



MD/EP 3652215 T2 2021.06.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) MD/EP 3652215 (13) T2

(51) Int. Cl.: C07K 16/46 (2006.01.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE EUROPEAN VALIDAT

(21) Numărul de depozit: e 2020 0533 (22) Data de depozit: 2018.07.13 (96) Numărul cererii și data de depozit a cererii de brevet european: 18740829.9, 2018.07.13 (97) Numărul de publicare și data publicării de către OEB a cererii de brevet european: 3652215, 2020.05.20 (31) Numărul cererii prioritare: 102017115966; 201762532713 P; 102017119866; 102018108995; 201862658318 P (32) Data de depozit a cererii prioritare: 2017.07.14; 2017.07.14; 2017.08.30; 2018.04.16; 2018.04.16 (33) Țara cererii prioritare: DE; US; DE; DE; US	(49) Data publicării traducerii fasciculului de brevet european validat: BOPI nr. 06/2021, 2021.06.30 (80) Data publicării mențiunii acordării de către OEB: EPB nr. 07/2021, 2021.02.17 (82) Data publicării solicitării de validare a brevetului european: BOPI nr. 06/2020, 2020.06.30
(71) Solicitant: IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH, DE (72) Inventatori: HOFMANN Martin, DE; UNVERDORBEN Felix, DE; BUNK Sebastian, DE; MAURER Dominik, DE (73) Titular: IMMATICS BIOTECHNOLOGIES GMBH, DE (74) Mandatar autorizat: FOCȘA Valentin	

(54) Moleculă polipeptidică îmbunătățită cu specificitate duală

(57) Rezumat:

1

Prezenta invenție se referă la o moleculă de polipeptidă bispecifică care cuprinde un prim lanț polipeptidic și un al doilea lanț polipeptidic care asigură o regiune de legare derivată de la un receptor de celule T (TCR) fiind specifică pentru un epitop peptid viral asociat cu complexul de histocompatibilitate (MHC) major regiune de legare derivată dintr-un anticorp capabil să

2

recruteze celule efectoare imune umane prin legarea specifică la un antigen de suprafață al respectivelor celule, precum și metode de fabricare a moleculei de polipeptidă bispecifică și utilizările acestora.

Secvențe: 58

Revendicări: 15

Figuri: 13

MD/EP 3652215 T2 2021.06.30

(54) Improved dual specificity polypeptide molecule**(57) Abstract:**

1

The present invention relates to a bispecific polypeptide molecule comprising a first polypeptide chain and a second polypeptide chain providing a binding region derived from a T cell receptor (TCR) being specific for a major histocompatibility complex (MHC)-associated viral peptide epitope, and a binding region derived from an

2

antibody capable of recruiting human immune effector cells by specifically binding to a surface antigen of said cells, as well as methods of making the bispecific polypeptide molecule, and uses thereof.

Sequences: 58

Claims: 15

Fig.: 13

Descriere:**(Descrierea se publică în varianta redactată de solicitant)**

Prezenta invenție se referă la o moleculă polipeptidică bispecifică care cuprinde un prim lanț polipeptidic și un al doilea lanț polipeptidic care asigură o regiune de legare derivată de la un receptor de celule T (TCR), fiind specifică pentru un epitop peptidic viral asociat complexului major de histocompatibilitate (MHC), și o regiune de legare derivată dintr-un anticorp capabil să recruteze celule efectoare imune umane prin legare specifică la un antigen de suprafață al respectivelor celule, precum și metode de fabricare a moleculei polipeptidice bispecifice și utilizările acesteia.

Baza invenției

Odată cu dezvoltarea tehnologiei de clonare moleculară și înțelegerea profundă a ingineriei anticorpilor, există diverse formate de anticorpi bispecfici („bispecfici”) dintre care se poate alege pentru atingerea activității biologice optime și a scopului clinic. În terapia cancerului, anticorpii bispecfici au fost dezvoltați cu scopul de a redirecționa activitatea celulelor efectoare imune către locul tumorii printr-un prim domeniu de legare specific pentru un epitop pe celulele tumorale și un al doilea domeniu de legare specific pentru un epitop pe celulele efectoare imune. Anticorpii bispecfici pentru reținerea celulelor efectoare imune au fost dezvoltați în diferite formate, inclusiv formate fără regiune cristalizabilă a fragmentelor (Fc) și formate derivate din IgG cu design simetric sau asimetric. Pe lângă reținerea celulelor efectoare la locul cancerului, au fost stabilite noi aplicații pentru anticorpii bispecfici. Anticorpii bispecfici care pot inhiba în același timp două molecule de semnalizare corelate pot fi dezvoltați pentru a depăși rezistența inerentă sau dobândită și pentru a fi inhibitori de angieneză mai eficienți. În plus, anticorpii bispecfici pot fi folosiți drept agenți imunostimulatori promițători pentru tratarea diferitelor boli, precum cancerul. Anticorpii bispecfici pot fi folosiți, de asemenea, pentru tratarea hemofiliei A prin imitarea funcției factorului VIII. Anticorpii bispecfici au, de asemenea, perspective largi de aplicare în tulburările osoase și infecțiile și bolile sistemului nervos central (trecuți în revistă de Yang F. et al. Bispecific Antibodies as a Development Platform for New Concepts and Treatment Strategies. *Int J Mol Sci.* 2016 Dec 28;18(1)).

Celulele T exprimă complexe ale receptorilor de celule T (TCR) care sunt capabile să inducă răspunsuri imune specifice antigenului. Angajarea peptidei antigenului/complexului major de histocompatibilitate (MHC) de clasă I pe celula țintă cu TCR induce formarea unei sinapse imune și duce la semnalizare prin co-receptori CD3, care sunt componente ale complexului de semnalizare TCR. Această cascadă de semnalizare direcționează distrugerea mediată de celule T a celulei care exprimă antigenul prin eliberarea și transferarea de granzime și perforină din celula T în celula-țintă.

Din punct de vedere istoric, descoperirea și producerea de domenii variabile conectate la un singur lanț de anticorpi (scFv-uri, descrise de Bird et al. 1988) a servit drept factor principal pentru dezvoltarea anticorpilor bispecfici. Acest concept a condus în cele din urmă la generarea de molecule BiTE și validarea lor clinică ca medicament puternic pentru tratamentul leucemiei (Baeuerle, P.A.; Reinhardt, C. Bispecific T-cell engaging antibodies for cancer therapy. *Cancer Res.* 2009, 69, 4941–4944). În cancer, anticorpii bispecfici care co-angajează subunitatea epsilon CD3 și un antigen de suprafață pe celula tumorală declanșează distrugerea mediată de către celulele T a celulei tumorale, eludând, în același timp, necesitatea interacțiunii directe dintre TCR și MHC de clasă I în complex cu antigen. Acest lucru extinde repertoriul celulelor T capabile să recunoască tumoarea și să acționeze ca celule efectoare (Baeuerle, P.A.; Reinhardt, C. Bispecific T-cell engaging antibodies for cancer therapy. *Cancer Res.* 2009, 69, 4941–4944).

Stieglmaier J., et al. (in: Utilizing the BiTE (bispecific T-cell engager) platform for immunotherapy of cancer. *Expert Opin Biol Ther.* 2015;15(8):1093-9) descriu că diferite abordări ale imunoterapiei împotriva cancerului pe bază de celule T sunt în prezent în curs de investigare, printre acestea numărându-se construitele de anticorpi BiTE® (activatori bispecfici de celule T), care au un design și un mecanism de acțiune unice. Aceștia sunt construiți prin legarea genetică pe un singur lanț polipeptidic a domeniilor de legare minimale ale anticorpilor monoclonali pentru antigenii de suprafață asociați tumorii și pentru molecula CD3 asociată cu receptorul de celule T. Angajarea concomitentă a antigenului celulei-țintă și a CD3 duce la activarea celulelor T citotoxice policlonale, rezultând lizarea celulei-țintă. Blinatumomab, un BiTE® care țintește CD19, este investigat într-o gamă largă de tumori maligne ale celulelor B și a fost recent aprobat în SUA de către FDA SUA pentru leucemia acută limfoblastică B recidivată/refractară cu

cromozom Philadelphia negativ sub denumirea comercială BLINCYTO™. Platforma BiTE® este una dintre cele mai avansate opțiuni de imunoterapie cu celule T din punct de vedere clinic.

Cu toate acestea, s-a descoperit că neajunsurile moleculelor bispecifice mici, cum ar fi BiTEs®, constau în randamente slabe de producție, procese dificile de purificare, tendință de agregare și, de asemenea, un timp de înjumătățire plasmatică foarte scurt. Pentru a depăși limitările inerente ale acestei clase de molecule, au fost dezvoltate diferite formate bispecifice bazate pe IgG uman, începând cu conceptul de anticorpi asemănători imunoglobulinei (Ig)-G bispecfici recombinanți, așa cum a fost conceput în urmă cu mai bine de două decenii, când Morrison și colegii au fuzionat peptide linker flexibile la capetele C ale lanțurilor grele de IgG urmate de domenii variabile cu lanț unic cu specificități de legare diferite (Coloma, M.J. și Morrison, S.L. (1997) Design and production of novel tetravalent bispecific antibodies. *Nat. Biotechnol.* 15, 159–163). Moleculele au putut fi diferențiate de anticorpii „normali”, deoarece aveau funcționalități duale. Obstacolele tehnice au împiedicat inițial dezvoltarea în continuare, ceea ce a făcut ca anticorpii bispecfici (bsAb) să rămână un subiect al cercetării și dezvoltării în primul rând în mediul academic și biotehnologic. Cu toate acestea, tehnologiile cu evoluție rapidă care au permis ingineria, producția și dezvoltarea derivaților de proteine recombinante, asociate cu interesul reînnoit din industria farmaceutică, au relansat domeniul de cercetare privind bsAb. În prezent sunt disponibile multe formate diferite de bsAb potrivite pentru dezvoltarea proteinelor terapeutice (pentru recenzii, vezi Gramer, *mAbs*. 2013;5(6):962-973, Weidle, *Cancer Genomics Proteomics*. 2013 Nov-Dec;10(6):239-50, Brinkmann, *MAbs*. 2017 Feb/Mar;9(2):182-212.). În rezumat, includerea părților Fc (cu fragment cristalizabil), constând din domenii CH2 și CH3, a dus la o productivitate crescută, procese de purificare simplificate și stabilitate sporită. În plus, timpul de înjumătățire plasmatică al acestor medicamente pe bază de IgG a fost prelungit datorită i) creșterii dimensiunii și ii) interacțiunii părții Fc cu receptorul Fc uman FcRn.

Dezvoltarea formatelor bispecifice bazate pe IgG a fost stimulată în continuare de apariția și incorporarea mutațiilor modificate pentru facilitarea heterodimerizării a două domenii CH3 diferite, conectându-se astfel două lanțuri polipeptidice diferite. Conceptul de bază a fost introdus de Ridgway JB et al. (în: 'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization. *Protein Eng.* 1996 Jul;9(7):617-21) care au descris abordarea „knobs-into-holes” („butoane-in-găuri”) ca strategie de proiectare nouă și eficientă pentru ingineria homodimerilor de anticorpi cu lanț greu pentru heterodimerizare. În această abordare, a fost obținută mai întâi o variantă „buton” prin înlocuirea unui aminoacid mic cu unul mai mare în domeniul CH3 al unei imunoadezine CD4-IgG: T366Y. „Butonul” a fost conceput pentru a fi introdus într-o „gaură” din domeniul CH3 al unui anticorp anti-CD3 umanizat creat prin înlocuirea judicioasă a unui rest mare cu unul mai mic: Y407T. Hibridul anti-CD3/CD4-IgG reprezintă până la 92% din setul de proteine purificate de proteină A după coexprimarea acestor două lanțuri grele diferite împreună cu lanțul ușor anti-CD3. În schimb, doar până la 57% din hibridul anti-CD3/CD4-IgG este recuperat în urma coexprimării în care lanțurile grele conțineau domenii CH3 de tip sălbatic. Astfel, ingineria „knobs-into-holes” facilitează construirea unui hibrid anticorp/imunoadezină și, probabil, alte terapii bifuncționale care conțin Fc, inclusiv imunoadezine bispecifice și anticorpi bispecfici. Atwell et al., 1997, *J Mol Biol* (Stable heterodimers from remodeling the domain interface of a homodimer using a phage display library) descriu o mutație „knob-into-hole” (knob: T366W/hole: T366S+L368A+Y407V) în domeniul CH3 al domeniului Fc pentru îmbunătățirea heterodimerizării. Acest concept a fost îmbunătățit în continuare prin introducerea suplimentară de resturi de cisteină pentru a forma o legătură disulfurică de stabilizare între domeniile CH3 heterodimerice, așa cum este descris de Merchant et al. 1998, *Nature Biotechnology* (An Efficient Route to Human Bispecific IgG).

Alte concepte de producere a moleculelor heterodimerice au fost descrise de Muda et al. 2011, *PEDS* (Therapeutic assessment of SEED: a new engineered antibody platform designed to generate mono- and bispecific antibodies); Gunasekaran et al. 2010, *J Biol Chem* (Enhancing antibody Fc heterodimer formation through electrostatic steering effects: applications to bispecific molecules and monovalent IgG); Moore et al. 2011, *MABs* (A novel bispecific antibody format enables simultaneous bivalent and monovalent co-engagement of distinct target antigens); Von Kreudenstein et al. 2013, *MABs* (Improving biophysical properties of a bispecific antibody scaffold to aid developability: quality by molecular design.) Aceste concepte sunt rezumate și revizuite de Ha et al. 2016, *Front Immunol* (Immunoglobulin Fc Heterodimer Platform Technology: From Design to Application in Therapeutic Antibodies and Proteins) și Liu et al. 2017, *Front Immunol* (Fc Engineering for Developing Therapeutic Bispecific Antibodies and Novel scaffolds).

Odată cu includerea părților Fc constând din balamale, domenii CH2 și CH3 sau părți ale acestora în molecule bispecifice, a apărut problema imobilizării nespecifice a acestor molecule,

indusă de interacțiuni Fc:Fc-receptor gamma (FcγR). FcγR-urile sunt compuse din diferite molecule de suprafață celulară (FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIII) care se leagă cu afinități diferite la epitopii afișați de părțile Fc ale moleculelor IgG. Deoarece o astfel de imobilizare nespecifică (adică neindusă de niciuna dintre cele două domenii de legare ale unei molecule bispecifice) este nefavorabilă din cauza i) influenței asupra farmacocineticii unei molecule și ii) activării în afara țintei a celulelor efectoare imune, au fost identificate diverse variante Fc și mutații pentru ablația legării FcγR.

Morgan et al. 1995, Immunology (The N-terminal end of the CH2 domain of chimeric human IgG1 anti-HLA-DR is necessary for C1q, FcγRI and FcγRIII binding) descriu schimbul de resturi 233-236 de IgG1 uman cu secvența corespunzătoare derivată din IgG2 uman care are drept rezultat abolirea legării FcγRI, abolirea legării C1q și diminuarea legării FcγRIII.

EP1075496 descrie anticorpi și alte molecule care conțin Fc cu variații în regiunea Fc (233P, 234V, 235A și fără resturi sau G în poziția 236 și 327G, 330S și 331S) în care anticorpul recombinant este capabil să lege molecula-țintă fără a declanșa semnificativ liza dependentă de complement sau distrugerea țintei mediată de celule.

Moleculele de reținere cu afinitate duală (DART) sunt utilizate pentru a realiza, de exemplu, o distrugere optimă cu celule T a limfomului cu celule B. Tehnologia originală DART este descrisă în Moore et al. (în: Application of dual affinity retargeting molecules to achieve optimal redirected T-cell killing of B-cell lymphoma, Blood. 2011 Apr 28;117(17):4542-51). Compararea cu un anticorp bispecific monocatenar care poartă secvențe Fv identice de anticorpi CD19 și CD3 a relevat că moleculele DART sunt mai puternice în direcționarea lizei celulelor B. Evoluția ulterioară a tehnologiei DART a fost realizată de moleculele DART-Fc așa cum este descris în Root et al., 2016 *antibodies* (Development of PF-06671008, a Highly Potent Anti-P-cadherin/Anti-CD3 Bispecific DART Molecule with Extended Half-Life for the Treatment of Cancer). Printre alte caracteristici pozitive, această moleculă a combinat potența ridicată a DART-urilor cu timpul de înjumătățire plasmatică extins al moleculelor pe bază de Fc.

AbTCR (TCR) recunoaște peptidele antigenice prezentate de MHC și este responsabil pentru specificitatea celulelor T. Ambele lanțuri α și β ale TCR posedă domenii variabile (V) și constante. Domeniile V sunt implicate în legarea peptidei antigenice și a domeniilor constante care traversează membrana celulei T. Din analiza structurii cristaline a TCR legat de complexul peptidă-MHC, regiunile de determinare a complementarității (CDR) 3 ale ambelor lanțuri V_α și V_β interacționează de preferință cu peptida, în timp ce CDR-urile 1 și 2 interacționează cu MHC. Cu toate acestea, a fost descrisă și recunoașterea peptidei de către CDR 1 și recunoașterea MHC de către CDR 3 (Piepenbrink et al., The basis for limited specificity and MHC restriction in a T cell receptor interface, *Nat Commun*, 2013; 4, 1948). Heterodimerul TCR αβ este strans asociat cu proteinele CD3, CD4 sau CD8 și alte proteine de aderență și transducție a semnalului. Legarea peptidei antigenice de către regiunile V TCR declanșează activarea celulelor T prin transducția semnalului prin domeniile constante TCR prin intermediul proteinelor citoplasmice CD3 și CD4 sau CD8.

TCR-urile monocatenare (scTCR-uri) oferă avantaje semnificative în contrast cu formatul TCR de lungime completă pentru inginerie, exprimarea proteinelor solubile și potențialul clinic. Din perspectiva exprimării (adică fabricării) proteinelor solubile, scTCR-urile sunt produse ca o singură polipeptidă, evitându-se cerința de producere a fiecărui lanț TCR ca polipeptide separate și permițându-se producerea unor cantități mai mari de scTCR asamblat corespunzător care se leagă la ligandul său peptidă-MHC. Această caracteristică poate permite randamentele de producții necesare pentru utilizarea clinică. În fine, din perspectiva clinică, scTCR-urile care constau numai din regiunile V (scTv) pot fi formate ca reactivi terapeutici sau de diagnosticare similari cu fragmentele scFv.

US 2006-0166875 descrie un receptor de celule T cu lanț unic (scTCR) cuprinzând un segment alfa constituit dintr-o secvență de regiune variabilă a lanțului alfa TCR fuzionată la capătul N al unei secvențe extracelulare a regiunii constante a lanțului alfa TCR, un segment beta constituit dintr-o regiune variabilă a lanțului beta TCR fuzionată la capătul N al unei secvențe extracelulare a regiunii constante a lanțului beta TCR și o secvență linker care leagă capătul C al segmentului alfa de capătul N al segmentului beta, sau viceversa, secvențele extracelulare ale regiunii constante ale segmentelor alfa și beta fiind legate printr-o legătură disulfurică, lungimea secvenței linker și poziția legăturii disulfurice fiind astfel încât secvențele regiunii variabile ale segmentelor alfa și beta să fie orientate reciproc în mod substanțial ca în receptorii nativi de celule T alfa/beta. Sunt descrise, de asemenea, complexe de două sau mai multe astfel de scTCR-uri și utilizarea scTCR-urilor în terapie și în diferite aplicații de screening. Spre deosebire de scTCR descris în US 2006-0166875, 2012-0252742 descrie un TCR cu lanț unic uman solubil, fără

domenii constante, constand doar din fragmente variabile ale TCR (scTv), care este util in mai multe scopuri, inclusiv tratamentul cancerului, bolilor virale și bolilor autoimune.

McCormack E, et al. (in: Bi-specific TCR-anti CD3 redirected T-cell targeting of NY-ESO-1- and LAGE-1-positive tumors. Cancer Immunol Immunother. 2013 Apr;62(4):773-85) descriu faptul că NY-ESO-1 și LAGE-1 sunt antigeni ai cancerului testicular cu un profil ideal pentru imunoterapia tumorală, combinând reglarea în sens crescător în multe tipuri de cancer cu exprimare foarte restricționată în țesuturile normale și având un epitop HLA-A*0201 comun, 157 - 165. Ei prezintă date pentru a descrie specificitatea și activitatea antitumorală a unui ImmTAC bifuncțional, cuprinzând un receptor de celule T (TCR) solubil, cu afinitate ridicată, specific pentru NY-ESO-1157-165 fuzionat la un scFv anti-CD3. Acest reactiv, ImmTAC-NYE, se dovedește că distruge HLA-A2, linii celulare tumorale antigen-pozitive și celule NSCLC HLA-A2- și LAGE-1-pozitive proaspăt izolate. Folosind imagini optice *in vivo*, rezultatele arată țintirea *in vivo* a TCR-urilor specifice NYESO cu afinitate ridicată marcate fluorescent către tumori HLA-A2-, NY-ESO-1157-165-pozitive la șoareci xenogrefați. Eficacitatea ImmTAC-NYE *in vivo* a fost testată într-un model tumoral in care limfocite umane au fost co-grefate stabil in șoareci imunodeficienți NSG care găzduiesc xenogrefe tumorale; eficacitatea a fost observată atât în prevenirea tumorii, cât și în modelele tumorale stabilite, utilizandu-se o citire a fluorescenței GFP. A fost utilizat RT-PCR cantitativ pentru a analiza exprimarea atat a antigenilor NY-ESO-1, cat și a LAGE-1 in 15 țesuturi normale, 5 linii celulare canceroase, 10 NSCLC și 10 probe de cancer ovarian. În general, ARN-ul LAGE-1 a fost exprimat la o frecvență mai mare și la niveluri mai ridicate decât NY-ESO-1 in probele tumorale. ImmTAC-urile cuprind un Fv cu lanț unic derivat din anticorpul anti-CD3 UCHT-1 legat covalent de capătul C sau N al lanțului alfa sau beta al TCR.

EP1868650 este direcționat către molecule diacorpice și utilizările acestora în tratamentul unei varietăți de boli și tulburări, inclusiv tulburări imunologice, boli infecțioase, intoxicații și cancere. Moleculele diacorpice cuprind două lanțuri polipeptidice care se asociază pentru a forma cel puțin două locuri de legare a epitopului, care pot recunoaște epitopii identici sau diferiți pe aceiași antigeni sau antigeni diferiți. În plus, antigenii pot proveni din aceleași molecule sau din molecule diferite. Lanțurile polipeptidice individuale ale moleculei diacorpice pot fi legate covalent prin legături covalente cu legături non-peptidice, cum ar fi, dar fără a se limita la, legarea disulfurică a resturilor de cisteină situate în fiecare lanț polipeptidic. În concretizări particulare, moleculele diacorpice cuprind în plus o regiune Fc, care este descrisă în prezentul document deoarece permite realizarea proprietăților asemănătoare anticorpilor (de exemplu, timpul de înjumătățire lung) în moleculă. EP1868650 necesită prezența regiunilor de legare ale domeniilor variabile ale lanțului ușor sau ale lanțului greu ale unei imunoglobuline și discută pe larg lianții funcționali ai receptorilor Fc.

WO 2016/184592 A1 descrie molecule bispecifice în care o specificitate este adusă de un TCR și cealaltă de un anticorp, care este direcționat împotriva unui antigen sau epitop pe suprafața limfocitelor, dar nu descrie aranjamentul specific al elementelor TCR și regiunile variabile ale anticorpului așa cum sunt descrise în prezentul document.

EP2258720A1 este direcționat către o proteină de fuziune (TFP) funcțională a receptorului de celule T (TCR) care recunoaște și se leagă de cel puțin un epitop prezentat de MHC și conține cel puțin o secvență de aminoacizi care recunoaște și leagă un antigen.

WO 2014/159940 descrie diacorpi care cuprind pentru fiecare regiune de legare domeniile VL și VH ale unui anticorp. Diacorpilor le lipsesc domeniile TCR Va și TCR Vβ.

EP 2 258 719 descrie TCR-uri care cuprind lanțul α și/sau β de lungime completă, în care una sau mai multe secvențe de aminoacizi care leagă antigenul sunt fuzionate la capătul N al lanțului α și/sau β, sunt introduse într-o regiune constantă sau variabilă a respectivului lanț α și/sau β sau înlocuiesc un număr de aminoacizi într-o regiune constantă sau variabilă a respectivului lanț α și/sau β. Aceste TCR-uri funcționale sunt legate de membrană, nu sunt bispecifice și, în plus, nu cuprind domenii variabile ale unui anticorp.

Sistemul imunitar a dezvoltat mecanisme pentru celule dendritice și alte fagocite pentru a eșantiona și prezenta antigeni din mediul extracelular pe MHC I printr-un proces numit prezentare încrucișată (XPT). Această cale joacă un rol-cheie în răspunsul imun la anumite infecții, în special infecții virale.

