(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0141988
(43) 공개일자 2021년11월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2896 (2013.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2021-7032794
(22) 출원일자(국제) 2020년03월13일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2021년10월12일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2020/056754
(87) 국제공개번호 WO 2020/182974
국제공개일자 2020년09월17일
(30) 우선권주장
19162759.5 2019년03월14일
유럽특허청(EPO)(EP)

(71) 출원인
모르포시스 아게
독일 프라네그 디-82152, 제멜바이스스트라쎄 7
(72) 발명자
노이게바우어, 쥴리아
독일, 81677 뮌헨, 스테인하우저 스트라쎄 25비
바흘러-코네츠키, 바바라
독일, 22337 함부르크, 퓨흘스버틀러 스트라쎄 737
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김순웅

전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **C5AR을 표적으로 하는 항체**

(57) 요 약

본 발명은 인간 C5aR에 특이적으로 결합하는 신규 항체 또는 항체 단편을 제공한다. 특히, 본 발명은 조합된 유익한 특성을 갖고, 그에 따라 염증성 또는 자가면역 질환 또는 암의 치료에 유용한 항체 또는 항체 단편에 관한 것이다.

(52) CPC특허분류
C07K 2317/21 (2013.01)
C07K 2317/92 (2013.01)
(72) 발명자
헤르만, 탄자
독일, 81369 뮌헨, 게오르그-헤거-스트라쎄 4
엘리스, 윈프리드
독일, 79299 비트나우, 갈루스베그 3에이

명 세 서

청구범위

청구항 1

인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편으로서, 상기 항체 또는 항체 단편은

a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

b) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함하는, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 2

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이

a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL, 또는

b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL을 포함하는, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 3

청구항 1 또는 청구항 2에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이

a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC, 또는

b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC를 포함하는, 단리된 항체 또는 항체 단편..

청구항 4

청구항 1 내지 청구항 3 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가 인간 IgG1 부류의 것인, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 5

청구항 1 내지 청구항 4 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가 시험관내에서 이펙터 기능(effector function)을 실질적으로 유도하지 않는 것인, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 6

청구항 1 내지 청구항 5 중 어느 한 항에 있어서,

상기 항체가 EU 인덱스에 따라 넘버링된, L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S의 그룹으로부터 선택되는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는 것인, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 7

청구항 1 내지 청구항 6 중 어느 한 항에 있어서,

상기 단리된 항체 또는 항체 단편이 인간 C5aR 및 시노몰구스(cynomolgus) C5aR에 대해 특이적인 것인, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 8

청구항 1 내지 청구항 7 중 어느 한 항에 있어서,

상기 단리된 항체 또는 항체 단편이 시험관내에서 150 nM 인간 C5a의 존재 하에 42 nM의 IC_{50} 농도로 인간 과립

구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제하는 것인, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 9

청구항 1 내지 청구항 8 중 어느 한 항에 있어서,

상기 단리된 항체 또는 항체 단편이 모노클로날 항체 또는 항체 단편인, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 10

청구항 1 내지 청구항 9 중 어느 한 항에 있어서,

상기 단리된 항체 또는 항체 단편이 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편인, 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 11

청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 있어서, 의약으로 사용하기 위한 단리된 항체 또는 항체 단편.

청구항 12

청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물.

청구항 13

청구항 12의 핵산 조성물을 포함하는 벡터 또는 복수의 벡터를 포함하는 벡터 조성물.

청구항 14

청구항 13의 벡터 조성물 또는 청구항 12의 핵산 조성물을 포함하는 숙주 세포.

청구항 15

청구항 1 내지 청구항 10 중 어느 한 항에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편 및 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 개시는 C5aR, 특히 인간 C5aR과 상호작용하는 항체에 관한 것이다. 본 개시는 또한 상기 항체를 발현할 수 있는 핵산 조성물, 벡터 조성물 및 숙주 세포, 상기 항체를 포함하는 약제학적 조성물, 및 특정 질환의 치료 및/또는 진단 목적을 위한 상기 항체의 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] C5a 아나필라톡신 화학주성 수용체 1(C5aR)(CD88로도 알려져 있음)은 로돕신 계열에 속하는 G-단백질 결합 수용체(G-protein-coupled receptor; GPCR)이며, 보체 반응의 핵심 이펙터(effector) 성분 중 하나로 혈청에서 생성되는, 리간드인 C5a에 대한 2개의 고친화도 수용체 중 하나이다. 생리학적 조건하에서, C5a는 염증 세포에 대한 화학주성제(chemotactic agent)로 작용하고, 호흡 폭발(respiratory burst)을 비롯한 사이토카인과 케모카인 방출을 자극하고, 혈관 투과성을 증가시키는 기능을 한다.

[0003] C5aR은 다양한 세포 유형에 의해 광범위하게 발현되는 것으로 나타난다. 가장 높은 C5aR 발현 수준은 호중구에 관해 기술되어 있다. 대식세포/단핵구, 수지상 세포, 비만 세포, 호산구, 폐 혈관 평활근 세포, 성상세포, 미세아교세포, 조골세포, 파골세포, 상피 및 내피 세포의 경우 저도 내지 중등도의 발현 수준이 나타났다(Monk PN et al., Br J Pharmacol. 2007, 152: 429 - 448; Wetsel RA, Immunol Lett. 1995, 44: 183 - 187). 인간 T 세포의 경우 낮은 발현 수준이 관찰되었다(Nataf S, J Immunol. 1999, 162: 4018 - 4023).

[0004] C5a에 대한 세포 반응은 리간드-유도된 수용체 내재화에 의해 엄격하게 제어된다. C5aR은 C5a 처리시 신속하고 용량-의존적으로 내재화되는 것으로 설명되며, 수용체의 최대 90%가 세포 표면으로 다시 재순환된다. 따라서,

C5aR의 높은 발현 수준과 함께 이의 빠른 대사회전속도(turn-over rate)는 표적-매개성 약물 성향(target-mediated drug disposition; TMDD) 효과로 인해 효능 측면에서 제한적일 수 있다.

[0005] C5aR과 C5a의 상호작용은 많은 질환 설정에 있어서 설명되었으며; 이들 중 대부분은 염증 및 자가면역 질환과 연관되어 있다(Morgan BP et al., Nat Rev Drug Discov. 2015, 14: 857 - 877; Hawksworth OA et al., Mol Immunol. 2017, 89: 36 - 43). C5a가 종양 성장을 자극하는 기본 메커니즘을 확인하기 위해 일부 초기 연구가 수행되었다(Markiewski MM et al., Nat Immunol. 2008, 9: 1225 - 1235; Corrales L. et al, J Immunol. 2012, 189: 4674 - 4683, Cho MS et al., Cell Rep. 2014, 6: 1085 - 1095). 대부분의 데이터는 C5a가 암세포 증식, 종양 내 혈관신생을 증가시키고 종양 침습성과 전이를 향상시킨다는 것을 시사한다. 보다 최근의 데이터는 또한 고형 종양의 맥락에서 면역억제 환경의 생성에서 C5a/C5aR의 역할을 시사하며(Sayegh ET et al., Cancer Med. 2014, 3: 747 - 758; Darling VR et al., Expert Rev Clin Immunol. 2015, 11: 255 - 263; Markiewski MM et al., Cancer Res. 2009, 69: 6367 - 6370), 이는 항종양 반응을 억제하여 향상된 원발성 종양 성장(예를 들어, 골수-유래된 억제 세포(myeloid-derived suppressor cell; MDSC) 또는 M2 대식세포와 같은 C5aR-발현 골수 세포의 모집 증가)을 초래한다. 이러한 발견에 기초하여, 면역억제성 미세환경을 감소시켜 피험자의 면역 반응을 향상시키기 위해 면역 관문 단백질 억제제와 같은, 이미 알려진 항종양제와의 조합 전략이 연구 및 임상 개발에 초점이 있다(Wang Y, et al.: Cancer Discov. 2016, 6: 1022 - 1035).

[0006] 현재까지, C5a의 상류 분자, 즉 C5를 표적으로 하는 오직 하나의 특정 보체 치료제가 허가되었다. 인간화 항-C5 mAb 에쿨리주맙(Eculizumab)은 C5에 결합할 수 있어, C5a 및 C5b 단백질의 절단 및 형성, 및 후속 MAC 형성을 방지할 수 있다. ALXN1210 또는 LFG316과 같은, 다양한 다른 치료 단일클론 C5 특이적 항체가 임상 평가 중에 있다(Hawksworth OA et al., Mol Immunol. 2017, 89: 36-43). 그러나, 감염 위험의 증가는 만성 C5 치료의 주요 관심사이기 때문에, 다른 보체 성분의 생물학적 활성을 방지하면서 하류 분자에 대한 특이적 표적화는 분명히 유리하다. 이에 따라, 다수의 길항성 C5a 특이적 단일클론 항체가 개발 중에 있다.

[0007] C5aR의 직접 표적화는, 각각, C5 또는 C5a를 표적화하는 것에 비해 많은 이점이 있다. 첫째, 수용체를 단독으로 억제하는 것은 MAC 활성을 보존시켜, 그로 인해 잠재적인 감염 위험을 감소시킬 수 있다. 둘째, C5aR 차단(blockade)은 이의 제2 수용체 C5L2와의 지속적인 C5a 상호작용을 가능하게 한다. C5L2는 항염증 효과가 있는 것으로 보고되어 있기 때문에, 효과적인 C5L2 신호 전달 경로를 유지하는 것은 효능 증가 또는 용량 요구사항(dosing requirements) 감소를 초래할 수 있다. 셋째, 직접적인 C5aR 표적화는, 이의 적은 분자량과 높은 대사회전속도로 인해, 가용성 C5a의 억제에 비해 약력학적 이점을 제공할 수 있다. 전반적으로, 전임상 및 임상 시험에서 테스트 중인 앱타머, 펩티드 및 비펩티드 소분자와 같은, C5aR 억제제를 개발하는데 관심이 높아지고 있다.

[0008] 인간 C5aR의 N-말단 세포외 영역에 대해 유도되고 C5aR - C5a 상호작용을 방해할 수 있는 폴리클로날 항혈청 또는 모노클로날 항체를 중화시키는 것은 당해 기술 분야에 기술되어 있다(예를 들어, Morgan et al., The Journal of Immunology, Vol 151, 377 - 388. No. 1, July 1, 1993; Oppermann et al., The Journal of Immunology, Vol 151, 3785 - 3794, No. 7, October 1, 1993 참조).

[0009] 그러나, 이러한 C5aR 특이적 항체는, 특히 동물 기원(이들은 인간 환자에서 면역원성을 띠게 함), 클론성, 및/또는 관련 동물 종에 대한 교차-반응성의 부족으로 인해 인간에서의 임상 개발 및 치료 용도에 적합하지 않다.

[0010] C5aR을 표적으로 하는 치료 항체가 임상 개발을 위해 검토되어 왔다. 그러나, 인간화 IgG4 mAb인 길항성 C5aR 특이적 항체 뉴트라주맙의 임상 개발은 면역 세포 고갈 및 면역원성 문제로 인해 II상 임상 시험에서 중단되었다(Daniluk S et al., Annals of the Rheumatic Diseases. 2014, 73: 684-685). C5aR은 다양한 세포 유형에서 구성적으로 발현되기 때문에, 길항성 항체가 표적 세포의 임의의 고갈을 유도하지 않는 것이 중요하다.

[0011] 뉴트라주맙의 한계를 극복하기 위해, 2세대 C5aR 특이적 항체, 즉 NNC0215-0384(US2013/0295116(NOVO NORDISK); 클론 32F3A6GL)가 생성되었다. 이 항체는 형질전환 마우스(transgenic mice)에서 유래한 인간 IgG1 항체이며, 현재 암 분야에서 IPH5401로 임상 개발 진행중이다(Olivier Demaria et al., Innate Pharma 2017. Poster #B184. CRI-CIMT-EATI-AACR Mainz). IPH5401은 이펙터 기능을 유도하는 항체의 활성을 제거하기 위해 침묵된 인간 IgG1 Fc 영역을 보유하고 있다. 이 항체는 본 명세서에서 RefMAB#1로 지칭된다.

발명의 내용

[0012] 본 개시는 신규 항체 및 항체 단편을 제공한다.

[0013] 본 명세서에 개시된 항체 및 항체 단편은 인간 C5aR에 특이적으로 결합할 수 있고, 바람직하게는 시노몰구스(cynomolgus) 원숭이 유래 C5aR과 교차 반응할 수 있다. 따라서, 일부 실시형태에서, 개시된 항체는 인간 C5aR 및 시노몰구스 C5aR에 특이적이다. 일부 다른 실시형태에서, 개시된 항체 또는 항체 단편은 인간 및 시노몰구스 C5aR의 N-말단 세포외 영역에 결합한다.

[0014] 이는 인간 C5aR의 두 번째 세포외 루프에 결합하여, 일반적으로 사용되는 관련 독성 종(toxicology species)인, 시노몰구스 원숭이 C5aR에 대한 결합의 결핍을 초래하는, 상기 언급된 종래 기술 항체 IPH5401과는 대조적이다.

[0015] 또한, 본 발명의 발명자들은 놀랍게도 본 명세서에서 청구하는 C5aR 특이적 항체가 IPH5401과 비교할 때 병태생리학적(pathophysiological) C5a 농도를 중화시키는 데 현저하게 더 강력할 뿐만 아니라 시험관내에서 호중구의 C5 매개 활성화를 억제하는 데 시간이 지남에 따라 증가된 효능을 나타냄을 밝혀냈다.

[0016] 따라서, 일부 실시형태에서, 개시된 항체는 시험관내, 특히 병태생리학적 C5a 농도에서, C5a 유도된 C5aR 활성을 효율적으로 억제할 수 있다. 개시된 항체 또는 항체 단편은 또한 과립구 및/또는 단핵구에서 C5a 유도된 CD11b의 상향조절을 억제하는 이들의 활성에 의해 결정되는 바와 같이 시험관내에서 C5a 유도된 백혈구 활성화를 억제할 수 있다. 일부 실시형태에서, 개시된 항체 또는 항체 단편은 시험관내에서 150 nM 인간 C5a의 존재하에 42 nM의 IC_{50} 농도로 인간 과립구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제한다. 일부 다른 실시형태에서, 개시된 항체는 장기간의 인큐베이션 시간 경과후 과립구 및/또는 단핵구에서 C5a 유도된 CD11b의 상향조절을 억제하는 증가된 효능을 나타낼 수 있다. 개시된 항체는 또한 C5a 유도된 호중구 이동을 억제하는데 효율적일 수 있다.

[0017] 요컨대, 본 개시는, 당업계에 공지된 C5aR 특이적 항체보다 우수한, 신규 항체를 제공한다. 특히, 본 개시의 항체는 인간 C5aR에 대해 고친화도 결합을 갖는 인간 항체로서, 바람직하게는 시노몰구스 원숭이 C5aR과 교차 반응하고 이전에 관찰된 적이 없는 유리한 기능 및 안전성 특성을 갖는다. 이러한 특징에 의해 본 개시의 항체를 염증성 및 자가면역 질환 뿐만 아니라 암의 예방 및/또는 치료와 같은 치료 용도에 매우 바람직하게 된다.

[0018] 본 개시는 본 명세서의 표 1 또는 표 2에 따른 CDR 영역을 갖는 인간 C5aR에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또한 항체 단편을 제공한다. 본 개시는 또한 본 명세서의 표 1 또는 표 2에 따른 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)을 갖는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또한 항체 단편을 제공한다. 본 개시는 또한 본 명세서의 표 1 또는 표 2에 따른 아미노산 서열을 포함하는 중쇄(HC) 및 경쇄(LC)를 갖는 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또한 항체 단편을 제공한다.

[0019] 본 개시의 단리된 항체는 시험관내에서 이펙터 기능을 실질적으로 유도하지 않는다. 이러한 이펙터 기능은 ADCP, ADCC 또는 CDC를 포함할 수 있다. 또한, 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편은, EU 인덱스(index)에 따라 넘버링된 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S의 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 특히, 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 다음 아미노산 치환: L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S을 포함하는, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다.

[0020] 본 개시는 또한 의약으로의 사용하기 위한 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편를 제공한다.

[0021] 본 개시는 또한 염증성 또는 자가면역 질환 또는 암 등의 질환을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법으로서, 유효량의 본 개시의 항체 또는 항체 단편을 상기 대상체에게 투여하는 치료 방법을 제공한다. 바람직하게는, 상기 대상체는 인간이다.

[0022] 본 개시는 또한 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편, 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0023] 본 개시는 또한 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 조성물을 제공한다. 본 개시는 또한 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 조성물을 포함하는 벡터 조성물을 제공한다. 본 개시는 또한 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 벡터 조성물 또는 핵산 조성물을 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0024] 본 개시는 또한 염증성 질환, 자가면역 질환 또는 암 등이 질환을 앓고 있는 대상체를 치료하는 방법으로서, 유효량의 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편을 상기 대상체에게 투여하는 치료방법을 제공한다. 바람직하게는, 상기 대상체는 인간이다.

[0025] 본 개시는 또한 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편, 및 약제학적으로 허용가능한 담체를 포함하는 약제학적

조성물을 제공한다.

[0026] 청구된 항체 또는 항체 단편에 유용성(utility)이 존재한다. 또한, 이러한 항체 또는 항체 단편을 확인하기 위한 청구된 방법에 유용성이 있다.

[0027] 청구된 항체 또는 항체 단편의 활용은 인간 C5aR의 생물학적 활성을 변경하는 것이다. 특히, 청구된 항체 또는 항체 단편은 염증성 또는 자가면역 질환 또는 암의 치료와 같은, 치료적 사용을 위한 것이다.

도면의 간단한 설명

[0028] **도 1**: FACS를 통해 측정된 인간 및 시노몰구스 원숭이 C5aR에 대한 MAB#1, MAB#2, RefMAB#1 및 음성 이소형 대조군 MOR03207의 세포 결합. **A** Flp-In CHO 세포에서 과발현된 인간 C5aR에 대한 용량 반응 결합. **B** Flp-In CHO 세포에서 과발현된 시노몰구스 원숭이 C5aR에 대한 용량 반응 결합. **C** 3명의 다른 공여자의 전혈에서 얻은 정제된 인간 호중구에 대한 평균 용량 반응 결합. **D** 3마리의 다른 원숭이의 전혈에서 얻은 정제된 시노몰구스 원숭이 호중구에 대한 평균 용량 반응 결합.

도 2: 600 nM의 IgG 농도에서 FACS를 통해 결정된, MAB#1, MAB#2, RefMAB#1 및 음성 이소타입 대조군 MOR03207의 인간, 시노몰구스 및 설치류 C5aR을 비롯한 C5aR 관련 GPCR 인간 C5L2, 인간 C3aR, 인간 FPR1 및 인간 ChemR23에 대한 세포 결합.

도 3: 바이러스 유사 입자(VLP)에서 발현된 인간 C5aR의 2가지 천연 변이체 및 마우스 C5aR에 대한 MAB#1의 ELISA 결합.

도 4: PathHunter® - DiscoveRx의 β-어레스틴(arrestin) 분석. 인간 C5a의 중화는 β-어레스틴 동원을 유도했다. **A.** MAB#1(50 nM), MAB#2(50 nM) 및 RefMAB#1(50 nM)의 부재 또는 존재 하에 재조합 인간 C5a의 농도 증가에 대한 로그 용량-반응 곡선. **B.** 50 nM의 최종 IgG 농도에서 인간 C5a의 3가지 증가하는 농도(각각 1.2 nM, 11 nM 및 100 nM)에 대한 억제율을 계산했다.

도 5: 일반 및 병태생리학적 C5a 농도에서 인간 과립구에서 인간 C5a 유도 CD11b 상향 조절의 억제. **A + B** CD11b 전혈 분석에서 MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1의 비교. 로그 용량-억제 곡선이 도시되어 있다. 인간 과립구를 표적 세포로서 게이팅(gating)시켰다. 정량적 판독으로서, CD11b 상향조절의 50% 억제에 도달하는 데 필요한 IgG 농도(IC_{50} 농도)를 계산했다. 각 IgG에 대한 IC_{50} 농도는 x축 아래에 표시되어 있다. **A** 증가하는 농도의 IgG 및 15 nM 인간 C5a에 대한 로그 용량-반응 곡선. **B** 증가하는 농도의 IgG 및 150 nM 인간 C5a에 대한 로그 용량-반응 곡선.

도 6: 장기간의 인큐베이션 시간에 걸쳐 측정한 인간 과립구 및 단핵구에서 인간 C5a 유도 CD11b 상향 조절의 억제. 20분 또는 300분 동안 표적 세포와 함께 IgG를 인큐베이션한 후 CD11b 전혈 분석에서 MAB#1 및 RefMAB#1의 비교. IgG를 연속 희석액으로 첨가하고 15 nM 인간 C5a로 후속 자극하면서 20분 또는 300분 동안 인큐베이션했다. 과립구(도 6A 및 B) 또는 단핵구(도 6C 및 D)가 표적 세포로 게이팅되었다. CD11b 수준을 결정했다. 로그 용량-억제 곡선이 나타나 있다. 데이터는 15 nM 인간 C5a에서 CD11b 상향조절의 억제율(%)로 표시된다. MAB#1에 대한 결과는 도 6A 및 C에 나타나 있고, RefMAB#1에 대한 결과는 도 6B 및 D에 제공되어 있다.

도 7: 인간 C5a 유도 인간 호중구 이동의 억제. MAB#1 및 음성 대조군 MOR03207을 각각 10 nM 인간 C5a의 존재 하에 2가지 IgG 농도(각각 100 nM 및 600 nM)에서 테스트했다. 3개의 다른 시점(15분, 25분, 35분)에서 3개의 독립적인 분석 실행의 평균 값이 나타나 있다. 호중구는 3명의 다른 인간 공여자로부터 얻었다. 억제율을 항체 부재 하에 호중구 이동을 기준으로 계산했다.

도 8: Promega ADCC 및 ADCP 리포터 바이오어세이(bioassay). MAB#1과 야생형(비침묵) 인간 IgG1 Fc 영역 또는 MAB#1의 Fc 영역과 동일한 변이체(침묵) Fc 영역 중 어느 하나를 보유하는 단일클론 항-C5aR 대조군 IgG의 비교. 또한, 변이체 또는 야생형 인간 IgG1 Fc 영역 중 어느 하나를 지니는 이소형 대조군 항체 MOR03207을 포함시켰다. ADCP 경로를 모방하기 위해 FcγRIIa_H를 발현하는 조작된 Jurkat 세포 또는 ADCC 경로를 모방하기 위해 V158 고친화도 변이체를 발현하는 Jurkat 세포 및 C5aR을 발현하는 CHO 세포를 사용하여 공급자의 지시에 따라 분석을 수행했다. **A** 10 ㎍/㎖의 IgG 농도에서 ADCP 리포터 바이오어세이 결과. **B** 10 ㎍/㎖의 IgG 농도에서 ADCC 리포터 바이오어세이 결과. 데이터는 백그라운드에 대한 평균 형광 신호로 제공된다.

도 9: 10 mg/kg IgG의 단일 정맥내 투여 후 Han Wistar 래트에서 MAB#1의 그룹 평균 약동학적 프로파일. 데이터는 평균값(시간 경과에 따른 IgG 농도) ± 표준 편차(S)(n=3)로 제공된다.

도 10: MAB#1 및 MAB#2에 대한 단백질 패널 프로파일링(3P) 결과. 각 항체에 대한 숫자는 이소형 음성 대조군 항체 MOR03207의 결합과 비교하여 각 항체 및 시험된 단백질에 대해 얻은 결합 신호를 나타낸다. 항체를 각각 10 nM 및 100 nM의 농도에서 테스트했다.

도 11: 단핵구 유래 시험관내-성숙 M1 및 M2 대식세포에 의한 사이토카인 방출. IL-10 및 IL-12 수준을 MAB#1로 처리하고 C5a와 함께 밤새 인큐베이션한 후 ELISA에 의해 결정했다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0029] 본 개시는, 인간 C5aR을 인식하는, 복수의 인간 항체에 관한 것이다.

[0030] **정의**

[0031] 용어 **"C5aR"**은 C5a 아나필라톡신 화학주성 수용체 1 또는 CD88로 알려진 단백질을 지칭한다.

