



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월27일

(11) 등록번호 10-2710122

(24) 등록일자 2024년09월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01) C12N 15/62 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C07K 16/2818 (2013.01)

A61P 35/00 (2018.01)

(21) 출원번호 10-2020-7005683

(22) 출원일자(국제) 2018년07월26일

심사청구일자 2021년07월23일

(85) 번역문제출일자 2020년02월26일

(65) 공개번호 10-2020-0032189

(43) 공개일자 2020년03월25일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/043936

(87) 국제공개번호 WO 2019/023482

국제공개일자 2019년01월31일

(30) 우선권주장

62/537,753 2017년07월27일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

국제공개공보 WO 2009/100140 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

리제너론 파아마슈티컬스, 인크.

미국 뉴욕 10591-6707 테리타운 올드 소오 밀 리버 로드 777

(72) 발명자

헤르만 아이누르

미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소오 밀 리버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내

이요페 엘라

미국 뉴욕주 10591 테리타운 올드 소오 밀 리버 로드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

장훈

전체 청구항 수 : 총 25 항

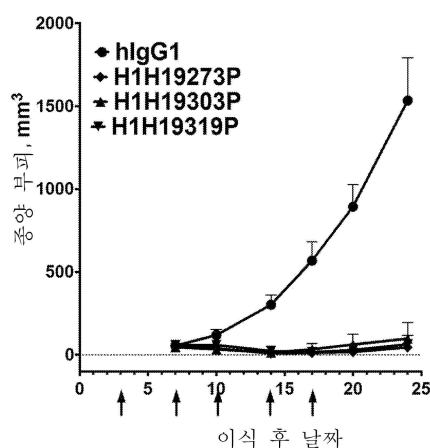
심사관 : 나영국

(54) 발명의 명칭 항-CTLA-4 항체 및 이의 용도

(57) 요약

본 발명은 세포독성 T-림프구-관련 단백질 4 (CTLA-4)에 결합하는 항체 및 이의 사용 방법에 관한 것이다. 본 발명의 다양한 구현예에서, 상기 항체는 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 완전 인간 항체이다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체는 CTLA-4 활성을 억제하거나 중화시켜, T-세포를 활성화시키고/거나 암 또는 바이러스 감염과 같은 질환 또는 장애를 치료하는 수단을 제공하는데 유용하다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

C12N 15/62 (2013.01)
A61K 2039/507 (2013.01)
A61K 2039/545 (2013.01)
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/33 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)

(72) 발명자

부로바 엘레나

미국 뉴욕주 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로
 드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내

서스톤 개빈

미국 뉴욕주 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로
 드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내

울슨 윌리엄

미국 뉴욕주 10591 태리타운 올드 소우 밀 리버 로
 드 777 리제너론 파아마슈티컬스, 인크. 내

(30) 우선권주장

62/588,853	2017년11월20일	미국(US)
62/645,284	2018년03월20일	미국(US)
62/685,599	2018년06월15일	미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

세포독성 T-림프구-관련 단백질 4 (CTLA-4)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 서열 번호 196, 198 및 200의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 중쇄 상보성 결정 영역들 (CDRs) (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3)을 포함하는 중쇄 가변 영역 (HCVR) 및 서열 번호 204, 206 및 208의 아미노산 서열을 각각 포함하는 3개의 경쇄 CDR들 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 경쇄 가변 영역 (LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 HCVR이 서열 번호 194의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCVR이 서열 번호 202의 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 단일클론 항체인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 완전 인간 항체인, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 인간 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 6

제2항에 있어서, 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체로서, 상기 중쇄가 서열 번호 509의 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 7

제2항에 있어서, 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체로서, 상기 경쇄가 서열 번호 510의 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 8

제2항에 있어서, 중쇄 및 경쇄를 포함하는 항체로서, 상기 중쇄가 서열 번호 509의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 경쇄가 서열 번호 510의 아미노산 서열을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는, 대상체에서 종양 또는 종양 세포의 성장을 억제하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 단편의 HCVR 및 LCVR을 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오타이드 분자.

청구항 11

제10항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체 또는 항원-결합 단편의 HCVR 및 LCVR을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열들을 각각 포함하는, 한 쌍의 단리된 폴리뉴클레오티드 분자.

청구항 13

제12항의 한 쌍의 단리된 폴리뉴클레오티드 분자 각각을 포함하는, 한 쌍의 벡터.

청구항 14

제10항의 단리된 폴리뉴클레오티드 분자를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 15

제12항의 한 쌍의 단리된 폴리뉴클레오티드 분자를 포함하는 단리된 숙주 세포.

청구항 16

항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 생산하는 시험관내 방법으로서, 제15항의 숙주 세포를 상기 항체 또는 항원-결합 단편의 생산을 허용하는 조건 하에 성장시키는 단계 및 이렇게 생산된 상기 항체 또는 항원-결합 단편을 회수하는 단계를 포함하는, 시험관내 방법.

청구항 17

제9항에 있어서, 상기 종양이 (i) 원발성 또는 재발성 종양이거나, (ii) 확립된 종양이거나, (iii) 혈액암, 뇌암, 신장세포암, 난소암, 방광암, 전립선암, 유방암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부 편평 세포 암종, 결장직장암, 중피종, B 세포 림프종 및 흑색종으로 이루어진 그룹으로부터 선택된 질환 또는 장애가 있는 대상체에 존재하는, 약제학적 조성물.

청구항 18

제9항에 있어서, 상기 조성물이 제2 치료제 또는 치료요법과 조합하여 상기 대상체에게 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 19

제18항에 있어서, 상기 제2 치료제 또는 치료요법이 PD-1 억제제, 종양 특이적 항원에 대한 항체, 바이러스-감염된-세포 항원에 대한 항체, PD-L1 억제제, CD20 억제제, CD20 및 CD3에 대한 이중특이적 항체, VEGF 길항제, 화학요법제, 세포독성제, 방사선, NSAID 및 코르티코스테로이드로 이루어진 그룹으로부터 선택되는, 약제학적 조성물.

청구항 20

제19항에 있어서, 상기 제2 치료제가 PD-1 억제제인, 약제학적 조성물.

청구항 21

제20항에 있어서, 상기 PD-1 억제제가 세미플리맵, 니볼루맵 또는 펌브롤리주맵인, 약제학적 조성물.

청구항 22

제9항에 있어서, 상기 조성물이 피하(subcutaneously), 정맥내, 피내(intradermally), 복강내, 경구, 근육내 또는 두개내로 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 23

제9항에 있어서, 항-PD-1 항체와 조합하여 비-소세포 폐암 (NSCLC)의 치료를 위한 것인, 약제학적 조성물.

청구항 24

제23항에 있어서, 상기 항-PD-1 항체가 세미플리맙인, 약제학적 조성물.

청구항 25

제23항에 있어서, 상기 NSCLC가 진행성 또는 전이성 NSCLC인, 약제학적 조성물.

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 서열 목록 참조

[0002] 본원은 2018년 6월 29일에 생성되고 178,018 바이트를 함유하는 파일 10360W001-Sequence.txt로서 컴퓨터로 읽을 수 있는 형태로 제출된 서열 목록을 원용에 의해 포함한다.

[0003] 기술분야

[0004] 본 발명은 면역조절 수용체인 "세포독성 T-림프구-관련 단백질 4 (CTLA-4)"에 특이적으로 결합하는 항체 및 항체의 항원-결합 단편, 및 이들 항체를 사용하는 치료 방법 및 진단 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] 세포독성 T-림프구-관련 단백질 4 (CTLA-4; CD152로도 알려짐)는 통상적인 조절 T 세포 상에서 발현되는 유형 I 막관통 T 세포 억제 체크포인트 수용체이다. CTLA-4는, 자극 수용체 CD28가 이의 천연 리간드인 B7-1 (CD80) 및 B7-2 (CD86)에 결합하는 것을 경쟁적으로 이김으로써 T 세포 활성화를 부정적으로 조절한다. 초기 T-세포 활성화는 항원-제시 세포 (APC) 상의 주요 조직적합성 복합체 클래스 I 또는 II (MHC I 또는 MHC II) 단백질에 의해 제시되는 특정 펩티드를 인식하는 T-세포 수용체 (TCR)를 자극함으로써 달성된다 (문헌 [Goldrath *et al.* 1999, Nature 402: 255-262]). 활성화된 TCR은 이어서 일련의 신호전달 사건의 캐스케이드를 개시하고, 이는, 다양한 전사 인자, 예를 들어 활성화제-단백질 1 (AP-1), 활성화된 T 세포의 핵 인자 (NFAT) 또는 활성화된 B 세포의 핵 인자 카파-경쇄-인핸서 (NF κ B)의 발현을 조절하는 프로모터에 의해 구동되는 형질전환된 리포터 유전자의 발현에 의해 모니터링 될 수 있다. 이어서 T-세포 반응은 T-세포 상에서 본질적으로 또는 유도적으로 발현되는 공동-자극 또는 공동-억제 수용체, 예를 들어 CD28, CTLA-4 (세포독성 T-림프구-관련 단백질 4), PD-1 (프로그램된 세포 사멸 단백질 1), LAG-3 (림프구-활성화 유전자 3) 또는 다른 분자의 참여를 통해 추가로 개선된다 (문헌 [Sharpe *et al.* 2002, Nat. Rev. Immunol. 2: 116-126]).

[0006] 공동 수용체인 CD28 및 CTLA-4는 항원-제시 세포 (APC) 상에서 발현되는 동일한 리간드인 CD80 및 CD86에 대해 경쟁한다. CTLA-4는 CD28보다 높은 친화도로 CD80 및 CD86에 결합하고, 유인체로서 기능하며, 리간드를 격리시켜 T-세포 활성화를 감소시킴으로써 CD28의 활성화를 억제한다 (문헌 [Alegre *et al.* 2001, Nat. Rev. Immunol. 1: 220-228, Walker *et al.* 2011, Nat. Rev. Immunol. 11: 852-863, 및 Buchbinder *et al.*, 2016, American Journal of Clinical Oncology, 39:98-106]).

발명의 내용

[0007] 본 발명은 CTLA-4에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 본 발명의 항체는 특히 CTLA-4를 발현하는 면역 세포를 표적화하고 CTLA-4의 활성을 조절하는데 유용하다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는, 예를 들어 T 세포-매개된 살상이 유리하거나 바람직한 환경 하에서, CTLA-4 활성을 억제 또는 중화시키고/거나 T 세포 활성화를 자극하는데 유용하다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 조절 T 세포 기능을 억제하고/거나 기능 소실된 T 세포를 재활성화하는데 유용하다. 본 발명의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 부분은, 예를 들어 면역 반응을 조절하고/거나 특정 세포 유형, 예를 들어 종양 세포 또는 감염된 세포에 대한 항체를 표적화하기 위해, 다중특이적 항원-결합 분자의 일부로서 포함될 수 있다. 상기 항체는 암 및 바이러스 감염과 같은 질환 또는 장애를 치료하는데 유용하다.

[0008] 본 발명의 항체는 전장일 수 있거나 (예를 들어 IgG1 또는 IgG4 항체), 항원-결합 부분 (예를 들어 Fab, F(ab')₂ 또는 scFv 단편)만 포함할 수 있고, 기능성에 영향을 주기 위해, 예를 들어 잔류 효과기 기능을 없애기 위해 변형될 수 있다 (문헌 [Reddy *et al.*, 2000, J. Immunol. 164:1925-1933]). 특정 구현예에서, 상기 항체는 이중특이적일 수 있다.

[0009] 제1 양태에서, 본 발명은 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 단리된 재조합 단일클론 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 완전 인간일 수 있다.

[0010] 본 발명의 예시적인 항-CTLA-4 항체는 본원의 표 1 및 표 2에 나열되어 있다. 표 1은 예시적인 항-CTLA-4 항체의 중쇄 가변 영역 (HCVR), 경쇄 가변 영역 (LCVR), 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3) 및 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 표 2는 예시적인 항-CTLA-4 항체의 HCVR, LCVR, HCDR1, HCDR2 HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3의 핵산 서열 식별자를 제시한다.

[0011] 본 발명은 표 1에 나열된 HCVR 아미노산 서열 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 HCVR을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0012] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCVR 아미노산 서열 중 임의의 것으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

- [0013] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCVR 아미노산 서열 중 임의의 것과 쌍을 이룬 표 1에 나열된 HCVR 아미노산 서열 중 임의의 것을 포함하는 HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 쌍 (HCVR/LCVR)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 발명은 표 1에 나열된 예시적인 항-CTLA-4 항체 중 임의의 것 내에 함유된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, 상기 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍은 서열 번호 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/298, 314/322, 330/338, 346/354, 362/370, 378/386, 394/402, 410/418, 426/434, 442/450, 458/466, 474/482, 및 490/498로 구성된 군으로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 상기 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍은 서열 번호 194/202 (예를 들어, H1H19303P), 또는 290/298 (예를 들어, H1H19319P2) 중 하나로부터 선택된다. 특정 구현예에서, 본 발명은 본 발명은 HCVR 및 LCVR을 포함하는 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 HCVR은 최대 10개의 아미노산 치환을 갖는 표 1에 열거된 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCVR은 최대 10개의 아미노산 치환을 갖는 표 1에 열거된 아미노산 서열을 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 HCVR 및 LCVR을 포함하는 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 HCVR은 최대 10개의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 194의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCVR은 최대 10개의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 202의 아미노산 서열을 포함한다. 다른 예시적인 구현예에서, 본 발명은 HCVR 및 LCVR을 포함하는 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 HCVR은 적어도 하나의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 194의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCVR은 적어도 하나의 아미노산 치환을 갖는 서열 번호 202의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0014] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 HCDR1 아미노산 서열 중 임의의 것로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR1 (HCDR1)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0015] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 HCDR2 아미노산 서열 중 임의의 것로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR2 (HCDR2)를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0016] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 HCDR3 아미노산 서열 중 임의의 것로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 중쇄 CDR3 (HCDR3)를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0017] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCDR1 아미노산 서열 중 임의의 것로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR1 (LCDR1)를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0018] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCDR2 아미노산 서열 중 임의의 것로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR2 (LCDR2)를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0019] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCDR3 아미노산 서열 중 임의의 것로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 포함하는 경쇄 CDR3 (LCDR3)를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0020] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCDR3 아미노산 서열 중 임의의 것과 쌍을 이룬 표 1에 나열된 HCDR3 아미노산 서열 중 임의의 것을 포함하는 HCDR3 및 LCDR3 아미노산 서열 쌍 (HCDR3/LCDR3)을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에 따르면, 본 발명은 표 1에 나열된 예시적인 항-CTLA-4 항체 중 임의의 것 내에 함유된 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, 상기 HCDR3/LCDR3 아미노산 서열 쌍은 서열 번호 200/208 (예를 들어, H1H19303P), 및 296/304 (예를 들어, H1H19319P2)로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0021] 본 발명은 또한 HCVR 및 LCVR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 HCVR은 표 1에 열거된 아미노산 서열과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 표 1에 열거된 아미노산 서열과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 표 1에 열거된 아미노산 서열과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 HCVR 및 LCVR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 LCVR은 표 1에 열거된 아미노산 서열과 1개의 아미노산이 상

이한 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 표 1에 열거된 아미노산 서열과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 표 1에 열거된 아미노산 서열과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 HCVR 및 LCVR을 포함하는 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 HCVR은 서열 번호 196의 아미노산 서열 또는 서열 번호 196과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1, 서열 번호 198의 아미노산 서열 또는 서열 번호 198과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2, 및 서열 번호 200의 아미노산 서열 또는 서열 번호 200과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3을 포함한다. 다른 예시적인 구현예에서, 본 발명은 HCVR 및 LCVR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공하며, 상기 LCVR은 서열 번호 204의 아미노산 서열 또는 서열 번호 204와 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1, 서열 번호 206의 아미노산 서열 또는 서열 번호 206과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2, 및 서열 번호 208의 아미노산 서열 또는 서열 번호 208과 1개의 아미노산이 상이한 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3을 포함한다.

[0022] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 예시적인 항-CTLA-4 항체 중 임의의 것 내에 함유된 6개의 CDR (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 서열 번호 196-198-200-204-206-208 (예를 들어, H1H19303P), 및 292-294-296-300-302-304 (예를 들어, H1H19319P2)로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0023] 관련 구현예에서, 본 발명은 표 1에 나열된 예시적인 항-CTLA-4 항체 중 임의의 것에 의해 정의된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍 내에 함유된 6개의 CDR (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 서열 번호 194/202 (예를 들어, H1H19303P), 및 290/298 (예를 들어, H1H19319P2)로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍 내에 함유된 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트를 포함하는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내의 CDR을 식별하기 위한 방법 및 기술은 당업계에 널리 공지되어 있으며, 본원에 개시된 명시된 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내의 CDR을 식별하는데 사용될 수 있다. CDR의 경계를 식별하는데 사용될 수 있는 대표적인 통례는, 예를 들어, 카바트 (Kabat) 정의, 초티아 (Chothia) 정의 및 AbM 정의를 포함한다. 일반적인 견지에서, 카바트 정의는 서열 다양성을 기초로 하고, 초티아 정의는 구조적 루프 영역의 위치를 기초로 하며, AbM 정의는 카바트 및 초티아 접근법 사이의 절충안이다. 예를 들어, 문헌 [Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest," National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani *et al.*, *J. Mol. Biol.* 273:927-948 (1997); 및 Martin *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:9268-9272 (1989)]를 참조한다. 항체 내의 CDR 서열을 식별하기 위한 공개 데이터베이스도 역시 사용 가능하다.

[0024] 본 발명은 변형된 글리코실화 양상을 갖는 항-CTLA-4 항체를 포함한다. 일부 구현예에서, 바람직하지 않은 글리코실화 부위를 제거하는 변형, 또는 예를 들어, 항체 의존성 세포독성 (ADCC) 기능을 증가시키기 위한, 올리고당쇄 상에 존재하는 푸코스 모이어티가 결여되어 있는 항체가 유용할 수 있다 (문헌 [Shield *et al.* (2002) JBC 277:26733] 참조). 다른 응용 분야에서, 보체 의존성 세포독성(CDC)을 변형시키기 위해 갈락토실화의 변형이 수행될 수 있다.

[0025] 본 발명은 Fc 도메인을 포함하는 항-CTLA-4 항체를 포함하며, 여기서 상기 Fc 도메인은 본원의 다른 곳에서 기술된 IgG1 또는 IgG4 이소타입을 포함한다.

[0026] 본 발명은 또한, HCVR의 CDR 및 LCVR의 CDR을 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 HCVR 및 LCVR은 각각 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는, 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 CTLA-4에 대한 특이적 결합에 대해 경쟁하는, 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0027] 본 발명은 또한 CTLA-4와 이의 천연 리간드 (B7-1/CD80 및 B7-2/CD86)의 결합을 차단하는 단리된 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 일부 구현예에서, CTLA-4 결합을 차단하는 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 B7-1/CD80 및/또는 B7-2/CD86과 동일한 CTLA-4 상의 에피토프에 결합하거나, 또는 B7-1/CD80 및/또는 B7-2/CD86과 상이한 CTLA-4 상의 에피토프에 결합할 수 있다.

[0028] 본 발명은 또한 인간 또는 다른 종으로부터의 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 인간 CTLA-4 및/또는 원숭이 CTLA-4에 결합할 수 있다.

[0029] 본 발명은 또한, HCVR의 CDR 및 LCVR의 CDR을 포함하는 기준 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 HCVR 및 LCVR은 각각 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는, 기준 항체 또는 이의 항

원-결합 단편과 CTLA-4에 대한 결합에 대해 교차-경쟁하는, 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다.

- [0030] 본 발명은 또한 HCVR의 CDR 및 LCVR의 CDR을 포함하는 기준 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 HCVR 및 LCVR은 각각 표 1에 열거된 HCVR 및 LCVR 서열로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는, 기준 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 동일한 에피토프에 결합하는, 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 HCVR의 CDR 및 LCVR의 CDR을 포함하는 기준 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서, 상기 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍은 서열 번호 194/202를 갖는, 기준 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 동일한 에피토프에 결합하는, 항체 및 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0031] 본 발명은 또한 인간 CTLA-4의 세포외 도메인 내에 함유된 하나 이상의 아미노산과 상호작용하는 항-CTLA-4 항체를 포함한다.
- [0032] 일 구현예에서, 본 발명은 다음 특징 중 하나 이상을 갖는 재조합 인간 단일클론 항체 또는 항원-결합 단편을 제공한다: (a) 인간 CTLA-4 및/또는 시노물구스 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 특징; (b) CTLA-4와 CD80 및/또는 CD86의 결합을 차단하는 특징; (c) CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단하고 T 세포 신호전달을 구제하는 특징; 및 (d) 암에 걸린 대상체에서 종양 성장을 억제하고 생존을 증가시키는 특징.
- [0033] 일부 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 작용제 방식으로 CTLA-4에 특이적으로 결합할 수 있으며, 즉, CTLA-4 결합 및/또는 활성을 향상시키거나 자극할 수 있고; 다른 구현예에서, 상기 항체는 길항제 방식으로 CTLA-4에 특이적으로 결합할 수 있으며, 즉, CTLA-4가 이의 리간드(들)에 결합하는 것을 차단할 수 있다.
- [0034] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편은 CTLA-4에 대한 제1 결합 특이성 및 제2 표적 에피토프에 대한 제2 결합 특이성을 포함하는 이중특이적이다. 상기 제2 표적 에피토프는 CTLA-4 또는 상이한 단백질 상의 다른 에피토프일 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 제2 표적 에피토프는 상이한 T 세포, B-세포, 종양 세포 또는 바이러스 감염된 세포를 포함한 상이한 세포 상에 있을 수 있다.
- [0035] 제2 양태에서, 본 발명은 항-CTLA-4 항체 또는 이의 일부를 인코딩하는 핵산 분자를 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 표 1에 나열된 HCVR 아미노산 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하고; 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 HCVR 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0036] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCVR 아미노산 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하고; 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 LCVR 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0037] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 HCDR1 아미노산 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하고; 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 HCDR1 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0038] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 HCDR2 아미노산 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하고; 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 HCDR2핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0039] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 HCDR3 아미노산 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하고; 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 HCDR3 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0040] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCDR1 아미노산 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하고; 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 LCDR1 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0041] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCDR2 아미노산 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하고; 특정 구

현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 LCDR2 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0042] 본 발명은 또한 표 1에 나열된 LCDR3 아미노산 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하고; 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 LCDR3 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0043] 본 발명은 또한 HCVR을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하며, 여기서 상기 HCVR은 3개의 CDR (즉, HCDR1-HCDR2-HCDR3)의 세트를 포함하며, 상기 HCDR1-HCDR2-HCDR3 아미노산 서열 세트는 표 1에 나열된 예시적인 항-CTLA-4 항체 중 임의의 것에 의해 정의된 바와 같다.

[0044] 본 발명은 또한 LCVR을 인코딩하는 핵산 분자를 제공하며, 여기서 상기 LCVR은 3개의 CDR (즉, LCDR1-LCDR2-LCDR3)의 세트를 포함하며, 상기 LCDR1-LCDR2-LCDR3 아미노산 서열 세트는 표 1에 나열된 예시적인 항-CTLA-4 항체 중 임의의 것에 의해 정의된 바와 같다.

[0045] 본 발명은 또한 HCVR 및 LCVR 둘 다를 인코딩하는 핵산 분자를 제공하며, 여기서 상기 HCVR은 표 1에 나열된 HCVR 아미노산 서열 중 임의의 것의 아미노산 서열을 포함하고, 상기 LCVR은 표 1에 나열된 LCVR 아미노산 서열 중 임의의 것의 아미노산 서열을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 표 2에 나열된 HCVR 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열, 및 표 2에 나열된 LCVR 핵산 서열 중 임의의 것, 또는 이에 대해 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열로부터 선택된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 본 발명의 이 양태에 따른 특정 구현예에서, 상기 핵산 분자는 HCVR 및 LCVR을 인코딩하며, 여기서 상기 HCVR 및 LCVR은 둘 다 표 1에 나열된 동일한 항-CTLA-4 항체로부터 유래된다.

[0046] 관련된 일 양태에서, 본 발명은 항-CTLA-4 항체의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 상기 언급된 핵산 분자 중 임의의 것, 즉, 표 1에 제시된 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 본 발명은 또한 항-CTLA-4 항체의 중쇄 또는 경쇄를 포함하는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 재조합 발현 벡터를 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 상기 언급된 핵산 분자 중 임의의 것, 즉, 표 1에 제시된 중쇄 또는 경쇄 서열 중 임의의 것을 인코딩하는 핵산 분자를 포함하는 재조합 발현 벡터를 포함한다. 또한, 이러한 벡터가 도입된 숙주 세포, 뿐만 아니라 상기 항체 또는 항체 단편의 생산을 허용하는 조건 하에 상기 숙주 세포를 배양하고, 이렇게 생산된 항체 및 항체 단편을 회수함으로써 상기 항체 또는 이의 일부를 생산하는 방법이 본 발명의 범위에 포함된다.

[0047] 제3 양태에서, 본 발명은 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 재조합 인간 항체 또는 이의 단편 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다. 관련 양태에서, 본 발명은 항-CTLA-4 항체 및 제2 치료제의 조합인 조성물을 특징으로 한다. 일 구현예에서, 상기 제2 치료제는 항-CTLA-4 항체와 유리하게 조합되는 임의의 제제이다. 항-CTLA-4 항체와 유리하게 조합될 수 있는 예시적인 제제는, 비제한적으로, CTLA-4 신호전달에 결합하고/거나 이를 조절하는 다른 제제 (다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편 등 포함) 및/또는 CTLA-4에 직접적으로 결합하지 않지만 그럼에도 불구하고 면역 세포 활성화를 조절하는 제제를 포함한다. 본 발명의 항-CTLA-4 항체를 포함하는 추가적인 병용 요법 및 공동-제제 (co-formulation)는 본원의 다른 곳에서 개시된다.

[0048] 제4 양태에서, 본 발명은 대상체에서 면역 반응을 조절하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 치료적 유효량의 본 발명의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의, CTLA-4에 결합하는 본 발명의 항체 또는 이의 단편을 상기 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명은 대상체에서 T 세포 활성화를 자극 또는 향상시키는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 T 세포 활성을 구체화하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 T 세포 활성이 구체되도록 하는 유효량의 본 발명의 항체와 상기 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명은 대상체에서 T 조절 (Treg) 세포를 억제하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 치료적 유효량의 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 이를 필요로 하는 대상체는 암 또는 바이러스 감염과 같은 질환 또는 장애를 앓을 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명은 T 세포 활성의 CTLA-4-매개된

억제를 억제하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 유효량의 본 발명의 항체와 상기 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0049] 제5 양태에서, 본 발명은 본 발명의 항-CTLA-4항체 또는 항체의 항원-결합 부분을 사용하여 대상체에서 암 또는 바이러스 감염과 같은 질환 또는 장애를 치료하는 치료 방법을 제공하며, 상기 치료 방법은 치료적 유효량의, 본 발명의 항체 또는 항체의 단편을 포함하는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 치료되는 장애는 CTLA-4 활성 또는 신호전달의 자극 또는 억제에 의해 개선되거나, 억제되거나, 예방되는 임의의 질환 또는 병태이다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 제2 치료제와 조합하여 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 상기 제2 치료제는 다른 T 세포 공동-억제제에 대한 항체, 종양 세포 항원에 대한 항체, T 세포 수용체에 대한 항체, 바이러스 감염된 세포 상의 에피토프에 대한 항체, 세포독성제, 항암제, 항바이러스제, 항염증제 (예를 들어, 코르티코스테로이드), 화학요법제, 방사선요법, 수술, 면역억제제 및 당업계에 공지된 임의의 다른 약물 또는 요법으로 구성된 군으로부터 선택될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 제2 치료제는 이러한 부작용(들)이 일어나는 경우, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편과 관련된 임의의 가능한 부작용(들)을 상쇄시키거나 감소시키는 것을 돕는 제제일 수 있다.

[0050] 특정 구현예에서, 본 발명은 종양 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 대상체에서 원발성 종양 또는 전이성 종양으로 인한 종양 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 암에 걸린 대상체의 생존 (예를 들어, 무진행 생존 또는 전체 생존)을 향상시키는 방법을 제공한다. 암의 예는, 혈액암 (예를 들어, 혈액 악성 종양, 예를 들어 림프종, 골수종 또는 백혈병), 뇌암 (예를 들어, 다형성교아종), 폐암 (예를 들어, 진행성 또는 전이성 NSCLC를 포함한 비-소세포 폐암), 두경부 편평 세포 암종, 간세포 암종, 신장 세포 암종, 흑색종, 중피종, 난소암, 방광암, 유방암, 골암, 결장직장암, 신장암, 식도암, 간암, 위암, 췌장암, 피부암, 자궁경부암, 장암, 전립선암 및 결장암을 포함한 원발성 및/또는 재발성 암을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 특정 구현예에서, 본 발명은 확립된 종양의 성장을 억제하는 방법을 제공한다. 상기 방법은 치료적 유효량의 본 발명의 항-CTLA-4 항체를 포함하는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 프로그램된 사멸-1 (PD-1) 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체, 예를 들어 니볼루맙, 펌브롤리주맙 또는 REGN2810), 프로그램된 사멸-리간드 1 (PD-L1) 억제제 (예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어, 아테졸리주맙, 아발루맙 또는 두르발루맙), 혈관 내피 성장 인자 (VEGF) 길항제 (예를 들어, 애플리버셉트, 베바시주맙), 안지오프이오티-2 (Ang2) 억제제 (예를 들어 항-Ang2 항체, 예를 들어 네스바쿠맙), 림프구-활성화 유전자 3 (LAG3) 억제제, CD20xCD3 이중특이적 항체 (예를 들어, REGN1979), 세포독소, 화학요법제, 암 백신, 수술 및 방사선요법으로 구성된 군으로부터 선택된 제2 치료제와 조합하여 투여된다. 암 치료에 사용하기 위해 본 발명의 항-CTLA-4 항체와 조합하여 사용될 수 있는 추가 요법/치료제의 추가적인 예는 본원의 다른 곳에 기술되어 있다.

[0051] 상기 항체 또는 이의 단편은 피하, 정맥내, 피내, 복강내, 경구, 근육내 또는 두개내로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 단편은 상기 종양에 (종양 주위로 또는 종양 내로) 국소적으로 투여된다. 상기 항체 또는 이의 단편은 약 0.1 mg/대상체 체중 kg 내지 약 100 mg/대상체 체중 kg의 용량으로 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 이를 필요로 하는 대상체에게 약 50 mg 내지 약 1000 mg의 양으로 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 항체는 약 25 mg 내지 약 600 mg의 용량으로 투여된다. 일부 구현예에서, 상기 항체는 약 50 mg 내지 약 1200 mg의 용량으로 투여된다.

[0052] 본 발명은 또한, CTLA-4 결합 및/또는 신호전달의 차단으로부터 이익을 얻을 질환 또는 장애, 예를 들어 암을 치료하기 위한 약제의 제조에 있어서의 본 발명의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 용도를 포함한다.

[0053] 본 발명은 또한 (i) CTLA-4를 길항함으로써 치료할 수 있는 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)를 치료하기 위한 약제를 제조함에 있어서, 및/또는 (ii) CTLA-4를 길항함으로써 치료할 수 있는 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)를 치료함에 있어서의 상기 항체 및 항원-결합 단편, 또는 이를 포함하는 약학적 조성물의 용도를 추가로 포함한다.

[0054] 다른 양태에서, 본 발명은 비-소세포 폐암 (진행성 또는 전이성 NSCLC 포함)을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 항-CTLA-4 항체 및 항-PD-1 항체를 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체는 서열 번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR의 CDR 및 서열 번호 202의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR의 CDR을 포함한다. 일부 경우에서, 상기 항-CTLA-4 항체는 서열 번호 196-198-200-204-206-208로 구성된 군으로부터 각각 선택된 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3도메인을 포함한다. 일부 경우에서, 상기

항-CTLA-4 항체는 서열 번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 서열 번호 202의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함한다. 일부 경우에서, 상기 항-CTLA-4 항체는 인간 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구현예에서, 상기 항-PD-1 항체는 세미플리맵이다. 본 발명은 또한 암 (예를 들어, 진행성 또는 전이성 NSCLC를 포함한 비-소세포 폐암)을 치료하기 위한 약제 또는 약제들의 제조에서의 이러한 항체의 용도를 포함한다.

[0055] 다른 구현예들은 하기의 상세한 설명의 검토로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0056] 도 1은 실시예 7의 연구 (A)에 기술된 실험에 대해 종양 이식 후의 다수의 시점에서 각 치료군에서의 평균 종양 부피 ($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)를 나타낸다. 0일째에 $\text{CTLA-4}^{\text{hum/hum}}$ 녹인 마우스에 MC38.Ova 세포 (10^6 세포/마우스)를 피하 이식하고 4개의 치료군 (9 마우스/군)으로 분리하였다. 3일, 7일, 10일, 14일 및 17일째에 마우스에 10 mg/kg의, 3개의 주요 항-인간 CTLA-4 항체 (H1H19273P, 또는 H1H19303P, 또는 H1H19319) 중 하나, 또는 10 mg/kg의 hIgG1 이소타입 대조군을 복강내 (IP)투여하였다. 37일 동안 주 2회 캘리퍼 측정에 의해 종양 부피를 모니터링하였다. 치료 날짜를 화살표로 표시하였다.

도 2는 실시예 7의 연구 (A)에 기술된 실험에 대해 24일째의 개별 종양 부피를 나타낸다. 24일째는 모든 군의 모든 동물이 생존해 있었던 연구의 마지막 시점이었다. 통계학적 유의성을 일원 ANOVA 및 던넛 (Dunnett) 다중 비교 사후 검정에 의해 측정하였다 (**** $p < 0.0001$).

도 3은 실시예 7의 연구 (A)에 기술된 실험에 대해 카플란-마이어 (Kaplan-Meier) 생존 곡선을 나타낸다.

도 4는 실시예 7의 연구 (B)에 기술된 실험에 대해 종양 이식 후의 다수의 시점에서 각 치료군에서의 평균 종양 부피 ($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)를 나타낸다. 3일, 6일, 9일, 13일 및 16일째에 $\text{CTLA-4}^{\text{hum/hum}}$ 녹인 마우스에 항-CTLA-4 항체 H1H19303P 또는 hIgG1 이소타입 대조군을 복강내 투여하였다. 37일 동안 주 2회 캘리퍼 측정에 의해 종양 부피를 모니터링하였다. 치료 날짜를 화살표로 표시하였다.

도 5는 실시예 7의 연구 (B)에 기술된 실험에 대해 20일째의 개별 종양 부피를 나타낸다. 통계학적 유의성을 일원 ANOVA 및 던넛 (Dunnett) 다중 비교 사후 검정에 의해 측정하였다 (**** $p < 0.0001$).

도 6은 실시예 7의 연구 (B)에 기술된 실험에 대해 카플란-마이어 (Kaplan-Meier) 생존 곡선을 나타낸다.

도 7은 실시예 7의 연구 (B)에 기술된 바와 같은, 혈청 중 총 H1H19303P 및 hIgG1 이소타입 대조군 항체의 농도를 나타낸다.

도 8은 실시예 7의 연구 (B)에 기술된 바와 같은, H1H19303P (■) 또는 이소타입 대조군 (●)에 대한 마우스 항-인간 항체 (MAHA)의 농도를 나타낸다.

도 9는 실시예 8에 기술된 실험에 대해 종양 이식 후의 다수의 시점에서 각 치료군에서의 평균 종양 부피 ($\text{mm}^3 \pm \text{SEM}$)를 나타낸다. 치료 날짜를 화살표로 표시하였다.

도 10은 실시예 8에 기술된 바와 같은, 치료 개시 후 10일째의 개별 종양 부피를 나타낸다.

도 11은 실시예 8에 기술된 실험에 대한 카플란-마이어 (Kaplan-Meier) 생존 곡선을 나타낸다.

도 12 및 도 13은 H1H19303P (REGN4659로도 알려짐)가 $\text{CTLA-4}^{\text{hum/hum}}$ 마우스에서 확립된 종양의 성장을 지연시킨다는 것을 나타낸다. 마우스의 옆구리에 Mc38.Ova 세포 (5×10^5 세포/마우스)를 피하 이식하고, 종양 부피가 100 mm^3 에 도달한 10일째에 치료군들로 무작위화하고, 10일, 13일, 17일째에 REGN4659 (25 mg/kg, 10 mg/kg, $n=10$) 또는 이소타입 대조군 Ab (25 mg/kg, $n=10$)를 투여하고, 27일째까지 종양 부피를 모니터링하였다. 도 12는 각 치료군에서의 평균 종양 성장 곡선을 나타낸다. 도 13은 연구의 모든 동물이 생존해 있었던 마지막 시점인 21일째에 측정된, 각 치료군에서의 개별 종양 부피를 나타낸다.

도 14는 hIgG1 대조군 항체로 치료된 종양 보유 $\text{CTLA-4}^{\text{hum/hum}}$ 마우스의 종양내 및 비장 Treg 및 T 효과기 세포 상에서의 총 (표면 및 세포내) 인간 CTLA-4 발현의 평균 형광 강도 (MFI)를 나타낸다. 비장 CD8^+ 및 CD4^+ 효과기 세포 상에서의 CTLA-4의 발현은 이소타입 대조군 염색 (MFI=0)과 구별할 수 없었으며 도시되지 않았다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0057] 본 발명을 설명하기 전에, 본 발명은 특정 방법 및 기술된 실험 조건으로 제한되지 않으며, 이러한 방법 및 조건은 변할 수 있다는 것이 이해되어야 한다. 또한 본 발명의 범위는 첨부되는 청구범위에 의해서만 제한될 것이기 때문에, 본원에 사용된 용어는 단지 특정 구현예를 설명하는 목적을 위한 것이며, 제한하려는 의도는 아니라는 것이 이해되어야 한다.
- [0058] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야의 당업자가 일반적으로 이해하고 있는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본원에 기술된 것들과 유사하거나 동등한 임의의 방법 및 물질이 본 발명의 실행 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 물질은 이제 설명된다. 본원에 언급된 모든 공개문헌은 그 전체 내용이 원용에 의해 본원에 포함된다.
- [0059] 용어 "CTLA-4"는 면역 체크포인트 수용체 또는 T 세포 공동-억제제인 세포독성 T-림프구-관련 단백질 4를 지칭하며, CD152로도 알려져 있다. 전장 인간 CTLA-4의 아미노산 서열은 서열 번호 505 (수탁 번호 NP_005205.2)로서 제공된다. 용어 "CTLA-4"는 재조합 CTLA-4 또는 이의 단편을 포함한다. 상기 용어는 또한, 예를 들어 히스티딘 태그, 마우스 또는 인간 Fc, 신호 서열, 또는 CD300a의 막관통 및 세포질 도메인 (aa 181-299; 수탁 번호 NP_009192.2)에 커플링된 CTLA-4 또는 이의 단편을 포괄한다. 예를 들어, 상기 용어는 실시예에서 논의된 서열들, 예를 들어, 전장 CTLA-4의 C-말단에 myc-myc- 폴리히스티딘 태그를 포함하거나, 전장 CTLA-4의 C-말단에 마우스 Fc (mIgG2a)를 포함하는 서열을 포함한다. 비인간 종으로 명시되지 않는 한, 용어 "CTLA-4"는 인간 CTLA-4를 의미한다.
- [0060] CTLA-4는 면역글로불린 (Ig) 슈퍼패밀리의 구성원이며, CD28의 상동체이지만, 리간드 CD80 및 CD86에 대한 결합 친화도가 더 크다. CTLA-4는 활성화된 T 세포 및 조절 T 세포 상에서 발현되는 V 도메인, 막관통 도메인, 및 세포질 꼬리를 함유하는 223-아미노산 유형 I 막관통 단백질이다. CTLA-4 수용체는 항원 제시 세포 (APC) 상에 존재하는 B7-1/CD80 및 B7-2/CD86 리간드에 결합한다.
- [0061] 본원에서, 용어 "T 세포 공동-억제제"는 T 세포 활성화 또는 억제를 통해 면역 반응을 조절하는 리간드 및/또는 수용체를 지칭한다. T 세포 공동-신호전달 분자로도 알려진 용어 "T 세포 공동-억제제"는 프로그램된 사멸-1 (PD-1), 림프구-활성화 유전자 3 (LAG3), B 및 T 림프구 감쇠기 (BTLA), CD-28, 2B4, LY108, T 세포 면역글로불린 및 뮤신 3 (TIM3), 면역글로불린 및 ITIM을 갖는 T 세포 면역수용체 (TIGIT; VSIG9로도 알려짐), 백혈구 관련 면역글로불린-유사 수용체 1 (LAIR1; CD305로도 알려짐), 유도성 T 세포 공동자극자 (ICOS; CD278로도 알려짐), T 세포 활성화의 V-도메인 Ig 억제제 (VISTA) 및 CD160을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.
- [0062] 본원에서, 용어 "항체"는 이항화 결합에 의해 상호-연결된 4개의 폴리펩티드 사슬, 즉 2개의 중쇄 (H) 및 2개의 경쇄 (L)로 구성된 면역글로불린 분자 (즉, "완전 항체 분자"), 뿐만 아니라 이의 다량체 (예를 들어 IgM) 또는 이의 항원-결합 단편을 지칭하도록 의도된다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 ("HCVR" 또는 " V_H ") 및 중쇄 불변 영역 (C_H1 , C_H2 및 C_H3 도메인으로 구성됨)으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 ("LCVR 또는 " V_L ") 및 경쇄 불변 영역 (C_L)으로 구성된다. V_H 및 V_L 영역은, 프레임워크 영역(FR)이라고 명명되는 보다 보존된 영역이 개재된, 상보성 결정 영역 (CDR)이라고 명명되는 추가변 영역으로 더 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L 은 아미노-말단부터 카르복시-말단까지 하기의 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 본 발명의 특정 구현예에서, 상기 항체 (또는 이의 항원-결합 단편)의 FR은 인간 생식계열 서열과 동일할 수 있거나, 또는 자연적으로 또는 인위적으로 변형될 수 있다. 아미노산 공통 서열은 2개 이상의 CDR의 병렬 분석을 기초로 정의될 수 있다.
- [0063] 하나 이상의 CDR 잔기의 치환 또는 하나 이상의 CDR의 생략이 또한 가능하다. 하나 또는 2개의 CDR이 결합에 생략될 수 있는 항체가 과학 문헌에 기술되어 있다. Padlan 등 (1995 FASEB J. 9:133-139)은 공개된 결정 구조에 기초하여 항체와 이의 항원 사이의 접촉 영역을 분석하였고, CDR 잔기의 약 1/5 내지 1/3만이 실제로 항원과 접촉하는 것으로 결론지었다. Padlan은 또한 하나 또는 2개의 CDR이 항원과 접촉하고 있는 아미노산을 갖지 않는 다수의 항체를 발견하였다 (문헌 [Vajdos *et al.* 2002 J Mol Biol 320:415-428] 참조).
- [0064] 항원과 접촉하지 않는 CDR 잔기는 이전의 연구 (예를 들어 CDRH2 내의 잔기 H60-H65는 종종 요구되지 않음)에 기초하여, 초티아 CDR 외부에 있는 카뎃 CDR의 영역으로부터, 분자 모델링에 의해 및/또는 경험적으로 식별될 수 있다. CDR 또는 이의 잔기(들)가 생략되는 경우, 이는 보통, 다른 인간 항체 서열 또는 이러한 서열의 공통 서열에서 상응하는 위치를 차지하는 아미노산으로 치환된다. CDR 내의 치환의 위치 및 치환될 아미노산은 경험적으로 선택될 수 있다. 경험적인 치환은 보존적 또는 비보존적 치환일 수 있다.

- [0065] 본원에 개시된 완전 인간 항-CTLA-4 단일클론 항체는, 상응하는 생식계열 서열과 비교하여, 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수 있다. 이러한 돌연변이는, 본원에 개시된 아미노산 서열을 예를 들어, 공개된 항체 서열 데이터베이스로부터 입수가 가능한 생식계열 서열과 비교함으로써 용이하게 확인될 수 있다. 본 발명은 본원에 개시된 아미노산 서열 중 임의의 것으로부터 유래된 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함하고, 여기서, 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은, 상기 항체가 유래된 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 다른 인간 생식계열 서열의 상응하는 잔기(들)로, 또는 상응하는 생식계열 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이된다 (이러한 서열 변화는 본원에서 종합적으로 "생식계열 돌연변이"로 지칭됨). 당업자는 본원에 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열로 시작하여, 하나 이상의 개별적인 생식계열 돌연변이 또는 이의 조합을 포함하는 수많은 항체 및 항원-결합 단편을 용이하게 생산할 수 있다. 특정 구현예에서, V_H 및/또는 V_L 도메인 내의 모든 프레임워크 및/또는 CDR 잔기는, 상기 항체가 유래된 원래의 생식계열 서열에서 발견되는 잔기로 역돌연변이된다. 다른 구현예에서, 단지 특정 잔기, 예를 들어 FR1의 처음 8개 아미노산 내에서 또는 FR4의 마지막 8개 아미노산 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3 내에서 발견되는 돌연변이된 잔기만이 원래의 생식계열 서열로 역돌연변이된다. 다른 구현예에서, 프레임워크 및/또는 CDR 잔기(들) 중 하나 이상은 상이한 생식계열 서열 (즉, 상기 항체가 원래 유래된 생식계열 서열과 상이한 생식계열 서열)의 상응하는 잔기(들)로 돌연변이된다. 또한, 본 발명의 항체는 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내에서 2개 이상의 생식계열 돌연변이의 임의의 조합을 함유할 수 있고, 예를 들어, 특정 개별적 잔기는 특정 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이되는 반면, 원래의 생식계열 서열과 상이한 특정한 다른 잔기는 유지되거나 상이한 생식계열 서열의 상응하는 잔기로 돌연변이된다. 하나 이상의 생식계열 돌연변이를 함유하는 항체 및 항원-결합 단편은, 일단 수득되면, 하나 이상의 목적하는 특성, 예를 들어 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 개선되거나 향상된 길항성 또는 작용성 생물학적 특성 (경우에 따라), 감소된 면역원성 등에 대해 용이하게 시험될 수 있다. 이러한 일반적인 방식으로 수득된 항체 및 항원-결합 단편은 본 발명 내에 포괄된다.
- [0066] 본 발명은 또한 하나 이상의 보존적 치환을 갖는 본원에 개시된 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 임의의 것의 변이체를 포함하는 완전 인간 항-CTLA-4 단일클론 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 본원에 개시된 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 임의의 것에 비해 예를 들어 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하 또는 4개 이하 등의 보존적 아미노산 치환을 갖는 HCVR, LCVR 및/또는 CDR 아미노산 서열을 갖는 항-CTLA-4 항체를 포함한다.
- [0067] 본원에서, 용어 "인간 항체" 및 "완전 인간 항체"는 인간 생식계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 갖는 항체를 포함하도록 의도된다. 본 발명의 인간 mAb는 인간 생식계열 면역글로불린 서열에 의해 인코딩되지 않은 아미노산 잔기 (예를 들어 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이 생성 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를, 예를 들어 CDR, 특히 CDR3에 포함할 수 있다. 그러나, 본원에서 용어 "인간 항체" 및 "완전 인간 항체"는 다른 포유동물 중 (예를 들어 마우스)의 생식계열에서 유래된 CDR 서열이 인간 FR 서열 상에 이식된 mAb를 포함하도록 의도되지 않는다. 상기 용어는 비인간 포유동물에서 또는 비인간 포유동물의 세포에서 재조합적으로 생산된 항체를 포함한다. 상기 용어는 인간 대상체로부터 단리되거나 생성된 항체를 포함하도록 의도되지 않는다.
- [0068] 본원에서, 용어 "재조합"은, 예를 들어 DNA 스플라이싱 (splicing) 및 트랜스제닉 (transgenic) 발현을 포함한 당업계에서 재조합 DNA 기술로 공지된 기술 또는 방법에 의해 생성되거나, 발현되거나, 단리되거나 수득된 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편을 지칭한다. 상기 용어는 비인간 포유동물 (트랜스제닉 비인간 포유동물, 예를 들어 트랜스제닉 마우스 포함) 또는 세포 (예를 들어, CHO 세포) 발현 시스템에서 발현되거나 재조합 복합 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체를 지칭한다.
- [0069] 본원에서, 용어 "다중특이적 항원-결합 분자"는 이중특이적, 삼중특이적 또는 다중특이적 항원-결합 분자, 및 이의 항원-결합 단편을 지칭한다. 다중특이적 항원-결합 분자는 하나의 표적 폴리펩티드의 상이한 에피토프들에 특이적일 수 있거나, 또는 하나 초과 표적 폴리펩티드의 에피토프들에 대해 특이적인 항원-결합 도메인들을 함유할 수 있다. 다중특이적 항원-결합 분자는 단일 다기능성 폴리펩티드일 수 있거나, 또는 서로 공유 결합으로 또는 비공유 결합으로 결합된 2개 이상의 폴리펩티드의 다량체 복합체일 수 있다. 용어 "다중특이적 항원-결합 분자"는 다른 기능성 분자, 예를 들어, 다른 펩티드 또는 단백질에 결합되거나 이와 공동 발현될 수 있는 본 발명의 항체를 포함한다. 예를 들어, 항체 또는 이의 단편은 제2 결합 특이성을 갖는 이중특이적 또는 다중특이적 항원-결합 분자를 생산하도록 하나 이상의 다른 분자 개체, 예를 들어, 단백질 또는 이의 단편에 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유 결합 등에 의해) 기능적으로 결합될 수 있다. 본 발명에 따르면, 용

어 "다중특이적 항원-결합 분자"는 또한 이중특이적, 삼중특이적 또는 다중특이적 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 제2 결합 특이성을 갖는 이중특이적 항체를 생산하도록 다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편에 기능적으로 결합된다. 본 발명의 이중특이적 및 다중특이적 항체는 본원의 다른 곳에 기술되어 있다.