55 In timpul infecției timpurii, de exemplu, celulele T CD8⁺ specifice virusului imunodeficienței umane (HIV) sunt esențiale pentru limitarea replicării HIV *in vivo*. Non-progresorii pe termen lung mențin celulele T CD8⁺ specifice HIV cu un profil funcțional superior față de cele de la progresori. Astfel, inițial, citoliza CD8⁺ inițial robustă a celulelor T și producția de citokine scad in timpul infecției cronice cu HIV, deoarece celulele T nu reușesc să recunoască variantele de evadare virală, se epuizează progresiv și susțin în cele din urmă răspunsuri imune

disfuncționale împotriva HIV. Menținerea potenței celulelor T CD8⁺ specifice HIV ar favoriza eliminarea celulelor infectate cu virus, ar reduce viremia și ar încetini progresul bolii.

Administrarea pasivă de anticorpi monoclonali (mAb-uri) este o platformă terapeutică promițătoare pentru tratamentul infecțiilor virale. În imunoterapia virală, ingineria anticorpilor bispecfici oferă posibilitatea de a adapta molecule multifuncționale pentru a se potrivi mecanismului de acțiune propus, de exemplu, vizând simultan atât componentele virale, cât și cele ale gazdei.

Un obiectiv al prezentei invenții este de a furniza molecule bispecifice îmbunătățite capabile să țină complexe peptidă-MHC virale, care pot fi ușor produse, prezintă stabilitate ridicată și, de asemenea, asigură o potență ridicată atunci când se leagă de epitopii antigenului respectiv. Alte obiecte și avantaje ale prezentei invenții vor deveni evidente atunci când se studiază următoarea descriere și concretizările preferate ale acesteia, precum și exemplele respective.

Intr-un prim aspect al invenției, obiectivul de mai sus este rezolvat prin furnizarea unei molecule polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu Revendicarea 1 cuprinzând un prim lanț polipeptidic și un al doilea lanț polipeptidic, în care: primul lanț polipeptidic cuprinde domeniul variabil (VD1) al unui anticorp care se leagă în mod specific de un antigen de suprafață celulară al unei celule efectoare imune umane și un prim domeniu variabil (VR1) al unui TCR care se leagă în mod specific de un epitop peptidic viral asociat MHC și

un prim linker (LINK1) care conectează domeniile menționate; al doilea lanț polipeptidic cuprinde un al doilea domeniu variabil (VR2) al unui TCR care se leagă în mod specific de un epitop peptidic viral asociat MHC și

un al doilea domeniu variabil (VD2) al unui anticorp care se leagă în mod specific de un antigen de suprafață celulară al unei celule efectoare imune umane și

un al doilea linker (LINK2) care conectează domeniile menționate; în care primul domeniu variabil (VD1) menționat și al doilea domeniu variabil (VD2) menționat se asociază pentru a forma un prim loc de legare (VD1)(VD2) care leagă epitopul moleculei de suprafață celulară;

în care primul domeniu variabil (VR1) este unul dintre un domeniu TCR V α și un domeniu TCR V β , iar al doilea domeniu variabil (VR2) este celălalt din domeniul TCR V α și domeniul TCR V β , primul domeniu variabil (VR1) și al doilea domeniu variabil (VR2) menționat se asociază pentru a forma un al doilea loc de legare (VR1)(VR2) care leagă epitopul peptidic viral asociat MHC menționat;

în care cele două lanțuri polipeptidice menționate sunt fuzionate cu domenii-balama IgG umane și/sau domenii IgC Fc umane sau porțiuni dimerizante ale acestora;

în care cele două lanțuri polipeptidice menționate sunt conectate prin legături covalente și/sau necovalente între domeniile-balama menționate și/sau domeniile Fc;

în care molecula polipeptidică cu specificitate duală menționată este capabilă să lege simultan molecula de suprafață celulară și epitopul peptidic viral asociat MHC și

în care ordinea regiunilor de legare din lanțurile polipeptidice este selectată dintre VD1-VR1; VD1-VR2; VD2-VR1; VD2-VR2; VR1-VD1; VR1-VD2; VR2-VD1; VR2-VD2 și în care domeniile sunt fie conectate prin LINK1 sau LINK2, de preferință

în care ordinea domeniilor variabile din cele două lanțuri polipeptidice este selectată dintre VD1-VR1 și VR2-VD2 sau VD2-VR2 și VR1-VD1.

De preferință, molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu prezenta invenție se leagă cu specificitate ridicată atât la antigenul celulei efectoare imune, cât și la un epitop antigenic specific prezentat ca un complex peptidă-MHC, de exemplu cu o afinitate de legare (KD) de aproximativ 100 nM sau mai puțin, aproximativ 30 nM sau mai puțin, aproximativ 10 nM sau mai puțin, aproximativ 3 nM sau mai puțin, aproximativ 1 nM sau mai puțin, de exemplu măsurată prin interferometrie biostratigrafică, așa cum este descris în Exemplul 6, sau determinat prin citometrie în flux.

Moleculele polipeptidice cu specificitate duală inovatoare în conformitate cu prezenta invenție sunt exemplificate aici printr-o moleculă polipeptidică cu specificitate duală cuprinzând un prim lanț polipeptidic cuprinzând SEQ ID NO: 16,

SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55

sau SEQ ID NO: 57 și un al doilea lanț polipeptidic cuprinzând SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56 sau SEQ ID NO: 58.

Intr-un al doilea aspect al invenției, obiectul de mai sus este rezolvat prin furnizarea unui acid nucleic care codifică primul lanț polipeptidic și/sau cel de-al doilea lanț polipeptidic așa cum este descris în prezentul document sau vectorul (vectorii) de exprimare cuprinzând un astfel de

acid nucleic. Intr-un al treilea aspect al invenției, obiectivul de mai sus este rezolvat prin furnizarea unei celule-gazdă cuprinzând vectorul (vectorii) definit (definiți) în prezentul document.

De asemenea, este descrisă o metodă pentru producerea unei molecule polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu prezenta invenție cuprinzând exprimarea adecvată a vectorului (vectorilor) de exprimare cuprinzând acidul (acizii) nucleic(i) descris (descriși) într-o celulă-gazdă adecvată și purificarea adecvată a moleculei (moleculelor) din celulă și/sau mediul acesteia.

Intr-un al patrulea aspect al invenției, obiectul de mai sus este rezolvat prin furnizarea unei compoziții farmaceutice cuprinzând molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, acidul nucleic sau vectorul (vectorii) de exprimare în conformitate cu invenția sau celula în conformitate cu invenția, împreună cu unul sau mai mulți purtători sau excipienți acceptabili farmaceutic.

Intr-un al cincilea aspect al invenției, invenția se referă la molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, acidul (acizii) nucleic(i) sau vectorul (vectorii) de exprimare în conformitate cu invenția, celula în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția pentru utilizare în medicină.

Intr-un al șaselea aspect al invenției, invenția se referă la molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, acidul nucleic sau vectorul (vectorii) de exprimare în conformitate cu invenția, celula în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția pentru utilizare în tratamentul unei boli sau tulburări așa cum este descris în prezentul document, în particular selectată dintre cancer și boli infecțioase.

De asemenea, este descrisă, însă nu face parte din invenție, o metodă pentru tratamentul unei boli sau tulburări cuprinzând administrarea unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, acidul nucleic sau vectorul (vectorii) de exprimare în conformitate cu invenția, celula în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția.

De asemenea, este descrisă, însă nu face parte din invenție, o metodă de obținere a unui răspuns imun la un pacient sau subiect cuprinzând administrarea unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția.

De asemenea, este descrisă, însă nu face parte din invenție, o metodă de distrugere a celulelor-țintă la un pacient sau subiect cuprinzând administrarea la pacient a unei cantități eficiente din molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu prezenta invenție.

Așa cum s-a menționat mai sus, invenția furnizează molecule polipeptidice cu specificitate duală noi și îmbunătățite. În general, moleculele cuprind un prim lanț polipeptidic și un al doilea lanț polipeptidic, în care lanțurile asigură împreună un domeniu variabil al unui anticorp specific pentru un epitop al unui antigen al suprafeței celulei efectoare imune și un domeniu variabil al unui TCR care este specific pentru un epitop peptidic asociat MHC, de exemplu infecție virală, cum ar fi HIV. Anticorpul și domeniile variabile derivate din TCR sunt stabilizate prin legături covalente și necovalente formate între părți Fc sau porțiuni ale acestora situate pe ambele lanțuri polipeptidice. Molecula polipeptidică cu specificitate duală este capabilă să lege simultan molecula de receptor celular și epitopul peptidic asociat MHC.

În contextul prezentei invenții, domeniile variabile (VD1) și (VD2) sunt derivate din anticorpi capabili să recruteze celule efectoare imune umane prin legarea specifică la un antigen de suprafață al respectivelor celule efectoare. Într-o concretizare particulară, respectivii anticorpi se leagă în mod specific la epitopii complexului TCR-CD3 de celule T umane, cuprinzând lanțurile peptidice TCRalfa, TCRbeta, CD3gamma, CD3delta, CD3epsilon și CD3zeta.

Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu prezenta invenție cuprinde o primă polipeptidă și un al doilea lanț polipeptidic care furnizează un prim domeniu variabil (VD1) și, respectiv, un al doilea domeniu variabil (VD2) al unui domeniu variabil derivat dintr-un anticorp capabil să recruteze celule efectoare imune umane prin legarea specifică la un antigen de suprafață al respectivelor celule. Acest prim domeniu variabil (VD1) și al doilea domeniu variabil (VD2) menționat se asociază pentru a forma un prim loc de legare (VD1)(VD2) care leagă epitopul antigenului de suprafață a celulei efectoare umane. Mai mult, primul și al doilea lanț polipeptidic al moleculei polipeptidice cuprinde un prim domeniu variabil (VR1) și, respectiv, un al doilea domeniu variabil (VR2), derivat dintr-un TCR, fiind specific pentru un epitop peptidic viral asociat MHC. Primul domeniu variabil (VR1) este unul dintre un domeniu TCR V α și un domeniu TCR V β , iar al doilea domeniu variabil (VR2) este celălalt dintre domeniul TCR V α și domeniul TCR V β . Primul domeniu variabil (VR1) menționat și al doilea domeniu variabil (VR2) menționat se asociază pentru a forma un al doilea loc de legare (VR1)(VR2) care leagă epitopul peptidic asociat MHC menționat. Într-una dintre concretizările moleculei

polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu invenția, ordinea/orientarea domeniilor din primul lanț polipeptidic este selectată dintre VD1-LINK1-VR1 și VR1-LINK1-VD1, iar ordinea/orientarea domeniilor din al doilea lanț polipeptidic este selectată dintre VD2-LINK2-VR2 și VR2-LINK-VD2, adică dispunerea locurilor de legare poate fi rearanjată într-o moleculă „pe stanga” sau „pe dreapta” (vezi, de exemplu, Figura 5). În plus, configurația lanțurilor alfa și beta a părții în relație cu TCR poate fi comutată.

În contextul prezentei invenții, molecula polipeptidică cu afinitate duală în conformitate cu invenția este exemplificată prin construcția care leagă peptida SLYNTVATL derivată din HIV (SEQ ID NO: 7) atunci când este prezentată ca un complex peptidă-MHC. Cu toate acestea, conceptul invenției nu este în mod clar limitat la această peptidă specială și include practic orice epitop legat de o infecție virală sau o tulburare care este prezentată în context cu molecula MHC. Această prezentare poate fi legată atât de MHC de clasă I, cât și de MHC de clasă II. Moleculele complexului major de histocompatibilitate de clasă I (MHC-I) sunt prezente pe suprafața tuturor celulelor nucleate și prezintă o gamă largă de epitopi peptidici pentru supraveghere de către repertoriul de celule T CD8⁺. Răspunsurile celulelor T CD8⁺ sunt esențiale pentru controlul și eliminarea infecțiilor virale, precum și pentru eliminarea celulelor transformate și tumorigene. Exemple pentru epitopii peptidici preferați care pot fi recunoscuți pot fi găsite în literatura de specialitate respectivă și includ în special peptidele descrise în Tabelele 1–5 din WO 2016/170139; Tabelele 1–5 din WO 2016/102272; Tabelul 1 sau 2 din WO 2016/156202; Tabelele 1–4 din WO 2016/146751; Tabelul 2 din WO 2011/113819; Tabelele 1–4b din WO 2016/156230; Tabelele 1–4b din WO 2016/177784; Tabelele 1–4 din WO 2016/202963; Tabelele 1 și 2 din WO 2016/207164; Tabelele 1–4 din WO 2017/001491; Tabelele 1–4 din WO 2017/005733; Tabelele 1–8 din WO 2017/021527; Tabelele 1–3 din WO 2017/036936; Tabelele 1–4 din PCT/EP2016/073416 pentru tratamentul (tratamentele) anticancer, U.S. Publication 2016-0187351, U.S. Publication 2017-0165335, U.S. Publication 2017-0035807, U.S. Publication 2016-0280759, U.S. Publication 2016-0287687, U.S. Publication 2016-0346371, U.S. Publication 2016-0368965, U.S. Publication 2017-0022251, U.S. Publication 2017-0002055, U.S. Publication 2017-0029486, U.S. Publication 2017-0037089, U.S. Publication 2017-0136108, U.S. Publication 2017-0101473, U.S. Publication 2017-0096461, U.S. Publication 2017-0165337, U.S. Publication 2017-0189505, U.S. Publication 2017-0173132, U.S. Publication 2017-0296640, U.S. Publication 2017-0253633, and U.S. Publication 2017-0260249. Molecula polipeptidică cu afinitate duală în conformitate cu invenția poate recunoaște o peptidă constând din oricare dintre acele peptide descrise în cererile de brevetare menționate anterior.

Molecula polipeptidică cu afinitate duală în conformitate cu invenția se poate lega sau este capabilă să recunoască/să se lege în mod specific la una sau mai multe peptide virale cu o lungime totală de 8–100 aminoacizi, de 8–30 aminoacizi, de 8–16 aminoacizi, preferabil de 8–14 aminoacizi, și anume 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 aminoacizi, în cazul peptidelor de legare alungite de clasă II, lungimea putând fi, de asemenea, de 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 sau 22 aminoacizi. În particular, molecula polipeptidică cu afinitate duală în conformitate cu invenția se poate lega sau este capabilă să recunoască/să se lege în mod specific la încă o peptidă virală cu o lungime totală de 8–12 aminoacizi, de 8–10 aminoacizi, de 9–15 aminoacizi, de 9–14 aminoacizi, de 9–13 aminoacizi, de 9–12 aminoacizi, de 9–11 aminoacizi, de 10–15 aminoacizi, de 10–14 aminoacizi, de 10–13 aminoacizi sau de 10–12 aminoacizi.

Alți epitopi adecvați pot fi identificați din baze de date, cum ar fi, de exemplu, Immune Epitope Database (disponibilă la www.iedb.org).

Peptidele virale care urmează să fie țintite de construcția din invenție pot fi derivate din orice infecție virală care duce la o prezentare a acestor peptide de către MHC, cum ar fi HIV, VHC, VHB, Herpes, HPV, EBV și altele asemenea.

Termenul „celulă(le) efectoare imună(e) umană(e)” se referă la o celulă din repertoriul natural de celule din sistemul imunitar uman care, atunci când este activată, poate produce o schimbare a viabilității unei celule-țintă. Termenul „viabilitate a unei celule-țintă” se poate referi, în cadrul invenției, la capacitatea celulei-țintă de a supraviețui, de a prolifera și/sau de a interacționa cu alte celule. O astfel de interacțiune poate fi directă, de exemplu atunci când celula-țintă intră în contact cu o altă celulă, sau indirectă, de exemplu atunci când celula-țintă secretă substanțe care au o influență asupra funcționării unei alte celule îndepărtate. Celula țintă poate fi nativă sau străină pentru om. În cazul în care celula este nativă pentru om, celula-țintă este în mod avantajos o celulă care a suferit transformări pentru a deveni o celulă malignă. Celula nativă poate fi, suplimentar, o celulă nativă modificată patologic, de exemplu o celulă nativă infectată cu un organism, cum ar fi un virus, un *plasmodiu* sau o bacterie. În cazul în care celula este străină pentru om, celula-țintă este în mod avantajos un agent patogen invadator, de exemplu o bacterie sau un *plasmodiu* invadator.

Preferată este molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, în care primul lanț peptidic și al doilea lanț polipeptidic menționate mai cuprind cel puțin un domeniu balama și/sau un domeniu Fc ori o porțiune a acestuia. În anticorpi, „balama” sau „regiune balama” sau „domeniu balama” se referă la porțiunea flexibilă a unui lanț greu situat între

domeniul CH1 și domeniul CH2. Are o lungime de aproximativ 25 de aminoacizi și este împărțită într-o „balama superioară”, o „balama mijlocie” sau „balama centrală” și o „balama inferioară”. Un „subdomeniu balama” se referă la balama superioară, balama mijlocie (sau centrală) sau balama inferioară. Secvențele aminoacidice ale balamalelor moleculelor IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4 sunt (este indicată numerotarea UE):

IgG1: E₂₁₆PKSCDKTHTCPPCPAPELLG (SEQ ID NO: 1)

IgG2: E₂₁₆RKCCVECPPCPAPPVAGP (SEQ ID NO: 2)

IgG3: ELKTPGLDTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPE₂₁₆PKSCDTPPPCPRCPAPELLG (SEQ ID NO: 3)

IgG4: E₂₁₆SKYGPPCPSCPAPEFLG (SEQ ID NO: 4)

Regiunea balama centrală conține, de obicei, cel puțin o punte de cisteină care leagă cele două lanțuri grele. Mai mult, mutațiile pot fi făcute în regiunea balama inferioară pentru a se ameliora citotoxicitatea mediată celular dependentă de anticorpi (ADCC) nedorită.

Preferată este o moleculă polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu prezenta invenție, cuprinzând cel puțin un domeniu cristalizabil (Fc) al

fragmentului IgG, adică o regiune cristalizabilă de fragment (regiunea Fc), regiunea cozii unui anticorp care interacționează cu receptorii Fc și unele proteine ale sistemului complementului. Regiunile Fc conțin două sau trei domenii constante ale lanțului greu (domeniile CH 2, 3 și 4) în fiecare lanț polipeptidic. Regiunile Fc ale IgG-urilor poartă, de asemenea, un loc de N-glicozilare foarte conservat. Glicozilarea fragmentului Fc este esențială pentru activitatea mediată de receptorul Fc. Dimensiunea redusă a formatelor de anticorpi bispecfici, cum ar fi BiTE® și DART (~50 kD), poate duce la un clearance rapid și la un timp de înjumătățire scurt. Prin urmare, pentru proprietăți farmacocinetice îmbunătățite, molecula polipeptidică cu specificitate duală a receptorului celular scTv (de exemplu, CD3) poate fi fuzionată la un domeniu Fc (IgG1 uman), crescându-se astfel masa moleculară. Mai multe mutații localizate la interfața dintre domeniile CH2 și CH3, cum ar fi T250Q/M428L și M252Y/S254T/T256E + H433K/N434F, s-au dovedit a crește afinitatea de legare la receptorul Fc neonatal (FcRn) și timpul de înjumătățire al IgG1 *in vivo*. Prin aceasta, timpul de înjumătățire plasmatică al unei molecule care conține Fc ar putea fi extins în continuare.

În moleculele polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu invenția, domeniul Fc menționat poate cuprinde un domeniu CH2 cuprinzând cel puțin o mutație de atenuare a funcției efectoare. De preferință, aceste mutații sunt introduse în secvența ELLGGP (SEQ ID NO: 50) a IgG1 umane (resturile 233–238) sau resturile corespunzătoare ale altor izotipuri și sunt cunoscute ca fiind relevante pentru funcțiile efectoare. În principiu, una sau mai multe mutații corespunzătoare resturilor derivate din IgG2 și/sau IgG4 sunt introduse în IgG1 Fc. Preferate sunt: E233P, L234V, L235A și niciun rest sau G în poziția 236. O altă mutație este P331S. EP1075496 descrie un anticorp recombinant care cuprinde un domeniu himeric derivat din două sau mai multe domenii CH2 ale lanțului greu de imunoglobuline umane, care imunoglobuline umane sunt selectate dintre IgG1, IgG2 și IgG4 și în care domeniul himeric este un domeniu CH2 al lanțului greu de imunoglobuline umane care are următoarele blocuri de aminoacizi în pozițiile indicate: 233P, 234V, 235A și fără resturi sau G în poziția 236 și 327G, 330S și 331S în conformitate cu sistemul de numerotare UE și este cel puțin 98% identic cu o secvență CH2 (resturi 231–340) de la IgG1, IgG2 sau IgG4 uman, având respectivii aminoacizi modificați.

Exemple de secvențe parțiale de CH2 preferate de utilizat pot fi (complet sau parțial) după cum urmează:

231-
APPVA-GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASEIEK-334 (SEQ ID No. 5);

și
231-
55 APPVA-GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPASEIEK-334 (SEQ ID No. 6), cu
modificările subliniate, care în poziția 297 poartă un N (varianta glicozilată) sau un rest selectat
din grupul A, G și Q (varianta deglicozilată).

În moleculele polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu invenția, domeniul Fc menționat poate cuprinde un domeniu CH3 cuprinzând cel puțin o mutație care facilitează

formarea de heterodimeri. Pentru a maximiza randamentul proteinei Fc cu specificitate duală heterodimerice dorite și pentru a simplifica purificarea, se pot modifica mutații „knobs-into-holes” („butoane-in-găuri”) în domeniul Fc. Cu acest design, domeniile Fc sunt conduse pentru a forma heterodimeri în locul homodimerilor lor normali prin adăugarea de resturi hidrofobe proeminente („knobs – „butoane”) la un lanț și crearea de buzunare hidrofobe complementare („holes” – „găuri”) pe celălalt lanț. O variantă „buton” poate fi obținută prin înlocuirea unui aminoacid mic cu unul mai mare pentru a fi introdus într-o „gaură” din domeniul opus creat prin înlocuirea unui rest mare cu unul mai mic (Ridgway, J.B.B.; Presta, L.G.; Carter, P. “Knobs-into-holes” engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization. *Protein Eng.* 1996, 9, 617–621; WO 2002/002781).

Preferată este o moleculă polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția în care mutația „buton-in-gaură” este selectată dintre T366W ca „buton” și T366’-S, L368’-A și Y407’V ca „gaură” în domeniul CH3 (vezi, de exemplu, WO 98/50431). Acest set de mutații poate fi extins în continuare prin includerea mutațiilor K409A și F405’-K, așa cum este descris de Wei et al. (Structural basis of a novel heterodimeric Fc for bispecific antibody production, *Oncotarget*. 2017). Un alt „buton” poate fi T366Y, iar „gaura” este Y407’-T.

Moleculele polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu invenția pot cuprinde în plus punți de cisteină introduse artificial între cel puțin un rest de cisteină pe primul lanț polipeptidic și cel puțin un rest de cisteină pe al doilea lanț polipeptidic pentru a se îmbunătăți stabilitatea moleculelor, în mod optim fără a interfera cu caracteristicile de legare ale moleculei bivalente și/sau pentru o heterodimerizare îmbunătățită. Pentru stabilitate suplimentară, se poate introduce o legătură disulfurică prin adăugarea unei singure cisteine în domeniul CH3 atât al „butonului”, cât și al lanțurilor de „găuri”. Este preferată molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, în care domeniul Fc cuprinde un domeniu CH3 cuprinzând cel puțin un rest suplimentar de cisteină, de exemplu S354C și/sau Y349C.

Este preferată o moleculă polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, în care molecula CD menționată este selectată din grupul de molecule CD legate de răspunsul imun, CD3, cum ar fi lanțurile CD3γ, CD3δ și CD3ε CD4, CD7, CD8, CD10, CD11b, CD11c, CD14, CD16, CD18, CD22, CD25, CD28, CD32a, CD32b, CD33, CD41, CD41b, CD42a, CD42b, CD44, CD45RA, CD49, CD55, CD56, CD61, CD64, CD68, CD94, CD90, CD117, CD123, CD125, CD134, CD137, CD152, CD163, CD193, CD203c, CD235a, CD278, CD279, CD287, Nkp46, NKG2D, GITR, FcεRI, TCRα/beta, TCRγ/delta și HLA-DR. În funcție de combinația celor două entități care leagă antigenul moleculei polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu invenția, se pot obține avantaje specifice în ceea ce privește funcția moleculei, în special o activitate îmbunătățită.

Este preferată molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, în care regiunile din primul lanț polipeptidic cuprind SEQ ID NO: 28 pentru VD1, SEQ ID NO: 29 pentru VR1, SEQ ID NO: 30 pentru LINK1; și regiunile din al doilea lanț polipeptidic cuprind SEQ ID NO: 31 pentru VD2, SEQ ID NO: 32 pentru VR2 și SEQ ID NO: 30 pentru LINK2.

Mai preferat este exemplul de moleculă polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, în care regiunea FC din primul lanț polipeptidic cuprinde SEQ ID NO: 26 (Fc1), iar regiunea FC din al doilea lanț polipeptidic cuprinde SEQ ID NO: 27 (Fc2).

Mai preferată este molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția care cuprinde un prim lanț polipeptidic cuprinzând SEQ ID NO: 16 (1. lanț de moleculă completă) și un al doilea lanț polipeptidic cuprinzând SEQ ID NO: 17 (2. lanț de moleculă completă). Mai preferată este molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția care cuprinde un prim lanț polipeptidic cuprinzând SEQ ID NO: 51, 53, 55 sau 57 (1. lanț de moleculă completă) și un al doilea lanț polipeptidic cuprinzând SEQ ID NO: 52, 54, 56 sau 58 (2. lanț de moleculă completă).