[0032] 인간 C5aR(Uniprot: P21730|1-350)(본 명세서에서 **"D/K 변이체"**로 지칭됨)은 다음의 아미노산 서열을 갖는다:

[0033] MDSFNYTTPDYGHYDDKDTLDLNTPVDKTSNTLRVPDILALVIFAVVFLVGVLGNALVV
WVTAFEAKRTINAIWFLNLAVADFLSCLALPILFTSIVQHHHWPFGGAACSILPSLILLNM
YASILLLATISADRFLLVFKPIWCQNFRGAGLAWIACAVAWGLALLLTIPSFLYRVVREEY
FPPKVLCGVDYSHDKRRERAVAIVRLVLGFLWPLLTLTICYTFILLRTWSRRATRSTKTL

[0034] KVVVAVVASFFIFWLPYQVTGIMMSFLEPSSPTFLLLKKLDSLCVSFAYINCCINPIIYVVA
GQGFQGRLRKSLPSLLRNVLTEESVVRESKSFTRSTVDTMAQKTQAV (서열번호: 1)

[0035] 인간 C5aR의 2가지 천연 미스센스 돌연변이가 설명되어 있다((http://www.uniprot.org/uniprot/P21730): 참조 SNP(refSNP) 클러스터 보고서: rs4467185(MAF: 0.03) 및 클러스터 보고서: rs11880097(MAF: 0.03). 한 돌연변이는 인간 C5aR의 N-말단 세포외 영역(서열번호: 1의 위치 2) 내에 위치하여 D에서 N으로의 치환을 초래한다.

[0036] 서열에 천연 미스센스 돌연변이 둘 다를 포함하는 인간 C5aR 단백질(본 명세서에서 **"N/N 변이체"**로도 지칭됨)은 하기의 아미노산 서열을 갖는다:

[0037] MNSFNYTTPDYGHYDDKDTLDLNTPVDKTSNTLRVPDILALVIFAVVFLVGVLGNALV
VWVTAFEAKRTINAIWFLNLAVADFLSCLALPILFTSIVQHHHWPFGGAACSILPSLILL
NMYASILLLATISADRFLLVFKPIWCQNFRGAGLAWIACAVAWGLALLLTIPSFLYRVV
REEYFPPKVLCGVDYSHDKRRERAVAIVRLVLGFLWPLLTLTICYTFILLRTWSRRAT
RSTKTLKVVVAVVASFFIFWLPYQVTGIMMSFLEPSSPTFLLLNKLDSLCVSFAYINCC
INPIIYVVAGQGFQGRLRKSLPSLLRNVLTEESVVRESKSFTRSTVDTMAQKTQAV
(서열번호: 2)

[0038] 시노몰구스 원숭이(마카카 파시쿨라리스(Macaca fascicularis)) C5aR은 다음의 아미노산 서열을 갖는다:

[0039] MDPFSSTTLDYEHYDGKNVLDSDTPVDKTSNTLRVPDILALVVFAVVFLVGVLGNALVV
WVTAFEVKRTINAIWFLNLAVADFLSCLALPILFTSIVQHHHWPFGGTACRILPSLILLNM
YASILLLATISADRFLLVFNPIWCQNFRGAGLAWIACAVAWGLALLLTIPSFLYRAVRQEE
YSPKVLCGVDYNNDTRRERAVAIVRLVLGFLWPLLTLMICYTFLLLRTWSRRATRSTKT
LKVVVAVVASFFIFWLPYQVTGTMMSFLRPSSPTYLQLKKLDSLSISFAYINCCINPVIYV
VAGQGFQGRLRKSLPSLLRNVLTEESVVRESKSFTRSTVDTMTEKTQAV (서열번호:
3)

[0040] 마우스(무스 무스쿨루스(Mus musculus)) C5aR의 아미노산 서열은 다음과 같다:

[0041] MDPIDNSSFEINYDHYGTMAPNIPADGIHLPKRQPGDVAALIIYSVVFLVGVPGNALVVW
VTAFEARRAVNAIWFLNLAVADLLSCLALPVLFTTVLNHNYWYFDATACIVLPSLILLNMY
ASILLLATISADRFLLVFKPIWCQKVRGTGLAWMACGVAWVLALLLTIPSFVYREAYKDF
YSEHTVCGINYGGGSFPKEKAVAILRLMVGFVLPLLTLNICYTFLLLRTWSRKATRSTKT
LKVVMAVVICFFIFWLPYQVTGVMIAWLPPSSPTLKRVEKLNSLCVSLAYINCCVNPIIYV

[0042] MAGQGFHGRLLRSLPSIIRNALSEDSVGRDSKTFTPSTTDTSTRKSQAV (서열번호: 4)

[0043] 래트(라투스 노르베지쿠스(Rattus norvegicus)) C5aR은 다음의 아미노산 서열을 갖는다:

[0044] MDPISNDSSEITYDYSDGTPNPDMPADGVYIPKMEPGDIAALIIYLAVFLVGVTGNALVV
WVTAFEAKRTVNAIWFLNLAVADLLSCLALPILFTSIVKHNHWPFGDQACIVLPSLILLNM
YSSILLLATISADRFLLVFKPIWCQKFRRPGLAWMACGVTWVLALLLTIPSFVFRRIHKDP
YSDSILCNIDYSKGPFFIEKAIAILRLMVGFVLPLLTLNICYTFLLIRTWSRKATRSTKTLKV
VMAVVTCFFVFWLPYQVTGVILAWLPRSSSTFQSVERLNSLCVSLAYINCCVNPIIYVMA
GQGFHGRLRRSLPSIIRNVLSEDSLGRDSKSFTRSTMDTSTQKSQAV (서열번호: 5)

[0045] 용어 "C5a"는 인간 보체 성분 C5a로 알려진 단백질을 지칭한다. 인간 C5a(Uniprot: P01031| 678-751)는 다음의 아미노산 서열을 갖는다:

[0046] TLQKKIEEIAAKYKHSVVKKCCYDGACVNNDETCEQRAARISLGPRCIKAFTECCVVAS
QLRANISHKDMQLGR (서열번호: 6)

[0047] 용어 "C5L2"는 C5a 아나필라톡신 화학주성 수용체 2로 알려진 단백질을 지칭한다.

[0048] 인간 C5L2는 다음의 아미노산 서열을 갖는다:

[0049] MGNDSVSYEYGDYSDLSDRPVDCLDGACLAIDPLRVAPLPLYAAIFLVGVPGNAMVAW
VAGKVARRRVGATWLLHLAVADLLCCLSLPILAVPIARGGHWPYGAVGCRALPSIILLTM
YASVLLLAALSADLCFLALGPAWWSTVQRACGVQVACGAAWTLALLLTVPSAIYRRLH
QEHFPARLQCVVDYGGSSSTENAVTAIRFLFGFLGPLVAVASCHSALLCWAARRCRPL
GTAIVVGFFVCWAPYHLLGLVLTVAAPNSALLARALRAEPLIVGLALAHSCLNPMLFLYF
GRAQLRRSLPAACHWALRESQGQDESVDSKKSTSHDLVSEMEV (서열번호: 7)

[0050] 용어 "C3aR"은 C3a 아나필라톡신 화학주성 수용체로 알려진 단백질을 지칭한다.

[0051] 인간 C3aR은 다음의 아미노산 서열을 갖는다:

[0052] MASFSAETNSTDLLSQPWNEPPVILSMVILSLTFLLGLPGNGLVLWVAGLKMQRTVNTI
WFLHLTLADLLCCLSLPFSLAHLALQGQWPYGRFLCKLIPSIIVLNMFASVFLLTAISLDR
CLVVFKPIWCQNHRNVGMACSICGCIWVVACVMCIPVFVYREIFTTDNHNRCGYKFGL
SSSLDYPDFYGDPLENRSLENIVQPPGEMNDRLDPSSFQTNDHPWTVPTVFQPQTFQ

RPSADSLPRGSARLTSQNLYSNVFKPADVVSPKIPSGFPIEDHETSPLDNSDAFLSTHL
KLFPSASSNSFYESELPQGFQDYYNLGQFTDDDQVPTPLVAITITRLVVGFLLPSVIMIA
CYSFIVFRMQRGRFAKSQSKTFRVAVVVVAVFLVCWTPYHIFGVLSLLTDPETPLGKTL
MSWDHVCIALASANSCFNPFLYALLGKDFRKKARQSIQGILEAAFSEELTRSTHCPSNN
VISERNSTTV (서열번호: 8)

[0053]

[0054] 용어 "FPR1"은 fMet-Leu-Phe 수용체로 알려진 단백질을 지칭한다.

[0055] 인간 FPR1은 다음의 아미노산 서열을 갖는다:

[0056] METNSSLPTNISGGTPAVSAGYLFLDIITYLVFAVTFVLGVLGNGLVIWVAGFRMTHT
VTTISYLNLAVADFCFTSTLPFFMVRKAMGGHWPFGWFLCKFLFTIVDINLFGSVFLIA
LIALDRCVCVLHPVWTQNHRTVSLAKKVIIGPWVMALLLTLPVIIRVTTVPGKTGTVAC
TFNFSPWTNDPKERINVAVAMLTVRGIIRFIIGFSAPMSIVAVSYGLIATKIHKQGLIKSS
PPLRVLSFVAAAFFLCWSPYQVVALIATVRIRELLQGMYKEIGIAVDVTSALAFFNSCL
NPMLYVFMGQDFRERLIHALPASLERALTEDSTQTSDTATNSTLPSAEVALQAK
(서열번호: 9)

[0057] 용어 "ChemR23"은 케모카인 유사 수용체 1로 알려진 단백질을 지칭한다.

[0058] 인간 ChemR23은 다음의 아미노산 서열을 갖는다:

MRMEDEDYNTSISYGDEYPDYLDSIVVLEDLSPLEARVTRIFLVVVYSIVCFLGILGNGLV
IIIATFKMKKTVNMVWFLNLAVADFLFNVFLPIHITYAAMDYHWVFGTAMCKISNFLLIHN
MFTSVFLLTIISSDRCISVLLPVWSQNHRSVRLAYMACMVIWVLAFFLSSPSLVFRDTAN
LHGKISCFNNFSLSTPGSSSWPTHSQMDPVGYSRHMVVTVTRFLCGFLVPVLIITACYL
TIVCKLHRNRLAKTKKPFKIIVTIIITFFLCWCPYHTLNLLELHHTAMPGSVFSLGLPLATAL
AIANSCMNPILYVFMGQDFKKFKVALFSRLVNALSEDTGHSSYPSHRSFTKMSSMNER
TSMNERETGML (서열번호: 10)

[0059]

[0060] 본 명세서에 사용된, 용어 **"항체(antibody)"**는 항원과 상호작용하는 이황화 결합(disulfide bonds) 에 의해 서로-연결되어 있는 적어도 2개의 중쇄(heavy(H) chains) 및 두 개의 경쇄(light(L) chains)를 포함하는 단백질을 의미한다. 각 중쇄(HC)는 중쇄 가변 영역(본 명세서에서 VH로 약칭함) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각 경쇄(light chain)(LC)는 경쇄 가변 영역(본 명세서에서 VL로 약칭함) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 하나의 도메인, CL로 구성된다. VH 및 VL 영역은, 프레임워크 영역(framework regions;FR)이라고 명명되는, 더 보존된 영역으로 배치되어 있는, 상보성 결정 영역(CDR)으로 명명되는, 초가변성(hypervariability) 영역로 더 나누어질 수 있다. 각 VH 및 VL은, 다음의 순서로 아미노-말단에서 카복시-말단으로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 결합하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역글로불린이 숙주 조직 또는 면역 시스템의 여러 세포(예를 들어, 이펙터 세포) 및 고전적인 보완 시스템의 제1 성분(Clq 을 포함하는, 인자들과 결합하는 것을 매개할 수 있다. 용어 "항체"는, 예를 들어, 모노클로날 항체, 인간 항체, 인간화된 항체, 카멜화된 항체(camelised antibodies) 및 키메릭 항체(chimeric antibodies) 를 포함한다. 항체는 임의의 아이소타입(isotype)(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 부류(class)(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2), 또는 아류(sublass)의 것일 수 있다. 경쇄 및 중쇄는 둘 다 구조적 및 기능적인 상동성 영역으로 나뉠 수 있다.

[0061] 본 명세서에 사용된, 어구 **"항체 단편(antibody fragment)"**은, (예를 들어, 결합, 입체적 방해, 공간적인 분포의 안정화에 의해) 항원과 특이적으로 상호작용하는 활성을 보유하는 항체의 하나 이상의 부분을 의미한다. 결합하는 단편의 예에는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, Fab 단편, VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 단일가(monovalent) 단편; F(ab)2 단편, 힌지 영역에 이황화 브리지에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편; VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; 항체의 단일 팔(single arm)의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편; VH 도메인으로 구성된, dAb 단편(Ward et al., (1989) Nature 341:544-546); 및 단리된 상보성 결정 영역(CDR)을 포함한다. 또한, Fv 단편의 두 도메인인 VL 및 VH은 별개의 유전자에 의해 코딩되지만, 이들은 재조합 방법을 사용하여, VL 및 VH 영역이 쌍을 이루어 단일가 분자(단일쇄 Fv(scFv)로 알려짐; 예를 들어, Bird et al, (1988) Science 242:423-426; 및 Huston et al, (1988) Proc Natl Acad Sci 85:5879-5883 참조)를 형성하는 단일 단백질로서 만들어질 수 있게 하는 합성 링커에 의해 연결될 수 있다. 그러한 단일쇄 항체도 또한 용어 "항체 단편"에 포함되도록 의도된다. 이러한 항체 단편은 해당 분야 기술에 알려져 있는 통상의 기술을 사용하여 얻어질 수 있으며, 단편은 온전한 항체와 같은 방식으로 그 유용성에 대해 스크리닝된다. 항체 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디(maxibodies), 미니바디(minibodies), 인트라바디(intrabodies), 디아바디(diabodies), 트리아바디(triabodies), 테트라바디(tetrabodies), v-NAR 및 비스-scFv(bis-scFv)로 도입될 수 있다(예를 들어, Hollinger and Hudson, (2005) Nature Biotechnology 23:1126-1136 참조)). 항체 단편은 피브로넥틴 타입 III(Fibronectin type III)(Fn3)와 같은 폴리펩티드에 기반한 스캐폴드(scaffolds)로 이식될 수 있다(피브로넥틴 폴리펩티드 모노바디에 대해 기재하고 있는, 미국 특허 제6,703,199호 참조). 항체 단편은, 상보성 경쇄 폴리펩티드와 함께, 항원-결합 영역 쌍을 형성하는 나란한(tandem) Fv 절편 쌍(VH-CH1-VH-CH1)을 포함하는 단일쇄 분자로 도입될 수 있다(Zapata et al., (1995) Protein Eng 8:1057-1062; 및 미국 특허 제5,641,870호).

[0062] 본 명세서에 사용된, **"인간 항체(human antibody)"** 또는 **"인간 항체 단편 (human antibody fragment)"**은, 프레임워크 및 CDR 영역 둘 모두가 인간 기원의 서열로부터 유래한 가변 영역을 가진 항체 및 항체 단편을 포함한다. 인간 항체는 또한, 각 시스템이 프레임워크 및 CDR 영역 둘 모두가 인간 기원의 서열로부터 유래한 가변 영역를 가진 항체를 생산한다면, 합성 라이브러리로부터 또는 트랜스제닉 마우스(예를 들어, 제노마우스(Xenomouse))로부터 단리될 수 있다. 또한, 만약 항체가 불변 영역을 함유한다면, 이 불변 영역은 또한 그러한 서열로부터 유래한다. 인간 기원에는, 예를 들어, 인간 생식세포계열 서열, 또는 인간 생식세포계열 서열의 돌

연변이된 버전, 또는 예를 들어, 문헌(Knappik et al, (2000) J Mol Biol 296:57-86)) 기재된 것과 같은, 인간 프레임워크 서열 분석으로부터 유래한 컨센서스 프레임워크 서열을 함유하는 항체를 포함한다.

[0063] 면역글로불린 가변 도메인, 예를 들어, CDR의 구조 및 위치는 잘 알려진 넘버링 체계(numbering scheme), 예를 들어, 카벳(Kabat) 넘버링 체계, 쵸티아(Chothia) 넘버링 체계, 또는 카벳 및 쵸티아의 조합을 사용하여 정의될 수 있다(예를 들어, Sequences of Proteins of Immunological Interest, US Department of Health and Human Services (1991), eds Kabat et al; Lazikani et al, (1997) J Mol Bio 273:927-948); Kabat et al, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th edit, NIH Publication no 91-3242 US Department of Health and Human Services; Chothia et al, (1987) J Mol Biol 196:901-917; Chothia et al, (1989) Nature 342:877-883; 및 Al-Lazikani et al, (1997) J Mol Biol 273:927-948 참조).

[0064] **"인간화 항체(humanized antibody)"** 또는 "인간화 항체 단편(humanized antibody fragment)"은 인간 기원의 서열로부터 유래한 불변 항체 영역 및 다른 종으로부터 유래한 가변 항체 영역 또는 이의 일부분 또는 CDR 부분만을 가진 항체 분자로 본 명세서에서 정의된다. 예를 들어, 인간화 항체는 CDR-이식된 것일 수 있으며, 여기서 가변 도메인의 CDR은 비-인간 기원에서 유래하고, 반면 가변 영역의 하나 이상의 프레임워크는 인간 기원의 것이고 불변 도메인은 (만약 있다면) 인간 기원의 것이다.

[0065] **"키메릭 항체(chimeric antibody)"** 또는 "키메릭 항체 단편(chimeric antibody fragment)"은 한 종에서 발견된 서열로부터 유래하거나 또는 그에 해당하는 서열을 가진 불변 항체 영역 및 다른 종으로부터 유래한 가변 항체 영역을 가진 항체 분자로 본 명세서에서 정의된다. 바람직하게, 불변 항체 영역는 인간에서 발견된 서열로부터, 또는 해당하는 서열로부터 유래하고, 및 가변 항체 영역는 (예를 들어, VH, VL, CDR 또는 FR 영역) 비-인간 동물, 예를 들어, 마우스, 래트, 토끼 또는 햄스터에서 발견된 서열로부터 유래한다.

[0066] 용어 **"단리된 항체(isolated antibody)"**는, 다른 항원 특이성을 가진 항체 또는 항체 단편을 실질적으로 함유하지 않는 항체 또는 항체 단편을 지칭한다. 더욱이, 단리된 항체 또는 항체 단편은 다른 세포성 물질 및/또는 화학물질을 실질적으로 함유하지 않을 수 있다. 그러므로, 일부 양상에서, 제공되는 항체 또는 항체 단편은 다른 특이성을 가진 항체로부터 분리된, 단리된 항체 또는 항체 단편이다. 단리된 항체는 모노클로날 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 단일클론 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 표적의 에피토프, 이소형 또는 변이체에 특이적으로 결합하는 단리된 항체 또는 항체 단편은, 그러나, 다른 관련된 항원, 예를 들어, 다른 종(예를 들어, 종 호모로그)으로부터의 항원에 교차-반응성을 가질 수 있다.

[0067] 본 명세서에서 사용되는 용어 **"재조합 항체(recombinant antibody)"**는, 천연에 존재하지 않은 수단에 의해 제조되거나, 발현되거나, 제작되거나, 또는 분리된 모든 항체를 포함한다. 예를 들어, 항체를 발현하도록 형질전환된 숙주 세포로부터 분리된 항체, 재조합, 조합적인 인간 항체 라이브러리로부터 선택되고 단리된 항체, 및 인간 면역글로불린 유전자 서열의 전부 또는 일부를 다른 DNA 서열로 스플라이싱하는 것이 관련된 임의의 다른 수단에 의해 제조되고, 발현되고, 제작되고 또는 단리된 항체, 또는 인간 면역글로불린 유전자에 대해 트랜스제닉되거나 또는 염색체전환된(transchromosoml) 동물(예를 들어, 마우스)로부터 단리된 항체 또는 이로부터 제조된 하이브리도마. 바람직하게는, 그러한 재조합 항체는 프레임워크 및 CDR 영역이 인간 생식세포계열 면역글로불린 서열로부터 유래한 가변 영역을 가지고 있다. 그러나 특정의 실시형태에서, 그러한 재조합 인간 항체는 시험관내 돌연변이유발(또는 인간 Ig 서열을 위해 트랜스제닉 동물이 사용될 때, 생체내 체세포 돌연변이유발)에 적용되고 그에 따라 재조합 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열은, 인간 생식세포계열 VH 및 VL 서열로부터 유래하고 또 관련되는 반면에, 생체내 인간 항체 생식세포계열 레퍼토리(repertoire) 내에 자연적으로 존재하지 않는 서열일 수 있다. 재조합 항체는 단일클론 항체일 수 있다. 일 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체 또는 항체 단편은 HuCAL 라이브러리로부터 단리된다(Rothe et al, J.Mol.Biol. (2008) 376, 1182-1200).

[0068] 본 명세서에 사용되는 항체는, 그러한 항체가 항원과 하나 이상의 참조 항원(들)을 구별할 수 있는 경우, 결합 특이성은 절대적인 것이 아니라 상대적인 특성이기 때문에, 인간 C5aR 등의 항원에 "특이적으로 결합하거나 ("binds specifically to", "specifically binds to")", "특이적이거나(specific to/for)", 또는 "특이적으로 인식한다(specifically recognizes)". 예를 들어, 표준 ELISA 분석을 수행할 수 있다. 채점은 표준 발색(예를 들어, 양고추냉이 퍼옥사이드를 사용한 2차 항체 및 과산화수소를 사용한 테트라메틸 벤지딘)에 의해 수행할 수 있다. 특정의 웰(well)에서의 반응은 광학 밀도(예를 들어, 450 nm)로 점수를 매긴다. 일반적인 백그라운드(=음성 반응)는 0.1 OD일 수 있으며; 대표적인 양성 반응은 1OD일 수 있다. 이것은 양수/음수 차이가 10배 이상일 수 있음을 의미한다. 전형적으로, 결합 특이성의 결정은 단일 참조 항원이 아니라, 밀크 분말, BSA, 트랜스페린 등과 같은 약 3 내지 5개의 관련되지 않은 항원의 세트를 사용하여 수행된다.

[0069] 본 명세서에서 사용되는 용어 **"친화도(affinity)"**는 단일 부위에서 폴리펩티드와 이의 표적 사이의 상호 작용의 강도를 지칭한다. 각 부위 내에서, 폴리펩티드의 결합 영역은 약한 비-공유 결합력을 통해 복수의 부위에서 이의 표적과 상호작용하며; 상호작용이 더 많으면, 친화도는 더 강하다.

[0070] 본 명세서에서 사용되는 용어 **"K_D"**는, 해리 항수를 의미하며, 이는 K_{off} 대 K_{on}의 비율(즉, k_{off}/k_{on})로 부터 얻어지며 및 몰수 농도(M)로 표현된다. 예를 들어, 모노클로날 항체와 같은 항원 결합 잔기의 K_D 값은 이 분야 기술에서 잘 확립된 방법을 사용하여 결정될 수 있다. 예를 들어, 모노클로날 항체와 같은 항원 결합 잔기의 KD 값을 결정하는 방법은 SET(soluble equilibrium titration; 용해성 평형 적정) 또는 비아코아 시스템(Biacore® system)과 같은 바이오센서 시스템을 사용한 표면 플라스몬 공명(surface plasmon resonance)이다. 본 개시에서, C5aR에 특이적인 항체는 해리 속도 상수(dissociation rate constant)(K_D)(k_{off}/k_{on})는 $5x10^{-2}$M 미만, 10^{-2}M 미만, $5x10^{-3}$M 미만, 10^{-3}M 미만, $5x10^{-4}$M 미만, 10^{-4}M 미만, $5x10^{-5}$M 미만, 10^{-5}M 미만, $5x10^{-6}$M 미만, 10^{-6}M 미만, $5x10^{-7}$M 미만, 10^{-7}M 미만, $5x10^{-8}$M 미만, 10^{-8}M 미만, $5x10^{-9}$M 미만, 10^{-9}M 미만, $5x10^{-10}$M 미만, 10^{-10}M 미만, $5x10^{-11}$M 미만, 10^{-11}M 미만, $5x10^{-12}$M 미만, 10^{-12}M 미만, $5x10^{-13}$M 미만, 10^{-13}M 미만, $5x10^{-14}$M 미만, 10^{-14}M 미만, $5x10^{-15}$M 미만 또는 이보다 더 낮다.

