtctattatt gtgctcgcty ctctctctyc tyctctctct yctctctcty ctctctctyc	60
gstwtkgact actgggggtca agga	84
<210> 660	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 660	
gtctattatt gtgctcgcty ctctctctyc tyctctctct yctctctcty ctctctctyc	60
tycgstwtkg actactgggg tcaagga	87

<210> 661
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 661
 gtctattatt gtgctcgcty ctyctyctyc tyctyctyct yctyctycty ctyctyctyc 60

tyctyctgstw tkgactactg ggggtcaagga 90

<210> 662
 <211> 93
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 662
 gtctattatt gtgctcgcty ctyctyctyc tyctyctyct yctyctycty ctyctyctyc 60

tyctyctycg stwtkgacta ctgggggtcaa gga 93

<210> 663
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 663
 gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gc gstwtkgact actgggggtca agga 54

<210> 664
 <211> 57
 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 664

gtctattatt gtgctcgcrgrg crgcrgrgrgc rgcgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 665

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 665

gtctattatt gtgctcgcrgrg crgcrgrgrgc rgcrgcgstw tkgactactg gggtaagga 60

<210> 666

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 666

gtctattatt gtgctcgcrgrg crgcrgrgrgc rgcrgcrgcg stwtkgacta ctggggtaaa 60

gga 63

<210> 667

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 667

gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrcr gcgstwtkga ctactgggt	60
caagga	66
<210> 668 <211> 69 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 668 gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrcr gcrgcgstwt kgactactgg	60
ggtcaagga	69
<210> 669 <211> 72 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 669 gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrcr gcrgcrgcs twtkgactac	60
tggggtcaag ga	72
<210> 670 <211> 75 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 670 gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrcr gcrgcrgcr cgstwtkgac	60

tactggggtc aagga	75
<210> 671	
<211> 78	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 671	
gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrgc rgcrgrgcr gcrgcrgrgc crgcgstwtk	60
gactactggg gtcaagga	78
<210> 672	
<211> 81	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 672	
gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrgc rgcrgrgcr gcrgcrgrgc crgcrgcgst	60
wtkgactact ggggtcaagg a	81
<210> 673	
<211> 84	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 673	
gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrgc rgcrgrgcr gcrgcrgrgc crgcrgcr gc	60
gstwtkgact actggggtca agga	84

<210> 674
 <211> 87
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 674
 gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrgcrg crgcrgrgcrgc 60

rgcgstwtkg actactgggg tcaagga 87

<210> 675
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 675
 gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrgcrg crgcrgrgcrgc 60

rgcrgcgstw tkgactactg ggggtcaagga 90

<210> 676
 <211> 93
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 676
 gtctattatt gtgctcgcr gcrgrgcr gcrgcrgrgcrg crgcrgrgcrgc 60

rgcrgcrgcg stwtkgacta ctggggtcaa gga 93

<210> 677

<211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 677
 gtctattatt gtgctcgcak cackcackc gstwtkgact actgggtca agga 54

<210> 678
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 678
 gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 679
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 679
 gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackgstw tkgactactg gggtcaagga 60

<210> 680
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 680
 gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackcag stwtkgacta ctgggtcaa 60

gga 63

<210> 681
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 681
gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackakca kcgstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 682
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 682
gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackakca kcakcgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 683
<211> 72
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 683
gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackakca kcakcakgs twtkgactac 60

tggggtcaag ga	72
<210> 684	
<211> 75	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 684	
gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackacka kackcackc cgstwtkgac	60
tactggggtc aagga	75
<210> 685	
<211> 78	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 685	
gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackacka kackcackc cakcgstwtk	60
gactactggg gtcaagga	78
<210> 686	
<211> 81	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 686	
gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackacka kackcackc cackcackgst	60
wtkgactact ggggtcaagg a	81

<210> 687
 <211> 84
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 687
 gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackacka kcackackak cackcackc 60

gstwtkgact actggggtca agga 84

<210> 688
 <211> 87
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 688
 gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackacka kcackackak cackcackc 60

akcgstwtkg actactgggg tcaagga 87

<210> 689
 <211> 90
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 689
 gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackacka kcackackak cackcackc 60

akcakcgstw tkgactactg gggtaagga 90

<210> 690

<211> 93
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 690
 gtctattatt gtgctcgcak cackcackc akcackacka kcackackak cackcackc 60

akcackackg stwtkgacta ctgggggtcaa gga 93

<210> 691
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 691
 gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya gstwtkgact actgggggtca agga 54