Chiar și mai preferată este molecula polipeptidică cu specificitate duală exemplară în conformitate cu invenția, în care primul loc de legare (VD1)(VD2) menționat care leagă epitopul antigenului de suprafață al celulelor imune umane (de exemplu, CD3) este umanizat; și/sau al doilea loc de legare menționat (VR1)(VR2) care leagă epitopul peptidic viral asociat MHC menționat este maturat prin afinitate.

Anticorpii umanizați sunt anticorpi (sau părți ale acestora) de la specii non-umane ale căror secvențe de proteine au fost modificate pentru a-și crește similitudinea cu variantele de anticorpi produse în mod natural la om. Procesul de „umanizare” se aplică de obicei anticorpilor monoclonali dezvoltați pentru administrare la oameni (de exemplu, anticorpi dezvoltați ca medicamente anticancer). Metode adecvate pentru umanizare sunt cunoscute din literatura de specialitate și, de exemplu, sunt revizuite în Olimpieri, Pier Paolo, Paolo Marcatili și Anna Tramontano. “Tabhu: Tools for Antibody Humanization.” *Bioinformatics* 31.3 (2015): 434-435.

PMC; Safdari Y, Farajnia S, Asgharzadeh M, Khalili M. Antibody humanization methods - a review and update. *Biotechnol Genet Eng Rev.* 2013;29:175-86; sau Ahmadzadeh V, Farajnia S, Feizi MA, Nejad RA. Antibody humanization methods for development of therapeutic applications. *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother.* 2014 Apr;33(2):67-73.

5 In general, maturizarea *in vitro* a afinității TCR-urilor și anticorpilor se poate face în conformitate cu metodele descrise în literatura de specialitate, în special folosindu-se afișarea pe suprafețe de levuri sau fagi (bazată pe, de exemplu, Holler PD, et al. *In vitro* evolution of a T cell receptor with high affinity for peptide/MHC. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000 May 9; 97(10):5387-92; Boder ET et al., Directed evolution of antibody fragments with monovalent femtomolar antigen-binding affinity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000 Sep 26; 97(20):10701-5; și, ca exemplu recent, Zhao Q, et al. Affinity maturation of T-cell receptor-like antibodies for Wilms tumor 1 peptide greatly enhances therapeutic potential. *Leukemia.* 2015; 29(11):2238-2247).

10 Locurile de legare (VD1)(VD2) și (VR1)(VR2) din prezenta descriere se leagă preferabil în mod specific la un antigen de suprafață al celulelor imune umane și, respectiv, la un complex molecular peptidă-HLA viral. Așa cum este utilizat aici în legătură cu locurile de legare din prezenta descriere, „legare specifică” și variante gramaticale ale acestei sintagme sunt utilizate pentru a desemna un loc care are o afinitate de legare (KD) pentru un complex molecular peptidă-HLA de 100 μ M sau mai puțin. Locurile de legare (VD1)(VD2) și (VR1)(VR2) din prezenta descriere se leagă la un epitop de anticorp CD sau, respectiv, un complex molecular peptidă-HLA cu o afinitate de legare (KD) de aproximativ 100 μ M sau mai puțin, de aproximativ 50 μ M sau mai puțin, de aproximativ 25 μ M sau mai puțin ori de aproximativ 10 μ M sau mai puțin. Mai preferate sunt locurile de legare cu afinitate ridicată având afinități de legare de aproximativ 1 μ M sau mai puțin, de aproximativ 100 nM sau mai puțin, de aproximativ 50 nM sau mai puțin, de aproximativ 25 nM sau mai puțin, de aproximativ 10 nM sau mai puțin, de aproximativ 5 nM sau mai puțin, de aproximativ 2 nM sau mai puțin, de aproximativ 1 nM sau mai puțin, de aproximativ 500 pM sau mai puțin, de aproximativ 200 pM sau mai puțin, de aproximativ 100 pM sau mai puțin. Exemple nelimitative de intervale de afinitate de legare preferate pentru locurile de legare din prezenta invenție includ de la aproximativ 10 pM până la aproximativ 100 pM, de la 100 pM până la aproximativ 1 nM, de la 1 nM până la aproximativ 10 nM; de la aproximativ 10 nM până la aproximativ 20 nM; de la aproximativ 20 nM până la aproximativ 30 nM; de la aproximativ 30 nM până la aproximativ 40 nM; de la aproximativ 40 nM până la aproximativ 50 nM; de la aproximativ 50 nM până la aproximativ 60 nM; de la aproximativ 60 nM până la aproximativ 70 nM; de la aproximativ 70 nM până la aproximativ 80 nM; de la aproximativ 80 nM până la aproximativ 90 nM și de la aproximativ 90 nM până la aproximativ 100 nM, de exemplu, așa cum este măsurat prin interferometrie biostratigrafică, așa cum este descris în Exemplul 6.

35 În prezentul document este descrisă o polipeptidă având cel puțin 50%, cel puțin 60%, cel puțin 70%, cel puțin 80%, cel puțin 90%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98% sau cel puțin 99% identitate de secvență cu o secvență de aminoacizi descrisă în prezentul document, de exemplu, secvențe de aminoacizi de la 1 până la 58. Într-un alt aspect, descrierea furnizează o primă sau a doua polipeptidă având cel puțin 50%, cel puțin 60%, cel puțin 70%, cel puțin 80%, cel puțin 90%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98% sau cel puțin 99% identitate de secvență cu o secvență de aminoacizi descrisă în prezentul document. De asemenea, este descrisă o moleculă polipeptidică cu specificitate duală având o identitate de secvență de cel puțin 50%, de cel puțin 60%, de cel puțin 70%, de cel puțin 80%, de cel puțin 90%, de cel puțin 95%, de cel puțin 96%, de cel puțin 97%, de cel puțin 98% sau de cel puțin 99% cu una sau mai multe secvențe de aminoacizi descrise în prezentul document. Identitatea procentuală de cel puțin 50%, de cel puțin 60%, de cel puțin 70%, de cel puțin 80%, de cel puțin 90%, de cel puțin 95%, de cel puțin 96%, de cel puțin 97%, de cel puțin 98% sau de cel puțin 99% se aplică oricăreia dintre secvențele regiunilor structurale descrise în Figura 1, de exemplu, VD1, VR1, Link1, VR2, VD2, Link2 sau regiune balama, și așa cum este descris sau face parte din secvențele descrise în prezentul document.

50 Polipeptidele sau moleculele polipeptidice cu specificitate duală descrise în prezentul document pot fi modificate în diferite moduri, inclusiv substituții de aminoacizi, deleții, trunchieri și inserții de unul sau mai mulți aminoacizi. Polipeptidele sau moleculele polipeptidice cu specificitate duală descrise în prezentul document pot include 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 sau 50 sau mai multe substituții, deleții sau inserții de aminoacizi. Polipeptidele sau moleculele polipeptidice cu specificitate duală descrise în prezentul document pot include 1–5, 1–10, 1–20, 2–5, 2–10, 5–20, 5–50 sau 10–100 substituții, deleții sau inserții de aminoacizi. Conform unui exemplu, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 sau 50 ori mai multe substituții, deleții sau inserții de aminoacizi se aplică oricăreia dintre regiunile structurale descrise în Figura 1, de exemplu VD1, VR1, Link1, VR2, VD2, Link2 sau regiuni balama. Mai sunt

descrise 1–5, 1–10, 1–20, 2–5, 2–10, 5–20, 5–50 sau 10–100 substituții, deleții sau inserții de aminoacizi care se aplică secvențelor oricăreia dintre regiunile structurale descrise în Figura 1, de exemplu VD1, VR1, Link1, VR2, VD2, Link2 sau regiune balama, și așa cum sunt descrise sau fac parte din secvențele descrise în prezentul document.

5 Conform unui exemplu, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 sau 50 ori mai mulți aminoacizi pot fi adăugați la capătul N sau capătul C al unei polipeptide sau al unei molecule polipeptidice cu specificitate duală descrise în prezentul document, de exemplu secvențele de aminoacizi de la 1 la 58.

10 De exemplu, VD1 poate avea cel puțin 50%, cel puțin 55%, cel puțin 60%, cel puțin 65%, cel puțin 70%, cel puțin 75%, cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93%, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 28.

15 De exemplu, VR1 poate avea cel puțin 50%, cel puțin 55%, cel puțin 60%, cel puțin 65%, cel puțin 70%, cel puțin 75%, cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93%, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 29.

20 De exemplu, LINK1 sau LINK2 poate avea cel puțin 50%, cel puțin 55%, cel puțin 60%, cel puțin 65%, cel puțin 70%, cel puțin 75%, cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93%, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 30.

25 De exemplu, VD2 poate avea cel puțin 50%, cel puțin 55%, cel puțin 60%, cel puțin 65%, cel puțin 70%, cel puțin 75%, cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93%, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 31.

De exemplu, VR2 poate avea cel puțin 50%, cel puțin 55%, cel puțin 60%, cel puțin 65%, cel puțin 70%, cel puțin 75%, cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93%, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 32.

30 De exemplu, balamaua poate avea cel puțin 50%, cel puțin 55%, cel puțin 60%, cel puțin 65%, cel puțin 70%, cel puțin 75%, cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93%, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3 sau SEQ ID NO: 4. Intr-un alt aspect, domeniul CH2 poate avea cel puțin 50%, cel puțin 55%, cel puțin 60%, cel puțin 65%, cel puțin 70%, cel puțin 75%, cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93%, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 5 sau SEQ ID NO: 6.

35 Intr-un alt aspect, regiunea Fc poate avea cel puțin 50%, cel puțin 55%, cel puțin 60%, cel puțin 65%, cel puțin 70%, cel puțin 75%, cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93%, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% identitate cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 26 sau SEQ ID NO: 27.

40 Este descrisă, de asemenea, o polipeptidă având cel puțin 50%, cel puțin 60%, cel puțin 70%, cel puțin 80%, cel puțin 90%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98% sau cel puțin 99% identitate de secvență cu secvența de aminoacizi din SEQ ID NO: 43, 44, 45 sau 46.

45 Polipeptidele sau moleculele polipeptidice cu specificitate duală descrise în prezentul document pot fi modificate prin substituirea unuia sau a mai multor resturi la diferite poziții, posibil selective, din lanțul polipeptidic. Astfel de substituții pot fi conservatoare, de exemplu, dacă un aminoacid este substituit cu un alt aminoacid cu structură și caracteristici similare, astfel încât de exemplu un aminoacid hidrofob să fie înlocuit cu un alt aminoacid hidrofob. Mult mai conservatoare ar fi înlocuirea aminoacizilor cu unii de dimensiune și natură chimică identică sau similară, cum ar fi în cazul în care leucina este înlocuită de izoleucină. În studiile variațiilor de secvențe la familii cu proteine omologe natural-survenite, anumite substituții aminoacidice sunt mai frecvent tolerate decât altele, aceasta corelandu-se cu similitudinile de dimensiune, sarcină, polaritate și hidrofobicitate dintre aminoacidul natural și cel care îl înlocuiește, aceasta fiind baza de definire a „substituțiilor conservatoare”.

50 Molecula polipeptidică cu specificitate duală poate transporta un agent activ sau o porțiune a acestuia care este cuplată sau conjugată la aceasta. Respectivul agent activ poate fi selectat din grupul constând dintr-un marcaj detectabil, o moleculă imunostimulatoare și un agent terapeutic.

Marcajul detectabil poate fi selectat din grupul format din biotină, streptavidină, o enzimă sau un fragment activ catalitic al acesteia, un radionuclid, o nanoparticulă, un ion metalic paramagnetic sau o moleculă fluorescentă, fosforescentă sau chemiluminiscentă. Marcajele detectabile în scopuri diagnostice includ, de exemplu, marcaje fluorescente, radiomarcaje, enzime,

5

sonde de acid nucleic și reactivi de contrast.

Agenții terapeutici care pot fi asociați cu moleculele din invenție includ imunomodulatori, compuși radioactivi, enzime (de exemplu, perforină), agenți chimioterapeutici (de exemplu, cisplatină) sau o toxină. Alți agenți terapeutici adecvați includ agenți citotoxici cu molecule mici, adică compuși cu capacitatea de a distruge celule de mamifere cu o greutate moleculară mai mică de 700 Daltoni. Astfel de compuși pot conține, de asemenea, metale toxice capabile să aibă un efect citotoxic. Mai mult, trebuie înțeles că acești agenți citotoxici cu molecule mici includ, de asemenea, pro-medicamente, adică compuși care se descompun sau sunt transformați în condiții fiziologice pentru a elibera agenți citotoxici. Exemple de astfel de agenți includ cisplatină, derivați de maytansină, rachelmicină, calicheamicină, docetaxel, etopozidă, gemcitabină, ifosfamidă, irinotecan, melfalan, mitoxantronă, porfimer sodic, temozolomidă, topotecan, trimetrexat glucuronat, auristatin E, vincristină și doxorubicină; citotoxine peptidice, adică proteine sau fragmente ale acestora cu capacitatea de a distruge celulele de mamifere. De exemplu, ricină, toxină difterică, exotoxină bacteriană *pseudomonas A*, DNază și RNază; radionuclizi, adică izotopi instabili ai elementelor care se degradează odată cu emisia concomitentă a unui sau mai multor particule α sau β ori raze γ . De exemplu, iod-131, reniu-186, indiu-111, itriu-90, bismut-210 și -213, actiniu-225 și astatin-213; agenții chelatori pot fi utilizați pentru a facilita asocierea acestor radionuclizi la molecule sau multimeri ai acestora; imunostimulatori, adică molecule efectoare imune care stimulează răspunsul imun. De exemplu, citokine, cum ar fi IL-2 și IFN- γ , chemokine, cum ar fi IL-8, factorul plachetar 4, proteina stimuloare a creșterii melanomului, activatorii complementului; sau domenii de proteine xenogene, domenii de proteine alogene, domenii de proteine virale/bacteriene, peptide virale/bacteriene.

10

15

20

25

30

35

40

45

Un alt aspect al prezentei invenții se referă apoi la o moleculă de acid nucleic care codifică pentru un prim lanț polipeptidic și/sau un al doilea lanț polipeptidic așa cum este descris în prezentul document sau un vector de exprimare cuprinzând un astfel de acid nucleic. Molecula de acid nucleic poate fi ADN, ADNc, APN, ARN și combinații ale acestora. Secvența nucleotidică ce codifică o anumită peptidă, oligopeptidă sau polipeptidă poate fi întâlnită în mod natural sau poate fi construită artificial. În general, segmentele de ADN care codifică peptidele, polipeptidele și proteinele care fac subiectul acestei invenții sunt asamblate pornind de la fragmente ADNc și liganzi scurți oligonucleotidici sau de la serii de oligonucleotide, care asigură o genă sintetică capabilă de a fi exprimată într-o unitate de transcriere recombinantă care conține elemente reglatoare derivate dintr-un operon microbial sau viral. Termenul „produs de exprimare” se referă la polipeptida sau proteina care reprezintă produsul natural de translație al genei și orice secvență de acid nucleic care codifică echivalenți rezultată din degenerarea codului genetic care astfel codifică aceiași aminoacizi. Termenul „fragment”, atunci când se referă la o secvență de codificare, înseamnă o porțiune de ADN care conține mai puțin decât regiunea completă de codificare, al cărei produs complet de exprimare reține, în principal, aceeași funcție sau activitate biologică ca și produsul de exprimare al întregii regiuni de codificare. În funcție de utilizarea intenționată, acidul nucleic poate fi optimizat cu codoni pentru exprimare într-o celulă-gazdă adecvată (de exemplu, microbială). Redundanța în codul genetic permite codificarea unor aminoacizi de către mai mulți codoni, însă anumiți codoni sunt mai puțin „optimi” decât alții din cauza disponibilității relative a ARNt-urilor corespondente, precum și a altor factori (Gustafsson et al., 2004).

50

Acidul nucleic poate fi, de exemplu, ADN, ADNc, APN, ARN sau o combinație a acestora, în helix simplu și/sau dublu sau în forme native sau stabilizate de polinucleotide, cum ar fi, de exemplu, polinucleotidele cu bază de fosforotioat și poate conține sau nu introni, cu condiția să codifice pentru lanțurile polipeptidice.

55

60

Acidul nucleic (de exemplu, ADN) poate fi apoi cuprins și/sau exprimat într-o gazdă adecvată pentru a produce o polipeptidă care cuprinde lanțul polipeptidic din invenție. Prin urmare, acidul nucleic (de exemplu, ADN-ul) care codifică lanțul polipeptidic din invenție poate fi utilizat în conformitate cu tehnicile cunoscute, modificate corespunzător instrucțiunilor prezente, în vederea construirii unui vector de exprimare, care este apoi utilizat pentru transformarea unei celule-gazdă corespunzătoare pentru exprimarea și producerea polipeptidei din invenție, așa cum este cunoscut în domeniu. Acidul nucleic (de exemplu, ADN-ul sau, în cazul vectorilor retrovirali, ARN-ul) care codifică lanțul (lanțurile) polipeptidic(e) care formează compusul din invenție poate fi cuplat cu o mare varietate de alte secvențe de acid nucleic (de exemplu, ADN) pentru introducerea într-o gazdă adecvată. Acidul nucleic însoțitor va depinde de natura gazdei, modul de

introducere a ADN-ului în gazdă și dacă se dorește integrarea sau întreținerea episomală. În general, acidul nucleic este inserat într-un vector de exprimare, cum ar fi o plasmidă, cu orientarea corectă și intervalul potrivit de citire pentru exprimare. Dacă este necesar, acidul nucleic poate fi corelat cu secvențele de nucleotide de transcripție și translație corespunzătoare, recunoscute de gazda dorită, cu toate că astfel de controale sunt disponibile în general în vectorul de exprimare. Vectorul este apoi introdus în gazdă utilizându-se tehnici standard. În general, nu toate gazdele vor fi transformate de vector. Prin urmare, va fi nevoie de selectarea unor celule-gazdă transformate. Una dintre tehnicile de selectare implică înglobarea în vectorul de exprimare a unei secvențe de acid nucleic cu toate elementele de control necesare, care să codifice o trăsătură selectabilă din celula transformată, cum ar fi de exemplu rezistența la antibiotic. Alternativ, gena unei asemenea trăsături selectabile poate fi pe un alt vector, care este folosit pentru a cotransforma celula-gazdă dorită. Celulele-gazdă care au fost transformate de acid nucleic recombinant din cadrul invenției sunt apoi cultivate un timp suficient și în condiții corespunzătoare, cunoscute celor inițiați, în conformitate cu îndrumările din acest document, pentru a permite exprimarea polipeptidei, care poate fi apoi recuperată.

Sunt cunoscute numeroase sisteme de exprimare, inclusiv bacterii (de exemplu, *E. coli* și *Bacillus subtilis*), levuri (de exemplu, *Saccharomyces cerevisiae*), fungi filamentosi (de exemplu, *Aspergillus spec.*), celule vegetale, celule animale și celule provenite de la insecte. Este de preferat ca sistemul să poată fi format din celule de mamifere, cum ar fi celulele CHO, disponibile din ATCC Cell Biology Collection.

De asemenea, este descrisă o metodă de producere a unei molecule așa cum este descrisă în prezentul document, metoda cuprinzând cultivarea unei celule-gazdă capabile să exprime lanțul (lanțurile) polipeptidic(e) în condiții adecvate pentru promovarea exprimării lanțului (lanțurilor) menționat(e).

Pentru a obține celule care exprimă molecule din prezenta descriere, acizii nucleici care codifică lanțurile polipeptidice cuprinzând domenii de legare TCR-alfa și/sau TCR-beta pot fi clonați în vectori de exprimare, de exemplu gamma-retrovirus sau lentivirus. Ca alternativă, pentru a obține celule care exprimă molecule din prezenta descriere, pot fi sintetizate ARN-uri prin tehnici cunoscute în domeniu, de exemplu, cu sisteme de transcripție *in vitro*. ARN-urile sintetizate *in vitro* sunt apoi introduse în celule adecvate prin electroporare pentru a exprima lanțuri polipeptidice.

Pentru a crește exprimarea, acizii nucleici care codifică lanțurile din prezenta descoperire pot fi legați în mod operațional cu promotori puternici, cum ar fi repetițiile terminale lungi retrovirale (LTR-uri), citomegalovirusul (CMV), virusul celulelor stem murine (MSCV) U3, fosfogliceratul kinazic (PGK), β -actina, ubiquitina și un promotor compus de virus simian 40 (SV40)/CD43, factorul de alungire (EF)-1a și promotorul de virus formator de focar splenic (SFFV). Promotorul poate fi heterolog cu exprimarea acidului nucleic. În afară de promotori puternici, casetele de exprimare din prezenta descoperire pot conține elemente suplimentare care pot îmbunătăți exprimarea transgenică, inclusiv un tract polipurinic central (cPPT), care promovează translocarea nucleară a construcțiilor lentivirale (Follenzi et al., 2000), și elementul de reglare post-transcripțional al virusului hepatitei marmotei (wPRE), care crește nivelul de exprimare transgenică prin creșterea stabilității ARN-ului (Zufferey et al., 1999).

Lanțurile domeniilor de legare alfa și beta ale unei molecule din prezenta invenție pot fi codificate de acizi nucleici localizați în vectori separați sau pot fi codificate de polinucleotide localizate în același vector.

Poate fi proiectată o celulă-gazdă pentru a exprima o moleculă din prezenta descriere. Celulele-gazdă din prezenta descoperire pot fi alogene sau autologe în raport cu un pacient care urmează să fie tratat.

Un alt aspect al invenției se referă la o compoziție farmaceutică cuprinzând molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu prezenta invenție, acidul (acizii) nucleic(i) sau vectorul (vectorii) de exprimare în conformitate cu prezenta invenție sau celula în conformitate cu prezenta invenție, împreună cu unul sau mai mulți purtători sau excipienți acceptabili farmaceutic. Compozițiile în conformitate cu invenția includ compoziții medicamentoase în vrac utile la fabricarea compozițiilor farmaceutice (de exemplu, compoziții impure sau nesterile) și compoziții farmaceutice (de exemplu, compoziții care sunt adecvate pentru administrarea la un subiect sau pacient) care pot fi utilizate în pregătirea formelor de dozare unitare. Astfel de compoziții cuprind o cantitate eficientă din punct de vedere profilactic sau terapeutic din molecula polipeptidică (agentul) cu specificitate duală profilactică și/sau terapeutică descrisă în prezentul document sau o combinație a agentului cu un purtător acceptabil farmaceutic. De preferință, compozițiile în conformitate cu invenția cuprind o cantitate eficientă din punct de vedere profilactic

sau terapeutic din una sau mai multe molecule in conformitate cu invenția și un purtător acceptabil farmaceutic.

Compozițiile farmaceutice cuprind, de preferință, moleculele fie sub formă liberă, fie sub formă de sare. De preferință, sărurile sunt săruri acceptabile din punct de vedere farmaceutic ale moleculelor, cum ar fi, de exemplu, sărurile de clorură sau acetat (trifluoroacetat). Trebuie menționat că sărurile moleculelor în conformitate cu prezenta invenție diferă în mod substanțial de moleculele în starea (stările) lor *in vivo*, întrucât moleculele nu sunt săruri *in vivo*.

Prezenta descoperire se referă deci la o moleculă care nu se găsește în mod natural în conformitate cu invenția, care a fost produsă sintetic (de exemplu, sintetizată) ca sare acceptabilă farmaceutic. Metodele de producere sintetică de peptide și/sau polipeptide sunt bine cunoscute în domeniu. Sărurile moleculelor în conformitate cu prezenta invenție diferă în mod substanțial de moleculele în starea (stările) lor *in vivo*, întrucât moleculele generate *in vivo* nu sunt săruri. De preferință, sărurile sunt săruri ale moleculelor acceptabile farmaceutic. Aceste săruri în conformitate cu invenția includ săruri alcaline și alcalino-pământoase, cum ar fi sărurile din seria Hofmeister cuprinzând sub formă de anioni PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , CH_3COO^- , Cl^- , Br^- , NO_3^- , ClO_4^- , I^- , SCN^- și, drept cationi, NH_4^+ , Rb^+ , K^+ , Na^+ , Cs^+ , Li^+ , Zn^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} și Ba^{2+} . În mod special sunt selectate sărurile din $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{COO}$, NH_4Cl , NH_4Br , NH_4NO_3 , NH_4ClO_4 , NH_4I , NH_4SCN , Rb_3PO_4 , Rb_2HPO_4 , RbH_2PO_4 , Rb_2SO_4 , $\text{Rb}_4\text{CH}_3\text{COO}$, Rb_4Cl , Rb_4Br , Rb_4NO_3 , Rb_4ClO_4 , Rb_4I , Rb_4SCN , K_3PO_4 , K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , K_2SO_4 , KCH_3COO , KCl , KBr , KNO_3 , KClO_4 , KI , KSCN , Na_3PO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , Na_2SO_4 , NaCH_3COO , NaCl , NaBr , NaNO_3 , NaClO_4 , NaI , NaSCN , ZnCl_2 , Cs_3PO_4 , Cs_2HPO_4 , CsH_2PO_4 , Cs_2SO_4 , CsCH_3COO , CsCl , CsBr , CsNO_3 , CsClO_4 , CsI , CsSCN , Li_3PO_4 , Li_2HPO_4 , LiH_2PO_4 , Li_2SO_4 , LiCH_3COO , LiCl , LiBr , LiNO_3 , LiClO_4 , LiI , LiSCN , Cu_2SO_4 , $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$, Mg_2HPO_4 , $\text{Mg}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, Mg_2SO_4 , $\text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, MgCl_2 , MgBr_2 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, MgI_2 , $\text{Mg}(\text{SCN})_2$, MnCl_2 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, Ca_2HPO_4 , $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, CaSO_4 , $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, CaCl_2 , CaBr_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{ClO}_4)_2$, CaI_2 , $\text{Ca}(\text{SCN})_2$, $\text{Ba}_3(\text{PO}_4)_2$, Ba_2HPO_4 , $\text{Ba}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$, BaSO_4 , $\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, BaCl_2 , BaBr_2 , $\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ba}(\text{ClO}_4)_2$, BaI_2 și $\text{Ba}(\text{SCN})_2$. De preferat sunt, în special, acetatul de NH_4 , MgCl_2 , KH_2PO_4 , Na_2SO_4 , KCl , NaCl și CaCl_2 , cum ar fi, de exemplu, sărurile cu clorură sau acetat (trifluoroacetat).