[0071] 용어 **"에피토프(epitope)"**는 항체 또는 이의 항체 단편에 의해 특이적으로 인식되거나 달리 분자와 상호작용하는 임의의 단백질성 영역을 포함한다. 일반적으로, 에피토프는 아미노산, 탄수화물 또는 당 측쇄와 같은 분자의 화학적 활성 표면 그룹화이며 일반적으로 특정 3-차원 구조적 특성 뿐만 아니라, 특정 전하 특성을 가질 수 있다. 통상의 기술자에 의해 이해되는 바와 같이, 항체가 특이적으로 결합할 수 있는 실질적으로 모든 것이 에피토프일 수 있다.

[0072] 본 개시의 **"조성물(compositions)"**은 치료적 또는 예방적 적용에 사용될 수 있다. 따라서 본 개시는 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체 또는 항체 단편 및 그의 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 함유하는 약학적 조성물을 포함한다. 관련 양태에서, 본 개시는 암을 치료하는 방법을 제공한다. 본 방법은 필요로 하는 대상체에게 본 명세서에 기재된 것과 같은 항체 또는 항체 단편을 함유하는 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함한다.

[0073] 본 개시는 치료를 필요로 하는 대상체에게 본 명세서에 개시된 바와 같은 치료적 유효량의 항체 또는 항체 단편을 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법을 제공한다. 본 명세서에 사용된 **"치료학적 유효량(therapeutically effective amount)"** 또는 **"유효량(effective amount)"**은 원하는 생물학적 반응을 유도하는 데 필요한 C5aR 항체의 양을 지칭한다. 본 개시에 따르면, 치료적 유효량은 질환을 치료 및/또는 예방하는 데 필요한 C5aR 항체의 양이다.

[0074] **"투여되는(Administered)"** 또는 **"투여(administration)"**는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 예를 들어, 정맥내, 근육내, 피내 또는 피하 경로 또는 점막 경로와 같은, 주사가능한 형태에 의한 약물의 전달, 예를 들어, 흡입을 위한 코 분무 또는 에어로졸, 흡입 가능한 용액, 캡슐 또는 정제를 포함한다. 바람직하게는, 투여는 주사가능한 형태에 의해 이루어진다.

[0075] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, **"치료(treatment)"**, **"치료하다(treat)"** 또는 **"치료하는(treating)"** 등은 치료되는 대상체에서 질환의 자연적 경과를 변경하려는 시도에서의 임상적 개입을 지칭하며, 예방을 위해 또는 임상 병리학의 경과 중에 수행될 수 있다. 치료의 바람직한 효과는, 이로만 제한되는 것은 아니지만, 질환의 발생 또는 재발 방지, 증상 완화, 질환의 직접 또는 간접적인 병리학적 결과의 감소, 전이 예방, 질환 진행 속도 감소, 질환 상태의 개선 또는 완화, 관해 또는 개선된 예후를 포함한다. 일부 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 질환의 발달을 지연시키거나 질환의 진행을 지체시키는 데 사용된다.

[0076] 용어 **"이펙터 기능(effector function)"**은, 항체 이소타입에 따라 달라지는, 항체의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 지칭한다. 항체 이펙터 기능의 비제한적 예는 C1q 결합 및 보체 의존성 세포독성(CDC); Fc 수용체 결합 및 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC) 및/또는 항체-의존적 세포 식세포작용(ADCP); 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 하향 조절; 및 B 세포 활성화를 포함한다.

[0077] **"항체-의존적 세포-매개성 세포독성(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity)"** 또는 **"ADCC"**는 특정의 세포독성 세포(예를 들어, NK 세포, 호중구 및 대식세포)에 존재하는 Fc 수용체(FcR)에 결합된 항체가 이러한 세포독성 이펙터 세포를 항원-보유 표적 세포에 특이적으로 결합하도록 하고, 이어서 세포독소(cytotoxins)로

표적 세포를 죽이는 것을 가능하게 하는 세포독성 형태를 지칭한다. ADCC 매개를 위한 1차 세포인, NK 세포는 FcγRIII만을 발현하는 반면, 단핵구는 FcγRI, FcγRII 및 FcγRIII를 발현한다.

[0078] **"보체-의존적 세포독성(complement-dependent cytotoxicity)"** 또는 **"CDC"**는 보체의 존재 하에 표적 세포의 용해를 지칭한다. 고전적 보체 경로의 활성화는 동족 항원에 결합된 본 개시(적절한 서브클래스)의 항체에 대한 보체 시스템(C1q)의 제1 성분의 결합에 의해 개시된다.

[0079] **"항체-의존적 세포 식세포작용(Antibody-dependent cellular phagocytosis)"** 또는 **"ADCP"**는 대식세포 또는 수지상 세포와 같은 식세포에 의한 내재화에 의한 항체-코팅된 표적 세포의 제거 메카니즘을 지칭한다.

[0080] **'예방하는(preventing)'** 또는 **'예방(prevention)'**은 질환에 걸리거나 발병할 위험의 감소(즉, 질환-유발제(disease-causing agent)에 노출될 수 있거나, 질환 발병 이전에 질환에 걸리기 쉬운, 대상체에서 질환의 임상 증상 중 적어도 하나가 발병하지 않도록 하는 것)를 지칭한다. "예방"은 또한 질환 또는 그 증상의 발병을 예방하거나 질환 또는 그 증상의 발병을 지연시키는 것을 목표로 하는 방법에 관한 것이다.

[0081] 이 문맥에서 사용되는 **"대상체(subject)"** 또는 **"종(species)"**은 마우스 또는 래트와 같은 설치류 및 시노몰구스 원숭이(*Macaca fascicularis*), 붉은털 원숭이(*Macaca mulatta*) 또는 인간(*Homo sapiens*)과 같은 영장류를 비롯한 모든 포유동물을 지칭한다. 바람직하게는, 대상체는 영장류, 가장 바람직하게는 인간이다.

[0082] 본 명세서 전반에 걸쳐, 문맥에서 달리 요구하지 않는 한, 단어 "포함하다(**comprise**)", "갖다(have)" 및 "포함하다(include)", 및 "포함하다(comprises)", "포함하는(comprising)", "갖다(has)", "갖는(having)", "포함하다(includes)" 및 " 포함하는(including)"과 같은 이들의 변형어는 언급된 요소 또는 정수 또는 요소 또는 정수 그룹의 포함을 의미하지만 다른 요소 또는 정수 또는 요소 또는 정수 그룹의 배제를 의미하지는 않는다는 것이 이해될 것이다.

[0083] 본 명세서에서 사용되는 용어 **"조작된(engineered)"** 또는 **"변형된(modified)"**은 합성적 수단에 의해 (예를 들어, 재조합 기술, 시험관내 펩티드 합성, 펩티드의 효소적 또는 화학적 커플링에 의하거나 또는 이들 기술의 일부 조합으로) 핵산 또는 폴리펩티드 분자를 조작하는 것을 포함한다. 바람직하게는, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 항원 결합, 안정성, 반감기, 이펙터 기능, 면역원성, 안전성 등과 같은 하나 이상의 특성을 개선하도록 조작되거나 변형된다.

[0084] 본 명세서에 사용되는 **"변이체(variant)"**는 하나 이상의 변형, 예를 들어, 아미노산 치환, 삽입 또는 결실에 의해 참조 폴리펩티드와 상이한 폴리펩티드를 지칭한다.

[0085] 본 명세서에 사용되는 용어 **"아미노산 돌연변이(amino acid mutation)"**는 아미노산 치환, 결실, 삽입 및 변형을 포함하는 것을 의미한다. 최종 구축물이 원하는 특성, 예를 들어, Fc 수용체에 대한 감소된 결합을 보유하는 한, 치환, 결실, 삽입 및 변형의 임의의 조합이 이루어질 수 있다. 아미노산 서열 결실 및 삽입은 N- 및/또는 C-말단 결실 및 아미노산 잔기의 삽입을 포함한다. 특정 아미노산 돌연변이는 아미노산 치환이다. 아미노산 치환은 비천연 발생 아미노산 또는 20개의 표준 아미노산의 자연 발생 아미노산 유도체에 의한 대체를 포함한다. 아미노산 돌연변이는 당업계에 잘 알려진 유전적 또는 화학적 방법을 사용하여 생성될 수 있다. 유전적 방법은 부위-지정 돌연변이유발, PCR, 유전자 합성 등을 포함할 수 있다. 화학적 변형과 같은 유전 공학 이외의 방법에 의해 아미노산 잔기의 측쇄 그룹을 변경하는 방법이 또한 유용할 수 있는 것으로 고려된다. 동일한 아미노산 돌연변이를 나타내기 위해 다양한 명칭이 본 명세서에서 사용될 수 있다. 예를 들어, Fc 영역의 위치 327에 있는 글리신에서 알라닌으로의 치환은 237A, G337, G337A, 또는 Gly329Ala로 표시될 수 있다.

[0086] 본 명세서에 사용되는 용어 **"EC_{50}"**은, 분석에서 베이스라인(baseline)과 최대치 사이에서 절반의 반응을 유도하는 항체 또는 항체 단편의 농도를 의미한다. 이는 그러므로 최대 효과의 50%가 관찰되는 항체 또는 리간드 농도를 나타낸다.

[0087] 본 명세서에 사용되는 용어 **"IC_{50}"**은, 분석에서 반응을 최대 반응과 베이스라인 사이에서 절반으로 억제하는 항체 또는 항체 단편의 농도를 지칭한다. 이는 그러므로 주어진 반응을 50%로 감소시키는 항체의 농도를 나타낸다.

[0088] 용어 **"억제(inhibition)"** 또는 **"억제하다(inhibit)"** 또는 **"감소(reduction)"** 또는 **"감소하다(reduce)"** 또는 **"중화(neutralization)"** 또는 **"중화하다(neutralize)"**는 임의의 표현형적 특징(예컨대, 결합, 생물학적 활성 또는 기능)의 감소 또는 중단을 의미하거나 또는 그런 특징의 발생, 정도 또는 그런 특징과 비슷한 것을 감소 또는 중단함을 의미한다. '억제(inhibition)", "감소(reduction)", 또는 "중화(neutralization)"는 적절한 분석

을 이용하여 검출될 수만 있으면 완전할 필요는 없다. 일부 실시형태에서, "감소하다(reduce)" 또는 "억제하다(inhibit)" 또는 "중화하다(neutralize)"는 20% 또는 그 초과의 감소를 유발하는 활성을 의미한다. 다른 실시형태서, "감소하다(reduce)" 또는 "억제하다(inhibit)" 또는 "중화하다(neutralize)"는 50% 또는 그 초과의 감소를 유발하는 활성을 의미한다. 또 다른 실시형태에서, "감소하다(reduce)" 또는 "억제하다(inhibit)" 또는 "중화하다(neutralize)"는 전체적으로 75%, 85%, 90%, 95% 또는 그 이상의 감소를 유발하는 활성을 의미한다.

[0089] 본 명세서에서 사용되는 용어 **"길항성(antagonistic)"** 항체는, 항원과 상호작용하고 생물학적 활성 또는 기능 또는 표적 항원의 임의의 다른 표현형 특성을 부분적으로 또는 완전히 억제하거나 중화하는 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.

[0090] **"야생형(wildtype)"** 단백질은 천연에서 발견되는 단백질의 버전 또는 변이체이다. 야생형 단백질의 아미노산 서열, 예를 들어, 인간 IgG1 항체의 Fc 영역은 천연에서 발생하는 단백질의 아미노산 서열이다. 알로타입 차이(allotypic differences)로 인해 야생형 단백질에 대해 하나 이상의 아미노산 서열이 있을 수 있다. 예를 들어, 자연 발생 인간 IGg1 중쇄 불변 영역의 여러 알로타입이 있다(예를 들어, Jeffries et al. (2009) mAbs 1:1 참조).

[0091] **"Fc 영역(Fc region)"**은 면역글로불린 중쇄의 C-말단 영역을 정의하는 데 사용된다. 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 2개의 불변 도메인, 즉 CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다. IgG 중쇄의 Fc 영역 경계가 약간 다를 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 Cys226, 또는 Pro230에서 중쇄의 C-말단까지 확장되도록 정의된다. 그러나, Fc 영역의 C-말단 라이신(Lys447)은 존재하거나 존재하지 않을 수 있다. 본 명세서에서 달리 명시되지 않는 한, Fc 영역 내의 아미노산 잔기의 넘버링은 문헌[Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991]에 기재된 것과 같이, EU 인덱스로도 불리우는, EU 넘버링 체계에 따른다.

[0092] **실시형태:**

[0093] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0094] a) 서열번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0095] b) 서열번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다.

[0096] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0097] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0098] b) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0099] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0100] a) 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0101] b) 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 영

역, 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다.

[0102] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0103] a) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0104] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0105] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0106] a) 서열번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0107] b) 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0108] c) 서열번호: 27의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0109] d) 서열번호: 30의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 아미노산 서열을 포함하는 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다.

[0110] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0111] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0112] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0113] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0114] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0115] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0116] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0117] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호:

32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0118] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0119] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 항체 중 어느 하나의 케벳(Kabat)에 의해 정의된 6개의 CDR을 포함하는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.

[0120] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 항체 중 어느 하나의 쵸티아(Chothia)에 의해 정의된 6개의 CDR을 포함하는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.

[0121] 본 개시의 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 본 개시의 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다. 본 개시의 또 다른 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 본 개시의 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 IgG 이소타입의 것이다. 본 개시의 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 IgG1 클래스의 것이다. 본 개시의 또 다른 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 시험관내에서(*in vitro*) 이펙터 기능을 실질적으로 유도하지 않는다.

[0122] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은

[0123] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역 및 추가로 서열번호: 35의 VH 또는 서열번호: 36의 VL을 포함하거나, 또는

[0124] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역 및 추가로 서열번호: 35의 VH 또는 서열번호: 36의 VL을 포함하거나, 또는

[0125] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역 및 추가로 서열번호: 42의 VH 또는 서열번호: 43의 VL을 포함하거나, 또는

[0126] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역 및 추가로 서열번호: 42의 VH 또는 서열번호: 43의 VL을 포함한다.

[0127] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0128] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0129] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL을 포함한다.

[0130] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL을 포함한다.

[0131] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL을 포함한다.

[0132] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC를 포함한다.

[0133] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC를 포함한다.

[0134] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 항체 중 어느 하나의 가변 중쇄(VH) 및 가변 경쇄(VL)를 포함하는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.

[0135] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 항체 중 어느 하나의 중쇄(HC) 및 경쇄(LC)를 포함하는

인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 지칭한다.

[0136] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함하고, 추가로 서열번호: 35의 VH 또는 서열번호: 36의 VL을 포함한다.

[0137] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또한 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함하고, 추가로 서열번호: 42의 VH 또는 서열번호: 43의 VL을 포함한다.

[0138] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또한 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함하고, 추가로 서열번호: 35의 VH 또는 서열번호: 36의 VL을 포함한다.

[0139] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또한 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함하고, 추가로 서열번호: 42의 VH 또는 서열번호: 43의 VL을 포함한다.

[0140] 본 개시의 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 본 개시의 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다. 본 개시의 또 다른 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다.

[0141] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0142] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0143] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0144] 서열번호: 35 또는 서열번호: 42의 VH에 대해 그리고 서열번호: 36 또는 서열번호: 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VH을 포함한다.

[0145] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL, 또는 서열번호: 35의 VH에 대해 그리고 서열번호: 36의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0146] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL, 또는 서열번호: 42의 VH에 대해 그리고 및 서열번호: 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0147] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0148] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0149] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0150] 서열번호: 37 또는 서열번호: 44의 HC 그리고 서열번호: 38 또는 서열번호: 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0151] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC, 또는 서열번호: 37의 HC에 대해 그리고 서열번호: 38의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0152] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC, 또는 서열번호: 44의 HC에 대해 그리고 서열번호: 45의

LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0153] 본 개시의 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 본 개시의 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다. 본 개시의 또 다른 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 또는 인간화 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 항체 또는 항체 단편이다.

[0154] 일 실시형태에서, 본 개시의 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 또는 합성 항체 또는 항체 단편이다. 추가 실시형태에서, 본 개시에 따른 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 단리된 재조합 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 추가 실시형태에서, 본 개시에 따른 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 단리된 재조합 모노클로날 인간 항체 또는 항체 단편이다.

[0155] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 IgG 이소타입의 것이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 IgG1 부류의 것이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 IgG1 부류의 것이다.

[0156] **핵산**

[0157] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 단리된 상기 항체 또는 항체 단편은,

[0158] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0159] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0160] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0161] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0162] 또 다른 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편의 중쇄 서열 및 경쇄 서열을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것이며, 여기서 핵산은 서열 또는 복수의 핵산 서열은,

[0163] a) 서열번호: 46의 HCDR1 영역, 서열번호: 47의 HCDR2 영역, 서열번호: 48의 HCDR3 영역, 서열번호: 51의 LCDR1 영역, 서열번호: 52의 LCDR2 영역 및 서열번호: 53의 LCDR3 영역, 또는

[0164] b) 서열번호: 49의 HCDR1 영역, 서열번호: 50의 HCDR2 영역, 서열번호: 48의 HCDR3 영역, 서열번호: 51의 LCDR1 영역, 서열번호: 52의 LCDR2 영역 및 서열번호: 53의 LCDR3 영역, 또는

[0165] c) 서열번호: 58의 HCDR1 영역, 서열번호: 59의 HCDR2 영역, 서열번호: 60의 HCDR3 영역, 서열번호: 63의 LCDR1 영역, 서열번호: 64의 LCDR2 영역 및 서열번호: 65의 LCDR3 영역, 또는

[0166] d) 서열번호: 61의 HCDR1 영역, 서열번호: 62의 HCDR2 영역, 서열번호: 60의 HCDR3 영역, 서열번호: 63의 LCDR1 영역, 서열번호: 64의 LCDR2 영역 및 서열번호: 65의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0167] 또 다른 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편의 중쇄 서열 및 경쇄 서열을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것이며, 여기서 핵산은 서열 또는 복수의 핵산 서열은,

[0168] a) 서열번호: 70의 HCDR1 영역, 서열번호: 71의 HCDR2 영역, 서열번호: 72의 HCDR3 영역, 서열번호: 75의 LCDR1 영역, 서열번호: 76의 LCDR2 영역 및 서열번호: 77의 LCDR3 영역, 또는

[0169] b) 서열번호: 73의 HCDR1 영역, 서열번호: 74의 HCDR2 영역, 서열번호: 72의 HCDR3 영역, 서열번호: 75의 LCDR1 영역, 서열번호: 76의 LCDR2 영역 및 서열번호: 77의 LCDR3 영역, 또는

[0170] c) 서열번호: 82의 HCDR1 영역, 서열번호: 83의 HCDR2 영역, 서열번호: 84의 HCDR3 영역, 서열번호: 87의

LCDR1 영역, 서열번호: 88의 LCDR2 영역 및 서열번호: 89의 LCDR3 영역, 또는

[0171] d) 서열번호: 85의 HCDR1 영역, 서열번호: 86의 HCDR2 영역, 서열번호: 84의 HCDR3 영역, 서열번호: 87의 LCDR1 영역, 서열번호: 88의 LCDR2 영역 및 서열번호: 89의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0172] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 54의 VH 및 서열번호: 55의 VL, 또는 서열번호: 54의 VH 및/또는 서열번호: 55의 VL에 대해 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0173] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 66의 VH 및 서열번호: 67의 VL, 또는 서열번호: 66의 VH 및/또는 서열번호: 67의 VL에 대해 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0174] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 78의 VH 및 서열번호: 79의 VL, 또는 서열번호: 78의 VH 및/또는 서열번호: 79의 VL에 대해 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0175] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 90의 VH 및 서열번호: 91의 VL, 또는 서열번호: 90의 VH 및/또는 서열번호: 91의 VL에 대해 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0176] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 56의 HC 및 서열번호: 57의 LC, 또는 서열번호: 56의 HC 및/또는 서열번호: 57의 LC에 대해 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0177] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 68의 HC 및 서열번호: 69의 LC, 또는 서열번호: 68의 HC 및/또는 서열번호: 69의 LC에 대해 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0178] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 80의 HC 및 서열번호: 81의 LC, 또는 서열번호: 80의 HC 및/또는 서열번호: 81의 LC에 대해 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0179] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 92의 HC 및 서열번호: 93의 LC, 또는 서열번호: 92의 HC 및/또는 서열번호: 93의 LC에 대해 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0180] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 56의 HC 및 서열번호: 57의 LC를 포함한다.

[0181] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 68의 HC 및 서열번호: 69의 LC를 포함한다.

[0182] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 80의 HC 및 서열번호: 81의 LC를 포함한다.

[0183] 일 실시형태에서, 본 개시는 본원에 개시된 인간 C5aR에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열

또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것으로, 상기 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 서열번호: 92의 HC 및 서열번호: 93의 LC를 포함한다.

[0184] 또 다른 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것이며, 여기서 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 표 1 또는 표 2에 개시된 항체 중 어느 하나의 VH 및 VL을 포함한다.

[0185] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열 중 어느 하나에 의해 코딩되는, 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공한다.

[0186] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 단리된 항체 또는 항체 단편 중 어느 하나를 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물을 제공한다.

[0187] 일 실시형태에서, 본 개시는 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편 중 임의의 하나를 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물을 제공한다.

[0188] 또 다른 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물에 관한 것이며, 여기서 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열은 표 1 또는 표 2에 개시된 항체 또는 항체 단편 중 어느 하나의 HC 및 LC를 포함한다.

[0189] 일 실시형태에서, 상기 핵산 조성물 및/또는 상기 핵산 서열 및/또는 복수의 핵산 서열은 단리된 것이다.

[0190] **벡터**

[0191] 일 실시형태에서, 본 개시는 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 다수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물을 포함하는 벡터 또는 복수의 벡터를 포함하는 벡터 조성물을 제공한다.

[0192] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편 중 임의의 하나를 코딩하는 핵산 서열 또는 다수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물을 포함하는 벡터 또는 복수의 벡터를 포함하는 벡터 조성물을 제공한다.

[0193] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 핵산 서열 또는 다수의 핵산 서열을 포함하는 벡터 또는 다수의 벡터를 포함하는 벡터 조성물을 제공한다.

[0194] 일 실시형태에서, 상기 벡터 조성물 및/또는 벡터 및/또는 복수의 벡터는 단리된 것이다.

[0195] **숙주 세포**

[0196] 일 실시형태에서, 본 개시는 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 다수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 서열을 포함하는 벡터 또는 다수의 벡터를 포함하는 벡터 조성물을 포함하는 숙주 세포를 제공한다.

[0197] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 다수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 서열을 포함하는 벡터 또는 다수의 벡터를 포함하는 벡터 조성물을 포함하는 숙주 세포를 지칭한다.

[0198] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 숙주 세포는 벡터 조성물 또는 핵산 조성물에 의해 코딩되는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 발현할 수 있다.

[0199] 추가 실시형태에서, 숙주 세포는 단리된 숙주 세포이다. 추가 실시형태에서, 상기 숙주 세포는 포유류(mammalian) 세포이다. 일 실시형태에서, 상기 포유류 세포는 인간 세포이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 포유류 세포는 CHO 세포이다. 실시형태에서, 상기 세포는 HEK 세포이다. 또 다른 실시형태에서, 상기 세포는 PERC.6 세포이다. 일 실시형태에서, 상기 세포는 HKB11 세포이다.

[0200] 통상의 기술자는 본 개시의 항체 또는 항체 단편의 중쇄 및/또는 경쇄를 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열이 상이한 벡터 내로 또는 동일한 벡터 내로 클로닝될 수 있음을 인식할 것이다.

[0201] 벡터는 당업계에 잘 알려진 방법에 의해 원핵(예를 들어, 박테리아) 또는 진핵(예를 들어, 효모 또는 포유동물) 세포와 같은 적절한 숙주 세포 내로 도입될 수 있다(예를 들어, "Current Protocol in Molecular Biology", Ausubel et al. (eds.), Greene Publishing Assoc. and John Wiley Interscience, New York, 1989 and 1992).