[0070] 용어 "특이적으로 결합한다" 또는 "~에 특이적으로 결합한다" 등은 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 생리학적 조건 하에서 비교적 안정한, 항원과 결합체를 형성하는 것을 의미한다. 특이적 결합은 적어도 약 1×10^{-8} M 이하의 평형 해리 상수를 특징으로 할 수 있다 (예를 들어, K_D 가 작을수록 더 단단한 결합을 나타냄). 2개의 분자가 특이적으로 결합하는지 여부를 측정하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있으며, 예를 들어 평형 투석, 표면 플라즈몬 공명 등을 포함한다. 본원에 기술된 바와 같이, CTLA-4에 특이적으로 결합하는 항체는 표면 플라즈몬 공명, 예를 들어 BIACORE™에 의해 식별되어 왔다. 또한, CTLA-4의 하나의 도메인 및 하나 이상의 추가 항원에 결합하는 다중특이적 항체 및 CTLA-4의 2개의 상이한 영역에 결합하는 이중특이적 항체는, 그럼에도 불구하고, 본원에서 사용된 "특이적으로 결합하는" 항체로 간주된다.

[0071] 용어 "고친화도" 항체는 표면 플라즈몬 공명, 예를 들어 BIACORE™ 또는 용액-친화도 ELISA에 의해 측정하였을 때, 적어도 10^{-8} M; 바람직하게는 10^{-9} M; 보다 바람직하게는 10^{-10} M, 보다 더 바람직하게는 10^{-11} M, 보다 더 바람직하게는 10^{-12} M의 K_D 로 표시되는 CTLA-4에 대한 결합 친화도를 갖는 mAb를 지칭한다.

[0072] 용어 "슬로우 오프 속도 (slow off rate)", "Koff" 또는 "kd"는, 표면 플라즈몬 공명, 예를 들어 BIACORE™에 의해 측정하였을 때, $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이하, 바람직하게는 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 이하의 속도 상수로 CTLA-4로부터 해리되는 항체를 의미한다.

[0073] 본원에서, 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편" 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 천연적으로 발생하거나, 효소적으로 수득 가능하거나, 합성적이거나, 유전적으로 조작된 임의의 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함한다. 본원에서, 용어 항체의 "항원-결합 단편" 또는 "항체 단편"은 CTLA-4에 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다.

[0074] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 리간드와 같은 모이어티, 또는 치료적 모이어티 ("면역접합체"), 예를 들어, 세포 독소, 제2 항-CTLA-4 항체, 종양-특이적 항원에 대한 항체, 항암제, 또는 암, 또는 만성 바이러스 감염을 포함한 바이러스 감염을 포함하는 질환 또는 병태를 치료하는데 유용한 임의의 다른 치료적 모이어티에 접합될 수 있다.

[0075] 본원에서, "단리된 항체"는 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체 (Ab)가 실질적으로 없는 항체를 지칭하도록 의도된다 (예를 들어, CTLA-4와 특이적으로 결합하는 단리된 항체, 또는 이의 단편은 CTLA-4 이외의 항원과 특이적으로 결합하는 Ab가 실질적으로 없다).

[0076] 본원에서, "차단 항체" 또는 "중화 항체" (또는 "CTLA-4 활성을 중화하는 항체" 또는 "길항제 항체")는 CTLA-4에 대한 그의 결합이 CTLA-4의 적어도 하나의 생물학적 활성의 억제를 초래하는 항체를 지칭하도록 의도된다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 CD80 및/또는 CD86에 대한 CTLA-4 결합을 예방하거나 차단할 수 있다.

[0077] 본원에서, "활성화 항체" 또는 "증진 항체" (또는 "작용제 항체")는 CTLA-4에 대한 그의 결합이 CTLA-4의 적어도 하나의 생물학적 활성의 증가나 자극을 초래하는 항체를 지칭하는 것으로 의도된다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 리간드 결합 (예를 들어, CD80 또는 CD86)과 일치하는 방식으로 CTLA-4에 결합함으로써 CTLA-4 활성을 증가시켜 CTLA-4 세포내 신호전달을 초래할 수 있다.

[0078] 본원에서, 용어 "표면 플라즈몬 공명"은, 예를 들어, BIACORE™ 시스템 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)을 사용하여 바이오센서 매트릭스 내의 단백질 농도의 변화를 검출하여 실시간 생체분자 상호작용의 분석을 가능하게 하는 광학 현상을 지칭한다.

[0079] 본원에서, 용어 " K_D "는 특정 항체-항원 상호작용의 평형 해리 상수를 지칭하도록 의도된다.

[0080] 용어 "에피토프"는, 파라토프 (paratope)로도 알려진 항체 분자의 가변 영역 내의 특이적인 항원 결합 부위와 상호작용하는 항원 결정기를 지칭한다. 단일 항원은 1개 초과에 에피토프를 가질 수 있다. 따라서, 상이한 항체들이 하나의 항원 상의 상이한 영역들에 결합할 수 있고, 상이한 생물학적 효과들을 가질 수 있다. 용어 "에피토프"는 또한 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원 상의 부위를 지칭한다. 에피토프는 또한 항체가 결합한 항원의

영역을 지칭한다. 에피토프는 구조적 또는 기능적인 것으로서 정의될 수 있다. 기능적 에피토프는 일반적으로 구조적 에피토프의 서브세트이며, 상호작용의 친화도에 직접적으로 기여하는 잔기를 갖는다. 에피토프는 또한 입체구조일 수 있고, 즉 비선형 아미노산으로 구성된다. 특정 구현예에서, 에피토프는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴기 또는 설폰닐기와 같은 분자의 화학적 활성 표면기인 결정기를 포함할 수 있고, 특정 구현예에서, 특이적인 3차원 구조적 특징 및/또는 특이적인 전하 특징을 가질 수 있다.

[0081] 본원에서, 용어 "교차-경쟁하다"는 항원 또는 이의 항원-결합 단편이 항원에 결합하고, 다른 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 결합을 억제하거나 차단하는 것을 의미한다. 이 용어는 또한, 두 방향 모두로의 2개의 항체들 간의 경쟁을 포함하며, 즉, 제1 항체는 결합하고 제2항체의 결합을 차단하며, 그 반대도 마찬가지이다. 특정 구현예에서, 제1 항체 및 제2 항체는 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 대안적으로, 제1 항체 및 제2 항체는, 하나의 항체의 결합이 예를 들어 입체적 방해로 인해 제2 항체의 결합을 억제하거나 차단하도록, 상이하지만 중첩하는 에피토프에 결합할 수 있다. 항체 간의 교차-경쟁은 당업계에서 공지된 방법, 예를 들어 실시간 무표지 생체층 간섭굴절측정법(interferometry) 분석에 의해 측정될 수 있다. 2개의 항체 간의 교차-경쟁은 자가-자가 결합으로 인해 배경 신호보다 더 적은 제2 항체의 결합으로 표현될 수 있다 (여기서 제1 및 제2 항체는 동일한 항체임). 2개의 항체 간의 교차-경쟁은 예를 들어, 기준지 자가-자가 배경 결합보다 더 적은 제2 항체의 결합 %로 표현될 수 있다 (여기서 제1 및 제2 항체는 동일한 항체임).

[0082] 핵산 또는 이의 단편을 지칭할 때, 용어 "실질적인 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은, 적절한 뉴클레오타이드 삽입 또는 결실을 동반하여 다른 핵산 (또는 이의 상보적 가닥)과 최적으로 정렬될 때, 하기에 논의된 바와 같이, 임의의 널리 공지된 서열 동일성 알고리즘에 의해 측정하였을 때, 뉴클레오타이드 염기의 적어도 약 90%, 보다 바람직하게는 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%에서 뉴클레오타이드 서열 동일성이 존재함을 가리킨다. 기준 핵산 분자와 실질적인 동일성을 갖는 핵산 분자는, 특정 경우에서, 기준 핵산 분자에 의해 인코딩되는 폴리펩티드와 동일하거나 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 갖는 폴리펩티드를 인코딩할 수 있다.

[0083] 서열 동일성은 알고리즘, 예를 들어, 전반적 정렬에 대해서는 Needleman Wunsch 알고리즘 (문헌 [Needleman and Wunsch 1970, J. Mol. Biol. 48: 443-453]), 또는 국소적 정렬에 대해서는 Smith Waterman 알고리즘 (문헌 [Smith and Waterman 1981, J. Mol. Biol. 147: 195-197])을 사용하여 계산될 수 있다. 다른 바람직한 알고리즘은 문헌 [Dufresne et al in Nature Biotechnology in 2002 (vol. 20, pp. 1269-71)]에 의해 기술되어 있으며, 소프트웨어 GenePAST (GQ Life Sciences, Inc. Boston, MA)에서 사용된다.

[0084] 폴리펩티드에 적용된 용어 "실질적인 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"은, 2개의 펩티드 서열이, 예를 들어 디폴트 갭 중량을 사용하여 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해 최적으로 정렬될 때, 적어도 90% 서열 동일성, 더욱 바람직하게는 적어도 95%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 공유한다는 것을 의미한다. 바람직하게는, 동일하지 않은 잔기 위치는 보존적 아미노산 치환만큼 상이하다. "보존적 아미노산 치환"은, 아미노산 잔기가 유사한 화학적 특성 (예를 들어, 전하 또는 소수성)을 갖는 측쇄 (R기)를 갖는 다른 아미노산 잔기로 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 특성을 실질적으로 변화시키지 않는다. 2개 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환만큼 상이한 경우, 유사성의 백분율 또는 정도는 치환의 보존적 성질을 보정하기 위해 상향 조정될 수 있다. 이러한 조정을 수행하기 위한 수단은 당업자에게 널리 공지되어 있다. 예를 들어, 원용에 의해 본원에 포함된 문헌 [Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331]을 참조한다. 유사한 화학적 특성을 갖는 측쇄를 갖는 아미노산 군의 예는 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; 2) 지방족-히드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미드-포함 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 라이신, 아르기닌 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파테이트 및 글루타메이트, 및 7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 바람직한 보존적 아미노산 치환 군은 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 라이신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파테이트 및 아스파라긴-글루타민이다. 대안적으로, 보존적 치환은 원용에 의해 본원에 포함된 문헌 [Gonnet et al. (1992) Science 256: 1443, 45]에 개시된 PAM250 로그-유사 행렬에서 양의 값을 갖는 임의의 변화이다. "적당한 보존적" 치환은 PAM250 로그-유사 행렬에서 음이 아닌 값을 갖는 임의의 변화이다.

[0085] 폴리펩티드에 대한 서열 유사성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 보존적 아미노산 치환을 포함한 다양한 치환, 결실 및 다른 변형에 할당된 유사성 측정값을 사용하여 유사한 서열을 매칭시킨다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는, 디폴트 매개변수를 사용하여 상이한 유기체 종의 상동성 폴리펩티드와 같이 밀접하게 연관된 폴리펩티드들 간의 서열 상동성 또는 서열 동일성, 또는 야생형 단백질 및 이의 돌연변이 단백질 간의 서열 상동성 또는 서열 동일성을 측정하는데 사용될 수 있는, GAP 및 BESTFIT과 같은 프로그램을 포함한다. 예를 들어, GCG Version 6.1을 참조한다. 폴리펩티드 서열은 또한, 디폴트 또는 권

장된 매개변수를 사용하는, GCG 버전 6.1의 프로그램인 FASTA를 사용하여 비교될 수 있다. FASTA (예를 들어, FASTA2 및 FASTA3)는 쿼리 및 서치 서열 (상기 Pearson, 2000) 사이의 최적의 중첩 영역의 정렬 및 서열 동일성 백분율을 제공한다. 상이한 유기체로부터의 매우 많은 서열을 포함하는 데이터베이스와 본 발명의 서열을 비교할 때 또 다른 바람직한 알고리즘은 디폴트 매개변수를 사용하는 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예를 들어, 각각 원용에 의해 본원에 포함된 문헌 [Altschul *et al.* (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 and (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-3402]을 참조한다.

[0086] 어구 "치료적 유효량"은 투여되는 대상체에 대해 목적하는 효과를 나타내는 양을 의미한다. 정확한 양은 치료의 목적에 따라 달라지며, 당업자에 의해 공지된 기술을 사용하여 확인될 수 있을 것이다 (예를 들어, 문헌 [Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding] 참조).

[0087] 본원에서, 용어 "대상체"는 바이러스 감염, 또는 암과 같은 질환 또는 장애의 개선, 예방 및/또는 치료를 필요로 하는 동물, 바람직하게는 포유동물을 지칭한다. 상기 용어는 암, 전이성 암 또는 바이러스 감염에 걸렸거나 걸릴 위험이 있는 인간 대상체를 포함한다.

[0088] 본원에서, "항암제"는 세포 독소 및 제제, 예를 들어 항대사제, 알킬화제, 안트라사이클린, 항생제, 유사분열 억제제, 프로카르바진, 히드록시우레아, 아스파라기나제, 코르티코스테로이드, 사이클로포스파미드, 미토탄 (O,P'-DDD), 생물학적 제제 (예를 들어, 항체 및 인터페론) 및 방사능제를 포함하나 이에 제한되지 않는, 암을 치료 또는 개선 또는 억제하는데 유용한 임의의 제제를 의미한다. 본원에서, "세포 독소 또는 세포독성제"는 또한 화학요법제를 지칭하며 세포에 해로운 임의의 제제를 의미한다. 그 예는 Taxol® (파클리탁셀), 테모졸라미드, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티옴 브로마이드, 에메틴, 시스플라틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빈크리스틴, 빈비아스틴, 코이치신, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 액티노마이신 D, 1-데하이드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 및 퓨로마이신 및 이의 유사체 또는 상동체를 포함한다.

[0089] 본원에서, 용어 "항바이러스제"는 숙주 대상체에서 바이러스 감염을 치료하거나, 예방하거나, 또는 개선하는데 사용되는 임의의 약물 또는 요법을 지칭한다. 용어 "항바이러스제"는 지도부딘, 라미부딘, 아바카비르, 리바비린, 로피나비르, 에파비렌즈, 코비시스타트, 테노포비르, 릴피비린, 진통제 및 코르티코스테로이드를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 맥락에서, 바이러스 감염은 바이러스에 의해 유발된 장기간 또는 만성 감염을 포함하며, 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV), B형 간염 바이러스 (HBV), C형 간염 바이러스 (HCV), 인간 유두종 바이러스 (HPV), 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV), 및 원숭이 면역 결핍 바이러스 (SIV)을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0090] 본원에서, 용어 "면역 반응을 향상시키는 것"은 종양 세포 또는 바이러스 감염된 세포에 대한 면역 세포, 예를 들어 T 세포 또는 NK 세포의 활성을 증가시키는 것을 지칭한다. 본 발명의 맥락에서, 상기 용어는 T 세포 활성화의 CTLA-4-매개된 억제의 차단, 또는 T 세포의 기능 상실된 상태의 구제 또는 반전을 포함한다. 이는 또한 조절 T 세포 활성화의 억제를 포함한다. 본 발명의 맥락에서, 향상된 면역 반응은 종양 세포의 살상 증가 및/또는 종양 성장의 억제를 초래한다.

[0091] 본 발명의 항체 및 항원-결합 단편은 CTLA-4에 특이적으로 결합하여 T 세포 활성화를 향상시킨다. 상기 항-CTLA-4 항체는 고친화도 또는 저친화도로 CTLA-4에 결합할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 CTLA-4에 결합하여 CTLA-4 신호전달을 억제할 수 있는 차단 항체일 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체는 CD80 및/또는 CD86에 대한 CTLA-4의 결합을 차단하고/거나 T 세포 활성화를 자극하거나 향상시킨다. 일부 구현예에서, 상기 항체는 CTLA-4에 결합하여 기능 상실된 T 세포의 아네르기 상태를 반전시킨다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 CTLA-4에 결합하여 조절 T 세포 활성을 억제한다. 일부 구현예에서, 상기 항체는 면역 반응을 자극하거나 향상시키고/거나 암, 또는 바이러스 감염을 앓고 있는 대상체를 치료하는데 유용할 수 있다. 상기 항체는, 이를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 경우, 상기 대상체에서 바이러스, 예를 들어 HIV, LCMV 또는 HBV에 의한 만성 감염을 감소시킬 수 있다. 이들은 대상체에서 종양 세포의 성장을 억제하는데 사용될 수 있다. 이들은 단독으로 또는 보조 요법으로서 암, 또는 바이러스 감염을 치료하기 위한 당업계에 공지된 다른 치료적 모이어티 또는 양식과 함께 사용될 수 있다.

[0092] 특정 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체는, CTLA-4에 대한 제1 결합 특이성, 및 다른 T 세포 공동-억제제로 구성된 군으로부터 선택된 항원 및 CTLA-4의 상이한 에피토프에 대한 제2 결합 특이성을 포함하는, 다중특이적 항원-결합 분자일 수 있다.

- [0093] 다음 중 어느 하나를 포함하는 면역원이 CTLA-4에 대한 항체를 생성하는데 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 전장 천연 발생 CTLA-4 (NCBI 수탁 번호 NP_005205.2 참조) (서열 번호 505), 또는 제조합 CTLA-4 펩티드로 면역화된 마우스로부터 수득된다. 대안적으로, CTLA-4 또는 이의 단편은 표준 생화학 기술을 사용하여 생산되고, 면역원으로 사용될 수 있다.
- [0094] 특정 구현예에서, 상기 면역원은 CTLA-4의 세포외 도메인이다. 본 발명의 일 구현예에서, 상기 면역원은 CTLA-4의 세포외 도메인의 단편이다.
- [0095] 일부 구현예에서, 상기 면역원은 대장균 또는 임의의 다른 진핵생물 또는 포유동물 세포, 예를 들어 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포에서 발현되는 제조합 CTLA-4 펩티드일 수 있다.
- [0096] 특정 구현예에서, CTLA-4에 특이적으로 결합하는 항체는 상기 언급된 영역의 단편, 또는 지정된 영역을 지나 본원에 기술된 영역의 N 또는 C 말단 단부 중 하나, 또는 둘 다로부터 약 5개 내지 약 20개 아미노산 잔기만큼 연장된 펩티드를 사용하여 제조될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 언급된 영역 또는 이의 단편의 임의의 조합은 CTLA-4 특이적 항체의 제조에 사용될 수 있다.
- [0097] 펩티드는 태그화를 위해 또는 담체 분자, 예를 들어, KLH와의 접합을 위해 특정 잔기의 추가 또는 치환을 포함하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 시스테인이 펩티드의 N 말단 또는 C 말단 단부에 추가될 수 있거나, 또는 링커 서열이 예를 들어, 면역화를 위한 KLH와의 접합을 위한 펩티드를 제조하는데 사용될 수 있다.
- [0098] 본 발명의 특정 항-CTLA-4 항체는 시험관내 또는 생체내 분석에 의해 측정하였을 때, CTLA-4에 결합하여 CTLA-4의 활성을 중화시킬 수 있다. 본 발명의 항체가 CTLA-4에 결합하여 CTLA-4의 활성을 중화시키는 능력은 본원에 기술된 바와 같이, 결합 분석, 또는 활성 분석을 포함한 당업자에게 공지된 임의의 표준 방법을 사용하여 측정될 수 있다.
- [0099] 결합 활성을 측정하기 위한 비제한적, 예시적인 시험관내 분석은 본원에서 실시예에 예시된다. 실시예 3에서, 인간 및 원숭이 CTLA-4에 대한 인간 항-CTLA-4 항체의 결합 친화도 및 동역학적 상수는 표면 플라즈몬 공명 또는 MASS-1에 의해 측정되었다. 실시예 4에서, 경쟁 샌드위치 ELISA를 사용하여, 항-CTLA-4 항체가 그의 천연 리간드인 B7-1 및 B7-2에 대한 CTLA-4 단백질 결합을 차단하는 능력을 평가하였다. 실시예 5는 CTLA-4를 발현하는 세포에 대한 상기 항-CTLA-4 항체의 결합을 기술한다. 실시예 6에서, 루시퍼라제 분석 및 IL-2 방출 분석을 사용하여, 항-CTLA-4 항체가 T 세포를 활성화시키고 IL-2 방출을 억제하는 능력을 측정하였다.
- [0100] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 암에 걸린 대상체 또는 LCMV와 같은 바이러스로 감염된 대상체에서, 시험관내에서 T 세포 활성을 향상시키거나 자극할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는, 대상체에서 면역 반응을 향상시키고 종양 성장을 억제하기 위해, 제2 치료제, 예를 들어 제2 T 세포 공동-억제제에 대한 항체와 조합하여 사용된다.
- [0101] CTLA-4에 특이적인 항체는 추가 표지 또는 모이어티를 함유하지 않을 수 있거나, 또는 표지 또는 모이어티, 예를 들어 N-말단 또는 C-말단 표지 또는 모이어티를 함유할 수 있다. 일 구현예에서, 상기 표지 또는 모이어티는 비오틴이다. 결합 분석에서, 표지 (존재하는 경우)의 위치는 펩티드가 결합되는 표면에 대비한 펩티드의 배향을 결정할 수 있다. 예를 들어, 표면이 아비딘으로 코팅되는 경우, N-말단 비오틴을 함유하는 펩티드는 상기 펩티드의 C-말단 부분이 표면에서 멀어지도록 배향된다. 일 구현예에서, 상기 표지는 방사성 핵종, 형광성 염료 또는 MRI-검출가능한 표지일 수 있다. 특정 구현예에서, 이러한 표지된 항체는 영상 분석을 포함한 진단 분석에 사용될 수 있다.
- [0102] **본 발명의 예시적 구현예**
- [0103] 일 양태에서, 본 발명은 인간 세포독성 T-림프구-관련 단백질 4 (CTLA-4)에 결합하여 hCTLA-4와 리간드 B7-1 및 B7-2 사이의 상호 작용을 차단하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다.
- [0104] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 T-세포 활성화를 유도할 수 있다. 일부 경우에서, 상기 T-세포는 세포독성 T-세포이다. 일부 경우에서, 상기 T-세포는 종양 침윤 림프구이다.
- [0105] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 원숭이 CTLA-4에 결합한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 0.5 nM 미만의 EC50으로 원숭이 CTLA-4 발현 세포에 결합한다.
- [0106] 다양한 구현예에서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 5 nM 미만, 1 nM 미만, 또는 0.5 nM 미만의 EC50으로 hCTLA-4 발현 세포에 결합한다.

- [0107] 다양한 구현예에서, 상기 항체 또는 항원-결합 단편은 완전 인간 항체이다.
- [0108] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 CTLA-4와의 결합에 대해 서열 번호 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/298, 314/322, 330/338, 346/354, 362/370, 378/386, 394/402, 410/418, 426/434, 442/450, 458/466, 474/482, 및 490/498로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 경쟁한다.
- [0109] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 서열 번호 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/298, 314/322, 330/338, 346/354, 362/370, 378/386, 394/402, 410/418, 426/434, 442/450, 458/466, 474/482, 및 490/498로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 동일한 인간 CTLA-4 상의 에피토프에 결합한다.
- [0110] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 (a) 서열 번호 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 및 490로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)의 상보성 결정 영역 (CDR); 및 (b) 서열 번호 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 및 498으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR)의 CDR을 포함한다.
- [0111] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/298, 314/322, 330/338, 346/354, 362/370, 378/386, 394/402, 410/418, 426/434, 442/450, 458/466, 474/482, 및 490/498로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함한다.
- [0112] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 4-6-8-12-14-16; 20-22-24-28-30-32; 36-38-40-44-46-48; 52-54-56-60-62-64; 68-70-72-76-78-80; 84-86-88-92-94-96; 100-102-104-108-110-112; 116-118-120-124-126-128; 132-134-136-140-142-144; 148-150-152-156-158-160; 164-166-168-172-174-176; 180-182-184-188-190-192; 196-198-200-204-206-208; 212-214-216-220-222-224; 228-230-232-236-238-240; 244-246-248-252-254-256; 260-262-264-268-270-272; 276-278-280-284-286-288; 292-294-296-300-302-304; 308-310-312-300-302-304; 316-318-320-324-326-328; 332-334-336-340-342-344; 348-350-352-356-358-360; 364-366-368-372-374-376; 380-382-384-388-390-392; 396-398-400-404-406-408; 412-414-416-420-422-424; 428-430-432-436-438-440; 444-446-448-452-454-456; 460-462-464-468-470-472; 476-478-480-484-486-488; 및 492-494-496-500-502-504로 구성된 군으로부터 각각 선택된 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 도메인을 포함한다.
- [0113] 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 2/10, 18/26, 34/42, 50/58, 66/74, 82/90, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154, 162/170, 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/298, 314/322, 330/338, 346/354, 362/370, 378/386, 394/402, 410/418, 426/434, 442/450, 458/466, 474/482, 및 490/498로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.
- [0114] 특정 구현예에서, 본 발명은 인간, 인간화 또는 키메라 항체인 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은, 예를 들어, IgG1 또는 IgG4 항체, 예를 들어, 인간 IgG1 또는 IgG4 항체 일 수 있다. 이들 항체의 불변 영역은 야생형 불변 영역, 또는 돌연변이가 도입된 불변 영역에 상응할 수 있다.
- [0115] 일 양태에서, 본 발명은 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 제1 항원-결합 특이성, 및 제2 표적 에피토프에 특이적으로 결합하는 제2 항원-결합 특이성을 포함하는 다중특이적 항원-결합 분자를 제공한다.
- [0116] 일 양태에서, 본 발명은 상기 구현예들 중 임의의 것의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물을 제공한다.
- [0117] 일 양태에서, 본 발명은 본원에 개시된 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오타이드 분자 및 벡터를 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 본원에 제시된 항체의 HCVR을 인

코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드 분자 및/또는 벡터를 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 본원에 제시된 항체의 LCVR을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드 분자 및/또는 벡터를 제공한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 상기에서 또는 본원에서 논의된 벡터를 발현하는 세포를 제공한다.

[0118] 일 양태에서, 본 발명은 치료적 유효량의, 본원에 개시된 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 이러한 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여함으로써 CTLA-4를 길항함으로써 치료할 수 있는 질환 또는 장애를 치료하는 방법을 제공한다. 일부 경우에서, 상기 질환 또는 장애는, 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV), C형 간염 바이러스 (HCV), B형 간염 바이러스 (HBV), 인간 유두종 바이러스 (HPV), 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV), 및 원숭이 면역 결핍 바이러스 (SIV)로 구성된 군으로부터 선택된 바이러스에 의해 유발된 만성 감염이다. 일부 경우에서, 상기 질환 또는 장애는 혈액암, 뇌암, 신장세포암, 난소암, 방광암, 전립선암, 유방암, 피부암, 자궁경부암, 신장암, 위암, 췌장암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부 편평 세포 암종, 결장직장암, 중피종, B 세포 림프종 및 흑색종으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0119] 일 양태에서, 본 발명은 대상체에서 면역 반응을 향상시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 개시된 단리된 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 대상체에서 T-조절 (Treg) 세포를 억제하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 개시된 단리된 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명은 대상체에서 T 세포 활성화를 향상시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 개시된 단리된 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 대상체는 질환 또는 장애는 혈액암, 뇌암, 신장 세포 암종 (예를 들어, 투명 세포 신장 암종), 난소암, 방광암, 전립선암, 유방암 (예를 들어, 삼중 음성 유방암), 피부암, 자궁경부암, 신장암, 위암, 신장암, 췌장암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부 편평 세포 암종, 결장직장암, 중피종, 림프종 (예를 들어, B 세포 림프종, 확산성 거대 B 세포 림프종) 및 흑색종으로 구성된 군으로부터 선택된 질환 또는 장애에 걸려 있다. 특정 구현예에서, 상기 대상체는 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV), C형 간염 바이러스 (HCV), B형 간염 바이러스 (HBV), 인간 유두종 바이러스 (HPV), 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV), 및 원숭이 면역 결핍 바이러스 (SIV)로 구성된 군으로부터 선택된 바이러스에 의해 유발된 만성 감염에 걸려 있다. 특정 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체는 PD-1 억제제, LAG3 억제제, 종양 특이적 항원에 대한 항체, 바이러스-감염된-세포 항원에 대한 항체, PD-L1 억제제, CD20 억제제, CD20 및 CD3에 대한 이중특이적 항체, 식이 보조제, 예를 들어 항산화제, VEGF 길항제, 암 백신, 화학요법제, 세포독성제, 수술, 방사선, NSAID, 코르티코스테로이드, 및 상기 질환 또는 장애와 관련된 적어도 하나의 증상을 개선하는데 유용한 임의의 다른 요법으로 구성된 군으로부터 선택된 제2 치료제와 조합하여 상기 대상체에게 투여된다.

[0120] 일 양태에서, 본 발명은 대상체에서 종양 또는 종양 세포의 성장을 억제하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 치료적 유효량의, 본원에 개시된 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 이러한 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 종양은 원발성 또는 재발성이다. 특정 구현예에서, 상기 종양은 확립된 종양이다. 특정 구현예에서, 상기 대상체는 전이성 질환에 걸려 있고/거나 사전 요법으로 치료된 적이 있다. 특정 구현예에서, 상기 종양은 혈액암, 뇌암, 신장세포암, 난소암, 방광암, 전립선암, 유방암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부 편평 세포 암종, 결장직장암, 중피종, 림프종, 및 흑색종으로 구성된 군으로부터 선택된 질환 또는 장애에 걸린 대상체에 존재한다. 특정 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 1회 이상의 용량으로 투여되며, 여기서 각각의 용량은 직전 투약 후 1 내지 12주에 투여된다. 특정 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 약 0.1 mg/대상체 체중 kg 내지 약 100 mg/대상체 체중 kg의 용량으로 투여된다. 특정 구현예에서, 각각의 용량은 약 50 mg 내지 약 1000 mg의 상기 항체를 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체는 PD-1 억제제, LAG3 억제제, 종양 특이적 항원에 대한 항체, PD-L1 억제제, CD20 억제제, CD20 및 CD3에 대한 이중특이적 항체, 식이 보조제, 예를 들어 항산화제, VEGF 길항제, 암 백신, 화학요법제, 세포독성제, 수술, 방사선, NSAID, 코르티코스테로이드, 및 상기 질환 또는 장애와 관련된 적어도 하나의 증상을 개선하는데 유용한 임의의 다른 요법으로 구성된 군으로부터 선택된 제2 치료제와 조합하여 상기 대상체에게 투여된다. 일 구현예에서, 상기 제2 치료제는 PD-1 억제제이며, 상기 PD-1 억제제는 PD-1에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 일 구현예에서, 상기 PD-1 억제제는 REGN2810, 니볼루맙 또는 펌브롤리주맙이다. 일 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 피하, 정맥내, 종양내, 종

양 주위, 피내, 복강내, 경구, 근육내 또는 두개내로 투여된다.

[0121] 일 양태에서, 본 발명은 T 세포 활성화의 CTLA-4-매개된 억제를 구체화하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 본원에 개시된 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 상기 T 세포와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일 구현예에서, 상기 T 세포는 항-PD-1 항체 (예를 들어, REGN2810)와 조합된 본 발명의 항-CTLA-4 항체에 의해 접촉된다.

[0122] 일 양태에서, 본 발명은, CTLA-4를 길항함으로써 치료할 수 있는 질환 또는 장애의 치료에서의 본원에 개시된 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 이러한 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다. 일부 경우에서, 상기 질환 또는 장애는 암이다.

[0123] 일 양태에서, 본 발명은, CTLA-4를 길항함으로써 치료할 수 있는 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에서의 본원에 개시된 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 이러한 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다. 일부 경우에서, 상기 질환 또는 장애는 암이다.

[0124] 항체의 항원-결합 단편

[0125] 달리 구체적으로 명시되지 않는 한, 본원에서 용어 "항체"는 2개의 면역글로불린 중쇄 및 2개의 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 분자 (즉, "완전 항체 분자"), 뿐만 아니라 이의 항원-결합 단편을 포괄하는 것으로 이해되어야 한다. 본원에서, 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편" 등은 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 천연적으로 발생하거나, 효소적으로 수득 가능하거나, 합성적이거나, 유전적으로 조작된 임의의 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함한다. 본원에서, 용어 항체의 "항원-결합 단편" 또는 "항체 단편"은 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 능력을 보유하는 항체의 하나 이상의 단편을 지칭한다. 항체 단편은 Fab 단편, F(ab')₂ 단편, Fv 단편, dAb 단편, CDR을 함유하는 단편, 또는 단리된 CDR을 포함할 수 있다. 특정 구현예에서, 용어 "항원-결합 단편"은 다중특이적 항원-결합 분자의 폴리펩티드 단편을 지칭한다. 항체의 항원-결합 단편은 예를 들어, 단백질 분해 절단 (proteolytic digestion)과 같은 임의의 적합한 표준 기술, 또는 항체 가변 및 (선택적으로) 불변 도메인을 인코딩하는 DNA의 조작 및 발현을 수반하는 재조합 유전공학 기술을 사용하여 완전 항체 분자로부터 유래될 수 있다. 이러한 DNA는 공지되어 있고/거나, 예를 들어 상업적인 출처인 DNA 라이브러리 (예를 들어, 파지-항체 라이브러리 포함)로부터 용이하게 입수가 가능하거나, 합성될 수 있다. 상기 DNA는, 예를 들어, 하나 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적합한 입체배치로 배열시키기 위해, 또는 코돈을 도입하기 위해, 시스테인 잔기를 생성하기 위해, 아미노산을 변형, 첨가 또는 결실시키는 등을 수행하기 위해 화학적으로 또는 분자생물학 기술을 이용함으로써 시퀀싱되고, 조작될 수 있다.

[0126] 항원-결합 단편의 비제한적인 예는: (i) Fab 단편; (ii) F(ab')₂ 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단쇄 Fv (scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체의 추가변 영역을 모방하는 아미노산 잔기로 구성된 최소 인지 단위 (예를 들어 단리된 상보성 결정 영역 (CDR), 예를 들어 CDR3 펩티드) 또는 구속형(constrained) FR3-CDR3-FR4 펩티드를 포함한다. 다른 조작된 분자, 예를 들어 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결합된 항체, 키메라 항체, CDR-이식된 항체, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 미니바디, 나노바디 (예를 들어, 1가 나노바디, 2가 나노바디 등), 소형 모듈식 면역약제 (SMIP), 및 상어 가변 IgNAR 도메인이 또한, 본원에 사용된 표현 "항원-결합 단편" 내에 포괄된다.

[0127] 항체의 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함한다. 상기 가변 도메인은 임의의 크기 또는 아미노산 조성을 가질 수 있고, 일반적으로 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 또는 하나 이상의 프레임워크 서열과 함께 프레임 내에 있는 적어도 하나의 CDR을 포함한다. V_L 도메인과 결합된 V_H 도메인을 갖는 항원-결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 서로에 대비하여 임의의 적합한 배열로 위치할 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 이량체이고, V_H - V_H, V_H - V_L 또는 V_L - V_L 이량체를 함유할 수 있다. 대안적으로, 항체의 항원-결합 단편은 단량체 V_H 또는 V_L 도메인을 함유할 수 있다.

[0128] 특정 구현예에서, 항체의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유 결합된 적어도 하나의 가변 도메인을 함유할 수 있다. 본 발명의 항체의 항원-결합 단편 내에서 발견될 수 있는 가변 및 불변 도메인의 비제한적인 예시적 입체배치는 (i) V_H -C_H1; (ii) V_H -C_H2; (iii) V_H -C_H3; (iv) V_H -C_H1-C_H2; (v) V_H -C_H1-C_H2-C_H3; (vi) V_H -C_H2-C_H3; (vii) V_H -C_L; (viii) V_L -C_H1; (ix) V_L -C_H2; (x) V_L -C_H3; (xi) V_L -C_H1-C_H2; (xii) V_L -C_H1-C_H2-C_H3; (xiii) V_L -C_H2-C_H3; 및 (xiv) V_L -C_L을 포함한다. 상기 나열된 예시적인 입체배치 중 임의의 것을 비롯

한 가변 및 불변 도메인의 임의의 입체배치에서, 가변 및 불변 도메인은 서로 직접적으로 결합될 수 있거나, 또는 완전 또는 부분 힌지 또는 링커 영역에 의해 결합될 수 있다. 힌지 영역은 적어도 2개 (예를 들어, 5, 10, 15, 20, 40, 60개 또는 그 이상)의 아미노산으로 구성될 수 있으며, 이는 단일 폴리펩티드 분자에서 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이의 가요성 또는 반가요성 결합을 초래한다. 또한, 본 발명의 항체의 항원-결합 단편은, 서로 및/또는 하나 이상의 단량체 V_H 또는 V_L 도메인과 (예를 들어, 이황화 결합(들)에 의해) 비공유 결합으로 결합된, 상기에 나열된 가변 및 불변 도메인 입체배치 중 임의의 것의 동중-이량체 또는 이중-이량체 (또는 다른 다량체)를 포함할 수 있다.

[0129] 완전 항체 분자와 마찬가지로, 항원-결합 단편은 단일특이적 또는 다중특이적 (예를 들어 이중특이적)일 수 있다. 항체의 다중특이적 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 2개의 상이한 가변 도메인을 포함하며, 여기서, 각각의 가변 도메인은 별개의 항원, 또는 동일한 항원 상의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에 개시된 예시적인 이중특이적 항체 포맷을 포함하는 임의의 다중특이적 항체 포맷이 당업계에서 이용 가능한 일상적인 기술을 사용하여 본 발명의 항체의 항원-결합 단편의 맥락에서 사용하기 위해 채택될 수 있다.

[0130] 인간 항체의 제조

[0131] 트랜스제닉 마우스에서 인간 항체를 생성하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. CTLA-4에 특이적으로 결합하는 인간 항체를 제조하기 위해 임의의 이러한 공지된 방법이 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있다.

[0132] VELOCIMMUNE® 기술(예를 들어, US 6,596,541, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE® 참조) 또는 단일클론 항체를 생성하는 임의의 다른 공지된 방법을 사용하여, 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는 CTLA-4에 대한 고친화도 키메라 항체가 처음에 단리된다. VELOCIMMUNE® 기술은 마우스가 항원의 자극에 반응하여 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 포함하는 항체를 생산하도록 내인성 마우스 불변 영역 유전자좌에 작동 가능하게 결합된 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 게놈을 갖는 트랜스제닉 마우스의 생성을 포함한다. 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 인코딩하는 DNA는 단리되어 인간 중쇄 및 경쇄 불변 영역을 인코딩하는 DNA에 작동 가능하게 결합된다. 이어서 상기 DNA는 완전 인간 항체를 발현할 수 있는 세포에서 발현된다.

[0133] 일반적으로, VELOCIMMUNE® 마우스는 관심 항원이 접종되고, 림프 세포 (예를 들어, B-세포)가 항체를 발현하는 마우스로부터 회수된다. 림프 세포는 불멸의 하이브리도마 세포주를 제조하기 위해 골수종 세포주와 융합될 수 있으며, 이러한 하이브리도마 세포주는 관심 항원에 특이적인 항체를 생산하는 하이브리도마 세포주를 식별하기 위해 스크리닝되고 선택된다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 인코딩하는 DNA는 단리되어 중쇄 및 경쇄의 바람직한 이소타입 불변 영역에 결합될 수 있다. 이러한 항체 단백질은 CHO 세포와 같은 세포에서 생산될 수 있다. 대안적으로, 항원-특이적 키메라 항체 또는 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인을 인코딩하는 DNA는 항원-특이적 림프구로부터 직접적으로 단리될 수 있다.

[0134] 처음에, 인간 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖는 고친화도 키메라 항체가 단리된다. 하기 실험 부문에서와 같이, 항체는 친화도, 선택성, 에피토프 등을 포함한 바람직한 특징에 대해 특성화되고 선택된다. 마우스 불변 영역은 본 발명의 완전 인간 항체, 예를 들어 야생형 또는 변형된 IgG1 또는 IgG4를 생성하기 위해 목적하는 인간 불변 영역으로 대체된다. 선택된 불변 영역은 특정 용도에 따라 달라질 수 있는 반면, 고친화도 항원-결합 및 표적 특이성 특징은 가변 영역 내에 남아 있다.

[0135] 생물학적 등가물

[0136] 본 발명의 항-CTLA-4 항체 및 항체 단편은, 기술된 항체의 아미노산 서열과 다른 아미노산 서열을 갖지만 CTLA-4에 결합하는 능력을 보유하는 단백질을 포괄한다. 이러한 변이체 항체 및 항체 단편은 모체 서열과 비교할 때 아미노산의 하나 이상의 추가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 기술된 항체와 본질적으로 동등한 생물학적 활성을 나타낸다. 마찬가지로, 본 발명의 항체-인코딩 DNA 서열은 개시된 서열과 비교할 때 뉴클레오타이드의 하나 이상의 추가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 본 발명의 항체 또는 항체 단편과 본질적으로 생물학적으로 동등한 항체 또는 항체 단편을 인코딩하는 서열을 포괄한다.

[0137] 2개의 항원-결합 단백질, 또는 항체는, 예를 들어, 이들이 유사한 실험 조건 하에서, 단일 용량이든 다중 용량 이든, 같은 몰 용량으로 투여될 때 흡수의 속도 및 정도가 유의한 차이를 나타내지 않는 약학적 등가물 또는 약학적 대응물인 경우 생물학적으로 동등한 것으로 간주된다. 일부 항체는, 이들이 흡수 정도는 동등하지만 흡수 속도가 동등하지 않으며, 이러한 흡수 속도에서의 차이가 의도적이고, 표지에서 반영되고, 예를 들어 만성적인 사용시 효과적인 신체 약물 농도의 달성에 필수적이지 않으며, 연구된 특정 약품에 대해 의학적으로 유의하지 않은 것으로 간주되기 때문에, 여전히 생물학적으로 동등한 것으로 간주될 수 있는 경우, 등가물 또는 약학적

대용물로 간주된다.

- [0138] 일 구현예에서, 2개의 항원-결합 단백질은 안전성, 순도, 또는 효력에 있어서 임상적으로 의미있는 차이가 없는 경우 생물학적으로 동등하다.
- [0139] 일 구현예에서, 2개의 항원-결합 단백질은, 전환 없이 지속되는 요법과 비교하여, 면역원성의 임상적으로 유의한 변화, 또는 감소된 효과를 비롯한 예상되는 부작용의 위험이 증가하지 않으면서 환자가 기준 제품 및 생물학적 제품 사이에서 1회 이상 전환할 수 있는 경우 생물학적으로 동등하다.
- [0140] 일 구현예에서, 2개의 항원-결합 단백질은 이들 단백질이 둘 다 사용 조건 또는 조건들에 대한 공통의 작용 기전 또는 기전들에 의해 이러한 기전이 공지되어 있는 정도로 작용하는 경우 생물학적으로 동등하다.
- [0141] 생물학적 등가는 생체내 및/또는 시험관내 방법에 의해 입증될 수 있다. 생물학적 등가의 측정, 예를 들어, (a) 항체 또는 이의 대사산물의 농도가 혈액, 혈장, 혈청, 또는 다른 생물학적 유체에서 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유동물에서의 생체내 시험; (b) 인간 생체내 생체 이용률 데이터와 상관관계가 있고 이를 합리적으로 예측하는 시험관내 시험; (c) 항체 (또는 이의 표적)의 적절한 급성 약리학적 효과가 시간의 함수로서 측정되는, 인간 또는 다른 포유동물에서의 생체내 시험; 및 (d) 항체의 안전성, 효능, 또는 생체 이용률 또는 생물학적 등가를 확립하는 잘 제어된 임상 시험을 포함한다.
- [0142] 본 발명의 항체의 생물학적으로 동등한 변이체는, 예를 들어, 잔기 또는 서열의 다양한 치환을 수행함으로써 또는 생물학적 활성에 필요하지 않은 말단 또는 내부 잔기 또는 서열을 결실시킴으로써 구성될 수 있다. 예를 들어, 생물학적 활성에 필수적인 것이 아닌 시스템인 잔기는 복원시 불필요한 또는 부정확한 분자내 이황화 브릿지의 형성을 방지하기 위해 결실되거나 다른 아미노산으로 대체될 수 있다. 다른 맥락에서, 생물학적으로 동등한 항체는 항체의 글리코실화 특성을 변형시키는 아미노산 변화, 예를 들어, 글리코실화를 없애거나 제거하는 돌연변이를 포함하는 항체 변이체를 포함할 수 있다.
- [0143] **Fc 변이체를 포함하는 항-CTLA-4 항체**
- [0144] 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 예를 들어, 중성 pH와 비교하여 산성 pH에서, FcRn 수용체와의 항체 결합을 향상시키거나 감소시키는 하나 이상의 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-CTLA-4 항체가 제공된다. 예를 들어, 본 발명은 Fc 도메인의 C_H2 또는 C_H3 영역에서 돌연변이를 포함하는 항-CTLA-4 항체를 포함하며, 여기서 상기 돌연변이(들)는 산성 환경에서 (예를 들어, pH가 약 5.5 내지 약 6.0의 범위인 엔도솜에서) FcRn에 대한 Fc 도메인의 친화도를 증가시킨다. 이러한 돌연변이는 동물에 투여될 때 항체의 혈청 반감기의 증가를 초래할 수 있다. 이러한 Fc 변형의 비제한적인 예는, 예를 들어 위치 250 (예를 들어 E 또는 Q); 250 및 428 (예를 들어 L 또는 F); 252 (예를 들어 L/Y/F/W 또는 T), 254 (예를 들어 S 또는 T), 및 256 (예를 들어 S/R/Q/E/D 또는 T)에서의 변형; 또는 위치 428 및/또는 433 (예를 들어 H/L/R/S/P/Q 또는 K) 및/또는 434 (예를 들어 A, W, H, F 또는 Y[N434A, N434W, N434H, N434F 또는 N434Y])에서의 변형; 또는 위치 250 및/또는 428에서의 변형; 또는 위치 307 또는 308 (예를 들어 308F, V308F) 및 434에서의 변형을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 변형은 428L (예를 들어, M428L) 및 434S (예를 들어, N434S) 변형; 428L, 259I (예를 들어, V259I), 및 308F (예를 들어, V308F) 변형; 433K (예를 들어, H433K) 및 434 (예를 들어, 434Y) 변형; 252, 254 및 256 (예를 들어, 252Y, 254T 및 256E) 변형; 250Q 및 428L 변형 (예를 들어, T250Q 및 M428L); 및 307 및/또는 308 변형 (예를 들어, 308F 또는 308P)을 포함한다. 다른 구현예에서, 상기 변형은 265A (예를 들어 D265A) 및/또는 297A (예를 들어 N297A) 변형을 포함한다.
- [0145] 예를 들어, 본 발명은, 250Q 및 248L (예를 들어 T250Q 및 M248L); 252Y, 254T 및 256E (예를 들어 M252Y, S254T 및 T256E); 428L 및 434S (예를 들어 M428L 및 N434S); 257I 및 311I (예를 들어 P257I 및 Q311I); 257I 및 434H (예를 들어 P257I 및 N434H); 376V 및 434H (예를 들어 D376V 및 N434H); 307A, 380A 및 434A (예를 들어 T307A, E380A 및 N434A); 및 433K 및 434F (예를 들어 H433K 및 N434F)로 구성된 군으로부터 선택된 돌연변이의 하나 이상의 쌍 또는 군을 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-CTLA-4 항체를 포함한다. 일 구현예에서, 본 발명은 이량체 안정화를 촉진하기 위해 IgG4의 힌지 영역에서 S108P 돌연변이를 포함하는 Fc 도메인을 포함하는 항-CTLA-4 항체를 포함한다. 전술한 Fc 도메인 돌연변이, 및 본원에 개시된 항체 가변 도메인 내의 다른 돌연변이의 가능한 모든 조합이 본 발명의 범위 내에서 고려된다.
- [0146] 본 발명은 또한, 키메라 중쇄 불변 (C_H) 영역을 포함하는 항-CTLA-4 항체를 포함하며, 여기서 상기 키메라 C_H 영역은 하나 초과면역글로불린 이소타입의 C_H 영역으로부터 유래된 분절을 포함한다. 예를 들어, 본 발명의 항

체는 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 분자로부터 유래된 C_H3 도메인의 일부 또는 전부와 조합된, 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 분자로부터 유래된 C_H2 도메인의 일부 또는 전부를 포함하는 키메라 C_H 영역을 포함할 수 있다. 특정 구현예에 따르면, 본 발명의 항체는 키메라 힌지 영역을 갖는 키메라 C_H 영역을 포함한다. 예를 들어, 키메라 힌지는 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 힌지 영역으로부터 유래된 "하부 힌지" 서열 (EU 번호매김에 따른 위치 228 내지 236의 아미노산 잔기)와 조합된, 인간 IgG1, 인간 IgG2 또는 인간 IgG4 힌지 영역으로부터 유래된 "상부 힌지" 아미노산 서열 (EU 번호매김에 따른 위치 216 내지 227의 아미노산 잔기)을 포함할 수 있다. 특정 구현예에 따르면, 상기 키메라 힌지 영역은 인간 IgG1 또는 인간 IgG4 상부 힌지로부터 유래된 아미노산 잔기 및 인간 IgG2 하부 힌지로부터 유래된 아미노산 잔기를 포함한다. 본원에 기술된 키메라 C_H 영역을 포함하는 항체는 특정 구현예에서, 항체의 치료적 또는 약동학적 특성에 역효과를 미치지 않으면서 변형된 Fc 효과기 기능을 나타낼 수 있다. (예를 들어, 그 전체 내용이 원용에 의해 본원에 포함된 미국 특허 공보 제20140243504호 참조).