O polipeptidă descrisă în prezentul document poate fi sub formă de sare acceptabilă farmaceutic. Într-un alt aspect, o polipeptidă sub formă de sare farmaceutică este sub formă cristalină.

O sare acceptabilă farmaceutic descrisă în prezentul document se poate referi la săruri care posedă profiluri de toxicitate într-un interval care este acceptabil pentru aplicații farmaceutice.

În accepțiunea prezentului document, „sare acceptabilă (din punct de vedere) farmaceutic” se referă la un derivat al peptidei menționate în care peptida este modificată prin formarea de săruri acide sau bazice ale agentului. De exemplu, sărurile acide sunt preparate din baza liberă (de obicei, în forma neutră, medicamentul are o grupare $-\text{NH}_2$ neutră) prin reacția cu un acid adecvat. Acizii adecvați pentru pregătirea sărurilor acide includ atât acizi organici (de exemplu acid acetic, acid propionic, acid glicolic, acid piruvic, acid oxalic, acid malic, acid malonic, acid succinic, acid maleic, acid fumaric, acid tartaric, acid citric, acid benzoic, acid cinamic, acid mandelic, acid metansulfonic, acid etansulfonic, acid p-toluensulfonic, acid salicilic și alții asemenea lor), cât și acizi anorganici, cum ar fi acidul clorhidric, acidul bromhidric, acidul sulfuric, acidul azotic, acidul fosforic și alții asemenea lor. Dimpotrivă, preparatele sărurilor bazice ale grupărilor acide care pot face parte din peptidă sunt preparate folosind o bază acceptabilă farmaceutic, cum ar fi hidroxidul de sodiu, hidroxidul de potasiu, hidroxidul de amoniu, hidroxidul de calciu, trimetilamina sau altele asemenea.

Sărurile acceptabile farmaceutic pot crește solubilitatea și/sau stabilitatea peptidelor descrise în prezentul document. Sărurile farmaceutice descrise în prezentul document pot fi preparate prin mijloace convenționale din peptida sau complexul purtător corespunzător prin reacția, de exemplu, a acidului sau bazei corespunzătoare cu peptide sau complexe așa cum este descris în prezentul document. Sărurile acceptabile farmaceutic pot fi sub formă cristalină sau semicristalină. Într-un alt aspect, sărurile acceptabile farmaceutic pot include, de exemplu, cele descrise în Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use by P. H. Stahl and C. G. Wermuth (Wiley-VCH 2002) and L. D. Bighley, S. M. Berge, D. C. Monkhouse, in “Encyclopedia of Pharmaceutical Technology”. Eds. J. Swarbrick and J. C. Boylan, Vol. 13, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, Hong Kong 1995, pp. 453-499.

De asemenea, sunt descrise compoziții farmaceutice care cuprind o moleculă polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția și un anticorp terapeutic (de exemplu, anticorp monoclonal specific tumorii) care este specific pentru un anumit antigen al cancerului și un purtător acceptabil farmaceutic.

Termenul „acceptabil (din punct de vedere) farmaceutic” poate însemna aprobat de o agenție de reglementare a guvernului federal sau statal ori listat în Farmacopeea SUA sau în altă farmacopee general recunoscută pentru utilizare la animale și, mai ales, la om. Termenul „purător” se referă la un diluant, un excipient adjuvant sau un vehicul cu care este administrat produsul terapeutic. Astfel de purtători farmaceutici pot fi lichide sterile, cum ar fi apa și uleiurile, inclusiv cele de origine petrolieră, animală, vegetală sau sintetică, cum ar fi uleiul de arahide, uleiul de soia, uleiul mineral, uleiul de susan și altele asemenea. Apa este un purtător preferat atunci când compoziția farmaceutică este administrată intravenos. Soluțiile saline și soluțiile apoase de dextroză și glicerol pot fi, de asemenea, utilizate ca purtători lichizi, în special pentru soluțiile injectabile. Excipienții farmaceutici potriviți includ amidonul, glucoza, lactoza, zaharoza, gelatina, malțul, orezul, făina, creta, silicagelul, stearatul de sodiu, glicerolul monostearat, talcul, clorura de sodiu, fosfatul de sodiu, acetatul de sodiu, L-histidina, laptele degresat uscat, glicerolul, propilena, glicolul, apa, etanolul și altele asemenea. Compoziția, dacă se dorește, poate conține, de asemenea, cantități minore de agenți de umectare sau de emulsionare sau agenți de tamponare a pH-ului. Aceste compoziții pot lua forma unor soluții, suspensii, emulsii, tablete, pastile, capsule, pulberi, formulări cu eliberare susținută și altele asemenea. În general, ingredientele compozițiilor în conformitate cu invenția sunt furnizate fie separat, fie amestecate împreună sub formă de doză unitară, de exemplu, ca pulbere liofilizată uscată sau concentrat fără apă într-un recipient închis ermetic, cum ar fi o fiolă sau un plic, indicând cantitatea de agent activ. În cazul în care compoziția urmează să fie administrată prin perfuzare, se poate distribui cu un flacon de perfuzie care conține apă de calitate farmaceutică sterilă sau soluție salină sterilă. În cazul în care compoziția este administrată prin injectare, se poate furniza o fiolă de apă sterilă pentru injectare sau soluție salină, astfel încât ingredientele să poată fi amestecate înainte de administrare.

Un alt aspect al prezentei invenții se referă apoi la molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, acidul nucleic sau vectorul de exprimare în conformitate cu invenția, celula în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția pentru utilizare în medicină. În general, utilizarea moleculei polipeptidice cu specificitate duală depinde de contextul medical al antigenului (antigenilor) peptidic(i) care este/sunt recunoscut(e) de molecula menționată, așa cum este descris și mai jos.

Este preferată molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, acidul nucleic sau vectorul de exprimare în conformitate cu invenția, celula în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția pentru utilizare în tratarea sau prevenirea unei boli sau tulburări selectate din infecții virale, așa cum este descris și mai jos.

De asemenea, sunt descrise, însă nu fac parte din invenție, metode de obținere a unui răspuns imun la un pacient sau subiect cuprinzând administrarea unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția. O populație de molecule polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția poate fi administrată unui pacient sau subiect care are nevoie de aceasta.

De asemenea, este descrisă, însă nu face parte din invenție, o metodă de distrugere a celulelor-țintă la un pacient sau subiect cuprinzând administrarea la pacient a unei cantități eficiente din molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu prezenta invenție.

De asemenea, sunt descrise, însă nu fac parte din invenție, metode pentru prevenirea, tratarea sau gestionarea unuia sau mai multor simptome asociate bolilor virale. Bolile virale care pot fi tratate sau prevenite folosindu-se moleculele din invenție împreună cu metodele din prezenta invenție includ, dar nu se limitează la, cele cauzate de hepatită de tip A, hepatită de tip B, hepatită de tip C, gripă, varicelă, adenovirus, herpes simplex de tip I (HSV-I), herpes simplex de tip II (HSV-II), pestă bovină, rinovirus, ecovirus, rotavirus, virus sincițial respirator, papilomavirus, papovavirus, citomegalovirus, echinovirus, arbovirus, hantavirus, coxsackievirus, virusul oreionului, virusul rujeolei, virusul rubeolei, virusul poliomielitei, variolă, virusul Epstein Barr, virusul imunodeficienței umane de tip I (HIV-I), virusul imunodeficienței umane de tip II (HIV-II) și agenți ai bolilor virale, cum ar fi virusul meningitei, encefalitei, bolii Dengue sau variolei.

De asemenea, este descrisă, însă nu face parte din prezenta invenție, o metodă pentru tratamentul unei boli sau tulburări cuprinzând administrarea unei cantități eficiente din punct de vedere terapeutic din molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția, acidul nucleic sau vectorul de exprimare în conformitate cu invenția, celula în conformitate cu invenția sau compoziția farmaceutică în conformitate cu invenția.

Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu invenția poate fi utilizată într-o metodă de prevenire sau tratare a unei boli sau afecțiuni care este ameliorată prin administrarea moleculei polipeptidice cu specificitate duală. Astfel de tratamente pot fi furnizate într-o compoziție farmaceutică împreună cu unul sau mai mulți purtători sau excipienți acceptabili

farmaceutic. Moleculele polipeptidice cu specificitate duală terapeutice vor fi furnizate, de obicei, ca parte a unei compoziții farmaceutice sterile care va include, în mod normal, un purtător acceptabil farmaceutic. Această compoziție farmaceutică poate fi sub orice formă adecvată (în funcție de metoda dorită de administrare a acestuia la un pacient). Poate fi furnizată sub formă de doză unitară, în general va fi furnizată într-un recipient sigilat și poate fi furnizată ca parte a unei truse. O astfel de trusă ar include, în mod normal (deși nu neapărat), instrucțiuni de utilizare. Poate include mai multe dintre formele de dozare unitare menționate. Compoziția farmaceutică poate fi adaptată pentru administrare pe orice cale adecvată, cum ar fi pe cale parenterală (inclusiv subcutanată, intramusculară sau intravenoasă). Astfel de compoziții pot fi preparate prin orice metodă cunoscută în domeniul farmaciei, de exemplu prin amestecarea ingredientului activ cu purtătorul sau excipienții în condiții sterile.

Peptidele sau alte molecule descrise în prezentul document pot fi combinate cu un purtător apos. Purtătorul apos poate fi selectat dintre schimbători de ioni, alumină, stearat de aluminiu, stearat de magneziu, lecitină, proteine serice, precum albumina serică umană, substanțe-tampon, precum fosfați, glicină, acid sorbic, sorbat de potasiu, amestecuri de gliceride parțiale de acizi grași vegetali saturați, săruri sau electroliți, cum ar fi sulfat de protamină, hidrogen fosfat disodic, fosfat dicalcic, hidrogen fosfat de potasiu, clorură de sodiu, săruri de zinc, dioxid de siliciu coloidal, trisilicat de magneziu, polivinil pirolidonă, polivinilpirolidonă-vinil acetat, substanțe pe bază de celuloză (de exemplu, celuloză microcristalină, hidroxipropil metilceluloză, hidroxipropil metilceluloză acetat succinat, hidroxipropil metilceluloză ftalat), amidon, lactoză monohidrat, manitol, trehaloză, laurilsulfat de sodiu și croscarmeloză sodică, polietilen glicol, carboximetilceluloză sodică, poliacrilat, poliacrilat, poliacrilat polietilen glicol și lanolină.

Purtătorul apos poate conține mai multe componente, cum ar fi apă împreună cu o componentă care nu este purtătoare de apă, cum ar fi componentele descrise în prezentul document. Într-un alt aspect, purtătorul apos este capabil să confere proprietăți îmbunătățite atunci când este combinat cu o peptidă sau altă moleculă descrisă în prezentul document, de exemplu, solubilitate îmbunătățită, eficacitate și/sau imunoterapie îmbunătățite. În plus, compoziția poate conține excipienți, cum ar fi tampoane, agenți de legare, agenți de declanșare, diluanți, arome, lubrifianti, etc. Un „diluante acceptabil (din punct de vedere) farmaceutic”, de exemplu, poate include solvenți, agenți de mărire a volumului, agenți de stabilizare, medii de dispersie, acoperiri, agenți antibacterieni și antifungici, agenți izotonici și de întârziere a absorbției și alții care sunt compatibili din punct de vedere fiziologic. Exemple de diluanți acceptabili farmaceutici includ unul sau mai multe soluții saline, soluție salină tamponată cu fosfat, dextroză, glicerol, etanol și altele asemenea, precum și combinații ale acestora. În multe cazuri, va fi de preferat să se includă în compoziție unul sau mai mulți agenți izotonici, de exemplu, zaharuri, cum ar fi trehaloză și zaharoza, polialcoolii, cum ar fi manitolul sau sorbitolul, ori clorură de sodiu. Substanțele acceptabile din punct de vedere farmaceutic, cum ar fi umectanții, sau cantități minore de substanțe auxiliare, cum ar fi agenții de umectare sau de emulsifiere, conservanți sau tampoane, sunt, de asemenea, în domeniul de aplicare al prezentei invenții. În plus, compoziția poate include și excipienți, cum ar fi tampoane, agenți de legare, agenți de declanșare, dizolvanți, arome și lubrifianti.

Dozajele de molecule polipeptidice cu specificitate duală în conformitate cu prezenta invenție pot varia între limite largi, în funcție de boala sau tulburarea de tratat, de vârsta și starea individului care urmează să fie tratat etc.; de exemplu, un domeniu de dozare adecvat pentru o moleculă polipeptidică cu specificitate duală poate fi între 25 ng/kg și 50 ?g/kg. Dozele adecvate care trebuie utilizate vor fi stabilite, în cele din urmă, de către un medic.

Compozițiile farmaceutice, vectorii, acizii nucleici și celulele în conformitate cu invenția pot fi furnizate în formă substanțial pură, de exemplu cu puritate de cel puțin 80%, cel puțin 85%, cel puțin 90%, cel puțin 91%, cel puțin 92%, cel puțin 93 %, cel puțin 94%, cel puțin 95%, cel puțin 96%, cel puțin 97%, cel puțin 98%, cel puțin 99% sau 100%.

Caracteristicile preferate ale fiecărui aspect al invenției sunt ca pentru fiecare dintre celelalte aspecte *mutatis mutandis*. Prezenta invenție va fi ilustrată în continuare în următoarele exemple, care sunt date doar în scop ilustrativ și nu sunt destinate să limiteze invenția în niciun fel.

Figura 1 prezintă o imagine de ansamblu schematică asupra unei concretizări preferate a prezentei invenții, molecula polipeptidică cu specificitate duală conținând IgG1 Fc uman. VD1, VD2 = domenii variabile derivate din anticorp; VR1, VR2 = domenii variabile derivate din TCR; Link1, Link2 = linkeri de conectare; Cys-Cys = punți de cisteină.

Figura 2 arată o prezentare generală schematică a 4 construcții diferite de molecule polipeptidice cu specificitate duală conținând IgG1 Fc așa cum au fost testate în contextul prezentei invenții. negru = domenii variabile derivate din TCR; gri deschis = domenii variabile derivate din anticorp;

alb = domenii constante derivate din IgG uman. Mutațiile „knob-into-hole” sunt indicate de un cilindru. Moleculele diacorpice IA-ID sunt în conformitate cu invenția.

- Figura 3** arată analiza HPLC-SEC a diferitelor molecule TCR/mAb bispecifice cu un design molecular conform construcțiilor descrise în Figura 2, care au fost purificate printr-un proces de purificare cu 2 coloane. Conținutul monomeric al diferitelor molecule a fost determinat după cum urmează. II: 93,84%; III: 96,54%; IV: 98,49%; IA_1: 95,48%; IA_3: 98,45%; ID_1: 95,75%; IC_4: 95,22%; IC_5: 92,76%; ID_4: 99,31%; ID_5: 99,44%.
- Figura 4** arată rezultatele testului de potență cu diferite construcții TCR/mAb bispecifice (așa cum este arătat în Figura 2) concepute ca molecule bazate pe IgG4. Celulele Jurkat_NFATRE_luc2 au fost co-incubate cu celule T2 încărcate SLYNTVATL HIV-peptidă (SEQ ID NO: 7) în prezența unor concentrații crescânde de molecule TCR bispecifice (bssTCR). Molecula diacorpică TCR/mAb bispecifică IA-IgG4 a manifestat o potență mai mare decât două molecule TCR/mAb cu specificitate duală alternativă.
- Figura 5** arată rezultatele testului de potență cu diferite construcții TCR/mAb bispecifice (așa cum este arătat în Figura 2) concepute ca molecule bazate pe IgG1. Celulele Jurkat_NFATRE_luc2 au fost co-incubate cu celule T2 încărcate SLYNTVATL HIV-peptidă (SEQ ID NO: 7) în prezența unor concentrații crescânde de molecule TCR bispecifice (bssTCR). Moleculele diacorpice TCR/mAb bispecifice ID_1, IA_3 și IA1 au manifestat o potență semnificativ mai mare decât trei molecule TCR/mAb cu specificitate duală alternativă.
- Figura 6** prezintă rezultatele testului de potență efectuat cu diferite construcții TCR/mAb bispecifice bazate pe IgG1 (așa cum este arătat în Figura 2) utilizându-se diferite domenii variabile de anticorpi care țintesc complexul TCR-CD3. Construcția ID_1 cuprinde domenii variabile ale anticorpului UCHT1(V9) care țintește CD3, în timp ce construcțiile ID_4 și ID_5 cuprind domenii variabile ale anticorpului specific TCR alfa/beta BMA031. Celulele Jurkat_NFATRE_luc2 au fost co-incubate cu celule T2 încărcate SLYNTVATL HIV-peptidă (SEQ ID NO: 7) în prezența unor concentrații crescânde de molecule TCR bispecifice (bssTCR).
- Figura 7** arată o prezentare generală schematică a posibilelor orientări ale domeniilor VD și VR în moleculele din prezenta invenție. VH: domeniu VH derivat din anticorpi, VL: domeniu VL derivat din anticorpi; Vα: Valfa derivat din TCR; Vβ: Vbeta derivat din TCR.
- Figura 8** arată rezultatele analizei HPLC-SEC a agregatelor (HMWS – specii cu greutate moleculară mare) în cadrul diferitelor molecule TCR/mAb bispecifice bazate pe IgG1. Agregatele au fost analizate după purificare și după păstrarea moleculelor la 40°C timp de 1 săptămână și, respectiv, 2 săptămâni.
- Figura 9** arată rezultatele testului de potență efectuat cu diferite molecule TCR/mAb bispecifice bazate pe IgG1. Potența a fost analizată după purificare și după păstrarea moleculelor la 40°C timp de 1 săptămână și, respectiv, 2 săptămâni. Păstrarea sub stres la 40°C nu a dus la pierderea semnificativă a potenței moleculelor, însă a fost detectată o creștere drastică a activării nespecifice (adică independentă de țintă) a celulelor T Jurkat pentru moleculele III și IV.
- Figura 10** arată rezultatele testului de eliberare de LDH cu diferite construcții TCR/mAb bispecifice (așa cum este arătat în Figura 2) concepute ca molecule bazate pe IgG1. PBMC-urile izolate de la un donator sănătos au fost co-incubate cu celule T2 încărcate SLYNTVATL HIV-peptidă (SEQ ID NO: 7) în prezența unor concentrații crescânde de molecule TCR bispecifice (bssTCR). Moleculele diacorpice TCR/mAb bispecifice IA_3 și ID_1 au indus o lizare semnificativ mai mare a celulelor-țintă decât trei molecule TCR/mAb cu specificitate duală alternativă. Așa cum este arătat în graficul din partea dreaptă, niciunul dintre construcțiile TCR/mAb bispecifice testate nu a indus lizare detectabilă a celulelor T2 încărcate cu peptidă irelevantă (SEQ ID NO: 49).
- Figura 11** arată rezultatele unei analize de eliberare de LDH cu construcția diacorpică TCR/mAb bispecifică IA_5 care țintește peptida asociată tumorii PRAME-004 (SEQ ID NO: 49) prezentată pe HLA-A*02. Celule T CD8 pozitive izolate de la un donator sănătos au fost co-incubate cu linii celulare canceroase UACC-257, SW982 și U2OS prezentând diferite cantități de complexe PRAME-004:HLA-A*02-1 pe suprafața celulei (aproximativ 1100, aproximativ 770 și aproximativ 240 de copii per celulă, determinate prin analiză M/S) la un raport efector:țintă de 5:1 în prezența unor concentrații crescânde de molecule diacorpice TCR/mAb. După 48 de ore de cocultură, lizarea celulelor-țintă a fost cuantificată utilizându-se teste de eliberare de LDH conform instrucțiunilor producătorului (Promega).
- Figura 12** arată rezultatele unui test de eliberare de LDH cu construcțiile diacorpice TCR/mAb bispecifice IA_5 și IA_6 utilizându-se un TCR maturat de stabilitate/afinitate și, respectiv, o versiune îmbunătățită a acestuia, împotriva peptidei asociate tumorii PRAME-004 (SEQ ID NO: 49) prezentată pe HLA-A*02. Celule T CD8 pozitive izolate de la un donator sănătos au fost co-

incubate cu linia de celule canceroase U2OS prezentând aproximativ 240 de copii per celulă de complexe PRAME-004:HLA-A*02-1 sau celule T2 neîncărcate (raport efector:țintă de 5:1) în prezența unor concentrații crescânde de molecule diacorpice TCR/mAb. După 48 de ore de co-cultură, lizarea celulelor-țintă a fost cuantificată utilizându-se teste de eliberare de LDH conform instrucțiunilor producătorului (Promega).

Figura 13 arată rezultatele unui studiu de stabilitate la căldură-stres a construcțiilor diacorpice TCR/mAb IA_5 și IA_6 utilizându-se un TCR maturat de stabilitate/afinitate și, respectiv, o versiune îmbunătățită a acestuia, împotriva peptidei asociate tumorii PRAME-004 (SEQ ID NO: 49) prezentată pe HLA-A*02. Pentru aceasta, proteinele au fost formulate în PBS la o concentrație de 1 mg/ml și apoi păstrate la 40°C timp de două săptămâni. Integritatea și recuperarea proteinelor au fost evaluate utilizându-se HPLC-SEC. Astfel, cantitatea de specii cu greutate moleculară mare a fost determinată în funcție de procentul din zona de vârf cu eluare înainte de vârful principal. Recuperarea proteinei monomerice a fost calculată prin compararea principalelor zone de vârf ale probelor nestresate și stresate.

EXAMPLE

EXEMPLUL 1

Designul diacorpilor TCR/mAb bispecifici care conțin Fc și al moleculelor de control.

Diacorpii TCR/mAb bispecifici care conțin Fc și moleculele de control (așa cum sunt ilustrate în Figura 2) au fost proiectate pentru a se lega în mod specific de complexul TCR-CD3 uman și de complexul peptidă:MHC care cuprinde peptida derivată din HIV SLYNTVATL (SEQ ID NO: 7)) legată de HLA-A2*01. Pentru țintirea complexului TCR-CD3 au fost utilizate domenii VH și VL derivate din anticorpus umanizat specific CD3 hUCHT1 (V9) descris de Zhu et al. (Identification of heavy chain residues in a humanized anti-CD3 antibody important for efficient antigen binding and T cell activation. *J Immunol*, 1995, 155, 1903–1910) sau domeniile VH și VL derivate din anticorpus specific TCR alfa/beta BMA031 descris în Shearman et al. (Construction, expression and characterization of humanized antibodies directed against the human alpha/beta T cell receptor. *J Immunol*, 1991, 147, 4366-73) și folosite în versiunea umanizată varianta 10 (date generate intern). Pentru țintirea complexului peptidă:MHC au fost utilizate domenii Valfa și Vbeta ale stabilității și afinității maturate descrise anterior, receptorul de celule T cu lanț unic uman 868Z11 descris de Aggen et al. (Identification and engineering of human variable regions that allow expression of stable single-chain T cell receptors. *PEDS*, 2011, 24, 361 – 372).

În cazul diacorpilor TCR/mAb bispecifici care conțin Fc, au fost obținute prin sinteză genică secvențe de ADN care codifică diverse combinații de VH și VL (corespunzătoare VD1 și, respectiv, VD2) și Va și Vb (corespunzătoare VR1 și, respectiv, VR2), precum și codificare pentru linkerii Link1 și Link2. Secvențele ADN rezultate au fost clonate în cadru în vectori de exprimare care codifică regiunea balama, domenii CH2 și CH3 derivate din IgG4 uman [Accession #: K01316] și, respectiv, IgG1 [Accession #: P01857] și au fost modificate în continuare. Modificarea a fost efectuată pentru a se încorpora mutații knob-into-hole în domenii CH3 cu și fără stabilizare suplimentară a legăturii disulfurice între lanțuri; pentru a se elimina un loc de N-glicozilare în CH2 (de exemplu, mutația N297Q); pentru a se introduce mutații de atenuare a Fc; pentru a se introduce o stabilizare suplimentară a legăturii disulfurice în VL și, respectiv, VH, conform metodelor descrise de Reiter et al. (Stabilization of the Fv Fragments in Recombinant Immunotoxins by Disulfide Bonds Engineered into Conserved Framework Regions. *Biochemistry*, 1994, 33, 5451 – 5459). O prezentare generală a diacorpilor TCR/mAb bispecifici produși, variantele, precum și secvențele corespunzătoare sunt enumerate în Tabelul 1.