다수의 클로닝 벡터가 당업자에게 알려져 있고, 적절한 클로닝 벡터의 선택은 선택의 문제이다. 유전자는 프로모터, 리보솜 결합 부위(박테리아 발현용) 및 선택적으로 오퍼레이터(본 명세서에서 집합적으로 "제어(control)" 요소로 지칭됨)의 제어 하에 위치하여, 원하는 단백질을 코딩하는 핵산 서열이 이 발현 구조를 포함하는 벡터에 의해 형질전환된 숙주 세포에서 RNA로 전사될 수 있다. 코딩 서열은 신호 펩티드 또는 리더 서열을 포함하거나 포함하지 않을 수 있다. 숙주 세포에서 발현되면, 본 개시의 항체 또는 항체 단편이 수득된다. 이들 단계는 당업자에게 공지된 바와 같이 상이한 방식으로 달성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 단계는 전형적으로 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 감염성 입자 또는 핵산 조성물 또는 벡터 조성물로 적합한 숙주 세포를 형질전환 또는 형질감염시키는 것을 포함한다. 또한, 이러한 단계는 전형적으로 상기 숙주 세포의 증식(증식, 성장)에 적합한 조건 하에 상기 숙주 세포를 배양하는 단계 및 코딩된 항체 또는 항체 단편의 생산(발현, 합성)에 적합한 조건 하에 배양 단계를 포함한다. 증식 또는 발현에 적합한 조건 하에 숙주 세포의 배양은 전형적으로 세포 성장 또는 발현 유도에 적합한 성분을 포함하는 배지의 존재하에 달성된다. 특히, 실시형태에서, 본 개시의 항체 또는 항체 단편의 생산 방법은 숙주 세포 또는 배지로부터 생산된 항체 또는 항체 단편을 단리 및 정제하는 단계를 추가로 포함한다. 발현 시스템이 단백질을 성장 배지로 분비하는 경우, 단백질은 배지에서 직접 정제될 수 있다. 단백질이 분비되지 않으면 세포 용해물에서 분리되거나 세포막 분획에서 회수된다. 적절한 성장 조건 및 회수 방법의 선택은 해당 기술 분야의 기술 범위 내에 있다. 그런 다음, 본 개시의 항체 또는 항체 단편은 당업자에게 공지된 다수의 기술에 의해 정제될 수 있다.

[0202] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 임의의 항체의 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 생산하는 방법에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따라 단리된 항체 또는 항체 단편을 생산하는 방법이 제공되며, 여기서 상기 방법은 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산 서열 또는 복수의 핵산 서열을 포함하는 핵산 조성물을 포함하는 벡터 또는 복수의 벡터를 포함하는 숙주 세포를, 항체 또는 항체 단편의 발현에 적합한 조건 하에서,배양하는 단계, 및 숙주 세포 또는 숙주 세포 배양 배지로부터 항체 또는 항체 단편을 단리하는 단계를 포함한다. 본 명세서에 기재된 바와 같이 단리된 항체 또는 항체 단편은 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 이온 교환 크로마토그래피, 겔 전기영동, 친화도 크로마토그래피, 크기 배제 크로마토그래피 등과 같은 당업계에 공지된 정제된 기술일 수 있다. 특정 항체 또는 항체 단편을 정제하는데 사용되는 조건은 부분적으로 순전하, 소수성, 친수성 등과 같은 인자에 의존할 것이고, 당업자에게 명백할 것이다. 친화도 크로마토그래피 정제를 위해 항체, 리간드, 수용체 또는 항원이 항체 또는 항체 단편이 결합하는 데 사용될 수 있다. 예를 들어, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편의 친화도 크로마토그래피 정제를 위해, 단백질 A 또는 단백질 G를 갖는 매트릭스가 사용될 수 있다. 항체 또는 항체 단편의 순도는 겔 전기영동, 고압 액체 크로마토그래피 등을 포함하는 잘 알려진 다양한 분석 방법에 의해 결정될 수 있다.

[0203] **특이성**

[0204] 일 실시형태에서, 본 개시는 표 1 또는 표 2에 개시된 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR에 특이적이다.

[0205] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 1 및/또는 서열번호: 2의 아미노산 서열에 의해 코딩되는 인간 C5aR에 특이적이다. 일 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 본 개시에 따른 단편은 서열번호: 1 및/또는 서열번호: 2의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 특이적이다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 1 및/또는 서열번호: 2의 아미노산 서열로 구성된 폴리펩티드에 특이적이다.

[0206] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 세포외 영역 인간 C5aR에 특이적으로 결합한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR의 N-말단 세포외 영역에 특이적으로 결합한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR의 N-말단 세포외 영역에 특이적으로 결합하고, 여기서 N-말단 세포외 영역은 서열번호: 13의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 인간 C5aR의 N-말단에 특이적으로 결합한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 특이적으로 서열번호: 13의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드에 결합한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 13의 아미노산 서열로 구성된 펩티드에 특이적으로 결합한다.

[0207] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0208] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0209] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0210] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0211] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0212] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0213] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0214] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0215] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0216] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0217] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0218] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0219] 서열번호: 37 또는 44의 HC 및 서열번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0220] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 단리된 재조합 인간 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다.

[0221] **종 교차-반응성**

[0222] 추가 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 시노몰구스 원숭이(cynomolgus) C5aR에 교차반응성이다. 또 다른 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 및 시노몰구스 C5aR에 특이적이다.

[0223] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 시노몰구스 C5aR에 교차-반응적으로 결합한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 및 시노몰구스 C5aR의 세포외 영역에 특이적으로 결합한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 및 시노몰구스 C5aR의 N-말단 세포외 영역에 결합한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 및 시노몰구스 C5aR의 N-말단 세포외 영역에 결합하고, 여기서 C5aR의 N-말단 세포외 영역은 서열번호: 13 또는 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함한다.

[0224] 또 다른 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 마우스 또는 래트 C5aR과 같은 설치류 C5aR에 결합하지 않는다.

[0225] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 13 및/또는 서열번호: 14의 아미노산 서열을 포함하는 펩티드에 결합한다.

[0226] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 서열번호: 13 및/또는 서열번호: 14의 아미노산 서열로 이루어진 펩티드에 결합한다.

[0227] 일 실시형태에서, 인간 C5aR 및 시노몰구스 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0228] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0229] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의

LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0230] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0231] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0232] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0233] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0234] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0235] 서열 번호: 35 또는 42의 VH 및 서열 번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0236] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0237] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0238] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0239] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0240] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0241] **C5aR 펩티드에 대한 단일가 친화도**

[0242] 추가 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 항체 또는 항체 단편은 100 nM 이하, 예컨대, 90 nM 이하, 80 nM 이하, 70 nM 이하, 60 nM 이하, 50 nM 이하, 40 nM 이하, 30 nM 이하, 20 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 또는 1 nM 미만의 K_D로 서열번호: 13을 포함하는 인간 C5aR 펩티드에 대한 단일가 친화도를 나타낸다.

[0243] 일 실시형태에서, 상기 단일가 친화도는 IgG 형태로 결정된다. 특정의 실시형태에서, 상기 단일가 친화도는 실시예 4에서 본 명세서에 기재된 바와 같은 표면 플라즈몬 공명(SPR)에 의해 결정된다.

[0244] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0245] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0246] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0247] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0248] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0249] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0250] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0251] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0252] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0253] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0254] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0255] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0256] 서열번호: 37 또는 44의 HC 및 서열번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0257] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 단일클론 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0258] **C5aR 펩티드에 대한 겉보기 친화도(2가)**

[0259] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 1 nM 이하, 예컨대 0.5 nM 이하, 0.4 nM 이하, 0.3 nM 이하, 0.2 nM 이하, 0.1 nM 이하, 90 pM 이하, 80 pM 이하, 70 pM 이하, 60 pM 이하, 50 pM 이하, 40pM 이하, 30pM 이하, 20pM 이하, 10pM 이하, 5pM 이하 또는 1pM 이하의 K_D로 서열번호: 13을 포함하는 인간 C5aR 펩티드에 대한 겉보기 친화도를 갖는다.

[0260] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 300 nM 이하, 예컨대 250 nM 이하, 200 nM 이하, 150 nM 이하, 100 nM 이하, 90 nM 이하, 80 nM 이하, 70 nM 이하, 60 nM 이하, 50 nM 이하, 40 nM 이하, 30 nM 이하, 20 nM 이하, 10 nM 또는 1 nM 이하의 K_D로 서열번호: 14를 포함하는 시노몰구스 C5aR 펩티드에 대한 겉보기 친화도를 나타낸다.

[0261] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 0.3 nM 이하의 K_D로 서열번호: 13을 포함하는 인간 C5aR 펩티드 및 150 nM 이하의 K_D로 서열번호: 14를 포함하는 시노몰구스 C5aR 펩티드에 대한 겉보기 친화도를 나타낸다.

[0262] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 0.05 nM 이하의 K_D로 서열번호: 13을 포함하는 인간 C5aR 펩티드 및 80 nM 이하의 K_D로 서열번호: 14를 포함하는 시노몰구스 C5aR 펩티드에 대한 겉보기 친화도를 갖는다.

[0263] 특정의 실시형태에서, 상기 겉보기 친화도는 IgG 형태로 결정된다. 일 실시형태에서, 상기 겉보기 친화도는 실시예 5에서 본 명세서에 기재된 바와 같이 생물층 간섭계(biolayer interferometry; BLI)에 의해 결정된다.

[0264] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0265] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0266] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0267] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0268] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0269] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0270] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0271] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0272] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0273] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0274] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0275] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0276] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0277] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0278] **전장 C5aR에 대한 겉보기 친화도(2가)**

[0279] 추가 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 10 nM 이하, 예컨대 5 nM 이하, 4 nM 또는 이하, 3 nM 이하, 2 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.4 nM 이하, 0.3 nM 이하, 0.2 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 K_D로 인간 C5aR에 대해 겉보기 친화도를 갖는다.

[0280] 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 10 nM 이하, 예컨대 9 nM 이하, 8 nM 이하, 7 nM 이하, 6 nM 이하, 5 nM 이하, 4 nM 이하, 3 nM 이하, 또는 1 nM 이하의 K_D로 시노몰구스 C5aR에 대해 겉보기 친화도를 갖는다.

[0281] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 0.5 nM 이하의 K_D로 인간 C5aR에 대해 그리고 5 nM 이하의 K_D로 시노몰구스 C5aR에 대해 겉보기 친화도를 갖는다.

[0282] 일 실시형태에서, 상기 인간 C5aR은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 상기 인간 C5aR은 서열번호: 2의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 상기 시노몰구스 C5aR은 서열번호: 3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0283] 특정의 실시형태에서, 상기 겉보기 친화도는 IgG 형태(format)로 결정된다. 실시형태에서, 상기 인간 C5aR 또는 시노몰구스 C5aR은 세포 상에서 발현된다. 실시형태에서, 상기 인간 C5aR 또는 시노몰구스 C5aR은 전장 인간을 발현하는 조작된 CHO 세포 상에서 발현된다. 실시형태에서, 상기 CHO 세포는 Flp-In CHO 세포이다.

[0284] 특정의 실시형태에서, 상기 겉보기 친화도는 본 명세서의 실시예 6에 기재된 바와 같이 결정된다.

[0285] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0286] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0287] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0288] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0289] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다.

[0290] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0291] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0292] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0293] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0294] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0295] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0296] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0297] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는

적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0298] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0299] **전장 C5aR에 대한 겉보기 EC_{50}**

[0300] 추가 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 20 nM 이하, 15 nM 이하, 10 nM 이하, 5 nM 이하, 4 nM 이하, 3 nM 이하, 2 nM 이하, 1 nM 이하, 0.5 nM 이하, 0.4 nM 이하, 0.3 nM 이하, 0.2 nM 이하 또는 0.1 nM 이하의 EC_{50} 농도로 인간 C5aR에 결합한다.

[0301] 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 언급하며, 여기서 상기 단리된 항체는 20 nM 이하, 10 nM 이하, 9nM 이하, 8nM 이하, 7 nM 이하, 6 nM 이하, 5 nM 이하, 4 nM 이하, 3 nM 이하, 또는 1 nM 이하의 EC_{50} 농도로 시노몰구스 C5aR에 결합한다.

[0302] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체는 10 nM 이하의 K_D의 EC_{50} 농도로 인간 C5aR 및 시노몰구스 C5aR에 결합한다.

[0303] 일 실시형태에서, 상기 인간 C5aR은 서열번호: 1의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 상기 인간 C5aR은 서열번호: 2의 아미노산 서열을 포함한다. 일 실시형태에서, 상기 시노몰구스 C5aR은 서열번호: 3의 아미노산 서열을 포함한다.

[0304] 특정의 실시형태에서, 상기 EC_{50} 농도는 IgG 형태로 결정된다. 실시형태에서, 상기 인간 C5aR 또는 시노몰구스 C5aR은 세포 상에서 발현된다. 실시형태에서, 상기 인간 C5aR 또는 시노몰구스 C5aR은 전장 인간을 발현하는 조작된 CHO 세포 상에서 발현된다. 실시형태에서, 상기 CHO 세포는 Flp-In CHO 세포이다. 특정의 실시형태에서, 상기 인간 C5aR 또는 시노몰구스 C5aR은 호중구 상에서 발현된다. 실시형태에서, 상기 인간 C5aR은 인간 호중구에서 발현된다. 실시형태에서, 상기 시노몰구스 C5aR은 시노몰구스 호중구에서 발현된다. 특정의 실시형태에서, 상기 호중구는 전혈로부터 유래된다. 특정의 실시형태에서, 상기 EC_{50} 농도는 실시예 7에 기재된 바와 같이 결정된다.

[0305] 추가 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5L2, 인간 ChemR23, 인간 FPR1 및 C3aR로 이루어진 군으로부터 선택된 C5aR 관련 항원에 실질적으로 결합하지 않는다. 특정의 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 300 nM의 IgG 농도에서 인간 C5L2, 인간 ChemR23, 인간 FPR1 및 C3aR로 이루어진 군으로부터 선택된 C5aR 관련 항원에 실질적으로 결합하지 않는다. 일 실시형태에서, 상기 결합은 실시예 7에 기재된 바와 같이 결정된다.

[0306] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0307] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0308] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0309] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역, 또는

[0310] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다.

[0311] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0312] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0313] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0314] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0315] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0316] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0317] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0318] 서열 번호: 37 또는 44의 VH 및 서열 번호: 38 또는 45의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0319] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0320] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 지칭하고, 여기서 상기 항체 또는 항체 단편은 5 nM 이하, 예컨대 4 nM 이하, 3 nM 이하, 2 nM 이하, 1 nM 이하 또는 0.5 nM 이하의 EC_{50} 농도로 서열번호: 1 및/또는 서열번호: 2를 포함하는 인간 C5aR에 결합한다.

[0321] 특정의 실시형태에서, 상기 인간 C5aR은 바이러스-유사-입자 상에 제시된다. 특정의 실시형태에서, 상기 인간 C5aR은 융합 단백질로서 발현된다. 특정의 실시형태에서, 상기 인간 C5aR은 GAG 단백질에 융합된다. 실시형태에서, 상기 융합 단백질은 표 8에 개시된 아미노산 서열을 포함한다. 특정의 실시형태에서, 상기 결합은 실시예 8에 기재된 바와 같이 ELISA에 의해 결정된다.

[0322] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0323] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0324] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0325] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0326] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0327] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0328] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0329] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0330] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL.

[0331] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0332] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0333] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0334] 서열번호: 37 또는 44의 HC 및 서열번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC.

[0335] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0336] **기능성 - C5aR의 C5A-유도된 활성화**

[0337] 일반적으로, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR과 인간 C5a 사이의 상호작용을 차단(preventing)하거나 억제하는 데 사용될 수 있으며, 그로 인해 C5aR에 의해 매개되는 신호전달 경로를 차단, 억제, 중화 또는 감소시키고/거나 C5aR이 관여하는 생물학적 경로 및 기전을 조절할 수 있다.

[0338] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편에 관한 것으로, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 C5aR-매개된 신호 전달(C5aR-mediated signal transduction)을 특이적으로 방해한다.

[0339] 본 개시의 추가 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 C5a와 세포 상에서 발현된 C5aR의 상호작용을 특이적으로 방해한다. 또 다른 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 C5aR에 의해 매개되는 C5a 유도된 신호 전달을 특이적으로 방해할 수 있다.

[0340] C5aR 특이적 항체의 기능적 활성을 분석하는 방법은 효소 결합 면역흡착 분석법(ELISA), 방사선면역분석법(RIA), 형광 활성화 세포 분류법(FACS) 및 당업계에 잘 알려진 기타 방법과 같은 결합 분석법을 사용할 수 있다(Hampton, R. et al. (1990; Serological Methods a Laboratory Manual, APS Press, St Paul, MN) and Maddox, D.E. et al. (1983; J. Exp. Med. 158:1211-1216) 참조). 대안적으로, 분석은 생체내 또는 시험관내에서 C5aR에 대한 결합의 결과로서 생물학적 반응을 이끌어내는 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성을 테스트할 수 있다. 이러한 분석은 본 명세서에 개시된 실시예에 기재되어 있다. 다른 적합한 분석은 당업자에게 공지되어 있을 것이다.

[0341] 특정의 실시형태에서, 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 활성을 길항한다. 일 실시형태에서, 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 활성을 중화시킨다. 일 실시형태에서, 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 활성을 억제한다. 일 실시형태에서, 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 신호전달을 억제한다. 일 실시형태에서, 상기 인간 C5aR 활성 또는 인간 C5aR 신호전달은 C5a에 의해 유도된다. 일 실시형태에서, 상기 인간 C5aR 활성 또는 인간 C5aR 신호전달은 인간 C5a와 인간 C5aR의 상호작용에 의해 유도된다. 일 실시형태에서, 상기 C5aR 활성 또는 C5aR 신호전달은 인간 C5a의 인간 C5aR에 대한 결합에 의해 유도된다. 일 실시형태에서, 상기 C5aR은 세포 상에서 발현된다. 일 실시형태에서, 상기 인간 C5aR 활성 또는 인간 C5aR 신호전달은 시험관내 및/또는 생체외 및/또는 생체내에서 억제된다.

[0342] **C5A-유도된 β-어레스틴 동원**

[0343] C5a 유도된 C5aR 활성화를 억제하는 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성은 실시예 14에 기재된 바와 같이 β-어레스틴 동원 분석에서 테스트되었고, 특히 높은 병태생리학적 C5a 농도에서, 선행 기술 항체 RefMAB#1과 비교할 때 두 항체 모두 C5aR 활성에 대한 훨씬 더 강력한 길항제인 것으로 드러났다.

[0344] 따라서, 본 개시의 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 C5aR 활성을 유도하는 C5a의 활성을 억제한다. 일 실시형태에서, 상기 C5a 유도된 C5aR 활성은 실시예 14에 기재된 바와 같은 β-어레스틴 동원 분석에서 결정된다. 일 실시형태에서, 상기 C5a 유도된 C5aR 활성은 시험관내에서 결정된다.

[0345] 하나의 이러일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공하며, 여기서 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR-매개된 β-어레스틴 동원을 유도하는 인간 C5a의 활성을 억제한다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5a 유도된 β-어레스틴 동원을 억제한다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 C5aR 매개된 β-어레스틴 동원을 억제한다.

[0346] 본 개시의 추가 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 β-어레스틴과 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 상호작용을 억제한다. 하나의 이러일 실시형태에서, 상기 β-어레스틴과의 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 상호작용 및/또는 인간 C5a 유도된 베타-어레스틴 동원은 베타-갈락토시다제 효소 단편 상보성(beta-galactosidase enzyme fragment complementation)을 이용하여 측정된다. 하나의 이러일 실시형태에서, β-어레스틴과의 상기 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 상호작용 및/또는 인간 C5a 유도된 β-어레스틴 동원은 실시예 14에 기재된 바와 같이 결정된다. 그러한 일 실시형태에서, β-어레스틴과의 상기 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 상호작용 및/또는 인간 C5a 유도된 β-어레스틴 동원은 50 nM의 IgG 농도에서 테스트된다.

[0347] 인간 C5a 유도 인간 C5aR 활성을 억제하는, 예컨대, β-어레스틴 및/또는 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 매개된 β-어레스틴과의 인간 C5a 유도된 인간 C5a 상호작용을 억제하는 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성은 증가하는 농도의 인간 C5a 및 고정된 IgG 농도에 대한 용량-반응 곡선을 생성하고 각각의 EC50 농도를 계산함으로써 결정된다.

[0348] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공하며, 여기서 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 β-어레스틴 동원 분석에서 상기 단리된 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 측정된 EC_{50} 농도와 비교할 때 50 nM의 IgG 농도에서 인간 C5a에 대해 측정된 EC_{50} 농도를 적어도 5배 이상, 예컨대, 적

어도 6배, 적어도 7배, 적어도 8배, 적어도 9배, 적어도 10배, 적어도 11배, 적어도 12배 또는 적어도 13배 증가시킨다.

[0349] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공하며, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 β-어레스틴 동원 분석에서 상기 단리된 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 측정된 EC_{50} 농도와 비교할 때 50 nM의 IgG 농도에서 인간 C5a에 대해 측정된 EC_{50} 농도를 약 5배, 약 6배, 약 7배, 약 8배, 약 9배, 약 10배, 약 11배, 약 12배 또는 약 13배 증가시킨다.

[0350] 일 실시형태에서, 본 개시는 인간 C5aR에 특이적인 항체 또는 항체 단편을 제공하며, 상기 인간 C5a는 상기 항체 또는 항체 단편의 부재시 인간 C5a의 농도와 비교할 때 50 nM의 IgG 농도에서 β-어레스틴 동원 분석에서 동일한 인간 C5aR 활성을 유도하기 위해 적어도 5배 이상, 예컨대 적어도 6배 이상, 적어도 7배 이상, 적어도 8배 이상, 적어도 9배 이상, 적어도 10배 이상, 적어도 11배 이상, 적어도 12배 이상, 또는 적어도 13배 이상으로 존재할 필요가 있다.

[0351] 일 실시형태에서, 상기 β-어레스틴 동원 분석은 실시예 14에 기재된 바와 같이 수행된다. 일 실시형태에서, 상기 β-어레스틴 동원 분석은 시험관내에서 수행된다.

[0352] 대안적으로, C5a 유도된 C5aR 매개 β-어레스틴 동원을 억제하는 본 개시에 따른 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성은 상이한 인간 C5a 농도에 대한 억제율(%)을 계산함으로써 결정될 수 있다.

[0353] 이러한 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은, 1.2 nM 또는 11 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 매개성 β-어레스틴 동원의 수준과 비교하여, 1.2 nM 또는 11 nM 인간 C5a의 존재 하에 50 nM의 IgG 농도에서 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 매개된 β-어레스틴 동원을 적어도 50% 만큼, 적어도 55% 만큼, 적어도 60% 만큼, 적어도 70% 만큼, 적어도 80% 만큼 또는 적어도 90% 만큼 억제한다.

[0354] 하나의 이러일 실시형태에서, 본 개시에 따른 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은, 100 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 매개성 β-어레스틴 동원의 수준과 비교하여, 50 nM의 IgG 농도 및 1.2 nM 또는 11 nM 인간 C5a의 존재 하에서 인간 C5a 유도된 인간 C5aR 매개성 베타-어레스틴 동원을 적어도 25% 만큼, 예컨대 적어도 30% 만큼, 적어도 35% 만큼, 적어도 40% 만큼, 적어도 45% 만큼 또는 적어도 50% 만큼 억제한다.

[0355] 일 실시형태에서, 상기 β-어레스틴 동원 분석은 실시예 14에 기재된 바와 같이 수행된다. 일 실시형태에서, 상기 β-어레스틴 동원 분석은 시험관내에서 수행된다.

[0356] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0357] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0358] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0359] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0360] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 아미노산 서열을 포함하는 LCDR3 영역을 포함한다.