<210> 692
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 692
 gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyagstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 693
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 693
gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyagstw tkgactactg gggccaagga 60

<210> 694
<211> 63
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 694
gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyag stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 695
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 695
gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yagstwtkgactactgggt 60

caagga 66

<210> 696
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 696
gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyagstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 697
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 697
 gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyatyags twtkgactac 60

tgggggtcaag ga 72

<210> 698
 <211> 75
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 698
 gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyatyaty agstwtkgac 60

tactgggggtc aagga 75

<210> 699
 <211> 78
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 699
 gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyatyaty atyagstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 700
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 700
 gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyatyaty atyatyagst 60

wtkgactact ggggtcaagg a 81

<210> 701
 <211> 84
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 701
 gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyatyaty atyatyatya 60

gstwtkgact actgggggtca agga 84

<210> 702
 <211> 87
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 702
 gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyatyaty atyatyatya 60

tyagstwtkg actactgggg tcaagga 87

<210> 703
 <211> 90
 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 703

gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyatyaty atyatyatya 60

tyatyagstw tkgactactg ggggtcaagga 90

<210> 704

<211> 93

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 704

gtctattatt gtgctcgcty atyatyatya tyatyatyat yatyatyaty atyatyatya 60

tyatyatyag stwtkgacta ctgggggtcaa gga 93

<210> 705

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 705

gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc gstwtkgact actgggggtca agga 54

<210> 706

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 706
gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 707
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 707
gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcrcgstw tkgactactg gggtcaagga 60

<210> 708
<211> 63
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 708
gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcrcrcrg stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 709
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 709
gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcrcarca rcgstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 710
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 710
 gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcrcarca rcrcgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 711
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 711
 gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcrcarca rcrcrcgcs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 712
 <211> 75
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 712
 gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcrcarca rcrcrcar cgstwtkgac 60

tactggggtc aagga 75

<210> 713

<211> 78
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 713
 gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcarcarca rcarcrcar carcgstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 714
 <211> 81
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 714
 gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcarcarca rcarcrcar carcarcgst 60

wtkgactact ggggtcaagg a 81

<210> 715
 <211> 84
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 715
 gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcarcarca rcarcrcar carcarcarc 60

gstwtkgact actgggggtca agga 84

<210> 716
 <211> 87
 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 716

gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcarcarca rcarcrcar carcarcarc 60

arcgstwtkg actactgggg tcaagga

87

<210> 717

<211> 90

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 717

gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcarcarca rcarcrcar carcarcarc 60

arcarcgstw tkgactactg gggtaagga

90

<210> 718

<211> 93

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 718

gtctattatt gtgctcgcar carcarcarc arcarcarca rcarcrcar carcarcarc 60

arcarcrcg stwtkgacta ctggggtcaa gga

93

<210> 719

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 719

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct gstwtkgact actggggtca agga 54

<210> 720

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 720

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 721

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 721

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctgstw tkgactactg gggtcaagga 60

<210> 722

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 722

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctyctg stwtkgacta ctggggtcaa 60

gga

63

<210> 723
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 723
 gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty ctgstwtkga ctactgggt 60

caagga 66

<210> 724
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 724
 gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty ctyctgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 725
 <211> 72
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 725
 gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty ctyctyctgs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 726
 <211> 75
 <212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 726

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty ctyctyctyc tgstwtkgac 60

tactggggtc aagga

75

<210> 727

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 727

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty ctyctyctyc tyctgstwtk 60

gactactggg gtcaagga

78

<210> 728

<211> 81

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 728

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty ctyctyctyc tyctyctgst 60

wtkgactact ggggtcaagg a

81

<210> 729

<211> 84

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 729

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty cttyctyctyc tyctyctyct 60

gstwtkgact actggggtca agga 84

<210> 730

<211> 87

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 730

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty cttyctyctyc tyctyctyct 60

yctgstwtkg actactgggg tcaagga 87

<210> 731

<211> 90

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 731

gtctattatt gtgctcgyc tyctyctyct yctyctycty cttyctyctyc tyctyctyct 60

yctyctgstw tkgactactg gggtaagga 90

<210> 732

<211> 93

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 732
gtctattatt gtgctcgcyt tyctyctyct yctyctycty cttyctyctyc tyctyctyct 60

yctyctyctg stwtkgacta ctgggggtcaa gga 93

<210> 733
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 733
gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc gstwtkgact actgggggtca agga 54