Tabelul 1: Prezentare generală a tuturor diacorpilor TCR/mAb bispecifici care conțin Fc generați și evaluați:

KiH: Knob-into-hole; K/O: atenuare a Fc; KiH-ds: knob-into-hole stabilizat cu legătură disulfurică artificială pentru conectarea CH3:CH3'; ds-hUCHT1(V9): domenii variabile hUCHT1(V9) stabilizate cu legături disulfurice; Link1: linker care conectează VR1 și VD1.

Moleculă	TCR	mAb	SEQ ID	modificări
IA-IgG4	868Z11	hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 8 SEQ ID No. 9	IgG4 (KiH)
IA_1	868Z11	hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 10	IgG1 (K/O, KiH)

Moleculă	TCR	mAb	SEQ ID	modificări
			SEQ ID No. 11	
IA_2	868Z11	hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 12 SEQ ID No. 13	IgG1 (K/O, KiH-ds)
IA_3	868Z11	ds-hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 14 SEQ ID No. 15	IgG1 (K/O, KiH-ds)
ID_1	868Z11	ds-hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 16 SEQ ID No. 17	IgG1 (K/O, KiH-ds)
IC_4	868Z11	hBMA031(var10)	SEQ ID No. 18 SEQ ID No. 19	IgG1 (K/O, KiH-ds)
IC_5	868Z11	hBMA031(var10)	SEQ ID No. 20 SEQ ID No. 21	IgG1 (K/O, KiH-ds) Link1 extins
ID_4	868Z11	hBMA031(var10)	SEQ ID No. 22 SEQ ID No. 23	IgG1 (K/O, KiH-ds)
ID_5	868Z11	hBMA031(var10)	SEQ ID No. 24 SEQ ID No. 25	IgG1 (K/O, KiH-ds) Link1 extins
IA_5	R16P1C10I	hUCHT1(Var17)	SEQ ID No. 43 SEQ ID No. 44	IgG1 (K/O, KiH-ds)
IA_6	R16P1C10I#6	hUCHT1(Var17)	SEQ ID No. 45 SEQ ID No. 46	IgG1 (K/O, KiH-ds)

Au fost construite diferite molecule de control care prezintă aceleași specificități (Tabelul 2) utilizandu-se domeniile VH, VL, Valfa și Vbeta menționate în combinații cu domenii constante derivate din IgG1 sau IgG4 care cuprind caracteristici modificate așa cum este descris mai sus.

Tabelul 2: Prezentare generală a tuturor moleculelor de control bispecifice care conțin Fc generate și evaluate:

KiH: Knob-into-hole; K/O: Atenuare a FC.

Moleculă	TCR	mAb	SEQ ID	modificări
III-IgG4	868Z11	hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 38 SEQ ID No. 39	IgG4 (KiH)
IV-IgG4	868Z11	hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 40 SEQ ID No. 41	IgG4
II	868Z11	hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 33 SEQ ID No. 34	IgG1 (K/O, KiH)
III	868Z11	hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 35 SEQ ID No. 36	IgG1 (K/O, KiH)
IV	868Z11	hUCHT1(V9)	SEQ ID No. 37 SEQ ID No. 42	IgG1 (K/O)

EXEMPLUL 2

Producerea și purificarea diacorpilor TCR/mAb bispecfici care conțin Fc

Vectorii pentru exprimarea proteinelor recombinante au fost proiectați ca monocistronici, controlați de elemente promotor derivate din HCMV, derivați de pUC19. ADN-ul plasmidic a fost amplificat în *E. coli* în conformitate cu metodele standard de cultură și ulterior purificat folosindu-se truse disponibile în comerț (Macherey și Nagel). ADN-ul plasmidic purificat a fost utilizat pentru transfectarea tranzitorie a celulelor CHO-S conform instrucțiunilor producătorului (sistem ExpiCHO™; Thermo Fisher Scientific). Celulele CHO transfectate au fost cultivate timp de 6–14 zile la 32°C până la 37°C și au primit una până la două alimentări de soluție ExpiCHO™ Feed.

Supernatantul celular condiționat a fost recoltat prin centrifugare (4000 $\times$ g; 30 minute) și clarificat prin filtrare (0,22 μ m). Moleculele bispecifice au fost purificate folosindu-se un sistem Akta Pure 25 L FPLC (GE Lifesciences) echipat pentru a efectua cromatografie de afinitate și de excludere dimensională în linie. Cromatografia de afinitate a fost efectuată pe coloane de proteine A (GE Lifesciences) urmandu-se protocoale standard de cromatografie de afinitate. Cromatografia de excludere dimensională a fost efectuată direct după eluare (pH 2,8) din coloana de afinitate pentru a se obține proteine monomerice foarte pure utilizandu-se coloane Superdex 200 pg 16/600 (GE Lifesciences) urmandu-se protocoale standard. Concentrațiile de proteine au fost determinate

pe un sistem NanoDrop (Thermo Scientific) folosindu-se coeficienți de extincție calculați în conformitate cu secvențele de proteine anticipate. Concentrarea, dacă a fost necesar, și schimbul de tampon au fost efectuate utilizandu-se dispozitive Vivaspin (Sartorius). În final, moleculele purificate au fost păstrate în soluție salină tamponată cu fosfat la concentrații de aproximativ 1 mg/ml la temperaturi de 2°C–8°C.

Deoarece proteinele terapeutice trebuie să prezinte o stabilitate rezonabilă la expunerea la acid pentru a se facilita procese robuste de purificare industrială, a fost evaluat procentul de proteină monomerică eluată din coloana de captare de proteine A (Tabelul 3). Este evident că introducerea mutațiilor stabilizatoare în molecule, precum și selectarea orientărilor distincte ale domeniilor de legare au un impact semnificativ asupra stabilității la expunerea la acid.

Tabelul 3: Frația proteinei monomerice după eluția acidă din coloana de captare:

Moleculă	Monomer eluat din coloana de captare (% din zona de vârf totală)
IA-IgG4 (VH-beta)	n.d.
IA_1 (VH-beta)	49
IA_2 (VH-beta)	54
IA_3 (dsVH-beta)	63
ID_1 (alpha-dsVH)	46
IC_4 (VH-alfa)	62
IC_5 (VH-alfa)	67
ID_4 (alfa-VH)	65
ID_5 (alfa-VH)	69
II	39
III	51
IV	76

După cromatografia de excludere dimensională, moleculele bispecifice purificate au demonstrat o puritate ridicată (>93% din proteina monomerică) determinată de HPLC-SEC pe coloane MabPac SEC-1 (5 μm, 7,8 x 300 mm) care rulează în 50 mM fosfat de sodiu cu pH 6,8 conținând 300 mM NaCl într-un sistem Agilent 1100 (vezi Figura 3). Analiza SDS-PAGE cu agent reducător și fără agent reducător a confirmat puritatea și dimensiunea așteptată a diferitelor molecule TCR/mAb cu specificitate duală (datele nu sunt arătate).

EXEMPLUL 3

Activarea celulelor T specifică și dependentă de celulele-țintă indusă de diacorpul TCR/mAb care conțin Fc

Potența diacorpilor TCR/mAb care conțin Fc în ceea ce privește activarea celulelor T a fost evaluată utilizându-se testul T Cell Activation Bioassay (Promega). Testul constă dintr-o linie de celule Jurkat modificate genetic care exprimă un raportor de luciferază condus de un element cu răspuns NFAT (NFAT-RE). Testele au fost efectuate conform instrucțiunilor producătorului. Pe scurt, celulele T2 fie încărcate cu peptida specifică HIV SLYNTVATL (SEQ ID NO: 7), fie lăsate fără încărcare peptidică (control descărcat) au fost ulterior co-cultivate cu celulele Jurkat modificate de la Promega în prezența unor concentrații crescânde de molecule TCR/mAb bispecifice. Activarea celulelor T raportoare Jurkat a fost analizată după 16–20 de ore prin măsurarea intensității luminiscentei.

Rezultatele reprezentative ale testului de potență sunt descrise pentru molecule TCR/mAb bispecifice bazate pe IgG4 (Figura 4) și, respectiv, pe IgG1 (Figura 5). Datele indică faptul că, indiferent de izotipul IgG al domeniilor constante utilizate, construcțiile diacorpice TCR/mAb care conțin Fc IA și ID au prezentat activare superioară a celulelor T comparativ cu construcțiile TCR/mAb bispecifice alternative II, III și IV măsurate prin magnitudinea activării și/sau valorile EC50 respective. Mai mult, activarea nespecifică a celulelor T a diacorpilor TCR/mAb care conțin Fc indusă împotriva celulelor T2 descărcate a fost redusă sau cel puțin egală cu nivelul de activare nespecific observat pentru construcțiile TCR/mAb bispecifice alternative. Conform rezultatelor de mai sus, moleculele diacorpice TCR/mAb cu specificitate duală sunt molecule preferate pentru intervenția terapeutică, deoarece induc activarea puternică a celulelor T efectoare într-un mod foarte dependent de țintă.

Mai mult, a fost utilizat testul de eliberare de LDH (Promega) pentru a se cuantifica lizarea mediată de PBMC a celulelor T2 încărcate cu peptidă SLYNTVATL (SEQ ID NO: 7) induse de diferitele molecule TCR/mAb bispecifice (Figura 10). În conformitate cu rezultatele de mai sus ale testului T Cell Activation Bioassay, din nou construcțiile diacorpice TCR/mAb care conțin Fc IA și ID au fost superioare comparativ cu construcțiile TCR/mAb bispecifice alternative II, III și IV, așa cum este indicat de nivelul absolut crescut al lizării celulelor-țintă și concentrația bispecifică mai mică de TCR necesară pentru a se atinge distrugerea semimaximală (CE50) a celulelor-țintă. În ceea ce privește construcțiile TCR/mAb II, III și IV, construcțiile diacorpice TCR/mAb IA și ID nu au indus lizarea celulelor T2 încărcate cu peptidă irelevantă (SEQ ID NO: 49), dovedind lizarea specifică țintei către celulele T2 .

EXEMPLUL 4

Dezvoltarea diacorpilor TCR/mAb bispecfici care conțin Fc ca platformă moleculară

Construcțiile diacorpice TCR/mAb bispecifice care conțin Fc au fost concepute pentru a servi drept platformă moleculară pentru furnizarea eşafodajului pentru diferite domenii variabile derivate din TCR și derivate din mAb care ținesc diferite complexe peptidă:MHC și, respectiv, antigeni de suprafață celulară efectori. Pentru a se valida adecvarea ca platformă, domeniile variabile derivate din mAb au fost schimbate într-un prim set de molecule. Domeniile variabile ale anticorpului anti-CD3 hUCHT1(V9) (construcția ID_1) au fost înlocuite contra domeniilor anticorpului anti-TCR hBMA031(var10) care utilizează aceeași orientare a domeniului (construcțiile ID_4 și ID_5) sau o orientare diferită (IC_4, IC_5) (vezi Tabelul 1 și Figura 7 pentru detalii). Exprimarea, purificarea și caracterizarea acestor molecule au fost efectuate așa cum este descris mai sus. Puritatea și integritatea preparatelor finale au depășit 92% conform analizei HPLC-SEC.

Rezultatele testului de potență au dezvăluit activarea celulelor T raportor Jurkat dependente de țintă și activitate nespecifică minimală împotriva celulelor T2 descărcate pentru ambele domenii variabile de anticorpi hUCHT1 (construcția ID_1) și hBMA031 (construcțiile ID_4 și ID_5) care susțin adecvarea platformei construcțiilor diacorpice TCR/mAb cu specificitate duală (Figura 6). În special, atunci când domeniile variabile TCR și mAb ale construcțiilor ID_4 și ID_5 au fost activate pe fiecare lanț polipeptidic, rezultând structurile IC_4 și IC_5, nu a fost observată activarea celulelor T (datele nu sunt arătate). Această ultimă constatare indică faptul că, deși diacorpicii TCR/mAb bispecfici pot fi folosiți drept construcție de platformă pentru incorporarea diferitelor domenii variabile TCR și mAb, este necesară o optimizare aprofundată a orientării domeniilor pentru a se realiza o activitate optimă a moleculelor.

EXEMPLUL 5

Stabilitatea diacorpilor TCR/mAb bispecfici care conțin Fc

Stabilitatea moleculelor TCR/mAb bispecifice a fost evaluată inițial utilizându-se testul Protein Thermal Shift Assay (Thermo Fisher Scientific) conform instrucțiunilor producătorului folosindu-se un sistem 7500 Real Time PCR (Applied Biosciences). Pe scurt, moleculele purificate au fost amestecate cu tampon PTS și colorant PTS și supuse unui gradient de temperatură crescător, monitorizându-se constant fluorescența probelor. Semnalele de fluorescență înregistrate au fost analizate utilizându-se software-ul PTS (Thermo Fisher Scientific), iar temperaturile de topire (T_M) au fost calculate prin metoda derivatelor.

Studiile de stabilitate la stres au fost efectuate prin păstrarea moleculelor purificate dizolvate în PBS la 40°C timp de până la două săptămâni. Probele au fost analizate în ceea ce privește integritatea proteinelor, utilizându-se HPLC-SEC, și potența, utilizându-se testul T Cell Activation Assay (Promega) așa cum este descris mai sus.

Așa cum era de așteptat, păstrarea la 40°C a indus formarea de specii agregate/cu greutate moleculară mare, așa cum s-a determinat prin analize HPLC-SEC (vezi Figura 8). Rezultatele testelor de potență a moleculelor pe bază de IgG1 după purificare și incubare la 40°C sunt prezentate în Figura 9. Deși niciuna dintre moleculele testate nu a arătat o reducere semnificativă a potenței după păstrare la 40°C, s-a observat că moleculele stresate III și IV au indus o valoare semnificativă a activării a celulelor T Jurkat nespecifice (adică independente de țintă). În schimb, diacorpicii TCR/mAb bispecfici și-au păstrat potența dependentă de țintă în pofida prezenței unor agregate așa cum s-a văzut în HPLC-SEC.

EXEMPLUL 6:

Generarea de molecule diacorpice TCR/mAb bispecifice care ținesc cancerul

Pentru a valida în continuare capacitățile platformei construcțiilor diacorpice TCR/mAb bispecifice, domeniile variabile derivate din TCR au fost schimbate cu domenii variabile ale unui TCR, care a fost maturat pentru stabilitate/afinitate prin afișarea levurilor conform unei metode descrise anterior (Smith et al, 2015, T Cell Receptor Engineering and Analysis Using the Yeast Display Platform. Methods Mol Biol. 1319:95-141). Domeniile variabile TCR care se leagă în mod specific de peptida derivată din HIV SLYNTVATL (SEQ ID NO: 7) în contextul HLA-A*02 au fost schimbate cu domenii variabile TCR care se leagă în mod specific la peptida asociată tumorii PRAME-004 (SEQ ID NO: 49) legată de HLA-A*02. Mai mult, domeniile variabile ale anticorpului de recrutare a celulelor T umanizat hUCHT1(V9) au fost schimbate contra domenii variabile ale hUCHT1(Var17), o versiune recent umanizată a anticorpului UCHT1, rezultând molecula diacorpică TCR/mAb care țintește PRAME-004 IA_5 (cuprinzând SEQ ID NO: 43 și SEQ ID NO: 44). Exprimarea, purificarea și caracterizarea acestei molecule au fost efectuate așa cum este descris în Exemplul 2. Puritatea și integritatea preparatului final au depășit 96% conform analizei HPLC-SEC.

Afinitățile de legare ale construcțiilor diacorpice TCR/mAb bispecifice către PRAME-004:HLA-A*02 au fost determinate prin interferometrie biostratigrafică. Măsurătorile au fost efectuate pe un sistem Octet RED384 folosindu-se setările recomandate de producător. Pe scurt, moleculele diacorpice TCR/mAb bispecifice purificate au fost încărcate pe biosenzori (AHC) înainte de analizarea diluțiilor seriale ale HLA-A*02/ PRAME-004.

Activitatea acestei construcții diacorpice TCR/mAb care țintește PRAME-004 în ceea ce privește inducerea lizării celulelor tumorale a fost evaluată prin evaluarea lizării mediate de celule T CD8 pozitive umane a liniilor celulare de cancer uman UACC-257, SW982 și U2OS care prezintă diferite numere de copii ale peptidei PRAME-004 în contextul HLA-A*02 pe suprafața celulei tumorale (UACC-257 – aproximativ 1100, SW982 – aproximativ 770, U2OS – aproximativ 240 de copii ale peptidei PRAME-004 per celulă, așa cum a fost determinat prin analiză M/S cantitativă), așa cum au fost determinate prin testul de eliberare de LDH.

Așa cum este descris în Figura 11, construcția diacorpică TCR/mAb care țintește PRAME-004 IA_5 a indus o lizare dependentă de concentrație a liniilor celulare tumorale pozitive pentru PRAME-004. Chiar și celulele tumorale U2OS care exprimă doar 240 de numere de copii ale peptidei PRAME-004 per celulă tumorală au fost lizate în mod eficace de această moleculă diacorpică TCR/mAb. Aceste rezultate demonstrează în plus că formatul diacorpilor TCR/mAb este aplicabil ca platformă moleculară, permițând introducerea domeniilor variabile ale diferitelor TCR-uri, precum și a domeniilor variabile ale diferiților anticorpi de recrutare a celulelor T.

EXEMPLUL 7:

Modificabilitatea construcțiilor diacorpice TCR/mAb

Domeniile variabile TCR utilizate în construcția IA_5 au fost îmbunătățite în continuare în ceea ce privește afinitatea față de PRAME-004 și stabilitatea TCR-urilor și utilizate pentru modificare în eşafodajul diacorpice TCR/mAb, rezultând construcția IA_6 (cuprinzând SEQ ID NO: 45 și SEQ ID NO: 46). Exprimarea, purificarea și caracterizarea moleculelor diacorpice TCR/mAb IA_5 și IA_6 au fost efectuate așa cum este descris în Exemplul 2. Puritatea și integritatea preparatelor finale au depășit 97% conform analizei HPLC-SEC.

Potența diacorpului TCR/mAb cu stabilitate și afinitate îmbunătățite în varianta IA_6 împotriva PRAME-004 a fost evaluată în experimente de citotoxicitate cu linia celulară tumorală U2OS, prezentând cantități mici de PRAME-004:HLA-A*02 sau celule T2 neîncărcate ca celule-țintă și celule T CD8 pozitive umane ca celule efectoare.

Așa cum este descris în Figura 12, inventatorii au observat și au crescut potența citotoxică a moleculei diacorpice TCR/Ab IA_6 care cuprinde domeniile variabile ale variantei de TCR cu stabilitate/afinitate îmbunătățită comparativ cu construcția precursoră IA_5. Pentru ambele construcții, IA_5 și IA_6, lizarea dependentă de PRAME-004 a putut fi confirmată, deoarece nu a fost detectată citoliza celulelor T2 negative la țintă.

Construcția proteică a fost supusă în continuare la stres termic la 40°C timp de până la două săptămâni pentru a se analiza stabilitatea variantelor IA_5 și IA_6 de diacorpi TCR/mAb specifici PRAME-004. Analizele HPLC-SEC după stres termic au arătat o stabilitate îmbunătățită semnificativ a variantei IA_6 comparativ cu construcția precursoră IA_5 (vezi Figura 13). Creșterea indusă de temperatură a speciilor cu masă moleculară mare (adică eluarea înainte de varful principal) a construcțiilor a fost mai puțin pronunțată pentru IA_6 decât pentru IA_5. În conformitate cu acest rezultat, recuperarea proteinei monomerice intacte după stres termic a fost de 87% și, respectiv, 92% pentru IA_5 și, respectiv, IA_6.

Aceste date exemplificative de modificare demonstrează că potența și stabilitatea ridicate ale construcțiilor diacorpice TCR/mAB pot fi îmbunătățite în continuare prin incorporarea de domenii variabile TCR cu stabilitate/afinitate îmbunătățită, rezultând proteine terapeutice cu caracteristici superioare.

5 EXEMPLUL 8:

Exemple de construcții preferate

10 În afară de construcția bispecifică TCR specifică HIV, așa cum este descrisă în prezentul document (SEQ ID NO: 16 și SEQ ID NO: 17, în orientarea D), invenția oferă în plus alte câteva construcții exemplificative specifice HIV care au fost testate. Aceste construcții se bazează pe variante umanizate îmbunătățite ale anticorpului subiacent contra CD3 (UCHT1) care au fost fuzionate cu TCR 868 specific HIV, așa cum este descris în prezentul document în toate cele patru orientări posibile (SEQ ID NO: 51 la SEQ ID NO: 58, în orientări A-D).

15 Umanizarea UCHT1 a fost efectuată folosindu-se VH-1-46 și VK1-018 drept cadre acceptoare pentru CDR-urile cu lanț greu și, respectiv, lanț ușor. Segmentele J selectate au fost JK1 și JH4 pentru lanțul ușor și, respectiv, lanțul greu.

Rezultatele obținute sunt prezentate în Tabelul 4 următor:

	V9 (Zhu et al, 1995)	Prezenta invenție
Scor DRB1	1232	~1190
Titru [mg/l]	0,75	3
T _m a F(ab) [°C]	83,0	86,4
EC ₅₀ al activării celulelor efectoare [pM]	63	8

20 Datele din Tabelul 4 arată că umanizarea inovatoare este, potențial, mai puțin imunogenă (scor DRB1 mai mic), moleculele sunt mai stabile (creștere a temperaturii de topire de aproximativ 3°C) și mai potente (EC₅₀ scăzut de ~8x) comparativ cu standardul (V9) (pentru test, vezi Exemplul 3).