[0147] **항체의 생물학적 특징**

[0148] 일반적으로, 본 발명의 항체는 CTLA-4와 결합함으로써 기능한다. 본 발명은 고친화도로 가용성 단량체 또는 이량체 CTLA-4 분자에 결합하는 항-CTLA-4 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 표면 플라즈몬 공명에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 3에서 한정된 분석 포맷을 사용하여 측정하였을 때, (예를 들어, 25°C에서) 약 20 nM 미만의 K_D로 이량체 인간 및 원숭이 CTLA-4에 결합하는 항체 및 항체의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 표면 플라즈몬 공명에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 3에서 한정된 분석 포맷, 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 약 10nM 미만, 약 5nM 미만, 약 2nM 미만, 또는 약 1nM 미만의 K_D로 단량체 CTLA-4에 결합한다.

[0149] 본 발명은 또한 25°C에서 표면 플라즈몬 공명에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 3에서 한정된 분석 포맷, 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 약 4분 초과와 해리 반감기 (t_{1/2})로 CTLA-4에 결합하는 항체 및 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 항원-결합 단편은 25°C에서 표면 플라즈몬 공명에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 3에서 한정된 분석 포맷 (예를 들어, mAb-포획 포맷), 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 약 5분 초과, 약 10분 초과, 약 15분 초과, 약 20분 초과, 약 30분 초과, 약 40분 초과, 약 100분 초과, 약 200분 초과, 약 300분 초과, 또는 약 500분 초과와 t_{1/2}로 CTLA-4에 결합한다.

[0150] 본 발명은 또한 실시예 4에 제시된 효소-결합 면역흡착 분석 (ELISA), 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정하였을 때, 약 320 nM 미만의 IC₅₀ 으로 hB7-1 (CD80) 및/또는 hB7-2 (CD86)에 대한 hCTLA-4 결합을 차단하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 경쟁 샌드위치 ELISA에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 4에서 한정된 바와 같은 것, 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 약 200nM 미만, 약 100 nM 미만, 약 70 nM 미만, 약 20 nM 미만, 약 10 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 1nM 미만, 또는 약 0.5 nM 미만의 IC₅₀으로 인간 B7-1 및/또는 인간 B7-2에 대한 hCTLA-4 결합을 차단한다.

[0151] 본 발명은 또한 경쟁 샌드위치 ELISA에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 4에서 한정된 바와 같은 것, 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 인간 B7-1 및/또는 인간 B7-2에 대한 hCTLA-4의 결합을 적어도 85% 차단하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다.

[0152] 본 발명은 또한 본원의 실시예 5에 한정된 전기 화학 발광 분석, 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정하였을 때, 약 6 nM 미만의 EC₅₀으로 인간 CTLA-4-발현 세포에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전기 화학 발광 분석에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 5에서 한정된 분석 포맷, 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 약 4 nM 미만, 약 2 nM 미만, 약 1 nM 미만, 또는 약 0.5 nM 미만의 EC₅₀으로 hCTLA-4-발현 세포에 결합한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전기 화학 발광 분석에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 5의 분석 포맷, 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 대조군 세포에 대한 결합보다 약 10배 초과와 비율, 약 15배 초과와 비율, 또는 약 20배 초과와 비율로 hCTLA-4-발현 세포에 결합한다.

[0153] 본 발명은 또한 본원의 실시예 5에 한정된 전기 화학 발광 분석, 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정하였

을 때, 약 0.5 nM 미만의 EC₅₀으로 시노몰구스 원숭이 CTLA-4-발현 세포에 결합하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 전기 화학 발광 분석에 의해, 예를 들어, 본원의 실시예 5에서 한정된 분석 포맷, 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 약 0.5 nM 미만, 약 0.2 nM 미만의 EC₅₀으로 mfCTLA-4-발현 세포에 결합한다.

[0154] 본 발명은 또한 본원의 실시예 6에 한정된 T 세포/APC 루시퍼라제 리포터 분석, 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정하였을 때, 8 nM 미만의 EC₅₀으로 (CTLA-4/CD80 및 CTLA-4/CD86 상호작용을 차단함으로써) CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 T 세포/APC 루시퍼라제 리포터 분석에 의해, 예를 들어 본원의 실시예 6에 한정된 분석 포맷, 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정하였을 때, 약 6 nM 미만, 약 5 nM 미만, 약 3 nM 미만, 약 2.5 nM 미만, 또는 약 2 nM 미만의 EC₅₀으로 CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 및 원숭이 CTLA-4 둘 다의 CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단한다.

[0155] 본 발명은 또한 본원의 실시예 6에 한정된 T 세포/APC IL-2 방출 분석, 또는 실질적으로 유사한 분석에 의해 측정하였을 때, 약 50 nM 미만의 EC₅₀으로 (CTLA-4/CD80 및 CTLA-4/CD86 상호작용을 차단함으로써) IL-2 방출의 CTLA-4-매개된 억제제를 구제하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 T 세포/APC IL-2 방출 분석에 의해, 예를 들어 본원의 실시예 6에 한정된 분석 포맷, 또는 실질적으로 유사한 분석을 사용하여 측정하였을 때, 약 45 nM 미만, 약 35 nM 미만, 약 25 nM 미만, 또는 약 20 nM 미만의 EC₅₀으로 IL-2 방출의 CTLA-4-매개된 억제제를 구제한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 및 원숭이 CTLA-4 둘 다에 대해 CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단하고/거나 IL-2 방출의 CTLA-4-매개된 억제제를 구제한다. 특정 구현예에서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 이소타입 대조군 항체에 대해 관찰된 것보다 4배 내지 6배 높은 비율로, IL-2 생산에 의해 입증되는 바와 같이, CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단한다.

[0156] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 이를 필요로 하는 대상체에게 예방적으로 투여되는 경우 종양의 성장을 억제하거나 암의 진행을 지연시키는데 유용하고, 대상체의 생존을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체의 투여는 원발성 종양의 위축을 초래할 수 있고 2차 종양의 전이 또는 발달을 예방할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 이를 필요로 하는 대상체에게 치료적으로 투여되는 경우 종양의 성장을 억제하는데 유용하고, 대상체의 생존을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 치료적 유효량의 본 발명의 항체를 대상체에게 투여하는 것은 상기 대상체에서 확립된 종양의 위축 및 소실을 초래할 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체는 국소적으로 (종양 내 또는 종양 주위로) 투여되고, 주입된 종양 병소 및 원거리 종양 병소에서 종양 성장의 억제를 초래한다 (압스코팔 효과 (abscopal effect)).

[0157] 다양한 구현예에서, 본 발명은 CTLA-4에 결합하는 단리된 재조합 단일클론 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 제공한다. 여기서 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 다음 특징 중 하나 이상을 나타낸다: (i) 서열 번호 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 및 490로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCVR을 포함하는 특징; (ii) 서열 번호 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 및 498으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCVR을 포함하는 특징; (iii) 서열 번호 8, 24, 40, 56, 72, 88, 104, 120, 136, 152, 168, 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 320, 336, 352, 368, 384, 400, 416, 432, 448, 464, 480, 및 496로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR3 도메인; 및 서열 번호 16, 32, 48, 64, 80, 96, 112, 128, 144, 160, 176, 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 328, 344, 360, 376, 392, 408, 424, 440, 456, 472, 488, 및 504으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하는 특징; (iv) 서열 번호 4, 20, 36, 52, 68, 84, 100, 116, 132, 148, 164, 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 316, 332, 348, 364, 380, 396, 412, 428, 444, 460, 476, 및 492로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동

일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR1 도메인; 서열 번호 6, 22, 38, 54, 70, 86, 102, 118, 134, 150, 166, 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 318, 334, 350, 366, 382, 398, 414, 430, 446, 462, 478, 및 494으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR2 도메인; 서열 번호 12, 28, 44, 60, 76, 92, 108, 124, 140, 156, 172, 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 324, 340, 356, 372, 388, 404, 420, 436, 452, 468, 484, 및 500로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR1 도메인; 및 서열 번호 14, 30, 46, 62, 78, 94, 110, 126, 142, 158, 174, 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 326, 342, 358, 374, 390, 406, 422, 438, 454, 470, 486, 및 502로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 이의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR2 도메인을 포함하는 특징; (v) 25°C에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정하였을 때, 약 20 nM 미만의 결합 해리 평형 상수 (K_D)로 이량체 인간 및 원숭이 CTLA-4에 결합하는 특징; (vi) 25°C에서 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정하였을 때, 약 4분 초과와 해리 반감기 ($t_{1/2}$)로 이량체 인간 및 원숭이 CTLA-4에 결합하는 특징; (vii) 세포 부착 분석을 사용하여 측정하였을 때, 약 320 nM 미만의 IC_{50} 으로, hB7-1 (CD80) 및/또는 hB7-2 (CD86)에 대한 hCTLA-4 결합을 차단하는 특징; (viii) 경쟁 샌드위치 ELISA에 의해 측정하였을 때, 인간 B7-1 및/또는 인간 B7-2에 대한 hCTLA-4 결합을 적어도 85% 차단하는 특징; (ix) 전기 화학 발광 분석에 의해 측정하였을 때, 약 6 nM 미만의 EC_{50} 으로 인간 CTLA-4-발현 세포에 결합하는 특징; (x) 대조군 세포에 대한 결합보다 약 10배 초과와 비율로 hCTLA-4-발현 세포에 결합하는 특징; (xi) 전기 화학 발광 분석에 의해 측정하였을 때, 약 0.5 nM 미만의 EC_{50} 으로 원숭이 CTLA-4-발현 세포에 결합하는 특징; (xii) T 세포/APC 루시퍼라제 리포터 분석에 의해 측정하였을 때, 8 nM 미만의 EC_{50} 으로 CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단하는 특징; (xiii) 인간 및 원숭이 CTLA-4 둘 다의 CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단하는 특징; (xiv) T 세포/APC IL-2 방출 분석에 의해 측정하였을 때, 약 50 nM 미만의 EC_{50} 으로 IL-2 방출의 CTLA-4-매개된 억제를 구제하는 특징; (xv) 인간 및 원숭이 CTLA-4 둘 다에 대해 CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단하고/거나 IL-2 방출의 CTLA-4-매개된 억제를 구제하는 특징; (xvi) 이소타입 대조군 항체에 대해 관찰된 것보다 4배 내지 6배 높은 비율로, IL-2 생산에 의해 입증되는 바와 같이, CTLA-4-유도된 T 세포 하향조절을 차단하는 특징; (xvii) 암에 걸린 대상체에서 종양 성장을 억제하고 생존을 증가시키는 특징, 및 (xviii) 완전 인간 항인 특징.

[0158] 본 발명의 항체는 진술한 생물학적 특징 중 하나 이상 또는 이의 임의의 조합을 소유할 수 있다. 본 발명의 항체의 다른 생물학적 특징은 본원의 실제적인 실시예를 포함한 본 개시내용의 검토로부터 당업자에게 자명해질 것이다.

[0159] 종 선택성 및 종 교차 반응성

[0160] 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 상기 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4에 결합하지만 다른 종의 CTLA-4에는 결합하지 않는다. 대안적으로, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는, 특정 구현예에서는, 인간 CTLA-4 및 하나 이상의 비인간 종의 CTLA-4에 결합한다. 예를 들어, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4에 결합할 수 있고 경우에 따라, 마우스, 래트, 기니피그, 햄스터, 저빌, 돼지, 고양이, 개, 토끼, 염소, 양, 소, 말, 낙타, 시노몰구스, 마모셋, 붉은털 원숭이 또는 침팬지 CTLA-4 중 하나 이상에 결합하거나 결합하지 않을 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 동일한 친화도 또는 상이한 친화도로 인간 및 시노몰구스 CTLA-4에 결합할 수 있지만 래트 및 마우스 CTLA-4에는 결합하지 않는다.

[0161] 에피토프 매핑 및 관련 기술

[0162] 본 발명은, 예를 들어, 세포의 도메인, 막관통 도메인, 및 세포내 도메인을 포함한 CTLA-4 분자의 하나 이상의 도메인 내에서 발견되는 하나 이상의 아미노산과 상호작용하는 항-CTLA-4 항체를 포함한다. 항체가 결합하는 에피토프는 CTLA-4 분자의 상기 언급된 도메인 중 임의의 것 내에 위치하는 3개 이상 (예를 들어, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20개 또는 그 이상)의 아미노산의 단일 인접 서열 (예를 들어, 도메인의 선형 에피토프)로 구성될 수 있다. 대안적으로, 상기 에피토프는 CTLA-4 분자의 상기 언급된 도메인 중 임의의 것 또는 모두의 내부에 위치하는 복수의 비인접 아미노산 (또는 아미노산 서열) (예를 들어, 입체구조적 에피토프)로 구성될 수 있다.

[0163] 당업자에게 공지된 다양한 기술을 사용하여 항체가 폴리펩티드 또는 단백질 내의 "하나 이상의 아미노산과 상호작용"하는지를 측정할 수 있다. 예시적 기술은, 예를 들어, 문헌 [Antibodies, Harlow 및 Lane (Cold Spring

Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY))에 기술된 것과 같은, 일상적인 교차-차단 분석을 포함한다. 다른 방법은 알려진 스캐닝 돌연변이 분석, 펩티드 블롯 분석 (문헌 [Reineke (2004) *Methods Mol. Biol.* 248: 443-63]), 펩티드 절단 분석 결정학 연구 및 NMR 분석을 포함한다. 또한, 에피토프 절제, 에피토프 추출 및 항원의 화학적 변형과 같은 방법이 이용될 수 있다 (문헌 [Tomer (2000) *Prot. Sci.* 9: 487-496]). 항체가 상호작용하는 폴리펩티드 내의 아미노산을 식별하는데 사용될 수 있는 또 다른 방법은 질량 분석법에 의해 검출되는 수소/중수소 교환이다. 일반적으로, 수소/중수소 교환 방법은 관심 단백질을 중수소-표지하고, 이후에 중수소-표지된 단백질에 항체를 결합시키는 것을 포함한다. 이어서, 단백질/항체 복합체는 물로 옮겨지고 항체 복합체에 의해 보호되는 아미노산 내의 교환 가능한 양성자는 계면의 일부가 아닌 아미노산 내의 교환 가능한 양성자보다 더 느린 속도로 중수소-수소 역교환을 거친다. 결과적으로, 단백질/항체 계면의 일부를 형성하는 아미노산은 중수소를 보유할 수 있으며, 따라서 계면에 포함되지 않은 아미노산과 비교하여 상대적으로 더 높은 질량을 나타낸다. 항체가 해리된 이후, 표적 단백질에 프로테아제 절단 및 질량 분석법이 실시되고, 이로써 항체가 상호작용하는 특정 아미노산에 상응하는 중수소-표지된 잔기를 드러낸다. 예를 들어, 문헌 [Ehring (1999) *Analytical Biochemistry* 267: 252-259; Engen and Smith (2001) *Anal. Chem.* 73: 256A-265A] 참조.

[0164] 용어 "에피토프"는 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원 상의 부위를 지칭한다. B-세포 에피토프는 단백질의 3차 폴딩 (folding)에 의해 병치된 인접 아미노산 및 비인접 아미노산 둘 다로부터 형성될 수 있다. 인접 아미노산 으로부터 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 대한 노출이 유지되는 반면, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매로의 처리시 손실된다. 에피토프는 전형적으로 독특한 입체구조에서 적어도 3개, 및 그 이상, 보통은 적어도 5개 또는 8-10개의 아미노산을 포함한다.

[0165] 항원 구조-기반 항체 프로파일링 (ASAP)으로도 알려져 있는 변형-보조 프로파일링 (MAP)은 화학적으로 또는 효소에 의해 변형된 항원 표면에 대한 각각의 항체의 결합 프로파일링의 유사성에 따라 같은 항원에 대한 다수의 단일클론 항체 (mAb)를 분류하는 방법이다 (그 전체 내용이 원용에 의해 구체적으로 본원에 포함된 미국 특허 제US 2004/0101920호 참조). 각각의 범주는, 또 다른 범주로 대표되는 에피토프와 분명히 상이하거나 또는 이와 부분적으로 중첩되는 독특한 에피토프를 반영할 수 있다. 이러한 기술은, 특성화가 유전적으로 구별된 항체에 초점을 맞출 수 있도록, 유전적으로 동일한 항체의 신속한 여과를 허용한다. 하이브리도마 스크리닝에 적용되는 경우, MAP는 목적하는 특성을 갖는 mAb를 생산하는 회귀 하이브리도마 클론의 식별을 용이하게 할 수 있다. MAP는 본 발명의 항체를 상이한 에피토프에 결합하는 항체의 군으로 분류하는데 사용될 수 있다.

[0166] 특정 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 서열 번호 505에 예시된 바와 같이 천연 형태의, 또는 재조합에 의해 형성된 CTLA-4에서 예시된 영역 중 임의의 하나 이상 내의 에피토프, 또는 이의 단편에 결합한다.

[0167] 본 발명은 본원에서 표 1에 기술된 구체적인 예시적인 항체 중 임의의 것, 또는 표 1에 기술된 예시적인 항체 중 임의의 것의 CDR 서열을 갖는 항체와 동일한 에피토프, 또는 이러한 에피토프의 일부에 결합하는 항-CTLA-4 항체를 포함한다. 마찬가지로, 본 발명은 또한, CTLA-4 또는 CTLA-4 단편과의 결합에 대해 본원의 표 1에 기술된 구체적인 예시적인 항체 중 임의의 것, 또는 표 1에 기술된 예시적인 항체 중 임의의 것의 CDR 서열을 갖는 항체와 경쟁하는 항-CTLA-4 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 CTLA-4와의 결합에 대해 본원에 예시된 하나 이상의 항체 (예를 들어, H1H19303P 또는 H1H19319P2)와 교차-경쟁하는 항-CTLA-4 항체를 포함한다.

[0168] 당업계에 공지된 일상적인 방법을 사용함으로써, 항체가 기준 항-CTLA-4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지, 또는 기준 항-CTLA-4 항체와 결합에 대해 경쟁하는지를 용이하게 측정할 수 있다. 예를 들어, 시험 항체가 본 발명의 기준 항-CTLA-4 항체와 동일한 에피토프에 결합하는지를 측정하기 위해, 기준 항체는 포화 조건 하에서 CTLA-4 단백질 또는 펩티드에 결합하도록 허용된다. 이어서, 시험 항체가 CTLA-4 분자에 결합하는 능력이 평가된다. 기준 항-CTLA-4 항체와의 포화 결합 후 시험 항체가 CTLA-4에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체가 기준 항-CTLA-4 항체와 상이한 에피토프에 결합한다는 결론을 내릴 수 있다. 한편, 기준 항-CTLA-4 항체와의 포화 결합 후 시험 항체가 CTLA-4 단백질에 결합할 수 없는 경우, 시험 항체는 본 발명의 기준 항-CTLA-4 항체에 의해 결합된 에피토프와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0169] 항체가 기준 항-CTLA-4 항체와 결합에 대해 경쟁하는지를 측정하기 위해, 상기 기술된 결합 방법론이 두 가지 방향으로 수행된다: 제1 방향에서, 기준 항체는 포화 조건 하에 CTLA-4 단백질과 결합하도록 허용되며, 뒤이어 CTLA-4 분자와 시험 항체의 결합이 평가된다. 제2 방향에서, 시험 항체는 포화 조건 하에 CTLA-4 분자에 결합하도록 허용되며, 뒤이어 CTLA-4 분자와 기준 항체의 결합이 평가된다. 두 방향 모두에서, 단지 제1 (포화) 항체만이 CTLA-4 분자에 결합할 수 있는 경우, 시험 항체 및 기준 항체는 CTLA-4와의 결합에 대해 경쟁한다는 결론

이 내려진다. 당업자라면 이해할 바와 같이, 결합에 대해 기준 항체와 경쟁하는 항체는 반드시 기준 항체와 동일한 에피토프에 결합하지 않을 수도 있으며, 중첩 또는 인접 에피토프에 결합함으로써 기준 항체의 결합을 입체적으로 차단할 수 있다.

[0170] 2개의 항체는, 각각의 항체가 항원과 나머지 한 항체의 결합을 경쟁적으로 억제 (차단)하는 경우, 동일하거나 중첩하는 에피토프에 결합한다. 즉, 하나의 항체의 1-, 5-, 10-, 20- 또는 100-배 초과량은 경쟁적 결합 분석에서 측정하였을 때 나머지 하나의 결합을 적어도 50%, 바람직하게는 75%, 90% 또는 심지어 99%만큼 억제한다 (예를 들어, 문헌 [Junghans *et al.*, Cancer Res. 1990 50:1495-1502] 참조). 대안적으로, 2개의 항체는, 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 없애는 항원 내의 본질적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소시키거나 없애는 경우, 동일한 에피토프를 갖는다. 2개의 항체는, 하나의 항체의 결합을 감소시키거나 없애는 일부 아미노산 돌연변이가 다른 항체의 결합을 감소시키거나 없애는 경우, 중첩된 에피토프를 갖는다.

[0171] 이어서, 추가적인 일상적인 실험 (예를 들어, 펩티드 돌연변이 및 결합 분석)이 수행되어, 시험 항체의 관찰된 결합 결여가 사실상 기준 항체와 동일한 에피토프에 대한 결합 때문인지의 여부 또는 입체적 차단 (또는 다른 현상)이 관찰된 결합 결여의 원인인지 여부를 확인할 수 있다. 이러한 종류의 실험은 ELISA, RIA, 표면 플라즈몬 공명, 유동세포분석법 또는 당업계에서 이용 가능한 임의의 다른 정량적 또는 정성적 항체-결합 분석을 사용하여 수행될 수 있다.

[0172] 면역접합체

[0173] 본 발명은 치료적 모이어티 ("면역접합체"), 예를 들어 암을 치료하기 위한 화학요법제 또는 세포 독소에 접합된 인간 항-CTLA-4 단일클론 항체를 포괄한다. 본원에서, 용어 "면역접합체"는 세포 독소, 방사능제, 사이토카인, 인터페론, 표적 또는 리포터 모이어티, 효소, 독소, 펩티드 또는 단백질 또는 치료제에 화학적으로 또는 생물학적으로 결합된 항체를 지칭한다. 항체는, 이의 표적에 결합할 수 있는 한, 분자를 따라 임의의 위치에서 세포 독소, 방사능제, 사이토카인, 인터페론, 표적 또는 리포터 모이어티, 효소, 독소, 펩티드 또는 치료제에 결합될 수 있다. 면역접합체의 예는 항체 약물 접합체 및 항체-독소 융합 단백질을 포함한다. 일 구현예에서, 상기 제제는 CTLA-4에 대한 제2 상이한 항체일 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 종양 세포 또는 바이러스 감염된 세포에 특이적인 제제에 접합될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 T-세포에 특이적인 제제에 접합될 수 있다. 상기 항-CTLA-4 항체에 접합될 수 있는 치료적 모이어티의 유형은 치료될 병태 및 달성하고자 하는 목적하는 치료 효과를 고려한다. 면역접합체를 형성하는데 적합한 제제의 예는 당업계에 공지되어 있으며; 예를 들어 WO 05/103081을 참조한다.

[0174] 다중특이적 항체

[0175] 본 발명의 항체는 단일특이적, 이중특이적 또는 다중특이적일 수 있다. 다중특이적 항체는 하나의 표적 폴리펩티드의 상이한 에피토프에 특이적일 수 있거나, 또는 하나 초과 표적 폴리펩티드에 특이적인 항원-결합 도메인들을 함유할 수 있다. 예를 들어 문헌 [Tutt *et al.*, 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer *et al.*, 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244]를 참조한다.

[0176] 일 양태에서, 본 발명은 다중특이적 항원-결합 분자 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하며, 여기서 면역글로불린의 하나의 특이성은 CTLA-4의 세포외 도메인, 또는 이의 단편에 특이적이고, 상기 면역글로불린의 다른 특이성은 CTLA-4의 세포외 도메인 또는 제2 치료 표적 바깥에서의 결합에 특이적이거나, 치료적 모이어티에 접합된다.

[0177] 본 발명의 다중특이적 항원-결합 분자, 또는 이의 변이체 중 임의의 것은, 당업자에게 공지되어 있는 바와 같이, 표준 분자생물학 기술 (예를 들어, 재조합 DNA 및 단백질 발현 기술)을 사용하여 구성될 수 있다.

[0178] 일부 구현예에서, CTLA-4-특이적 항체는, CTLA-4의 별개의 도메인에 결합하는 가변 영역이 함께 결합되어 단일 결합 분자 내의 이중-도메인 특이성을 부여하는, 이중특이적 포맷 ("이중특이성")으로 생성된다. 적절하게 설계된 이중특이성은 특이성 및 결합력 둘 다의 증가를 통해 전체적인 CTLA-4 억제 효능을 향상시킬 수 있다. 개개의 도메인 (예를 들어, N-말단 도메인의 분절)에 대한 특이성을 갖거나, 또는 하나의 도메인 내의 상이한 영역에 결합할 수 있는 가변 영역은, 각각의 영역이 별도의 에피토프, 또는 하나의 도메인 내의 상이한 영역에 동시에 결합하도록 허용하는 구조적 스캐폴드(scaffold) 상에서 쌍을 이룬다. 이중특이성에 대한 일례에서, 하나의 도메인에 대한 특이성을 갖는 결합체로부터의 중쇄 가변 영역 (V_H)은 제2 도메인에 대한 특이성을 갖는 일련의 결합체로부터의 경쇄 가변 영역 (V_L)과 재조합되어 해당 V_H 에 대한 고유의 특이성을 파괴하지 않고도 원래의 V_H

와 쌍을 이룰 수 있는 비동족 V_L 파트너를 식별할 수 있다. 이러한 방식으로, 단일 V_L 분절 (예를 들어, V_L1)은 2개의 상이한 V_H 도메인 (예를 들어, V_H1 및 V_H2)과 조합되어 2개의 결합 "팔" (V_H1-V_L1 및 V_H2-V_L1)로 구성된 이중특이성을 생성할 수 있다. 단일 V_L 분절의 사용은 시스템의 복잡성을 감소시키고, 이로써 이중특이성을 생성 하는데 사용되는 클로닝, 발현 및 정제 공정을 단순화하고 이의 효율을 증가시킨다 (예를 들어, 미국 특허 제 USSN13/022759호 및 제US2010/0331527호 참조).

[0179] 대안적으로, 하나 이상의 도메인 및 제2 표적에 결합하는 항체, 예를 들어 제한되는 것은 아니지만, 제2 상이한 항-CTLA-4 항체는 본원에 기술된 기술, 또는 당업자에게 공지된 다른 기술을 사용하여 이중특이적 포맷으로 제조될 수 있다. 별개의 영역에 결합하는 항체 가변 영역은, 예를 들어, CTLA-4의 세포외 도메인 상의 관련된 부위에 결합하는 가변 영역과 함께 결합되어 단일 결합 분자 내의 이중-항원 특이성을 부여할 수 있다. 이러한 특성의 적절하게 설계된 이중특이성은 이중 기능을 제공한다. 세포외 도메인에 대한 특이성을 갖는 가변 영역은 세포외 도메인 외부에 대한 특이성을 갖는 가변 영역과 결합되고, 각 가변 영역이 개별 항원에 결합하도록 허용하는 구조적 스캐폴드 상에서 쌍을 이룬다.

[0180] 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 예시적인 이중특이적 항체 포맷은 제1 면역글로불린 (Ig) C_H3 도메인 및 제2 Ig C_H3 도메인의 사용을 포함하며, 여기서 상기 제1 및 제2 Ig C_H3 도메인은 적어도 하나의 아미노산이 상이하고, 적어도 하나의 아미노산 차이는 아미노산 차이가 없는 이중특이적 항체와 비교하여 단백질 A에 대한 상기 이중특이적 항체의 결합을 감소시킨다. 일 구현예에서, 상기 제1 Ig C_H3 도메인은 단백질 A에 결합하고 상기 제2 Ig C_H3 도메인은 단백질 A 결합을 감소시키거나 폐지하는 돌연변이, 예를 들어 H95R 변형 (IMGT 엑손 번호매김에 의해; EU 번호매김에 의해 H435R)을 함유한다. 제2 C_H3 은 Y96F 변형 (IMGT에 의해; EU에 의해 Y436F)을 추가로 함유할 수 있다. 제2 C_H3 내에서 발견될 수 있는 추가적인 변형은, IgG1 항체의 경우, D16E, L18M, N44S, K52N, V57M 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의해 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M 및 V422I); IgG2 항체의 경우, N44S, K52N 및 V82I (IMGT; EU에 의해 N384S, K392N 및 V422I); 및 IgG4 항체의 경우, Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의해 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q 및 V422I)를 포함한다. 상기 기술된 이중특이적 항체 포맷 상의 변화는 본 발명의 범위 내에서 고려된다.

[0181] 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 다른 예시적인 이중특이적 포맷은, 예를 들어 비제한적으로, scFv-기반 또는 디아바디 이중특이적 포맷, IgG-scFv 융합체, 이중 가변 도메인 (DVD)-Ig, 콰드로마 (Quadroma), 노브-인투-홀 (knobs-into-holes), 공통 경쇄 (예를 들어, 노브-인투-홀을 갖는 공통 경쇄 등), CrossMab, CrossFab, (SEED)body, 류신 지퍼, 듀오바디 (Duobody), IgG1/IgG2, 이중 작용 Fab (DAF)-IgG, 및 Mab² 이중특이적 포맷을 포함한다 (진술한 포맷의 검토를 위해서는, 예를 들어, 문헌 [Klein *et al.* 2012, mAbs 4:6, 1-11] 및 그 안에 인용된 참고문헌 참조). 이중특이적 항체는 또한 펩티드/핵산 접합을 사용하여 구성될 수 있으며, 예를 들어, 직교 화학 반응성을 갖는 비천연 아미노산은 부위-특이적 항체-올리고뉴클레오타이드 접합체를 생성하는데 사용되며, 이는 한정된 조성, 원자가 및 기하학적 구조를 갖는 다량체 복합체로 자가-조립된다. (예를 들어 문헌 [Kazane *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* [Epub: Dec. 4, 2012]] 참조).

[0182] 치료적 투여 및 제형

[0183] 본 발명은 본 발명의 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 포함하는 치료용 조성물을 제공한다. 본 발명에 따른 치료용 조성물은 적합한 담체, 부형제, 및 개선된 전송, 전달, 내성 등을 제공하도록 제형 내에 포함되는 다른 제제와 함께 투여된다. 다수의 적절한 제형은 모든 제약화학자에게 공지되어 있는 처방집인 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA]에서 찾을 수 있다. 이들 제형은 예를 들어, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 소포 함유 지질 (양이온성 또는 음이온성) (예를 들어 LIPOFECTINTM), DNA 접합체, 무수 흡수 페이스트, 수중유 및 유중수 에멀전, 에멀전 카보왁스 (다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고체 겔, 및 카보왁스 함유 반고체 혼합물을 포함한다. 또한, 문헌 [Powell *et al.* "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311]을 참조한다.

[0184] 항체의 용량은 투여될 대상체의 연령 및 체격, 표적 질환, 병태, 투여 경로 등에 따라 달라질 수 있다. 본 발명의 항체가 성인 환자에서 질환 또는 장애를 치료하거나, 이러한 질환을 예방하는데 사용되는 경우, 일반적으로는 약 0.1 내지 약 60 mg/체중 kg, 더욱 바람직하게는 약 5 내지 약 60, 약 20 내지 약 50, 약 10 내지 약 50,

약 1 내지 약 10, 또는 약 0.8 내지 약 11 mg/체중 kg의 단일 용량으로 본 발명의 항체를 투여하는 것이 유리하다. 병태의 중증도에 따라, 치료의 빈도 및 기간이 조정될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 적어도 약 0.1 mg 내지 약 800 mg, 약 1 내지 약 500 mg, 약 5 내지 약 300 mg, 또는 약 10 내지 약 200 mg, 내지 약 100 mg, 또는 내지 약 50 mg의 초기 용량으로서 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 초기 용량에 뒤이어, 상기 초기 용량의 양과 대략 동일하거나 그보다 적을 수 있는 양의 제2 또는 복수의 후속 용량의 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 투여될 수 있으며, 여기서 상기 후속 용량은 적어도 1일 내지 3일; 적어도 1주, 적어도 2주; 적어도 3주; 적어도 4주; 적어도 5주; 적어도 6주; 적어도 7주; 적어도 8주; 적어도 9주; 적어도 10주; 적어도 12주; 또는 적어도 14주로 분리된다.

[0185] 다양한 전달 시스템, 예를 들어, 리포솜 내 캡슐화, 마이크로입자, 마이크로캡슐, 돌연변이 바이러스를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개된 세포내이입이 공지되어 있고 본 발명의 약학적 조성물을 투여하는데 사용될 수 있다 (예를 들어 문헌 [Wu et al. (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432] 참조). 도입 방법은 피내, 경피, 근육내, 복강내, 정맥내, 피하, 비강내, 경막외 및 경구 경로를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 상기 조성물은 임의의 편리한 경로, 예를 들어, 주입 또는 볼투스 주사 (bolus injection), 상처 또는 점막피부 내벽 (예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장 점막 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수 있다. 투여는 전신적 또는 국소적일 수 있다. 상기 약학적 조성물은 또한 소포, 특히 리포솜 내에서 전달될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Langer (1990) Science 249:1527-1533] 참조).

[0186] 본 발명의 항체를 전달하기 위한 나노입자의 용도가 또한 본원에서 고려된다. 항체-접합된 나노입자는 치료적 및 진단적 응용 분야 둘 다에 사용될 수 있다. 항체-접합된 나노입자 및 제조 및 사용 방법은 원용에 의해 본원에 포함된 문헌 [Arruebo, M., et al. 2009 ("Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications" in J. Nanomat. Volume 2009, Article ID 439389, 24 pages, doi: 10.1155/2009/439389)]에 상세히 기술되어 있다. 나노입자는 종양 세포 또는 자가면역 조직 세포 또는 바이러스 감염된 세포를 표적화하기 위해 개발되어 약학적 조성물에 함유된 항체에 접합될 수 있다. 약물 전달을 위한 나노입자는 또한, 예를 들어 각각의 전체 내용이 원용에 의해 본원에 포함된 미국 특허 제8257740호 또는 제8246995호에 기술되어 있다.

[0187] 특정 상황에서, 상기 약학적 조성물은 제어된 방출 시스템에서 전달될 수 있다. 일 구현예에서, 펌프가 사용될 수 있다. 다른 구현예에서, 중합체 물질이 사용될 수 있다. 다른 구현예에서, 제어된 방출 시스템은 상기 조성물의 표적 근처에 배치될 수 있으며, 따라서 전신적 용량의 일부만을 필요로 한다.

[0188] 주사 가능 조제물은 정맥내, 피하, 종양내, 종양 주위, 피내, 두개내, 복강내 및 근육내 주사, 점적 주입 등을 위한 투약 형태를 포함할 수 있다. 이들 주사 가능 조제물은 공개적으로 공지된 방법에 의해 제조될 수 있다. 예를 들어, 상기 주사 가능 조제물은, 예를 들어, 주사에 통상적으로 사용되는 멸균 수성 배지 또는 유성 배지에 상기 기술된 항체 또는 이의 염을 용해시키거나, 현탁시키거나 또는 에멀전화하여 제조될 수 있다. 주사용 수성 배지로서, 예를 들어, 생리 식염수, 글루코스 및 다른 보체를 함유하는 등장성 용액 등이 있으며, 이들은 적절한 가용화제, 예를 들어 알코올 (예를 들어, 에탄올), 폴리알코올 (예를 들어, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제 [예를 들어, 폴리소르베이트 80, HCO-50 (수소화된 피마자유의 폴리옥시에틸렌 (50 몰) 부가물)] 등과 조합하여 사용될 수 있다. 유성 배지로서, 예를 들어 참기름, 대두유 등이 이용되고, 이는 벤질 벤조에이트, 벤질 알코올 등과 같은 가용화제와 조합하여 사용될 수 있다. 이렇게 제조된 주사액은 바람직하게는 적절한 애플에 충전된다.

[0189] 본 발명의 약학적 조성물은 표준 바늘 및 주사기를 이용하여 피하로 또는 정맥내로 전달될 수 있다. 또한, 피하 전달과 관련하여, 펜 전달 장치는 본 발명의 약학적 조성물을 전달하는데 용이하게 적용된다. 이러한 펜 전달 장치는 재사용 가능하거나 일회용일 수 있다. 재사용 가능한 펜 전달 장치는 일반적으로, 약학적 조성물을 함유하는 교체 가능한 카트리지를 이용한다. 일단 카트리지 내의 모든 약학적 조성물이 투여되고 카트리지가 비워지면, 빈 카트리지는 용이하게 폐기되고, 상기 약학적 조성물을 함유하는 새로운 카트리지로 대체될 수 있다. 그 후에, 상기 펜 전달 장치는 재사용될 수 있다. 일회용 펜 전달 장치에는 교체 가능한 카트리지 없다. 그보다는, 상기 일회용 펜 전달 장치는 장치 내의 저장조에 보유된 약학적 조성물로 사전충전된다. 저장조에 약학적 조성물이 비면, 전체 장치가 폐기된다.

[0190] 다수의 재사용 가능한 펜 및 자동주사기 전달 장치가 본 발명의 약학적 조성물의 피하 전달에 적용된다. 반드시 이에 제한되는 것은 아니지만, 예로는 일부만 언급하자면 AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ 펜 (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II 및 III (Novo Nordisk,

Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BD™ 펜 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™ 및 OPTICLIK™ (Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)을 포함한다. 본 발명의 약학적 조성물의 피하 전달에 적용되는 일회용 펜 전달 장치의 예는 반드시 이에 제한되는 것은 아니지만, 일부만 언급하자면 SOLOSTAR™ 펜 (Sanofi-Aventis), FLEXPEN™ (Novo Nordisk) 및 KWIPEN™ (Eli Lilly), SURECLICK™ 자동주사기 (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) 및 HUMIRA™ 펜 (Abbott Labs, Abbott Park, IL)을 포함한다.

[0191] 유리하게는, 상기 기술된 경구 또는 비경구 용도를 위한 약학적 조성물은 활성 성분의 용량에 맞춰진 단위 용량의 투약 형태로 제조된다. 이러한 단위 용량의 투약 형태는 예를 들어, 정제, 환제, 캡슐제, 주사액 (앰플), 좌제 등을 포함한다. 함유된 항체의 양은 일반적으로 단위 용량의 투약 형태 당 약 5 내지 약 500 mg이고; 특히 주사액 형태의 경우에는, 상기 항체가 약 5 내지 약 100 mg으로 함유되고, 다른 투약 형태에 대해서는 약 10 내지 약 250 mg으로 함유되는 것이 바람직하다.

[0192] 항체의 치료적 용도

[0193] 본 발명의 항체는 특히, CTLA-4 발현, 신호전달 또는 활성과 연관성이 있거나, 이들에 의해 매개되거나, 또는 CTLA-4 및 CTLA-4 리간드인 B7-1/CD80 및/또는 B7-2/CD86 사이의 상호작용을 차단하거나 그렇지 않으면 CTLA-4 활성 및/또는 신호전달을 억제함으로써 치료할 수 있는 임의의 질환 또는 장애의 치료, 예방 및/또는 개선에 유용하다. 본 발명의 하나 이상의 항체는 상기 질환 또는 장애의 증상 또는 병태 중 하나 이상의 증증도를 경감시키거나, 예방하거나, 감소시키기 위해 투여될 수 있다. 예를 들어, 본 발명은 본원에 기술된 항-CTLA-4 항체 (또는 항-CTLA-4 항체를 포함하는 약학적 조성물)를 이러한 치료를 필요로 하는 환자에게 투여함으로써 암 (종양 성장 억제) 및/또는 바이러스 감염을 치료하는 방법, 및 암 (종양 성장 억제) 및/또는 바이러스 감염의 치료에 사용하기 위한 항-CTLA-4 항체 (또는 항-CTLA-4 항체를 포함하는 약학적 조성물)를 제공한다. 본 발명의 항체는 암 또는 바이러스 감염과 같은 질환 또는 장애 또는 병태의 치료, 예방, 및/또는 개선 및/또는 이러한 질환, 장애 또는 병태에 관련된 적어도 하나의 증상의 개선에 유용하다. 본원에 기술된 치료 방법의 맥락에서, 상기 항-CTLA-4 항체는 단일 요법으로서 (즉, 유일한 치료제로서) 또는 하나 이상의 추가적인 치료제와 조합하여 (이의 예는 본원의 다른 곳에 기술됨) 투여될 수 있다.

[0194] 본 발명의 특정 구현예에서, 본원에 기술된 항체는, 혈액암, 뇌암 (예를 들어, 다형성교아종), 신장 세포 암종 (예를 들어, 투명 세포 신장암), 난소암, 방광암, 전립선암, 유방암 (예를 들어, 삼중 음성 유방암), 신장암, 자궁경부암, 피부암, 간암, 위암, 췌장암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부 편평 세포 암종, 결장직장암, 중피종, 및 흑색종을 포함하나 이에 제한되지 않는 원발성 또는 재발성 암을 앓고 있는 대상체를 치료하는데 유용하다.

[0195] 본원에서, 용어 "혈액암"은 혈액, 골수, 림프, 또는 림프계에 영향을 미치는 혈액 악성 종양을 포함한다. 이와 같이, 상기 용어는 림프 및 골수 세포 계통의 세포의 악성 종양을 포함한다. 골수 세포주는 일반적으로 과립구, 적혈구, 혈소판, 대식세포, 및 비만세포를 생산하고; 림프 세포주는 B, T, NK 및 혈장 세포를 생산한다. 따라서, 상기 용어는 상기 언급된 세포의 악성 종양, 즉, 림프종, 골수종, 림프성 백혈병 및 골수성 백혈병을 포함한다. 그 예는 급성 림프모구 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 급성 단핵구 백혈병, 호지킨 림프종, 비호지킨 림프종 (예를 들어, B 세포 림프종, 확산성 거대 B 세포 림프종), 및 골수종 (다발성 골수종 포함)을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0196] 상기 항체는 암의 초기 또는 말기 증상을 치료하는데 사용될 수 있다. 일 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 진행성 또는 전이성 암을 치료하는데 사용될 수 있다. 상기 항체는 고체 종양 및 혈액암 둘 다의 종양 성장을 감소시키거나 억제하거나 또는 위축시키는데 유용하다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 사용한 치료는 대상체에서 종양의 40% 초과 퇴행, 50% 초과 퇴행, 60% 초과 퇴행, 70% 초과 퇴행, 80% 초과 퇴행 또는 90% 초과 퇴행을 초래한다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 종양의 재발을 방지하는데 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 상기 항체는 암에 걸린 대상체에서 무진행 생존 또는 전체 생존을 연장시키는데 유용하다. 일부 구현예에서, 상기 항체는 암을 앓고 있는 환자에서 화학요법 또는 방사선요법으로 인한 독성을 감소시키는 한편, 장기간 생존을 유지하는데 유용하다. 특정 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체는 국소적으로 하나 이상의 종양 병소에 (종양내 또는 종양 주위로) 주입되고, 대상체의 주입된 종양 뿐만 아니라 하나 이상의 인접 또는 원거리 종양에서 종양 성장의 억제를 초래한다 (압스코팔 효과 (abscopal effect)).

- [0197] 특정 구현예에서, 본 발명의 항체는 만성 바이러스 감염을 앓고 있는 대상체를 치료하는데 유용하다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체는 숙주에서 바이러스 역가를 감소시키고/거나 기능 소실된 T 세포를 구제하는데 유용하다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 단편은 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV)에 의한 만성 바이러스 감염을 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV) 또는 인간 유두종 바이러스 (HPV) 또는 B/C형 간염 바이러스 (HBV/HCV)에 의해 감염된 환자에게 치료 용량으로 투여될 수 있다. 관련 구현예에서, 본 발명의 항체 또는 이의 항원-결합 단편은 원숭이 대상체, 예를 들어 시노물구스에서 원숭이 면역 결핍 바이러스 (SIV)에 의한 감염을 치료하는데 사용될 수 있다.
- [0198] 특정 구현예에서, 본 발명의 차단 항체는 암 또는 바이러스 감염을 앓고 있는 대상체에게 치료적 유효량으로 투여될 수 있다.
- [0199] 특정 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체는 암에 걸린 대상체에서 종양으로 또는 종양 병소 근처에 (종양 내 또는 종양 주위로) 국소적으로 투여되어 전신적 노출을 최소화하고 항체의 전신적 노출로 인한 독성을 예방/개선한다.
- [0200] 또한 본원에서는 암, 및 바이러스 감염과 같은 질환 또는 장애에 걸릴 위험이 있는 환자에게 본 발명의 하나 이상의 항체를 예방적으로 사용하는 것이 고려된다.
- [0201] 본 발명의 추가적인 구현예에서, 본 항체는 암, 또는 바이러스 감염을 앓고 있는 환자를 치료하기 위한 약학적 조성물의 제조에 사용된다. 본 발명의 다른 구현예에서, 본 항체는 암 또는 바이러스 감염을 치료하는데 유용한, 당업자에게 공지되어 있는 임의의 다른 제제 또는 임의의 다른 요법과 함께 보조 요법으로 사용된다.
- [0202] **병용 요법 및 제형**
- [0203] 병용 요법은 본 발명의 항-CTLA-4 항체 및 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 항체의 생물학적 활성 단편과 유리하게 조합될 수 있는 임의의 추가적인 치료제를 포함할 수 있다.
- [0204] 본 발명의 항체는, 예를 들어, 혈액암, 뇌암 (예를 들어 다형성교아종), 신장 세포 암종, 난소암, 방광암, 전립선암, 유방암, 간세포 암종, 골암, 피부암, 자궁경부암, 위암, 신장암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부 편평 세포 암종, 결장직장암, 중피종, 및 흑색종을 포함하는 암을 치료하거나 억제하는데 사용되는 하나 이상의 항암제 또는 항암 요법과 시너지적으로 조합될 수 있다. 본원에서는 종양 성장을 억제하고/거나 암 환자의 생존을 향상시키기 위해 면역자극 및/또는 면역억제 요법과 조합하여 본 발명의 항-CTLA-4 항체를 사용하는 것이 고려된다. 상기 면역자극 요법은 면역 반응을 활성화시키기 위해 억제된 면역 세포에서 "브레이크 (brake)를 해제"하거나 또는 "가속화"함으로써 면역 세포 활성을 증가시키기 위한 직접적 면역자극 요법을 포함한다. 그 예는 다른 체크포인트 수용체의 표적화, 백신 접종 및 보조제를 포함한다. 상기 면역억제 요법은 면역원성 세포 사멸, 염증을 촉진하여 종양의 항원성을 증가시키거나, 또는 항종양 면역 반응을 촉진하는 다른 간접적인 효과를 달성할 수 있다. 그 예는 방사선, 화학요법, 항-혈관형성제, 및 수술을 포함한다.
- [0205] 다양한 구현예에서, 본 발명의 하나 이상의 항체는 PD-1 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체, 예를 들어 니볼루맙, 펌브롤리주맙, 피달리주맙, BGB-A317 또는 REGN2810), PD-L1 억제제 (예를 들어, 항-PD-L1 항체, 예를 들어 아벨루맙, 아테졸리주맙, 두르발루맙, MDX-1105, 또는 REGN3504), LAG3 억제제, TIM3 억제제, BTLA 억제제, TIGIT 억제제, CD47 억제제, CD28 억제제, CSF1R 억제제, CXCR 억제제, CCR4 억제제, CCR8 억제제, CD40 억제제, OX40 억제제, GITR 억제제, 다른 T 세포 공동-억제제 또는 리간드의 길항제 (예를 들어, CD-28, 2B4, LY108, LAIR1, ICOS, CD160 또는 VISTA에 대한 항체), 인돌아민-2,3-디옥시게나제 (IDO) 억제제, 혈관 내피 성장 인자 (VEGF) 길항제 [예를 들어, "VEGF-Trap", 예를 들어 애플리버셉트 또는 US 7,087,411에 제시된 다른 VEGF-억제 융합 단백질, 또는 이의 항-VEGF 항체 또는 이의 항원-결합 단편 (예를 들어, 베바시주맙, 또는 라니비주맙) 또는 VEGF 수용체의 소분자 키나제 억제제 (예를 들어, 수니티닙, 소라페닙, 또는 파조파닙)], Ang2 억제제 (예를 들어, 네스바쿠맙), 형질전환 성장 인자 베타 (TGF β) 억제제, 표피 성장 인자 수용체 (EGFR) 억제제 (예를 들어, 에를로티닙, 세툭시맙), CD20 억제제 (예를 들어, 항-CD20 항체, 예를 들어 리툭시맙), 종양-특이적 항원 [예를 들어, CA9, CA125, 흑색종-관련 항원 3 (MAGE3), 암배아 항원 (CEA), 비멘틴, 종양-M2-PK, 전립선-특이적 항원 (PSA), 뮤신-1, MART-1, 및 CA19-9]에 대한 항체, 백신 (예를 들어, 바실루스 칼메테-게랭 (Bacillus Calmette-Guerin), 암 백신), 항원 제시를 증가시키는 보조제 (예를 들어, 과립구-대식세포 콜로니-자극 인자), 이중특이적 항체 (예를 들어, CD3xCD20 이중특이적 항체, 또는 PSMAxCD3 이중특이적 항체), 세포 독소, 화학요법제 (예를 들어, 다카르바진, 테모졸로미드, 사이클로포스파미드, 도세탁셀, 독소루비신, 다우노

루비신, 시스플라틴, 카르보플라틴, 젬시타빈, 메토틱렉세이트, 미톡산트론, 옥살리플라틴, 파클리탁셀, 및 빈크리스틴), 사이클로포스파미드, 수술, 방사선요법, IL-6R 억제제 (예를 들어, 사릴루맵), IL-4R 억제제 (예를 들어, 두필루맵), IL-10 억제제, 사이토카인, 예를 들어 IL-2, IL-7, IL-21, 및 IL-15, 항체-약물 접합체 (ADC) (예를 들어, 항-CD19-DM4 ADC, 및 항-DS6-DM4 ADC), 항염증제 (예를 들어, 코르티코스테로이드, 및 비스테로이드성 항염증제), 식이 보조제, 예를 들어 항산화제 또는 암을 치료하기 위한 임의의 다른 치료 요법과 조합하여 사용될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 항종양 반응을 증가시키기 위해 수지상 세포 백신, 종양 세포 붕괴성 바이러스, 종양 세포 백신 등을 포함하는 암 백신과 조합하여 사용될 수 있다. 본 발명의 항-CTLA-4 항체와 조합하여 사용될 수 있는 암 백신의 예는 흑색종 및 방광암에 대한 MAGE3 백신, 유방암에 대한 MUC1 백신, 뇌암 (다형성교아종 포함)에 대한 EGFRv3 (예를 들어, 린도페피무트), 또는 ALVAC-CEA (CEA+ 암에 대하여)를 포함한다.