<210> 734
<211> 57
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 734
gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 735
<211> 60
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 735
gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcgstw tkgactactg gggtaagga 60

<210> 736
<211> 63

<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 736
gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcg stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 737
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 737
gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcgstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 738
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 738
gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 739
<211> 72
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 739

gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcmgcgs twtkgactac 60

tggggtcaag ga

72

<210> 740

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 740

gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcmgcg cgstwtkgac 60

tactggggtc aagga

75

<210> 741

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 741

gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcmgcg cmgcgstwtk 60

gactactggg gtcaagga

78

<210> 742

<211> 81

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 742

gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcmgcm cmgcmgcmgst 60

wtkgactact ggggtcaagg a 81

<210> 743

<211> 84

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 743

gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcmgcm cmgcmgcmgc 60

gstwtkgact actggggtca agga 84

<210> 744

<211> 87

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 744

gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcmgcm cmgcmgcmgc 60

mgcgstwtkg actactgggg tcaagga 87

<210> 745

<211> 90

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 745
gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcmgcm cmgcmgcmgc 60

mgcmgcmgstw tkgactactg gggccaagga 90

<210> 746
<211> 93
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 746
gtctattatt gtgctcgcmg cmgcmgcmgc mgcmgcmgcm gcmgcmgcm cmgcmgcmgc 60

mgcmgcmgcg stwtkgacta ctggggca gga 93

<210> 747
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 747
gtctattatt gtgctcgcas cascascasc gstwtkgact actggggca agga 54

<210> 748
<211> 57
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 748
gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 749

<211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 749
 gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascgstw tkgactactg gggtaagga 60

<210> 750
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 750
 gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascascg stwtkgacta ctggggtaaa 60

gga 63

<210> 751
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 751
 gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scgstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 752
 <211> 69
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 752

gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 753

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 753

gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascascgs twtkgactac 60

tgggggtcaag ga 72

<210> 754

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 754

gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascascas cgstwtkgac 60

tactgggggtc aagga 75

<210> 755

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 755
gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascascas cascgstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 756
<211> 81
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 756
gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascascas cascascgst 60

wtkgactact ggggtcaagg a 81

<210> 757
<211> 84
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 757
gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascascas cascascasc 60

gstwtkgact actggggtca agga 84

<210> 758
<211> 87
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 758
gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascascas cascascasc 60

ascgstwtkg actactgggg tcaagga 87

<210> 759
<211> 90
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 759
gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascascas cascascasc 60

ascascgstw tkgactactg gggtaagga 90

<210> 760
<211> 93
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 760
gtctattatt gtgctcgcas cascascasc ascascasca scascascas cascascasc 60

ascascascg stwtkgacta ctgggggtcaa gga 93

<210> 761
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 761
gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg gstwtkgact actgggggtca agga 54

<210> 762
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 762
 gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsggstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 763
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 763
 gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsggstw tkgactactg ggggtcaagga 60

<210> 764
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 764
 gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgg stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 765
 <211> 66
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 765
gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sggstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 766
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 766
gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsggstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 767
<211> 72
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 767
gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsgtsggs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 768
<211> 75
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 768

gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsgtsgts ggstwtkgac	60
tactggggtc aagga	75
<210> 769 <211> 78 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 769 gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsgtsgts gtsggstwtk	60
gactactggg gtcaagga	78
<210> 770 <211> 81 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 770 gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsgtsgts gtsgtsggst	60
wtkgactact ggggtcaagg a	81
<210> 771 <211> 84 <212> DNA <213> Artificial	
<220> <223> synthetic oligonucleotides	
<400> 771 gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsgtsgts gtsgtsgtsg	60

gstwtkgact actggggtca agga	84
<210> 772	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 772	
gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsgtsgts gtsgtsgtsg	60
tsggstwtkg actactgggg tcaagga	87
<210> 773	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 773	
gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsgtsgts gtsgtsgtsg	60
tsgtsggstw tkgactactg ggggtcaagga	90
<210> 774	
<211> 93	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 774	
gtctattatt gtgctcgcts gtsgtsgtsg tsgtsgtsgt sgtsgtsgts gtsgtsgtsg	60
tsgtsgtsgg stwtkgacta ctggggtcaa gga	93