[0361] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0362] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0363] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0364] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0365] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0366] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0367] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0368] 서열번호: 37 또는 44의 HC 및 서열번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0369] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0370] **CD11b 발현의 C5A-유도된 상향조절**

[0371] 인간 호중구 및 단핵구의 강력한 활성제인 C5a는 이러한 세포에서 세포 표면 항원 CD11b의 상향 조절을 유도한다. 따라서, 과립구 및/또는 단핵구의 C5a 유도 활성화를 억제하는 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성은 이러한 세포에서 CD11b 발현 수준을 결정함으로써 평가될 수 있다.

[0372] 과립구 및/또는 단핵구에서 CD11b 발현을 억제하는 본 개시에 따른 단리된 항체 또한 항체 단편의 활성은 증가하는 농도의 IgG 및 고정된 농도의 인간 C5a에 대한 용량-반응 곡선을 생성하고, 각각의 IC50 농도를 계산함으로써 결정할 수 있다. 대안적으로, 과립구 및/또는 단핵구 C5a에서 CD11b 발현을 억제하는 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성은 상이한 IgG 농도에 대한 CD11b 발현의 억제율(%)을 계산함으로써 결정될 수 있다.

[0373] 하나의 이러한 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은, 15 nM 인간 C5a의 존재 하에, 30 nM 이하, 25 nM 이하, 20 nM 이하, 15 nM 이하, 10 nM 이하 또는 5 nM 이하의 IC_{50} 농도로 인간 과립구 및/또는 인간 단핵구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제한다.

[0374] 또 다른 실시형태에서, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은, 15 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 CD11b 발현 수준과 비교하여, 15 nM 인간 C5a 및 600 nM의 IgG 농도의 존재 시에 인간 과립구 및/또는 인간 단핵구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 적어도 70% 만큼, 적어도 75% 만큼, 적어도 80% 만큼, 적어도 85% 만큼 또는 적어도 90% 만큼 억제한다.

[0375] 추가 실시형태에서, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 150 nM 인간 C5a의 존재시 150 nM 이하, 125 nM 이하, 100 nM 이하, 90 nM 이하, 80 nM 이하, 70 nM 이하, 60 nM 이하, 50 nM 이하, 또는 40 nM 이하의 IC_{50} 농도로 인간 과립구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제한다.

[0376] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 150 nM 인간 C5a의 존재 하에 42 nM의 IC_{50} 농도로 인간 과립구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제한다.

[0377] 추가 실시형태에서, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은, 150 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 CD11b 발현 수준과 비교하여 150 nM 인간 C5a 및 600 nM의 IgG 농도의 존재 하에 인간 과립구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 적어도 65%, 적어도 70%, 적어도 75%, 적어도 75%, 적어도 80% 또는 적어도 90% 만큼 억제한다.

[0378] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은, 150 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 CD11b 발현 수준과 비교하여 150 nM 인간 C5a 및 100 nM의 IgG 농도의 존재 하에 인간 과립구에서 C5a 유도된 CD11b 발현을 적어도 45%, 적어도 50%, 적어도 55%, 적어도 60% 또는 적어도 65% 만큼 억제한다.

[0379] 일 실시형태에서, CD11b 발현의 상기 결정은 실시예 15에 기재된 바와 같이 수행된다. 일 실시형태에서, CD11b 발현의 상기 결정은 시험관내 및/또는 생체외에서 수행된다.

[0380] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0381] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0382] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0383] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0384] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0385] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0386] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0387] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0388] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0389] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0390] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0391] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0392] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0393] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0394] 또한, 인간 C5a 유도된 CD11b 발현에 대한 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 억제 활성을, 인간 C5a를 첨가하기 전에 항체를 다양한 길이(예를 들어, 300분 대(vs.) 20분)에 걸쳐 전혈에 존재하는 과립구 및/또는 단핵구와 함께 사전 인큐베이션하였음을 의미하는 장기간에 걸쳐 추가로 분석하였다. 놀랍게도, 실험은 본 개시에 따른 단리된 항체가, 특히 선행 기술의 항체 RefMAB#1과 비교할 때, 장기간, 예를 들어, 장기간의 인큐베이션 시간에 걸쳐 C5aR 활성의 훨씬 더 강력한 길항제인 것으로 밝혀졌다. 따라서, 장기간에 걸쳐 과립구 및/또는 단핵구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제하는 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성은 증가하는 농도의 IgG 및 고정된 농도의 인간 C5a에 대한 용량-반응 곡선을 생성하고, 상이한 인큐베이션 시간 동안 상기 단리된 항체를 상기 과립구 및/또는 단핵구와 함께 인큐베이션한 후 각각의 EC_{50} 값을 계산함으로써 결정될 수 있다.

[0395] 도 6A 및 C에 나타낸 바와 같이, 본 개시의 단리된 항체 또는 항체 단편은, 인큐베이션 20분 후에 결정된 용량-반응 곡선과 비교할 때, 인큐베이션 300분 후에 결정된 더 낮은 IgG 농도로 결정된 용량-반응 곡선의 명확한 이동을 나타내었다. 흥미롭게도 RefMAB#1은 시간이 지남에 따라 증가된 효능을 나타내지 않았다(도 6B 및 D 참조).

[0396] 따라서, 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 상기 세포와 함께 장기간의 인큐베이션 시간 경과후에 인간 과립구 및/또는 인간 단핵구에서 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제하는 데 더 강력하다.

[0397] 한 이러일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, 20분의 인큐베이션 시간 경과후에 측정된 IC_{50} 농도와 비교할 때, 50분, 100분, 150분, 200분, 250분, 또는 300분의 장기간 인큐베이션 후 결정된 적어도 2배, 적어도 4배, 적어도 5배 또는 적어도 6배 더 낮은 IC_{50} 농도로 인간 과립구 및/또는 인간 단핵구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제한다.

[0398] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, 20분의 인큐베이션 시간 경과후에 측정된 IC_{50} 농도와 비교할 때, 300분의 장기간 인큐베이션 후 결정된 약 5배 더 낮은 IC_{50} 농도로 인간 과립구 및/또는 인간 단핵구에서 인간 C5a 유도 CD11b 발현을 억제한다.

[0399] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, RefMAB#1의 상응하는 IC_{50} 농도와 비교할 때, 300분의 장기간의 인큐베이션 시간 경과후에 결정된 적어도 3배, 적어도 4배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 15배 또는 적어도 19배 더 낮은 IC_{50} 농도로 인간 과립구 및/또는 인간 단핵구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현

을 억제한다.

[0400] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, 상기 세포와 함께 300분의 장기간의 인큐베이션 시간 경과후, 3 nM 이하, 2.5 nM 이하, 2 nM 이하, 1.5 nM 이하 또는 1 nM 이하의 IC_{50} 농도로 인간 과립구 및/또는 인간 단핵구에서 인간 C5a 유도된 CD11b 발현을 억제한다.

[0401] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0402] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0403] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0404] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0405] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0406] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0407] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0408] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0409] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0410] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0411] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0412] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0413] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0414] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0415] **호중구의 C5A-유도된 이동**

[0416] 추가 분석에서, 인간 호중구의 인간 C5a 유도된 이동을 억제하는 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성이 평가되었고, MAB#1이 시험관내에서 C5 유도된 호중구 이동을 효율적으로 억제한다는 것이 밝혀졌다.

[0417] 따라서, 본 개시의 실시형태에서, 본 개시의 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 시험관내 인간 호중구의 인간 C5a 유도된 이동을 억제한다.

[0418] 추가 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은, 시험관내 10 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 단리된 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 이동 수준과 비교하여, 인간 호중구의 인간 C5a 유도된 이동을 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 75 또는 적어도 80% 만큼 억제한다.

[0419] 일 실시형태에서, 인간 호중구의 상기 이동은 15분 후, 25분 후 및/또는 35분 후에 결정된다. 특정의 실시형태에서, 본 개시에 따른 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 100 nM 및/또는 600 nM의 IgG 농도에서 테스트된다.

[0420] 일 실시형태에서, 본 개시의 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 10 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 항체 또는 항체 단편의 부재 하에 35분 후 이동 수준과 비교하여, 100 nM의 IgG 농도에서 35분 후 인간 호중구의 인간 C5a 유도된 이동을 적어도 25% 만큼 억제한다.

[0421] 일 실시형태에서, 본 개시의 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은, 10 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 항체 또는 항

체 단편의 부재 하에 25분 후 이동 수준과 비교하여, 100 nM 및/또는 600 nM의 IgG 농도에서 25분 후 인간 C5a 유도된 인간 호중구 이동을 적어도 60% 만큼 억제한다.

[0422] 일 실시형태에서, 본 개시의 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 10 nM 인간 C5a의 존재 및 상기 항체의 부재 하에 35분 후 이동 수준과 비교하여 600 nM의 IgG 농도에서 35분 후 인간 C5a 유도된 인간 호중구 이동을 적어도 40%만큼 억제한다.

[0423] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0424] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0425] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0426] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0427] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0428] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0429] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0430] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0431] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0432] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0433] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0434] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0435] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0436] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0437] **이펙터 기능**

[0438] 면역글로불린의 Fc 영역은 일반적으로 혈청에서 연장된 반감기와 같은 항체의 유리한 약동학적 특성 및 세포에서 발현되는 Fc 수용체에 대한 결합을 통해 이펙터 기능을 유도하는 활성을 부여한다. 다른 한편으로, Fc 수용체에 대한 결합은 또한 원하지 않는 사이토카인 방출 및 전신 투여시 심각한 부작용을 초래하는 특정 세포 표면 수용체의 바람직하지 않은 활성화를 초래할 수 있다.

[0439] 따라서, 특정 치료 상황의 경우, 이펙터 기능을 유도하는 항체의 활성을 감소시키거나 폐기시키기 위해 하나 이상의 또는 모든 Fc 수용체에 대한 야생형 IgG Fc 영역과 같은 항체의 야생형 Fc 영역의 정상적인 결합 및/또는 C1q와 같은 보체 성분에 대한 결합을 감소 또는 폐기시키는 것이 바람직하다. 예를 들어, FcɣR1, FcɣRIIa, FcɣRIIb, FcɣRIIIa와 같은 하나 이상의 Fcɣ 수용체에 대한 항체의 Fc 영역의 결합을 감소 또는 폐기시키는 것이 바람직할 수 있다.

[0440] 이펙터 기능은 다음 중 하나 이상을 포함할 수 있지만, 이로만 제한되는 것은 아니다: 보체 의존성 세포독성(CDC), 항체-의존적 세포-매개성 세포독성(ADCC), 항체-의존적 세포 식세포작용(ADCP), 사이토카인 분비, 항원-제시 세포에 의한 면역 복합체-매개된 항원 흡수, NK 세포에 결합, 대식세포에 결합, 단핵구에 결합, 다형핵 세포에 결합, 세포자멸사를 유도하는 직접적인 신호 전달, 표적-결합된 항체의 가교형성, 수지상 세포 성숙, 또는 T 세포 프라이밍.

[0441] Fc 수용체 및/또는 C1q에 대한 Fc 영역의 감소되거나 폐기된 결합은 전형적으로 야생형 Fc 영역, 예컨대, IgG1 Fc 영역, 보다 구체적으로 인간 IgG1 Fc 영역을 돌연변이킴으로써 달성되며, 이는 상기 야생형 Fc 영역의 변이체 또는 조작된 Fc 영역, 예를 들어, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역을 초래한다. 감소된 결합을 초래하는 치환이 유용할 수 있다. Fc 수용체에 대한 Fc 영역의 결합 특성을 감소시키거나 폐기하기 위해, 비보존적 아미노산 치환, 즉 하나의 아미노산을 상이한 구조적 및/또는 화학적 특성을 갖는 다른 아미노산으로 대체하는 것이 바람직하다.

[0442] 따라서, 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편은 야생형 Fc 영역과 비교할 때 Fc 수용체 및/또는 C1q에 대한 결합이 감소되거나 폐기된 변이체 Fc 영역을 포함한다. 이러한 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 항체가 이펙터 기능을 유도하는 활성을 감소 또는 폐기하는 변이체 Fc 영역을 포함한다. 추가 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 이펙터 기능을 실질적으로 유도하지 않는다.

[0443] 특정의 실시형태에서, 이펙터 기능은 CDC, ADCC 및 ADCP로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상이다. 일 실시형태에서, 이펙터 기능은 ADCC이다. 일 실시형태에서, 이펙터 기능은 CDC이다. 일 실시형태에서, 이펙터 기능은 ADCP이다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 ADCC 및/또는 CDC 및/또는 ADCP를 실질적으로 유도하지 않는다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 시험관내에서 ADCC 또는 ADCP를 유도하지 않는다.

[0444] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 변이체 Fc 영역은 야생형 Fc 영역과 비교할 때 하나 이상의 Fc 수용체 및/또는 C1q에 대한 변이체 Fc 영역의 결합을 감소 또는 폐기하는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 변이체 Fc 영역은 야생형 Fc 영역과 비교할 때 이펙터 기능을 유도하는 항체의 활성을 감소 또는 폐기하는 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0445] 특정의 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 야생형 Fc 영역과 비교할 때 하나 이상의 Fc 수용체 및/또는 C1q에 대한 변이체 Fc 영역의 결합 친화도를 적어도 2배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 20배 또는 심지어 적어도 50배까지 감소시킬 수 있다.

[0446] 대안적인 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 야생형 Fc 영역과 비교할 때 이펙터 기능을 유도하는 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 활성을 적어도 2배, 적어도 5배, 적어도 10배, 적어도 20배 또는 심지어 적어도 50배까지 감소시킬 수 있다.

[0447] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 변이체 Fc 영역은 하나 이상의 Fc 수용체 및/또는 C1q에 실질적으로 결합하지 않는다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체의 변이체 Fc 영역은 이펙터 기능을 유도하는 상기 항체의 활성을 실질적으로 폐기한다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 이펙터 기능을 실질적으로 유도하지 않는다. 일 실시형태에서, 상기 효과 기능은 ADCC 및/또는 ADCP 및/또는 CDC이다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 이펙터 기능을 실질적으로 유도하지 않으며, 이는 유도된 이펙터 기능의 수준이 상기 항체의 부재 하에 측정된 백그라운드보다 유의하게 높지 않음을 의미한다.

[0448] 일 실시형태에서, Fc 수용체는 인간 Fc 수용체이다. 일 실시형태에서, Fc 수용체는 Fcɣ 수용체이다. 일 실시형태에서, Fc 수용체는 인간 FcɣRIIIa, FcɣRI, FcɣRIIa 및/또는 FcɣRIIb이다.

[0449] 일 실시형태에서, 이펙터 기능은 CDC, ADCC 및 ADCP의 그룹으로부터 선택되는 하나 이상이다. 특정의 실시형태에서, 이펙터 기능은 ADCC, CDC 및 ADCP이다. 더 특별일 실시형태에서, 이펙터 기능은 ADCC 및 ADCP이다.

[0450] 일 실시형태에서, 야생형 Fc 영역은 IgG1 Fc 영역이다. 일 실시형태에서, 야생형 Fc 영역은 인간 IgG1 Fc 영역이다. 일 실시형태에서, 야생형 Fc 영역은 인간 IgG1 Fc 영역이다. 일 실시형태에서, 야생형 Fc 영역은 다음의 아미노산 서열을 포함하는 인간 IgG1 Fc 영역이다:

[0451] PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (서열번호: 11)

[0452] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 야생형 인간 IgG1 Fc 영역과 비교하여 하나 이

상의 아미노산 치환을 포함하는 변이체 인간 IgG1 Fc 영역을 포함한다. 일 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 야생형 Fc 영역과 비교할 때 Fc 수용체 및/또는 C1q에 대한 변이체 Fc 영역의 결합을 감소 또는 폐기하고/하거나 이펙터 기능을 유도하는 상기 항체의 활성을 감소시킨다.

[0453] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편의 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여 EU 인덱스에 따라 넘버링된 234, 235, 237, 330 및 331의 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0454] 일 실시형태에서, 상기 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여 EU 인덱스에 따라 넘버링된 L234, L235 및 G237의 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0455] 일 실시형태에서, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여, EU 인덱스에 따라 넘버링된 L234A, L235E, G237A의 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0456] 일 실시형태에서, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여, EU 지수에 따라 넘버링된 아미노산 치환 L234A 및 L235E를 포함한다.

[0457] 일 실시형태에서, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여, EU 인덱스에 따라 넘버링된 아미노산 치환 L234A, L235E 및 G237A를 포함한다.

[0458] 일 실시형태에서, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여, EU 인덱스에 따라 넘버링된 A330 및 P331의 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0459] 일 실시형태에서, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여, EU 인덱스에 따라 넘버링된 A330S 및 P331S의 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 위치에서 아미노산 치환을 포함한다.

[0460] 일 실시형태에서, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여, EU 인덱스에 따라 넘버링된 아미노산 치환 A330S 및 P331S를 포함한다.

[0461] 일 실시형태에서, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여, EU 인덱스에 따라 넘버링된 아미노산 치환 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S를 포함한다.

[0462] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은, 서열번호: 11의 서열을 포함하는 야생형 인간 IgG1 Fc 영역과 비교하여, 하나 이상의 Fc 수용체 및/또는 C1q에 대한 변이체 Fc 영역의 결합 친화도를 감소 또는 폐기하고/하거나 이펙터 기능을 유도하는 상기 항체의 활성을 감소시키는, 하나 이상의 아미노산 치환을 포함하는, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역을 포함하며, 여기서 하나 이상의 아미노산 치환은 EU 인덱스에 따라 넘버링된 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S이다.

[0463] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 IgG1 부류의 것이다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 변이체 인간 IgG1 부류의 것이다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 시험관내에서 이펙터 기능을 실질적으로 유도하지 않는다. 일 실시형태에서, 변이체 인간 IgG1 Fc 영역은 하나 이상의 Fc 수용체 및/또는 C1q에 실질적으로 결합하지 않는다. 한 이러일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여 EU 인덱스에 따라 넘버링된 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S의 그룹으로부터 선택된 아미노산 치환을 포함한다.

[0464] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, EU 인덱스에 따라 넘버링된, 아미노산 치환 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S를 포함하는 인간 IgG1 부류의 것이다.

[0465] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, EU 인덱스에 따라 넘버링된, 아미노산 치환 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S를 포함한다.

[0466] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 IgG1 Fc 영역과 비교하여 EU 인덱스에 따라 넘버링된, 아미노산 치환 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S를 포함한다.

[0467] 하나의 이러한 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, EU 인덱스에 따라 넘버링된, 아미노산 치환 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S를 포함하고 시험관내에서 실질적으로 이펙터 기능을 유도하지 않는다. 일 실시형태에서, 이펙터 기능은 CDC, ADCC 및 ADCP의 그룹으로부터 선택되는 하나 이상이다.

[0468] 하나의 이러한 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, 서열번호: 11의 아미노산 서열을 포함하는 야생형 인간 IgG1 Fc 영역과 비교하여 EU 인덱스에 따른 넘버링에 따른, 아미노산 치환 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S를 포함하고, 시험관내에서 하나 이상의 Fc 수용체 및/또는 C1q에 실질적으로 결합하지 않는다.

[0469] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간 IgG1 부류의 것이다. 일 실시형태에서, 본 개시에 대한 단리된 항체 또는 항체 단편은 시험관내에서 이펙터 기능을 실질적으로 유도하지 않는다. 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은, EU 인덱스에 따라 넘버링된, L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S의 그룹으로부터 선택된 하나 이상의 아미노산 치환을 포함한다.

[0470] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0471] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0472] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0473] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0474] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0475] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0476] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0477] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0478] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0479] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0480] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0481] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0482] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0483] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0484] Fc 영역을 통한 Fc 수용체에 대한 항체의 결합은, 예를 들어, ELISA에 의해 또는 Biacore® 기기(GE Healthcare)와 같은 표준 기기를 사용한 표면 플라스몬 공명(SPR)에 의해, 쉽게 결정할 수 있으며, Fc 수용체는 재조합 발현에 의해 수득될 수 있다. 대안적으로, Fc 영역의 결합 친화도는, FcγIIIa 수용체를 발현하는 NK 세포와 같은 특정 Fc 수용체를 발현하는 것으로 알려진 세포주를 사용하여 평가될 수 있다. 항체의 이펙터 기능은 당업계에 공지된 방법에 의해 측정될 수 있다. 관심 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위한 적합한 시험관내 분석은, 예를 들어, WO2012130831에 기재되어 있다. 이러한 분석에 유용한 이펙터 세포는 말초혈액 단핵세포(peripheral blood mononuclear cells; PBMC) 및 자연살해(Natural Killer; NK) 세포를 포함한다.

[0485] 대안적으로, 또는 추가적으로, 관심 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들어, 다음 문헌에 공개된 것과 같은 동물 모델에서 평가될 수 있다: Clynes et al., Proc Natl Acad Sci USA 95, 652-656 (1998). 보체 활성화를 평가하기 위해 CDC 분석이 수행될 수 있다(예를 들어, Gazzano-Santoro et al., J Immunol Methods 202, 163

(1996); Cragg et al., Blood 101, 1045-1052 (2003); 및 Cragg and Glennie, Blood 103, 2738-2743 (2004) 참조). C1q 결합 분석(예컨대, ELISA)은, 항체가 C1q에 결합할 수 있고 따라서 CDC 활성을 갖는지 여부를 결정하기 위해 수행될 수 있다(예를 들어, WO 2006/029879 참조). Fc 수용체에 대한 결합을 평가하거나 면역 이펙터 기능을 평가하기 위한 시험관내 방법이 실시예 10 내지 13에 기재되어 있다.

[0486] **융합 단백질**

[0487] 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 하나 이상의 다른 아미노산 잔기, 폴리펩티드 또는 모이어티에 융합되거나 융합되지 않을 수 있다. 이러한 융합 단백질은 유전학적 또는 화학적 접근법을 포함하는 임의의 적합한 방식으로 제조될 수 있다. 상기 연결된 모이어티는 분비 또는 리더 서열, 검출, 발현, 분리 또는 정제를 돕는 서열, 또는, 예를 들어, 재조합 생산 동안, 증가된 단백질 안정성을 부여하는 서열을 함유할 수 있다. 잠재적 모이어티의 비제한적인 예는 베타-갈락토시다제, 글루타티온-S-트랜스퍼라제, 루시퍼라제, T7 폴리머라제 단편, 분비 신호 펩티드, 항체 또는 항체 단편, 독소, 리포터 효소, 폴리-히스티딘 태그와 같은 금속 이온, 검출 및/또는 정제에 적합한 태그, 동종(homo) 또는 이종-회합(hetero-association) 도메인, 단백질의 용해도를 증가시키는 부분, 또는 효소적 절단 부위를 포함하는 모이어티를 포함한다.

[0488] 따라서, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 다른 표적 또는 관심 표적 단백질에 결합하기 위한 하나 이상의 모이어티를 선택적으로 함유할 수 있다. 이러한 추가 모이어티는 항체에 추가 기능성을 제공하거나 제공하지 않을 수 있고, 본 개시에 따라 단리된 항체 또는 항체 단편의 특성을 변형하거나 변형하지 않을 수 있음이 명확해야 한다. 진단 용도

[0489] 일 실시형태에서, 본 개시는 질환의 진단을 위한 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편의 용도를 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 C5aR, 특히 인간 C5aR 및/또는 시노몰구스 C5aR의 검출을 위한 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편의 용도를 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 대상체 또는 샘플에서 C5aR을 검출하는 방법으로서, 상기 대상체 또는 샘플을 본 개시의 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편과 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 대상체에서 질환을 진단하는 방법을 제공하며, 상기 대상체 또는 샘플을 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편과 접촉시키는 단계를 포함한다.

[0490] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0491] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0492] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0493] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0494] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0495] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 대해 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0496] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0497] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0498] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0499] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 대해 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0500] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0501] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0502] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0503] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0504] **치료 방법**

[0505] 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 치료 방법에 사용될 수 있다. 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 암, 자가면역 질환 또는 염증성 질환과 같은 질환의 치료에 사용될 수 있다.

[0506] 일 실시형태에서, 본 개시는 질환의 치료 방법을 제공한다.

[0507] 일 실시형태에서, 본 개시는 질환의 치료를 위한 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 질환의 치료에 사용하기 위한 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 질환의 치료를 필요로 하는 대상체에서 질환의 치료에 사용하기 위한 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공한다.