[0206] 특정 구현예에서, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 암에 걸린 환자의 장기간 내구성 항종양 반응을 발생시키고/거나 생존을 향상시키는 방법에서 방사선요법과 조합하여 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 암 환자에게 방사선요법을 투여하기 전에, 동시에 또는 후에 투여될 수 있다. 예를 들어, 방사선요법이 종양 병소에 1회 이상의 용량으로 투여된 후, 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 1회 이상의 용량이 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 환자의 종양의 국소 면역원성을 향상시키고/거나 (보조 방사선) 종양 세포를 살상하기 위해 (절제 방사선) 방사선요법이 종양 병소에 국소적으로 투여된 다음, 본 발명의 항-CTLA-4 항체가 전신적으로 투여될 수 있다. 예를 들어, 두개내 방사선은 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 전신적 투여와 조합하여 뇌암 (예를 들어, 다형성교아종)에 걸린 환자에게 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 방사선요법 및 화학요법제 (예를 들어, 테모졸로미드) 또는 VEGF 길항제 (예를 들어, 애플리버셉트)와 조합하여 투여될 수 있다. 특정 구현예에서, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 방사선요법 및 화학요법제 (예를 들어, 테모졸로미드) 또는 PD-1 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체, 예를 들어 REGN2810, 니볼루맵 또는 펌브롤리주맵)와 조합하여 투여될 수 있다.

[0207] 특정 구현예에서, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 LCMV, HIV, HPV, HBV 또는 HCV에 의해 유발된 만성 바이러스 감염을 치료하기 위해 하나 이상의 항바이러스제와 조합하여 투여될 수 있다. 항바이러스제의 예는 지도부딘, 라미부딘, 아바카비르, 리마비린, 로피나비르, 에파비렌즈, 코비시스타트, 테노포비르, 릴피비린 및 코르티코스테로이드를 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다.

[0208] 추가적인 치료적 활성 제제(들)/성분(들)는 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 투여 전에, 동시에, 또는 후에 투여될 수 있다. 본 개시내용의 목적상, 이러한 투여 요법은 제2 치료적 활성 성분과 "조합된" 항-CTLA-4 항체의 투여로 간주된다.

[0209] 추가적인 치료적 활성 성분(들)은 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 투여 전에 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 제1 성분이 제2 성분의 투여 1주 전, 72시간 전, 60시간 전, 48시간 전, 36시간 전, 24시간 전, 12시간 전, 6시간 전, 5시간 전, 4시간 전, 3시간 전, 2시간 전, 1시간 전, 30분 전, 15분 전, 10분 전, 5분 전, 또는 1분 미만 전에 투여되는 경우, 제1 성분은 제2 성분 "전에" 투여되는 것으로 간주될 수 있다. 다른 구현예에서, 추가적인 치료적 활성 성분(들)은 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 투여 후 대상체에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 제1 성분이 제2 성분의 투여 1분 후, 5분 후, 10분 후, 15분 후, 30분 후, 1시간 후, 2시간 후, 3시간 후, 4시간 후, 5시간 후, 6시간 후, 12시간 후, 24시간 후, 36시간 후, 48시간 후, 60시간 후, 72시간 후에 투여되는 경우, 제1 성분은 제2 성분 "후에" 투여되는 것으로 간주될 수 있다. 다른 구현예에서, 추가적인 치료적 활성 성분(들)은 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 투여와 동시에 대상체에게 투여될 수 있다. "동시" 투여는, 본 발명의 목적상, 예를 들어, 단일 투약 형태 (예를 들어, 공동-제형화됨)로, 또는 서로에 대해 30분 이하 내에 대상체에게 투여되는 별도의 투약 형태로, 대상체에게 항-CTLA-4 항체 및 추가적인 치료적 활성 성분을 투여하는 것을 포함한다. 별도의 투약 형태로 투여되는 경우, 각각의 투약 형태는 동일한 경로를 통해 투여될 수 있으며 (예를 들어, 항-CTLA-4 항체 및 추가적인 치료적 활성 성분은 둘 다 정맥내, 피하 등으로 투여될 수 있음); 대안적으로, 각각의 투약 형태는 상이한 경로를 통해 투여될 수 있다 (예를 들어, 항-CTLA-4 항체는 정맥내 투여될 수 있고, 추가적인 치료적 활성 성분은 피하 투여될 수 있음). 어떠한 경우에도, 단일 투약 형태로, 같은 경로에 의한 별도의 투약 형태로, 또는 상이한 경로에 의한 별도의 투약 형태로 성분을 투여하는 것은 본 개시내용의 목적상 모두 "동시 투여"로 간주된다. 본 개시내용의 목적상, 추가적인 치료적 활성 성분의 투여 "전에", "동시에", 또는 "후에" (이들 용어는 본원에서 상기에 한정함) 항-CTLA-4 항체를 투여하는 것은 추가적인 치료적 활성 성분과 "조합된" 항-CTLA-4 항체의 투여로 간주된다.

[0210] 본 발명은, 본 발명의 항-CTLA-4 항체가 다양한 투약 조합을 사용하여 본원의 다른 곳에서 기술된 추가적인 치

료적 활성 성분(들) 중 하나 이상과 공동-제형화된 약학적 조성물을 포함한다.

[0211] 항-CTLA-4 항체 및 PD-1 억제제를 포함하는 공동-제형의 투여를 비롯한, 본 발명의 항-CTLA-4 항체가 PD-1 억제제 (예를 들어, 그 전체 내용이 원용에 의해 본원에 포함된 US 2015/0203579에 개시된 항-PD-1 항체)와 조합하여 투여되는 예시적인 구현예에서, 개개의 성분은 다양한 투약 조합을 사용하여 대상체에게 투여되고/거나 공동-제형화될 수 있다. 따라서, 본 발명은 암 또는 바이러스 감염의 치료에서 동시, 별도 및/또는 순차적 사용을 위한 (i) 본 발명의 항-CTLA-4 항체, 및 (ii) PD-1 억제제 (예를 들어, 그 전체 내용이 원용에 의해 본원에 포함된 US 2015/0203579에 개시된 항-PD-1 항체)의 조합을 포함한다. 예를 들어, 상기 항-CTLA-4 항체 및 상기 PD-1 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)은 각각 0.01 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1.0 mg/kg, 1.5 mg/kg, 2.0 mg/kg, 2.5 mg/kg, 3.0 mg/kg, 3.5 mg/kg, 4.0 mg/kg, 4.5 mg/kg, 5.0 mg/kg, 6.0 mg/kg, 7.0 mg/kg, 8.0 mg/kg, 9.0 mg/kg, 및 10.0 mg/kg으로 구성된 군으로부터 선택된 양으로 대상체에게 투여되고/거나 공동-제형에 함유될 수 있다. 일 구현예에서, 상기 항-CTLA-4 항체 및 상기 PD-1 억제제 (예를 들어, 항-PD-1 항체)은 각각 약 50 mg 내지 약 600 mg의 양으로, 예를 들어 50 mg, 100 mg, 200 mg, 250 mg, 300 mg, 350 mg, 400 mg, 450 mg, 500 mg, 550 mg, 및 600 mg으로 구성된 군으로부터 선택된 양으로 대상체에게 투여되고/거나 공동-제형에 함유될 수 있다. 상기 조합/공동-제형은, 예를 들어, 주 2회, 주 1회, 2주 1회, 3주 1회, 1개월 1회, 2개월 1회, 3개월 1회, 4개월 1회, 5개월 1회, 6개월 1회 등을 비롯한, 본원의 다른 곳에서 개시된 투여 요법 중 임의의 것에 따라 대상체에게 투여될 수 있다. 본 발명의 항-CTLA-4 항체는, 예를 들어, 약 3 내지 5, 또는 약 3.0 mg/kg의 용량의 PD-1 억제제 (예를 들어, US 2015/0203579에 개시된 항-PD-1 항체)과 동시에, 약 0.8 내지 약 11, 약 1 내지 약 10, 약 3 내지 약 10, 약 1, 약 3 또는 약 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 동시 투여는, 예를 들어, 14일마다, 21일마다 또는 28일마다 발생할 수 있다.

[0212] 항-CTLA-4 항체, 항-PD-1 항체, 및 VEGF 길항제를 포함하는 공동-제형의 투여를 비롯한, 본 발명의 항-CTLA-4 항체가 항-PD-1 항체 및 VEGF 길항제 (예를 들어, VEGF 트랩, 예를 들어 애플리버셉트)와 조합하여 투여되는 예시적인 구현예에서, 개개의 성분은 다양한 투약 조합을 사용하여 대상체에게 투여되고/거나 공동-제형화될 수 있다. 예를 들어, 상기 항-CTLA-4 항체 및/또는 항-PD-1 항체는 0.01 mg, 0.02 mg, 0.03 mg, 0.04 mg, 0.05 mg, 0.1 mg, 0.2 mg, 0.3 mg, 0.4 mg, 0.5 mg, 0.6 mg, 0.7 mg, 0.8 mg, 0.9 mg, 1.0 mg, 1.5 mg, 2.0 mg, 2.5 mg, 3.0 mg, 3.5 mg, 4.0 mg, 4.5 mg, 5.0 mg, 6.0 mg, 7.0 mg, 8.0 mg, 9.0 mg, 및 10.0 mg으로 구성된 군으로부터 선택된 양으로 대상체에게 투여되고/거나 공동-제형에 함유될 수 있고; 상기 VEGF 길항제 (예를 들어, VEGF 트랩, 예를 들어 애플리버셉트)는 0.1 mg, 0.2 mg, 0.3 mg, 0.4 mg, 0.5 mg, 0.6 mg, 0.7 mg, 0.8 mg, 0.9 mg, 1.0 mg, 1.1 mg, 1.2 mg, 1.3 mg, 1.4 mg, 1.5 mg, 1.6 mg, 1.7 mg, 1.8 mg, 1.9 mg, 2.0 mg, 2.1 mg, 2.2 mg, 2.3 mg, 2.4 mg, 2.5 mg, 2.6 mg, 2.7 mg, 2.8 mg, 2.9 mg 및 3.0 mg으로 구성된 군으로부터 선택된 양으로 대상체에게 투여되고/거나 공동-제형에 함유될 수 있다. 상기 조합/공동-제형은, 예를 들어, 주 2회, 주 1회, 2주 1회, 3주 1회, 1개월 1회, 2개월 1회, 3개월 1회, 4개월 1회, 5개월 1회, 6개월 1회 등을 비롯한, 본원의 다른 곳에서 개시된 투여 요법 중 임의의 것에 따라 대상체에게 투여될 수 있다.

[0213] 투여 요법

[0214] 본 발명의 특정 구현예에 따르면, 항-CTLA-4 항체 (또는 항-CTLA-4 항체 및 본원에 언급된 추가적인 치료적 활성 제제 중 임의의 것의 조합을 포함하는 약학적 조성물)의 다중 용량은 한정된 시간 경로에 걸쳐 대상체에게 투여될 수 있다. 본 발명의 이 양태에 따른 방법은 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 다중 용량을 대상체에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서, "순차적으로 투여하는"은 항-CTLA-4 항체의 각각의 용량이 상이한 시점에, 예를 들어, 미리 결정된 간격 (예를 들어, 시간, 일, 주 또는 개월)으로 분리된 상이한 날짜에 대상체에게 투여된다는 것을 의미한다. 본 발명은 항-CTLA-4 항체의 단일 초기 용량에 이어서, 상기 항-CTLA-4 항체의 1회 이상의 2차 용량, 이어서 선택적으로 상기 항-CTLA-4 항체의 1회 이상의 3차 용량을 환자에게 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다. 상기 항-CTLA-4 항체는 0.1 mg/대상체 체중 kg 내지 100 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다.

[0215] 용어 "초기 용량", "2차 용량", 및 "3차 용량"은 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 투여의 시간적 순서를 지칭한다. 따라서, "초기 용량"은 치료 요법의 초기에 투여되는 용량이고 ("기준치 용량"으로도 지칭됨); "2차 용량"은 초기 용량 이후에 투여되는 용량이고; "3차 용량"은 2차 용량 이후에 투여되는 용량이다. 상기 초기, 2차, 및 3차 용량이 모두 동일한 양의 항-CTLA-4 항체를 함유할 수 있지만, 일반적으로 투여의 빈도의 측면에서는 서로 다를 수 있다. 그러나, 특정 구현예에서, 상기 초기, 2차 및/또는 3차 용량에 함유된 항-CTLA-4 항체의 양은 치료 과정 동안에 서로 다르다 (예를 들어, 적절하게 상향 또는 하향 조정됨). 특정 구현예에서, 2회 이상 (예를 들어,

2, 3, 4, 또는 5회)의 용량이 "로딩 용량"으로서 치료 요법의 초기에 투여된 후, 후속 용량 (예를 들어, "유지 용량")은 덜 빈번하게 투여된다.

[0216] 특정 구현예에서, 상기 초기, 2차 및/또는 3차 용량에 함유된 항-CTLA-4 항체의 양은 차선택적이거나 준치료적일 수 있다. 본원에서, 용어 "준치료적" 또는 "차선택적"은 치료 효과를 달성하기에 너무 낮은 수준으로 또는 암과 같은 질환을 치료하는데 필요한 수준보다 낮게 투여되는 항체 용량을 지칭한다.

[0217] 본 발명의 특정 예시적인 구현예에서, 각각의 2차 및/또는 3차 용량은 직전 용량 이후 1 내지 26주 (예를 들어, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½, 또는 그 이상)에 투여된다. 본원에서, 어구 "직전 용량"은 다중 투여의 순서에서, 개재 용량 없이, 바로 다음 용량의 투여 전에 환자에게 투여된 항-CTLA-4 항체의 용량을 의미한다.

[0218] 본 발명의 이 양태에 따른 방법은 항-CTLA-4 항체의 임의의 횟수의 2차 및/또는 3차 용량을 환자에게 투여하는 단계를 포함할 수 있다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 단일 2차 용량만이 환자에게 투여된다. 다른 구현예에서, 2회 이상 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회, 또는 그 이상)의 2차 용량이 환자에게 투여된다. 마찬가지로, 특정 구현예에서, 단일 3차 용량만이 환자에게 투여된다. 다른 구현예에서, 2회 이상 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회, 또는 그 이상)의 3차 용량이 환자에게 투여된다.

[0219] 다중 2차 용량을 포함하는 구현예에서, 각각의 2차 용량은 다른 2차 용량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각각의 2차 용량은 직전 용량 이후 1 내지 2주 또는 1 내지 2개월에 환자에게 투여될 수 있다. 유사하게, 다중 3차 용량을 포함하는 구현예에서, 각각의 3차 용량은 다른 3차 용량과 동일한 빈도로 투여될 수 있다. 예를 들어, 각각의 3차 용량은 직전 용량 이후 2 내지 12주에 환자에게 투여될 수 있다. 본 발명의 특정 구현예에서, 상기 2차 및/또는 3차 용량이 환자에게 투여되는 빈도는 치료 요법의 과정에 걸쳐 달라질 수 있다. 투여 빈도도 또한 임상 시험 후 개개의 환자의 필요에 따라 의사에 의해 치료 과정 동안에 조정될 수 있다.

[0220] 항체의 진단적 용도

[0221] 본 발명의 항-CTLA-4 항체는, 예를 들어, 진단적 목적을 위해, 샘플에서 CTLA-4를 검출하고/거나 측정하는데 사용될 수 있다. 일부 구현예는 암, 자가면역 질환 또는 바이러스 감염과 같은 질환 또는 장애를 검출하기 위한 분석에서의 본 발명의 하나 이상의 항체의 용도를 고려한다. CTLA-4에 대한 예시적인 진단 분석은, 예를 들어, 대상체 (예를 들어, 환자)로부터 얻어진 샘플과 본 발명의 항-CTLA-4 항체를 접촉시키는 단계를 포함할 수 있으며, 여기서 상기 항-CTLA-4 항체는 대상체 샘플로부터 CTLA-4를 선별적으로 분리시키기 위해 포착 리간드로서 사용되거나 검출가능한 표지 또는 리포터 분자로 표지된다. 대안적으로, 비표지된 항-CTLA-4 항체는, 그 자체가 검출가능하게 표지된 제2 항체와 조합하여 진단적 응용 분야에서 사용될 수 있다. 상기 검출가능한 표지 또는 리포터 분자는 방사성 동위원소, 예를 들어 ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S, 또는 ¹²⁵I; 형광 또는 화학 발광 모이어티, 예를 들어 플루오레세인 이소티오시아네이트, 또는 로다민; 또는 효소, 예를 들어 알칼리성 포스파타제, β-갈락토시다제, 홀스래디쉬 퍼옥시다제, 또는 루시페라제일 수 있다. 샘플에서 CTLA-4를 검출하거나 측정하는데 사용될 수 있는 구체적인 예시적인 분석은 효소-결합 면역흡착 분석 (ELISA), 방사선 면역 분석 (RIA), 및 형광-활성화된 세포 분류 (FACS)를 포함한다.

[0222] 본 발명에 따른 CTLA-4 진단 분석에서 사용될 수 있는 샘플은 대상체로부터 획득할 수 있는 임의의 조직 또는 유체 샘플을 포함하며, 이는 정상 또는 생리학적인 조건 하에서 CTLA-4 단백질, 또는 이의 단편의 검출가능한 양을 함유한다. 일반적으로, 건강한 환자 (예를 들어, 암 또는 자가면역 질환을 앓고 있지 않은 환자)로부터 획득한 특정 샘플에서의 CTLA-4의 수준을 측정하여 초기에 CTLA-4의 기준치, 또는 표준 수준을 확립한다. CTLA-4의 이 기준치 수준은 암-관련 병태, 또는 이러한 병태에 관련된 증상에 걸린 것으로 의심되는 개체로부터 획득된 샘플에서 측정된 CTLA-4의 수준과 비교될 수 있다.

[0223] CTLA-4에 특이적인 항체는 추가적인 표지 또는 모이어티를 함유하지 않을 수 있거나, 또는 이들은 N-말단 또는 C-말단 표지 또는 모이어티를 포함할 수 있다. 일 구현예에서, 상기 표지 또는 모이어티는 비오틴이다. 결합 분석에서, 표지 (존재하는 경우)의 위치는 펩티드가 결합되는 표면에 대비한 펩티드의 배향을 결정할 수 있다. 예를 들어, 표면이 아비딘으로 코팅되는 경우, N-말단 비오틴을 함유하는 펩티드는 상기 펩티드의 C-말단 부분이 표면에서 멀어지도록 배향된다.

[0224] 본 발명의 양태들은 환자에서 암 또는 바이러스 감염의 예후를 예측하기 위한 마커로서의 개시된 항체의 용도에

관한 것이다. 본 발명의 항체는 환자에서의 암의 예후를 평가하고 생존을 예측하기 위해 진단 분석에서 사용될 수 있다.

[0225] 실시예

[0226] 하기 실시예는 당업자에게 본 발명의 방법 및 조성물을 제조하고 사용하는 방법에 대한 완전한 개시 및 설명을 제공하기 위해 제시되며, 본 발명자들이 그들의 발명으로 간주하는 발명의 범위를 제한하려는 것은 아니다. 사용된 숫자 (예를 들어, 양, 온도 등)의 측면에서 정확성을 보장하려고 노력하였지만, 일부 실험적 오차 및 편차가 고려되어야 한다. 달리 명시하지 않는 한, 부는 중량부이고, 분자량은 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 실온은 약 25℃이고, 압력은 대기압이거나 그 부근이다.

[0227] 실시예 1: CTLA-4에 대한 인간 항체의 생성

[0228] CTLA-4에 대한 인간 항체를 인간 CTLA-4 단백질 (카탈로그 번호: 7268-CT, R&D Systems) 또는 hCTLA-4를 인코딩하는 DNA (수탁 번호: NM_005214.4)를 사용하여 생성하였다. 면역원을 보조제와 함께 US 8502018 B2에 기술된 VELOCIMUNE[®] 마우스 (즉, 인간 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 가변 영역을 인코딩하는 DNA를 포함하는 조작된 마우스)에 직접 투여하여 면역 반응을 자극하였다. 항체 면역 반응을 CTLA-4-특이적 면역분석에 의해 관찰하였다. 목적하는 면역 반응이 달성되면, 비장 세포를 수확하고, 마우스 골수종 세포와 융합시켜 생존능을 보존하고 하이브리도마 세포주를 형성시켰다. 하이브리도마 세포주를 스크리닝하고 선별하여 CTLA-4-특이적 항체를 생산하는 세포주를 식별하였다. 이러한 기술, 및 상기 기술된 면역원을 사용하여, 여러 항-CTLA-4 키메라 항체 (즉, 인간 가변 도메인 및 마우스 불변 도메인을 갖는 항체)를 수득하였고; 이러한 방식으로 VELOCIMUNE[®] 마우스로부터 생성된 예시적인 항체를 H1M20370N, H1M20372N, H1M20393N, H2M20361N, H2M20368N, H2M20369N, H2M20373N, H2M20375N, H2M20379N, H2M20385N, H2M20386N, 및 H2M20387N으로 지정하였다.

[0229] 항-CTLA-4 항체는 또한, 그 전체 내용이 원용에 의해 구체적으로 본원에 포함된 미국 특허 제7,582,298호에 기술된 바와 같이, 골수종 세포와의 융합 없이 항원-양성 B 세포 (면역화된 마우스 중 하나로부터 유래됨)로부터 직접적으로 단리하였다. 이러한 방법을 사용하여, 여러 완전 인간 항-CTLA-4 항체 (즉, 인간 가변 도메인 및 인간 불변 도메인을 갖는 항체)를 수득하였으며; 이러한 방식으로 생성된 예시적인 항체를 다음과 같이 지정하였다: H1H19264P, H1H19269P, H1H19273P, H1H19274P, H1H19278P, H1H19279P, H1H19280P, H1H19281P, H1H19283P, H1H19284P, H1H19291P, H1H19294P, H1H19303P, H1H19305P, H1H19307P, H1H19312P, H1H19313P, H1H19314P2, H1H19319P2, 및 H1H19327P2.

[0230] 이 실시예의 방법에 따라 생성된 예시적인 항체의 생물학적 특성은 하기 제시된 실시예들에서 상세히 기술된다.

[0231] 실시예 2: 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열

[0232] 표 1은 본 발명의 선택된 항-CTLA-4 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 및 CDR의 아미노산 서열 식별자를 제시한다. 상응하는 핵산 서열 식별자는 표 2에 제시되어 있다.

표 1

표 1: 아미노산 서열 식별자

항체 명칭	서열 번호							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H19264P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H19269P	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H19273P	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H19274P	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H19278P	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H19279P	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H19280P	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H19281P	114	116	118	120	122	124	126	128
H1H19283P	130	132	134	136	138	140	142	144
H1H19284P	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H19291P	162	164	166	168	170	172	174	176
H1H19294P	178	180	182	184	186	188	190	192
H1H19303P	194	196	198	200	202	204	206	208
H1H19305P	210	212	214	216	218	220	222	224
H1H19307P	226	228	230	232	234	236	238	240
H1H19312P	242	244	246	248	250	252	254	256
H1H19313P	258	260	262	264	266	268	270	272
H1H19314P2	274	276	278	280	282	284	286	288
H1H19319P2	290	292	294	296	298	300	302	304
H1H19327P2	306	308	310	312	298	300	302	304
H1M20370N	314	316	318	320	322	324	326	328
H1M20372N	330	332	334	336	338	340	342	344
H1M20393N	346	348	350	352	354	356	358	360
H2M20361N	362	364	366	368	370	372	374	376
H2M20368N	378	380	382	384	386	388	390	392
H2M20369N	394	396	398	400	402	404	406	408
H2M20373N	410	412	414	416	418	420	422	424
H2M20375N	426	428	430	432	434	436	438	440
H2M20379N	442	444	446	448	450	452	454	456
H2M20385N	458	460	462	464	466	468	470	472
H2M20386N	474	476	478	480	482	484	486	488
H2M20387N	490	492	494	496	498	500	502	504

[0233]

표 2

표 2: 핵산 서열 식별자

항체 명칭	서열 번호							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H19264P	1	3	5	7	9	11	13	15
H1H19269P	17	19	21	23	25	27	29	31
H1H19273P	33	35	37	39	41	43	45	47
H1H19274P	49	51	53	55	57	59	61	63
H1H19278P	65	67	69	71	73	75	77	79
H1H19279P	81	83	85	87	89	91	93	95
H1H19280P	97	99	101	103	105	107	109	111
H1H19281P	113	115	117	119	121	123	125	127
H1H19283P	129	131	133	135	137	139	141	143
H1H19284P	145	147	149	151	153	155	157	159
H1H19291P	161	163	165	167	169	171	173	175
H1H19294P	177	179	181	183	185	187	189	191
H1H19303P	193	195	197	199	201	203	205	207
H1H19305P	209	211	213	215	217	219	221	223
H1H19307P	225	227	229	231	233	235	237	239
H1H19312P	241	243	245	247	249	251	253	255
H1H19313P	257	259	261	263	265	267	269	271
H1H19314P2	273	275	277	279	281	283	285	287
H1H19319P2	289	291	293	295	297	299	301	303
H1H19327P2	305	307	309	311	297	299	301	303
H1M20370N	313	315	317	319	321	323	325	327
H1M20372N	329	331	333	335	337	339	341	343
H1M20393N	345	347	349	351	353	355	357	359
H2M20361N	361	363	365	367	369	371	373	375
H2M20368N	377	379	381	383	385	387	389	391
H2M20369N	393	395	397	399	401	403	405	407
H2M20373N	409	411	413	415	417	419	421	423
H2M20375N	425	427	429	431	433	435	437	439
H2M20379N	441	443	445	447	449	451	453	455
H2M20385N	457	459	461	463	465	467	469	471
H2M20386N	473	475	477	479	481	483	485	487
H2M20387N	489	491	493	495	497	499	501	503

[0234]

[0235]

항체는 전형적으로 다음의 명명법에 따라 본원에서 지칭된다: Fc 접두사 (예를 들어 "H1M," "H4H" 등)에 이어서, 수치 식별자 (예를 들어 "19264," "20370" 등, 표 1에 표시된 바와 같음)에 이어서, "P," "P2," 또는 "N" 접미사. 따라서, 이러한 명명법에 따르면, 항체는 본원에서 예를 들어 "H1M20370N," "H1H19264P," "H1H19314P2" 등으로 지칭될 수 있다. 본원에서 사용된 항체 명칭에서 H1H 접두사는 항체의 특정 Fc 영역 이소타입을 나타낸다. 예를 들어, "H1H" 항체는 인간 IgG1 Fc를 갖고, "H1M" 항체는 마우스 IgG1 Fc를 갖고, "H2M" 항체는 마우스 IgG2 Fc를 갖는다 (모든 가변 영역은 항체 명칭의 처음 "H"에 의해 나타난 바와 같이 완전 인간이다). 당업자에게 이해될 수 있는 바와 같이, 특정한 Fc 이소타입을 갖는 항체는 상이한 Fc 이소타입을 갖는 항체로 전환될 수 있지만 (예를 들어, 마우스 IgG1 Fc를 갖는 항체는 인간 IgG1 또는 인간 IgG4를 가진 항체 등으로 전환될 수 있음), 어떠한 경우에도 표 1에 나타난 수치 식별자로 표시된 가변 도메인 (CDR 포함)은 동일하게 유지되고, 항원에 대한 결합 성질은 Fc 도메인의 특성과는 상관없이 동일하거나 실질적으로 유사할 것으로 예상된다.

[0236]

대조군 구조체:

[0237]

2개의 대조군 구조체 (항-CTLA-4 항체)가 비교의 목적을 위해 다음 실험에 포함되었다:

[0238]

COMP1: WO 01/14424 A2 (Bristol Myers Squibb)에 기술되어 있고 hIgG1 Fc를 사용하여 생산된, "10D1"의 상응하는 도메인의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 인간 항-CTLA-4 항체.

[0239]

COMP2: US 2014/099325 A1 (Pfizer)에 기술되어 있고 hIgG2 Fc를 사용하여 생산된, "11.2.1"의 상응하는 도메인의 아미노산 서열을 갖는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인을 갖는 인간 항-CTLA-4 항체.

[0240] 실시예 3: 인간 단일클론 항-CTLA-4 항체의 표면 플라즈몬 공명 유래 결합 친화도 및 동역학적 상수

[0241] 인간 항-CTLA-4 항체의 결합 친화도 및 동역학적 상수를 표면 플라즈몬 공명 (Biacore 4000 (GE, Pittsburgh, PA) 또는 MASS-1 (Sierra Sensors, Greenville, RI))에 의해 25℃에서 측정하였다 (표 3 및 4). 인간 IgG1로 발현된 항체 (즉, "H1H")가 단일클론 마우스-항-인간 Fc 항체 (GE)와 아민 커플링에 의해 유도체화된 CM5 센서 표면 (GE) 상으로 포획되었다. 마우스 IgG1 또는 마우스 IgG2로 발현된 항체 (즉, "H1M", "H2M")가 다클론 염소 항-마우스 Fc 항체 (GE)와 아민 커플링에 의해 유도체화된 대용량 아민 센서 표면 (Sierra Sensors) 상으로 포획되었다. c-말단 myc-myc-폴리히스티딘 태그 (mmh)와 함께 발현된 다양한 농도의 가용성 인간 (h) CTLA-4 (서열 번호 506) 또는 *마카카 파시쿨라리스* (mf) CTLA-4 (서열 번호 507) 단백질을 항-CTLA-4 mAb 포획된 센서 표면에 30 또는 50 uL/분의 유속으로 주입하였다. CTLA-4는 시스테인 잔기 157의 세포외 도메인에서 하나의 이황화 결합에 의해 상호연결된 동종이량체이다.

[0242] 모든 결합 연구는 0.01M HEPES pH 7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA, 0.05% v/v 계면활성제 P20 (HBS-ET 전개 완충액)으로 구성된 완충액에서 수행되었다. 상기 포획된 단일클론 항체와 hCTLA4.mmh 또는 mfCTLA4.mmh의 결합을 4 또는 5분 동안 모니터링하였고, HBS-ET 전개 완충액에서의 hCTLA4.mmh 또는 mfCTLA4.mmh의 해리를 10분 동안 모니터링하였다.

[0243] 동역학적 결합 (k_d) 및 해리 (k_d) 속도 상수는 스크리버 2.0c 곡선 피팅 소프트웨어를 사용하여 실시간 센서그램을 1:1 결합 모델에 피팅함으로써 측정하였다. 결합 평형 해리 상수 (K_D) 및 해리 반감기($t_{1/2}$)는 동역학적 속도 상수로부터 다음과 같이 계산되었다:

[0244]
$$K_D (M) = \frac{k_d}{k_a}, \quad \text{및} \quad t_{1/2} (min) = \frac{\ln(2)}{60 \cdot k_d}$$

[0245] 표 3에 나타난 바와 같이, 본 발명의 모든 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4에 결합하였고, 이 중 많은 항체가 hCTLA-4.mmh에 대해 나노몰 친화도로 결합하였으며, 시노물구스 CTLA-4 단백질에 대해 교차 반응성을 나타내었다. 마우스 또는 랫트 CTLA-4 단백질에 대한 교차 반응성은 관찰되지 않았다 (데이터 미도시).

표 3

표 3: 25°C에서 인간 mAb 의 Biacore 결합 친화도

25°C에서의 결합/Mab 포획 포맷					
AbPID	피분석물 *	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)	t1/2 (분)
H1H19264P	hCTLA-4.mmh	6.04E+04	7.31E-04	1.21E-08	15.8
	mf CTLA-4. mmh	4.90E+04	9.94E-04	2.03E-08	11.6
H1H19269P	hCTLA-4.mmh	3.94E+05	4.74E-04	1.20E-09	24.4
	mf CTLA-4. mmh	3.56E+05	4.35E-04	1.22E-09	26.6
H1H19273P	hCTLA-4.mmh	3.74E+05	3.62E-04	9.66E-10	31.9
	mf CTLA-4. mmh	3.62E+05	3.46E-04	9.56E-10	33.4
H1H19274P	hCTLA-4.mmh	5.30E+05	7.60E-04	1.43E-09	15.2
	mf CTLA-4. mmh	5.22E+05	4.63E-04	8.87E-10	25
H1H19278P	hCTLA-4.mmh	1.79E+05	4.02E-04	2.25E-09	28.8
	mf CTLA-4. mmh	1.66E+05	1.01E-03	6.11E-09	11.4
H1H19279P	hCTLA-4.mmh	3.46E+05	2.61E-04	7.52E-10	44.3
	mf CTLA-4. mmh	3.40E+05	2.59E-04	7.63E-10	44.6
H1H19280P	hCTLA-4.mmh	3.37E+05	3.46E-04	1.03E-09	33.4
	mf CTLA-4. mmh	3.20E+05	3.09E-04	9.64E-10	37.4
H1H19281P	hCTLA-4.mmh	4.84E+05	7.41E-04	1.53E-09	15.6
	mf CTLA-4. mmh	4.72E+05	1.01E-03	2.14E-09	11.5
H1H19283P	hCTLA-4.mmh	2.21E+05	8.28E-04	3.75E-09	14
	mf CTLA-4. mmh	2.20E+05	6.83E-04	3.11E-09	16.9
H1H19284P	hCTLA-4.mmh	1.48E+05	3.69E-04	2.49E-09	31.3
	mf CTLA-4. mmh	1.94E+05	3.05E-04	1.57E-09	37.9
H1H19291P	hCTLA-4.mmh	8.88E+04	1.23E-03	1.38E-08	9.4
	mf CTLA-4. mmh	9.31E+04	1.21E-03	1.30E-08	9.6
H1H19294P	hCTLA-4.mmh	2.85E+05	3.23E-04	1.13E-09	35.7
	mf CTLA-4. mmh	2.63E+05	2.69E-04	1.02E-09	43
H1H19303P	hCTLA-4.mmh	1.21E+05	1.99E-03	1.64E-08	5.8
	mf CTLA-4. mmh	1.56E+05	2.45E-03	1.57E-08	4.7
H1H19305P	hCTLA-4.mmh	2.89E+05	1.21E-03	4.19E-09	9.5
	mf CTLA-4. mmh	2.84E+05	9.02E-04	3.18E-09	12.8
H1H19307P	hCTLA-4.mmh	2.17E+05	2.84E-04	1.31E-09	40.6
	mf CTLA-4. mmh	2.09E+05	2.92E-04	1.40E-09	39.5
H1H19312P	hCTLA-4.mmh	3.20E+05	1.05E-03	3.29E-09	11
	mf CTLA-4. mmh	3.33E+05	7.60E-04	2.28E-09	15.2
H1H19313P	hCTLA-4.mmh	4.89E+05	7.58E-04	1.55E-09	15.2
	mf CTLA-4. mmh	4.75E+05	4.64E-04	9.76E-10	24.9
H1H19314P2	hCTLA-4.mmh	1.15E+05	1.13E-03	9.87E-09	10.2
	mf CTLA-4. mmh	1.07E+05	9.13E-04	8.57E-09	12.6
H1H19319P2	hCTLA-4.mmh	1.43E+05	1.46E-03	1.02E-08	7.9
	mf CTLA-4. mmh	2.03E+05	2.61E-03	1.29E-08	4.4
H1H19327P2	hCTLA-4.mmh	8.81E+03	5.85E-04	6.63E-08	19.8
	mf CTLA-4. mmh	1.88E+05	1.17E-02	6.24E-08	1
H1H20361N	hCTLA-4.mmh	6.21E+04	1.99E-03	3.21E-08	5.8
	mf CTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND

[0246]

H1H20361N2	hCTLA-4.mmh	5.39E+04	2.51E-03	4.65E-08	4.6
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20370N	hCTLA-4.mmh	1.72E+05	5.88E-04	3.43E-09	19.6
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20370N2	hCTLA-4.mmh	5.13E+04	1.21E-03	2.36E-08	9.5
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20372N	hCTLA-4.mmh	8.05E+04	3.67E-04	4.55E-09	31.5
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20373N	hCTLA-4.mmh	5.23E+05	4.01E-04	7.66E-10	28.8
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20375N	hCTLA-4.mmh	4.19E+04	2.79E-03	6.65E-08	4.1
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20380N2	hCTLA-4.mmh	1.37E+06	3.20E-04	2.33E-10	36.2
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20386N	hCTLA-4.mmh	1.85E+05	1.94E-03	1.05E-08	6
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND
H1H20386N2	hCTLA-4.mmh	1.35E+05	1.68E-03	1.24E-08	6.9
	mfCTLA-4. mmh	ND	ND	ND	ND

* h 및 mf CTLA-4 mmh 단백질을 3 배 희석에서 0.37 nM 내지 90 nM 범위의 농도로 mAb-포획된 표면 위에 흐르게 하였다; ND = 측정되지 않음

[0247]

[0248]

[0249]

실시예 4: 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4와 이의 천연 리간드인 B7-1 및 B7-2 사이의 상호작용을 차단한다

CTLA-4 (세포독성 T-림프구-관련 단백질 4)는 통상적인 조절 T 세포 상에서 발현되는 유형 I 막관통 T 세포 억제 체크포인트 수용체이다. CTLA-4는, 자극 수용체 CD28가 이의 천연 리간드인 B7-1 (CD80) 및 B7-2 (CD86)에 결합하는 것을 능가함으로써 T 세포 활성화를 부정적으로 조절한다. 이 실시예에서, 경쟁 샌드위치 효소-결합 면역흡착 분석 (ELISA)를 사용하여 항-CTLA-4 항체가 플레이트-결합된 B7-1 및 B7-2에 대한 CTLA-4 단백질 결합을 차단하는 능력을 평가하였다. 다양한 농도의 항-CTLA-4 항체를 일정한 양의 이량체 CTLA-4 단백질과 사전 혼합하고, 상기 항체의 존재로 인한, 플레이트-고정된 B7-1 또는 B7-2에 대한 CTLA-4 결합의 감소를 모니터링하였다.

[0250]

간단히 말하면, 다음 절차를 사용하여 분석을 수행하였다: c-말단 인간 IgG1 및 6x 히스티딘 (hIgG1-6xHis; R&D Systems, Minneapolis, MN)와 함께 발현된 인간 B7-1 및 B7-2 단백질을 96-웰 마이크로티터 플레이트 상에 PBS 중에서 2 µg/mL로 4°C에서 밤새 (ON) 별도로 코팅하였다. 이어서, 비특이적 결합 부위를 PBS 중의 BSA의 0.5% (w/v) 용액을 사용하여 차단하였다. 별도로, 일정량의 200 pM 또는 400 pM의 재조합 hCTLA-4-mFc 단백질 (마우스 IgG2a의 c-말단 Fc 부분과 함께 발현된 인간 CTLA-4 세포외 도메인, 서열 번호 508)을 연속 희석된 항-CTLA-4 항체, 또는 항체가 존재하지 않는 용액에 첨가하였다. 이 실시예에서, 항-CTLA-4 항체 용량은 1.7 pM 내지 최대 100 nM 또는 1.0 µM 범위였다. 이어서, 실온 (RT)에서 1시간 후, 200 pM의 일정한 농도의 hCTLA-4-mFc 단백질을 갖는 항체-단백질 복합체를 hB7-1-hIgG1-6His로 코팅된 마이크로티터 플레이트로 옮겼으며, 400 pM의 일정한 농도의 hCTLA-4-mFc를 갖는 항체-단백질 복합체를 hB7-2-hIgG1-6His 코팅된 플레이트로 옮겼다. 이어서 실온에서 1시간 배양한 후, 웰을 세척하고, 홀스래디쉬 퍼옥시다제 (HRP) (JacksonImmunoResearch, West Grove, PA)와 접합된 항-마우스 Fc γ-단편 특이적 염소 다클론 항체로 플레이트-결합된 hCTLA-4-mFc를 검출하였다. 제조사의 지시에 따라 TMB 기질 용액 (BD Biosciences, San Jose, CA)을 사용하여 플레이트를 현상하였고, Victor 플레이트 판독기 (PerkinElmer™, Waltham, MA) 상에서 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0251]

모든 데이터 분석은 Prism™ 소프트웨어 (GraphPad, LaJolla, CA) 내에서 에스자형 (sigmoidal) 용량-반응 모델을 사용하여 수행하였다. 다음과 같이 계산을 수행하였다: hB7-1 또는 B7-2에 대한 hCTLA-4 결합의 50%를 감소시키는데 필요한 항체의 농도로 정의된 IC₅₀을 차단 효능의 지표로 사용하였다. 시험된 항체의 최대 농도 (100 nM 또는 1.0 µM)에서의 차단 백분율은, 항체가 분석의 기준치에 대비하여 hB7-1 또는 hB7-2 각각에 대한 200 pM 또는 400 pM의 hCTLA-4-mFc의 결합을 차단하는 능력으로서 계산되었다. 항체가 없는 상태에서 200 pM 또는 400 pM의 hCTLA-4-mFc를 갖는 샘플의 결합 신호는 100% 결합 또는 0% 차단으로 언급되었고; hCTLA-4-mFc 또는 항체가 없는 샘플 완충액의 기준치 신호는 0% 결합 또는 100% 차단으로 언급되었다.

[0252]

표 4의 결과가 나타내는 바와 같이, 본 발명의 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4와 이의 천연 리간드인 B7-1 또는 B7-2의 결합을 차단하는 광범위한 능력을 나타낸다. 예시적인 항체 H1H19273P 및 H1H19313P는 1.0 µM의 최대 항

체 농도에서 피코몰 IC₅₀ 값 및 약 100%의 차단 백분율로 CTLA-4와 B7-1 또는 B7-2의 결합을 강력하게 차단한다. H1H20373N과 같은 몇몇 항체는 B7-1에 대한 CTLA-4 결합보다 B7-2에 대한 CTLA-4 결합에 대한 강력한 차단제인 반면, 일부 항체는 각각의 리간드에 대해 아주 적은 차단 능력을 나타내었다 (H1H19314P2).

표 4

표 4: 항-CTLA-4 항체는 hCTLA-4와 리간드 hB7-1 또는 hB7-2의 결합을 차단한다

		플레이트-코팅된 hB7-1/CD80- hIgG1-6His에 대한 200 pM hCTLA-4-mFc 결합의 Ab 차단	플레이트-코팅된 hB7-2/CD86-hIgG1- 6His에 대한 400 pM hCTLA-4-mFc 결합의 Ab 차단	
AbPID	최대 Ab 농도: 100 nM			
	IC ₅₀ (M)	차단 %	IC ₅₀ (M)	차단 %
인간 Fc 항-CTLA-4 항체의 차단 능력				
H1H19264P	-	8	-	43
H1H19269P	1.0E-10	98	1.9E-10*	100
H1H19274P	1.3E-10	99	2.5E-10	100
H1H19278P	3.2E-10	99	5.4E-10	100
H1H19279P	2.1E-10	97	2.2E-10	100
H1H19280P	1.1E-10	99	2.0E-10	100
H1H19281P	9.4E-11*	99	1.9E-10*	100
H1H19283P	9.7E-09	96	1.2E-09	99
H1H19284P	1.7E-10	98	3.1E-10	99
H1H19291P	2.0E-09	98	2.5E-09	99
H1H19294P	1.5E-10	99	2.5E-10	99
H1H19305P	1.9E-10	98	3.6E-10	99
H1H19307P	1.8E-10	99	2.9E-10	99
H1H19312P	2.0E-10	97	5.1E-10	99
H1H19314P2	-	0	-	7
H1H19327P2	-	7	-	38
H1H19273P	2.5E-10	98	5.4E-10	98
H1H19303P	1.8E-07	90	3.9E-08	97
H1H19313P	4.0E-10	98	7.7E-10	99
H1H19319P2	3.2E-07	85	4.3E-08	97
H1H20370N	8.6E-10	95	9.9E-10	96
H1H20370N2	1.1E-08	85	9.8E-09	92
H1H20372N	2.5E-09	98	9.9E-10	98
H1H20361N	6.9E-08	73	6.5E-08	82
H1H20361N2	1.2E-07	53	1.1E-07	70
H1H20373N	-	22	3.4E-08	91
H1H20375N	-	13	-	29
H1H20380N2	5.0E-10	98	3.8E-10	98
H1H20386N	1.8E-08	94	7.7E-09	96
H1H20386N2	INC	59	1.7E-07	87
대조군				
mIgG2a 이소타입	-	-6	-	1
hIgG1 이소타입	-	15	-	14

음의 최대 차단 % (즉, -8)은 항체의 존재 하에서 검출된 hCTLA-4 결합의 증가를 나타낸다.

(-)는 시험된 최고 농도에서 <50% 차단하는 항체에 대한 정량적이지 않은 IC₅₀ 값을 나타낸다.

(INC): 결론에 이르지 못함: IC₅₀ 값을 계산하도록 에스자형 결합 곡선이 Prism™ 소프트웨어에 의해 피팅되지 않았다.

(*)는 분석의 이론적 최저값 (hB7-1/CD80에 대한 hCTLA-4 결합의 경우 0.1x10⁻⁰⁹ M, 또는 hB7-2/CD86에 대한 hCTLA-4 결합의 경우 0.2x10⁻⁰⁹ M) 미만의 IC₅₀ 값을 나타낸다.

[0253]

실시예 5: 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4 조작된 세포주에 특이적이고 강력한 결합을 나타낸다

[0255] 이 실시예에서, 항-인간 (h) CTLA-4 항체가 인간-CTLA-4 발현 세포주에 특이적으로 결합하는 능력을 전기 화학 발광 (ECL) 기반 검출을 사용하여 측정하였다.

[0256] 간단히 말하면, Velocimmune® 마우스에서 단리한 마우스 배아 섬유아세포 (VI-섬유아세포)를 인간 CTLA-4 (아미노산 M1-N223, NCBI 수탁 번호 NM_005214.4)로 안정적으로 형질전환시켰다. 비형질전환된 VI-섬유아세포는 형광 활성화된 세포 분류 (FACS)에 의해 검출가능한 CTLA-4의 발현을 갖지 않으며, 결합 대조군으로서 포함되었다. 또한, NFAT-Luc 렌티바이러스 리포터 (Qiagen, Germantown, MD) 및 h, m 또는 mf CTLA-4 키메라 구조체로 불멸 인간 저카트 (Jurkat) T-세포 (ATCC, Manassas, VA)를 형질 도입하여 생성된 리포터 T 세포주 또한 이 분석에서 평가되었다. 상기 키메라 구조체는, hCD300a의 막관통 및 세포질 도메인 (aa 181-299; 수탁 번호

NP_009192.2)에 융합된 hCTLA-4 (aa 1-161; 수탁 번호 NP_005205.2), 마우스 CTLA-4 (ms CTLA-4, 아미노산 1-161, 수탁 번호 NM_009843.4) 또는 mf CTLA-4 (aa 1-161; 수탁 번호 XP_005574071.1)의 세포외 도메인을 포함하였다.