<210> 775
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 775
 gtctattatt gtgctcgctm ttmtttmtmt gstwtkgact actgggggtca agga 54

<210> 776
 <211> 57
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 776
 gtctattatt gtgctcgctm ttmtttmtmt tmtgstwtkg actactgggg tcaagga 57

<210> 777
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 777
 gtctattatt gtgctcgctm ttmtttmtmt tmttmtgstw tkgactactg ggggtcaagga 60

<210> 778
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 778
gtctattatt gtgctcgctm ttmttttmt tmtttmttg stwtkgacta ctgggggtcaa 60

gga 63

<210> 779
<211> 66
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 779
gtctattatt gtgctcgctm ttmttttmt tmtttmttt mtgstwtkga ctactggggt 60

caagga 66

<210> 780
<211> 69
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 780
gtctattatt gtgctcgctm ttmttttmt tmtttmttt mttmtgstwt kgactactgg 60

ggtcaagga 69

<210> 781
<211> 72
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 781
gtctattatt gtgctcgctm ttmttttmt tmtttmttt mttmtmtgs twtkgactac 60

tggggtcaag ga 72

<210> 782
<211> 75
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 782
gtctattatt gtgctcgctm ttmttttmt tmttttmtt mtttttttm tgstwtkgac 60

tactggggtc aagga 75

<210> 783
<211> 78
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 783
gtctattatt gtgctcgctm ttmttttmt tmttttmtt mtttttttm tmtgtstwtk 60

gactactggg gtcaagga 78

<210> 784
<211> 81
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic oligonucleotides

<400> 784
gtctattatt gtgctcgctm ttmttttmt tmttttmtt mtttttttm tttttmtgst 60

wtkgactact ggggtcaagg a	81
<210> 785	
<211> 84	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 785	
gtctattatt gtgctcgctm tttttttmt tttttttmt mtttttttm tttttttmt	60
gstwtkgact actggggtca agga	84
<210> 786	
<211> 87	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 786	
gtctattatt gtgctcgctm tttttttmt tttttttmt mtttttttm tttttttmt	60
tmtgstwtkg actactgggg tcaagga	87
<210> 787	
<211> 90	
<212> DNA	
<213> Artificial	
<220>	
<223> synthetic oligonucleotides	
<400> 787	
gtctattatt gtgctcgctm tttttttmt tttttttmt mtttttttm tttttttmt	60
tmttmtgstw tkgactactg ggggtcaagga	90

<210> 788
 <211> 93
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 788
 gtctattatt gtgctcgctm tmtttmttmt tmtttmttmt mttttmttmt tmtttmttmt 60

tmtttmttmtg stwtkgacta ctgggggtcaa gga 93

<210> 789
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 789

 Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 790
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 790

 Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 791
 <211> 9

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 791

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 792
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 792

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 793
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 793

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 794
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 794

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 795

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 795

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 796

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 796

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 797

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 797

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 798

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 798

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 799

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 799

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 800

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 800

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr

1 5

<210> 801
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 801

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 802
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 802

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 803
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 803

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 804
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 804

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 805
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 805

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 806
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 806

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 807
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 807

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 808

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 808

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 809

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 809

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 810

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 810

Gln	Gln	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Ser	Thr
1				5				

<210> 811

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 811

Gln	Gln	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Pro	Ser	Thr
1				5				

<210> 812

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 812

Gln	Gln	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Pro	Tyr	Thr
1				5				

<210> 813

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 813

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 814

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 814

Gln Gln Tyr Ser Tyr Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 815

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 815

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 816

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 816

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 817
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 817

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 818
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 818

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 819
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 819

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 820
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 820

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 821
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 821

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 822
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 822

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 823
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 823