[0508] 일 실시형태에서, 본 개시는 의약(medicament)의 제조를 위한 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편의 용도를 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 의약으로서 사용하기 위한 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 의약에 사용하기 위한 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 치료를 필요로 하는 대상체의 치료를 위한 의약으로서 사용하기 위한 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공한다.

[0509] 일 실시형태에서, 질환은 C5aR, 특히 인간 C5aR의 원하지 않는 존재와 관련된다. 일 실시형태에서, 질환은 C5a, 특히 인간 C5a의 원하지 않는 존재와 관련된다.

[0510] 일 실시형태에서, 치료될 질환은 증식성 질환이다. 특정의 실시형태에서, 질환은 암이다. 암의 비제한적인 예는 방광암, 뇌암, 두경부암, 췌장암, 폐암, 유방암, 난소암, 자궁암, 자궁경부암, 자궁내막암, 식도암, 결장암, 결장직장암, 직장암, 위암, 전립선암, 혈액암, 육종, 피부암, 편평세포암, 골암, 흑색종, 신세포암, 및 신장암을 포함한다.

[0511] 일 실시형태에서, 치료될 질환은 자가면역 또는 염증성 질환이다. 자가면역 또는 염증성 질환의 비제한적 예는 류마티스 관절염(RA), 건선, 건선성 관절염, 전신 홍반성 루푸스(SLE), 루푸스 신염, I형 당뇨병, 그레이브병, 염증성 장 질환(IBD), 크론병(CD), 궤양성 대장염(UC), 과민성 대장 증후군, 다발성 경화증(MS), 자가면역성 심근, 가와사키병, 관상동맥 질환, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD), 간질성 폐 질환, 자가면역성 갑상선염, 경피증, 전신성 경화증, 골관절염, 아토피 피부염, 백반증(vitiligo), 이식편대숙주병, 쇼그렌 증후군, 자가면역성 신염, 굿파스처 증후군, 만성 염증성 탈수초성 다발신경병증, ANCA 관련 혈관염, 포도막염, 경피증, 수포성 천포창, 알츠하이머병, 근위축성 측삭 경화증, 헌팅턴 무도병, 낭포성 섬유증, 통풍, 연령 관련 황반변성, 알레르기, 천식, 항인지질 증후군(APS), 죽상동맥경화증, C3 사구체병 및 IgA 신증, 허혈/재관류 손상, 복막염, 패혈증 및 급성 또는 만성 염증으로 인한 기타 자가면역성 질환을 포함한다.

[0512] 일 실시형태에서, 본 개시는 대상체에게 치료적 유효량의 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 투여하는 단계를 포함하는 질환을 갖는 대상체를 치료하는 방법에 사용하기 위한 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 단리된 항체 또는 항체 단편을 제공한다.

[0513] 일 실시형태에서, 방법은 대상체에게 치료적 유효량의 1종 이상의 추가 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 치료를 필요로 하는 대상체는 전형적으로 포유동물, 보다 구체적으로 인간이다. 치료 방법에 사용하기 위해, 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편은 우수한 의료 관행과 일치하는 방식으로 제형화되고, 투약되고(dosed), 투여될 것이다.

[0514] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0515] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0516] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0517] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의

LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0518] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3를 포함한다.

[0519] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0520] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0521] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0522] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0523] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0524] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0525] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0526] 서열 번호: 37 또는 44의 HC 및 서열 번호: 38 또는 45의 LC에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0527] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0528] **약제학적 조성물**

[0529] 일 실시형태에서, 본 개시는 본 개시에 따른 단리된 항체 또는 항체 단편 및 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0530] 약제학적 조성물은 하나 이상의 다른 약제학적 활성 화합물을 추가로 포함할 수 있다. 본 개시에 따른 약제학적 조성물은 C5aR, 특히 인간 C5aR의 원하지 않는 존재와 관련된 질환의 진단, 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 특히, 본 개시는 포유동물, 보다 특히 인간에서 예방적, 치료적 및/또는 진단적 용도에 적합한 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0531] 일반적으로, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 본 개시에 따른 적어도 하나의 항체 또는 항체 단편 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제, 및 선택적으로 하나 이상의 추가의 약제학적으로 활성 화합물을 포함하는 약제학적 조성물로서 제형화될 수 있다. 이러한 제형은 경구, 비경구, 국소 투여 또는 흡입에 의한 투여에 적합할 수 있다. 따라서, 본 개시에 따른 적어도 하나의 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조성물은 비경구로, 예컨대 정맥내, 또는 근육내, 또는 피하로 투여될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 항체는 경구 또는 국소와 같은 비경구 경로를 통해 투여될 수 있다. 바람직일 실시형태에서, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조성물은 정맥내 또는 피하 투여된다.

[0532] 특히, 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편은 관심 표적 항원이 관련된 질환의 예방 및/또는 치료를 위해 사용될 수 있거나 사용될 수 있는 하나 이상의 약학적 활성 화합물과 조합하여 사용될 수 있으며, 그 결과 시너지 효과가 획득되거나 그렇지 않을 수도 있다. 이러한 화합물의 예를 비롯한, 이를 투여하기 위한 경로, 방법 및 약제학적 제형 또는 조성물은 임상의에게 명백할 것이다.

[0533] 일 실시형태에서, 본 개시는 C5aR의 바람직하지 않은 존재와 관련된 질환의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 의약으로서 사용하기 위한 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다. 일 실시형태에서, 본 개시는 자가면역 질환 및/또는 염증성 질환 및/또는 암의 예방 및/또는 치료에 사용하기 위한 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.

[0534] 일 실시형태에서, 본 개시는 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 포함하는 약제학적 조성물을 사용하여 이를 필요로 하는 대상체에서 자가면역 질환 및/또는 염증성 질환 및/또는 암의 치료 방법을 제공한다.

[0535] 생체내 투여에 적합한 형태로 본 개시에 따른 항체 또는 항체 단편을 생산하는 방법이 추가로 제공되며, (a) 본 개시에 따른 방법에 의해 항체 또는 항체 단편을 수득하는 단계, 및 (b) 상기 항체 또는 항체 단편을 하나 이상

의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제와 제형화하는 단계를 포함하며, 그에 따라 항체 또는 항체 단편의 제조물은 생체 내 투여용으로 제형화된다. 본 개시에 따른 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 부형제에 용해된 치료적 유효량의 본 개시에 따른 하나 이상의 항체 또는 항체 단편을 포함한다.

[0536] 일 실시형태에서, 본 개시에 따른 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0537] a) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 28의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0538] b) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 31의 HCDR2 영역, 서열번호: 29의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0539] c) 서열번호: 27의 HCDR1 영역, 서열번호: 39의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역, 또는

[0540] d) 서열번호: 30의 HCDR1 영역, 서열번호: 41의 HCDR2 영역, 서열번호: 40의 HCDR3 영역, 서열번호: 32의 LCDR1 영역, 서열번호: 33의 LCDR2 영역 및 서열번호: 34의 LCDR3 영역을 포함한다.

[0541] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 대해 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0542] a) 서열번호: 35의 VH 및 서열번호: 36의 VL 또는

[0543] b) 서열번호: 42의 VH 및 서열번호: 43의 VL 또는

[0544] 서열번호: 35 또는 42의 VH 및 서열번호: 36 또는 43의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 VH 및 VL을 포함한다.

[0545] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 대해 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은,

[0546] a) 서열번호: 37의 HC 및 서열번호: 38의 LC 또는

[0547] b) 서열번호: 44의 HC 및 서열번호: 45의 LC 또는

[0548] 서열 번호: 37 또는 44의 VH 및 서열 번호: 38 또는 45의 VL에 대해 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90% 또는 적어도 95% 동일성을 갖는 HC 및 LC를 포함한다.

[0549] 일 실시형태에서, 인간 C5aR에 특이적인 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 모노클로날 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 재조합 항체 또는 항체 단편이다. 일 실시형태에서, 상기 단리된 항체 또는 항체 단편은 인간, 인간화 또는 키메라 항체 또는 항체 단편이다.

[0550] **항체 서열**

표 1

MAB#1의 항체 서열

MAB#1		서열번호:	[aa] / DNA
MAB#1 단백질			
	HCDR1 (Kabat)	서열번호: 27	SYAMH
	HCDR2 (Kabat)	서열번호: 28	RIKSKAQGGTTDYAAHVKG
	HCDR3 (Kabat)	서열번호: 29	VSFSTFDV
	HCDR1 (Chothia)	서열번호: 30	GFTFSSY
	HCDR2 (Chothia)	서열번호: 31	KSKAQGGT
	HCDR3 (Chothia)	서열번호: 29	VSFSTFDV
	LCDR1 (Kabat)	서열번호: 32	SGSSSNIGSYYVS
	LCDR2 (Kabat)	서열번호: 33	RNNQRPS
	LCDR3 (Kabat)	서열번호: 34	DSWDHSSMNV
	LCDR1 (Chothia)	서열번호: 32	SGSSSNIGSYYVS
	LCDR2 (Chothia)	서열번호: 33	RNNQRPS
	LCDR3 (Chothia)	서열번호: 34	DSWDHSSMNV
	VH	서열번호: 35	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMHWVRQAPGKGLEWVGRIKSKAQGGTTDY AAHVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCARVSFSTFDVWGQGTLVTVSS
	VL	서열번호: 36	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSY YVSWYQQLPGTAPKVLIYRNNQRPSGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCDSWDH SSMNVFGGGTKLTVLGQ
	중쇄 IgG1_AEASS	서열번호: 37	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMHWVRQAPGKGLEWVGRIKSKAQGGTTDY AAHVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCARVSFSTFDVWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
	경쇄	서열번호: 38	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSY YVSWYQQLPGTAPKVLIYRNNQRPSGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCDSWDH SSMNVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
MAB#1 DNA			

[0551]

[0552]

MAB#1		서열번호:	[aa] / DNA
	HCDR1 (Kabat)	서열번호: 46	AGCTATGCGATGCAC
	HCDR2 (Kabat)	서열번호: 47	CGTATCAAATCCAAAGCCCAGGGCGGTACG ACCGACTACGCGGCGCACGTGAAAGGC
	HCDR3 (Kabat)	서열번호: 48	GTTTCTTTCTCCACTTTCGATGTT
	HCDR1 (Chothia)	서열번호: 49	GGATTTACCTTCAGCAGCTAT
	HCDR2 (Chothia)	서열번호: 50	AAATCCAAAGCCCAGGGCGGTACG
	HCDR3 (Chothia)	서열번호: 48	GTTTCTTTCTCCACTTTCGATGTT
	LCDR1 (Kabat)	서열번호: 51	AGCGGCAGCTCCTCCAATATTGGTAGCTATT ACGTGAGC
	LCDR2 (Kabat)	서열번호: 52	CGTAATAATCAACGTCCTAGC
	LCDR3(Kabat)	서열번호: 53	GACAGCTGGGATCACAGCTCCATGAATGTT
	LCDR1 (Chothia)	서열번호: 51	AGCGGCAGCTCCTCCAATATTGGTAGCTATT ACGTGAGC
	LCDR2 (Chothia)	서열번호: 52	CGTAATAATCAACGTCCTAGC
	LCDR3 (Chothia)	서열번호: 53	GACAGCTGGGATCACAGCTCCATGAATGTT
	VH	서열번호: 54	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGTGGC CTGGTGAAACCAGGCGGCAGCCTGCGCCTG AGCTGCGCCGCCTCCGGATTTACCTTCAGC AGCTATGCGATGCACTGGGTGCGCCAGGCC CCGGGCAAAGGTCTCGAATGGGTGGGTCGT ATCAAATCCAAAGCCCAGGGCGGTACGACC GACTACGCGGCGCACGTGAAAGGCCGCTTT ACCATTAGCCGCGATGATTCGAAAAACACCC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGA AGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGTT TCTTTCTCCACTTTCGATGTTTGGGGCCAAG GCACCCTGGTGACTGTCTCGAGC
	VL	서열번호: 55	CAGAGCGTGCTGACCCAGCCTCCTAGCGTG AGCGGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATT AGCTGTAGCGGCAGCTCCTCCAATATTGGTA GCTATTACGTGAGCTGGTATCAGCAGCTGC CGGGCACGGCGCCGAAAGTTCTGATCTATC GTAATAATCAACGTCCTAGCGGCGTGCCGG ATCGCTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCA GCGCCAGCCTGGCGATTACCGGCCTGCAAG CAGAAGATGAAGCGGATTATTACTGCGACAG CTGGGATCACAGCTCCATGAATGTTTTTGGC GGCGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAG

[0553]

MAB#1		서열번호:	[aa] / DNA
	중쇄 (IgG1) IgG1 AEASS	서열번호: 56	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGTGGC CTGGTGAAACCAGGCGGCAGCCTGCGCCTG AGCTGCGCCGCCTCCGGATTTACCTTCAGC AGCTATGCGATGCACTGGGTGCGCCAGGCC CCGGGCAAAGGTCTCGAATGGGTGGGTCGT ATCAAATCCAAAGCCCAGGGCGGTACGACC GACTACGCGGCGCACGTGAAAGGCCGCTTT ACCATTAGCCGCGATGATTCGAAAAACACCC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGA AGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGTT TCTTTCTCCACTTTCGATGTTTGGGGCCAAG GCACCCTGGTGACTGTCTCGAGCGCGTCGA CCAAAGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCC CCAGCAGCAAGAGCACCTCTGGCGGAACAG CCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACT CTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCT TTCCAGCCGTGCTCCAGAGCAGCGGCCTGT ACAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCGTGCCCA GCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACAA AGGTGGACAAGCGGGTGGAACCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCCTGCC CTGCCCCTGAAGCGGAGGGAGCCCCCTCC GTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCTAAGGACA CCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGA CCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA CGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTA CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAA GTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTTC CTCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAA GGCCAGCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACACA CTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAG GGCTTCTACCCCAGCGACATTGCCGTGGAA TGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAAC TACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGC GACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGA CCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGC AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCC CTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG

[0554]

MAB#1		서열번호:	[aa] / DNA
	경쇄(DNA)	서열번호: 57	CAGAGCGTGCTGACCCAGCCTCCTAGCGTG AGCGGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATT AGCTGTAGCGGCAGCTCCTCCAATATTGGTA GCTATTACGTGAGCTGGTATCAGCAGCTGC CGGGCACGGCGCCGAAAGTTCTGATCTATC GTAATAATCAACGTCCTAGCGGCGTGCCGG ATCGCTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCA GCGCCAGCCTGGCGATTACCGGCCTGCAAG CAGAAGATGAAGCGGATTATTACTGCGACAG CTGGGATCACAGCTCCATGAATGTTTTTGGC GGCGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAG CCCAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTC CCCCCCTCGAGTGAGGAACTCCAGGCCAAC AAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGAC TTCTACCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGG AAGGCCGATAGCAGCCCTGTGAAGGCCGGC GTGGAAACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGC AACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCTG AGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCAC AGATCCTACAGCTGCCAGGTCACACACGAG GGCAGCACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCC ACCGAGTGCAGC
MAB#1 DNA (최적화됨)			
	HCDR1 (Kabat)	서열번호: 70	AGCTACGCTATGCAC
	HCDR2 (Kabat)	서열번호: 71	CGGATCAAGAGCAAGGCTCAAGGCGGCACC ACCGATTACGCCGCTCATGTGAAGGGC
	HCDR3 (Kabat)	서열번호: 72	GTGTCCTTCTCCACCTTCGATGTG
	HCDR1 (Chothia)	서열번호: 73	GGCTTCACCTTCTCCAGCTAC
	HCDR2 (Chothia)	서열번호: 74	AAGAGCAAGGCTCAAGGCGGCACC
	HCDR3 (Chothia)	서열번호: 72	GTGTCCTTCTCCACCTTCGATGTG
	LCDR1 (Kabat)	서열번호: 75	TCCGGCTCCTCCTCCAACATCGGCTCCTACT ACGTGTCC
	LCDR2 (Kabat)	서열번호: 76	CGGAACAACCAGCGGCCTTCT
	LCDR3 (Kabat)	서열번호: 77	GACTCTTGGGACCACTCCTCCATGAACGTG
	LCDR1 (Chothia)	서열번호: 75	TCCGGCTCCTCCTCCAACATCGGCTCCTACT ACGTGTCC
	LCDR2 (Chothia)	서열번호: 76	CGGAACAACCAGCGGCCTTCT
	LCDR3 (Chothia)	서열번호: 77	GACTCTTGGGACCACTCCTCCATGAACGTG
	VH	서열번호: 78	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCTCCAG CTACGCTATGCACTGGGTCCGACAGGCCCC TGGCAAAGGATTGGAGTGGGTCGGACGGAT CAAGAGCAAGGCTCAAGGCGGCACCACCGA TTACGCCGCTCATGTGAAGGGCAGATTCAC CATCTCTCGGGACGACTCCAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAACTCCCTGAAAACCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGT GTCCTTCTCCACCTTCGATGTGTGGGGCCA GGGCACACTGGTTACAGTCTCGAGC

[0555]

MAB#1		서열번호:	[aa] / DNA
	VL	서열번호: 79	CAGTCCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGTTT CTGGTGCTCCTGGCCAGAGAGTGACCATCT CTTGCTCCGGCTCCTCCTCCAACATCGGCTC CTACTACGTGTCCTGGTATCAGCAGCTGCCT GGCACCGCTCCTAAGGTGCTGATCTACCGG AACAACCAGCGGCCTTCTGGCGTGCCCGAT AGATTCTCCGGCTCTAAGTCTGGCACCTCTG CCAGCCTGGCTATCACTGGACTGCAGGCTG AGGACGAGGCCGACTACTACTGCGACTCTT GGGACCACTCCTCCATGAACGTGTTCGGCG GAGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGACAG
	중쇄 (IgG1) IgG1 AEASS	서열번호: 80	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCTCCAG CTACGCTATGCACTGGGTCCGACAGGCCCC TGGCAAAGGATTGGAGTGGGTCGGACGGAT CAAGAGCAAGGCTCAAGGCGGCACCACCGA TTACGCCGCTCATGTGAAGGGCAGATTCAC CATCTCTCGGGACGACTCCAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAACTCCCTGAAAACCGA GGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGT GTCCTTCTCCACCTTCGATGTGTGGGGCCA GGGCACACTGGTTACAGTCTCGAGCGCCTC CACCAAAGGACCCTCTGTGTTTCCTCTGGCT CCCTCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAACA GCTGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGATTAC TTTCCTGAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAACT CTGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCT TTCCAGCTGTGCTGCAGTCCTCTGGCCTGTA CAGCCTGTCCTCTGTCGTGACCGTGCCTTCT AGCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGC AATGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGG TGGACAAGAGAGTGGAACCCAAGTCCTGCG ACAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGC TCCAGAAGCTGAGGGCGCTCCTTCCGTGTT CCTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTG ATGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGC GTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCA GAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGC GTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCT AGAGAGGAACAGTACAACTCCACCTACAGA GTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAG GATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGC AAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTTCCAGC ATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGC CAGCCTAGGGAACCCCAGGTTTACACCCTG CCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAAC CAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGGC TTCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGG AGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACTACA AGACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACG GCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACAGT GGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGT GTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCT GCACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGTCT CTGTCCCCTGGCAAG

[0556]

MAB#1		서열번호:	[aa] / DNA
	경쇄 (DNA)	서열번호: 81	CAGTCCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGTTT CTGGTGCTCCTGGCCAGAGAGTGACCATCT CTTGCTCCGGCTCCTCCTCCAACATCGGCTC CTACTACGTGTCCTGGTATCAGCAGCTGCCT GGCACCGCTCCTAAGGTGCTGATCTACCGG AACAACCAGCGGCCTTCTGGCGTGCCCGAT AGATTCTCCGGCTCTAAGTCTGGCACCTCTG CCAGCCTGGCTATCACTGGACTGCAGGCTG AGGACGAGGCCGACTACTACTGCGACTCTT GGGACCACTCCTCCATGAACGTGTTCGGCG GAGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGACAGC CTAAGGCTGCCCCTTCCGTGACACTGTTCCC TCCATCCTCTGAGGAACTGCAGGCCAACAA GGCTACCCTCGTGTGCCTGATCTCCGACTTT TACCCTGGCGCTGTGACCGTGGCCTGGAAG GCTGATAGTTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTG GAAACCACCACACCTTCCAAGCAGTCCAACA ACAAATACGCCGCCTCCTCCTACCTGTCTCT GACCCCTGAACAGTGGAAGTCCCACCGGTC CTACAGCTGCCAAGTGACCCATGAGGGCTC CACCGTGGAAAAGACCGTGGCTCCTACCGA GTGCTCT

표 2

MAB#2 의 항체 서열

[0557]

MAB#2		서열번호:	[aa] / DNA
MAB#2 단백질			
	HCDR1 (Kabat)	서열번호: 27	SYAMH
	HCDR2 (Kabat)	서열번호: 39	RIKSVAQGGTTDYAAHVKG
	HCDR3 (Kabat)	서열번호: 40	VSHSTFDV
	HCDR1 (Chothia)	서열번호: 30	GFTFSSY
	HCDR2 (Chothia)	서열번호: 41	KSVAQGGT
	HCDR3 (Chothia)	서열번호: 40	VSHSTFDV
	LCDR1 (Kabat)	서열번호: 32	SGSSSNIGSYYVS
	LCDR2 (Kabat)	서열번호: 33	RNNQRPS
	LCDR3 (Kabat)	서열번호: 34	DSWDHSSMNV
	LCDR1 (Chothia)	서열번호: 32	SGSSSNIGSYYVS
	LCDR2 (Chothia)	서열번호: 33	RNNQRPS
	LCDR3 (Chothia)	서열번호: 34	DSWDHSSMNV
	VH	서열번호: 42	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMHWVRQAPGKGLEWVGRIKSVAQGGTTDY AAHVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCARVSHSTFDVWGQGTLVTVSS

[0558]

MAB#2		서열번호:	[aa] / DNA
	VL	서열번호: 43	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSY YVSWYQQLPGTAPKVLIYRNNQRPSGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCDSWDH SSMNVFGGGTKLTVLGQ
	중쇄 IgG1_AEASS	서열번호: 44	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMHWVRQAPGKGLEWVGRIKSVAQGGTTDY AAHVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTA VYYCARVSHSTFDVWGQGTLVTVSSASTKGP SVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
	경쇄	서열번호: 45	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCSGSSSNIGSY YVSWYQQLPGTAPKVLIYRNNQRPSGVPDRF SGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCDSWDH SSMNVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSE ELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPV KAGVETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
MAB#2 DNA			
	HCDR1 (Kabat)	서열번호: 58	AGCTATGCGATGCAC
	HCDR2 (Kabat)	서열번호: 59	CGTATCAAATCCGTGGCCCAGGGCGGTACG ACCGACTACGCGGCGCACGTGAAAGGC
	HCDR3 (Kabat)	서열번호: 60	GTTTCTCATTCCACTTTCGATGTT
	HCDR1 (Chothia)	서열번호: 61	GGATTTACCTTCAGCAGCTAT
	HCDR2 (Chothia)	서열번호: 62	AAATCCGTGGCCCAGGGCGGTACG
	HCDR3 (Chothia)	서열번호: 60	GTTTCTCATTCCACTTTCGATGTT
	LCDR1 (Kabat)	서열번호: 63	AGCGGCAGCTCCTCCAATATTGGTAGCTATT ACGTGAGC
	LCDR2 (Kabat)	서열번호: 64	CGTAATAATCAACGTCCTAGC
	LCDR3 (Kabat)	서열번호: 65	GACAGCTGGGATCACAGCTCCATGAATGTT
	LCDR1 (Chothia)	서열번호: 63	AGCGGCAGCTCCTCCAATATTGGTAGCTATT ACGTGAGC
	LCDR2 (Chothia)	서열번호: 64	CGTAATAATCAACGTCCTAGC
	LCDR3 (Chothia)	서열번호: 65	GACAGCTGGGATCACAGCTCCATGAATGTT

[0559]