- [0257] 대략 2.0×10^4 개의 VI-섭유 아세포/hCTLA-4 세포 또는 1.0×10^4 개의 저캣/NFAT 키메라 세포를 96-웰 탄소 전극 플레이트 (MULTI-ARRAY 고-결합 플레이트, Meso Scale Discovery (MSD; Rockville, MD)) 상에 별도로 분주하고 37°C에서 1시간 (h) 동안 배양하였다. 비특이적 결합 부위는 PBS 중의 2% BSA (w/v)에 의해 실온에서 1시간 동안 차단되었다. 1.7 pM 내지 150 nM 범위의 항-CTLA-4 또는 이소타입 대조군 항체의 연속 희석액, 또는 비항체를 함유하는 완충액을 플레이트-결합된 세포에 실온에서 1시간 동안 첨가하였다. 이어서, 세포 세척 헤드를 갖춘 AquaMax2000 플레이트 세척기(MDS Analytical Technologies, Sunnyvale, CA)를 사용하여 플레이트를 세척하여 결합되지 않은 항체를 제거하였다. 플레이트-결합된 항체는 중쇄 및 경쇄에 특이적인 SULFO-TAGTM-접합된 염소 다클론 항-인간 IgG 항체 (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) 또는 Fc γ 단편에 특이적인 SULFO-TAGTM-접합된 염소 다클론 항-마우스 IgG 항체 (Jackson ImmunoResearch)로 실온에서 1시간 동안 검출하였다.
- [0258] 세척 후, 제조사의 권장 절차에 따라 관독 완충액 (MSD)으로 플레이트를 현상시키고, 발광 신호를 SECTOR 영상화기 600 (MSD)으로 기록하였다. 상대적 광 단위 (RLU)로 측정된 발광 강도를 기록하여 농도 범위에서의 각 항체의 결합 강도를 나타내었다. 동일한 농도에서 모체 세포와 비교하여 CTLA-4 조작된 세포에 대한 0.4 nM 또는 0.6 nM 항체 결합으로 검출된 신호의 비율이 CTLA-4 결합의 특이성의 표시로서 보고되었다.
- [0259] 또한, 직접 결합 신호 (RLU)를 항체 농도의 함수로서 분석하였고, 데이터는 GraphPad PrismTM 소프트웨어 (GraphPad, LaJolla, CA)를 사용하여 에스자형 (4-매개변수 로지스틱) 용량-반응 모델로 피팅하였다. 최대 결합 신호의 50%가 검출되는 항체 농도로서 정의되는 EC₅₀ 값을 측정하여 CTLA-4 조작된 세포에 대한 결합 효력을 나타내었다.
- [0260] 표 5의 결과가 나타내는 바와 같이, 본 발명의 항-CTLA-4 항체의 대다수는 hCTLA-4 조작된 세포에 특이적으로 결합하였다. H1H19303P 및 H1H19280P와 같은 몇몇 예시적인 항체는 피코몰 EC₅₀ 값 및 대조군 세포주에 대한 결합보다 20-23배 높은 비율로 결합하였다.
- [0261] 마우스 및 시노물구스 원숭이 조작된 세포주에 대한 교차 반응성에 대해 선택된 항체를 추가로 평가하였다. 표 6의 결과가 나타내는 바와 같이, 항-CTLA-4 항체 H1H19303P, H1H19273P, H1H19319P2 및 H1H19319P는 피코몰 EC₅₀ 값으로 저캣/NFAT Luc/인간 및 시노물구스 CTLA-4/hCD300 키메라 세포주에 강력하게 결합한다. 마우스 CTLA-4 키메라 세포에 대한 교차 반응성은 관찰되지 않았다.

표 5

표 5: 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4를 발현하도록 조작된 세포주에 특이적으로 결합한다

Ab PID	VI- 섬유아세포/hCTLA-4에 대한 세포 결합 효력, EC50 (M)	모체 VI-섬유아세포에 대비한 VI 섬유아세포/hCTLA-4에 대한 RLU 신호 결합의 비율
		0.4 nM Ab 농도에서의 비율
인간 Fc 항-CTLA-4 항체의 세포 결합 특성		
H1H19264P	NB	1
H1H19269P (*)	4.0E-10	15
H1H19273P	INC	11
H1H19274P (*)	3.9E-10	18
H1H19278P	2.2E-10	19
H1H19279P	2.4E-10	18
H1H19280P	1.3E-09	15
H1H19281P	7.5E-11	23
H1H19283P	7.9E-10	7
H1H19284P	INC	7
H1H19291P	INC	5
H1H19294P	6.8E-10	10
H1H19303P (*)	2.1E-10	20
H1H19305P (*)	8.4E-10	12
H1H19307P	3.7E-09	7
H1H19312P (*)	7.0E-10	14
H1H19313P (*)	1.6E-10	11
H1H19314P2 (*)	3.4E-09	8
H1H19319P2	2.4E-10	16
H1H19327P2	2.9E-10	16
대조군		
hIgG1 이소타입 대조군	NB	1
하이브리도마 CTLA-4 항체 (H1M, H2M)의 세포 결합 특성		
		0.6 nM Ab 농도에서의 비율
H1M20370N	2.2E-10	23
H1M20372N	8.8E-10	14
H1M20393N (*)	7.3E-09	12
H2M20361N	3.2E-10	19
H2M20368N	2.6E-10	25
H2M20369N	9.0E-10	18
H2M20373N	6.2E-11	22
H2M20375N	1.9E-10	18
H2M20379N	9.2E-11	28
H2M20380N	1.2E-10	28
H2M20385N	5.5E-09	8
H2M20386N	INC	3
H2M20387N	INC	3
대조군		
COMP1	INC	11
mIgG2 이소타입 대조군	NB	1

NB = 비결합자; 결합 비율이 3 미만인 항체는 비결합자로 분류되었다

(*) EC50 값을 계산하기 위해 최고 두 항체 농도에 대한 RLU 값을 배제하였다.

INC = 결론에 이르지 못함, GraphPad Prism™이 EC50 값 계산을 위한 4-매개변수 에스자형 곡선에 피팅할 수 없었으나, 항체는 모세포보다 3 배 이상의 비율로 CTLA-4 발현 세포에 특이적으로 결합하였다.

[0262]

표 6

표 6: 선택된 항-CTLA-4 항체는 조작된 저컷 인간 및 원숭이 세포주에 대한 결합의 특이성을 나타낸다

Ab PID	저컷/NFAT Luc/CTLA-4 hCD300a 키메라 상에서의 세포 결합 효력, EC50 (M)		저컷/NFAT Luc/cl.3C7 에 대한 결합에 대한 저컷/NFAT Luc/CTLA-4 hC300a 키메라에 대한 RLU 신호 결합의 비율		
	hCTLA-4	mfCTLA-4	hCTLA-4	mfCTLA-4	msCTLA-4
			0.4nM	0.4nM	0.4nM
H1H19303P (*)	2.9E-10	1.1E-10	13	17	1
H1H19273P (*)	5.2E-10	2.2E-10	14	20	1
H1H19319P2 (*)	2.8E-10	1.7E-10	13	15	1
H1H19313P (*)	1.1E-10	1.4E-10	16	25	1
대조군					
COMP1	INC	INC	6	8	1
hIgG1 이소타입 대조군	NB	NB	1	1	1

원숭이 = 마카카 파시쿨라리스.

NB = 비결합자; 결합 비율이 3 미만인 항체는 비결합자로 분류되었다

(*) EC50 값을 계산하기 위해 최고 두 항체 농도에 대한 RLU 값을 배제하였다.

INC = 결론에 이르지 못함, GraphPad Prism™이 EC50 값 계산을 위한 4-매개변수 에스자형 곡선에 피팅할 수 없었으나, 항체는 모세포보다 3 배 이상의 비율로 CTLA-4 발현 세포에 특이적으로 결합하였다.

[0263]

[0264] 실시예 6: 항-CTLA-4 항체는 조작된 리포터 T-세포/APC 생물학적분석 시스템에서 T-세포 활성화를 유도한다

[0265] 이 실시예에서, CTLA-4/CD80 또는 CTLA-4/CD86 상호작용 및 T-세포 활성화를 차단하는 효과를 평가하기 위해 T-세포/항원 제시 세포 (APC)-기반 루시퍼라제 리포터 생물학적분석이 개발되었다. 하나의 생물학적분석 포맷에서, 루시퍼라제 활성을 측정함으로써 T-세포/APC 시스템에 대한 항-CTLA-4 항체 투여의 효과를 평가하였다. 제2 분석에서, 항-CTLA-4 항체가 인터류킨 (IL)-2 방출을 유도하는 능력을 평가하였다.

[0266] 상기 실시예들에서 기술된 바와 같이, 이 실시예에서 시험된 항-CTLA-4 항체는 표면 플라즈몬 공명 (SPR)을 통해 인간 및 시노물구스 원숭이 (마카카 파시쿨라리스) CTLA-4에 대한 결합을 나타내었고, 인간 CTLA-4를 발현하도록 조작된 세포주에 대해 특이적이고 강력한 결합을 나타내었다. 이들 선택된 CTLA-4 항체는 또한 CTLA-4와 B7-1 (CD80) 및 B7-2 (CD86)의 결합을 차단하는 것으로 이전에 증명되었다.

[0267] 배경

[0268] T-세포 활성화는 항원-제시 세포 (APC) 상의 주요 조직적합성 복합체 클래스 I 또는 II (MHC I 또는 MHC II) 단백질에 의해 제시되는 특정 펩티드를 인식하는 T-세포 수용체 (TCR)를 자극함으로써 달성된다 (문헌 [Goldrath *et al.* 1999]). 활성화된 TCR은 이어서 일련의 신호전달 사건의 캐스케이드를 개시하고, 이는, 다양한 전사 인자, 예를 들어 활성화제-단백질 1 (AP-1), 활성화된 T 세포의 핵 인자 (NFAT) 또는 활성화된 B 세포의 핵 인자 카파-경쇄-인핸서 (NFκB)에 의해 구동되는 리포터 유전자에 의해 모니터링 될 수 있다. 이어서 T-세포 반응은 T-세포 상에서 본질적으로 또는 유도적으로 발현되는 공동-수용체, 예를 들어 CD28, CTLA-4 (세포독성 T-림프구-관련 단백질 4), PD-1 (프로그램된 세포 사멸 단백질 1), LAG-3 (림프구-활성화 유전자 3) 또는 다른 분자의 참여를 통해 추가로 개선된다 (문헌 [Sharpe *et al.* 2002]). 공동 수용체인 CD28 및 CTLA-4는, CTLA-4가 CD28보다 높은 친화도를 갖는 항원-제시 세포 (APC) 상에서 발현되는, 동일한 리간드인 CD80 및 CD86에 대해 경쟁한다. CTLA-4는 유인체로서 기능하며, 리간드를 격리시켜 T-세포 활성화를 감소시킴으로써 CD28의 활성화를 억제한다. (문헌 [Alegre *et al.* 2001 and Walker *et al.* 2011]).

[0269] NFAT-루시퍼라제 활성

[0270] 세포주 조작: 세포 표면 상에서 TCR 및 CD28을 내인성으로 발현하는 불멸 인간 저컷 T-세포 (ATCC)를 NFAT-Luc 렌티바이러스 리포터 (Qiagen, Rockville, MD)로 제조사의 지시에 따라 형질 도입하여 리포터 T-세포를 조작하였다. 상기 렌티바이러스는 최소 CMV (사이토메갈로바이러스) 프로모터 및 NFAT 전사 반응 요소 (TRE) 및 퓨로마이신 내성 유전자의 탠덤 반복의 제어 하에 반딧불이 루시퍼라제 유전자를 인코딩한다.

- [0271] 항생제 선택 및 단일 클로닝 후, 저캣/NFAT-Luc 클론주 3C7 (저캣/NFAT-Luc cl.3C7)을 인간 (h) 또는 원숭이 (mf-마카카 파시쿨라리스) CTLA-4 키메라 단백질을 인코딩하는 렌티바이러스로 형질 도입하였다. 상기 키메라 구조체는, hCD300a의 막관통 및 세포질 도메인 (aa 181-299; 수탁 번호 NP_009192.2)에 융합된 hCTLA-4 (aa 1-161; 수탁 번호 NP_005205.2) 또는 mfCTLA-4 (aa 1-161; 수탁 번호 XP_005574071.1)의 세포외 도메인을 포함한다. CD300a는 면역 세포에서 발견되며 면역 수용체 티로신 기반 억제 모티프 (ITIM)를 통해 억제 신호를 전달한다 (문헌 [DeBell *et al.* 2012]). 생성된 안정한 T-세포주인 저캣/NFAT-Luc/ hCTLA-4-hCD300a 및 저캣/NFAT-Luc/mfCTLA-4-hCD300a를 선택하고 500 μ g/mL G418 및 1 μ g/mL 퓨로마이신으로 보충된 RPMI + 10% FBS + 페니실린 + 스트렙토마이신 + 글루타민에서 유지시켰다.
- [0272] 세포 표면 상에서 CD20, Fc 감마 수용체 (Fc γ R), CD80 및 CD86을 내인성으로 발현하는 인간 라지 (Raji) B-세포 (ATCC, Manassas, VA)를 루시퍼라제-기반 생물학적분석에서 APC 세포로 사용하였다. 라지 세포를 HEPES 및 피루브산 나트륨으로 보충된 RPMI + 10% FBS + 페니실린 + 스트렙토마이신 + 글루타민에서 유지시켰다.
- [0273] T-세포/APC 자극: 저캣 T-세포 상에서 발현되는 CD3 및 라지 B-세포 상에서 발현되는 CD20을 표적화하는 T-세포 활성화 항-CD20xCD3 이중특이적 항체 (REGN2281)를 통해 리포터 T-세포를 자극한다. REGN2281의 이중특이적 결합 방식은 저캣/NFAT-Luc T-세포에서 NFAT 커플링된 리포터 유전자인 루시퍼라제를 증가시킨다.
- [0274] 그러나 저캣/NFAT-Luc/CTLA-hCD300a 키메라 세포에서, REGN2281에 의한 리포터 유전자의 최대 활성화는 CTLA-4-hCD300a 키메라 수용체와 라지 세포 상에서 발현되는 이의 리간드인 CD80/CD86과의 상호작용에 의해 전달되는 억제 신호전달에 의해 약화된다. 이 생물학적분석에서, CTLA-4/CD80 및 CD86 축을 차단하는 항-CTLA-4 항체는 이론적으로, 키메라 CTLA-4 단백질의 CD300a 꼬리를 통해 전달되는 억제 신호를 비활성화함으로써 저캣 리포터 세포에서 NFAT-Luc 활성을 구제할 것이다.
- [0275] 이 분석 포맷에서, 항-CTLA-4 항체는 동시에, 라지 세포 상에서 Fc γ R에 대한 항체 Fc의 고정에 의해 유발되는 저캣에서의 작용성 신호를 유도할 수 있다. 포화 수준의 IgG 분자 또는 Fc γ R 특이적 항체에 의한 Fc γ R의 차단은 CTLA-4 항체의 작용성 효과를 감소시킬 수 있다. 따라서, Fc 차단 단계를 분석에 포함시켜 라지 세포 상에서의 Fc γ R에 대한 CTLA-4 mab의 결합을 억제하였다.
- [0276] 루시퍼라제 분석: 스크리닝 24시간 전에, 5×10^5 개의 리포터 T-세포 및 7.5×10^5 개의 라지 APC를 분석 배지 (10% FBS 및 페니실린 + 스트렙토마이신 + 글루타민 (PSG)으로 보충된 RPMI1640)에서 배양하였다. 다음날, 항-CTLA-4 항체 및 이소타입 매칭된 음성 대조군 (연속 희석 1:3; 용량-범위 15 pM 내지 100 nM)을 라지 세포 상의 내인성 Fc γ RIIb 수용체를 점유하기 위한 100 pM REGN2281 및 10 nM Fc 블록 또는 10 nM의 인간 IgG4 이소타입 대조군의 존재 하에 시험하였다. 연속 희석된 항체를 고정 농도의 100 pM REGN2281/10 nM Fc 블록 또는 100 pM REGN2281/10 nM hIgG4 이소타입 대조군을 함유하는 96 웰 백색 편평 바닥 플레이트 (Nunc/Thermo Fisher, Pittsburgh, PA)의 상응하는 웰에 첨가하였다. 리포터 T-세포 및 라지 APC를 2×10^6 /mL로 재현탁시키고 T-세포를 먼저 최종 농도 5×10^4 세포/웰로 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 37°C/5% CO₂에서 15-30분 동안 배양한 후, 최종 농도 5×10^4 세포/웰로 라지 세포를 첨가하였다. NFAT-Luc 활성을 검출하기 위해 100 μ L ONE-Glo™ (Promega, Madison WI)를 첨가하기 전에 샘플을 37°C/5% CO₂에서 4-6 시간 동안 추가로 배양하였다. 방출된 광은 다중표지 플레이트 판독기 Victor (PerkinElmer, Waltham, MA)에서 상대 광 단위 (RLU)로 포획되었다. 모든 연속 희석물을 이중으로 시험하였다.
- [0277] CTLA-4 항체의 EC₅₀ 값은 GraphPad Prism 소프트웨어 (GraphPad, La Jolla, CA)를 사용하여 10-점 용량-반응 곡선에 걸쳐 4-매개변수 로지스틱 방정식으로부터 측정하였다. 각 샘플의 상대적인 RLU 값을 CTLA-4 항체를 함유하지 않는 샘플의 평균 (이는 1로 설정됨)으로 정규화함으로써 유도 배율을 계산하였다.
- [0278] 결과: 표 7에 기록된 바와 같이, 항-CTLA-4 항체가 모체 저캣/NFAT-Luc cl 3C7 세포 + 라지 APC에 REGN2281 +/- Fc 블록의 존재 하에 첨가되었을 때 리포터 유전자 활성화 (루시퍼라제)의 증가가 관찰되지 않았다. 그러나, 항-CTLA-4 항체가 저캣/NFAT-Luc/h 및 mf CTLA-4/hCD300 키메라 세포주/라지 APC 시스템에 REGN2281 +/- Fc 블록의 존재 하에 첨가되었을 때 루시퍼라제 활성화의 증가가 기록되었다. 이 생물학적분석 포맷에서, 항-CTLA-4 항체는 저캣 리포터 세포 상의 CTLA-4와 라지 세포 상에서 내인성으로 발현되는 CD80/CD86과의 상호작용을 차단하여 루시퍼라제 단백질의 유도를 초래한다. 이 분석에서 시험된 항-CTLA-4 항체는 루시퍼라제 활성을 증가시키고, Fc 블록의 존재 하에 최대값이 관찰되며, EC₅₀이 1.77 nM 내지 7.67 nM 범위이다. 표 7에 나타낸

바와 같이, H1H19303P는 시험된 COMP 1 및 2보다 우수한 성능을 나타내었다.

[0279] **CTLA-4 T-세포/APC 인간 인터류킨 2 (hIL-2) 방출 분석**

[0280] 세포주 조작: 저컷/NFAT-Luc 클론주 3C7 (상기 기술된 바와 같음)을 hCTLA-4 전장 단백질을 인코딩하는 자체 제작된 렌티바이러스 상층액 (수탁 번호 NP_005205.2)으로 형질 도입하였다. 생성된 안정한 T-세포주 (저컷/NFAT-Luc/hCTLA-4 wt)를 유동세포분석법에 의해 고발현에 대해 분류하고, 500 μ g/mL G418 및 1 μ g/mL 퓨로마 이신으로 보충된 RPMI + 10% FBS + PSG에서 유지시켰다.

[0281] 인간 배아 신장 (HEK) 293 세포 (ATCC)를 인간 CD20으로 형질전환시키고, 사이에 4xG4S 링커가 개재된 상태로 녹색 형광 단백질 (GFP; aa 2-240; 수탁 번호 WP_031943942.1)에 융합된 hCD80 (aa 1-288; 수탁 번호 NP_005182.1) 또는 hCD86 (aa 1-329; 수탁 번호 NP_787058.4)를 과발현시키기 위한 렌티바이러스 상층액을 사용한 형질 도입에 사용하였다. 제한 회색에 의한 단일 클로닝 후, 다음과 같은 클론주가 생성되었다: HEK293/hCD20/hCD80-GFP 클론 1F4 및 HEK293/hCD20/hCD86-GFP 클론 4G5. 세포주를 500 μ g/mL G418로 보충된 DME + 10% FBS + PSG + 비필수 아미노산 (NEAA, Irvine Scientific, Santa Ana, CA)에서 유지시켰다.

[0282] T-세포/APC 자극: 조작된 T-세포를, 상기 기술한 바와 같이, T-세포 활성화 이중특이적 항체 REGN2281을 통해 자극한다. CD3에 대한 REGN2281의 결합은 TCR과 복합체로의 CD3 아단위의 클러스터링을 초래하고 T-세포를 활성화시키며, 이는 hIL-2를 방출시킨다. IL-2의 방출은 CD28과 조작된 HEK293 세포 상에 위치한 리간드인 CD80 또는 CD86과의 CD28 상호작용에 의해 추가로 증가될 수 있다. 저컷/NFAT-Luc/hCTLA-4 세포의 최대 활성화는 HEK293 세포 상의 리간드 CD80/CD86과의 결합에 대한 CD28과 CTLA-4의 경쟁으로 인해 약화된다 (문헌 [Carreno *et al.* 2000]).

[0283] 이 생물학적분석에서, CTLA-4/CD80 또는 CD86 상호작용을 차단하는 항체는 억제성 CTLA-4 팔을 비활성화함으로써 조작된 저컷 세포에서의 IL-2 방출을 구제할 것이다.

[0284] IL-2 방출 분석: 스크리닝 24시간 전에, 조작된 T-세포를 분석 배지 (RPMI1640 + 10% FBS+ PSG)에서 5×10^5 세포/mL로 배양하였다. 다음날, HEK293 세포를 D-PBS (Irvine Scientific)로 세척하고, 트립신 (Specialty Media)으로 분리하고 분석 배지로 차단하였다. 다음으로, HEK293 세포를 37°C/5% CO₂에서 1시간 동안 50 μ g/mL의 미토마이신 C를 함유하는 분석 배지로 처리하여 세포 성장을 저지하였다. 이어서 세포를 분석 배지로 철저히 세척하여 유리 미토마이신 C를 제거하였다.

[0285] 항-CTLA-4 항체 및 이의 이소타입 대조군을 분석 배지에서 15 pM 내지 100 nM 범위의 10-점 희석으로 1:3으로 연속 희석시켰다. 연속 희석된 항체를 고정 농도의 300 pM REGN2281을 함유하는 96 웰 둥근 바닥 플레이트 (Nunc)의 상응하는 웰에 첨가하였다. 리포터 T-세포를 최종 농도 1×10^5 세포/웰로 플레이트에 첨가하였다. 플레이트를 37°C/5% CO₂에서 15-30분 동안 배양한 후, 최종 농도 2.5×10^3 세포/웰로 HEK293 세포를 첨가하였다. 플레이트를 37°C/5% CO₂에서 72시간 동안 배양하고 상층액을 수집하여 IL-2 측정에 사용하였다. AlphaLISA 키트 (PerkinElmer)를 사용하여 제조사의 프로토콜에 따라 IL-2 수준을 측정하였다. 다중표지 플레이트 판독기 Envision (PerkinElmer)에서 측정값을 획득하였다. 모든 연속 희석물을 이중으로 시험하였다.

[0286] CTLA-4 mAb의 EC₅₀ 값은 GraphPad Prism을 사용하여 10-점 용량-반응 곡선 상에 걸쳐 4-매개변수 로지스틱 방정식으로부터 측정하였다. 각 샘플의 상대적인 IL-2 값을 항-CTLA-4 항체를 함유하지 않는 샘플로 정규화함으로써 유도 배율을 계산하였다. 표 9는 100 nM에서 도달된 유도 배율 및 hIL-2 방출 분석에서 도달된 계산된 EC₅₀ 값을 나타낸다.

[0287] 결과: 표 8의 결과에서 알 수 있듯이, 이 분석에서 시험된 항-CTLA-4 항체는 저컷/NFAT-Luc/CTLA-4 키메라 // 라지 APC 시스템에서 IL-2 생산을 유도한다. 100 nM 농도에서, 항-CTLA-4 항체는 CTLA-4 음성 리포터 T-세포를 사용하는 분석 시스템에서 관찰된 것보다 4 내지 6배 높은 범위의 배율 활성으로 IL-2 생산을 유도한다. 표 8에 나타난 바와 같이, H1H19303P는 시험된 COMP 1 및 2보다 우수한 성능을 나타내었다.

[0288] **요약**

[0289] 요약하면, T-세포 활성화에 대한 항체의 활성을 평가하도록 설계된 2개의 조작된 T 세포/APC 생물학적분석 시스템에서, 선택된 항-CTLA-4 항체를 시험하였다. 하나의 포맷에서, 항-CTLA-4 항체는 NFAT- 루시퍼라제 활성의 증가에 의해 측정된 바와 같이 T-세포를 활성화시켰으며, 이는 상기 항체가 CTLA-4와 리간드 CD80 및 CD86 사이의

상호작용을 차단함을 나타낸다. 제2 포맷에서, 상기 항-CTLA-4 항체는 IL-2의 생산을 유도하였으며, 이는 항-CTLA-4 항체가 CTLA-4/CD80 및 CTLA-4/CD86 상호 작용을 차단하여 IL-2 방출을 구제할 수 있음을 나타낸다.

표 7

표 7: CTLA-4 T-세포/APC 루시퍼라제 분석에서의 CTLA-4 mab의 EC₅₀

분석 시스템	T 세포: 모체 저컷/NFATLuc cl.3C7 [M]		T 세포: 저컷/NFAT-Luc hCTLA-44/hCD300 [M]		T 세포: 저컷/NFAT-Luc mfCTLA-4/hCD300 [M]	
	APC: 라지		APC: 라지		APC: 라지	
항체 100nM	- Fc 블록	+ Fc 블록	- Fc 블록	+ Fc 블록	- Fc 블록	+ Fc 블록
H1H19273P	-	-	2.74E-09	3.83E-09	3.05E-09	1.83E-09
H1H19291P	-	-	2.36E-09	3.92E-09	-	7.67E-09
H1H19313P	-	-	1.69E-09	3.47E-09	1.34E-09	1.84E-09
H1H19303P	-	-	1.61E-09	1.73E-09	1.28E-09	1.77E-09
H1H19319P2	-	-	2.47E-09	4.18E-09	-	4.91E-09
H1H19327P2	-	-	4.20E-09	5.49E-09	-	5.76E-09
COMP1			3.20E-09	3.30E-09	-	3.00E-09
COMP2			1.97E-09	2.07E-09	1.11E-09	1.70E-09
hIgG1 이소타입	-	-	-	-	-	-
hIgG2 이소타입	-	-	-	-	-	-

(-)는 EC₅₀ 값이 피팅된 곡선으로부터 측정될 수 없음을 나타낸다

[0290]

표 8

표 8: CTLA-4 T-세포/APC IL-2 방출 분석에서 CTLA-4 mab의 EC₅₀ 및 100 nM CTLA-4 mab에서의 유도 배율

분석 시스템	T 세포: 모체 저컷/NFATLuc cl.3C7		T 세포: 저컷/NFAT-Luc hCTLA-44/hCD300		T 세포: 저컷/NFAT-Luc mfCTLA-4/hCD300	
	APC: HEK293/hCD20		APC: HEK293/hCD20/hCD80		APC: HEK293/hCD20/hCD86	
항체 100nM	EC50 [M]	100 nM에서의 배율	EC50 [M]	100 nM에서의 배율	EC50 [M]	100 nM에서의 배율
H1H19273P	-	0.9	3.33E-08	5.1	1.14E-08	6.5
H1H19303P	-	1.1	4.09E-08	5.4	4.09E-08	4.4
H1H19313P	-	0.9	2.19E-08	5.7	2.19E-08	6.1
H1H19319P2	-	1.6	1.56E-08	4.2	1.56E-08	6.4
COMP1	-	1.3	1.83E-08	4.1	4.63E-08	6.3
COMP2	-	0.9	1.17E-08	5.0	9.71E-08	5.0
hIgG1 이소타입	-	1.2	-	0.8	-	1.1
hIgG2 이소타입	-	0.8	-	1.0	-	1.0

(-)는 EC₅₀ 값이 피팅된 곡선으로부터 측정될 수 없음을 나타낸다

[0291]

실시예 7: 종양에 대한 항-CTLA-4 항체의 효능

[0292]

이 실시예는 CTLA-4 유전자에 대해 인간화된 마우스에서 성장된 MC38.Ova 종양에 대한 본 발명의 예시적인 항-CTLA-4 항체의 항종양 효능을 기술한다.

[0293]

[0294]

VelociGene™ 기술을 사용하여 C57BL/6 균주 배경에서 인간 *CTLA-4*^{hum/hum} 녹인 마우스를 조작하였으며, 여기서 상기 마우스는 내인성 *Ctla4* 유전자좌로부터 마우스 CTLA-4 막관통 및 세포질 도메인에 융합된 인간 CTLA-4 세포외 도메인을 포함하는 키메라 단백질을 발현한다 (문헌 [Valenzuela *et al* 2003; Nat. Biotechnol. 21: 652-659]). MC38.Ova 세포주는 MC38 세포의 안정한 렌티바이러스 형질 도입에 의해 조작되어 막관통 닭 오브알부민

항원 (Ova)을 발현시킨다.

[0295] **연구 (A)**

[0296] 0일째에, *CTLA-4^{hum/hum}* 녹인 마우스에 MC38.Ova 세포 (10^6 세포/마우스)를 피하 (SC) 이식하고, 3일, 7일, 10일, 14일 및 17일째에 10 mg/kg의 H1H19273P, 또는 H1H19303P, 또는 H1H19319 또는 10 mg/kg의 hIgG1 이소타입 대조군을 복강내 투여하였다. 종양 부피 및 무종양 동물에 대해 최대 37일 동안 모니터링하였다.

[0297] 3개의 항-CTLA-4 항체 모두 이소타입 대조군 치료와 비교하여 10 mg/kg에서 부분 종양 성장 억제를 나타내었다 (도 1). H1H19303P를 사용한 치료는 24일째까지 10 mg/kg 용량군에서 9마리 마우스 중 8마리 (89%)가 종양이 없도록 만들었다 (도 2). H1H19319P 또는 H1H19273P를 사용한 치료도 유사하게 효과가 있어서, 24일째까지 각각, 9마리 마우스 중 7마리 (78%) 및 9마리 마우스 중 5마리 (56%)에서 완전한 종양 성장 억제를 초래하였다. 24일째에 이소타입 대조군 치료군에서는 무종양인 동물이 없었다. 각각의 항-CTLA-4 항체 치료군에 대해, 24일째 종양 부피는 이소타입 대조군을 투여한 군과 비교하여 유의하게 더 작았다 ($p < 0.0001$).

[0298] 24일째에 종양이 없는 것으로 관찰된 마우스를 이식 후 37일 동안 모니터링하였다. 이소타입 대조군을 투여한 마우스에 비해 항-인간 CTLA-4 항체로 치료된 마우스에서 생존율이 유의하게 더 높았다 ($p < 0.0001$) (도 3). 항-CTLA-4 항체군의 모든 무종양 마우스에서 종양 재발이 관찰되지 않았다. 항체 치료 결과 체중 감소의 증거는 관찰되지 않았다.

[0299] 요약하면, 상기 3개의 항-인간 CTLA-4 항체 (H1H19273P, H1H19303P, 및 H1H19319) 각각을 사용한 치료는 이소타입 대조군과 비교하여 종양 성장 감소, 종양 제거 개선 및 생존 개선을 초래하였다. 이 모델에서 상기 3개의 항-인간 CTLA-4 항체 각각의 효능은 유사하였다.

[0300] **연구 (B)**

[0301] 이 연구에 사용된 예시적인 항-CTLA-4 항체는 인간 CTLA-4에 특이적으로 결합하는 완전 인간 항체이며, 서열 번호 196-198-200-204-206-208의 HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3 및 서열 번호 194/202 (H1H19303P로도 알려짐)의 HCVR/LCVR을 포함한다. H1H19303P (REGN4659로도 알려짐)의 전장 중쇄 아미노산 서열은 서열 번호 509에 제시되어 있고, H1H19303P의 전장 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호 510에 제시되어 있다 (표 9).

표 9

표 9: H1H19303P의 아미노산 서열

Ab 영역	아미노산 서열
HCVR	서열 번호 194 EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYEMSWVRQAPGKGLEWVSSIRTS GTT KYYADSMKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGTFLHYWGQGLTVTVSS
LCVR	서열 번호 202 DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIASYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQTGVP SRFSGSGYGTDFLTISLQPEDFATYYCQQA KSFPMYTFGQGGTKLEIK
HCDR1	서열 번호 196 GFTFSNYE
HCDR2	서열 번호 198 IRTS GTTK
HCDR3	서열 번호 200 AGGGTFLHY
LCDR1	서열 번호 204 QGIASY
LCDR2	서열 번호 206 AAS
LCDR3	서열 번호 208 QQA KSFPMYT
HC	서열 번호 509 *EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYEMSWVRQAPGKGLEWVSSIRTS GTT KYYADSMKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAGGGTFLHYWGQGLTVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP SRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVD KSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
LC	서열 번호 510 *DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGIASYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQTGVP SRFSGSGYGTDFLTISLQPEDFATYYCQQA KSFPMYTFGQGGTKLEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY SLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

*밑줄친 서열은 가변 영역이다

[0302]

[0303]

항-CTLA-4 항체의 투여 및 항종양 활성의 분석

[0304]

H1H19303P의 항종양 활성을 MC38.0va 종양-보유 $CTLA-4^{hum/hum}$ 녹인 마우스에서 상이한 용량으로 시험하였다. hIgG1 이소타입 대조군이 음성 대조군으로 포함되었다. 0일째에 $CTLA-4^{hum/hum}$ 녹인 마우스에 1×10^6 개의 MC38.0va 세포를 뒷 옆구리에 피하 이식하고 4개의 치료군으로 분리하였다 (표 10). 3일, 6일, 9일, 13일 및 16 일째에 마우스에 H1H19303P, 또는 hIgG1 이소타입 대조군을 복강내 투여하였다. 37일 동안 주 2회 캘리퍼에 의해 종양 부피를 측정하였다. 종양-보유 마우스는 37일째 또는 종점 (종양 부피 $> 2000 \text{ mm}^3$ 또는 종양 궤양화)에 서 CO_2 로 희생시켰다. 생존 연구를 위해 무종양 마우스를 최대 107일 동안 추적하였다.

표 10

표 10: MC38.Ova 세포가 이식된 CTLA-4^{hum/hum} 녹인 마우스에서의 효능 연구를 위한 투약 계획

치료군	용량	마우스 마리수/군	투여 경로	투약 계획	출혈 계획 ^a
H1H19303P	2 mg/kg	8	IP	3 일, 6 일, 9 일, 13 일 및 16 일째	-2 일, 6 일, 13 일, 20 일째
H1H19303P	5 mg/kg	8			
H1H19303P	10 mg/kg	8			
hIgG1 이소타입 대조군	10 mg/kg	7			

^a 혈청 샘플을 ELISA에 의해 항체 수준에 대해 분석하였다. 10 mg/kg H1H19303P 및 hIgG1 대조군에 대해 6일, 13일 및 20일째에 수집된 샘플을 분석하고, H1H19303P에 대한 2 mg/kg 및 5 mg/kg 용량군에 대해 6일 및 20일째에 수집한 샘플을 분석하였다.

[0305]

[0306]

실험 시작 2일 전 (-2일째), 및 6일, 13일 및 20일째 항체 투여 2시간 전에 하악하 정맥으로부터 혈액 샘플을 수집하였다. 혈청 샘플을 동결시키고 혈청 항체 수준의 후속 측정을 위해 저장하였다.

[0307]

GraphPad Prism 소프트웨어 (버전 6)를 사용하여 통계 분석을 수행하였다. 동물군들 간의 중앙 부피 차이에 대한 통계학적 유의성을 일원 ANOVA 및 던넛 (Dunnett) 다중 비교 사후 검정에 의해 측정하였다. 무종양 생존에 대한 통계적 유의성은 로그-순위 만텔-콕스 (Mantel-Cox) 검정에 의해 측정되었다. 각각의 군이 대조군과 유의하게 상이한지 여부를 확인하기 위해, 본페로니 (Bonferroni) 방법 ($\alpha_{\text{조정}} = 0.05/6$)을 사용하여 비교 횟수 ($k=6$)에 대해 조정된 유의 수준 ($\alpha=0.05$)으로 두 군의 만텔-콕스 검정을 수행하였다.

[0308]

총 인간 IgG 항체의 혈청 농도

[0309]

인간 Fc γ 의 검출에 특이적인 샌드위치 ELISA를 사용하여 총 H1H19303P 및 hIgG1 이소타입 대조군 항체의 혈청 농도를 측정하였다. 10 mg/kg H1H19303P 및 hIgG1 대조군에 대해 6일, 13일 및 20일째에 수집된 혈청 샘플을 분석하고, H1H19303P에 대한 2 mg/kg 및 5 mg/kg 용량군에 대해 6일 및 20일째에 수집한 샘플을 분석하였다. 간단히 말하면, PBS 중의 1 μ g/mL의 염소 항-인간 Fc γ 다클론 항체를 4°C에서 밤새 마이크로티터 플레이트에 수동적으로 흡착시킨 후, PBS 중의 5% BSA로 비특이적 결합 차단을 수행하였다. 이 분석에서 보정에 사용된 표준은 2.7 내지 350 ng/mL 범위 (1:2 연속 희석)의 H1H19303P, 또는 이소타입 대조군 항체였다. 표준 및 혈청 샘플의 연속 희석물을 희석 완충액 (PBS 중의 0.5% BSA)에서 제조하였다. 이어서 샘플을 항-hFc γ -코팅된 플레이트 (100 μ L/웰)에 첨가하고 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 후속적으로, 플레이트-포획된 인간 IgG 항체를 희석 완충액 중의 160 ng/mL의 HRP-접합된 항-hFc γ 다클론 항체를 사용하여 검출하였다. 발색성 HRP-기질인 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 (TMB)을 사용하여 HRP 활성을 검출하고, 획득된 OD₄₅₀을 Perkin Elmer Victor X4 다중 모드 플레이트 판독기에서 판독하였다. 보정에 사용된 표준 (H1H19303P, 또는 이소타입 대조군 항체)의 최저 농도(2.7 ng/mL)가 상기 분석의 역학적 범위 내에 존재하였으며, 이를 이 분석의 LLOQ로서 정의하였다. GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 비선형 회귀 분석에 의해 데이터를 분석하였다. 2회 반복 실험으로부터의 평균 농도를 분석에 사용하였다.

[0310]

마우스 항-인간 항체의 혈청 농도

[0311]

항-H1H19303P 또는 항-IgG1 대조군 항체 마우스 IgG 역가는 주입된 각각의 항체의 검출에 특이적인 샌드위치 ELISA를 사용하여 측정하였다. 10 mg/kg H1H19303P 및 hIgG1 대조군에 대해 6일, 13일 및 20일째에 수집된 혈청 샘플을 분석하고, H1H19303P에 대한 2 mg/kg 및 5 mg/kg 용량군에 대해 6일 및 20일째에 수집한 샘플을 분석하였다. 간단히 말하면, PBS 중의 1 μ g/mL의 H1H19303P 또는 항-IgG1 control 항체를 4°C에서 밤새 마이크로티터 플레이트에 수동적으로 흡착시킨 후, PBS 중의 5% 소 혈청 알부민 (BSA)으로 비특이적 결합 차단을 수행하였다. 1:500에서 시작하여, 혈청 샘플의 연속 희석물을 희석 완충액 (PBS 중의 0.5% BSA)에서 제조하였다. 따라서 상응하는 희석 계수 (500)가 상기 분석의 검출 하한 (LOD)으로 정의되었다. 이어서 샘플을 H1H19303P 또는 항-IgG1 대조군 항체-코팅된 플레이트 (100 μ L/웰)에 첨가하고 4°C에서 16-18시간 동안 배양하였다. 분석 배경을 측정하기 위해 희석 완충액만을 첨가한 웰이 포함되었다. 후속적으로, 40 ng/mL의 홀스래디쉬 퍼옥시다제 (HRP)-접합된 염소 항-마우스 Fc γ 다클론 항체를 사용하여, 플레이트-포획된 마우스 IgG를 검출하였다. 발색성

HRP-기질인 TMB를 사용하여 HRP 활성을 검출하고, 450 nm에서 획득된 흡광도 (OD₄₅₀)을 Perkin Elmer Victor X4 다중 모드 플레이트 판독기에서 판독하였다. GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하여 비선형 회귀에 의해, 희석 계수에 대비한 결합 신호의 데이터를 분석하였고, 역가를 계산하였다. MAHA 역가는 분석의 배경 신호의 2배에 해당하는 결합 신호에 상응하는 혈청 샘플의 계산된 희석 계수로 정의되었다.

[0312] **결과**

[0313] 0일째에, *CTLA-4^{hum/hum}* 녹인 마우스에 MC38.Ova 세포를 피하 이식하고, 3일, 6일, 9일, 13일 및 16일째에 2, 5, 또는 10 mg/kg의 H1H19303P 또는 10 mg/kg의 hIgG1 이소타입 대조군을 복강내 투여하였다. 종양 부피를 37일 동안 모니터링하였고, 무종양 동물을 최대 107일 동안 모니터링하였다.

[0314] H1H19303P는 이소타입 대조군 치료와 비교하여 시험된 모든 용량에서 부분 종양 성장 억제를 나타내었다 (도 4). H1H19303P를 사용한 치료는 20일째까지 5 mg/kg 용량군 및 10 mg/kg 용량군 모두에서 8마리 마우스 중 5마리 (63%)가 종양이 없도록 만들었고, 2 mg/kg 용량군에서 8마리 마우스 중 2마리 (25%)가 종양이 없도록 만들었다. H1H19303P 치료군에서, 20일째 종양 부피는 이소타입 대조군을 투여한 군과 비교하여 유의하게 더 작았다 ($p < 0.0001$) (도 5).

[0315] 20일째에 종양이 없는 것으로 관찰된 마우스를 이식 후 107일 동안 모니터링하였다. 이소타입 대조군을 투여한 마우스에 비해 H1H19303P로 치료된 마우스에서 생존율이 유의하게 더 높았다 ($p < 0.0001$) (도 6). 모든 용량군에서, 25마리의 무종양 마우스 중 24마리에서 종양 재발이 관찰되지 않았다. 항체 치료 결과 체중 감소의 증거는 관찰되지 않았다.

[0316] 요약하면, H1H19303P를 사용한 예방적 치료는 이소타입 대조군과 비교하여, 용량-의존적 방식으로 유의하게 감소된 종양 성장, 종양 제거 개선 및 생존 개선을 초래하였다.

[0317] ELISA에 의한 혈청 항체 농도 및 MAHA의 평가

[0318] 6일, 13일 및 20일째에 수집된 혈청 샘플을 H1H19303P 및 이소타입 대조군의 농도, 및 MAHA 역가에 대해 ELISA를 사용하여 분석하였다. 인간 IgG의 검출에 특이적인 샌드위치 ELISA를 사용하여 혈청 내의 H1H19303P 및 hIgG1 이소타입 대조군 항체의 농도를 측정하였다 (도 7). H1H19303P 또는 IgG1 대조군 항체에 대한 특이적인 마우스 IgG 역가는 각각의 항체의 검출에 특이적인 샌드위치 ELISA를 사용하여 측정하였다 (도 8).

[0319] 6일째에, 시험된 모든 용량에서 혈청 내의 H1H19303P 및 이소타입 대조군이 검출되었고, H1H19303P의 10, 5, 및 2 mg/kg 용량 각각에 대해 관찰된 평균 혈청 농도는 39.8 ± 24 , 33.5 ± 8.9 , 및 10.4 ± 2.9 였다 (표 11).

표 11

표 11: H1H19303P 및 이소타입 대조군의 혈청 농도

용량	투여된 항체	평균 혈청 농도 (μg/mL) ^a		
		6 일째	13 일째	20 일째
10 mg/kg	H1H19303P	39.8 ± 24	12.0 ± 13	0.21 ± 0.254
	이소타입 대조군	130 ± 10.4	255 ± 43.4	279 ± 64.4
5 mg/kg	H1H19303P	33.5 ± 8.9	NT	≤LLOQ
2 mg/kg	H1H19303P	10.4 ± 2.9	NT	≤LLOQ

^a표시된 데이터는 표준 편차를 갖는 평균 혈청 농도이다.

NT: 시험되지 않음; LLOQ: 정량 하한

[0320]

표 12

표 12: 마우스 항-H1H19303P 및 항-이소타입 대조군 항체의 평균 역가

용량	투여된 항체	평균 역가 ^a		
		6 일째	13 일째	20 일째
10 mg/kg	H1H19303P	≤LOD	39831 ± 24087	711076 ± 352075
	hIgG1 대조군	≤LOD	≤LOD	564 ± 658
5 mg/kg	H1H19303P	≤LOD	NT	779150 ± 514583
2 mg/kg	H1H19303P	≤LOD	NT	878074 ± 409564

^a 표시된 데이터는 표준 편차를 갖는 평균 역가이다.
NT: 시험되지 않음; LOD: 검출 한계

[0321]

[0322]

6일, 9일, 13일 및 16일째에 항체를 추가로 투여 함에도 불구하고, 6일 후, 20일째까지 모든 용량군에 대해 H1H19303P에서 혈청 농도 감소가 관찰되었다 (표 11). 10mg/kg 용량군의 경우, 이소타입 대조군과 비교하여 신속한 항체 제거가 관찰되었다. H1H19303P의 혈청 농도 감소는 MAHA의 발달에 기인한 것으로 예상된다 (도 8, 표 12). MAHA 역가는 모든 용량의 H1H19303P에 대해 6일 후에 측정된 모든 시점에서 관찰되었다. 그러나, 이소타입 대조군에 대한 MAHA 역가는 시험된 모든 시점에서 검출 한계에 있었다.

[0323]

결론

[0324]

10 mg/kg, 5 mg/kg 또는 2 mg/kg의 용량의 H1H19303P의 복강내 투여는, MC38.0va 종양 세포 이식된 $CTLA-4^{hum/hum}$ 녹인 마우스에서, hIgG1 대조군과 비교하여 종양 성장 감소, 종양 제거 개선 및 생존 개선을 초래하였다. H1H19303P의 혈청 농도는 6일 후 시점들에서 항-H1H19303P MAHA의 발달에 따라 시간이 지남에 따라 감소하였다.

[0325]

실시예 8: MC38.0va 종양을 보유한 $PD-I^{hum/hum}$ 녹인 마우스에서 항-마우스 CTLA-4 항체 및 항-인간 PD-1 항체 (REGN2810)를 사용한 병용 치료의 효능

[0326]

이 실시예는 PD-1 유전자에 대해 인간화된 마우스에서의, 항-PD-1 항체와 조합된 항-CTLA-4 항체의 항종양 효능을 기술한다. 이 연구에 사용된 항-PD-1 항체는 REGN2810 (세미플리맵으로도 알려짐)이며, 미국 특허 제 9,987,500호에 H4H7798N으로 기술되어 있다. $PD-I^{hum/hum}$ 녹인 마우스는 미국 특허 출원 공보 제US2015/0203579호에 기술되어 있다.

[0327]

$PD-I^{hum/hum}$ 녹인 마우스에 MC38.0va 세포 (5×10^5 세포/마우스)를 피하 이식하였다. 평균 종양 크기가 100 mm^3 에 도달하였을 때 (치료 0 일째) 마우스를 4개의 치료군으로 무작위화하였다. 0일, 3일, 7일, 10일 및 14 일째에, 마우스에 10mg/kg의 이소타입 대조군 항체, 항-마우스 CTLA-4-mIgG2a 항체 (클론 9D9), 항-인간 PD-1 항체 (REGN2810), 또는 항-마우스 CTLA-4 및 항-인간 PD-1 항체의 조합 (10 mg/kg + 10 mg/kg)을 복강내 투여하였다. 종양 부피 및 무종양 동물에 대해 최대 22일 동안 모니터링하였다. 22일 동안 주 2회 캘리퍼 측정에 의해 종양 부피를 모니터링하였다. 항-CTLA-4 항체 또는 항-PD-1 항체를 사용한 단일 요법은, 이소타입 대조군 치료와 비교하여 10 mg/kg에서 부분 종양 성장 억제를 나타내었다 (도 9). 치료 개시 후 10일째의 개별 종양 부피 (도 10)를 통계 분석에 사용하였는데, 이는 이 때가 모든 군의 모든 동물이 생존해 있었던 연구의 마지막 시점이었기 때문이다. 통계학적 유의성을 일원 ANOVA 및 던넛 (Dunnett) 다중 비교 사후 검정에 의해 측정하였다 (** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$). 항-CTLA-4 및 항-PD-1 항체 치료의 조합은 각각의 항체를 사용한 단일 요법과 비교하여 보다 효과적인 종양 성장 억제를 초래하였으며, 항-PD-1 치료된 군에서보다 병용 치료군에서 10일째에 통계적으로 유의한 더 작은 종양을 나타내었다 (**** $p < 0.0001$, 도 10). 항-CTLA-4 치료군에서는 8마리 동물 중 1마리가 22일째까지 종양이 없는 상태가 되었고, 병용 치료군에서는 8마리 동물 중 2마리가 22일째까지 종양이 없는 상태가 되었다. 항-CTLA-4 및 항-PD-1 항체의 조합을 사용한 치료는 또한 대조군과 비교하여 동물 생존율에서 유의한 차이를 초래하였다 (만텔-록스 검정, **** $p < 0.0001$, 도 11). 항체 치료 결과 체중 감소의 증거는 관찰되지 않았다.

[0328]

요약하면, 항-mCTLA-4 및 항-PD-1 (REGN2810) 항체의 조합에 의한 치료는 각각의 항체를 사용한 단일 요법에 비해 종양 성장을 감소시키고 생존을 개선시켰다.