25

30

35

40

45

50

LISTA DE SECVENȚE

- 5 <110> Immatics biotechnologies
- <120> MOLECULĂ POLIPEPTIDICĂ CU SPECIFICITATE DUALĂ ÎMBUNĂTĂȚITĂ
- <130> I33034WO02
- 10 <150> US 62/532,713
<151> 2017-07-14
<150> DE 10 2017 115 966.5
<151> 2017-07-14
- 15 <150> DE 10 2017 119 866.0
<151> 2017-08-30
- <150> DE 10 2018 108 995.3
<151> 2018-04-16
- 20 <150> US 62/658,318
<151> 2018-04-16
- 25 <160> 58
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1
- 30 <211> 21
<212> PRT
<213> Homo sapiens
- 35 <400> 1
- Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
- 40
- Pro Glu Leu Leu Gly
20
- 45 <210> 2
<211> 19
<212> PRT
<213> Homo sapiens
- 50 <400> 2
- 55 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
1 5 10 15
- Ala Gly Pro
- 60

<210> 3
 <211> 53
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 5

<400> 3
 Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg Cys
 1 5 10 15
 10

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
 20 25 30
 15

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala
 35 40 45

20 Pro Glu Leu Leu Gly
 50

<210> 4
 25 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30 <400> 4

Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
 1 5 10 15
 35

Leu Gly

40

<210> 5
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 45

<400> 5

50 Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 55 20 25 30

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 35 40 45
 60

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 50 55 60

5 Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 65 70 75 80

10 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 85 90 95

15 Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys
 100

<210> 6
 <211> 103
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens

<400> 6

25 Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 1 5 10 15

30 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 20 25 30

35 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 35 40 45

40 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 50 55 60

Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 65 70 75 80

45 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 85 90 95

50 Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys
 100

55 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60 <400> 7

Ser Leu Tyr Asn Thr Val Ala Thr Leu
 1 5

5 <210> 8
 <211> 480
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 8

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

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

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

25 Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

30 Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys 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
 35 85 90 95

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 100 105 110

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

45 Gly Gly Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr
 130 135 140

50 Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp
 145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile
 55 165 170 175

Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp
 60 180 185 190

	Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile
	195 200 205
5	Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser
	210 215 220
10	Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr
	225 230 235 240
15	Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
	245 250 255
20	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser
	260 265 270
25	Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
	275 280 285
30	Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro
	290 295 300
35	Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
	305 310 315 320
40	Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val
	325 330 335
45	Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
	340 345 350
50	Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
	355 360 365
55	Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
	370 375 380
60	Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
	385 390 395 400
65	Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
	405 410 415
70	Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
	420 425 430
75	Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
	435 440 445

Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 450 455 460

5 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 465 470 475 480

<210> 9
 10 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 9

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

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

25 Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
 35 40 45

30 Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
 50 55 60

35 Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys
 65 70 75 80

40 Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp
 85 90 95

Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His
 100 105 110

45 Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 115 120 125

50 Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 130 135 140

55 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
 145 150 155 160

60 Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu
 165 170 175

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr
 180 185 190

5 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 195 200 205

10 Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 210 215 220

15 Val Glu Ile Lys Gly Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys
 225 230 235 240

Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu
 245 250 255

20 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 260 265 270

25 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
 275 280 285

30 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 290 295 300

35 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 305 310 315 320

Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 325 330 335

40 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 340 345 350

45 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 355 360 365

50 Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys
 370 375 380

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 385 390 395 400

55 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 405 410 415

60 Ser Phe Phe Leu Val Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 420 425 430

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 435 440 445

5 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 450 455 460

<210> 10
 10 <211> 478
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 10

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

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

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

30 Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 100 105 110

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

50 Gly Gly Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr
 130 135 140

55 Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp
 145 150 155 160

60 Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile
 165 170 175

Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp
 180 185 190

5 Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile
 195 200 205

10 Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser
 210 215 220

15 Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr
 225 230 235 240

Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
 245 250 255

20 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 260 265 270

25 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 275 280 285

30 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 290 295 300

35 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 305 310 315 320

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

40 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 340 345 350

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 355 360 365

45 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 370 375 380

50 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 385 390 395 400

55 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 405 410 415

60 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 420 425 430

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 435 440 445

5 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 450 455 460

10 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470 475

15 <210> 11
 <211> 459
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 11

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

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

30 Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
 35 40 45

35 Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
 50 55 60

40 Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys
 65 70 75 80

45 Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp
 85 90 95

Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His
 100 105 110

50 Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 115 120 125

55 Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 130 135 140

60 Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys
 145 150 155 160

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu
 165 170 175

5 Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr
 180 185 190

10 Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 195 200 205

15 Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 210 215 220

Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 225 230 235 240

20 Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
 245 250 255

25 Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 260 265 270

30 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 275 280 285
 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 290 295 300

35 Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 305 310 315 320

40 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 325 330 335

45 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 340 345 350

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
 355 360 365

50 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe
 370 375 380

55 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 385 390 395 400

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

Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 420 425 430

5 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 435 440 445

10 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455

15 <210> 12
 <211> 478
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 12

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

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

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

35 Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 100 105 110

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

55 Gly Gly Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr
 130 135 140

60 Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp
 145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile
 165 170 175

5 Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp
 180 185 190

10 Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile
 195 200 205

15 Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser
 210 215 220

20 Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr
 225 230 235 240

Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
 245 250 255

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 260 265 270

25 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 275 280 285

30 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 290 295 300

35 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 305 310 315 320

40 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 325 330 335

45 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 340 345 350

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 355 360 365

50 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 370 375 380

55 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 385 390 395 400

60 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 405 410 415

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 420 425 430

5 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 435 440 445

10 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 450 455 460

15 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470 475

<210> 13
 <211> 459
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens

<400> 13

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

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

35 Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
 35 40 45

40 Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
 50 55 60

45 Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys
 65 70 75 80

50 Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp
 85 90 95

55 Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His
 100 105 110

60 Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 115 120 125

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys
 130 135 140

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

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

5 Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 420 425 430

10 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 435 440 445
 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455

15 <210> 14
 <211> 478
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 14

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

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

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

35 Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

50 Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 100 105 110

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

55 Gly Gly Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr
 130 135 140

60 Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp
 145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile
 165 170 175

5

Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp
 180 185 190

10

Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile
 195 200 205

15

Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser
 210 215 220

20

Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr
 225 230 235 240

25

Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
 245 250 255

30

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 260 265 270

35

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 275 280 285

40

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 290 295 300

45

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 305 310 315 320

50

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

55

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 340 345 350

60

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 355 360 365

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 370 375 380

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 385 390 395 400

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 405 410 415
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 420 425 430
 5
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 435 440 445
 10
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 450 455 460
 15 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470 475
 20 <210> 15
 <211> 459
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 25 <400> 15
 30 Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro Glu Gly
 1 5 10 15
 Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser
 20 25 30
 35 Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
 35 40 45
 40 Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
 50 55 60
 45 Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys
 65 70 75 80
 Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp
 85 90 95
 50 Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His
 100 105 110
 55 Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser
 115 120 125
 60 Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

	130	135	140	
5	Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys			
	145	150	155	160
10	Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu			
	165	170	175	
15	Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr			
	180	185	190	
20	Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr			
	195	200	205	
25	Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys			
	210	215	220	
30	Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro			
	225	230	235	240
35	Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro			
	245	250	255	
40	Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr			
	260	265	270	
45	Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn			
	275	280	285	
50	Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg			
	290	295	300	
55	Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val			
	305	310	315	320
60	Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser			
	325	330	335	
65	Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys			
	340	345	350	
70	Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp			
	355	360	365	
75	Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe			
	370	375	380	

45

60

Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
 130 135 140

5 Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln
 145 150 155 160

10 Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys
 165 170 175

15 Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser
 180 185 190

Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg
 195 200 205

20 Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly
 210 215 220

25 Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 225 230 235 240

30 Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
 245 250 255

35 Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 260 265 270

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 275 280 285

40 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 290 295 300

45 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 305 310 315 320

50 Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 325 330 335
 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 340 345 350

55 Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 355 360 365

60 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 370 375 380

47

Gly Gly Gly Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys
 115 120 125

5 Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His
 130 135 140

10 Asp Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe
 145 150 155 160

15 Ile Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro
 165 170 175

20 Asp Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn
 180 185 190

25 Ile Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser
 195 200 205

30 Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
 225 230 235 240

35 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 245 250 255

40 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 260 265 270

45 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 275 280 285
 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 290 295 300

50 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320

55 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335

60 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365

Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
 370 375 380

5 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 385 390 395 400

10 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 405 410 415

15 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 420 425 430

20 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

25 <210> 18
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

30 <400> 18

35 Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly
 1 5 10 15

40 Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val
 20 25 30

45 Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln
 35 40 45

Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

50 Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn Ala
 65 70 75 80

55 Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp Thr
 85 90 95

60 Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val Thr
 100 105 110

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

Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 370 375 380

5 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 385 390 395 400

10 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415

15 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 420 425 430

20 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 435 440 445

25 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

30 <210> 19
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

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

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

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

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

55 Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

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

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

Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 370 375 380

5 Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400

10 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415

15 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
 420 425 430

20 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 435 440 445

25 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

30 <210> 20
 <211> 467
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 20

35 Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly
 1 5 10 15

40 Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val
 20 25 30

45 Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln
 35 40 45

50 Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

55 Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn Ala
 65 70 75 80

60 Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp Thr
 85 90 95

Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val Thr
 100 105 110

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

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 355 360 365

5 Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 370 375 380

10 Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 385 390 395 400

15 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 405 410 415
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 420 425 430

20 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445

25 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460

Pro Gly Lys
 465

30 <210> 21
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 21

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

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

50 Val Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

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

55 Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

	Ala Arg Gly Ser Tyr Tyr Asp Tyr Asp Gly Phe Val Tyr Trp Gly Gln
	100 105 110
5	Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
	115 120 125
10	Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro Glu Gly
	130 135 140
15	Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser
	145 150 155 160
20	Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
	165 170 175
	Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
	180 185 190
25	Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys
	195 200 205
30	Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp
	210 215 220
35	Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His
	225 230 235 240
40	Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
	245 250 255
	Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
	260 265 270
45	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
	275 280 285
50	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
	290 295 300
55	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
	305 310 315 320
60	Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
	325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340 345 350

5 Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365
 Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 370 375 380

10 Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400

15 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415

20 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
 420 425 430

25 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460

30 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

35 <210> 22
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40 <400> 22

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

50 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Thr Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

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

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

60 Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
 65 70 75 80

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

5 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 100 105 110

10 Gly Gly Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr
 115 120 125

15 Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp
 130 135 140

Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile
 145 150 155 160

20 Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp
 165 170 175

25 Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile
 180 185 190

30 Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser
 195 200 205

35 Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr
 210 215 220

Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
 225 230 235 240

40 Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 245 250 255

45 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 260 265 270

50 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 275 280 285

55 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 290 295 300

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 305 310 315 320

60 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 325 330 335

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 340 345 350

5 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 355 360 365

10 Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val
 370 375 380

15 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 385 390 395 400

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 405 410 415

20 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 420 425 430

25 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 435 440 445

30 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

35 <210> 23
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

40 <400> 23

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

45 Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser
 20 25 30

50 Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
 35 40 45

55 Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
 50 55 60

60 Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys
 65 70 75 80

	Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp
	85 90 95
5	Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His
	100 105 110
10	Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser
	115 120 125
15	Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys
	130 135 140
20	Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Thr Ser Tyr Val Met His Trp Val Arg Gln
	145 150 155 160
25	Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn
	165 170 175
30	Asp Val Thr Lys Tyr Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr
	180 185 190
35	Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg
	195 200 205
40	Ser Glu Asp Thr Ala Val His Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Tyr Tyr Asp
	210 215 220
45	Tyr Asp Gly Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
	225 230 235 240
50	Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
	245 250 255
55	Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
	260 265 270
60	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
	275 280 285
	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
	290 295 300
	Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
	305 310 315 320
	Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
	325 330 335

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340 345 350

5 Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365

10 Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 370 375 380

15 Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400

20 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val
 420 425 430

25 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 435 440 445

30 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460

35 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470

<210> 24
 <211> 468
 <212> PRT
 40 <213> Homo sapiens

<400> 24

45

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

50 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Thr Ser Ser Val Ser Tyr Met
 20 25 30

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

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

	Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu
	65 70 75 80
5	Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser Asn Pro Leu Thr
	85 90 95
10	Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
	100 105 110
15	Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro
	115 120 125
20	Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser
	130 135 140
25	Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln
	165 170 175
30	Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr
	180 185 190
35	Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu
	195 200 205
40	Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly
	210 215 220
45	Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys
	225 230 235 240
	Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
	245 250 255
50	Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
	260 265 270
55	Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
	275 280 285
60	His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
	290 295 300
	Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr
	305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 325 330 335

5 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser
 340 345 350

10 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 355 360 365

15 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 370 375 380

Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 385 390 395 400

20 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 405 410 415

25 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 420 425 430

30 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 435 440 445

35 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 450 455 460

Ser Pro Gly Lys
 465

40 <210> 25
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

45 <400> 25

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

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

55 Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
 35 40 45

60 Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
 50 55 60

	Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys
	65 70 75 80
5	Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp
	85 90 95
10	Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His
	100 105 110
15	Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln Leu Val Gln Ser
	115 120 125
20	Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys
	130 135 140
25	Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Thr Ser Tyr Val Met His Trp Val Arg Gln
	145 150 155 160
30	Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Tyr Ile Asn Pro Tyr Asn
	165 170 175
35	Asp Val Thr Lys Tyr Ala Glu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Leu Thr
	180 185 190
40	Ser Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg
	195 200 205
45	Ser Glu Asp Thr Ala Val His Tyr Cys Ala Arg Gly Ser Tyr Tyr Asp
	210 215 220
50	Tyr Asp Gly Phe Val Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
	225 230 235 240
55	Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro
	245 250 255
60	Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
	260 265 270
65	Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
	275 280 285
70	Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
	290 295 300

60 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 35 40 45

	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp
	50			55			60									
5	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr
	65			70			75			80						
10	Gln	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp
		85				90				95						
15	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu
		100				105				110						
20	Pro	Ala	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg
		115				120				125						
25	Glu	Pro	Gln	Val	Cys	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys
		130				135				140						
30	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
		165				170				175						
35	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Val	Ser
		180				185				190						
40	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
		195				200				205						
45	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
		210				215				220						
50	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys									
	225				230											
55	<210>	27														
	<211>	231														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
60	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala
	1		5			10				15						

Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 20 25 30

5 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 35 40 45

10 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 50 55 60

15 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 65 70 75 80

Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 85 90 95

20

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 100 105 110

25 Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 115 120 125

30 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 130 135 140

35 Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 145 150 155 160

40 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 180 185 190

45 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 195 200 205

50 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 210 215 220

55 Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230

60 <210> 28
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 28

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

Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser
20 25 30
10

Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
35 40 45
15

Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
50 55 60
20

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

25 Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp
85 90 95

30 Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His
100 105 110

Ile

35

<210> 29

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

40

<400> 29

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

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

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Val
35 40 45
55

Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys 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
 5 85 90 95
 Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 10 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 30
 15 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 20 <400> 30
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 1 5
 25 <210> 31
 <211> 117
 <212> PRT
 30 <213> Homo sapiens
 <400> 31
 35 Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly
 1 5 10 15
 40 Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val
 20 25 30
 Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln
 45 35 40 45
 Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe
 50 50 55 60
 Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn Ala
 65 70 75 80
 55 Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp Thr
 85 90 95
 60 Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val Thr
 100 105 110

Glu Asp Leu Lys Asn
115

5 <210> 32
<211> 107
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 32

10

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

15

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

20

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

25

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

30

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

35

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
85 90 95

40

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

45

<210> 33
<211> 478
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 33

50

Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly
1 5 10 15

55

Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val
20 25 30

60

Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln
35 40 45

Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe

	50	55	60
5	Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn Ala 65 70 75 80		
	Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp Thr 85 90 95		
10	Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val Thr 100 105 110		
15	Glu Asp Leu Lys Asn Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala 115 120 125		
20	Lys Lys Asp Gly Lys Ser Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro 130 135 140		
25	Leu Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser 145 150 155 160		
	Asp Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys 165 170 175		
30	Ser Pro Glu Leu Ile Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp 180 185 190		
35	Gly Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu 195 200 205		
40	Leu Ile Arg Asp Ser Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala 210 215 220		
45	Val Arg Gly Ala His Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser 225 230 235 240		
	Leu Leu Val Thr Pro His Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His 245 250 255		
50	Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe 260 265 270		
55	Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro 275 280 285		
60	Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val 290 295 300		

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 305 310 315 320
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 325 330 335
 5

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 340 345 350
 10

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 355 360 365
 15

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 370 375 380
 20

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 385 390 395 400
 25

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 405 410 415
 30

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 420 425 430
 35

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 435 440 445
 40

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 450 455 460
 45

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470 475
 50

<210> 34
 <211> 451
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 55

<400> 34
 60

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 55

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 60

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

	35	40	45
5	Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe		
	50	55	60
10	Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr		
	65	70	75 80
15	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90	95
20	Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp		
	100	105	110
25	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro		
	115	120	125
30	Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr		
	130	135	140
35	Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr		
	145	150	155 160
40	Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro		
	165	170	175
45	Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr		
	180	185	190
50	Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn		
	195	200	205
55	His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser		
	210	215	220
60	Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala		
	225	230	235 240
	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
	245	250	255
	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
	260	265	270
	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
	275	280	285

	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gln	Ser	Thr	Tyr
	290			295				300								
5	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
	305			310			315			320						
10	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Ser	Ile
		325			330				335							
15	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
		340			345				350							
20	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
		355			360				365							
25	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
		370			375			380								
30	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
		385			390			395			400					
35	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
		405			410			415								
40	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
		420			425			430								
45	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
		435			440			445								
50	Pro	Gly	Lys													
		450														
55	<210>	35														
	<211>	698														
	<212>	PRT														
	<213>	Homo sapiens														
60	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
	1		5			10					15					
65	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Gly	Tyr
		20			25				30							

	Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
	35 40 45
5	Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
	50 55 60
10	Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr
	65 70 75 80
15	Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
	85 90 95
20	Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
	100 105 110
25	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
	115 120 125
30	Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
	130 135 140
35	Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
	145 150 155 160
40	Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
	165 170 175
45	Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
	180 185 190
50	Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
	195 200 205
55	His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
	210 215 220
60	Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala
	225 230 235 240
	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
	245 250 255
65	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
	260 265 270
70	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
	275 280 285

	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr
	290 295 300
5	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
	305 310 315 320
10	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile
	325 330 335
15	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
	340 345 350
20	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
	355 360 365
25	Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
	370 375 380
30	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
	385 390 395 400
35	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val
	405 410 415
40	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
	420 425 430
45	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
	435 440 445
50	Pro Gly Lys Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys
	450 455 460
55	Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His
	465 470 475 480
60	Asp Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe
	485 490 495
65	Ile Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro
	500 505 510
70	Asp Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn
	515 520 525
75	Ile Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser
	530 535 540

Ser Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu
 545 550 555 560

5 Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys
 565 570 575

10 Asp Ala Ala Lys Lys Asp Gly Lys Ser Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn
 580 585 590

15 Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys
 595 600 605

20 Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr
 610 615 620

25 Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp
 625 630 635 640

30 Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr
 645 650 655

35 Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr
 660 665 670

40 Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys
 675 680 685

45 Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His Ile
 690 695

<210> 36
 <211> 692
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

50 <400> 36

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

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

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

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

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

10 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
 85 90 95

15 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

20 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

25 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

30 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 145 150 155 160

35 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 165 170 175

40 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 180 185 190

45 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr
 195 200 205

50 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 210 215 220

55 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 225 230 235 240

60 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys
 245 250 255

65 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 260 265 270

70 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285

75 Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300

	Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
	305 310 315 320
5	Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
	325 330 335
10	Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
	340 345 350
15	Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys
	355 360 365
20	Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
	370 375 380
25	Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
	385 390 395 400
30	Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
	405 410 415
35	Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
	420 425 430
40	His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Glu Ala Gly
	435 440 445
45	Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly Gln Gln Val
	450 455 460
50	Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val Ser Trp Tyr
	465 470 475 480
55	Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln Tyr Val Arg
	485 490 495
60	Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe Ser Gly His
	500 505 510
65	Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn Ala Leu Leu Leu
	515 520 525
70	Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp Thr Val Ser Tyr
	530 535 540
75	Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu
	545 550 555 560

Lys Asn Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys Asp
 565 570 575

5 Gly Lys Ser Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val
 580 585 590

10 Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly
 595 600 605

15 Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu
 610 615 620

20 Leu Ile Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe
 625 630 635 640

Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg
 645 650 655

25 Asp Ser Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly
 660 665 670

30 Ala His Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val
 675 680 685
 Thr Pro His Ile
 690
 <210> 37
 <211> 698
 35 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 37

40

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

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

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

55 Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

60 Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Lys 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						
5	Ala	Arg	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp
			100			105				110						
10	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
		115			120				125							
15	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr
		130			135				140							
20	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
	145			150				155			160					
25	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
			165			170				175						
30	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
			180			185			190							
35	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn	Val	Asn
			195			200			205							
40	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro	Lys	Ser
	210			215				220								
45	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala
	225			230				235			240					
50	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
			245			250				255						
55	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
			260			265				270						
60	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
			275			280			285							
65	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Gln	Ser	Thr	Tyr
		290			295			300								
70	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
	305			310				315			320					

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

5 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 340 345 350

10 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 355 360 365

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

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

20 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 405 410 415
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 420 425 430

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

30 Pro Gly Lys Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys
 450 455 460

35 Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His
 465 470 475 480

40 Asp Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe
 485 490 495

45 Ile Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro
 500 505 510

Asp Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn
 515 520 525

50 Ile Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser
 530 535 540

55 Ser Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu
 545 550 555 560

60 Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys
 565 570 575

Asp Ala Ala Lys Lys Asp Gly Lys Ser Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn
 580 585 590

5 Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys
 595 600 605

10 Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr
 610 615 620

15 Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp
 625 630 635 640

Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr
 645 650 655
 Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr
 20 660 665 670

25 Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys
 675 680 685

Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His Ile
 690 695

30 <210> 38
 <211> 696
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

35 <400> 38

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

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

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

Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

	Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
	100 105 110
5	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
	115 120 125
10	Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
	130 135 140
15	Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
	145 150 155 160
20	Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
	165 170 175
25	Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
	180 185 190
30	Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
	195 200 205
35	His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
	210 215 220
40	Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
	225 230 235 240
45	Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
	245 250 255
50	Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
	260 265 270
55	Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
	275 280 285
60	Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val
	290 295 300
	Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
	305 310 315 320
	Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
	325 330 335

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

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

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

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

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

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

Lys Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg
 450 455 460

30 Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr
 465 470 475 480

35 Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe
 485 490 495

40 Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg
 500 505 510

45 Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn
 515 520 525

Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp
 530 535 540

50 Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val
 545 550 555 560

55 Thr Glu Asp Leu Lys Asn Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala
 565 570 575

60 Ala Lys Lys Asp Gly Lys Ser Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly
 580 585 590

Pro Leu Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr
 595 600 605

5 Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly
 610 615 620
 Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu
 625 630 635 640

10 Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser
 645 650 655

15 Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys
 660 665 670

20 Ala Val Arg Gly Ala His Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr
 675 680 685

25 Ser Leu Leu Val Thr Pro His Ile
 690 695

<210> 39
 <211> 690
 <212> PRT
 30 <213> Homo sapiens

<400> 39

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

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

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

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

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

55 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
 85 90 95

60 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

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

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

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

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

15 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 420 425 430

20 Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys Glu Ala Gly Val Thr
 435 440 445

25 Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu
 450 455 460

30 Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln
 465 470 475 480

35 Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu
 485 490 495

40 Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr
 500 505 510

45 Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp
 515 520 525

50 Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln
 530 535 540

55 Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn
 545 550 555 560

60 Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala Ala Lys Lys Asp Gly Lys
 565 570 575

65 Ser Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro Glu
 580 585 590

70 Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln
 595 600 605

75 Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile
 610 615 620

Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala
 625 630 635 640

5 Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser
 645 650 655

10 Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His
 660 665 670

15 Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro
 675 680 685

His Ile
 690

20 <210> 40
 <211> 428
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

25 <400> 40

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

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

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

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

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

50 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
 85 90 95

55 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

60 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

5 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

10 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

15 Asn Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

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

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser
 210 215 220

25 Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser
 225 230 235 240

30 Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys
 245 250 255

35 Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu Glu Ser Gly Val
 260 265 270

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr
 275 280 285

40 Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln
 290 295 300

45 Gly Asn Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile
 305 310 315 320
 Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
 325 330 335

50 Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
 340 345 350

55 Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
 355 360 365

60 Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
 370 375 380

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Asn Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
 385 390 395 400

5 Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
 405 410 415

10 Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 420 425

15 <210> 41
 <211> 1392
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

20 <400> 41

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

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

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

35 Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe
 50 55 60

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

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

Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 100 105 110

50 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125

55 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140

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

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175

5 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190

10 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 195 200 205

15 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr
 210 215 220

Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

20 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

25 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp
 260 265 270

30 Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

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

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys
 40 325 330 335

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

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

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

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

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

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

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

10 Lys Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg
 450 455 460

15 Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr
 465 470 475 480

Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe
 485 490 495

20 Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg
 500 505 510

25 Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn
 515 520 525

30 Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp
 530 535 540

35 Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val
 545 550 555 560
 Thr Glu Asp Leu Lys Asn Gly Ser Ala Asp Asp Ala Lys Lys Asp Ala
 565 570 575

40 Ala Lys Lys Asp Gly Lys Ser Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly
 580 585 590

45 Pro Leu Ser Val Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr
 595 600 605

Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly
 610 615 620

50 Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu
 625 630 635 640

55 Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser
 645 650 655

60 Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys
 660 665 670

Ala Val Arg Gly Ala His Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr
675 680 685

5 Ser Leu Leu Val Thr Pro His Ile Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
690 695 700

10 Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
705 710 715 720

15 Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala
725 730 735

20 Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly
740 745 750

25 Val Ser Thr Tyr Asn Gln Lys Phe Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Val
755 760 765

30 Asp Lys Ser Lys Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala
770 775 780

35 Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp
785 790 795 800

Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
805 810 815

40 Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys
820 825 830

45 Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
835 840 845

50 Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
850 855 860

55 Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
865 870 875 880

60 Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
885 890 895

65 Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
900 905 910

70 Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
915 920 925

	Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
	930 935 940
5	Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
	945 950 955 960
10	Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
	965 970 975
15	Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
	980 985 990
20	Gln Phe Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
	995 1000 1005
25	Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
	1025 1030 1035
	Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
	1040 1045 1050
30	Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
	1055 1060 1065
35	Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
	1070 1075 1080
40	Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
	1085 1090 1095
45	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser
	1100 1105 1110
50	Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
	1115 1120 1125
55	Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
	1130 1135 1140
60	Gly Lys Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys
	1145 1150 1155
	Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly
	1160 1165 1170

	His Asp	Thr Val	Ser Trp	Tyr	Gln Gln	Ala Leu	Gly	Gln Gly	Pro
	1175		1180		1185				
5	Gln Phe	Ile Phe	Gln Tyr	Val	Arg Gly	Glu Glu	Arg	Gln Arg	Gly
	1190		1195		1200				
10	Asn Phe	Pro Asp	Arg Phe	Ser	Gly His	Gln Tyr	Pro	Asn Tyr	Ser
	1205		1210		1215				
15	Ser Glu	Leu Asn	Ile Asn	Ala	Leu Leu	Leu Gly	Asp	Ser Ala	Leu
	1220		1225		1230				
20	Tyr Leu	Cys Ala	Ser Ser	Asp	Thr Val	Ser Tyr	Glu	Gln Tyr	Phe
	1235		1240		1245				
25	Gly Pro	Gly Ile	Arg Leu	Thr	Val Thr	Glu Asp	Leu	Lys Asn	Gly
	1250		1255		1260				
	Ser Ala	Asp Asp	Ala Lys	Lys	Asp Ala	Ala Lys	Lys	Asp Gly	Lys
	1265		1270		1275				
30	Ser Gln	Lys Glu	Val Glu	Gln	Asn Ser	Gly Pro	Leu	Ser Val	Pro
	1280		1285		1290				
35	Glu Gly	Ala Ile	Ala Ser	Leu	Asn Cys	Thr Tyr	Ser	Asp Arg	Gly
	1295		1300		1305				
40	Ser Gln	Ser Phe	Phe Trp	Tyr	Arg Gln	Tyr Ser	Gly	Lys Ser	Pro
	1310		1315		1320				
45	Glu Leu	Ile Met	Ser Ile	Tyr	Ser Asn	Gly Asp	Lys	Glu Asp	Gly
	1325		1330		1335				
50	Arg Phe	Thr Ala	Gln Leu	Asn	Lys Ala	Ser Gln	Tyr	Ile Ser	Leu
	1340		1345		1350				
55	Leu Ile	Arg Asp	Ser Lys	Leu	Ser Asp	Ser Ala	Thr	Tyr Leu	Cys
	1355		1360		1365				
60	Ala Val	Arg Gly	Ala His	Asp	Tyr Ala	Leu Asn	Phe	Gly Lys	Gly
	1370		1375		1380				
65	Thr Ser	Leu Leu	Val Thr	Pro	His Ile				
	1385		1390						
70	<210>	42							
75	<211>	214							
80	<212>	PRT							