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1			5						10

<210> 824

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 824

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1			5						10

<210> 825

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 825

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1			5						10

<210> 826

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 826

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1				5					10

<210> 827

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 827

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1				5					10

<210> 828

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 828

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1				5					10

<210> 829

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 829

Gly Phe Ser Ile Tyr Tyr Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 830

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 830

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 831

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 831

Gly Phe Ser Ile Ser Tyr Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 832

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 832

Gly Phe Tyr Ile Tyr Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 833
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 833

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 834
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 834

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 835
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 835

Gly Phe Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 836
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 836

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 837
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 837

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 838
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 838

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Ile	His
1			5					10	

<210> 839
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 839

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 840

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 840

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 841

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 841

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 842

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 842

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 843

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 843

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

Gly

<210> 844

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 844

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

Gly

<210> 845

<211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 845

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

Gly

<210> 846
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 846

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

Gly

<210> 847
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 847

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

Gly

<210> 848
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 848

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

Gly

<210> 849
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 849

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

Gly

<210> 850
<211> 17

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 850

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

Gly

<210> 851
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 851

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

Gly

<210> 852
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 852

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

1 5 10 15

Gly

<210> 853
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 853

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

Gly

<210> 854
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 854

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

Gly

<210> 855
<211> 17
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 855

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

Gly

<210> 856

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 856

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

Gly

<210> 857

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 857

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

1 5 10 15

Gly

<210> 858
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 858

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

Gly

<210> 859
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 859

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

Gly

<210> 860
<211> 17
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 860

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

Gly

<210> 861

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 861

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

Gly

<210> 862

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 862

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

1 5 10 15

Gly

<210> 863
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 863

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

Gly

<210> 864
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 864

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

Gly

<210> 865
<211> 17
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 865

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

Gly

<210> 866

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 866

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

Gly

<210> 867

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 867

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

1 5 10 15

Gly

<210> 868
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 868

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

Gly

<210> 869
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH2

<400> 869

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

Gly

<210> 870
<211> 8
<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 870

Tyr Tyr Ser Tyr Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 871

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 871

Tyr Tyr Ser Ser Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 872

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 872

Tyr Tyr Ser Ser Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 873

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 873

Tyr Tyr Ser Ser Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 874

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 874

Tyr Tyr Ser Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 875

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 875

Trp Trp Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 876

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 876

Trp Trp Ser Ser Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 877

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 877

Trp Trp Ser Trp Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 878

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 878

Trp Trp Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 879

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 879

Trp Trp Ser Ser Gly Phe Asp Tyr

1 5

<210> 880
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<400> 880

Trp Trp Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 881
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<400> 881

Trp Trp Ser Trp Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 882
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH3

<400> 882

Trp Trp Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 883
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 883

Trp Trp Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 884
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 884

Trp Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 885
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 885

Trp Trp Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 886
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 886

Trp Trp Ser Ser Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 887

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 887

Trp Trp Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 888

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 888

Trp Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 889

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 889

Trp Ser Ser Ser Gly Phe Asp Tyr
1 5

<210> 890

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 890

Trp Trp Ser Ser Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 891

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 891

Trp Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 892

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 892

Trp Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 893

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 893

Phe Ser Phe Ser Ser Ser Ser Phe Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 894

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 894

Phe Ser Phe Ser Ser Ser Ser Phe Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 895

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 895

Phe Phe Phe Phe Ser Ser Ser Phe Phe Gly Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 896
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 896

Tyr	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Phe	Gly	Leu	Asp	Tyr
1				5					10					15