- [0329] 실시예 9: 인간 CTLA-4^{hum/hum} 마우스에서의 확립된 MC38.Ova 종양 모델에서의 REGN4659 치료의 항종양 효능
- [0330] 실험 설계
- [0331] 0일째에, 60마리의 CTLA-4^{hum/hum} 마우스의 옆구리에 5×10^5 개의 MC38.Ova 세포를 피하 이식하였다. 10일째에, 평균 종양 부피가 100 mm^3 인 30마리의 마우스를 선택하고 3개의 치료군 (N=10/군)으로 무작위화하였다. 10일, 13일 및 17일째에, 마우스에 다음과 같은 항체를 투여하였다: 1군, 25 mg/kg의 hIgG1 이소타입 대조군 Ab (REGN1932); 2군, 25 mg/kg의 항-hCTLA-4 Ab (REGN4659; H1H19303P); 3군, 10mg/kg의 항-hCTLA-4 Ab (REGN4659; H1H19303P).
- [0332] 모든 항체는 복강내 주사에 의해 투여되었다. 실험 기간 (27 일) 동안 캘리퍼 측정에 의해 종양 부피를 모니터링하였다.
- [0333] 결과
- [0334] 확립된 MC38.Ova 종양의 REGN4659 치료는 부분 종양 성장 억제를 초래하였다 (도 12).
- [0335] REGN4659 단일 요법은 10mg/kg 및 25mg/kg의 두 용량 모두에서 종양 성장을 감소시키는데 유사하게 효과적이었다 (도 13).
- [0336] 일원 분산 분석 (ANOVA) 및 튜키 (Tukey) 다중 비교 사후 검정은, 모든 치료군의 동물이 생존해 있었던 마지막 날인 21일째의 각각의 REGN4659 단일 요법군과 hIgG1 이소타입 대조군 사이의 평균 종양 부피의 유의한 차이를 입증하였다 ($p < 0.05$) (도 13).
- [0337] 실시예 10: CTLA-4^{hum/hum} 마우스의 확립된 피하 MC38.Ova 종양의 REGN4659 치료 후 종양내 및 말초 T 세포의 분석
- [0338] 실험 설계
- [0339] 0일째에, 40마리의 CTLA-4^{hum/hum} 마우스의 옆구리에 5×10^5 개의 MC38.Ova 세포를 피하 이식하였다. 10일째에, 평균 종양 부피가 100 mm^3 인 20마리의 마우스를 선택하고 2개의 치료군 (N=10/군)으로 무작위화하였다. 10일 및 13일째에, 마우스에 다음과 같은 항체를 투여하였다: 1군, 25 mg/kg의 hIgG1 이소타입 대조군 Ab (REGN1932); 2군, 25 mg/kg의 항-hCTLA-4 Ab (REGN4659; H1H19303P). 모든 항체는 복강내 주사에 의해 투여되었다. 캘리퍼 측정에 의해 종양 부피를 모니터링하였다. 종양이 hIgG1군에서 $355 \pm 35 \text{ mm}^3$ (평균 \pm SEM)에 도달하고 REGN4659 치료군에서 $180 \pm 43 \text{ mm}^3$ (평균 \pm SEM)에 도달한, 17일째에, 모든 마우스를 희생시켰다. 유동세포분석법에 의한 림프구 분석을 위해 종양 및 비장을 수확하였다. 종양 및 비장의 단일 세포 현탁액을 제조하였다. FcγRIIb 및 FcγRIII에 대한 Fc 결합을 차단하는 24G.2 (Bioxcell)로 세포를 처리한 후, 생존능에 대해 LIVE/DEADTM Fixable Aqua Dead Cell dye (Invitrogen)로 염색한 다음, CD45에 대한 항체 (클론 30-F11; Biolegend), C90.2에 대한 항체 (클론 30-H12; Biolegend), CD8에 대한 항체 (클론 53-6.7; Biolegend), CD4에 대한 항체 (GK1.5; Biolegend), CD11b에 대한 항체 (클론 M1/70; Biolegend) 및 인간 CTLA-4에 대한 항체 (클론 BNI3, BD)의 콕테일로 염색하였다. 세포내 염색을 위해, 샘플을 고정시키고, FoxP3에 대한 항체 (클론 FJK-16s, Invitrogen) 및 인간 CTLA-4에 대한 항체로 염색하였다. 이어서 샘플을 FACS Canto 유동세포분석기 (BD)에서 분석하였다.
- [0340] 결과
- [0341] 이식 및 REGN4659 항체 치료 후 17일째에 MC38.Ova 종양 보유 마우스의 종양 및 비장의 T 세포 서브셋을 분석하였다. 종양 부위 및 비장 주변부의 Teff 및 Treg 집단에 대한 평가는, hIgG1 이소타입을 갖는 REGN4659 (서열 번호 509는 REGN4659로도 알려진 H1H19303P의 전장 중쇄 아미노산 서열임)는 MC38.Ova 종양 보유 CTLA-4^{hum/hum} 마우스에서 단 2회의 치료용 항체의 투여 후 종양 부위에서 Treg의 감소를 매개한다는 점을 입증하였다 (표 12). 종양 부위에서 CD4^+ 효과기 세포 및 CD8^+ 세포의 확장이 관찰되는 반면, REGN4659를 사용한 치료는 비장에서 Treg를 확장시켰다. 이러한 데이터는 REGN4659가 종양내 효과기 T 세포의 활성화와 함께 종양내 Treg를 선별적으로 감소시킴으로써 CTLA-4^{hum/hum} 마우스의 MC38.Ova 종양 모델에서 항종양 활성을 촉진한다는 것을 입증한

다. 비장 Treg 또는 T 효과기 세포와 비교하여 종양내 Treg 수에 대한 REGN4659의 상이한 결과는 CTLA-4의 발현 수준의 차이로 인한 것일 수 있다. 이 질문에 답하기 위해, T-세포 상의 CTLA-4 발현 수준 (표면 및 세포내)을 hIgG1대조군 치료된 군으로부터 FACS에 의해 측정하였다. 종양내 Treg 상에서의 총 CTLA-4의 발현은 종양내 CD8⁺ 및 CD4⁺ 효과기 세포에서보다 약 3배 더 높았으며 비장의 Treg에서보다 약 8배 더 높았다 (도 14). 인간 IgG1 불변 영역을 갖는 항체의 쥐 Fcγ 수용체에 대한 높은 결합 친화도를 고려할 때, 이러한 발현의 차이는 FcγR 의존적 기전에 의한 종양 Treg의 선별적 손실을 설명할 수 있다.

표 13

표 13: REGN4659를 사용한 CTLA-4 차단은 종양내 CD4⁺ 효과기 및 CD8⁺ 세포를 확장시키지만 Treg는 감소시킨다.

	종양		
	CD4 ⁺ 효과기 (**)	CD4 ⁺ Treg (**)	CD8 ⁺ (**)
hIgG1	2.12 ± 0.72	56.82 ± 5.14	6.12 ± 0.64
REGN4659	5.83 ± 0.87	35.38 ± 3.08	11.83 ± 1.49
	비장		
	CD4 ⁺ 효과기 (***)	CD4 ⁺ Treg (**)	CD8 ⁺
hIgG1	10.11 ± 1.33	30.6 ± 1.60	8.73 ± 0.74
REGN4659	14.67 ± 0.78	40.4 ± 0.93	6.99 ± 0.52

[0342]

[0343]

표 13은 CD4⁺FoxP3⁻인 CD45⁺ 세포 (CD4⁺ 효과기)의 백분율, CD8⁺인 CD45⁺의 백분율 및 FoxP3⁺인 CD4⁺ 세포 (CD4⁺Treg)의 백분율을 나타낸다. 쌍을 이루지 않은 t-검정은, REGN4659군 및 이소타입 대조군 치료된 군 간에, 종양에서의 CD4⁺ 효과기, CD8⁺, CD4⁺Treg 및 비장에서의 CD4⁺효과기 및 CD4⁺ Treg에서 있어서의 유의한 차이를 나타내었다 (**p<0.005, *** p<0.001).

[0344]

실시예 11: REGN4659로 치료된 종양 보유 마우스의 비장에서의 T 세포 기능 및 전체적인 전신적 면역 활성화의 변화

[0345]

실험 설계

[0346]

0일째에 20마리의 CTLA-4^{hum/hum} 마우스의 옆구리에 5x10⁵ 개의 MC38.Ova 세포를 피하 이식하고, 2개의 치료군으로 무작위화하였다 (N=9/군). 3일, 7일, 11일, 14일 및 17일째에, 마우스에 10 mg/kg의 hIgG1 이소타입 대조군 Ab (REGN1932), 또는 10 mg/kg의 항-hCTLA-4 Ab (REGN4659; H1H19303P)를 투여하였다. 모든 항체는 복강내 주사에 의해 투여되었다. 캘리퍼 측정에 의해 종양 부피를 모니터링하였다. 24일째 (종양이 너무 커졌을 때)부터 시작하여 37 일째 (실험 종점)까지 마우스를 희생시켰다. 24일째에, REGN4659군에서는 9마리 마우스 중 8마리가 종양이 없어진 반면, 대조군에서는 종양이 없는 마우스가 없었다. 쥐 유전자의 발현 수준 (쥐 사이클로필린 B RNA 발현으로 정규화됨)을 Taqman 실시간 PCR에 의해 측정하였다. 쌍을 이루지 않은 t-검정은 이소타입 대조군과 비교하여 REGN4659군에서 FoxP3, CD3e, 퍼포린, IFNγ, TNFα, PD-L1, PD-L2의 상대적 수준에서 통계적으로 유의한 증가를 나타내었다.

[0347]

결과

[0348]

REGN4659-치료된 마우스의 비장의 Taqman 분석은 FoxP3, CD3e, 퍼포린, IFNγ, TNFα, PD-L1, PD-L2에 대한 증가된 전사체 수준을 나타내었고, 이는 REGN4659에 의한 T 세포 효과기 기능 및 전반적인 면역-항상 기능의 증가를 시사한다. 쥐 유전자의 발현 수준 (쥐 사이클로필린 B RNA 발현으로 정규화됨)을 표 14에 나타내었다. 쌍을 이루지 않은 t-검정은 이소타입 대조군과 비교하여 REGN4659군에서 FoxP3, CD3e, 퍼포린, IFNγ, TNFα, PD-L1, 및 PD-L2의 상대적 수준에서 통계적으로 유의한 증가를 나타내었다.

표 14

표 14: REGN4659 요법은 생체내에서 적응성 면역 반응을 향상시켰다.

	FOXP3 (***)	CD3ε (***)	퍼포린 (***)	IFNγ (***)	TNFα (***)	PD-L1 (*)	PD-L2 (***)
hIgG1	3.12 ± 0.54	2.72 ± 0.39	2.46 ± 0.35	0.962 ± 0.16	1.98 ± 0.34	2.81 ± 0.59	1.98 ± 0.30
REGN4659	9.15 ± 1.28	11.48 ± 1.57	10.65 ± 1.45	4.33 ± 0.61	6.42 ± 0.88	5.33 ± 0.61	7.46 ± 1.02

보고된 평균 ± SEM; 쌍을 이루지 않은 양측 t 검정; *p<0.05, **p≤0.01, ***p≤0.001.

[0349]

[0350]

실시예 12: 진행성 또는 전이성 비-소세포 폐암 환자의 치료에서의 세미플리맵 (항-PD-1 항체)와 조합된 항-CTLA-4 항체 (REGN4659)의 인간 임상 시험

[0351]

이 연구는 진행성 또는 전이성 비-소세포 폐암 (NSCLC)의 치료에서 REGN4659 (즉, 실시예 1-7 및 9-11의 H1H19303P) 단독, 고용량 세미플리맵 단독 (코호트 C), 및 세미플리맵과 REGN4659의 조합을 평가하는 개방-표지, I상, 인간 최초 적용 (FIH) 연구이다. 이 연구는 용량 증가 단계 및 용량 확장 단계 둘 다를 포함한다.

[0352]

세미플리맵 (REGN2810; 실시예 8)은 PD-1과 그의 리간드인 PD-L1 및 PD-L2와의 상호작용을 강력하게 차단하는, PD-1 수용체에 대한 고친화도의, 완전 인간, 힌지-안정화된 IgG4P 항체이다.

[0353]

연구 목적

[0354]

용량 증가 단계의 주요 목표는 치료 경험이 있는 비-소세포 폐암 (NSCLC) 환자에서 REGN4659 단독, 고용량 세미플리맵 단독, 및 REGN4659와 세미플리맵의 조합의 안전성, 내약성 및 약동학 (PK)을 평가하는 것이다. 용량 확장 단계의 주요 목적은 항-PD-1/PD-L1 면역요법 경험이 있는 NSCLC 환자에서, 객관적 반응률 (ORR)에 의해 측정된, REGN4659와 세미플리맵의 조합의 예비 항종양 활성을 평가하고, 항-PD-1/PD-L1 면역요법 경험이 있는 NSCLC 환자에서 REGN4659 및 세미플리맵의 안전성, 내약성 및 PK를 평가하는 것이다.

[0355]

본 연구의 2차 목적은 (i) 용량 증가 단계에서 치료 경험이 있는 NSCLC 환자에서, ORR에 의해 측정된, 고용량 세미플리맵 단일 요법 및 REGN4659와 세미플리맵의 조합의 예비 항종양 활성을 평가하고, (ii) 용량 증가 및 확장 동안 복수의 기준을 통해 REGN4659 및 세미플리맵의 항 종양 활성을 평가하고, (iii) ICOS+ CD4 T-세포를 포함한 T-세포 활성화의 말초 혈액 바이오마커의 변화에 의해 측정된, REGN4659 및 세미플리맵의 전신적 약역학적 효과를 평가하는 것이다.

[0356]

연구 설계

[0357]

이 연구는 진행성 또는 전이성 NSCLC의 치료에서 REGN4659 단독, 고용량 세미플리맵 단독 (코호트 C), 및 REGN4659와 세미플리맵의 조합을 평가하는 개방-표지, I상, 인간 최초 적용 (FIH) 연구이다. 이 연구에는 다음과 같은 2개의 단계가 존재한다: 치료 경험이 있는 NSCLC 환자 (사전 화학요법 및/또는 항-PD-1/PD-L1 면역요법)에서의 용량 증가 단계, 및 항-PD-1/PD-L1 면역요법 치료 경험이 있는 NSCLC 환자에서의 용량 확장 단계.

[0358]

상기 연구는 최대 28일의 스크리닝 기간 (-28일부터 -1일까지)에 이어, 최대 17회의 42일 치료 주기 (최대 102주 치료) 및 24주 후속 조치 기간을 포함한다. 102주 치료 기간이 완료되거나, 또는 명백한 질환 진행, 허용 불가능한 독성, 동의의 철회, 또는 다른 연구 철회 기준이 충족될 때까지, 환자는 치료를 받는다. 최소 24주 치료 후, 완전 반응 (CR)이 확인된 환자는 치료를 중단하고 모든 적절한 연구 평가를 계속하는 것을 선택할 수 있다. 용량 증가에 있어, 의학적으로 금기되지 않는 한 종양 생검이 수행될 것으로 예상된다. 용량 확장 코호트의 일 부분으로서 종양 생검이 필수적이다. 반응 및 이후의 진행을 겪은 환자에서는, 진행시 종양 생검이 요청될 것이나 필수적인 것은 아니다.

[0359]

연구의 규정된 기준을 충족하고 규정된 방문을 계속한 후 CR, 부분 반응 (PR) 또는 안정 질환 (SD)에 대한 치료 기간을 마친 후 6개월 이내에 진행되는 환자는 관련 연구 자격 기준을 재확인한 후 연구 치료를 재개할 수 있다. 환자는 최대 102주의 추가적인 요법을 투여받을 수 있다. 재개된 용량 및 약물(들)은 일반적으로, 환자가 원래 투여받은 것과 동일하거나, 또는 후원자와 연구자 간의 논의 후 확장 코호트(들)에 대해 선택된 용량 수준

이어야 한다.

- [0360] 2회 용량의 세미플리마프 (1050 mg Q3W)에 내성을 갖지만 이후에 PD를 나타내는 코호트 C의 환자는, 조합된 CTLA-4 및 PD-1 차단을 사용하여 반응을 추구하기 위해, 그 시점까지 안전하게 투여된 세미플리마프와 REGN4659의 최고 조합 용량을 추가하는 옵션을 갖는다.
- [0361] 용량 증가: 8개의 용량 상승 코호트가 계획된다. Q3W로 투여되는 2개의 용량 수준 (350 및 1050 mg IV 고정 용량)의 세미플리마프와 조합된, 3개의 용량 수준 (25, 75 및 250 mg 정맥내 [IV] 고정 용량)의 REGN4659를 3주, 6주, 및 12주마다 (Q3W, Q6W, Q12W) 투여되는 다양한 계획으로 연구한다. 1050 mg의 세미플리마프와의 조합 코호트를 시작하기 전에, 1050 mg의 세미플리마프 Q3W 단일 요법의 코호트를 연구한다 (코호트 C). 별표 (코호트 1*, 2*, 및 4*)로 지정된 용량 증가 코호트의 경우, 세미플리마프와 병용하기 전에 REGN4649의 안전성을 평가하기 위해, 단일 도입 용량의 REGN4659 단일 요법을 병용 요법보다 3주 앞서 실시한다. 8개의 코호트 중 6개 (1*, C, 2*, 2, 3, 및 4*)가 용량-제한 독성 (DLT) 평가에 사용된다. DLT-평가가능한 코호트 외에, 2개의 추가 용량 코호트 (5 및 6)는 안전성 및 PK/약역학 평가를 위해 각각 6명의 환자를 등록한다. 코호트 5 및 6은 코호트 2 및 3 각각의 내약성이 확립된 후에 등록된다. REGN4659의 더 높은 용량 강도 (코호트 2 및 3)에 내성을 갖더라도, 코호트 5 및 6의 용량 조합이 잠재적으로 관심 대상이다. 그러나, 코호트 2 및 3이 코호트 5 및 6의 REGN4659의 더 낮은 노출로 인해 내성을 갖는 경우, 이들 코호트는 DLT 평가를 요구하지 않는다. 6명의 환자가 등록되는 코호트 C를 제외하고, 각 용량 코호트에서 최소 3명의 환자가 DLT에 대해 평가가능해야 한다. 환자 안전성을 유지 하면서 1상 용량 증가의 효율성을 최대화하기 위해, 환자가 DLT에 대해 평가가능하기 전에 중단할 경우를 대비 하여 4명의 환자가 각 용량 코호트 (코호트 C 제외)에 등록된다. 코호트 3 및 6 (고용량 세미플리마프를 갖는 조합 코호트)은 코호트 C의 6명의 환자 모두가 DLT 기간을 완료할 때까지 개시되지 않는다. 용량 증가는 상기 조합의 최대 내약 용량 (MTD)이 달성되거나 모든 용량 코호트가 시험될 때까지 용량 코호트들을 통해 진행된다. 그러나, 용량 상승의 완료 전에도, 임의의 코호트에 대해 내약성 및 약역학적 활성이 평가되고 나면, 확장을 위해 용량 코호트(들)을 선택할 수 있다.
- [0362] 용량-제한 독성: 해당 기회 내에서 (연구 약물 독성으로 인해) 용량 #2를 투여할 수 없는 것 이외에도, 질병 진행 또는 병발성 질병과 관련이 있는 것으로 확실히 간주되는 사건을 제외하고, 다음 연구 독성이 나타나는 경우 DLT가 고려된다:
- [0363] 비혈액학적 독성:
- [0364] (i) ≥2등급 포도막염 (잠재적 irAE로 간주);
- [0365] (ii) 아스파테이트 아미노트랜스퍼라제 (AST) 또는 알라닌 아미노트랜스퍼라제 (ALT)가 정상의 상한 (ULN)의 5배 초과이고/거나 총 빌리루빈이 ULN의 3배 초과임. 간 전이 환자의 경우, 기준치에서 2등급인 경우 AST, ALT 및/또는 총 빌리루빈 >2x 기준치 값임; 및
- [0366] (iii) irAE를 포함한 임의의 ≥3등급 비혈액학적 독성 (다른 면역조절 약물에 대한 경험에 의해 정의된 바와 같으며, 하기를 제외함):
- [0367] (a) 치료 의사가 처방한 최대의 지지적 치료 조치에도 불구하고 지속성 (>72시간 지속)이 아닌 한 3등급 메스꺼움, 구토 또는 설사; 및
- [0368] (b) 임상적으로 무의미한 것으로 간주되고 부작용 (AE)에 대한 기준을 충족하지 않는 ≥3 등급 실험실 이상.
- [0369] 혈액학적 독성:
- [0370] (i) 7일 초과로 지속되는 4등급 호중구 감소증;
- [0371] (ii) 4등급 혈소판 감소증;
- [0372] (iii) 출혈을 동반한 3등급 혈소판 감소증;
- [0373] (iv) ≥3등급 열성 호중구 감소증 (절대 호중구 수 <1.0 x 10⁹/L, 열 ≥38.5°C) 또는 문서로 기록된 감염을 동반한 ≥3등급 호중구 감소증;
- [0374] (v) 4등급 빈혈증; 및
- [0375] (vi) 7일 초과로 지속되거나 수혈이 필요한 3등급 빈혈증.

- [0376] DLT 평가 후 개별 코호트에서 안전 문제가 발생하는 경우, 연구자와 후원자가 논의한 후 등록을 일시 중지할 수 있다. 일시 중지를 유발하는 안전 문제는 조기 또는 후기 안전 사건을 포함할 수 있다.
- [0377] **용량 확장:** 일단 내약성 및 약역학적 활성 (말초 ICOS+ T-세포의 증가를 포함하나 이에 제한되지 않음)이 코호트 C (확장되지 않음)를 제외한 임의의 다른 코호트에 대해 평가되고 나면, 확장을 위해 용량 코호트(들)을 선택할 수 있다. 용량 확장 코호트(들)는 항-PD-1/PD-L1 요법을 투여받는 동안 NSCLC가 진행된 항-PD-1/PD-L1 면역요법 경험이 있는 환자를 등록하여, 이 집단에서의 병용 요법의 내약성 및 활성을 측정한다. NSCLC 환자에서의 최적의 병용 요법을 식별하기 위해, 용량 확장에 대해 최대 3개의 개별 용량 요법을 선택한다. 확장 코호트(들)는 Simon 2-단계 설계에 따라 각각 최대 27명의 환자를 등록한다. 개별 확장 코호트에서 안전 문제가 발생하는 경우, 연구자와 후원자가 논의한 후 등록을 일시 중지할 수 있다. 일시 중지를 유발하는 안전 문제는 조기 또는 후기 안전 사건을 포함할 수 있다.
- [0378] **연구 기간**
- [0379] 연구 기간은 약 102주이며, 이는 스크리닝 또는 후속 조치 기간을 포함되지 않은 기간이다.
- [0380] **집단**
- [0381] **샘플 크기:** 미국의 최대 약 15개 장소에서, 최대 약 53명의 성인 환자가 용량 증가 동안 등록될 것으로 예상되며, 각각의 코호트에서 최대 27명의 환자까지 최대 3개의 확장 코호트가 용량 확장 동안 등록될 것으로 예상된다. 등록된 총 환자 수는 용량 증가 동안 관찰된 DLT, PK/약역학 분석, 개방된 확장 코호트 수 및 Simon 2-단계 확장 코호트의 1단계의 효능에 따라 달라질 것이다.
- [0382] **표적 집단:** 이 연구의 표적 집단은 절제 불가능한 IIIB기 또는 IV기 편평 또는 비편평 NSCLC로 진단받은 18세 이상의 남성 및 여성이다.
- [0383] **포함 기준:** 환자는 본 연구에 포함되기 위해 다음 기준을 충족해야 한다:
- [0384] 1. \geq 18살의 남성 및 여성;
- [0385] 2. 절제 불가능한 IIIB기 또는 IV기 질환을 갖는 조직학적으로 또는 세포학적으로 문서로 기록된 편평 또는 비편평 NSCLC에 걸린 환자;
- [0386] 3. **용량 증가 (코호트 C 제외):** 2 종류 이하의 세포독성 화학요법을 비롯하여 3 종류 이하의 전신적 요법을 투여받았으며, 이용 가능한 요법이 임상적 이점을 제공할 것으로 기대되지 않는, 치료 경험이 있는 환자. 사전 PD-1/PD-L1 면역요법을 투여받은 환자는 치료-관련 AE로 인해 영구적으로 중단하지 않았어야 한다. 표적화가 가능한 돌연변이 (표피 성장 인자 수용체 [EGFR], ALK 및 ROS1 포함)를 갖는 환자는 용량 증가 동안 허용되지만 적어도 한 종류의 표적 요법을 추가로 투여받았어야 한다.
- [0387] a. 참고: 1) 보조 또는 선행 화학요법 또는 면역요법 (수술 및/또는 방사선요법 후) 또는 2) III기 질환에 대한 후속 면역요법을 수반하거나 수반하지 않는 결정적인 화학방사선요법이 허용되지만, 치료 완료 후 6개월 초과 후에 재발성 또는 전이성 질환이 발생한 환자에서 요법의 종류를 평가할 때는 포함되지 않는다;
- [0388] 4. **용량 증가 코호트 C:** 백금 이중항-함유 요법을 비롯한 1 내지 2개 종류의 사전 세포독성 화학요법을 투여받은 항-PD-1/PD-L1 나이브 환자. 표적화가 가능한 돌연변이 (EGFR, ALK 및 ROS1 포함)를 갖는 환자는 용량 증가 동안 허용되지만 적어도 한 종류의 표적 요법을 추가로 투여받았어야 한다.
- [0389] a. 참고: 1) 보조 또는 선행 화학요법 또는 2) III기 질환에 대한 결정적인 화학방사선요법이 허용되지만, 치료 완료 후 6개월 초과 후에 재발성 또는 전이성 질환이 발생한 환자에서 요법의 종류를 평가할 때는 포함되지 않는다;
- [0390] 5. **확장 코호트(들):** III기 또는 IV기 질환에 대한 요법을 중단한 후 6개월 이내에 또는 요법을 투여받는 동안 진행된, 항-PD-1/PD-L1 경험 환자. 환자는 치료 관련 AE로 인해 항-PD-1/PD-L1 요법을 영구적으로 중단하지 않았어야 한다. 환자는 한 종류의 항-PD-1/PD-L1 면역요법을 투여받았어야 한다. 환자는 또한 한 종류의 화학요법을 투여받았을 수도 있다. 아래 참고에 기술된 경우를 제외하고 각각의 요법의 추가 종류를 투여받지 않은 한, 사전 병용 화학요법과 면역요법이 허용된다.
- [0391] a. 참고: 1) 보조 또는 선행 화학요법 또는 면역요법 (수술 및/또는 방사선요법 후) 또는 2) III기 질환에 대한 후속 면역요법을 수반하거나 수반하지 않는 결정적인 화학방사선요법이 허용되지만, 치료 완료

후 6개월 초과 후에 재발성 또는 전이성 질환이 발생한 환자에서 요법의 종류를 평가할 때는 포함되지 않는다;

6. 이전에 방사선에 조사된 적이 없는 보관 또는 새로 수득한 포르말린-고정 종양 조직;

7. **확장 코호트(들):** RECIST 1.1 기준에 따라 컴퓨터 단층 촬영 (CT) 또는 자기 공명 영상 (MRI)에 의해 방사선학적으로 측정가능한 적어도 하나의 병소. 해당 부위에 문서로 기록된 (방사선학적) 질병 진행이 존재하는 경우, 표적 병소는 이전에 조사된 지역에 위치할 수 있다;

8. ≤ 1 의 미 동부 종양학 협력 그룹 (Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)) 성과 상태;

9. 적어도 3개월의 기대 수명;

10. 하기와 같이 적절한 장기 및 골수 기능:

· 헤모글로빈 ≥ 9.0 g/dL (참고: 스크리닝 실험실 평가 전 14일 이내에 <9.0 g/dL의 헤모글로빈 수혈을 받은 환자는 자격이 없음)

· 절대 호중구 수치 $\geq 1.5 \times 10^9/L$

· 혈소판 수치 $\geq 75,000/mm^3$

· 사구체 여과율 (GFR) >30 mL/min/ $1.73m^2$

· 총 빌리루빈 $\leq 1.5 \times$ ULN (간 전이된 경우, $\leq 3 \times$ ULN) (임상 적으로 확인된 길버트 증후군으로 진단된 환자 제외)

· AST 및 ALT $\leq 3 \times$ ULN, 또는 간 전이된 경우 $\leq 5 \times$ ULN

· 알칼리 포스파타제 $\leq 2.5 \times$ ULN (또는, 간 또는 뼈 전이된 경우 $\leq 5.0 \times$ ULN)

· Hy의 법칙에 부합하지 않음 (ALT 및/또는 AST $>3 \times$ ULN 및 빌리루빈 $>2 \times$ ULN);

11. 진료소 방문 및 연구 관련 절차를 준수하려는 의지 및 능력; 및

12. 연구 환자 또는 법적으로 허용되는 대리인이 서명한 사전 동의를 제공함.

제외 기준: 하기 기준 중 임의의 것을 충족하는 환자는 본 연구에서 제외된다:

1. **확장 코호트(들) 단독:** 평생 담배를 피우지 않은 (≤ 100 개의 담배를 피운 것으로 정의됨) 환자;

2. 활성 또는 치료되지 않은 뇌 전이 또는 척수 압박. 중추 신경계 (CNS) 전이가 적절히 치료되고, 등록 전에 환자가 적어도 2주 동안 신경학적으로 기준치 (CNS 치료와 관련된 잔류 징후 또는 증상 제외)로 돌아온 경우, 그 환자는 자격이 있다. 환자는 (면역억제 용량의) 코르티코스테로이드 요법을 투여받지 않아야 한다;

3. **확장 코호트(들) 단독:** EGFR 및 ALK 유전자 돌연변이 또는 ROS1 융합에 대해 양성으로 시험된 종양에 걸린 환자. 모든 환자는 EGFR 돌연변이, ALK 재배열 및 ROS1 융합에 대해 종양 평가를 받아야 한다;

4. 등록 전 2주 이내에 방사선요법 투여받고 방사선으로 인해 임의의 AE에서 기준치로 회복되지 않음;

5. 항-CTLA-4 항체로 사전 치료를 받은 환자;

6. 사전 동의를 받기 전 해의 뇌염, 수막염 또는 통제되지 않은 발작;

7. 간질성 폐 질환 (예를 들어 특발성 폐 섬유증, 경결성 폐렴) 또는 관리를 돕기 위해 면역억제 용량의 글루코코르티코이드를 요구한 활동성, 비감염성 폐렴의 병력. 방사선장에서의 방사선 폐렴의 병력은 폐렴이 등록 이전 ≥ 6 개월에 해결된 경우에 허용된다;

8. 전신적 면역억제 치료를 요구하는 유의한 자가면역 질환의 진행중이거나 또는 최근의 증거 (이는 면역-관련 치료-유발 부작용 (irTEAE)의 위험을 시사할 수 있음). 다음은 제외되지 않는다: 백반증, 해결된 소아 천식, 제1형 당뇨병, 호르몬 대체만이 요구되는 갑상선 기능 저하증, 전신적 치료를 필요로 하지 않는 건선;

9. 무작위화 후 14일 이내에 코르티코스테로이드 요법 (>10 mg 프레드니손/일 또는 등가물)을 요구하는 병태에 걸린 환자. 면역억제 목적으로 투여되지 않는 한, >10 mg 프레드니손/일 또는 등가물이라 하더라도 생리학 적 대체 용량은 허용된다. 자가면역 장애 치료용이 아닌 경우, 흡입 또는 국소 스테로이드가 허용된다;

- [0417] 10. **확장 코호트(들) 단독:** 잠재적 치료 요법을 받은 비흑색종 피부암, 또는 제자리 자궁경부 암종 또는 치료된 다른 종양을 제외한, 진행 중이거나 치료가 요구되는 다른 악성 종양, 그리고 연구 시작 전 적어도 2년 동안 환자가 완전히 완화된 것으로 간주됨, 그리고 연구 기간 동안 추가 요법이 요구되지 않음;
- [0418] 11. 인간 면역 결핍 바이러스, B형 간염 또는 C형 간염 감염을 갖는 비제어된 감염; 또는 면역 결핍 진단;
- [0419] 참고:
- [0420] · 스크리닝시 환자에게 C형 간염 바이러스 (HCV) 및 B형 간염 바이러스 (HBV)가 있는지 검사한다;
- [0421] · 제어된 감염 (자발적으로 또는 안정적인 항바이러스 요법 상에서 검출할 수 없는 바이러스 부하 (HIV RNA PCR) 및 CD4 치수 350 초과)을 갖는 공지된 HIV 감염에 걸린 환자는 허용된다. 제어된 HIV 감염을 갖는 환자의 경우, 현지 기준에 따라 모니터링을 수행한다;
- [0422] · 제어된 감염 (검출 한계 미만인 혈청 B형 간염 바이러스 DNA PCR 및 B형 간염에 대한 바이러스 치료를 투여받고 있음)을 갖는 B형 간염 (HepBsAg+) 환자가 허용된다. 제어된 감염을 갖는 환자는 HBV DNA를 주기적으로 모니터링해야 한다. 환자는 마지막 용량의 연구용 연구 약물 이후 적어도 6개월 동안 항바이러스 요법을 유지해야 한다;
- [0423] · 제어된 감염을 갖는 C형 간염 바이러스 항체 양성 (HCV Ab+) 환자 (자발적으로 또는 항-HCV 요법의 성공적인 사전 과정에 반응하여, 검출할 수 없는, PCR에 의한 HCV RNA)가 허용된다.
- [0424] 12. 연구 약물의 시작 전 14일 이내에 전신적 요법을 필요로 하는 활성 감염;
- [0425] 13. 연구 요법으로 치료를 시작하기 적어도 3개월 전에 기준으로 해결되지 않은 면역조절제 (항-PD1/PD-L1 요법, 기타 체크포인트 억제제 요법 및 PI 3K-δ 억제제를 포함하나 이에 제한되지는 않음)로부터의 치료-관련 면역-매개된 AE. 발생 시점에 관계없이 제제의 영구적인 중단을 필요로 하는 PD-1/PD-L1 경로의 차단제를 사용한 사전 치료와 관련된 면역-매개된 AE를 경험한 경우, 환자는 세미플리맵을 사용한 치료에서 제외된다. 참고: 갑상선 기능 저하증이나 모든 등급의 제1형 당뇨병을 경험하였고 호르몬 대체로 제어되고 있는 환자는 허용된다;
- [0426] 14. 시간에 관계없이 이델랄리십 (ZYDELIG®)을 사용한 이전 치료;
- [0427] 15. 현재 다른 연구에서 치료를 투여받고 있거나, 연구용 약품의 연구에 참여하여 치료를 받은 적이 있거나, 연구 요법의 최초 용량의 4주 이내에 연구용 장치를 사용했거나, 연구 요법의 최초 용량의 3주 이내에 승인된 전신적 요법으로 치료를 받았거나, 연구 요법의 최초 용량의 5 반감기 이내에 임의의 이전의 전신적 요법을 받음 (이것들 중 더 긴 것) (항-PD-1/PD-L1 요법 제외). 베바시주맵, 세톡시맵, 리톡시맵 또는 7일보다 긴 반감기를 갖는 다른 비면역조절 항체로 이전에 치료받은 환자는 마지막 치료 이후 적어도 28일이 경과한 경우 후원자와의 논의 후에 허용된다. 항-PD-1/PD-L1 경험이 있는 환자의 경우, 약물의 반감기 또는 승인 상태에 관계없이, 연구 요법의 최초 용량의 3주 이내에 사전 항-PD-1/PD-L1 요법을 투여받을 수 없다;
- [0428] 16. 계획된 연구 약제 투약 시작 30일 이내에 생백신 투여;
- [0429] 17. 최초 용량 전 4주 이내에 주요 수술 또는 심각한 외상성 부상;
- [0430] 18. 독시사이클린 또는 유사한 화합물 (즉, 테트라사이클린)에 대한 공지된 민감도;
- [0431] 19. 임의의 단백질 치료제 (예를 들어 재조합 단백질, 백신, 정맥 면역 글로불린, 단일클론 항체, 수용체 트랩)에 대한 문서로 기록된 알레르기 또는 과민 반응;
- [0432] 20. 불법 약물의 현재 사용을 비롯한 연구의 요구 사항에 대해 참여를 방해할 수 있는 공지된 정신과 또는 약물 남용 장애;
- [0433] 21. 사전 동종이계 줄기 세포 이식;
- [0434] 22. 연구자의 견해에 따르면 연구에 참여하는 것이 환자에 대한 최선의 이익이 아닐 수 있는 의학적 병태;
- [0435] 23. 임신 또는 모유 수유 여성;
- [0436] 24. 기준치 (투여 전 1주기 1일째) 방문에서 혈청 hCG 임신 시험에서 양성;
- [0437] 25. 최초 치료의 최초 용량/시작 이전, 연구 중, 및 마지막 복용 후 적어도 6개월 동안 매우 효과적인 피임

법을 사용할 것을 꺼리는 가임 잠재력*를 가진 성적으로 활동적인 남성 및 여성. 매우 효과적인 피임법은 하기를 포함한다:

- [0438] · 스크리닝 전 배란에서 유발된 2회 이상의 월경주기의 억제와 관련된, 조합된 (에스트로겐 및 프로게스토겐 함유) 호르몬 피임법 (경구, 질내, 경피) 또는 프로게스토겐-단독 호르몬 피임법 (경구, 주사 가능, 이식 가능)의 안정적인 사용;
- [0439] · 자궁내 장치 (IUD); 자궁내 호르몬-방출 시스템 (IUS);
- [0440] · 양측성 난관결찰술;
- [0441] · 정관 절제 수술을 한 배우자;
- [0442] · 밋/또는 성적 금욕†, ‡.

[0443] *폐경 후 여성은 가임 잠재력이 있는 것으로 고려되지 않기 위해 적어도 12개월 동안 무월경이어야 한다. 문서로 기록된 자궁 절제술 또는 난관결찰술이 있는 여성의 경우 임신 검사 및 피임법이 요구되지 않는다.

[0444] †성적 금욕은 연구 치료와 관련된 전체 위험 기간 동안 이성에 성행위를 삼가는 것으로 정의된 경우에만 매우 효과적인 방법으로 간주된다. ‡주기적인 금욕 (달력법, 증상체온법, 배란후법), 철수 (질외 사정), 살정제만 사용, 수유성 무월경 방법 (LAM)은 허용되는 피임법이 아니다. 여성용 콘돔과 남성용 콘돔을 함께 사용해서는 안된다;

[0445] 26. 임상 현장 연구팀 밋/또는 그 직계 가족의 구성원.

[0446] **치료**

[0447] REGN4659: 다양한 계획 (Q3W, Q6W, Q12W)에서 3개의 용량 수준 (25, 75 및 250 mg IV 고정 용량)을 연구한다.

[0448] 세미플리맵: 2개의 용량 수준 (350 및 1050 mg IV 고정 용량)을 Q3W로 투여함.

[0449] **1차 종점**

[0450] 용량 증가 단계에서: DLT 비율, 치료-유발 부작용 (TEAE), irAE, 심각한 부작용 (SAE), 사망, 및 실험실 이상 (NCI 부작용 평가 기준 (Common Terminology Criteria for Adverse Events [CTCAE])에 따라 3 등급 이상).

[0451] 용량 확장 단계에서: 고형 종양의 반응 평가 기준 (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST)) 1.1에 기초한 객관적 반응률 (ORR), 및 TEAE, irAE, SAE, 사망, 실험실 이상 (CTCAE에 따라 3 등급 이상).

[0452] **2차 종점**

[0453] 다음을 비롯한, 복수의 반응 기준에 기초한 종양 측정: (i) RECIST 1.1에 기초한 ORR (용량 증가), (ii) 면역-기반 요법 반응 평가 기준 (immune-based therapy Response Evaluation Criteria (iRECIST))에 기초한 ORR, (iii) RECIST 1.1, iRECIST에 기초한 최상의 전체 반응 (BOR), 반응 기간 (DOR), 질병 제어 속도 및 무진행 생존 (PFS), 및 (iv) 전체 생존 (OS).

[0454] 각각의 용량 코호트 내에서 유동세포측정법을 통한 절대 ICOS+ CD4 T-세포 및 다른 활성화 마커에서의 변화 %의 정량.

[0455] **절차 및 평가**

[0456] REGN4659 및 세미플리맵의 안전성과 내약성은 AE의 임상 평가, 및 활력 징후 (온도, 혈압, 맥박 및 호흡), 신체 검사 (완전 및 제한), 12-유도 심전도 (ECG)를 포함한 임상 평가의 반복적인 측정, 및 표준 혈액학, 화학 및 요 검사를 포함한 실험실 평가에 의해 모니터링한다.

[0457] 항종양 활성은 CT/MRI에 의해 평가한다.

[0458] 혈청 및 항-약물 항체 (항-REGN4659 또는 항-세미플리맵) 샘플 내의 기능성 REGN4659 및 기능성 세미플리맵의 측정을 위한 혈액 샘플을 수집한다.

[0459] 바이오마커의 분석을 위해 혈청, 혈장, 말초 혈액 단핵 세포 (PBMC) 및 종양 생검을 수집한다. 게놈 DNA 샘플을 수집한다. 혈청, 혈장, PBMC 및 종양 조직에서, REGN4659 및 세미플리맵 치료 노출, 임상 활성 또는 기저 질환과 관련된 추측된 약역학적, 예측 및 예후 바이오마커를 조사한다.

[0460] **통계학적 분석**

[0461] **용량 증가 단계:** 본 연구의 용량 증가 단계에 대한 공식적인 통계 가설은 존재하지 않으며; 이 단계의 분석은 본질적으로 설명적이고 탐구적일 것이다. 각각의 용량-증가 코호트 (코호트 1*, 2*, 2, 3 및 4*)에 대해 변형된 3+3 설계 ("4+3")에 기초하여 약 35명의 DLT-평가가능한 환자를 계획한다. 코호트 5 및 6 (코호트 당 6명의 환자)에 대해 12명의 환자를 계획한다. 이들 용량 상승 코호트의 실제 샘플 크기는 문서로 기록된 DLT, 생성된 코호트 크기 및 실행된 용량 수준의 수에 따라 결정된다.

[0462] **용량 확장 단계:** 항-PD-1/PD-L1 면역요법 경험이 있고 항-PD-1/PD-L1 요법을 투여받는 동안 진행된 NSCLC 환자의 각각의 확장 코호트의 경우, 이들 환자에서 이용 가능한 효능 데이터가 거의 없기 때문에, 후원자는 5%보다 우수한 측정 가능한 ORR은 임상적으로 의미있는 치료 효과를 나타내는 것으로 여긴다. 각각의 확장 코호트 당 27명의 환자의 샘플 크기는 단측 유의 수준이 5%이고 검정력이 80% 인 Simon 2-단계 Minimax 설계를 사용하여 결정된다.

[0463] 1차 효능 분석: 확장 코호트에 대해 RECIST 1.1에 의해 측정된 최상의 전체 반응은 양측 95% 신뢰 구간으로 기술 통계를 사용하여 요약된다.

[0464] ORR은 95% 신뢰 구간으로 기술 통계에 의해 요약된다. BOR 평가를 받을 수 없는 환자는 무반응자로 간주된다.

[0465] 확장 코호트의 경우, 반응자 수가 Simon 2-단계 설계에서 지정된 최소 반응자 수 이상인 경우, 그 치료는 효과적이고 추가 연구의 가치가 있는 것으로 간주된다.

[0466] 2차 효능 분석은 iRECIST, DOR, 질환 제어율 및 PFS에 의해 측정된 ORR을 포함한다. 이러한 2차 효능 중점은 용량 증가 및 확장 코호트에 의해 묘사적으로 요약된다.

[0467] 약물 노출, AE, 실험실 데이터 및 활력 징후를 포함한 안전 관찰 및 측정을 요약하여 표와 목록에 표시하였다.

[0468] 용량 상승 단계의 경우: DLT 평가 기간 동안 관찰된 DLT는 용량 코호트에 의해 요약된다.

[0469] **결과**

[0470] 용량 증가 단계에서, REGN4659 및 세미플리맵은, 단독으로 및 조합하여, 치료 경험이 있는 NSCLC 환자에서 내성이 잘 발생한다. 용량 확장 단계에서, 세미플리맵과 조합된 REGN4659는 항-PD-1/PD-1면역요법 경험이 있는 NSCLC 환자에서 내성이 잘 발생하며 측정가능한 항종양 반응을 나타낸다.

[0471] **예시적 구현예**

[0472] 본 발명은 또한 다음 항목에 관한 것이다:

[0473] 항목 1. 인간 세포독성 T-림프구-관련 단백질 4 (CTLA-4)에 결합하여 hCTLA-4와 리간드 B7-1 및/또는 리간드 B7-2 사이의 상호 작용을 차단하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

[0474] 항목 2. T-세포 활성화를 유도하는, 항목 1의 항체 또는 항원-결합 단편.

[0475] 항목 3. T-세포가 세포독성 T-세포인, 항목 2의 항체 또는 항원-결합 단편.

[0476] 항목 4. T-세포가 중앙 침윤 림프구인, 항목 2 또는 항목 3의 항체 또는 항원-결합 단편.

[0477] 항목 5. 항체 또는 항원-결합 단편이 원숭이 CTLA-4에 결합하는, 항목 1 내지 항목 4 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편.

[0478] 항목 6. 항체 또는 항원-결합 단편이 5 nM 미만의 EC50으로 CTLA-4 발현 세포에 결합하는, 항목 1 내지 항목 5 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편.

[0479] 항목 7. 항체 또는 항원-결합 단편이 1 nM 미만의 EC50으로 CTLA-4 발현 세포에 결합하는, 항목 1 내지 항목 6 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편.

[0480] 항목 8. 항체 또는 항원-결합 단편이 0.5 nM 미만의 EC50으로 인간 CTLA-4 발현 세포에 결합하는, 항목 1 내지 항목 7 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편.

[0481] 항목 9. 0.5 nM 미만의 EC50으로 원숭이 CTLA-4 발현 세포에 결합하는, 항목 1 내지 항목 8 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편.

- [0482] 항목 10. 완전 인간 항체인, 항목 1 내지 항목 9 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0483] 항목 11. 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 인간 CTLA-4와의 결합에 대해 경쟁하는, 항목 1 내지 항목 10 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편: (a) 서열 번호 2 및 10, (b) 서열 번호 18 및 26, (c) 서열 번호 34 및 42, (d) 서열 번호 50 및 58, (e) 서열 번호 66 및 74, (f) 서열 번호 82 및 90, (g) 서열 번호 98 및 106, (h) 서열 번호 114 및 122, (i) 서열 번호 130 및 138, (j) 서열 번호 146 및 154, (k) 서열 번호 162 및 170, (l) 서열 번호 178 및 186, (m) 서열 번호 194 및 202, (n) 서열 번호 210 및 218, (o) 서열 번호 226 및 234, (p) 서열 번호 242 및 250, (q) 서열 번호 258 및 266, (r) 서열 번호 274 및 282, (s) 서열 번호 290 및 298, (t) 서열 번호 306 및 298, (u) 서열 번호 314 및 322, (v) 서열 번호 330 및 338, (w) 서열 번호 346 및 354, (x) 서열 번호 362 및 370, (y) 서열 번호 378 및 386, (z) 서열 번호 394 및 402, (a') 서열 번호 410 및 418, (b') 서열 번호 426 및 434, (c') 서열 번호 442 및 450, (d') 서열 번호 458 및 466, (e') 서열 번호 474 및 482, 및 (f') 서열 번호 490 및 498.
- [0484] 항목 12. 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 기준 항체와 동일한 인간 CTLA-4 상의 에피토프에 결합하는, 항목 1 내지 항목 11 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편: (a) 서열 번호 2 및 10, (b) 서열 번호 18 및 26, (c) 서열 번호 34 및 42, (d) 서열 번호 50 및 58, (e) 서열 번호 66 및 74, (f) 서열 번호 82 및 90, (g) 서열 번호 98 및 106, (h) 서열 번호 114 및 122, (i) 서열 번호 130 및 138, (j) 서열 번호 146 및 154, (k) 서열 번호 162 및 170, (l) 서열 번호 178 및 186, (m) 서열 번호 194 및 202, (n) 서열 번호 210 및 218, (o) 서열 번호 226 및 234, (p) 서열 번호 242 및 250, (q) 서열 번호 258 및 266, (r) 서열 번호 274 및 282, (s) 서열 번호 290 및 298, (t) 서열 번호 306 및 298, (u) 서열 번호 314 및 322, (v) 서열 번호 330 및 338, (w) 서열 번호 346 및 354, (x) 서열 번호 362 및 370, (y) 서열 번호 378 및 386, (z) 서열 번호 394 및 402, (a') 서열 번호 410 및 418, (b') 서열 번호 426 및 434, (c') 서열 번호 442 및 450, (d') 서열 번호 458 및 466, (e') 서열 번호 474 및 482, 및 (f') 서열 번호 490 및 498.
- [0485] 항목 13. 항체 또는 항원-결합 단편이 (a) 서열 번호 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 및 490 으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)의 상보성 결정 영역 (CDR); 및 (b) 서열 번호 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 및 498으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR)의 CDR을 포함하는, 항목 1 내지 항목 12 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0486] 항목 14. 항체 또는 항원-결합 단편이 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는, 항목 1 내지 항목 13 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편: (a) 서열 번호 2 및 10, (b) 서열 번호 18 및 26, (c) 서열 번호 34 및 42, (d) 서열 번호 50 및 58, (e) 서열 번호 66 및 74, (f) 서열 번호 82 및 90, (g) 서열 번호 98 및 106, (h) 서열 번호 114 및 122, (i) 서열 번호 130 및 138, (j) 서열 번호 146 및 154, (k) 서열 번호 162 및 170, (l) 서열 번호 178 및 186, (m) 서열 번호 194 및 202, (n) 서열 번호 210 및 218, (o) 서열 번호 226 및 234, (p) 서열 번호 242 및 250, (q) 서열 번호 258 및 266, (r) 서열 번호 274 및 282, (s) 서열 번호 290 및 298, (t) 서열 번호 306 및 298, (u) 서열 번호 314 및 322, (v) 서열 번호 330 및 338, (w) 서열 번호 346 및 354, (x) 서열 번호 362 및 370, (y) 서열 번호 378 및 386, (z) 서열 번호 394 및 402, (a') 서열 번호 410 및 418, (b') 서열 번호 426 및 434, (c') 서열 번호 442 및 450, (d') 서열 번호 458 및 466, (e') 서열 번호 474 및 482, 및 (f') 서열 번호 490 및 498.
- [0487] 항목 15. 항체 또는 항원-결합 단편이 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 도메인을 포함하는, 항목 1 내지 항목 14 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편: (a) 서열 번호 4, 6, 8, 12, 14 및 16 각각; (b) 서열 번호 20, 22, 24, 28, 30 및 32 각각; (c) 서열 번호 36, 38, 40, 44, 46 및 48 각각; (d) 서열 번호 52, 54, 56, 60, 62 및 64 각각; (e) 서열 번호 68, 70, 72, 76, 78 및 80 각각; (f) 서열 번호 84, 86, 88, 92, 94 및 96 각각; (g) 서열 번호 100, 102, 104, 108, 110 및 112 각각; (h) 서열 번호 116, 118, 120, 124, 126 및 128 각각; (i) 서열 번호 132, 134, 136, 140, 142 및 144 각각; (j) 서열 번호 148, 150, 152, 156, 158 및 160 각각; (k) 서열 번호 164, 166, 168, 172, 174 및 176 각각; (l) 서열 번호 180, 182, 184, 188, 190 및 192 각각; (m) 서열 번호 196, 198, 200, 204, 206 및 208 각각; (n) 서열 번호 212, 214, 216, 220, 222 및 224 각각; (o) 서열 번호 228, 230, 232, 236, 238 및 240 각각;

(p) 서열 번호 244, 246, 248, 252, 254 및 256 각각; (q) 서열 번호 260, 262, 264, 268, 270 및 272 각각; (r) 서열 번호 276, 278, 280, 284, 286 및 288 각각; (s) 서열 번호 292, 294, 296, 300, 302 및 304 각각; (t) 서열 번호 308, 310, 312, 300, 302 및 304 각각; (u) 서열 번호 316, 318, 320, 324, 326 및 328 각각; (v) 서열 번호 332, 334, 336, 340, 342 및 344 각각; (w) 서열 번호 348, 350, 352, 356, 358 및 360 각각; (x) 서열 번호 364, 366, 368, 372, 374 및 376 각각; (y) 서열 번호 380, 382, 384, 388, 390 및 392 각각; (z) 서열 번호 396, 398, 400, 404, 406 및 408 각각; (a') 서열 번호 412, 414, 416, 420, 422 및 424 각각; (b') 서열 번호 428, 430, 432, 436, 438 및 440 각각; (c') 서열 번호 444, 446, 448, 452, 454 및 456 각각; (d') 서열 번호 460, 462, 464, 468, 470 및 472 각각; (e') 서열 번호 476, 478, 480, 484, 486 및 488 각각; 및 (f') 서열 번호 492, 494, 496, 500, 502 및 504 각각.