<213> Homo sapiens

<400> 42

5

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

10

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

15

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

20

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

25

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

30

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Thr Leu Pro Trp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

35

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

40

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

45

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

50

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

55

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

60

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 43
 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 43

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

15 Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser
 20 25 30

20 Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
 35 40 45

25 Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
 50 55 60

Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Phe Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Gln
 65 70 75 80

30 Pro Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Ala Val Ile Asp Asn Ser
 85 90 95

35 Asn Gly Gly Ile Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr Ile Ile
 100 105 110

40 Pro Asn Ile Gln Asn Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Gln
 115 120 125

45 Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
 130 135 140

Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp
 145 150 155 160

50 Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr
 165 170 175

55 Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
 180 185 190

60 Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile
 195 200 205

	Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Gln Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly
	210 215 220
5	Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
	225 230 235 240
10	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
	245 250 255
	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
	260 265 270
15	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
	275 280 285
20	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
	290 295 300
25	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
	305 310 315 320
	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
	325 330 335
30	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile
	340 345 350
35	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
	355 360 365
40	Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
	370 375 380
45	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
	385 390 395 400
50	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
	405 410 415
	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
	420 425 430
55	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
	435 440 445
60	His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
	450 455 460

<210> 44
 <211> 477
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400> 44

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

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

Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 20

Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

25 Gln Asp Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

35 Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 40

Gly Gly Lys Ala Gly Val Thr Gln Thr Pro Arg Tyr Leu Ile Lys Thr
 130 135 140

45 Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Ser Cys Ser Pro Ile Pro Gly His Arg
 145 150 155 160

50 Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Gln Phe Leu
 165 170 175

55 Phe Glu Tyr Val His Gly Ala Glu Arg Asn Lys Gly Asn Phe Pro Gly
 180 185 190

Arg Phe Ser Gly Arg Gln Phe Ser Asn Ser Ser Ser Glu Met Asn Ile
 195 200 205
 60

Ser Asn Leu Glu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser
 210 215 220

5 Pro Trp Asp Ser Pro Asn Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu
 225 230 235 240

10 Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
 245 250 255

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
 260 265 270

15 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 275 280 285

20 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 290 295 300

25 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 305 310 315 320

30 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 325 330 335

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 340 345 350

35 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 355 360 365

40 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
 370 375 380

45 Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
 385 390 395 400

50 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 405 410 415

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 420 425 430

55 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 435 440 445

60 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 450 455 460

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 465 470 475

5 <210> 45
 <211> 463
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 45

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

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

25 Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met
 35 40 45

30 Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln
 50 55 60

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

40 Pro Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Ala Val Ile Asp Asn Asp
 85 90 95

45 Gln Gly Gly Ile Leu Thr Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr Ile Ile
 100 105 110

50 Pro Asn Ile Gln Asn Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Gln
 115 120 125

55 Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val
 130 135 140

60 Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp
 145 150 155 160

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr
 165 170 175

Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
 180 185 190

	Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile
	195 200 205
5	Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Gln Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly
	210 215 220
10	Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
	225 230 235 240
15	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
	245 250 255
20	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
	260 265 270
25	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
	275 280 285
30	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
	290 295 300
35	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
	305 310 315 320
40	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
	325 330 335
45	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile
	340 345 350
50	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
	355 360 365
55	Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
	370 375 380
60	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
	385 390 395 400
65	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
	405 410 415
70	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
	420 425 430
75	Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
	435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455 460

5 <210> 46
 <211> 479
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10 <400> 46

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

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

25 Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

30 Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

35 Gln Asp Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

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

45 Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp
 100 105 110

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

55 Gly Gly Lys Ala Gly Val Thr Gln Thr Pro Arg Tyr Leu Ile Lys Thr
 130 135 140

60 Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Ser Cys Ser Pro Ile Pro Gly His Arg
 145 150 155 160

65 Ala Val Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Gly Leu Gln Phe Leu
 165 170 175

70 Phe Glu Tyr Val His Gly Glu Glu Arg Asn Lys Gly Asn Phe Pro Gly
 180 185 190

	Arg Phe Ser Gly Arg Gln Phe Ser Asn Ser Ser Ser Glu Met Asn Ile
	195 200 205
5	Ser Asn Leu Glu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser
	210 215 220
10	Pro Trp Asp Ser Pro Asn Val Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu
	225 230 235 240
15	Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr
	245 250 255
20	His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val
	260 265 270
25	Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
	275 280 285
30	Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
	290 295 300
35	Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
	305 310 315 320
40	Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
	325 330 335
45	Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
	340 345 350
50	Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile
	355 360 365
55	Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro
	370 375 380
	Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala
	385 390 395 400
60	Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
	405 410 415
65	Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
	420 425 430
70	Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
	435 440 445

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 450 455 460

5 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470 475

10 <210> 47
 <211> 229
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

15 <400> 47

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15

20 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 20 25 30

25 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 35 40 45

30 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 50 55 60

35 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 65 70 75 80

40 Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 85 90 95

45 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 100 105 110

Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 115 120 125

50 Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 130 135 140

55 Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 145 150 155 160

60 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser
 180 185 190

5 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 195 200 205

10 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 210 215 220

15 Leu Ser Leu Ser Pro
 225

<210> 48
 <211> 229
 <212> PRT
 20 <213> Homo sapiens

<400> 48

25 Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 1 5 10 15

30 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 20 25 30

35 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 35 40 45

40 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 50 55 60

45 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 65 70 75 80

Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 85 90 95

50 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 100 105 110

55 Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 115 120 125

60 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 130 135 140

	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Trp	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp
	145			150			155			160						

5	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys
			165			170				175						

10	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser
			180			185				190						

15	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser
		195			200			205								

	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser
		210			215			220								

20	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro
	225				

25	<210>	49
	<211>	9
	<212>	PRT
	<213>	Homo sapiens

30	<400>	49
----	-------	----

35	Ser	Leu	Leu	Gln	His	Leu	Ile	Gly	Leu
	1		5						

40	<210>	50
	<211>	6
	<212>	PRT
	<213>	Homo sapiens

45	<400>	50
----	-------	----

50	Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro
	1		5			

	<210>	51
	<211>	457
	<212>	PRT
55	<213>	Homo sapiens

	<400>	51
--	-------	----

60	Gln	Lys	Glu	Val	Glu	Gln	Asn	Ser	Gly	Pro	Leu	Ser	Val	Pro	Glu	Gly
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

	1	5	10	15
5	Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser Gln Ser	20	25	30
10	Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu Ile Met	35	40	45
15	Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr Ala Gln	50	55	60
20	Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp Ser Lys	65	70	75
	Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala His Asp	85	90	95
25	Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr Pro His	100	105	110
30	Ile Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser	115	120	125
35	Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys	130	135	140
40	Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys	145	150	155
	Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His	165	170	175
45	Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr	180	185	190
50	Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe	195	200	205
55	Cys Gln Gln Gly Gln Thr Leu Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys	210	215	220
60	Val Glu Ile Lys Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro	225	230	235
	Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro	245	250	255

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 260 265 270

5 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 275 280 285

10 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 290 295 300

15 Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 305 310 315 320

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 325 330 335

20 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 340 345 350

25 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
 355 360 365
 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
 370 375 380

30 Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 385 390 395 400

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

40 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 420 425 430

45 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 435 440 445

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 450 455

50 <210> 52
 <211> 476
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

55 <400> 52

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

	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Gly	Tyr
	20				25				30							
5	Thr	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
	35				40			45								
10	Gly	Leu	Ile	Asn	Pro	Tyr	Lys	Gly	Val	Ser	Thr	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50			55			60									
15	Gln	Asp	Arg	Val	Thr	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr
	65		70			75			80							
20	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
		85				90			95							
25	Ala	Arg	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Ser	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp
	100				105			110								
30	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
	115				120			125								
35	Gly	Gly	Glu	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Thr	His	Leu	Ile	Lys	Thr
	130				135			140								
40	Arg	Gly	Gln	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Lys	Ser	Gly	His	Asp
	145			150			155				160					
45	Thr	Val	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Ala	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Phe	Ile
		165				170			175							
50	Phe	Gln	Tyr	Val	Arg	Gly	Glu	Glu	Arg	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro	Asp
	180				185			190								
55	Arg	Phe	Ser	Gly	His	Gln	Tyr	Pro	Asn	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	Asn	Ile
	195				200			205								
60	Asn	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser
	210			215			220									
65	Asp	Thr	Val	Ser	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Ile	Arg	Leu	Thr
	225			230			235			240						
70	Val	Thr	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr	His
		245			250			255								

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 260 265 270

5 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 275 280 285

10 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 290 295 300

15 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 305 310 315 320

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

20 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 340 345 350

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 355 360 365

25 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
 370 375 380

30 Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 385 390 395 400

35 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 405 410 415

40 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 420 425 430

45 Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 435 440 445

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 450 455 460

50 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 465 470 475

55 <210> 53
 <211> 457
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60 <400> 53

	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
	1 5 10 15
5	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
	20 25 30
10	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
	35 40 45
15	Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
	50 55 60
	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
	65 70 75 80
20	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Gln Thr Leu Pro Trp
	85 90 95
25	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
	100 105 110
30	Gly Gly Gly Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val
	115 120 125
	Pro Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly
	130 135 140
35	Ser Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu
	145 150 155 160
40	Leu Ile Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe
	165 170 175
45	Thr Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg
	180 185 190
50	Asp Ser Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly
	195 200 205
	Ala His Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val
	210 215 220
55	Thr Pro His Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
	225 230 235 240
60	Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
	245 250 255

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
 260 265 270

5 Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
 275 280 285

10 Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
 290 295 300
 Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
 305 310 315 320

15 Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
 325 330 335

20 Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
 340 345 350

25 Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Cys Arg Asp
 355 360 365

30 Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu Val Lys Gly Phe
 370 375 380

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
 385 390 395 400

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

40 Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
 420 425 430

45 Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
 435 440 445

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 450 455

50 <210> 54
 <211> 476
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

55 <400> 54

60 Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile Lys Thr Arg Gly
 1 5 10 15

Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly His Asp Thr Val
 20 25 30

5

Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln Phe Ile Phe Gln
 35 40 45

10

Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe Pro Asp Arg Phe
 50 55 60

15

Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu Asn Ile Asn Ala
 65 70 75 80

20

Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Asp Thr
 85 90 95

25

Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg Leu Thr Val Thr
 100 105 110

30

Glu Asp Leu Lys Asn Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Glu Val Gln
 115 120 125

35

Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys
 130 135 140

40

Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr Thr Met Asn
 145 150 155 160

45

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Leu Ile
 165 170 175

50

Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Asp Arg
 180 185 190

55

Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu
 195 200 205

60

Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser
 210 215 220

Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
 225 230 235 240

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His
 245 250 255

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 260 265 270
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 275 280 285
 5

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 290 295 300
 10

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 305 310 315 320
 15

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
 325 330 335
 20

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 340 345 350
 25

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 355 360 365
 30

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro
 370 375 380
 35

Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val
 385 390 395 400
 40

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 405 410 415
 45

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 420 425 430
 50

Gly Ser Phe Phe Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 435 440 445
 55

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 450 455 460
 60

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 465 470 475
 <210> 55
 <211> 461
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 55

	Glu	Ala	Gly	Val	Thr	Gln	Ser	Pro	Thr	His	Leu	Ile	Lys	Thr	Arg	Gly
	1		5			10			15							
5	Gln	Gln	Val	Thr	Leu	Arg	Cys	Ser	Pro	Lys	Ser	Gly	His	Asp	Thr	Val
		20			25			30								
10	Ser	Trp	Tyr	Gln	Gln	Ala	Leu	Gly	Gln	Gly	Pro	Gln	Phe	Ile	Phe	Gln
		35			40			45								
15	Tyr	Val	Arg	Gly	Glu	Glu	Arg	Gln	Arg	Gly	Asn	Phe	Pro	Asp	Arg	Phe
	50		55		60											
20	Ser	Gly	His	Gln	Tyr	Pro	Asn	Tyr	Ser	Ser	Glu	Leu	Asn	Ile	Asn	Ala
	65		70		75			80								
25	Leu	Leu	Leu	Gly	Asp	Ser	Ala	Leu	Tyr	Leu	Cys	Ala	Ser	Ser	Asp	Thr
		85			90			95								
30	Val	Ser	Tyr	Glu	Gln	Tyr	Phe	Gly	Pro	Gly	Ile	Arg	Leu	Thr	Val	Thr
		100			105			110								
35	Glu	Asp	Leu	Lys	Asn	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Asp	Ile	Gln
		115			120			125								
40	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val
	130		135		140											
45	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Asp	Ile	Arg	Asn	Tyr	Leu	Asn	Trp
	145		150		155			160								
50	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Tyr	Thr
		165			170			175								
55	Ser	Arg	Leu	His	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser
		180			185			190								
60	Gly	Thr	Asp	Tyr	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Ile
		195			200			205								
65	Ala	Thr	Tyr	Phe	Cys	Gln	Gln	Gly	Gln	Thr	Leu	Pro	Trp	Thr	Phe	Gly
	210		215		220											
70	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Glu	Pro	Lys	Ser	Ser	Asp	Lys	Thr
	225		230		235			240								
75	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val
		245			250			255								

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
 260 265 270

5 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
 275 280 285

10 Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
 290 295 300

15 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 305 310 315 320

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 325 330 335

20 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile
 340 345 350

25 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 355 360 365

30 Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys Leu
 370 375 380

35 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 405 410 415

40 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 420 425 430

45 Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 435 440 445

50 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 450 455 460
 <210> 56
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

55
 <400> 56

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

	Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr	
	20 25 30	
5	Thr Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met	
	35 40 45	
10	Gly Leu Ile Asn Pro Tyr Lys Gly Val Ser Thr Tyr Ala Gln Lys Phe	
	50 55 60	
15	Gln Asp Arg Val Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Thr Ser Thr Ala Tyr	
	65 70 75 80	
20	Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	
	85 90 95	
25	Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Gly Asp Ser Asp Trp Tyr Phe Asp Val Trp	
	100 105 110	
30	Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly	
	115 120 125	
35	Gly Gly Gln Lys Glu Val Glu Gln Asn Ser Gly Pro Leu Ser Val Pro	
	130 135 140	
40	Glu Gly Ala Ile Ala Ser Leu Asn Cys Thr Tyr Ser Asp Arg Gly Ser	
	145 150 155 160	
45	Gln Ser Phe Phe Trp Tyr Arg Gln Tyr Ser Gly Lys Ser Pro Glu Leu	
	165 170 175	
50	Ile Met Ser Ile Tyr Ser Asn Gly Asp Lys Glu Asp Gly Arg Phe Thr	
	180 185 190	
55	Ala Gln Leu Asn Lys Ala Ser Gln Tyr Ile Ser Leu Leu Ile Arg Asp	
	195 200 205	
60	Ser Lys Leu Ser Asp Ser Ala Thr Tyr Leu Cys Ala Val Arg Gly Ala	
	210 215 220	
65	His Asp Tyr Ala Leu Asn Phe Gly Lys Gly Thr Ser Leu Leu Val Thr	
	225 230 235 240	
70	Pro His Ile Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro	
	245 250 255	

Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 260 265 270

5 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 275 280 285

10 Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
 290 295 300

15 Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
 305 310 315 320

Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
 325 330 335

20 His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
 340 345 350

25 Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
 355 360 365

30 Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 370 375 380

35 Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
 385 390 395 400

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 405 410 415

40 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 420 425 430

Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 435 440 445

45 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 450 455 460

50 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 465 470

55 <210> 57
 <211> 462
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60 <400> 57

	Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
	1 5 10 15
5	Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Arg Asn Tyr
	20 25 30
10	Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
	35 40 45
15	Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
	50 55 60
20	Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
	65 70 75 80
25	Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Phe Cys Gln Gln Gly Gln Thr Leu Pro Trp
	85 90 95
30	Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Ser Gly
	100 105 110
35	Gly Gly Gly Gly Glu Ala Gly Val Thr Gln Ser Pro Thr His Leu Ile
	115 120 125
40	Lys Thr Arg Gly Gln Gln Val Thr Leu Arg Cys Ser Pro Lys Ser Gly
	130 135 140
45	His Asp Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Ala Leu Gly Gln Gly Pro Gln
	145 150 155 160
50	Phe Ile Phe Gln Tyr Val Arg Gly Glu Glu Arg Gln Arg Gly Asn Phe
	165 170 175
55	Pro Asp Arg Phe Ser Gly His Gln Tyr Pro Asn Tyr Ser Ser Glu Leu
	180 185 190
60	Asn Ile Asn Ala Leu Leu Leu Gly Asp Ser Ala Leu Tyr Leu Cys Ala
	195 200 205
	Ser Ser Asp Thr Val Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Ile Arg
	210 215 220
	Leu Thr Val Thr Glu Asp Leu Lys Asn Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys
	225 230 235 240

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 245 250 255

5 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 260 265 270

10 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 275 280 285

15 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 290 295 300

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val
 305 310 315 320

20 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 325 330 335

25 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr
 340 345 350

30 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 355 360 365

Pro Pro Cys Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Trp Cys
 370 375 380

35 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 385 390 395 400

40 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 405 410 415

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 420 425 430

45 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 435 440 445

50 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 450 455 460

55 <210> 58
 <211> 472
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

60 <400> 58

	Gln	Lys	Glu	Val	Glu	Gln	Asn	Ser	Gly	Pro	Leu	Ser	Val	Pro	Glu	Gly
	1		5				10			15						
5	Ala	Ile	Ala	Ser	Leu	Asn	Cys	Thr	Tyr	Ser	Asp	Arg	Gly	Ser	Gln	Ser
			20			25			30							
10	Phe	Phe	Trp	Tyr	Arg	Gln	Tyr	Ser	Gly	Lys	Ser	Pro	Glu	Leu	Ile	Met
		35			40			45								
15	Ser	Ile	Tyr	Ser	Asn	Gly	Asp	Lys	Glu	Asp	Gly	Arg	Phe	Thr	Ala	Gln
	50			55			60									
20	Leu	Asn	Lys	Ala	Ser	Gln	Tyr	Ile	Ser	Leu	Leu	Ile	Arg	Asp	Ser	Lys
	65			70			75			80						
25	Leu	Ser	Asp	Ser	Ala	Thr	Tyr	Leu	Cys	Ala	Val	Arg	Gly	Ala	His	Asp
		85				90			95							
30	Tyr	Ala	Leu	Asn	Phe	Gly	Lys	Gly	Thr	Ser	Leu	Leu	Val	Thr	Pro	His
		100			105			110								
35	Ile	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	
		115			120			125								
40	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys
	130			135			140									
45	Ala	Ser	Gly	Tyr	Ser	Phe	Thr	Gly	Tyr	Thr	Met	Asn	Trp	Val	Arg	Gln
	145			150			155			160						
50	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Leu	Ile	Asn	Pro	Tyr	Lys
		165			170			175								
55	Gly	Val	Ser	Thr	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Asp	Arg	Val	Thr	Leu	Thr
		180			185			190								
60	Val	Asp	Lys	Ser	Thr	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg
		195			200			205								
65	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Gly
	210			215			220									
70	Asp	Ser	Asp	Trp	Tyr	Phe	Asp	Val	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr
	225			230			235			240						

	Val Ser Ser Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
	245 250 255
5	Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
	260 265 270
10	Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
	275 280 285
15	Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
	290 295 300
20	Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
	305 310 315 320
25	Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
	325 330 335
30	His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
	340 345 350
	Lys Ala Leu Pro Ala Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
	355 360 365
35	Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Cys Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
	370 375 380
40	Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Ser Cys Ala Val Lys Gly Phe Tyr
	385 390 395 400
45	Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
	405 410 415
50	Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
	420 425 430
55	Leu Val Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
	435 440 445
60	Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
	450 455 460
65	Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
	465 470

(56) Referințe bibliografice citate în raportul de documentare:

- LIQIN LIU ET AL: "MGD011, A CD19 x CD3 Dual-Affinity Retargeting Bi-specific Molecule Incorporating Extended Circulating Half-life for the Treatment of B-Cell Malignancies", CLINICAL CANCER RESEARCH, vol. 23, no. 6, 23 September 2016 (2016-09-23), pages 1506-1518, XP055503218, US ISSN: 1078-0432, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0666
- EP-A1- 2 258 719
- ULRICH BRINKMANN ET AL: "The making of bispecific antibodies", MABS, vol. 9, no. 2, 10 January 2017 (2017-01-10), pages 182-212, XP055374463, US ISSN: 1942-0862, DOI: 10.1080/19420862.2016.1268307
- WO-A1-2013/026837
- C. RADER: "DARTs take aim at BiTEs", BLOOD, vol. 117, no. 17, 28 April 2011 (2011-04-28), pages 4403-4404, XP055199549, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/blood-2011-02-337691
- WO-A1-2014/159940
- WO-A1-2016/184592

(57) Revendicări:

1. O moleculă polipeptidică cu specificitate duală cuprinzând un prim lanț polipeptidic și un al doilea lanț polipeptidic, în care:

a) primul lanț polipeptidic cuprinde

ai) un prim domeniu variabil (VD1) al unui anticorp,

aii) un prim domeniu variabil (VR1) al unui receptor de celule T (TCR) și

aiii) un prim linker (LINK1) care conectează domeniile menționate;

b) al doilea lanț polipeptidic cuprinde

bi) un al doilea domeniu variabil (VR2) al unui TCR,

bii) un al doilea domeniu variabil (VD2) al unui anticorp și

biii) un al doilea linker (LINK2) care conectează domeniile menționate;

în care primul domeniu variabil (VD1) menționat și al doilea domeniu variabil (VD2) menționat se asociază pentru a forma un prim loc de legare (VD1)(VD2) care leagă în mod specific un antigen de suprafață celulară al unei celule efectoare imune umane;

în care primul domeniu variabil (VR1) este unul dintre un domeniu TCR V α și un domeniu TCR V β , iar al doilea domeniu variabil (VR2) este celălalt din domeniul TCR V α și domeniul TCR V β , primul domeniu variabil (VR1)) și al doilea domeniu variabil (VR2) menționat se asociază pentru a forma un al doilea loc de legare (VR1)(VR2) care leagă în mod specific un epitop peptidic viral asociat MHC;

în care cele două lanțuri polipeptidice menționate sunt fuzionate cu domenii-balama IgG umane și/sau domenii IgC Fc umane sau porțiuni dimerizante ale acestora;

în care cele două lanțuri polipeptidice menționate sunt conectate prin legături covalente și/sau necovalente între domeniile-balama menționate și/sau domeniile Fc;

în care molecula polipeptidică cu specificitate duală menționată este capabilă să lege simultan molecula de suprafață celulară și epitopul peptidic viral asociat MHC și

în care ordinea domeniilor variabile din cele două lanțuri polipeptidice este selectată dintre VD1-VR1 și VR2-VD2 sau VD2-VR2 și VR1-VD1.

2. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu Revendicarea 1, în care secvențele linker LINK1 și/sau LINK2 conțin cel puțin un motiv de secvență selectat dintre GGGG, GGGG, TVLRT, TVSSAS și TVLSSAS.

3. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicarea 1 sau Revendicarea 2, în care primul și al doilea lanț polipeptidic menționat mai cuprinde cel puțin un domeniu balama și un domeniu Fc sau porțiuni ale acestora derivate din IgG1, IgG2 sau IgG4 uman, în care, preferabil, domeniul Fc menționat cuprinde cel puțin o mutație de atenuare a funcției efectoare în secvența de SEQ ID NO: 50 (ELLGGP) a IgG1 uman, preferabil în care mutația de atenuare a funcției efectoare menționate este generată de una sau mai multe mutații E1P, L2V,

L3A și fără resturi în poziția 4 din SEQ ID NO: 50.

4. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicarea 2 la 3, în care domeniul Fc menționat cuprinde un domeniu CH3 cuprinzând cel puțin o mutație care facilitează formarea de heterodimeri, de preferință, în care mutațiile menționate cuprind mutații knob-into-hole.

5. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicarea 2 la Revendicarea 4, în care respectivul domeniu Fc cuprinde domeniu(ii) CH2 și CH3 cuprinzând cel puțin două resturi de cisteine suplimentare.

6. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1 la 5, în care domeniile VD1 și VD2 derivate din anticorpi menționate prezintă o punte disulfurică modificată care introduce o legătură covalentă între VD1 și VD2 și unde cisteinele menționate sunt introduse în regiunea cadru (FR) 4 în cazul VL și în regiunea cadru 2 în cazul VH.

7. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1 la 6, în care molecula de suprafață celulară menționată este cunoscută că induce activarea celulelor imune sau este cel puțin una selectată din grupul constând din CD3, CD4, CD7, CD8, CD10, CD11b, CD11c, CD14, CD16, CD18, CD22, CD25, CD28, CD32a, CD32b, CD33, CD41, CD41b, CD42a, CD42b, CD44, CD45RA, CD49, CD55, CD56, CD61, CD64, CD68, CD94, CD90, CD117, CD123, CD125, CD134, CD137, CD152, CD163, CD193, CD203c, CD235a, CD278, CD279, CD287, Nkp46, NKG2D, GITR, FcεRI, TCRα / β și TCRγ / δ, HLA-DR, preferabil în care respectiva

moleculă de suprafață celulară este CD3γ, CD3δ sau CD3ε.

8. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1 la 7, în care primul lanț polipeptidic cuprinde SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 29 și SEQ ID NO: 30; iar al doilea lanț polipeptidic cuprinde SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 32 și SEQ ID NO: 30.

9. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicările 2 la 8, în care regiunea Fc din primul lanț polipeptidic cuprinde SEQ ID NO: 26 sau SEQ ID NO: 47 (Fc1), iar regiunea Fc din al doilea lanț polipeptidic cuprinde SEQ ID NO: 27 sau SEQ ID NO: 48 (Fc2).

10. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu Revendicarea 1, în care primul lanț polipeptidic cuprinde SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 43, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 51, SEQ ID NO: 53, SEQ ID NO: 55 sau SEQ ID NO: 57 și în care al doilea lanț polipeptidic cuprinde SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 46, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 56 sau SEQ ID NO: 58.

11. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1 la 10, în care primul loc de legare (VD1)(VD2) menționat care leagă antigenul de suprafață celulară al respectivelor celule imune este umanizat; și/sau al doilea loc de legare (VR1)(VR2) menționat care leagă epitopul peptidic viral asociat MHC menționat este cu afinitate maturată și/sau cu stabilitate maturată.

12. Un acid nucleic care codifică pentru primul lanț polipeptidic și/sau al doilea lanț polipeptidic în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1 la 11 sau un vector de exprimare cuprinzând cel puțin unul dintre acizii nucleici menționați.

13. O celulă-gazdă care cuprinde și, opțional, exprimă un vector așa cum este definit în Revendicarea 12.

14. O compoziție farmaceutică care cuprinde molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1 la 11, acidul nucleic sau vectorul de exprimare în conformitate cu Revendicarea 12 sau celula în conformitate cu Revendicarea 13, împreună cu unul sau mai mulți purtători sau excipienți acceptabili farmaceutici.

15. Molecula polipeptidică cu specificitate duală în conformitate cu oricare dintre Revendicările 1 la 11, acidul nucleic sau vectorul de exprimare în conformitate cu Revendicarea 12, celula în conformitate cu Revendicarea 13 sau compoziția farmaceutică în conformitate cu Revendicarea 14, pentru utilizare în medicină, de preferință pentru utilizare în prevenirea sau tratarea unei boli infecțioase.

Figura 1

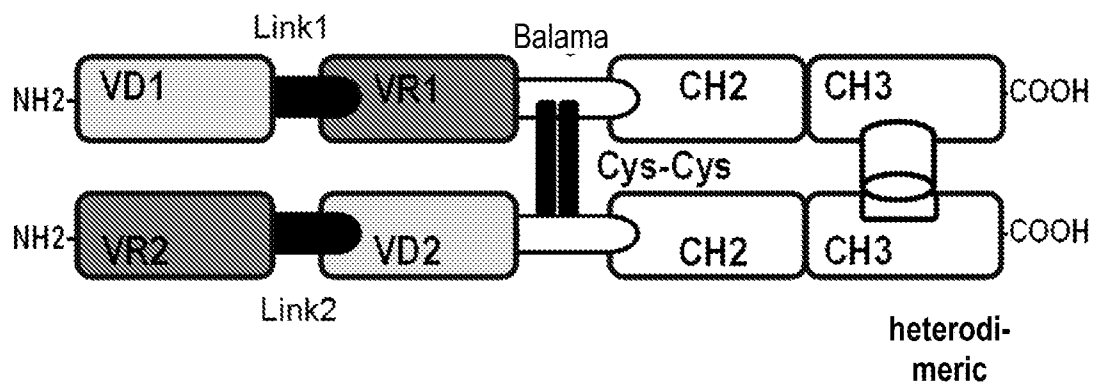


Figura 2

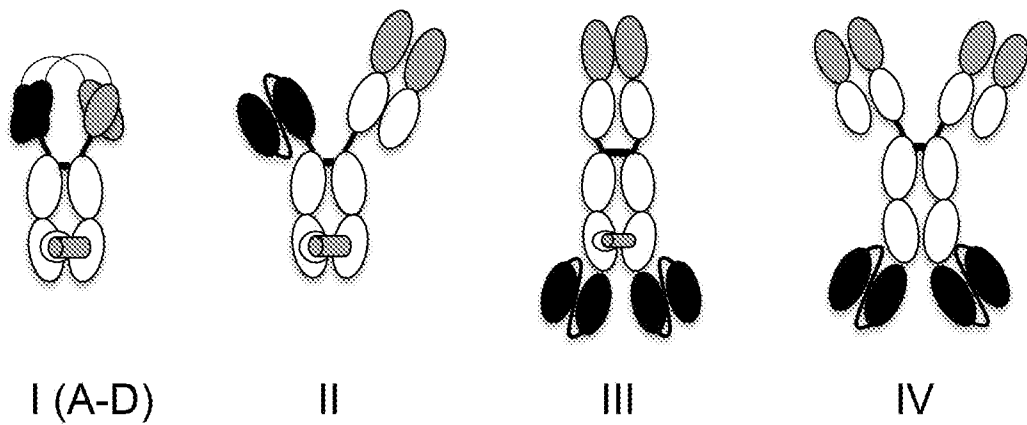


Figura 3

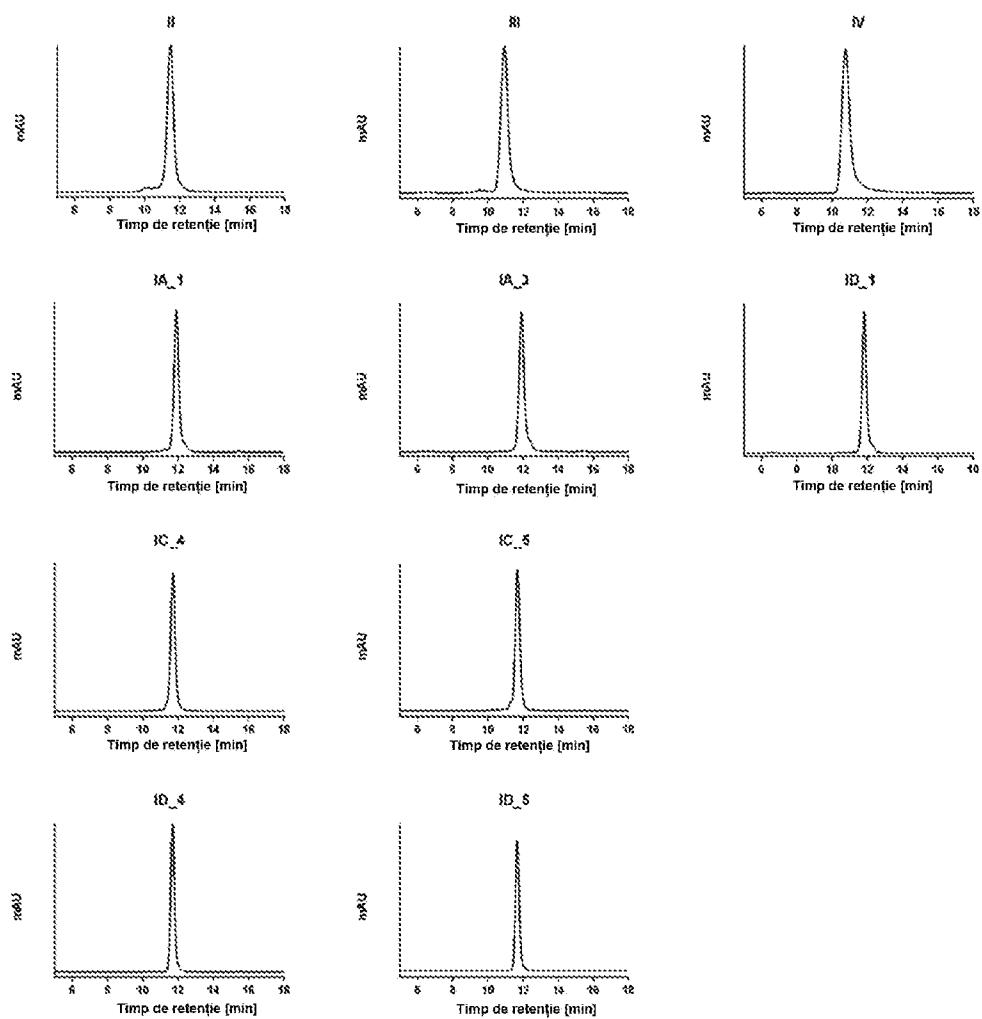


Figura 4

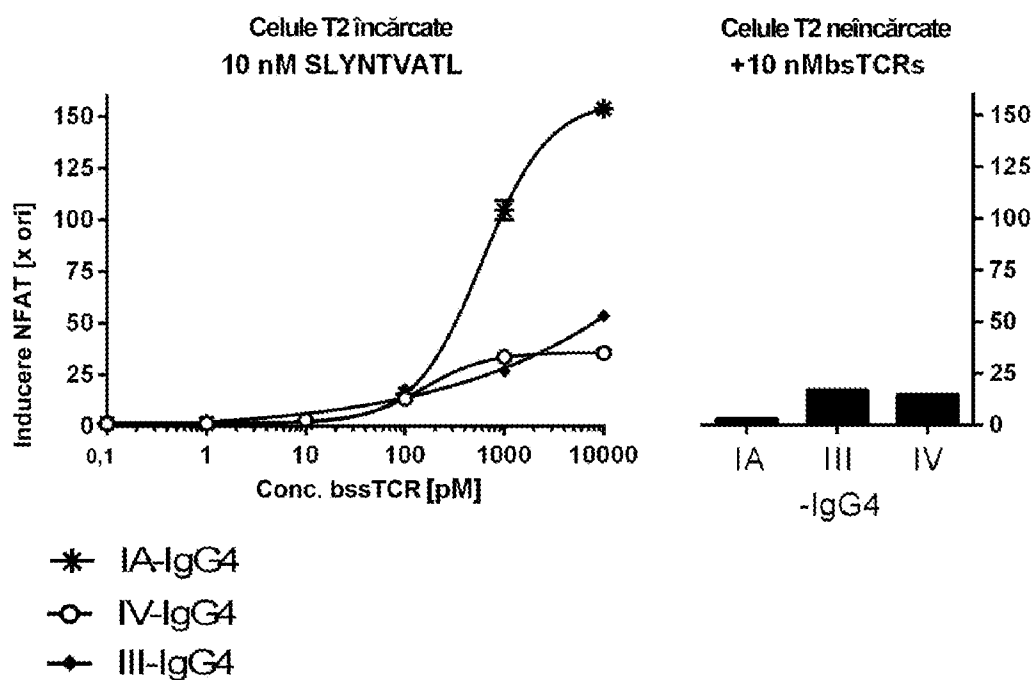


Figura 5

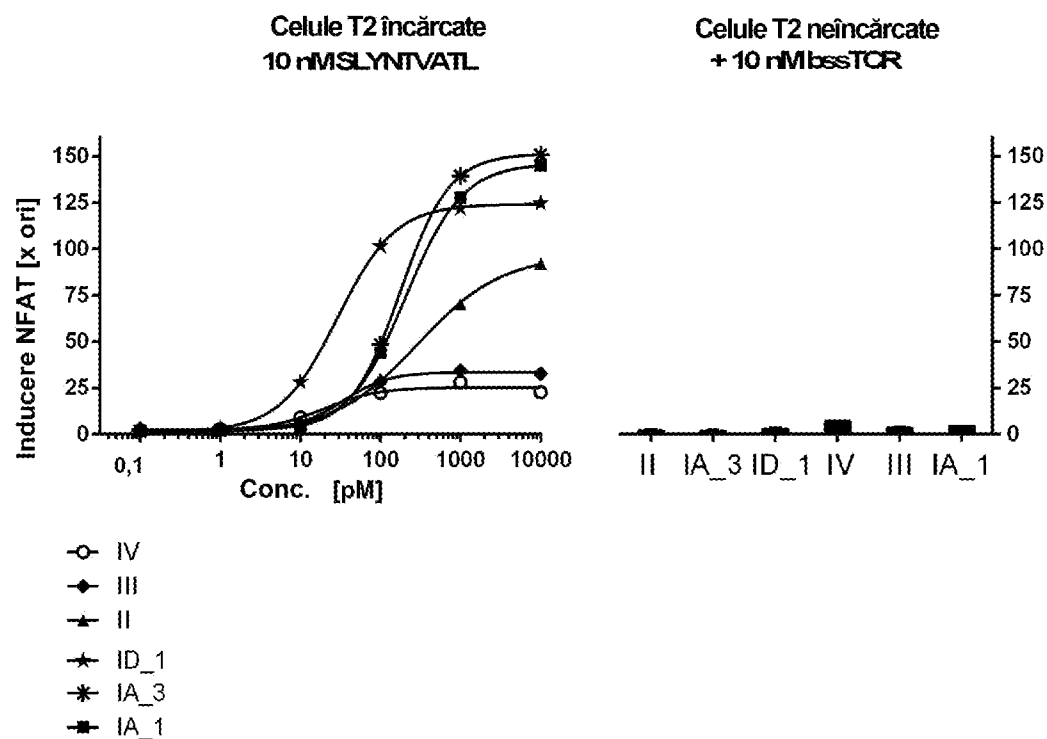


Figura 6

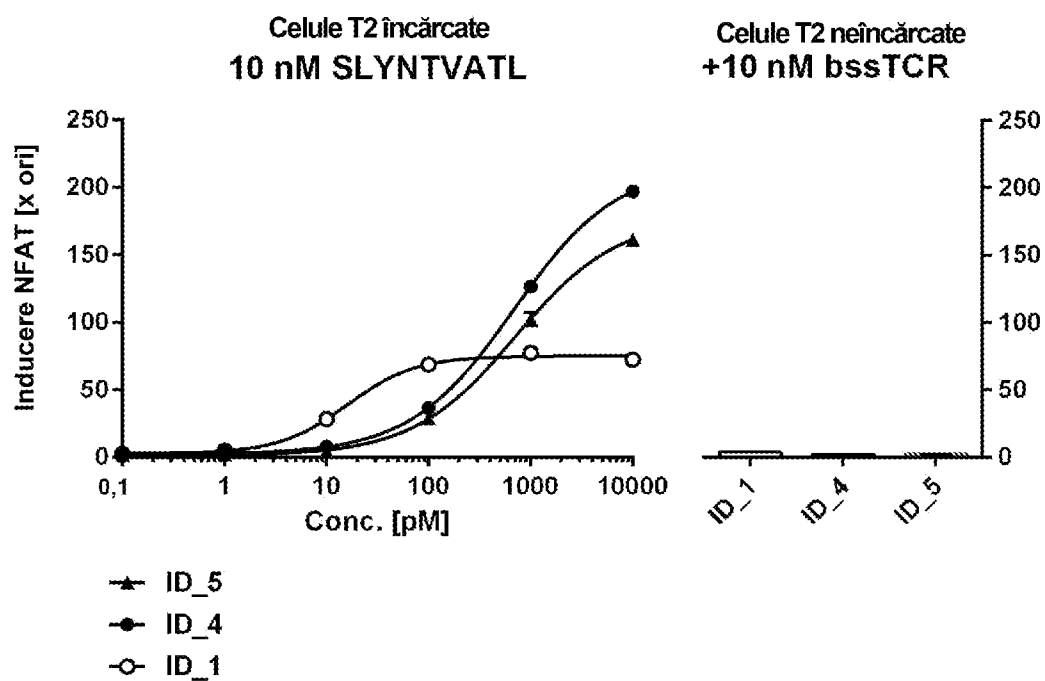


Figura 7

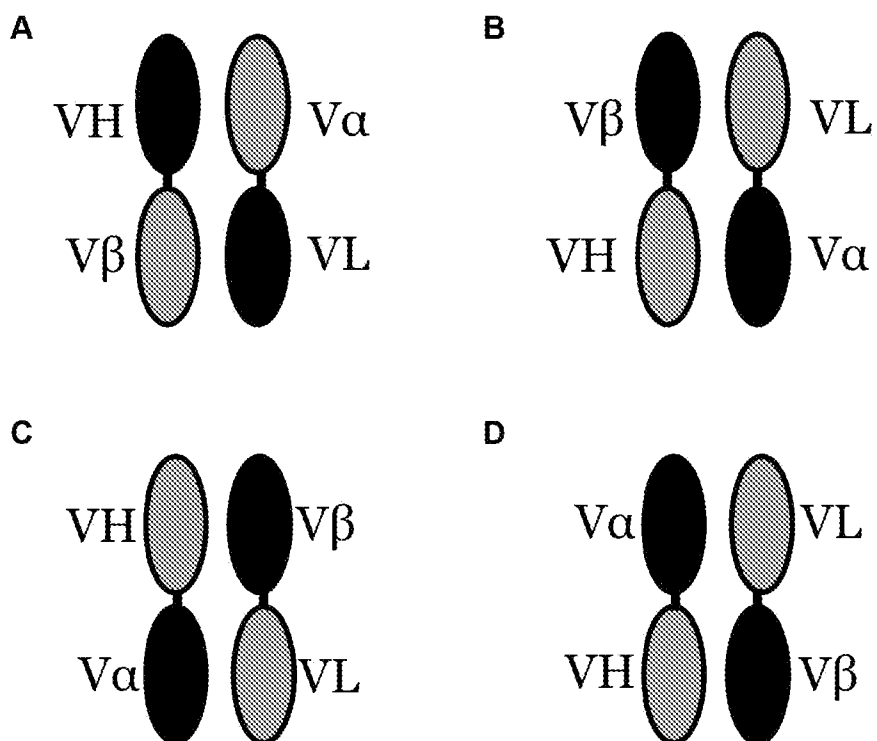


Figura 8

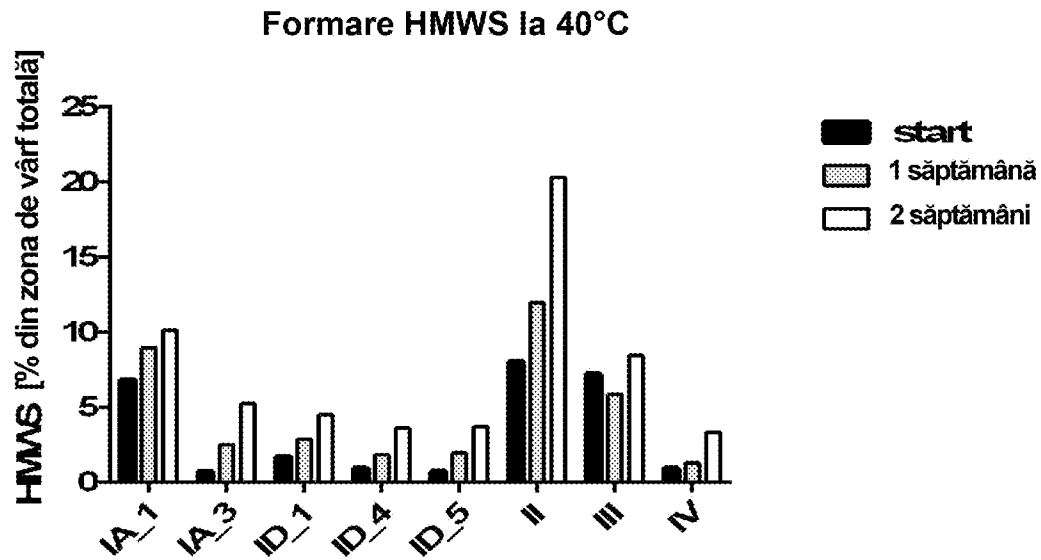


Figura 9

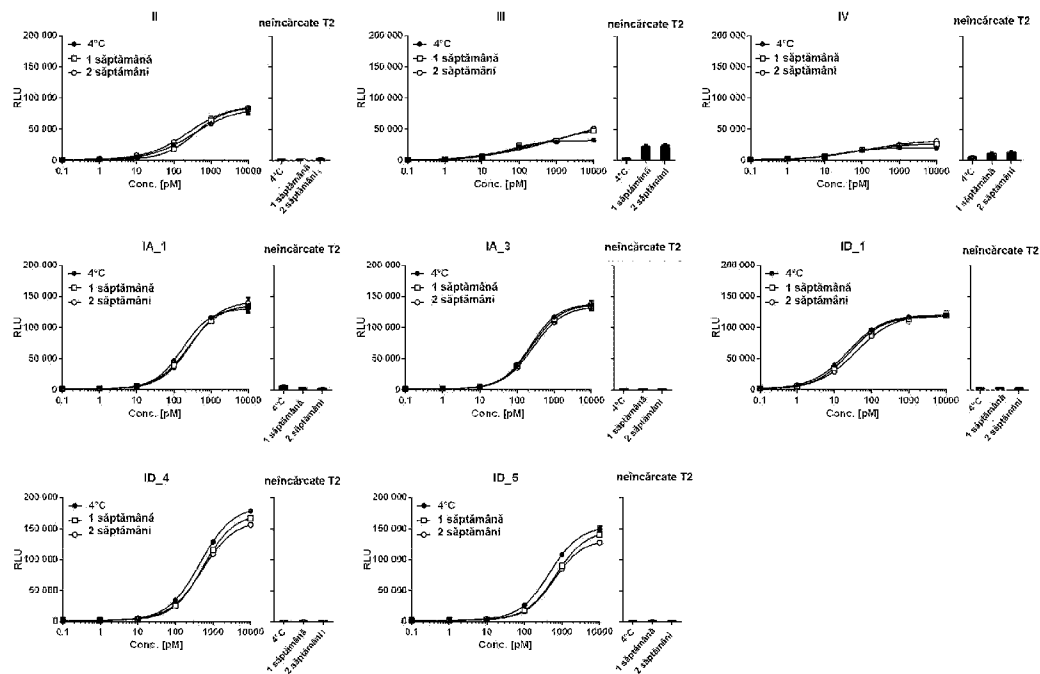


Figura 10

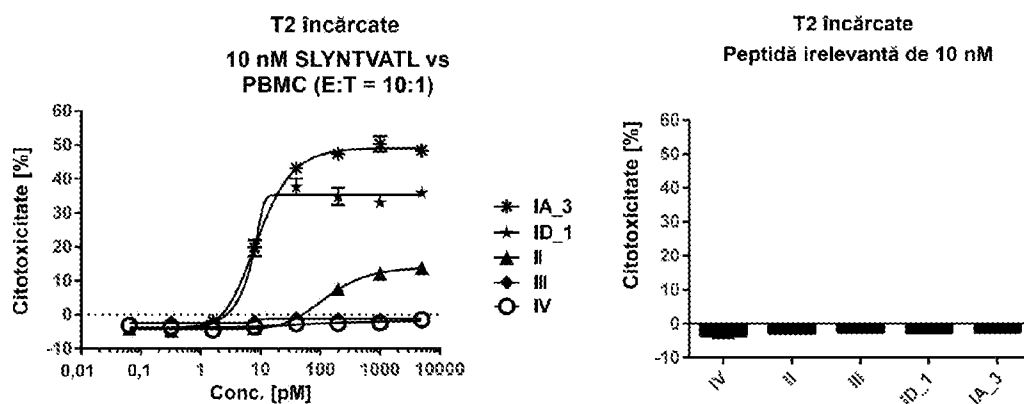


Figura 11

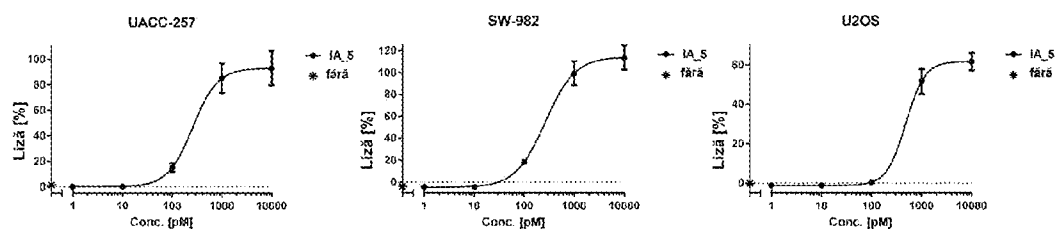


Figura 12

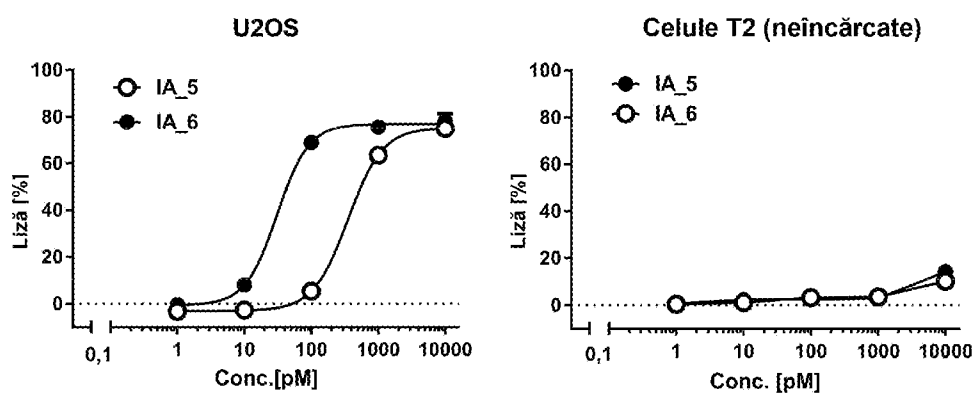


Figura 13