MAB#2		서열번호:	[aa] / DNA
	VH	서열번호: 66	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGTGGC CTGGTGAAACCAGGCGGCAGCCTGCGCCTG AGCTGCGCCGCCTCCGGATTTACCTTCAGC AGCTATGCGATGCACTGGGTGCGCCAGGCC CCGGGCAAAGGTCTCGAATGGGTGGGTCGT ATCAAATCCGTGGCCCAGGGCGGTACGACC GACTACGCGGCGCACGTGAAAGGCCGCTTT ACCATTAGCCGCGATGATTCGAAAAACACCC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGA AGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGTT TCTCATTCCACTTTCGATGTTTGGGGCCAAG GCACCCTGGTGACTGTCTCGAGC
	VL	서열번호: 67	CAGAGCGTGCTGACCCAGCCTCCTAGCGTG AGCGGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATT AGCTGTAGCGGCAGCTCCTCCAATATTGGTA GCTATTACGTGAGCTGGTATCAGCAGCTGC CGGGCACGGCGCCGAAAGTTCTGATCTATC GTAATAATCAACGTCCTAGCGGCGTGCCGG ATCGCTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCA GCGCCAGCCTGGCGATTACCGGCCTGCAAG CAGAAGATGAAGCGGATTATTACTGCGACAG CTGGGATCACAGCTCCATGAATGTTTTTGGC GGCGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAG

[0560]

MAB#2		서열번호:	[aa] / DNA
	중쇄 (IgG1) IgG1 AEASS	서열번호: 68	GAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGTGGC CTGGTGAAACCAGGCGGCAGCCTGCGCCTG AGCTGCGCCGCCTCCGGATTTACCTTCAGC AGCTATGCGATGCACTGGGTGCGCCAGGCC CCGGGCAAAGGTCTCGAATGGGTGGGTCGT ATCAAATCCGTGGCCCAGGGCGGTACGACC GACTACGCGGCGCACGTGAAAGGCCGCTTT ACCATTAGCCGCGATGATTCGAAAAACACCC TGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGA AGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGTT TCTCATTCCACTTTCGATGTTTGGGGCCAAG GCACCCTGGTGACTGTCTCGAGCGCGTCGA CCAAAGGCCCCAGCGTGTTCCCTCTGGCCC CCAGCAGCAAGAGCACCTCTGGCGGAACAG CCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCCTGGAACT CTGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCT TTCCAGCCGTGCTCCAGAGCAGCGGCCTGT ACAGCCTGAGCAGCGTCGTGACCGTGCCCA GCAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCT GCAACGTGAACCACAAGCCCAGCAACACAA AGGTGGACAAGCGGGTGGAACCCAAGAGCT GCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCCTGCC CTGCCCCTGAAGCGGAGGGAGCCCCCTCC GTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCTAAGGACA CCCTGATGATCAGCCGGACCCCCGAAGTGA CCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCCACGAGG ACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA CGGCGTGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAA GCCCAGAGAGGAACAGTACAACAGCACCTA CCGGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAA GTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTTC CTCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGGCCAAA GGCCAGCCCCCGCGAGCCCCAGGTGTACACA CTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAG GGCTTCTACCCCAGCGACATTGCCGTGGAA TGGGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACAAC TACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGACAGC GACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGA CCGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGC AACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAG GCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCC CTGAGCCTGAGCCCCGGCAAG

[0561]

MAB#2		서열번호:	[aa] / DNA
	경쇄 (DNA)	서열번호: 69	CAGAGCGTGCTGACCCAGCCTCCTAGCGTG AGCGGTGCACCGGGCCAGCGCGTGACCATT AGCTGTAGCGGCAGCTCCTCCAATATTGGTA GCTATTACGTGAGCTGGTATCAGCAGCTGC CGGGCACGGCGCCGAAAGTTCTGATCTATC GTAATAATCAACGTCCTAGCGGCGTGCCGG ATCGCTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCA GCGCCAGCCTGGCGATTACCGGCCTGCAAG CAGAAGATGAAGCGGATTATTACTGCGACAG CTGGGATCACAGCTCCATGAATGTTTTTGGC GGCGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAG CCCAAAGCCGCCCCTAGCGTGACCCTGTTC CCCCCCTCGAGTGAGGAACTCCAGGCCAAC AAGGCCACCCTCGTGTGCCTGATCAGCGAC TTCTACCCTGGCGCCGTGACCGTGGCCTGG AAGGCCGATAGCAGCCCTGTGAAGGCCGGC GTGGAAACCACCACCCCCAGCAAGCAGAGC AACAACAAATACGCCGCCAGCAGCTACCTG AGCCTGACCCCCGAGCAGTGGAAGTCCCAC AGATCCTACAGCTGCCAGGTCACACACGAG GGCAGCACCGTGGAAAAGACCGTGGCCCCC ACCGAGTGCAGC
MAB#2 DNA 최적화됨			
	HCDR1 (Kabat)	서열번호: 82	AGCTACGCTATGCAC
	HCDR2 (Kabat)	서열번호: 83	CGGATCAAGAGCGTTGCCCAAGGCGGCACC ACCGATTACGCTGCTCATGTGAAGGGC
	HCDR3 (Kabat)	서열번호: 84	GTGTCCCACTCTACCTTCGATGTG
	HCDR1 (Chothia)	서열번호: 85	GGCTTCACCTTCTCCAGCTAC
	HCDR2 (Chothia)	서열번호: 86	AAGAGCGTTGCCCAAGGCGGCACC
	HCDR3 (Chothia)	서열번호: 84	GTGTCCCACTCTACCTTCGATGTG
	LCDR1 (Kabat)	서열번호: 87	TCCGGCTCCTCCTCCAACATCGGCTCCTACT ACGTGTCC
	LCDR2 (Kabat)	서열번호: 88	CGGAACAACCAGCGGCCTTCT
	LCDR3 (Kabat)	서열번호: 89	GACTCTTGGGACCACTCCTCCATGAACGTG
	LCDR1 (Chothia)	서열번호: 87	TCCGGCTCCTCCTCCAACATCGGCTCCTACT ACGTGTCC
	LCDR2 (Chothia)	서열번호: 88	CGGAACAACCAGCGGCCTTCT
	LCDR3 (Chothia)	서열번호: 89	GACTCTTGGGACCACTCCTCCATGAACGTG

[0562]

MAB#2		서열번호:	[aa] / DNA
	VH	서열번호: 90	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCTCCAG CTACGCTATGCACTGGGTCCGACAGGCCCC TGGCAAAGGATTGGAGTGGGTCGGACGGAT CAAGAGCGTTGCCCAAGGCGGCACCACCGA TTACGCTGCTCATGTGAAGGGCAGATTCACC ATCAGCCGGGACGACTCCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACTCCCTGAAAACCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTG TCCCACTCTACCTTCGATGTGTGGGGCCAG GGCACACTGGTTACAGTCTCGAGC
	VL	서열번호: 91	CAGTCCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGTTT CTGGTGCTCCTGGCCAGAGAGTGACCATCT CTTGCTCCGGCTCCTCCTCCAACATCGGCTC CTACTACGTGTCCTGGTATCAGCAGCTGCCT GGCACCGCTCCTAAGGTGCTGATCTACCGG AACAACCAGCGGCCTTCTGGCGTGCCCGAT AGATTCTCCGGCTCTAAGTCTGGCACCTCTG CCAGCCTGGCTATCACTGGACTGCAGGCTG AGGACGAGGCCGACTACTACTGCGACTCTT GGGACCACTCCTCCATGAACGTGTTCGGCG GAGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGACAG

[0563]

MAB#2		서열번호:	[aa] / DNA
	중쇄 (IgG1) IgG1 AEASS	서열번호: 92	GAAGTGCAGCTGGTGGAATCTGGCGGCGGA CTTGTGAAACCTGGCGGCTCTCTGAGACTGT CTTGTGCCGCTTCCGGCTTCACCTTCTCCAG CTACGCTATGCACTGGGTCCGACAGGCCCC TGGCAAAGGATTGGAGTGGGTCGGACGGAT CAAGAGCGTTGCCCAAGGCGGCACCACCGA TTACGCTGCTCATGTGAAGGGCAGATTCACC ATCAGCCGGGACGACTCCAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAACTCCCTGAAAACCGAG GACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGAGTG TCCCACTCTACCTTCGATGTGTGGGGCCAG GGCACACTGGTTACAGTCTCGAGCGCCTCC ACCAAAGGACCCTCTGTGTTTCCTCTGGCTC CCTCCAGCAAGTCTACCTCTGGTGGAACAG CTGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGATTACT TTCCTGAGCCTGTGACCGTGTCCTGGAACTC TGGCGCTCTGACATCTGGCGTGCACACCTTT CCAGCTGTGCTGCAGTCCTCTGGCCTGTAC AGCCTGTCCTCTGTCGTGACCGTGCCTTCTA GCTCTCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCA ATGTGAACCACAAGCCTTCCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGTGGAACCCAAGTCCTGCGA CAAGACCCACACCTGTCCTCCATGTCCTGCT CCAGAAGCTGAGGGCGCTCCTTCCGTGTTC CTGTTTCCTCCAAAGCCTAAGGACACCCTGA TGATCTCTCGGACCCCTGAAGTGACCTGCG TGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGACCCAG AAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCG TGGAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTA GAGAGGAACAGTACAACTCCACCTACAGAG TGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCACCAGG ATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCA AGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTTCCAGCA TCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCC AGCCTAGGGAACCCCAGGTTTACACCCTGC CTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAACC AGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAGGGCT TCTACCCTTCCGATATCGCCGTGGAATGGGA GAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAACTACAA GACAACCCCTCCTGTGCTGGACTCCGACGG CTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACAGTG GACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTG TTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTG CACAATCACTACACACAGAAGTCCCTGTCTC TGTCCCCTGGCAAG

[0564]

MAB#2		서열번호:	[aa] / DNA
	경쇄 (DNA)	서열번호: 93	CAGTCCGTGCTGACCCAGCCTCCTTCTGTTT CTGGTGCTCCTGGCCAGAGAGTGACCATCT CTTGCTCCGGCTCCTCCTCCAACATCGGCTC CTACTACGTGTCCTGGTATCAGCAGCTGCCT GGCACCGCTCCTAAGGTGCTGATCTACCGG AACAACCAGCGGCCTTCTGGCGTGCCCGAT AGATTCTCCGGCTCTAAGTCTGGCACCTCTG CCAGCCTGGCTATCACTGGACTGCAGGCTG AGGACGAGGCCGACTACTACTGCGACTCTT GGGACCACTCCTCCATGAACGTGTTCGGCG GAGGTACCAAGCTGACCGTGCTGGGACAGC CTAAGGCTGCCCCTTCCGTGACACTGTTCCC TCCATCCTCTGAGGAACTGCAGGCCAACAA GGCTACCCTCGTGTGCCTGATCTCCGACTTT TACCCTGGCGCTGTGACCGTGGCCTGGAAG GCTGATAGTTCTCCTGTGAAGGCCGGCGTG GAAACCACCACACCTTCCAAGCAGTCCAACA ACAAATACGCCGCCTCCTCCTACCTGTCTCT GACCCCTGAACAGTGGAAGTCCCACCGGTC CTACAGCTGCCAAGTGACCCATGAGGGCTC CACCGTGGAAAAGACCGTGGCTCCTACCGA GTGCTCT

표 3

RefMAB#1 의 항체 서열

RefMAB#1		서열번호:	[aa]
RefMAB#1 단백질			
	중쇄 IgG1_AEASS	서열번호: 94	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS SYVMHWVRQATGKGLEWVSAIDTGGGTYYA DSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTA VYYCARDYYYYASGSYYKAFDIWGQGTMVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCL VKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKP SNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEG APSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSH EDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	경쇄	서열번호: 95	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSS RYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASSRATGIPDR FSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYG SPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQ SGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0565]

[0566] **작업 실시예**

[0567] **실시예 1: 항원 생성 및 품질 관리**

[0568] 다양한 종의 C5aR 및 C5aR 관련 GPCR의 아미노산 서열을 공개적으로 이용가능한 출처(예를 들어, Uniprot)에서 입수하고, 자체(in-house) 또는 외부 서비스 제공자를 통해 검증하고 생산했다.

[0569] **합성 펩티드**

[0570] 초기 패닝 및 스크리닝을 위한 항원으로, 인간 C5aR의 N-말단 세포외 영역을 커버하는 선형 펩티드를 사용했다. 펩티드를 비오틴 태그(JPT)와 함께 화학적으로 합성하고, RP-HPLC로 정제하고 동결건조된 물질로 전달했다. 동결건조된 펩티드를 -80℃에 보관했다. 대안적으로, 펩티드를 트랜스페린 또는 소 혈청 알부민(BSA)에 컨주게이션시켰다.

표 4

초기 패닝 및 스크리닝에 사용한 N-말단 인간 C5aR 펩티드의 아미노산 서열.

N-말단 C5aR 펩티드		
인간	서열번호: 12	MDSFNYTTPDYGHYDDKDTLDLNTPVDKTSN

[0571]

[0572] 추후 결합 연구를 위한 항원으로서, 인간 및 시노몰구스 원숭이 C5aR의 N-말단 영역을 포함하는 선형 펩티드를 사용했다. 펩티드를 비오틴 태그(Genscript)와 함께 화학적으로 합성했고, RP-HPLC로 정제하고 동결건조된 물질로 전달했다. 동결건조된 펩티드를 -80℃에서 보관했다. 재구성을 위해, 펩티드를 원하는 부피의 PBS에 용해시키고 -80℃에서 보관했다.

표 5

결합 연구에 사용한 N-말단 C5aR 펩티드의 아미노산 서열.

N-말단 C5aR 펩티드 (C5aR_NT 펩티드)		
인간	서열번호: 13	MDSFNYTTPDYGHYDDKDTLDLNTPVDKTSNTLRVPD
시노몰구스	서열번호: 14	MDPFSSTTLDYEHYDGKNVLDSDTPVDKTSNTLRVPD

[0573]

[0574] **재조합 단백질**

[0575] *C1q 단백질*

[0576] 풀링된 정상 인간 혈장에서 정제된 C1q 단백질은 Complement Technology, Inc.(카탈로그 # A099)에서 구입했다.

[0577] *인간 C5a 단백질*

[0578] 재조합 인간 C5a를 R&D Systems(CAT#: 2037-C5)에서 구입하거나 자체로(in-house) 생산했다.

[0579] 자체 생산을 위해 인간 C5a의 아미노산을 코딩하는 DNA(Uniprot: P01031| Lys679 - Arg751)를 N-말단 ompA 신호 서열과 후속하여 말토스-결합 단백질(MBP), FXa 절단 부위 및 GS 링커를 코딩하는 서열을 pET21a 발현 벡터(Novagen)에 프레임 내에 클로닝했다.

[0580] 인간 C5a(hC5a)를 E. 콜라이(E. coli) BL21(DE3) 세포(Novagen)에서 N-말단 태그가 붙은 말토오스 결합 단백질(MBP)-융합 단백질로 발현시켰다. 단백질 발현을 IPTG의 첨가로 유도시켰고 배양물을 20 내지 23시간 동안 추가로 배양했다. 세포를 원심분리에 의해 수확하고 펠릿을 용해 완충액(PBS 완충액 + 2 mM $MgCl_2$, 20 U/mℓ 벤조나아제(Roche) 및 1개 정제/50 ml cComplete, EDTA가 없는 프로테아제 억제제 칵테일 정제(Roche))에 재현탁시켰다. 세포를 화학적 용해 또는 고압 균질화에 의해 파괴시켰다. 생성된 현탁액을 원심분리하고 상청액을 추가 정제 단계를 위해 멸균 여과했다.

[0581] hC5a-MBP-융합 단백질을 MBP-Trap 컬럼(GE-Healthcare)을 사용하는 덱스트린-세파로스(Dextrin-Sepharose) 친화도 크로마토그래피로 정제하고 선택적으로 Hi-Trap SP FF 컬럼(GE LifeSciences)을 사용하는 양이온 교환 크로마토그래피로 가공(polishing)했다. 정제된 MBP-융합물을 PD10 컬럼(GE Healthcare)으로 FXa-분해 완충액(20 mM 트리스/HCl pH 8.0; 100 mM NaCl; 2mM $CaCl_2$)으로 완충액-교체를 수행했다. hC5a 단백질을 인자 Xa(1:100(w/w))를 첨가하고 실온에서 회전식 진탕기에서 O/N 인큐베이션함으로써 말토스-결합 단백질로부터 방출시켰다. 방출된 hC5a를 Hi-Trap SP FF 컬럼(GE LifeSciences)을 사용하여 양이온 교환 크로마토그래피로 정제했다. 모든 친화도 크로마토그래피 단계를 ÄKTA Avant 25 분취(preparative) 크로마토그래피 시스템을 사용하여 수행했다.

[0582] PBS로의 완충액 교체를 PD 10 컬럼(GE Healthcare)을 사용하여 수행했다. 샘플을 멸균 여과하고 hC5a 농도를 UV-분광광도법으로 결정했다. 샘플의 순도 및 무결성을 변성, 환원 또는 비환원 SDS-PAGE, SEC-HPLC 및 질량 분석으로 분석했다.

[0583] *Fc 감마 수용체(FcγR) 및 FcRn 수용체*

[0584] 인간 FcγRI, 인간 FcγRIIa(131H), 인간 FcγRIIa(131R), 인간 FcγRIIb, 인간 FcγRIIIa(158F) 및 인간 FcγRIIIa(158V)의 세포외 영역을 코딩하는 DNA는 N-말단 Vκ 리더 서열 및 C-말단 6x His-태그와 함께, pcDNA3.1(Thermo Fisher)에 기반한 변형된 발현 벡터인, pMAX 발현 벡터로 프레임 내로 클로닝했다.

[0585] 인간, 시노몰구스, 마우스 또는 래트 FcRn 대형(large) 서브유닛 p51의 세포외 영역을 코딩하는 DNA를 N-말단 Vκ 리더 서열 및 C-말단 AVI-6xHis-태그와 함께, pcDNA3.1(Thermo Fisher)에 기반한 변형된 발현인, pMAX 발현 벡터에 프레임 내로 클로닝했다. 또한, 인간, 시노몰구스 원숭이, 마우스 또는 래트 FcRn 소형(small) 서브유닛 p14(=베타-2 마이크로글로불린과 동일) 단백질을 코딩하는 DNA를 N-말단 Vk 리더 서열과 프레임 내로 두 번째 오픈 리딩 프레임으로 클로닝했다. 생성된 수용체의 아미노산 서열은 표 6 및 7에 요약되어 있다.

[0586] HEK293-6E 세포주는 NRC(National Research Council of Canada)에 의해 개발되었다. 세포를 37℃ 및 6% CO_2에서 가습된 CO 인큐베이터에서 Freestyle F17 배지(Thermo Scientific)에서 유지했다. HKB11(모 클론: 미국 특

허 제6,136599호. J. Biomed. Sci. 2002; 9:631-638)은 HEK293 인간 배아 신장과 2B8 버킷 림프종 세포의 융합으로 생성된 인간 하이브리드 세포주이다. HKB11 #52 세포를 37℃ 및 6% CO_2에서 가습된 CO_2 인큐베이터에서 1% FCS를 포함하는 MAC1.0 배지에서 유지했다.

[0587] HKB11#52 또는 HEK293-6E 세포를 제조사의 지침에 따라 상업적으로 이용가능한 형질감염 시약으로 접종 하루 후 일시적으로 형질감염시켰다. 세포를 3일 동안 배양하고, 조절된(conditioned) 세포 배양 상청액을 원심분리에 이어 멸균 여과(0.22 ㎛)에 의해 수확했다. 안정적으로 형질감염된 HKB11#52 풀을 세포의 형질감염에 이어 800 ㎍/㎖ G418(Thermo Scientific)을 사용한 선택에 의해 생성시켰다. 안정한 풀로부터 항원의 발현을 접종 후 4일 동안 진행했다. 조절된 세포 배양 상청액을 원심분리 후 이어서 멸균 여과(0.22 ㎛)하여 수확했다.

[0588] 각 단백질을 Protino Ni-NTA 컬럼(Macherey-Nagel)을 사용하여 IMAC로 정제했다. 모든 크로마토그래피 단계를 ÄKTA 크로마토그래피 시스템(GE Healthcare)을 사용하여 수행했다. 샘플을 PD10 컬럼(GE Healthcare)을 사용하여 D-PBS로 완충액-교체했다. 일부 경우, Superdex 200 컬럼(GE Healthcare)을 사용하여 D-PBS에서 가공 분취 SEC 단계를 수행했다.

[0589] FcRn 이종이량체의 비오틴화를 BirA 키트(Avidity)를 사용한 시험관내 비오틴화에 이어 Superdex 200 컬럼(GE Healthcare)을 사용하는 분취 SEC에 의해 수행했다.

[0590] 샘플의 품질을 변성, 환원 또는 비환원 SDS-PAGE, 스프렙타비딘-시프트(Streptavidin-Shift) 분석, HP-SEC 및 DLS로 분석했다.