[0488] 항목 16. 항체 또는 항원-결합 단편이 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 항목 1 내지 항목 15 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편: (a) 서열 번호 2 및 10, (b) 서열 번호 18 및 26, (c) 서열 번호 34 및 42, (d) 서열 번호 50 및 58, (e) 서열 번호 66 및 74, (f) 서열 번호 82 및 90, (g) 서열 번호 98 및 106, (h) 서열 번호 114 및 122, (i) 서열 번호 130 및 138, (j) 서열 번호 146 및 154, (k) 서열 번호 162 및 170, (l) 서열 번호 178 및 186, (m) 서열 번호 194 및 202, (n) 서열 번호 210 및 218, (o) 서열 번호 226 및 234, (p) 서열 번호 242 및 250, (q) 서열 번호 258 및 266, (r) 서열 번호 274 및 282, (s) 서열 번호 290 및 298, (t) 서열 번호 306 및 298, (u) 서열 번호 314 및 322, (v) 서열 번호 330 및 338, (w) 서열 번호 346 및 354, (x) 서열 번호 362 및 370, (y) 서열 번호 378 및 386, (z) 서열 번호 394 및 402, (a') 서열 번호 410 및 418, (b') 서열 번호 426 및 434, (c') 서열 번호 442 및 450, (d') 서열 번호 458 및 466, (e') 서열 번호 474 및 482, 및 (f') 서열 번호 490 및 498.

[0489] 항목 17. (a) 서열 번호 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 314, 330, 346, 362, 378, 394, 410, 426, 442, 458, 474, 및 490로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)의 상보성 결정 영역 (CDR); 및 (b) 서열 번호 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 322, 338, 354, 370, 386, 402, 418, 434, 450, 466, 482, 및 498으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR)의 CDR을 포함하는, 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

[0490] 항목 18. 항체가 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍의 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는, 항목 17의 항체 또는 항원-결합 단편: (a) 서열 번호 2 및 10, (b) 서열 번호 18 및 26, (c) 서열 번호 34 및 42, (d) 서열 번호 50 및 58, (e) 서열 번호 66 및 74, (f) 서열 번호 82 및 90, (g) 서열 번호 98 및 106, (h) 서열 번호 114 및 122, (i) 서열 번호 130 및 138, (j) 서열 번호 146 및 154, (k) 서열 번호 162 및 170, (l) 서열 번호 178 및 186, (m) 서열 번호 194 및 202, (n) 서열 번호 210 및 218, (o) 서열 번호 226 및 234, (p) 서열 번호 242 및 250, (q) 서열 번호 258 및 266, (r) 서열 번호 274 및 282, (s) 서열 번호 290 및 298, (t) 서열 번호 306 및 298, (u) 서열 번호 314 및 322, (v) 서열 번호 330 및 338, (w) 서열 번호 346 및 354, (x) 서열 번호 362 및 370, (y) 서열 번호 378 및 386, (z) 서열 번호 394 및 402, (a') 서열 번호 410 및 418, (b') 서열 번호 426 및 434, (c') 서열 번호 442 및 450, (d') 서열 번호 458 및 466, (e') 서열 번호 474 및 482, 및 (f') 서열 번호 490 및 498.

[0491] 항목 19. 항체 또는 항원-결합 단편이 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 도메인을 포함하는, 항목 17 또는 항목 18의 항체 또는 항원-결합 단편: (a) 서열 번호 4, 6, 8, 12, 14 및 16 각각; (b) 서열 번호 20, 22, 24, 28, 30 및 32 각각; (c) 서열 번호 36, 38, 40, 44, 46 및 48 각각; (d) 서열 번호 52, 54, 56, 60, 62 및 64 각각; (e) 서열 번호 68, 70, 72, 76, 78 및 80 각각; (f) 서열 번호 84, 86, 88, 92, 94 및 96 각각; (g) 서열 번호 100, 102, 104, 108, 110 및 112 각각; (h) 서열 번호 116, 118, 120, 124, 126 및 128 각각; (i) 서열 번호 132, 134, 136, 140, 142 및 144 각각; (j) 서열 번호 148, 150, 152, 156, 158 및 160 각각; (k) 서열 번호 164, 166, 168, 172, 174 및 176 각각; (l) 서열 번호 180, 182, 184, 188, 190 및 192 각각; (m) 서열 번호 196, 198, 200, 204, 206 및 208 각각; (n) 서열 번호 212, 214, 216, 220, 222 및 224 각각; (o) 서열 번호 228, 230, 232, 236, 238 및 240 각각; (p) 서열 번호 244, 246, 248, 252, 254 및 256 각각; (q) 서열 번호 260, 262, 264, 268, 270 및 272 각각; (r) 서열 번호 276, 278, 280, 284, 286 및 288 각각; (s) 서열 번호 292, 294, 296, 300, 302 및 304 각각; (t) 서열 번호 308, 310, 312, 300, 302 및 304 각각; (u) 서열 번호 316, 318, 320, 324, 326 및 328 각각; (v) 서열 번호 332, 334, 336, 340, 342 및 344 각각; (w) 서열 번호 348, 350, 352, 356, 358 및 360 각각; (x) 서열 번호 364, 366, 368, 372, 374 및 376 각각; (y) 서열 번호 380, 382, 384, 388, 390 및 392 각각; (z) 서열 번호

396, 398, 400, 404, 406 및 408 각각; (a') 서열 번호 412, 414, 416, 420, 422 및 424 각각; (b') 서열 번호 428, 430, 432, 436, 438 및 440 각각; (c') 서열 번호 444, 446, 448, 452, 454 및 456 각각; (d') 서열 번호 460, 462, 464, 468, 470 및 472 각각; (e') 서열 번호 476, 478, 480, 484, 486 및 488 각각; 및 (f') 서열 번호 492, 494, 496, 500, 502 및 504 각각.

- [0492] 항목 20. 항체 또는 항원-결합 단편이 다음으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 항목 17 내지 항목 19 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편: (a) 서열 번호 2 및 10, (b) 서열 번호 18 및 26, (c) 서열 번호 34 및 42, (d) 서열 번호 50 및 58, (e) 서열 번호 66 및 74, (f) 서열 번호 82 및 90, (g) 서열 번호 98 및 106, (h) 서열 번호 114 및 122, (i) 서열 번호 130 및 138, (j) 서열 번호 146 및 154, (k) 서열 번호 162 및 170, (l) 서열 번호 178 및 186, (m) 서열 번호 194 및 202, (n) 서열 번호 210 및 218, (o) 서열 번호 226 및 234, (p) 서열 번호 242 및 250, (q) 서열 번호 258 및 266, (r) 서열 번호 274 및 282, (s) 서열 번호 290 및 298, (t) 서열 번호 306 및 298, (u) 서열 번호 314 및 322, (v) 서열 번호 330 및 338, (w) 서열 번호 346 및 354, (x) 서열 번호 362 및 370, (y) 서열 번호 378 및 386, (z) 서열 번호 394 및 402, (a') 서열 번호 410 및 418, (b') 서열 번호 426 및 434, (c') 서열 번호 442 및 450, (d') 서열 번호 458 및 466, (e') 서열 번호 474 및 482, 및 (f') 서열 번호 490 및 498.
- [0493] 항목 21. 항체가 서열 번호 509의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 510의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, 항목 17 내지 항목 20 중 어느 한 항목의 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0494] 항목 22. 항목 1 내지 항목 21 중 어느 한 항목의 항체 또는 이의 항원-결합 단편 및 약학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물.
- [0495] 항목 23. 항목 1 내지 항목 21 중 어느 한 항목에 기술된 항체의 HCVR을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드 분자.
- [0496] 항목 24. 항목 1 내지 항목 21 중 어느 한 항목에 기술된 항체의 LCVR을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 단리된 폴리뉴클레오티드 분자.
- [0497] 항목 25. 항목 23의 폴리뉴클레오티드 및/또는 항목 24의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.
- [0498] 항목 26. 항목 25의 벡터를 발현하는 숙주 세포.
- [0499] 항목 27. 이를 필요로 하는 대상체에서 종양 또는 종양 세포의 성장을 억제하는데 사용하기 위한, 항목 1 내지 항목 21 중 어느 한 항목의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 항목 22의 약학적 조성물.
- [0500] 항목 28. 종양이 원발성 또는 재발성 종양인, 항목 27에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0501] 항목 29. 종양이 확립된 종양인, 항목 27에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0502] 항목 30. 종양이 혈액암, 뇌암, 신장세포암, 난소암, 방광암, 전립선암, 피부암, 신장암, 자궁경부암, 위암, 췌장암, 유방암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부 편평 세포 암종, 결장직장암, 중피종, B 세포 림프종, 골수종 및 흑색종으로 구성된 군으로부터 선택된 질환 또는 장애에 걸린 대상체에 존재하는, 항목 27 내지 항목 29 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0503] 항목 31. 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물이 초기 용량으로서 대상체에게 투여된 다음 1회 이상의 2차 용량이 투여되고, 각각의 2차 용량은 직전 투약 후 1 내지 12주에 투여되는, 항목 27 내지 항목 30 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0504] 항목 32. 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 약학적 조성물이 약 25-600 mg의 용량으로 대상체에게 투여되는, 항목 31에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0505] 항목 33. 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 약학적 조성물이 제2 치료제와 조합하여 대상체에게 투여되는, 항목 27 내지 항목 32 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0506] 항목 34. 제2 치료제가 LAG3 억제제, 종양 특이적 항원에 대한 항체, 바이러스-감염된-세포 항원에 대한 항체, PD-1 억제제, PD-L1 억제제, CD20 억제제, CD20 및 CD3에 대한 이중특이적 항체, 식이 보조제, 예를 들어 항산

화제, VEGF 길항제, 암 백신, 화학요법제, 세포독성제, 방사선, 수술, 및 상기 질환 또는 장애와 관련된 적어도 하나의 증상을 개선하는데 유용한 임의의 다른 요법으로 구성된 군으로부터 선택되는, 항목 33에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.

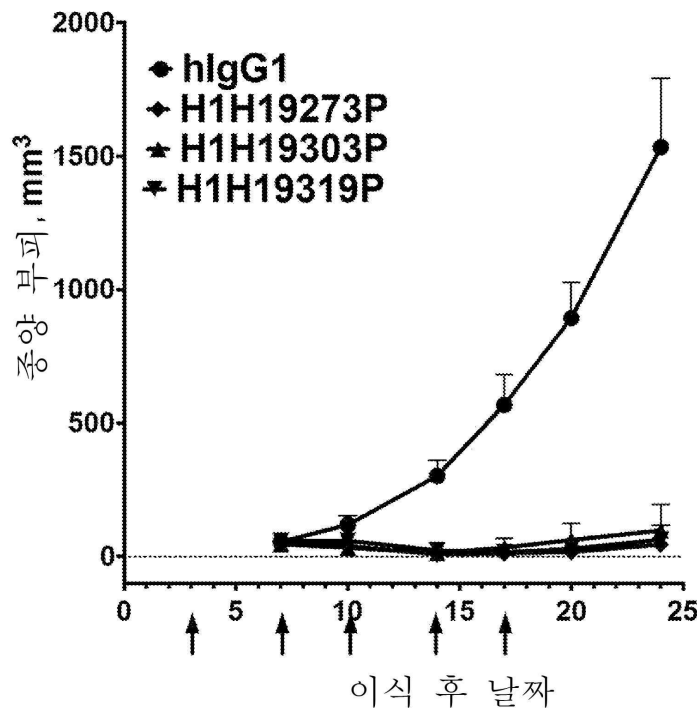
- [0507] 항목 35. 제2 치료제가 PD-1 억제제인, 항목 33 또는 항목 34에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0508] 항목 36. PD-1 억제제가 세미플리맵, 니볼루맵 또는 펠브롤리주맵인, 항목 33 내지 항목 35 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0509] 항목 37. PD-1 억제제가 1, 3 또는 10 mg/대상체 체중 kg의 용량으로 투여되는, 항목 36에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0510] 항목 38. PD-1 억제제가 50-1200 mg의 용량으로 투여되는, 항목 33 내지 항목 35 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0511] 항목 39. 항체 또는 이의 항원-결합 단편 또는 약학적 조성물이 피하, 정맥내, 종양내, 종양 주위, 피내, 복강내, 경구, 근육내 또는 두개내로 투여되는, 항목 27 내지 항목 38 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0512] 항목 40. 이를 필요로 하는 대상체에서 CTLA-4를 길항함으로써 치료할 수 있는 질환 또는 장애를 치료하는데 사용하기 위한, 항목 1 내지 항목 21 중 어느 한 항목의 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 항목 22의 약학적 조성물.
- [0513] 항목 41. 질환 또는 장애가 인간 면역 결핍 바이러스 (HIV), C형 간염 바이러스 (HCV), B형 간염 바이러스 (HBV), 인간 유두종 바이러스 (HPV), 림프구성 맥락수막염 바이러스 (LCMV), 및 원숭이 면역 결핍 바이러스 (SIV)로 구성된 군으로부터 선택된 바이러스에 의해 유발된 만성 감염인, 항목 40에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0514] 항목 42. 질환 또는 장애가 혈액암, 뇌암, 신장세포암, 난소암, 방광암, 피부암, 자궁경부암, 위암, 신장암, 전립선암, 유방암, 간세포 암종, 골암, 결장암, 비-소세포 폐암, 두경부 편평 세포 암종, 결장직장암, 중피종, B 세포 림프종, 및 흑색종으로 구성된 군으로부터 선택되는, 항목 40에 따른 용도를 위한, 항체 또는 이의 항원-결합 단편, 또는 약학적 조성물.
- [0515] 항목 43. 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 생산하는 방법으로서, 상기 항체 또는 이의 항원-결합 단편의 생산을 허용하는 조건 하에 항목 26의 숙주 세포를 성장시키고, 이렇게 생산된 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 회수하는 단계를 포함하는, 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 생산하는 방법.
- [0516] 항목 44. 항체 또는 이의 항원-결합 단편을 약학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물로 제형화하는 단계를 포함하는, 항목 43의 방법.
- [0517] 항목 45. 이를 필요로 하는 대상체에서의 비-소세포 폐암의 치료에 항-PD-1 항체와 조합하여 사용하기 위한 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0518] 항목 46. 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 항목 1 내지 항목 21 중 어느 한 항목에 청구된 항체 또는 이의 항원-결합 단편인, 항목 45에 따른 용도를 위한 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0519] 항목 47. 항-CTLA-4 항체가 서열 번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR의 CDR 및 서열 번호 202의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR의 CDR을 포함하는, 항목 45 또는 항목 46에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0520] 항목 48. 항-CTLA-4 항체가 서열 번호 196의 HCDR1, 서열 번호 198의 HCDR2, 서열 번호 200의 HCDR3, 서열 번호 204의 LCDR1, 서열 번호 206의 LCDR2, 및 서열 번호 208의 LCDR3을 포함하는, 항목 45 내지 항목 47 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0521] 항목 49. 항-CTLA-4 항체가 서열 번호 194의 아미노산 서열을 포함하는 HCVR 및 서열 번호 202의 아미노산 서열을 포함하는 LCVR을 포함하는, 항목 45 내지 항목 48 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0522] 항목 50. 항-CTLA-4 항체가 인간 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함하는, 항목 45 내지 항목 49 중 어느 한 항목에 따

른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.

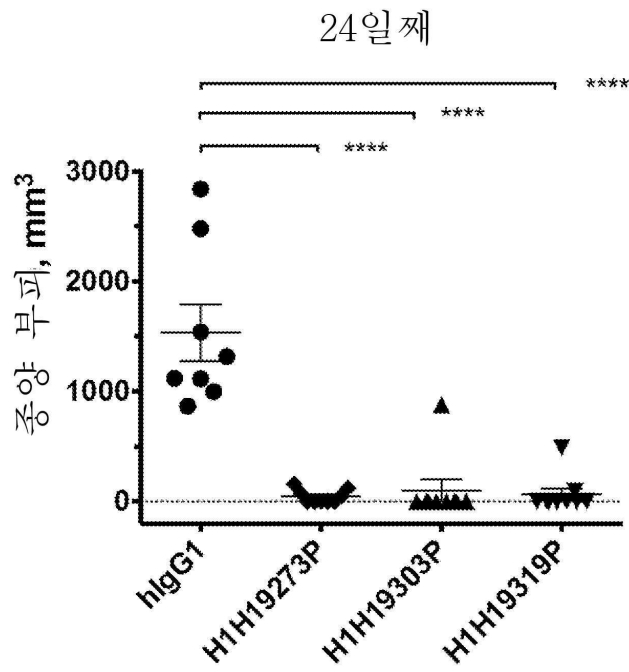
- [0523] 항목 51. 항-CTLA-4 항체가 서열 번호 509의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호 510의 아미노산 서열의 경쇄를 포함하는, 항목 45 내지 항목 50 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0524] 항목 52. 항-PD-1 항체가 세미플리맵인, 항목 45 내지 항목 51 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0525] 항목 53. 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 25-600 mg의 용량으로 투여되는, 항목 45 내지 항목 52 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0526] 항목 54. 항-PD-1 항체가 50-1200 mg의 용량으로 투여되는, 항목 45 내지 항목 53 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0527] 항목 55. 항-CTLA-4 항체 또는 이의 항원-결합 단편이 초기 용량으로서 투여된 다음, 1회 이상의 2차 용량이 투여되고, 각각의 2차 용량은 직전 투약 후 1 내지 12주에 투여되는, 항목 45 내지 항목 54 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0528] 항목 56. 비-소세포 폐암 (NSCLC)이 진행성 또는 전이성 NSCLC인, 항목 45 내지 항목 55 중 어느 한 항목에 따른 용도를 위한 항체 또는 이의 항원-결합 단편.
- [0529] 항목 57. 이를 필요로 하는 대상체에서의 비-소세포 폐암의 치료에 항-PD-1 항체와 조합하여 사용하기 위한 항목 22의 약학적 조성물.
- [0530] 본 발명은 그 범위가 본원에 기술된 특정한 구현예들에 의해 제한되지 않는다. 실제로, 본원에 기술된 것들 이외에 본 발명의 다양한 변형이 진술한 설명으로부터 당업자에게 명백해질 것이다. 이러한 변형은 첨부된 청구범위의 범위 내에 속하는 것으로 의도된다.

도면

도면1

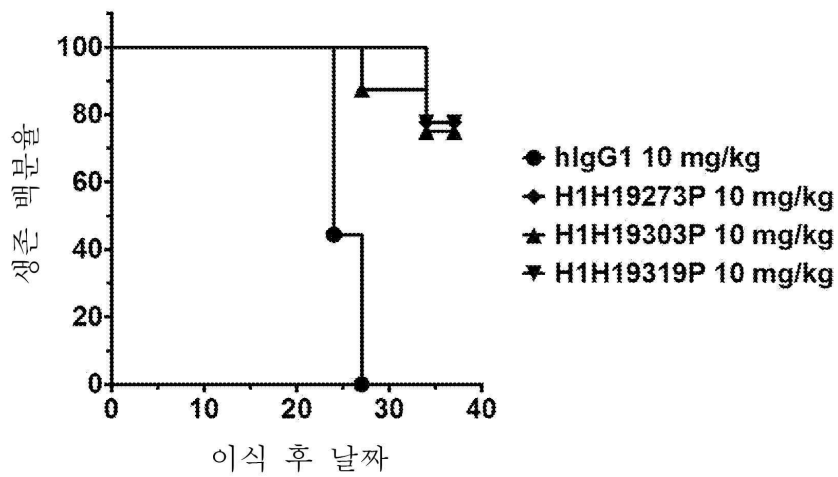


도면2

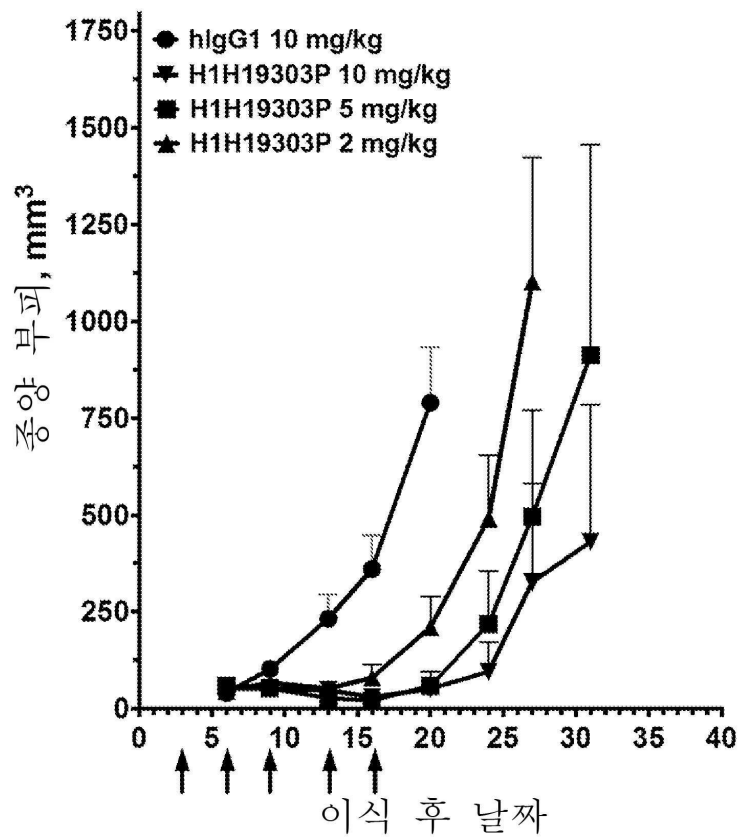


일원 ANOVA 및 튜키 다중 비교 검정
****p<0.0001

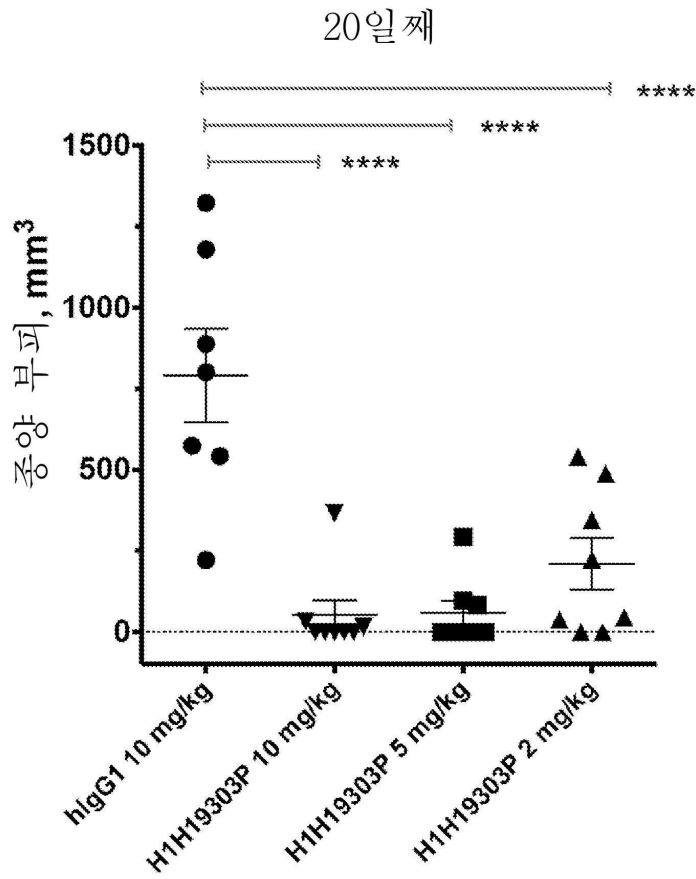
도면3



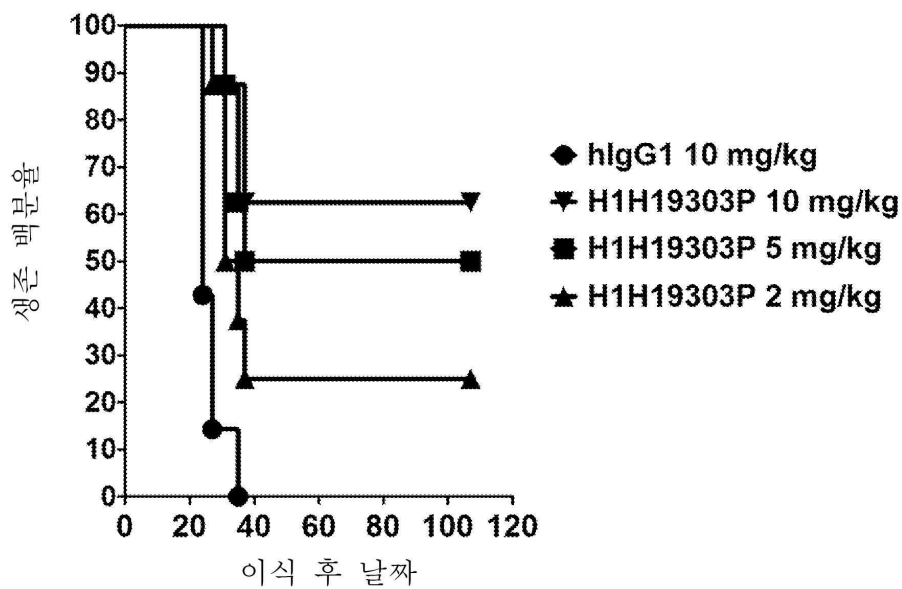
도면4



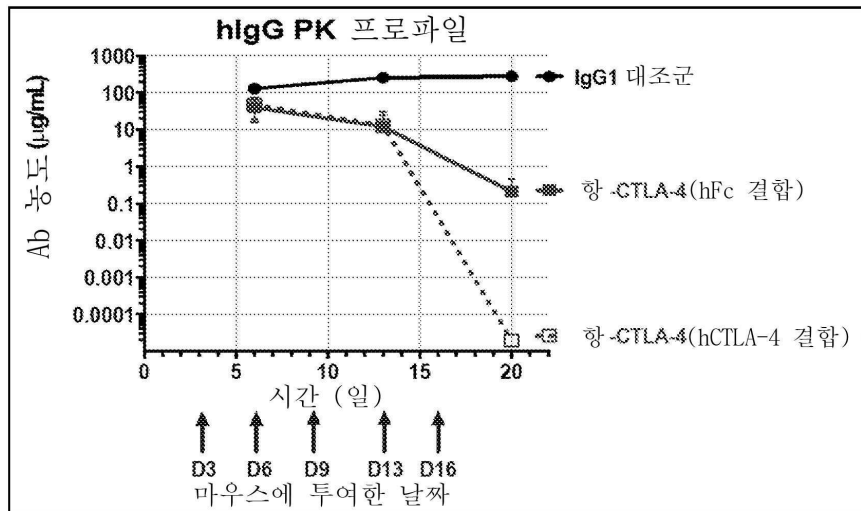
도면5



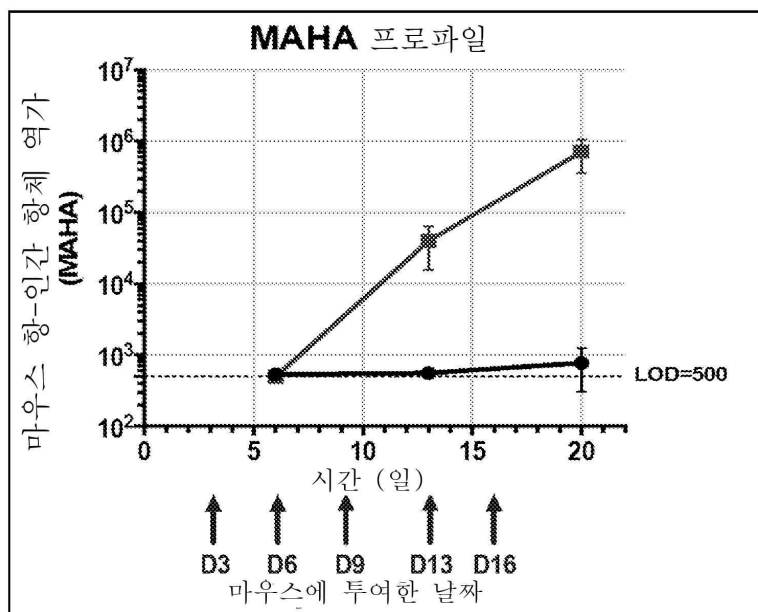
도면6



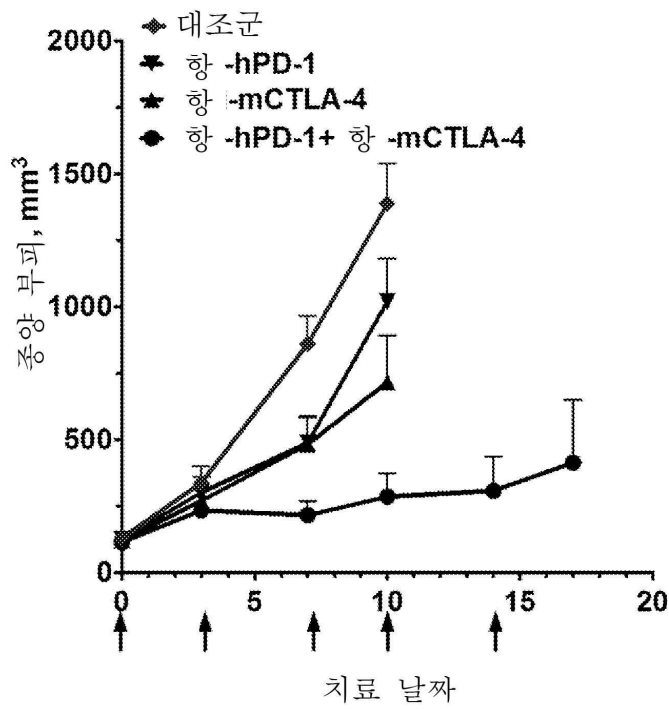
도면7



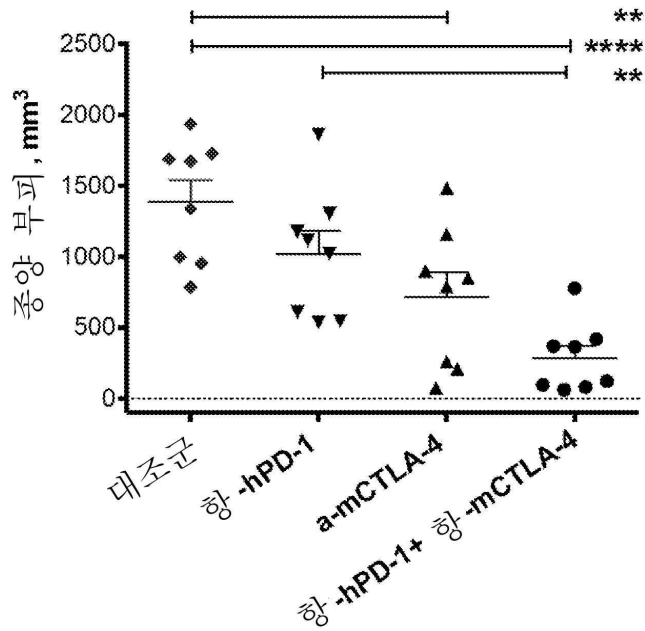
도면8



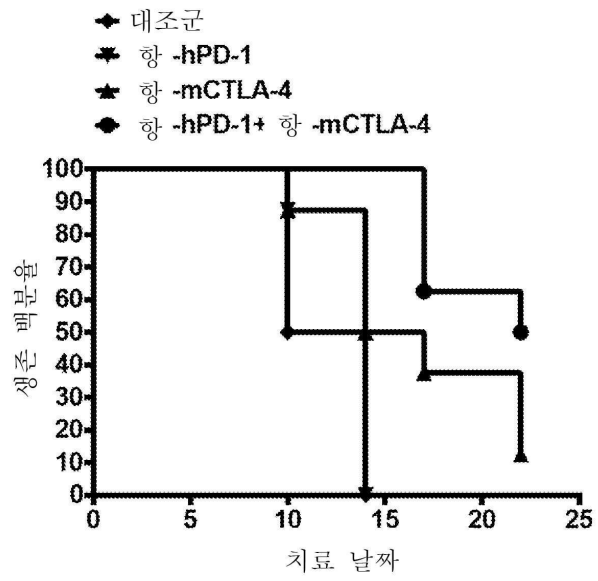
도면9



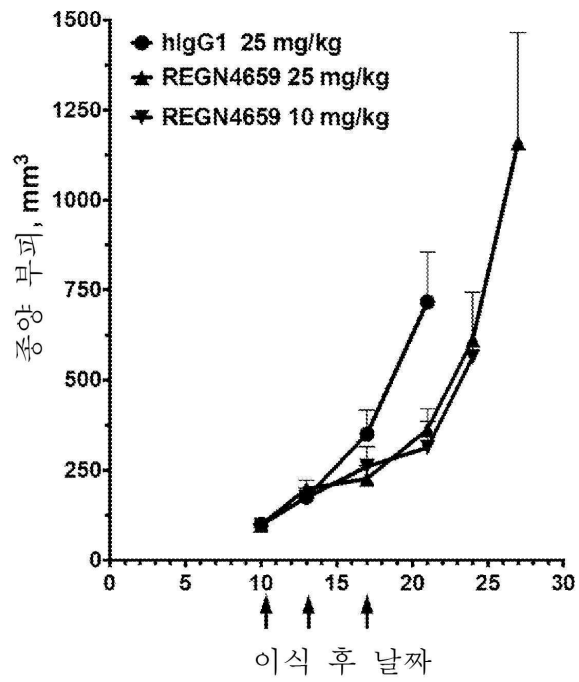
도면10



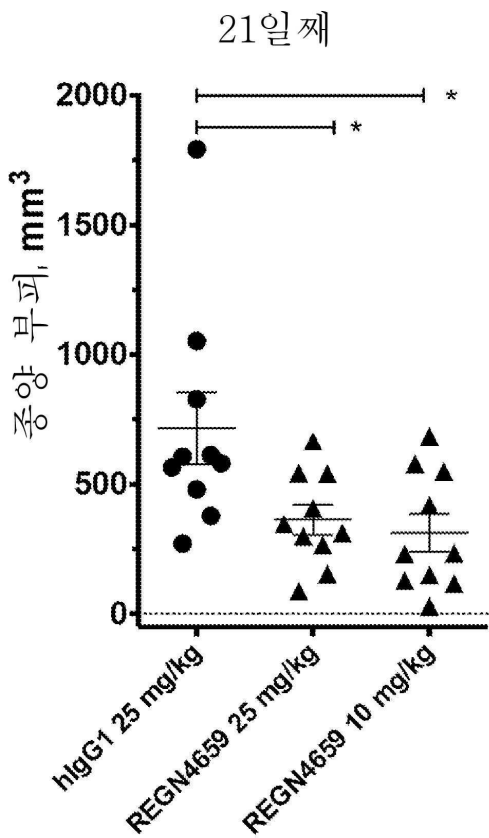
도면11



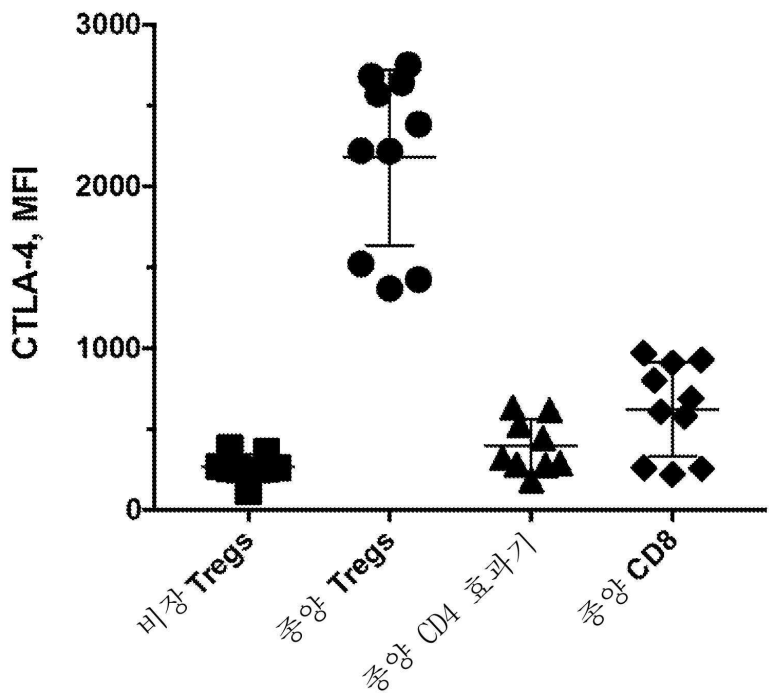
도면12



도면13



도면14



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> Anti-CTLA-4 Antibodies and Uses Thereof

<130> 10360W001

<150> 62/537,753

<151> 2017-07-27

<150> 62/588,853

<151> 2017-11-20

<150> 62/645,284

<151> 2018-03-20

<150> 62/685,599

<151> 2018-06-15

<160> 510

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 351

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 1

caggttcagc tggatgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tcctgcaagg cttctgatta cacctttacc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggctgg atcagcgttt acaatggtaa tataaactat 180
gcacagaagt tcaagggcag agtcaccatg accacagaca catccacgag cactgcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac atggccgtgt attactgtgc gagagtgacc 300
caattcggta tggacgtctg gggccaaggg accacgtca ccgctcctc a 351

<210> 2

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Ile Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 3

gattacacct ttaccagcta tggt

24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<

213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 4

Asp Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly

1

5

<210> 5
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 5
 atcagcggtt acaatggtaa tata 24
 <210> 6
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 6
 Ile Ser Val Tyr Asn Gly Asn Ile
 1 5
 <210> 7
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 7
 gcgagagtga cccaattcgg tatggacgtc 30
 <210> 8
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 8
 Ala Arg Val Thr Gln Phe Gly Met Asp Val
 1 5 10

<210> 9

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 9

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtc gagcattagt agtaatttaa attggtatca gcagaatcca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatact acatccagtt tgcaaggtgg ggtcccatca 180

aggttcagt ggcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctacaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agtttcagga cccattcac ttctggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 10

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100

105

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 11

cagagcatta gtagtaat

18

<210> 12

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 12

Gln Ser Ile Ser Ser Asn

1

5

<210> 13

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 13

actacatcc

9

<210> 14

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 14

Thr Thr Ser

1

<210> 15

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 15

caacagagtt tcaggacccc attcact 27

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 16

Gln Gln Ser Phe Arg Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 17

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 17

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgaaactc 60

tcctgtgcag cctctgggtt caccttcagt ggctctgcta tgcactgggt ccgccaggct 120

tccgggaaag ggctggagtg gggtggccgt attagaggca aagctaatag ttctgcgaca 180

gcataattctg cgtcggtgaa aggcagggtc accatctcca gagatgactc aaagaacacg 240

gcgtctctgc aaatgaacag cctgagaacc gaagacacgg ccgtgtatct ttgtactaga 300

gaggatcagc agttggtacg tccatactac taccactacg gtatggacgt ctggggccaa 360

gggaccacgg tcaccgtctc ctca 384

<210> 18

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 18

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Arg Gly Lys Ala Asn Ser Phe Ala Thr Ala Tyr Ser Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Phe Cys Thr Arg Glu Asp Gln Gln Leu Val Arg Pro Tyr Tyr Tyr His

100 105 110

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

115 120 125

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 19

gggttcacct tcagtggctc tgct

24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser Ala

1 5

<210> 21

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 21

attagaggca aagctaataag ttctgcgaca 30

<210> 22

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 22

Ile Arg Gly Lys Ala Asn Ser Phe Ala Thr

1 5 10

<210> 23

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 23

actagagagg atcagcagtt ggtacgtcca tactactacc actacggtat ggacgtc 57

<210> 24

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 24

Thr Arg Glu Asp Gln Gln Leu Val Arg Pro Tyr Tyr Tyr His Tyr Gly

1 5 10 15

Met Asp Val

<210> 25

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 25

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc ggacaagtca gagcattacc aactatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct acagccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgagacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta ccccgctcac tttcggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 26

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 26

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Ile Thr Asn Tyr

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

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

<210> 27

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 27

cagagcatta ccaactat

18

<210> 28

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 28

Gln Ser Ile Thr Asn Tyr

1 5

<210> 29

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 29

gctacagcc

9

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 30

Ala Thr Ala

1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 31

caacagagtt acagtacccc gctcact

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 32

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Leu Thr

1

5

<210> 33

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 33

cagatcacct tgaaggagtc tggctctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
acctgcacct tcctcgggtt ctctctcagc actagtggag tgggtgtggg ctggatccgt 120

cagtcctccag gaagggccct ggagtggctg gcactcattt attggaatga tcatgagcgc 180
tatagtccat ctctgaagag caggtccacc attaccaagg acacctccaa aaacctggtt 240
gtcctcgcaa tggccaacat ggaccccgctg gacacagcca catatttctg tgcacacaga 300
aacatcgaat atagaaggtc gtacttcttt gactactggg gtcaggaac cctggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 34

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 34

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

1	5	10	15
Thr	Leu	Thr	Leu
Thr	Cys	Thr	Phe
Ser	Gly	Phe	Ser
Leu	Ser	Thr	Ser
20	25	30	
Gly	Val	Gly	Val
Gly	Trp	Ile	Arg
Gln	Ser	Pro	Gly
Arg	Ala	Leu	Glu
35	40	45	
Trp	Leu	Ala	Leu
Ile	Tyr	Trp	Asn
Asp	His	Glu	Arg
Tyr	Ser	Pro	Ser
50	55	60	
Leu	Lys	Ser	Arg
Leu	Thr	Ile	Thr
Lys	Asp	Thr	Ser
Lys	Asn	Leu	Val
65	70	75	80
Val	Leu	Ala	Met
Ala	Asn	Met	Asp
Pro	Val	Asp	Thr
Ala	Thr	Tyr	Phe
85	90	95	
Cys	Ala	His	Arg
Asn	Ile	Glu	Tyr
Arg	Arg	Ser	Tyr
Phe	Phe	Asp	Tyr
100	105	110	
Trp	Gly	Gln	Gly
Thr	Leu	Val	Thr
Val	Ser	Ser	
115	120		

<210> 35

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 35

gggttctcac tcagcactag tggagtgggt 30

<210> 36

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 36

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly

1 5 10

<210> 37

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 37

atttattgga atgatcatga g 21

<210> 38

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

synthetic

<400> 38

Ile Tyr Trp Asn Asp His Glu

1 5

<210> 39

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 39

gcacacagaa acatcgaata tagaaggctg tacttctttg actac 45

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 40

Ala His Arg Asn Ile Glu Tyr Arg Arg Ser Tyr Phe Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 41

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 41

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaagaga cagagtcacc 60

gtcacttgtc gggcgagtc ggaatattaac aactggtag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt taaaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacactt tccattcac ttccggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 42

<211>

107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 43

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 43

caggatatta acaactgg

18

<210> 44

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 44

Gln Asp Ile Asn Asn Trp

1 5

<210> 45

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 45

gctgcatcc

9

<210> 46

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 46

Ala Ala Ser

1

<210> 47

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 47

caacaggcta acactttccc attcact

27

<210> 48

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 48

Gln Gln Ala Asn Thr Phe Pro Phe Thr

1 5

<210> 49

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 49

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcaat agttattact ggacctggat ccggcagccc 120

ccaggggaagg gactggagtg gattggatat gtctattaca gtgggagcac cacctacaac 180

ccctccctca agagtcgagt caccatatca gtagacacgt ccaagaacca gttcttctctg 240

aacctgaact ctgtgaccgc tgcggaaacg gccgtgtatt actgtgcgag agggacactg 300

gggtactacg gtatggacgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 50

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

115

<210> 51

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 51

ggtggctcca tcaatagtta ttac

24

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 52

Gly Gly Ser Ile Asn Ser Tyr Tyr

1

5

<210> 53

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 53

gtctattaca gtgggagcac c

21

<210> 54

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 54

Val Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 55

<211>

> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 55

gcgagaggga cactggggta ctacggtatg gacgtc 36

<210> 56

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 56

Ala Arg Gly Thr Leu Gly Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 57

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 57

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccaggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtc agtcttttagc aacaactact tagcctgta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtacatcca tcagggccac tggcatccca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcgccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttattgtcag cagtatggta ggtcacctct cactttcggc 300
ggagggacca aggtggagat caaa 324

<210> 58

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 58

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

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

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

<210> 59

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 59

cagagtttta gcaacaacta c 21

<210> 60

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 60

Gln Ser Phe Ser Asn Asn Tyr

1 5

<210> 61

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 61

ggtacatcc

9

<210> 62

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 62

Gly Thr Ser

1

<210> 63

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 63

cagcagtatg gtaggtcacc tctcact

27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 64

Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 65

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 65

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agttatggca tgaactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt acatggtatg atggaagtaa taaacattat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatgt acagcctgag agccgaggac acggctatgt attattgtgt gagagggggg 300
cacctcgcg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 66

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 66

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

1 5 10 15

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

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

35 40 45
Ala Val Thr Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys His Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80
Leu Gln Met Tyr Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95
Val Arg Gly Gly His Leu Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110
Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 67

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 67

ggattcacct tcagtagtta tggc 24

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 68

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 69

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 69

acatggtatg atggaagtaa taaa

24

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 70

Thr Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 71

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 71

gtgagagggg ggcacctcgg cgcttttgat atc

33

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 72

Val Arg Gly Gly His Leu Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 73

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catccagac 180
aggttcagtg gcggtgggtc tgggacagac ttactctca ccatcagcag actggagcct 240

gaagattttg cagtgtatta ctgtcagcag tatggtagct caccattcac ttccggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 74

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

<210> 75
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 75
 cagagtgtta gcagctac 18
 <210> 76
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 76
 Gln Ser Val Ser Ser Tyr
 1 5
 <210> 77
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 77
 ggtgcatcc 9
 <210> 78
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 78
 Gly Ala Ser
 1

<210> 79

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 79

cagcagtatg gtagctcacc attcact 27

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 80

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Phe Thr

1 5

<210> 81

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 81

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
 tcctgcaagg ctcttgata caccttcacc gactactata tacactgggt gcgacaggcc 120
 cctggacagg ggcttgagtg gatgggggtgg atcaacccta acaatggtgt ctcaaattat 180
 gcacagaagt ttcagggccg ggtcaccatg accagggaca cgtccatcag cacagcctac 240
 atggacctga tcaggctgag atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagagagagg 300
 gctagctggg actacaacgg tgtggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
 tca 363

<210> 82

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 82

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Arg Ala Ser Trp Asp Tyr Asn Gly Val Asp Val Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 83

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 83

ggatacacct tcaccgacta ctat

24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 84

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 85

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 85

atcaacccta acaatgggtg ctca

24

<210>

> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 86

Ile Asn Pro Asn Asn Gly Val Ser

1 5

<210> 87

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 87

gcgagagaga gggctagctg ggactacaac ggtgtggacg tc

42

<210> 88

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 88

Ala Arg Glu Arg Ala Ser Trp Asp Tyr Asn Gly Val Asp Val

1 5 10

<210> 89

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 89

gatatgtga tgactcagtc tccactctcc ctgcccgta cccctggaga gccggcctcc 60
atctcctgca ggtctagtc gagcctcctg catagtaatg gatacagcta ttggattgg 120
tacctgcaga agccaggga gtctccacaa ctctgatct attgggttc taatcgggcc 180
tccgggtcc ctgacaggtt cagtggcagt ggatcaggca cagattttac actgaaaac 240
agcagagtgg aggctgagga tgttgggtt tattactgca tgcaaggtct acaacctcg 300
aacacttttg gccaggggac caagctggag atcaaa 336