<210> 897
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 897

Gln	Gln	Ser	Trp	Trp	Trp	Pro	Trp	Thr
1				5				

<210> 898
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 898

Gln	Gln	Ser	Trp	Trp	Trp	Pro	Ser	Thr
1				5				

<210> 899
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 899

Gln Gln Ser Trp Trp Ser Pro Ser Thr
 1 5

<210> 900
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 900

Gln Gln Trp Trp Trp Trp Pro Trp Thr
 1 5

<210> 901
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 901

Gln Gln Trp Trp Trp Trp Pro Ser Thr
 1 5

<210> 902
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 902

Gln Gln Ser Trp Trp Trp Pro Ser Thr
1 5

<210> 903

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 903

Gln Gln Trp Trp Trp Trp Pro Ser Thr
1 5

<210> 904

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 904

Gln Gln Trp Trp Trp Trp Pro Ser Thr
1 5

<210> 905

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 905

Gln Gln Trp Trp Trp Trp Pro Ser Thr
1 5

<210> 906

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 906

Gln Gln Trp Ser Trp Trp Pro Ser Thr
1 5

<210> 907

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 907

Gln Gln Trp Ser Ser Trp Pro Ser Thr
1 5

<210> 908

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 908

Gln Gln Trp Ser Ser Trp Pro Ser Thr
1 5

<210> 909

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 909

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 910

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 910

Gln Gln Trp Ser Trp Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 911

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 911

Gln Gln Trp Ser Ser Trp Pro Ser Thr

1 5

<210> 912
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 912

Gln Gln Trp Ser Ser Trp Pro Ser Thr
1 5

<210> 913
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 913

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 914
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRL3

<400> 914

Gln Gln Tyr Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 915
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 915

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 916
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 916

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 917
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRL3

<400> 917

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
 1 5

<210> 918
 <211> 9
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 918

Gln Gln Ser Tyr Tyr Tyr Pro Ser Thr
1 5

<210> 919

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 919

Gln Gln Ser Tyr Tyr Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 920

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 920

Gln Gln Ser Ser Ser Ser Pro Ser Thr
1 5

<210> 921

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 921

Gln Gln Ser Tyr Ser Tyr Pro Tyr Thr
1 5

<210> 922

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 922

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 923

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRL3

<400> 923

Gln Gln Tyr Tyr Ser Ser Pro Tyr Thr
1 5

<210> 924

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 924

Gly Phe Ser Ile Trp Trp Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 925

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 925

Gly Phe Ser Ile Trp Trp Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 926

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 926

Gly Phe Ser Ile Trp Trp Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 927

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 927

Gly Phe Ser Ile Trp Trp Ser Trp Ile His

1 5 10

<210> 928
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH1

<400> 928

Gly Phe Ser Ile Trp Ser Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 929
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH1

<400> 929

Gly Phe Ser Ile Trp Trp Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 930
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> synthetic CDRH1

<400> 930

Gly Phe Ser Ile Ser Trp Ser Trp Ile His
1 5 10

<210> 931
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 931

Gly	Phe	Ser	Ile	Trp	Trp	Ser	Trp	Ile	His
1				5					10

<210> 932
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 932

Gly	Phe	Ser	Ile	Trp	Trp	Ser	Trp	Ile	His
1				5					10

<210> 933
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 933

Gly	Phe	Ser	Ile	Trp	Trp	Ser	Trp	Ile	His
1				5					10

<210> 934
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 934

Gly	Phe	Trp	Ile	Trp	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 935

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 935

Gly	Phe	Trp	Ile	Trp	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 936

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 936

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Trp	Ile	His
1				5					10

<210> 937

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 937

Gly	Phe	Ser	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 938

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 938

Gly	Phe	Trp	Ile	Trp	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 939

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 939

Gly	Phe	Ser	Ile	Trp	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 940

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 940

Gly Phe Ser Ile Tyr Ser Tyr Tyr Ile His
1 5 10

<210> 941

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 941

Gly Phe Tyr Ile Ser Tyr Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 942

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 942

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
1 5 10

<210> 943

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 943

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His

1 5 10

<210> 944
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 944

Gly Phe Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 945
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 945

Gly Phe Ser Ile Tyr Ser Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 946
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 946

Gly Phe Tyr Ile Ser Ser Ser Tyr Ile His
 1 5 10

<210> 947
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 947

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 948
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 948

Gly	Phe	Tyr	Ile	Ser	Ser	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 949
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH1

<400> 949

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1				5					10

<210> 950
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH1

<400> 950

Gly	Phe	Ser	Ile	Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ile	His
1			5					10	