<210> 90

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 90

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro

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

<210> 91

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 91

cagagcctcc tgcataagtaa tggatacagc tat 33

<210> 92

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 92

Gln Ser Leu Leu His Ser Asn Gly Tyr Ser Tyr

1 5 10

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 93

ttgggttct 9

<210> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 94

Leu Gly Ser

1

<210> 95

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 95

atgcaaggtc tacaacctcc gaacact

27

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 96

Met Gln Gly Leu Gln Pro Pro Asn Thr

1

5

<210> 97

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 97

cagctgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctagtgaagc cttcggagac cctgtccctc 60

acctgtattg tctctggtgg ctccaccagc agtaacactt actactgggg ctggatccgt 120

cagcccccag ggaagggtct ggaatggatt gggactatcc attatagtgg gaaccctac 180
 tacgaccctg cctcaagag tcgagtcacc atatccgtag acacgtccaa gaaccacttc 240
 tcctgaagc tgaactctgt gaccgccgca gacacgctg tttattactg tacgagacag 300
 tacattaact tctttgactt ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 98

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 98

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

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

<210> 99

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 99

ggtggtcca ccagcagtaa cacttactac 30

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 100

Gly Gly Ser Thr Ser Ser Asn Thr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 101

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 101

atccattata gtgggaaccc c 21

<210> 102

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 102

Ile His Tyr Ser Gly Asn Pro

1 5

<210> 103

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 103

acgagacagt acattaactt ctttgacttc 30

<210> 104

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 104

Thr Arg Gln Tyr Ile Asn Phe Phe Asp Phe

1 5 10

<210> 105

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 105

gaaattgtgt tgacacagtc tccagccacc ctgtctttgt ctccagggga aagagtcact 60

ctctcctgca gggccagtc gagtattagc agatacttag cctggatatca acagaaacct 120

ggccaggctc ccagggtcct catttatgat gcatccaaca gggccactga catcccagcc 180

aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag tctagagcct 240

gaagattttg cagtttatta ctgtcagcag cgtagcaatt ggcctatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 106

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 106

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

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

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

<210> 107

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 107

cagagtatta gcagatac 18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 108

Gln Ser Ile Ser Arg Tyr

1 5

<210> 109

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 109

gatgcatcc

9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 110

Asp Ala Ser

1

<210> 111

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 111

cagcagcgta gcaattggcc taccac

27

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 112

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Pro Ile Thr

1

5

<210> 113

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 113

caggtgcagc tggctggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggact caccttcagt tactatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatcatatg atggaagtaa taaatattat 180
gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agctgaggac gcggtgtgt attactgtgc gaaagatttg 300
gggggggacg actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 114

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 114

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

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 115

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 115

ggactcacct tcagttacta tggc

24

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 116

Gly Leu Thr Phe Ser Tyr Tyr Gly

1

5

<210> 117

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 117

atatcatatg atggaagtaa taaa

24

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 118

Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 119

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 119

gcgaaagatt tgggggggga cgactactac ggtatggacg tc 42

<210> 120

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 120

Ala Lys Asp Leu Gly Gly Asp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 121

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 121

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agaacctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcattca gcaggggcac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcacgta cacttttggc 300

caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 122

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 122

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

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

<210> 123

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 123

cagagtgtta gcagaacct a

21

<210> 124

<211> 7

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 124

Gln Ser Val Ser Arg Thr Tyr

1 5

<210> 125

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 125

ggtgcattc

9

<210> 126

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 126

Gly Ala Phe

1

<210> 127

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 127

cagcagtatg gtagctcacc gtacact

27

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 128

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 129

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 129

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtcaagc ctggagggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactactaca tgacctggat ccgccaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtttcatatc attagtagta gtggtggtaa catattctac 180

gcagactctg tgaaggcccg attcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctcactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag aggcgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggtctg 300
gaacctacc actactatta cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcacctgc 360
tcctca 366

<210> 130

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 130

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly Leu Glu Pro Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp
100 105 110

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

<210> 131

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 131

ggattcacct tcagtgacta ctac

24

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 132

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 133

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 133

attagtagta gtggtggtaa cata 24

<210> 134

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 134

Ile Ser Ser Ser Gly Gly Asn Ile

1 5

<210> 135

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 135

gcgagaggtc tggaacccta ccactactat tacggtatgg acgtc 45

<210> 136

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 136

Ala Arg Gly Leu Glu Pro Tyr His Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 137

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 137

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtcacc 60

atcacttgcc aggcgagtc ggacattagt aattatttaa attggtatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaaactcct gatctacgat gcatccaatt tggaaacagg ggtcccatca 180
aggttcagtg gaagtggatc tgggacagat ttactttca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagatattg caacatatct ctgtcaacac tatgataatc tccattcac ttgcggccct 300
gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 138

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 138

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

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

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

<210> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic
 <400> 139
 caggacatta gtaattat 18
 <210> 140
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> synthetic
 <400> 140
 Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
 1 5
 <210> 141
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> synthetic
 <400> 141
 gatgcatcc 9
 <210> 142
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> synthetic
 <400> 142
 Asp Ala Ser
 1
 <210> 143
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> synthetic

<400> 143

caacactatg ataatctccc attcact

27

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 144

Gln His Tyr Asp Asn Leu Pro Phe Thr

1 5

<210> 145

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 145

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt caccttgagt aattatgtca tgacctgggt cgcgcaggct 120
ccaggaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gaggtggtaa ttcattat 180
gcagactccg tgaaggccg gttcagcatt tccagggacc attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaagtga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagccgaa 300
cgtggataca gttatggctt caactgggtc gaccctggg gccagggaac cctggtcacc 360
gtctcctca 369

<210> 146

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 146

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

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

<210> 147

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 147

ggattcacct tgagtaatta tgtc

24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 148

Gly Phe Thr Leu Ser Asn Tyr Val

1 5

<210> 149

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 149

attagtggta gaggtggtaa ttca 24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 150

Ile Ser Gly Arg Gly Gly Asn Ser

1 5

<210> 151

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 151

gcgaaagccg aacgtggata cagttatggc ttcaactggt tgcacccc 48

<210> 152

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 152

Ala Lys Ala Glu Arg Gly Tyr Ser Tyr Gly Phe Asn Trp Phe Asp Pro

1 5 10 15

<210> 153

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 153

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgcaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca ggggtattagc agctggttag cctggatatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg catcttacta ttgtcaacag ggtaacaatt tcccgtcac tttcggcgga 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 154

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 154

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Asn Phe Pro Leu

	85	90	95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
	100	105	
<210> 155			
<211> 18			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 155			
cagggtatta gcagctgg			18
<210> 156			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 156			
Gln Gly Ile Ser Ser Trp			
1	5		
<210> 157			
<211> 9			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 157			
gctgcatcc			9
<210> 158			
<211> 3			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			

<400> 158

Ala Ala Ser

1

<210> 159

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 159

caacagggtg acaatttccc gctcact 27

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 160

Gln Gln Gly Asn Asn Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 161

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 161

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt acctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtgacagtt atatggtatg atggaaataa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cagctgtat 240

ctgcaaatga acaacctgag agccgaggat acggctttat actactgtgc gagaggaggt 300

gggaggttat cgtactatca tgactactgg ggccaggga ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 162

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Gly Arg Leu Ser Tyr Tyr His Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 163

ggattcacct tcagtaccta tggc

24

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 164

Gly Phe Thr Phe Ser Thr Tyr Gly

1 5

<210> 165

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 165

atatggtatg atggaaataa taaa 24

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 166

Ile Trp Tyr Asp Gly Asn Asn Lys

1 5

<210> 167

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 167

gcgagaggag gtgggaggtt atcgtactat catgactac 39

<210> 168

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 168

Ala Arg Gly Gly Gly Arg Leu Ser Tyr Tyr His Asp Tyr

1 5 10

<210> 169

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 169

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtc gagcattagc acctttttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaacctct gatctatggt acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg cagcttacta ctgtcaacag acttacagta cccattcac tticggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 170

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 170

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Phe

20 25 30

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

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

85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 171

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 171

cagagcatta gcaccttt 18

<210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 172

Gln Ser Ile Ser Thr Phe

1 5

<210> 173

<211> 9

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 173

ggtacatcc 9

<210> 174

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 174

Gly Thr Ser

1

<210> 175

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 175

caacagactt acagtacccc attcact 27

<210> 176

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 176

Gln Gln Thr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 177

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 177

caggttcagc tggatgcagtc tggagctgag gtgaagatgt ctggggcctc agtgagggtc 60
 tcctgcaagg ctcttggtta cacctttacc agctatggta ttagctggat gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcaccgctt acaatggtaa ctcaaactat 180
 gcacagaagc tccagggcag agtcaccatg accacagaca catccacggg cacagcctac 240
 atggagttga ggagcctgac atctgacgac acggccgtgt attactgtgc gagaaggggg 300

gactaccttg gggtttttcc ctactggggc cagggaaaccc tggtcaccgt ctcctca 357

<210> 178

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 178

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Trp Met Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Thr Ala Tyr Asn Gly Asn Ser Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Gly Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Arg Gly Asp Tyr Leu Gly Val Phe Pro Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 179

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 179

ggttacacct ttaccagcta tgggt

24

<210> 180

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 180

Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr Gly

1 5

<210> 181

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 181

atcaccgctt acaatggtaa ctca

24

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 182

Ile Thr Ala Tyr Asn Gly Asn Ser

1 5

<210> 183

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 183

gcgagaaggg gggactacct tggggttttt ccctac 36

<210> 184

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 184

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

1 5 10

<210> 185

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 185

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtc gagcattagt agctatttaa attggtatca acagaaacca 120
gggaaagccc ctaacctct gatctatact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagtg gcagtggatc tgggacagac ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagtt cccccctcac ttctggcgga 300
gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 186

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 186

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 187

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 187

cagagcatta gtagctat

18

<210> 188

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 188

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 189

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 189

actgcatcc

9

<210> 190

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 190

Thr Ala Ser

1

<210> 191

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 191

caacagagtt acagttcccc cctcact

27

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 192

Gln Gln Ser Tyr Ser Ser Pro Leu Thr

1

5

<210> 193

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 193

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttcagt aattatgaga tgagctgggt ccgccaggct 120

ccaggaagg ggctggagtg ggtttcatcc attagaacta gtggtactac caaatactac 180

gcagactcta tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgttt attactgtgc gggaggggggt 300

acgttcctcc actactgggg ccaggaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 194

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 194

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

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

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

35 40 45
Ser Ser Ile Arg Thr Ser Gly Thr Thr Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Met

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

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

85 90 95
Ala Gly Gly Gly Thr Phe Leu His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100	105	110
Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 195		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		
<400> 195		
ggattcacct tcagtaatta tgag		24
<210> 196		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		
<400> 196		
Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Glu		
1 5		
<210> 197		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		
<400> 197		
attagaacta gtggtactac caaa		24
<210> 198		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> synthetic		

<400> 198

Ile Arg Thr Ser Gly Thr Thr Lys

1 5

<210> 199

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 199

gcgggagggg gtacgttcct ccactac 27

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 200

Ala Gly Gly Gly Thr Phe Leu His Tyr

1 5

<210> 201

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 201

gacatccaga tgacccagtc tccatcttcc gtgtctgcgt ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtca ggggtattgcc agctatttag cctggatatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatttatgct gcatccagtt tgcaaactgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggata tgggacagat ttactetca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaagagtt tcccatgta cacttttggc 300

caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 202

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 202

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

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

<210> 203

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 203

cagggtattg ccagctat

18

<210> 204

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 204

Gln Gly Ile Ala Ser Tyr

1 5

<210> 205

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 205

gctgcatcc

9

<210> 206

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 206

Ala Ala Ser

1

<210> 207

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 207

caacaggcta agagtttccc catgtacact

30

<210> 208

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 208

Gln Gln Ala Lys Ser Phe Pro Met Tyr Thr

1 5 10

<210> 209

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 209

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctggtgg ctccatcacc agtgggtggtt actactggag ctggatccgc 120
cagcacccag ggaagggcct ggagtggatt ggatacatct ttacagtgg gatcaccaac 180

tacaaccgt cctcaagag tcgagttacc atatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tcctgaaac tgacctctgt gactgccgcg gacacggccg tgtattactg tgcgacgtat 300
aacagcctcc gactctacta cggatatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcacgcgc 360
tcctca 366

<210> 210

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 210

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Trp Ile Gly Tyr Ile Phe Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser
 50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80

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

<210> 211

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 211

ggtaggctcca tcaccagtgg tggttactac 30

<210> 212

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 212

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

<210> 213

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 213

atcttttaca gtgggatcac c

21

<210> 214

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 214

Ile Phe Tyr Ser Gly Ile Thr

1

5

<210> 215

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 215

gcgacgtata acagcctccg actctactac ggtatggacg tc

42

<210> 216

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 216

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

1

5

10

<210> 217

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 217

gatgttgtga tgaccagtc tccactctcc ctgcccgtca tccttggaca gccggcctcc 60

atctcctgca ggtctagtca aagcctcgta tacggtgatg gaaacaccta cttgaattgg 120

tttcagcaga ggccaggcca atctccaagg cgactaattt ataaggtttc taaccgggac 180

tctgggttcc cagacagatt cagcggcagt gggtcaggca ctgatttcac actgaaaatc 240

agcaggggtg aggctgagga tgttgggggtt tattactgca tgcaaagtac aactggccg 300

ctcactttcg gcggagggac caaggtggag atcaaa 336

<210> 218

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 218

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

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

20	25	30
Asp	Gly	Asn
Thr	Tyr	Leu
Asn	Trp	Phe
Gln	Gln	Arg
Pro	Gly	Gln
Ser		

35	40	45
Pro	Arg	Arg
Leu	Ile	Tyr
Lys	Val	Ser
Asn	Arg	Asp
Ser	Gly	Val
Pro		

50	55	60
Asp	Arg	Phe
Ser	Gly	Ser
Gly	Ser	Gly
Thr	Asp	Phe
Thr	Leu	Lys
Ile		

65	70	75	80
Ser	Arg	Val	Glu
Ala	Glu	Asp	Val
Gly	Val	Tyr	Tyr
Cys	Met	Gln	Ser

85	90	95
Thr	His	Trp
Pro	Leu	Thr
Phe	Gly	Gly
Gly	Thr	Lys
Val	Glu	Ile
Lys		

100	105	110
-----	-----	-----

<210> 219

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 219

caaagcctcg tatacgggtga tggaaacacc tac

33

<210> 220

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 220

Gln Ser Leu Val Tyr Gly Asp Gly Asn Thr Tyr

1

5

10

<210> 221

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 221

aaggtttct

9

<210> 222

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 222

Lys Val Ser

1

<210> 223

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 223

atgcaaagta cacactggcc gctcact

27

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 224

Met Gln Ser Thr His Trp Pro Leu Thr

1

5

<210> 225

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 225

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggagggtc cctgagactc 60

gcctgtgcag cctctggatt caccttcagt gactattaca tggactgggt ccgccagggt 120

ccagggaagg ggctggagtg ggttggccgt tctagagaca aagctaacag tttcaccaca 180

gaatacgtcg cgtctgtgaa aggttagattc accatctcac gagaagattc aaagaactca 240

gtgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaagacacgg ccgtgtatta ctgtgctaga 300

acaaattacg atttttcctt ggacgtctgg ggccaaggga ccacggtcac cgtctcctca 360

<210> 226

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 226

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

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

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

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

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

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

Tyr Cys Ala Arg Thr Asn Tyr Asp Phe Ser Leu Asp Val Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 227

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 227

ggattcacct ttagtgacta ttac

24

<210> 228

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 228

Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr Tyr

1 5

<210> 229

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 229

tctagagaca aagctaacag ttccaccaca 30

<210> 230

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 230

Ser Arg Asp Lys Ala Asn Ser Phe Thr Thr

1 5 10

<210> 231

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 231

gctagaacaa attacgattt ttccttggac gtc 33

<210> 232

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 232

Ala Arg Thr Asn Tyr Asp Phe Ser Leu Asp Val

1 5 10

<210> 233

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 233

gacatccaga tgacccagtc tccatcctca ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc ggacattaac aattatttag cctggtttca gcagaaacca 120

gggaacgccc ctaagtcctt gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aagttcagcg gcagtggatc tgggacagac ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgccaacaa tatagtactt acccgatcac cttcggccaa 300

gggacacgac tggagattaa a 321

<210> 234

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 234

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

	85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys			
	100	105	
<210> 235			
<211> 18			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 235			
caggacatta acaattat			18
<210> 236			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 236			
Gln Asp Ile Asn Asn Tyr			
1	5		
<210> 237			
<211> 9			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			
<400> 237			
gctgcatcc			9
<210> 238			
<211> 3			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> synthetic			

<400> 238

Ala Ala Ser

1

<210> 239

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 239

caacaatata gtacttacc gatacc 27

<210> 240

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 240

Gln Gln Tyr Ser Thr Tyr Pro Ile Thr

1 5

<210> 241

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 241

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcgagac cctgtccctc 60

acctgtactg tctctggtgg ctccatcagt agttaccact ggagctggat ccggcagcct 120

ctaggaagg gactggagtg gattgggtat atctattaca gtgggagcac caattacaac 180

ccctccctca agagtcgggt caccatatca gtagacacgt ccaaaaacca gtctccctg 240

aagctgagct ctgtgaccgc tgcggatacg gccgtgtatt actgtgcgag agggggtagc 300

agcatctggc cctttgacta ctggggccag ggaacctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 242

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 242

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly Gly Ser Ser Ile Trp Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 243

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 243

ggtggtccca tcagtagtta ccac

24

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 244

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr His

1 5

<210> 245

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 245

atctattaca gtgggagcac c 21

<210> 246

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 246

Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 247

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 247

gcgagagggg gtagcagcat ctggcccttt gactac 36

<210>

248

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 248

Ala Arg Gly Gly Ser Ser Ile Trp Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 249

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 249

gacatccaga tgaccagtc tccttcacc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggccagtc agtattagt agctgggttg cctggtatca gcagaaatca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctctaag gcgtctactt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gatgattttg caacttatta ctgccaacag tataatatatt attcgtggac gttcgcccaa 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 250

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 250

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp

20 25 30

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

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

85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 251

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 251

cagagtatta gtagctgg 18

<210> 252

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 252

Gln Ser Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 253

<211> 9

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 253

aaggcgtct 9

<210> 254

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 254

Lys Ala Ser

1

<210> 255

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 255

caacagtata atatttatc gtggacg 27

<210> 256

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> synthetic

<400> 256

Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Ser Trp Thr

1 5

<210> 257

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 257

cagatcacct tgaaggagtc tggctctacg ctggtgaaac ccacacagac cctcacgctg 60
 acctgcacct tctccgggtt ctcactcagc actagtggag tgggtgtggg ctggatccgt 120
 cagccccag gagtggccct ggagtggctt gcactcattt attggaatga tgataaacgc 180
 ttcagcccat ctctgaagag tgggtcacc atcaccaaag acacctcaa aaaccaggtg 240
 gtccttaca tgaccaacat ggacctgtg gacacagcca catattactg tgcacacagg 300

agacttggac tatactactt tgactactgg ggccagggaa ccttggtcac cgtctcctca 360

<210> 258

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 258

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

20 25 30

Gly Val Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Val Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala Leu Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys Arg Phe Ser Pro Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala His Arg Arg Leu Gly Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 259

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 259

gggttctcac tcagcactag tggagtgggt

30

<210> 260

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 260

Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Val Gly

1 5 10

<210> 261

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 261

atttattgga atgatgataa a

21

<210> 262

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 262

Ile Tyr Trp Asn Asp Asp Lys

1 5

<210> 263

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 263

gcacacagga gacttggact atactacttt gactac 36

<210> 264

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400>

264

Ala His Arg Arg Leu Gly Leu Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 265

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 265

gacatccagt tgacccagtc tccatccttc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgct gggccagtc gggcattagc agttatttag cctggtatca gcaaaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240

gaagattttg caacttatta ctgtcaacag gttcatattt acccattcac ttctggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 266

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 266

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Trp Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val His Ile Tyr Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys

100 105

<210> 267

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 267

cagggcatta gcagttat

18

<210> 268

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 268

Gln Gly Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 269

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 269

gctgcatcc

9

<210> 270

<211> 3

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 270

Ala Ala Ser

1

<210> 271

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 271

caacagggttc atatctaccc attcact

27

<210> 272

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 272

Gln Gln Val His Ile Tyr Pro Phe Thr

1

5

<210> 273

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 273

```
caggttcagc tggatgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggctc 60
tcctgcaagg cttctgggta caccctaagc agctatggta tcagctgggt gcgacaggcc 120
cctggacaag gacttgagtg gatgggggtgg atcagcgctt acaatggaaa cacaaactat 180
gtcagaagc tccagggtag actcaccatg accacagaca catccacgag cacagcctac 240
atggagctga ggagcctgag atctgacgac acggccgtat attattgttc gagagacggg 300
ccctttaaga tatccttttt cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcacgcgc 360
tcctca
```

366

<210> 274

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 274

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Leu Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Asp Gly Pro Phe Lys Ile Ser Phe Phe Gly Met Asp Val Trp
100 105 110

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

<210> 275

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 275

ggttacaccc taagcagcta tggt 24

<210> 276

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 276

Gly Tyr Thr Leu Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 277

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 277

atcagcgctt acaatggaaa caca 24

<210> 278

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 278

Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr

1 5

<210> 279

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 279

tccgagagacg ggccctttaa gataccttt ttcggtatgg acgtc 45

<210> 280

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 280

Ser Arg Asp Gly Pro Phe Lys Ile Ser Phe Phe Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 281

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 281

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccgta 180

aggttcagt gtagtgatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa

324

<210> 282

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 282

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 283

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 283

cagagcatta gcagctat

18

<210> 284

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 284

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 285

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 285

gctgcatcc

9

<210> 286

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 286

Ala Ala Ser

1

<210> 287

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 287

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 288

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 288

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 289

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 289

caggtgcagc tggctggagtc tgggggaggc gaggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggatg atggaaggaa taaacactat 180

gtagattccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgggtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac tcggctgtgt attattgtgt gagagggggg 300

cagctcggcg cttttgatta ctggggccag gggaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 290

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 290

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Val Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys His Tyr Val Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 291

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 291

ggattcacct tcagtagcta tggc

24

<210> 292

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 292

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 293

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 293

atatggtatg atggaaggaa taaa

24

<210> 294

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 294

Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys

1

5

<210> 295

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 295

gtgagagggg ggcagctcgg cgcttttgat tac

33

<210> 296

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 296

Val Arg Gly Gly Gln Leu Gly Ala Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 297

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 297

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtca gagtgttagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta gctcaccttg gacgttcggc 300

caagggacca aggtggaaat caaa 324

<210> 298

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 298

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

1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

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

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

50 55 60
Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

65 70 75 80
Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro

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

100 105

<210> 299

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>
 <223> synthetic
 <400> 299
 cagagtgtta gcagcagcta c 21
 <210> 300
 <211> 7
 <212> PRT
 <213>
 Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 300
 Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr
 1 5
 <210> 301
 <211> 9
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 301
 ggtgcatcc 9
 <210> 302
 <211> 3
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 302
 Gly Ala Ser
 1
 <210> 303
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 303

cagcagtatg gtagctcacc ttggacg

27

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 304

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 305

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 305

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt cacctccagt agctatggca ttcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagtaa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggggt 300

ccgtgggggtg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 306

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 306

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

85 90 95
 Ala Arg Gly Gly Pro Trp Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 307

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 307

ggattcacct ccagtagcta tggc

24

<210> 308

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 308

Gly Phe Thr Ser Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 309

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 309

atatggtatg atggaagtaa taaa 24

<210> 310

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 310

Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Asn Lys

1 5

<210> 311

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 311

gcgagagggg gtccgtgggg tgcttttgat atc 33

<210> 312

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 312

Ala Arg Gly Gly Pro Trp Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 313

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 313

caggtacagt tgcatgagtc ggggccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcagtg tctctggtgg ctccatcagt aatggtggtt actactggag ttggatccgc 120

cagcaccag ggcagggcct ggagtggatt ggatacatct attatattgg gaacacatac 180

tacaatccgt cccttgagag tcgagttacc atgtcaattg acacgtctaa gaaccagttc 240

tccctaaaac tgagctctgt gactgccgcg gacacggcca tatactactg tgcgcgacag 300

gagttcgtec cgggcgtga atatttecta cactggggcc agggcatcct ggtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 314

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 314

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
85 90 95
Cys Ala Arg Gln Glu Phe Val Pro Gly Ala Glu Tyr Phe Leu His Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Ile Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 315

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400>

315

ggtggctcca tcagtaatgg tggttactac 30

<210> 316

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 316

Gly Gly Ser Ile Ser Asn Gly Gly Tyr Tyr

1 5 10

<210> 317

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 317

atctattata ttgggaacac a 21

<210> 318

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223>

> synthetic

<400> 318

Ile Tyr Tyr Ile Gly Asn Thr

1 5

<210> 319

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 319

gcgcgacagg agttcgtccc gggcgctgaa tatttcctac ac 42

<210> 320

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 320

Ala Arg Gln Glu Phe Val Pro Gly Ala Glu Tyr Phe Leu His

1 5 10

<210> 321

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 321

gacatccgga tgacceagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgttggaga cagagtcacc 60

atcacctgcc gggcaagtca gaccgttaac acctttttaa attggtatca acagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatcttttgtt gcgtccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

cggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcgg tctacagcct 240
gaagactttg caatttatta ctgtcagcag agttacagtg tccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat tgaa 324

<210> 322

<211>

> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 322

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ile Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Val Pro Pro

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Glu

100 105

<210> 323

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 323

cagaccgtta acaccttt

18

<210> 324

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 324

Gln Thr Val Asn Thr Phe

1 5

<210> 325

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 325

ggtgcgtcc

9

<210> 326

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 326

Gly Ala Ser

1

<210> 327

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 327

cagcagagtt acagtgtccc tccgatcacc

30

<210> 328

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 328

Gln Gln Ser Tyr Ser Val Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 329

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 329

gaagtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtacagc ctggcaggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag gcactggatt catctttgat gactatgcca tgcactgggt cgggcaagct 120

ccagggaagg gcctggagtg ggtctcaggt attagttgga acagtaatag tttaggctat 180

gcggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa atccctgtat 240

ttgcaaatga gcagtctgag agctgaggac acggccttgt attactgtgt aaaagatgta 300

actagactgg aactacgagg atttcttgac tattggggcc agggaacca ggtcaccgtc 360

tcttca 366

<210> 330

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 330

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

1 5 10 15

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

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

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

<210> 331

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 331

ggattcatct ttgatgacta tgcc

24

<210> 332

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 332

Gly Phe Ile Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

<210> 333

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 333

attagttgga acagtaatag tttta

24

<210> 334

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 334

Ile Ser Trp Asn Ser Asn Ser Leu

1 5

<210> 335

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 335

gtaaaagatg taactagact ggaactacga ggatttcttg actat

45

<210> 336

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 336

Val Lys Asp Val Thr Arg Leu Glu Leu Arg Gly Phe Leu Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 337

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 337

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtgggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtc ggacattaga aatgatttag gctggcatca gcagaaatca 120
gggaaagccc ctaagagcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattctg caacttatta ctgtctacag caaaatagtt accctccgac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaatcaa a 321

<210> 338

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 338

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

<210> 339

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 339

caggacatta gaaatgat

18

<210> 340

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 340

Gln Asp Ile Arg Asn Asp

1

5

<210> 341

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 341

gctgcatcc

9

<210> 342

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 342

Ala Ala Ser

1

<210> 343

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 343

ctacagcaaa atagttaccc tccgacg 27

<210> 344

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 344

Leu Gln Gln Asn Ser Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 345

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 345

gataacaga tggtagagtc tgggggaggc gtgtccagc ctggagagtc cctgagactc 60

tcctgtatag cgtctggatt catcatcagt agatatggca tgcattgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg atggaagaaa taaaactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttatat 240

ctggaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgg gagagttcac 300

caatttgggg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 346

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 346

Asp Arg Gln Met Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Arg

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

<210> 347

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 347

ggattcatca tcagtagata tggc

24

<210> 348

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 348

Gly Phe Ile Ile Ser Arg Tyr Gly

1 5

<210> 349

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 349

atatggtatg atggaagaaa taaa

24

<210> 350

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 350

Ile Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys

1 5

<210> 351

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 351

gggagagttc accaatttgg ggcttttgat atc

33

<210> 352

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 352

Gly Arg Val His Gln Phe Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 353

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 353

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtc gagtgtagc agcagcttct tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggt cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag caatatggta ggacaccttg gacgttcggc 300

caagggacca aggtggcaat caaa 324

<210> 354

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 354

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu

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

<210> 355

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 355

cagagtgtta gcagcagctt c 21

<210> 356

<211> 7

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 356

Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe

1 5

<210> 357

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 357

ggtgcatcc 9

<210> 358

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 358

Gly Ala Ser

1

<210> 359

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 359

cagcaatatg gtaggtcacc ttggacg

27

<210> 360

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 360

Gln Gln Tyr Gly Arg Ser Pro Trp Thr

1

5

<210> 361

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 361

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcacagac cctgtccctc 60

acctgcactg ttccggtgg ctccatcaac aatggtggtc actactggac ctggatccgg 120

caacacccag ggaagggcct agaattggatt gggtacattt attatattgg gaccacttat 180

tacaatccgt ccctcgagag tgcactttcc ctatcagtgg acacgtctaa gaatcagttc 240

tccctgaagc tgagctctgt gactgccgcg gacacggcca tttattactg tgcgagaagc 300

agtttatcag tgtctgaggc ttttgatgtc tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360

tca 363

<210> 362

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 362

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly His Tyr Trp Thr Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Leu Ser Val Ser Glu Ala Phe Asp Val Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 363

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 363

ggtggctcca tcaacaatgg tggtcactac

30

<210> 364

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 364

Gly Gly Ser Ile Asn Asn Gly Gly His Tyr

1 5 10

<210> 365

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 365

atttattata ttgggaccac t

21

<210> 366

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 366

Ile Tyr Tyr Ile Gly Thr Thr

1 5

<210> 367

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 367

gcgagaagca gttatcagt gtctgaggct ttgatgtc 39

<210> 368

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 368

Ala Arg Ser Ser Leu Ser Val Ser Glu Ala Phe Asp Val

1 5 10

<210> 369

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 369

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagaatcacc 60

atcacttgcc gggggagtca gaacattggc agctttttaa gttggtatca acagagacca 120

gggaaggccc ctaaactcct aatctttggt gcatacaatt tgcaaggagg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc cgggacagat ttcactctca ccatcagtag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttactt ctgtcagcag agttatagta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 370

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 370

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

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

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

<210> 371

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 371

cagaacattg gcagcttt

18

<210> 372

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 372

Gln Asn Ile Gly Ser Phe

1 5

<210> 373

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 373

ggtgcatac

9

<210> 374

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 374

Gly Ala Tyr

1

<210> 375

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 375

cagcagagtt atagtacccc tccgatcacc

30

<210> 376

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 376

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1

5

10

<210> 377

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 377

caggtgcagc tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaggc cttcacagac cctgtccctc 60
acctgcactg tctctgggtg ctccatcagc aatggtggtt actattggac ctggatccgc 120
caaaaccagc ggaagggcct agaatggatt ggatacatct attacattgg gaccacctac 180

tacaaccctg cctcagagag tcgactttcc ctatcagtag acacgtctaa gaaccagttc 240
tcctgaagc tgacctctgt gactgccgcg gacacggccg tttattactg tgcgagaagc 300
agtttagcag tgctgaggc ttttgataac tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360
tca 363

<210> 378

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 378

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Ser Leu Ala Val Ser Glu Ala Phe Asp Ile Trp Gly

100

105

110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 379

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 379

ggtggtccca tcagcaatgg tggttactat

30

<210> 380

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 380

Gly Gly Ser Ile Ser Asn Gly Gly Tyr Tyr

1

5

10

<210> 381

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 381

atctattaca ttgggaccac c

21

<210> 382

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 382

Ile Tyr Tyr Ile Gly Thr Thr

1 5

<210> 383

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 383

gcgagaagca gtttagcagt gtctgagget ttgatatac 39

<210> 384

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 384

Ala Arg Ser Ser Leu Ala Val Ser Glu Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 385

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 385

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggcga cagattcacc 60

atcacttgcc gggcgagtc gagcattggc agctttttaa gttggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtg ggtcccatca 180

aggttcagt gcatggatc tgggacagat ttactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacaata cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa

324

<210> 386

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 386

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

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

<210> 387

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 387

cagagcattg gcagcttt

18

<210> 388

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 388

Gln Ser Ile Gly Ser Phe

1 5

<210> 389

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 389

gctgcatcc

9

<210> 390

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 390

Ala Ala Ser

1

<210> 391

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 391

caacagagtt acaataacccc tccgatcacc

30

<210> 392

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 392

Gln Gln Ser Tyr Asn Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 393

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 393

caggtgcagc tggtgcaatc tgggactgag gtgaagaggc ctggggcctc agtgaaggtc 60

tcctgcaagg ctctctgatt caccttcacc ggctattata tatactgggt gcgacaggcc 120

cctggagagg ggcttgagtg gatgggggtgg atcaaccctc acagtgggtg cacaaaatac 180

gcacagaagt ttcagggcag ggtcaccttg accagggaca cgtccatcaa tacagcctac 240

ctggacctga tcagtctgcg atctgacgac acggccgtat attactgtgc gagaatcggg 300

gggtgggggct actcttccta ctttgactac tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 394

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 394

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Ile Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Met

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

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

<210> 395

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 395

ggattcacct tcaccggcta ttat

24

<210> 396

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 396

Gly Phe Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr

1 5

<210> 397

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic
 <400> 397
 atcaaccctc acagtgggtgg caca 24
 <210> 398
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 398
 Ile Asn Pro His Ser Gly Gly Thr
 1 5
 <210> 399
 <211> 42
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 399
 gcgagaatcg ggggtggggg ctactcttcc tactttgact ac 42
 <210> 400
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 400
 Ala Arg Ile Gly Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 401
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> synthetic

<400> 401

gacatccaac tgacccagtc tccatcttcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gactattagt acctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaatgccc ctaaactcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagaggatc tgggacagat ttcactetca ccatcagcag tctccaacct 240

gaagattttg ccacttacta ctgtcaacag ggttacacta cccctccgat caccttcggc 300

caagggacac gactggagat taaa 324

<210> 402

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 402

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

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

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

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

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

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

85	90	95
Ile	Thr	Phe
Gly	Gln	Gly
Thr	Arg	Leu
Glu	Ile	Lys

100	105
-----	-----

<210> 403

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 403

cagactatta gtacctat

18

<210> 404

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 404

Gln Thr Ile Ser Thr Tyr

1 5

<210> 405

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 405

gctgcatcc

9

<210> 406

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 406

Ala Ala Ser

1

<210> 407

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 407

caacagggtt acactacccc tccgatcacc 30

<210> 408

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 408

Gln Gln Gly Tyr Thr Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 409

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 409

gaggtgcagc tgttgaatc tgggggaggc ttggtacagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt caccttttagc agctatgccca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaagg ggctggagtg ggtctcagat attagtggta gtggtcttag cacatactac 180

gcagactccg tgaagggccg gttcgccatc tccagagaca attccaagaa catgttgtat 240

ctgcaaatga acaggctgag agccgaggac acggccgtct attactgtgc gaaagagccc 300

tctcactgga acggtgaagc gtttgatatt tggggccaag ggacaatggt caccgtctct 360

tca 363

<210> 410

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 410

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Met Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Glu Pro Ser His Trp Asn Gly Glu Ala Phe Asp Ile Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 411

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 411

ggattcacct ttagcagcta tgcc

24

<210> 412

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 412

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 413

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 413

attagtggtgta gtggtcttag caca 24

<210> 414

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 414

Ile Ser Gly Ser Gly Leu Ser Thr

1 5

<210> 415

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 415

gcgaaagagc cctctcactg gaacggtgaa gcgtttgata tt 42

<210> 416

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 416

Ala Lys Glu Pro Ser His Trp Asn Gly Glu Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 417

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 417

gacatccaga tgaccagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgtc gggcgagtc ggatattagc agttggtag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatact acagccaatt taaaaagtg ggtcccatcc 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag cctgcagtct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccattcac tttcggctct 300

gggaccaaag tggatatcaa a 321

<210> 418

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 418

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Trp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

<210> 419

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 419

caggatatta gcagttgg

18

<210> 420

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 420

Gln Asp Ile Ser Ser Trp

1 5

<210> 421

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 421

actacagcc

9

<210> 422

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 422

Thr Thr Ala

1

<210> 423

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 423

caacaggcta acagtttccc attcact

27

<210> 424

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 424

Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Phe Thr

1

5

<210> 425

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 425

cagctgcaac tgcaggagtc gggcccagga ctggtgaagc cttcgagac cctgtccttc 60

acctgcactg tctctggtgg ctccatcagt agtaattatt actactgggg ctgggtccgc 120

cagtcgccgg ggaagggact ggagtggatc gggagtatct atcacactgg gaacgcctac 180

gacaatccgt cctcaagag tcgagtcacc atttccgtag acagtccaa gaatcagttc 240

tccctgaacc tgaactctgt gaccgccgca gacacggcta tttattattg tgcgagacat 300
catagcagtt cgtcctgggtg gtacttcgat gtctggggcc gtggcaccct ggtcattgtc 360
tcctca 366

<210> 426

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 426

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Trp Ile Gly Ser Ile Tyr His Thr Gly Asn Ala Tyr Asp Asn Pro Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg His His Ser Ser Ser Trp Trp Tyr Phe Asp Val Trp

100 105 110

Gly Arg Gly Thr Leu Val Ile Val Ser Ser

115 120

<210> 427

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 427

ggtggctcca tcagtagtaa ttattactac 30

<210> 428

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 428

Gly Gly Ser Ile Ser Ser Asn Tyr Tyr Tyr

1 5 10

<210> 429

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 429

atctatcaca ctgggaacgc c 21

<210> 430

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 430

Ile Tyr His Thr Gly Asn Ala

1 5

<210> 431

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 431

gcgagacatc atagcagttc gtcctggtgg tacttcgatg tc 42

<210> 432

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 432

Ala Arg His His Ser Ser Ser Ser Trp Trp Tyr Phe Asp Val

1 5 10

<210> 433

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 433

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gactgttagc aacagccact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggct cctcatctat ggtacatcca gcagggccac tggcatcca 180
gacaggttca gtggcagtgg gtctgggacc gacttctctc tcaccatcat cagactggag 240
cctgacgatt ttgcagtata tttctgtcag cagcatgaaa gttcacctcc cacttttggc 300
cagggggcca agctcgagat caaa 324

<210> 434

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 434

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

1 5 10 15

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

Pro Asp Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Gln Gln His Glu Ser Ser Pro
 85 90 95
 Pro Thr Phe Gly Gln Gly Ala Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105

<210> 435

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 435

cagactgtta gcaacagcca c

21

<210> 436

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 436

Gln Thr Val Ser Asn Ser His

1

5

<210> 437

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 437

ggtacatcc

9

<210> 438

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 438

Gly Thr Ser

1

<210> 439

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 439

cagcagcatg aaagttcacc tcccact

27

<210> 440

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 440

Gln Gln His Glu Ser Ser Pro Pro Thr

1

5

<210> 441

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 441

caggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggaat caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcactc acatcatatg atggaagtaa aaaatactat 180
tcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag acctgaggac acggctgtgt attactgtgc gaaagataaa 300
gggggagacg actactacgg tatggacgtc tggggccaag ggaccacggt caccgtctcc 360
tca 363

<210> 442

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 442

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115	120
<210> 443	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> synthetic	
<400> 443	
ggaatcacct tcagtagcta tggc	24
<210> 444	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<	
220>	
<223> synthetic	
<400> 444	
Gly Ile Thr Phe Ser Ser Tyr Gly	
1 5	
<210> 445	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> synthetic	
<400> 445	
acatcatatg atggaagtaa aaaa	24
<210> 446	
<211> 8	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> synthetic	
<400> 446	
Thr Ser Tyr Asp Gly Ser Lys Lys	

1 5

<210> 447

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 447

gcgaaagata aagggggaga cgactactac ggtatggacg tc 42

<210> 448

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 448

Ala Lys Asp Lys Gly Gly Asp Asp Tyr Tyr Gly Met Asp Val

1 5 10

<210> 449

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 449

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtc gtggattagc agcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120

cctggccagg ctcccaggt cctcatctat ggtgctttca gcagggcccc tggcatccca 180

ggcaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgt ttactgtcag cagtatggta gttaccgta cacttttggc 300

caggggacca agctggagat caat 324

<210> 450

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 450

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Trp Ile Ser Ser Ser
20 25 30

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

Ile Tyr Gly Ala Phe Ser Arg Ala Pro Gly Ile Pro Gly Arg Phe Ser
50 55 60

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

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro
85 90 95

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

<210> 451

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 451

cagtggatta gcagcagcta c 21

<210> 452

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 452

Gln Trp Ile Ser Ser Ser Tyr

1

5

<210> 453

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 453

ggtgctttc

9

<210> 454

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 454

Gly Ala Phe

1

<210> 455

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 455

cagcagtatg gtagttcacc gtacact

27

<210> 456

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 456

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Pro Tyr Thr

1 5

<210> 457

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 457

caggttcaac tggatgcagtc tggagctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc 60
tctctgaaga ctcttggtta cacctttacc aacaatggta tcagctgggt gcgacaggtc 120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcagccctt ataatggtaa tacaaagtat 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accacagaca catcgacgac tacagtctac 240

atggacgtga ggagcctgag atctgacgac acggccgttt atttctgtgc gagagatggg 300
cccattacga tctctactt cggtatggac gtctggggcc aagggaccac ggtcaccgtc 360
tctca 366

<210> 458

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 458

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Val Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Thr Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Met Asp Val Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

 85 90 95
 Ala Arg Asp Gly Pro Ile Thr Ile Ser Tyr Phe Gly Met Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 459

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 459

ggttacacct ttaccaacaa tggt

24

<210> 460

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 460

Gly Tyr Thr Phe Thr Asn Asn Gly

1 5

<210> 461

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 461

atcagccctt ataatggtaa taca

24

<210> 462

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 462

Ile Ser Pro Tyr Asn Gly Asn Thr

1 5

<210> 463

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 463

gcgagagatg ggcccattac gatctcctac ttcggtatgg acgtc 45

<210> 464

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 464

Ala Arg Asp Gly Pro Ile Thr Ile Ser Tyr Phe Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 465

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 465

gacatccaga tgaccacgac tccgtcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagtattagc acctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaaactcct gatctatgct gcatccactt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcggtg gcagtggatc tgggacagac ttcactetca ccgtcagcag tetgcaacct 240
gaagattttg caacttacta ctgtcaacag agttacagta cccctccgat caccttcggc 300
caagggacac gactggagat taat 324

<210> 466

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 466

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Asn

100 105

<210> 467

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 467

cagagtatta gcacctat

18

<210> 468

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 468

Gln Ser Ile Ser Thr Tyr

1

5

<210> 469

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 469

gctgcatcc

9

<210> 470

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 470

Ala Ala Ser

1

<210> 471

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 471

caacagagtt acagtacccc tccgatcacc

30

<210> 472

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 472

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

1 5 10

<210> 473

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 473

caggtacaac tgggtggagtc tgggggaggc gtggtccagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag cgtctggatt caccgtcaat agatatggca tacactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt acatggtatg atggaagaaa taaatacttt 180
gccgactccg tgaagggccg attctccttc tccagagaca gttccacgaa cacgttgtat 240

ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gaggggggga 300
ttgtttggat actttgacta ctggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 474

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 474

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

1 5 10 15

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

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

Ala Val Thr Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys Tyr Phe Ala Asp Ser Val
 50 55 60

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

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

Ala Arg Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 475

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 475

ggattcaccg tcaatagata tggc 24

<210> 476

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 476

Gly Phe Thr Val Asn Arg Tyr Gly

1 5

<210> 477

<211> 24
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 477
 acatggtatg atggaagaaa taaa 24
 <210> 478
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 478
 Thr Trp Tyr Asp Gly Arg Asn Lys
 1 5
 <210> 479
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 479
 gcgagggggg gattgtttgg atactttgac tac 33
 <210> 480
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> synthetic
 <400> 480
 Ala Arg Gly Gly Leu Phe Gly Tyr Phe Asp Tyr
 1 5 10
 <210> 481

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 481

gaaattgtgt tgacgcagtc tccagacacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcctgca gggccagtc gagtggtgcc ggcagctact tagcctggta ccagcagaaa 120
cctggccagg ctcccagact cctcatctat ggtgcatcca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtgg gtctgggaca gacttcactc tcaccatcag cagactggag 240
cctgaagatt ttgcagtgtg ttactgtcag cagtatggta cctcaccttg gacgttcggc 300
caggggacca aggtggaaat caca 324

<210> 482

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 482

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

100	105
<210> 483	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> synthetic	
<400> 483	
cagagtgttg ccggcagcta c	21
<210> 484	
<211> 7	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> synthetic	
<400> 484	
Gln Ser Val Ala Gly Ser Tyr	
1 5	
<210> 485	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> synthetic	
<400> 485	
ggtgcatcc	9
<210> 486	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> synthetic	
<400> 486	
Gly Ala Ser	

1

<210> 487

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 487

cagcagtatg gtacctcacc ttggacg 27

<210> 488

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 488

Gln Gln Tyr Gly Thr Ser Pro Trp Thr

1 5

<210> 489

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 489

caggtgcagt tggtaggagtc tgggggaggc gtgggtccagc ctgggaggct cctgagactc 60

tcctgtgcag cgtctggatt caccttcagt agctatggca tacactgggt cggccaggct 120

ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcagtt atatggtatg gtggaaataa taaatactat 180

gcagactccg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctttat atcactgtgc gagaagtggg 300

aacttcggtg cttttgatat ctggggccaa gggacaatgg tcaccgtctc ttca 354

<210> 490

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 490

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Gly Asn Phe Gly Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Met Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 491

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 491

ggattcacct tcagtagcta tggc

24

<210> 492

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 492

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 493

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 493

atatggtatg gtggaaataa taaa

24

<210> 494

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 494

Ile Trp Tyr Gly Gly Asn Asn Lys

1 5

<210> 495

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 495

gcgagaagtg ggaacttcgg tgcttttgat atc

33

<210> 496

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 496

Ala Arg Ser Gly Asn Phe Gly Ala Phe Asp Ile

1 5 10

<210> 497

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 497

gaaattgtgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aagagccacc 60
ctctcttgca gggccagtc gagtgtagc agctacttag cctggtacca gcagaaacct 120
ggccaggctc ccaggctcct catctatggt gcatccagca gggccactgg catcccagac 180
aggttcagtg gcagtgggtc tgggacagac ttcattctca ccatcaacag actggagcct 240
gaagattttg cagtctatta ctgtcagcac tatggtaact caccttggac gttcggccaa 300
gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 498

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 498

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

100 105

<210> 499

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 499

cagagtgtta gcagctac 18

<210> 500

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 500

Gln Ser Val Ser Ser Tyr

1 5

<210> 501

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

 $\langle 220 \rangle$

<223> synthetic

<400> 501

ggtgcatcc 9

<210> 502

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 502

Gly Ala Ser

1

<210> 503

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 503

cagcactatg gtaactcacc ttggacg

27

<210> 504

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> synthetic

<400> 504

Gln His Tyr Gly Asn Ser Pro Trp Thr

1

5

<210> 505

<211> 223

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> hCTLA-4 NP_005205.2

<400> 505

Met Ala Cys Leu Gly Phe Gln Arg His Lys Ala Gln Leu Asn Leu Ala

1

5

10

15

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

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

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

 195 200 205
 Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn
 210 215 220
 <210> 506
 <211> 154
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> hCTLA-4-mmH (aa K36-D161 of NP_005205.2 with

C-terminal myc-myc-hexahistidine tag)

<400> 506

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu

35 40 45

Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp

50 55 60

Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr

65 70 75 80

Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val

85 90 95

Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr

100 105 110

Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Glu Gln

115 120 125

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

130 135 140

Glu Glu Asp Leu His His His His His His

145 150

<210> 507

<211> 154

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> MfCTLA-4-mmH (aa K36-D161 of XP_005574071.1 with

C-terminal myc-myc-hexahistidine tag)

<400> 507

Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Asn Ser Arg

1 5 10 15

Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30
Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Ala Asp Ser Gln Val Thr Glu
35 40 45
Val Cys Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp
50 55 60
Asp Ser Ile Cys Thr Gly Thr Ser Ser Gly Asn Gln Val Asn Leu Thr
65 70 75 80
Ile Gln Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val
85 90 95
Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Met Gly Ile Gly Asn Gly Thr
100 105 110
Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser Asp Glu Gln
115 120 125
Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gly Gly Glu Gln Lys Leu Ile Ser
130 135 140
Glu Glu Asp Leu His His His His His His
145 150
<210> 508
<211> 359
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> hCTLA-4-mFc
dimeric hCTLA-4 ectodomain (aa K36-D161 of
NP_005205.2) with C-terminal mouse Fcgamma domain
(aa E98-K330 of P01863)
<400> 508
Lys Ala Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg
1 5 10 15
Gly Ile Ala Ser Phe Val Cys Glu Tyr Ala Ser Pro Gly Lys Ala Thr
20 25 30

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

275 280 285
 Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys
 290 295 300
 Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser

305 310 315 320
 Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser
 325 330 335
 Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser
 340 345 350
 Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 355

<210> 509

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> R4659: HC

<400> 509

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

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

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

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

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

 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 510
 <211> 215
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220>
 <223> R4659: LC
 <400> 510
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ala Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115

120

125

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

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

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

180

185

190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195

200

205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

215