<210> 951

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 951

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

Gly

<210> 952

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 952

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

Gly

<210> 953
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 953

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

Gly

<210> 954
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 954

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

Gly

<210> 955
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 955

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

Gly

<210> 956

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 956

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

Gly

<210> 957

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 957

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

Gly

<210> 958
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 958

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

Gly

<210> 959
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 959

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

Gly

<210> 960
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 960

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

Gly

<210> 961

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 961

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

Gly

<210> 962

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 962

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

Gly

<210> 963
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 963

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

Gly

<210> 964
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 964

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

Gly

<210> 965
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 965

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

Gly

<210> 966

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 966

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

Gly

<210> 967

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 967

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

Gly

<210> 968
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 968

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

Gly

<210> 969
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 969

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

Gly

<210> 970
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 970

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

Gly

<210> 971

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 971

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

Gly

<210> 972

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 972

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

Gly

<210> 973
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 973

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

Gly

<210> 974
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH2

<400> 974

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

Gly

<210> 975
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 975

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

Gly

<210> 976

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 976

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

Gly

<210> 977

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH2

<400> 977

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

Gly

<210> 978
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 978

Trp Trp Ser Ser Ala Ile Asp Tyr
 1 5

<210> 979
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 979

Trp Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 980
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 980

Trp Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 981
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 981

Trp Trp Ser Ser Gly Met Asp Tyr
 1 5

<210> 982
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 982

Trp Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 983
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 983

Trp Trp Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 984
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 984

Trp Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 985

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 985

Trp Ser Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
1 5

<210> 986

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 986

Trp Trp Ser Ser Ala Met Asp Tyr
1 5

<210> 987

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 987

Trp Ser Ser Trp Gly Leu Asp Tyr
1 5

<210> 988

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 988

Ser Ser Trp Ser Ser Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 989

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 989

Ser Ser Trp Ser Ser Trp Ser Ser Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 990

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 990

Ser Ser Ser Ser Ser Trp Trp Ser Ala Ile Asp Tyr
1 5 10

<210> 991

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 991

Ser Ser Trp Ser Ser Trp Ser Trp Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 992

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 992

Ser Ser Trp Ser Ser Trp Ser Ser Ala Met Asp Tyr
1 5 10

<210> 993

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 993

Ser Ser Trp Ser Ser Trp Ser Ser Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 994
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 994

Tyr Tyr Ser Tyr Ala Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 995
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 995

Tyr Tyr Ser Tyr Ala Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 996
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 996

Tyr Tyr Ser Tyr Ala Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 997
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 997

Tyr Tyr Ser Ser Ala Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 998
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 998

Tyr Tyr Ser Tyr Ala Leu Asp Tyr
 1 5

<210> 999
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic CDRH3

<400> 999

Tyr Tyr Ser Tyr Ala Phe Asp Tyr
 1 5

<210> 1000
 <211> 8
 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 1000

Tyr Tyr Ser Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5

<210> 1001

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 1001

Ser Ser Tyr Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Ser Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5 10

<210> 1002

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 1002

Tyr Tyr Ser Ser Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Ser Tyr Ala Leu Asp Tyr
1 5 10 15

<210> 1003

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 1003

Tyr	Tyr	Ser	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ala	Phe
1				5					10					15	

Asp Tyr

<210> 1004

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic CDRH3

<400> 1004

Tyr	Tyr	Ser	Ser	Ser	Ser	Ser	Tyr	Ser	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Tyr	Tyr	Ala
1				5					10					15	

Phe Asp Tyr

<210> 1005

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 1005

gcagcttctg gcttctycat ttyctyctyc tycatacact ggggtcgt

48

<210> 1006

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 1006

ctggaatggg ttgcatyca tttcccatyc tycggttyca ctttctatgc cgatagcgtc 60

<210> 1007

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 1007

acttattact gtcagcaaty ctyctyctyc ccatycacgt tcggacaggg tacc 54

<210> 1008

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 1008

gcagcttctg gcttcmgcat tmgcmgcmgc mgcatacact ggggtcgt 48

<210> 1009

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> synthetic oligonucleotides

<400> 1009

ctggaatggg ttgcamgcat tmgcccamgc mgcggtmgca ctmgtatgc cgatagcgtc 60

<210> 1010
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 1010
 acttattact gtcagcaamg cmgcmgcmgc ccamgcacgt tcggacaggg tacc 54

<210> 1011
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 1011
 gcagcttctg gcttctsgat ttsgtsgtsg tsgatacact gggtgcgt 48

<210> 1012
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 1012
 ctggaatggg ttgcatsgat ttsgccatsg tsgggttsga cttsgtatgc cgatagcgtc 60

<210> 1013
 <211> 54
 <212> DNA
 <213> Artificial

<220>
 <223> synthetic oligonucleotides

<400> 1013
 acttattact gtcagcaats gtsgtsgtsg ccatsgacgt tcggacaggg tacc 54