표 6

생산된 FcRn 단백질의 아미노산 서열

FcRn 융합 단백질	UniProt IDs:	서열 번호:	단백질 서열
인간 FcRn p51 [1-297] / AviHis / p14 비오티닐화됨	P55899 (p51) P61769 (p14)	서열 번호:15	AESHLSLLYHLTAVSSPAPGTPAFWVSGWLGPQ QYLSYNSLRGEAEPCGAWVWENQVSWYWEKE TTDLRIKEKLFLEAFKALGGKGPYTLQGLLGCEL GPDNTSVPTAKFALNGEEFMNFDLKQGTWGGD WPEALAISQRWQQQDKAANKELTFLLFSCPHRL REHLERGRGNLEWKEPPSMRLKARPSSPGFSV LTCSAFSFYPPELQLRFLRNGLAAGTGQGDFGP NSDGSFHASSSLTVKSGDEHHYCCIVQHAGLAQ PLRVELESPAKSSVNSRGLNDIFEAQKIEWHEHH HHHHIQRTPKIQVYSRHPAENGKSNFLNCYVSG FHPSDIEVDLLKNGERIEKVEHSDLSFSKDWSFY LLYYTEFTPTEKDEYACRVNHVTLSQPKIVKWDR DM
시노몰구스 FcRn p51 [1-297]_AviHis / p14 비오티닐화됨	Q8SPV9 (p51) P61769 (p14)	서열 번호:16	AESHLSLLYHLTAVSSPAPGTPAFWVSGWLGPQ QYLSYDSLRGQAEPCGAWVWENQVSWYWEKE TTDLRIKEKLFLEAFKALGGKGPYTLQGLLGCEL SPDNTSVPTAKFALNGEEFMNFDLKQGTWGGD WPEALAISQRWQQQDKAANKELTFLLFSCPHRL REHLERGRGNLEWKEPPSMRLKARPGNPGFSV LTCSAFSFYPPELQLRFLRNGMAAGTGQGDFGP NSDGSFHASSSLTVKSGDEHHYCCIVQHAGLAQ PLRVELETPAKSSVNSRGLNDIFEAQKIEWHEHH HHHHIQRTPKIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSG FHPSDIEVDLLKNGEKMGKVEHSDLSFSKDWSF YLLYYTEFTPNEKDEYACRVNHVTLSGPRTVKW DRDM
마우스 FcRn p51 [1-297] / AviHis / p14 비오티닐화됨	Q61559 (p51) P61769 (p14)	서열 번호:17	SETRPPLMYHLTAVSNPSTGLPSFWATGWLGP QQYLTYNSLRQEADPCGAWMWENQVSWYWEK ETTDLKSKEQLFLEALKTLEKILNGTYTLQGLLGC ELASDNSSVPTAVFALNGEEFMKFNPRIGNWTG EWPETEIVANLWMKQPDAARKESEFLLNSCPER LLGHLERGRRNLEWKEPPSMRLKARPGNSGSS VLTCAAFSFYPPELKFRFLRNGLASGSGNCSTG PNGDGSFHAWSLLEVKRGDEHHYQCQVEHEGL AQPLTVDLDSSARSSVNSRGLNDIFEAQKIEWHE HHHHHHIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNILNCYVT QFHPPHIEIQMLKNGKKIPKVEMSDMSFSKDWS FYILAHTEFTPTETDTYACRVKHDSMAEPKTVYW DRDM
래트 FcRn p51 [1-298] / AviHis / p14 비오티닐화됨	P13599 (p51) P61769 (p14)	서열 번호:96	AEPRLPLMYHLAAVSDLSTGLPSFWATGWLGAQ QYLTYNNLRQEADPCGAWIWENQVSWYWEKET TDLKSKEQLFLEAIRTLENQINGTFTLQGLLGCEL APDNSSLPTAVFALNGEEFMRFNPRTGNWSGE WPETDIVGNLWMKQPEAARKESEFLLTSCPERL LGHLERGRQNLEWKEPPSMRLKARPGNSGSSV LTCAAFSFYPPELKFRFLRNGLASGSGNCSTGP NGDGSFHAWSLLEVKRGDEHHYQCQVEHEGLA QPLTVDLDSPARSSVNSRGLNDIFEAQKIEWHEH HHHHHIQKTPQIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVS QFHPPQIEIELLKNGKKIPNIEMSDLSFSKDWSFY ILAHTEFTPTETDVYACRVKHVTLKEPKTVTWDR DM

[0591]

표 7

생산된 인간 FcγR 단백질의 아미노산 서열

FcγR 융합 단백질	UniProt IDs:	서열 번호:	단백질 서열
인간 FcγRI (1-279)_HIS$_6$	P12314	서열 번호:18	QVDTTKAVITLQPPWVSVFQEETVTLHCEVLHLP GSSSTQWFLNGTATQTSTPSYRITSASVNDSGE YRCQRGLSGRSDPIQLEIHRGWLLLQVSSRVFT EGEPLALRCHAWKDKLVYNVLYYRNGKAFKFFH WNSNLTILKTNISHNGTYHCSGMGKHRYTSAGIS VTVKELFPAPVLNASVTSPLLEGNLVTLSCETKLL LQRPGLQLYFSFYMGSKTLRGRNTSSEYQILTAR REDSGLYWCEAATEDGNVLKRSPELELQVNSR HHHHHH
인간 FcγRIIa (1-209) – (131H) – HIS$_6$(133-2)	P12318	서열 번호:19	QAAAPPKAVLKLEPPWINVLQEDSVTLTCQGAR SPESDSIQWFHNGNLIPTHTQPSYRFKANNNDS GEYTCQTGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPHLE FQEGETIMLRCHSWKDKPLVKVTFFQNGKSQKF SHLDPTFSIPQANHSHSGDYHCTGNIGYTLFSSK PVTITVQVPSVNSRHHHHHH
인간 FcγRIIa (1-209) – (131R) – HIS$_6$ (137-3)	P12318	서열 번호:20	QAAAPPKAVLKLEPPWINVLQEDSVTLTCQGAR SPESDSIQWFHNGNLIPTHTQPSYRFKANNNDS GEYTCQTGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPHLE FQEGETIMLRCHSWKDKPLVKVTFFQNGKSQKF SRLDPTFSIPQANHSHSGDYHCTGNIGYTLFSSK PVTITVQVPSVNSRHHHHHH
인간 FcγRIIIa (1-193) – (158F) – HIS$_6$ (141-2)	P08637	서열 번호:21	GMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQG AYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDD SGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRW VFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRK YFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLFGSKNVSS ETVNITITQGVNSRHHHHHH
인간 FcγRIIIa (1-193) – (158V) – HIS$_6$	P08637	서열 번호:22	GMRTEDLPKAVVFLEPQWYRVLEKDSVTLKCQG AYSPEDNSTQWFHNESLISSQASSYFIDAATVDD SGEYRCQTNLSTLSDPVQLEVHIGWLLLQAPRW VFKEEDPIHLRCHSWKNTALHKVTYLQNGKGRK YFHHNSDFYIPKATLKDSGSYFCRGLVGSKNVS SETVNITITQGVNSRHHHHHH
인간 FcγRIIB (1-202) – HIS$_6$	P31994	서열 번호:23	TPAAPPKAVLKLEPQWINVLQEDSVTLTCRGTHS PESDSIQWFHNGNLIPTHTQPSYRFKANNNDSG EYTCQTGQTSLSDPVHLTVLSEWLVLQTPHLEF QEGETIVLRCHSWKDKPLVKVTFFQNGKSKKFS RSDPNFSIPQANHSHSGDYHCTGNIGYTLYSSK PVTITVQAPSDNSRHHHHHH

[0592]

[0593] **바이러스 유사 입자(VLP)**

[0594] 인간 C5aR의 2가지 천연 변이체(D/K 변이체 또는 N/N 변이체)뿐만 아니라 마우스 C5aR 중 하나를 안정적으로 발현하는 VLP를 WO 2015/193143에 기재된 바와 같이 자체로 생성시켰다. 모든 클로닝 실험을 표준 기술을 사용하여 수행했다. 관심 항원을 포유류 세포에서의 발현에 적합한 2개의 벡터 시스템에 클로닝했다. 이 시스템에서, 한 벡터는 GAG를 발현하고 다른 벡터는 GPCR-GAG 융합 단백질을 발현한다. 이러한 벡터에서의 발현은 CMV 프로모터의 제어 하에서 이루어진다. 이어서, 숙주 세포를 2개의 벡터로 형질감염시켰다. 생성된 구축물을, 관심 항원이 GAG-단백질(HV1B1(Uni-Prot ID: P03347))에 N-말단 융합된, 융합 단백질로 생성시켰다. 단백질의 발현 및 VLP의 생산을 현탁 배양의 표준 조건 하에서 수행했다. 본 실험에 사용된 숙주 세포는 HKB11 세포(ATCC; CRL-12568) 및 HEK 세포(Life Technologies)이었다. 형질감염 3일 후에 VLP를 함유하는 상청액을 수거하고 표준 절차(침전 및 이온 교환 크로마토그래피 포함)를 사용하여 정제했다. 분리된 단백질을 SDS-PAGE 크로마토그래피에 적용했다. 상청액을 상업용 항-GAG 항체 또는 상업용 항-C5aR 항체로 탐침하였고, GAG와 GPCR-GAG 융합 단백질의 동시발현이 VLP에서 GAG 및 GPCR-GAG의 높은 발현 수준을 초래한 것으로 드러났다. 이를 통해 C5aR 항원이 VLP에 효율적으로 통합되었고, C5aR 항원이 항체로 검출가능함을 확인했다. 생성된 융합 단백질의 아미노산 서열은 표 8에 요약되어 있다.

표 8

바이러스 유사 입자 상에 발현된 C5aR-GAG 융합 단백질의 단백질 서열

C5aR-HV1B1 융합 단백질	서열 번호:	단백질 서열
HIS_6 - 인간 C5aR (D/K 변이체) - HV1B1-GAG	서열 번호: 24	DGSHHHHHHGTMDSFNYTTPDYGHYDDKDTLDLNTPVDKTSNT LRVPDILALVIFAVVFLVGVLGNALVVWVTAFEAKRTINAIWFLNLA VADFLSCLALPILFTSIVQHHHWPFGGAACSILPSLILLNMYASILL LATISADRFLLVFKPIWCQNFRGAGLAWIACAVAWGLALLLTIPSF LYRVVREEYFPPKVLCGVDYSHDKRRERAVAIVRLVLGFLWPLL TLTICYTFILLRTWSRRATRSTKTLKVVVAVVASFFIFWLPYQVTGI MMSFLEPSSPTFLLLKKLDSLCVSFAYINCCINPIIYVVAGQGFQG RLRKSLPSLLRNVLTEESVVRESKSFTRSTVDTMAQKTQAVDIDY KDDDDKIEGRMDGARASVLSGGELDRWEKIRLRPGGKKKYKLK HIVWASRELERFAVNPGLLETSEGCRQILGQLQPSLQTGSEELR SLYNTVATLYCVHQRIEIKDTKEALDKIEEEQNKSKKKAQQAAAD TGHSSQVSQNYPIVQNIQGQMVHQAISPRTLNAWVKVVEEKAFS PEVIPMFSALSEGATPQDLNTMLNTVGGHQAAMQMLKETINEEA AEWDRVHPVHAGPIAPGQMREPRGSDIAGTTSTLQEQIGWMTN NPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILDIRQGPKEPFRDYVDR FYKTLRAEQASQEVKNWMTETLLVQNANPDCKTILKALGPAATL EEMMTACQGVGGPGHKARVLAEAMSQVTNTATIMMQRGNFRN QRKMVKCFNCGKEGHTARNCRAPRKKGCWKCGKEGHQMKDC TERQANFLGKIWPSYKGRPGNFLQSRPEPTAPPFLQSRPEPTAP PEESFRSGVETTTPPQKQEPIDKELYPLTSLRSLFGNDPSSQVN SRGLNDIFEAQKIEWHE

[0595]

C5aR-HV1B1 융합 단백질	서열 번호:	단백질 서열
HIS_6 - 인간 C5aR (N/N 변이체) - HV1B1-GAG	서열 번호: 25	DGSHHHHHHGTMNSFNYTTPDYGHYDDKDTLDLNTPVDKTSNT LRVPDILALVIFAVVFLVGVLGNALVVWVTAFEAKRTINAIWFLNLA VADFLSCLALPILFTSIVQHHHWPFGGAACSILPSLILLNMYASILL LATISADRFLLVFKPIWCQNFRGAGLAWIACAVAWGLALLLTIPSF LYRVVREEYFPPKVLCGVDYSHDKRRERAVAIVRLVLGFLWPLL TLTICYTFILLRTWSRRATRSTKTLKVVVAVVASFFIFWLPYQVTGI MMSFLEPSSPTFLLLNKLDSLCVSFAYINCCINPIIYVVAGQGFQG RLRKSLPSLLRNVLTEESVVRESKSFTRSTVDTMAQKTQAVDIGA RASVLSGGELDRWEKIRLRPGGKKKYKLKHIVWASRELERFAVN PGLLETSEGCRQILGQLQPSLQTGSEELRSLYNTVATLYCVHQRI EIKDTKEALDKIEEEQNKSKKKAQQAAADTGHSSQVSQNYPIVQ NIQGQMVHQAISPRTLNAWVKVVEEKAFSPEVIPMFSALSEGAT PQDLNTMLNTVGGHQAAMQMLKETINEEAAEWDRVHPVHAGPI APGQMREPRGSDIAGTTSTLQEQIGWMTNNPPIPVGEIYKRWIIL GLNKIVRMYSPTSILDIRQGPKEPFRDYVDRFYKTLRAEQASQEV KNWMTETLLVQNANPDCKTILKALGPAATLEEMMTACQGVGGP GHKARVLAEAMSQVTNTATIMMQRGNFRNQRKMVKCFNCGKE GHTARNCRAPRKKGCWKCGKEGHQMKDCTERQANFLGKIWPS YKGRPGNFLQSRPEPTAPPFLQSRPEPTAPPEESFRSGVETTTP PQKQEPIDKELYPLTSLRSLFGNDPSSQ
HIS_6 - 마우스 C5aR - HV1B1-GAG	서열 번호: 26	DGSHHHHHHGTMDPIDNSSFEINYDHYGTMAPNIPADGIHLPKR QPGDVAALIIYSVVFLVGVPGNALVVWVTAFEARRAVNAIWFLNL AVADLLSCLALPVLFTTVLNHNYWYFDATACIVLPSLILLNMYASIL LLATISADRFLLVFKPIWCQKVRGTGLAWMACGVAWVLALLLTIP SFVYREAYKDFYSEHTVCGINYGGGSFPKEKAVAILRLMVGFVLP LLTLNICYTFLLLRTWSRKATRSTKTLKVVMAVVICFFIFWLPYQV TGVMIAWLPPSSPTLKRVEKLNSLCVSLAYINCCVNPIIYVMAGQ GFHGRLLRSLPSIIRNALSEDSVGRDSKTFTPSTTDTSTRKSQAV DIDYKDDDDKIEGRMDGARASVLSGGELDRWEKIRLRPGGKKKY KLKHIVWASRELERFAVNPGLLETSEGCRQILGQLQPSLQTGSE ELRSLYNTVATLYCVHQRIEIKDTKEALDKIEEEQNKSKKKAQQA AADTGHSSQVSQNYPIVQNIQGQMVHQAISPRTLNAWVKVVEEK AFSPEVIPMFSALSEGATPQDLNTMLNTVGGHQAAMQMLKETIN EEAAEWDRVHPVHAGPIAPGQMREPRGSDIAGTTSTLQEQIGW MTNNPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPTSILDIRQGPKEPFRDY VDRFYKTLRAEQASQEVKNWMTETLLVQNANPDCKTILKALGPA ATLEEMMTACQGVGGPGHKARVLAEAMSQVTNTATIMMQRGN FRNQRKMVKCFNCGKEGHTARNCRAPRKKGCWKCGKEGHQM KDCTERQANFLGKIWPSYKGRPGNFLQSRPEPTAPPFLQSRPE PTAPPEESFRSGVETTTPPQKQEPIDKELYPLTSLRSLFGNDPSS QVNSRGLNDIFEAQKIEWHE

[0596]

[0597] **세포주**

[0598] 전체 길이 인간 C5aR, 시노몰구스 C5aR, 마우스 C5aR, 래트 C5aR 및 C5aR 관련 GPCR 인간 C5L2, 인간 C3aR, 인간 FPR1 및 인간 ChemR23을 안정적으로 발현하는 CHO Flp-In 세포를 생성시켰다. Flp-In CHO 세포의 생성을 위해, 다양한 벡터 구축물을 자체에서 유전자 합성하고 세포의 형질감염을 지시자의 매뉴얼(Thermofischer/Invitrogen)에 따라 수행했다. 모든 구축물은 N-말단 V5/His 태그를 포함했다. 상업적으로 이용가능한 항-His(예를 들어, Dianova CAT#DIA-910) 또는 항-V5(예를 들어, AbD Serotec CAT#MCA2285GA) 검출

항체를 사용하여, 심지어 상업적으로 이용 가능한 특정 항-GPCR 툴 항체 부재 하에도, 세포주 표면에서 각 GPCR의 발현을 확인했다.

[0599] **실시예 2: HuCAL PLATINUM® 라이브러리로부터 인간 C5aR 특이적 항체의 생성**

[0600] 항체 생성을 위해, HuCAL Platinum® 라이브러리를 사용하여 인간 C5aR에 대한 특이성을 갖는 항체를 선택했다. HuCAL PLATINUM® 라이브러리는 HuCAL 개념(Knappik et al., (2000) J Mol Biol 296:57-86)을 기반으로 하는 파지미드 라이브러리이며, 파지 표면에 Fab를 제시하기 위해 CysDisplay® 기술을 사용한다(Lohning et al., WO2001/05950).

[0601] 인간 C5aR 특이적 항체를 확인하기 위해, 종 교차-반응성 항체를 선택하기 위해 인간 및 시노몰구스 원숭이 C5aR 항원 물질을 사용하여 패닝 전략을 수행했다. 각각의 수행된 패닝은 다양한 C5aR 항원(가용성 재조합 항원으로서 또는 세포에서 과발현됨)에 대한 선택의 3회 이상의 개별 라운드로 구성되었다.

[0602] 시노몰구스와 인간 C5aR 사이의 전체 상동성은 90%로 다소 높지만 세포외 도메인은 단백질 서열의 동일성을 75%만 공유한다. 실제로, 시노몰구스 C5aR 교차-반응성 항체의 식별은 어려운 것으로 밝혀졌으며, MAB#1 및 MAB#2의 조상 항체는 세포에서 발현된 인간 C5aR에 대한 특이적 세포 결합, 시노몰구스 원숭이 C5aR에 대한 교차-반응성 및 다른 관련 GPCR에 대한 결합 없음을 나타내는 몇명 후보자들 중 하나이다.

[0603] 인간 C5aR의 N-말단(NT)을 나타내는 펩티드에 대한 비드 기반 용액 패닝을 수행하였으며 이는 인간 및 시노몰구스 원숭이 C5aR에 대해 특이성을 갖고 세포에서 발현된 전장 인간 C5aR에 결합할 수 있는 MAB#1 및 MAB#2의 조상 항체의 식별을 초래했다.

[0604] 이 클론은 인간 및 시노몰구스 C5aR에 대한 친화도 및 특이성을 추가로 증가시키기 위해 인간 또는 시노몰구스 C5aR을 과발현하도록 조작된 CHO Flp-In 세포를 사용하여 2회의 연속적으로 수행된 친화도 성숙 패닝을 거쳤다. 또한, 특이성을 더욱 높이고, 잠재적인 번역 후 변형 부위(PTM 모티브)를 제거하고 생식선을 목적으로 항체 조작(antibody engineering)을 수행했다.

[0605] 조작 프로세스의 이 마지막 단계를 통해, MAB#1 및 MAB#2를 잠재적인 치료 후보로 식별했다. 두 후보, MAB#1과 MAB#2는 동일한 조상에서 파생되었기 때문에, 이들은 유사한 아미노산 서열과 시험관내(*in vitro*) 특성을 공유한다.

[0606] 이들 두 항체는 아래에 요약된 대로 실시예에 추가로 설명되어 있다.

[0607] **실시예 3: 인간 C5aR 특이적 항체의 생산**

[0608] MAB#1 및 MAB#2는 둘 다 인간 IgG1f 이소형이지만 면역 이펙터 기능을 매개하는 항체의 능력을 폐기시키기 위해 Fc 영역에서 조작된다. Fc 영역은 야생형 인간 IgG1 Fc 영역과 비교하여 5개의 아미노산 치환, 즉 EU 인덱스에 따른 번호매김으로 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S(h_IgG1f_AEASS)를 포함한다.

[0609] 항체는 중쇄 프레임워크 VH3-15 및 항체 경쇄 프레임워크 람다 1로 구성된다.

[0610] **일시적인 항체 생산 - 진보된(Advanced) 마이크로 규모 생산 HKB11**

[0611] 진핵생물 HKB11#52 세포를 각각 MAB#1 또는 MAB#2(인간 IgG1_AEASS)의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 포유동물 발현 벡터로 일시적으로 형질감염시켰다. 세포 배양 상청액을 형질감염 7일 후에 수확하고 액체 핸들링 스테이션(liquid handling station)을 사용하여 단백질 A 친화도 크로마토그래피(MabSelect SuRe | GE Healthcare)에 적용했다. 샘플은 중화된 용리 완충액(NaPS: 137 mM Na포스페이트, 81 mM NaCl, pH 7)에 유지했다. 샘플을 멸균 여과했다(0.2 ㎛ 기공 크기). 단백질 농도를 280 nm에서 UV-분광광도법으로 결정하고 IgG의 순도를 CE-SDS(LabChip GXII | Perkin Elmer)를 사용하여 변성, 환원 조건 하에서 분석했다. UHP-SEC를 수행하여 천연 상태의 IgG 제조물(preparations)을 분석했다.

[0612] **일시적인 항체 생산 - CHO에서의 시험적(exploratory) 규모 생산**

[0613] CHO3-E7 세포를 각각 MAB#1 또는 MAB#2(인간 IgG1_AEASS)의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 포유동물 발현 벡터로 일시적으로 형질감염시켰다. 세포 배양 상청액을 형질감염 후 6일째에 수확하고 표준 단백질 A 친화도 크로마토그래피(MabSelect SuRe 쉐스케어)에 적용하였다. 달리 명시되지 않은 경우 1x Dulbecco의 PBS(pH 7.2 | Invitrogen)로 완충액 교체를 수행하고 샘플을 멸균 여과(0.2 ㎛ 기공 크기)했다. 단백질 농도를 280 nm에서

UV-분광광도법으로 결정하고 IgG의 순도를 CE-SDS(LabChip GXII | Perkin Elmer)를 사용하여 변성, 환원 및 비환원 조건에서 분석했다. UHP-SEC를 수행하여 천연 상태의 IgG 제조물을 분석했다.

[0614] *결과 일시적인 생산*

[0615] MAB#1 및 MAB#2의 제품 품질(SEC 단량체 함량) 및 생산성에 대한 데이터는 표 9에 요약되어 있다. 전반적으로, 허용가능한 단량체 함량(>95%) 및 수율(HKB11 세포에서 >55 mg/L)이 달성되었다. CHO3E-7 일시적 시험적 규모 생산에서 파생된 체적 수율(volumetric yield)이 또한 예상 범위 내에 있었다.

표 9

일시적 발현에서의 MAB#1 및 MAB#2의 생산 데이타

[0616]

항체	생산 플랫폼	SEC 단량체 [%]	부피 수율 [mg/L]
MAB#1	진보된 마이크로 HKB11	97.5	56.1
	시험적 CHO	96.4	3.0
MAB#2	진보된 마이크로 HKB11	97.4	58.9
	시험적 CHO	98.5	2.4

[0617] **안정적인 HKB11 풀 생성**

[0618] MAB#1 또는 MAB#2를 안정적으로 발현하는 HKB11#52 풀의 생성을 위해, 이중 벡터 시스템을 공동 형질감염에 사용했다.

[0619] 풀 선택을 용이하게 하기 위해 이러한 벡터에는 Zeocin 및 Neomycin 내성 카세트가 포함되어 있다. 2개의 벡터를 1:1 비율로 활성 분할 HKB11#52 세포에 일시적으로 동시 형질감염시켰다. 형질감염 1일 후 세포 현탁액에 160 ㎍/㎖ 제오신 및 800 ㎍/㎖ 제네티신을 첨가하여 선택을 시작했다. 선택하는 동안, 세포 계수와 생존도는 처음에 감소했다. 형질감염 20일 후 세포가 회복되기 시작했다. ~80%의 생존도에 도달하면, 안정적인 풀이 필요한 양에 따라 원하는 부피로 확대되었다. 배치 생산물(batch production)의 세포 배양 상청액을 접종 후 6일째에 수확했다.

[0620] **MAB#1 및 MAB#2의 대규모 정제**

[0621] HKB11#52 안정한 풀의 세포 배양 상청액으로부터 MAB#1 및 MAB#2의 정제를 용리 완충액으로서 100 mM 시트레이트, 150 mM NaCl pH 3.5를 사용하여 단백질 A 친화도 크로마토그래피(MabSelect | SURE GE Healthcare)를 통해 수행하였다. pH 3.5에서 60분 동안 인큐베이션한 후, 샘플을 중화시켰다. 완충제 교체를 pH 6.0, 150 mM 히스티딘으로 수행하고 샘플을 멸균 여과했다(0.2 ㎛ 기공 크기). 단백질 농도를 280 nm에서 UV-분광광도법으로 측정하고, IgG의 순도를 CE-SDS(LabChip GXII lmer)를 사용하여 변성, 환원 및 비환원 조건하에서 분석했다. UHP-SEC를 수행하여 천연 상태의 IgG 제조물을 분석했다.

[0622] *결과 대규모 생산*

[0623] 표 10에 요약된 바와 같이, MAB#1 및 MAB#2의 생산은 바람직한 수율, 순도 및 무결성을 초래했다.

표 10

안정한 세포 풀 발현물로부터 유래된 MAB#1 및 MAB#2의 생산 데이터.

[0624]

항체	생산 플랫폼	SEC			부피 수율 [mg/L]
		단량체 [%]	HMW [%]	LMW [%]	
MAB#1	대규모 HKB11	99.1	0.5	0.4	60.5
MAB#2	대규모 HKB11	99.1	0.6	0.3	100.5

[0625] **대조 항체**

[0626] 다양한 대조 항체가 생산되어 비교 목적으로 실험에 포함시켰다:

[0627] **RefMAB#1: 벤치마크 항체**

[0628] 인간 C5aR 특이적 항체 "IPH5401"의 VH 및 VL 영역을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 미국 특허 출원 US2013/0295116(NOVO NORDISK - 클론 32F3A6GL)에서 가져왔다. 뉴클레오티드 서열을 자체 또는 외부 공급자를 통해 적절한 측접(flanking) 영역(예를 들어, 적합한 제한 효소 인식 부위, 링커 서열)이 있는 선형 DNA 단편으로 유전자 합성했다. 표준 분자 생물학 방법을 사용하여 상기 기재된 바와 같이 인간 IgG1_AEASS의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 적합한 포유동물 IgG 발현 벡터 내로 DNA 단편을 클로닝했다. RefMAB#1은 위에서 설명한 대로 일시적으로 생산되었다. RefMAB#1의 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열은 표 3에 나타나 있다.

[0629] **추가 대조군 항체:**

[0630] 계란(hen-egg) 리소자임(MOR03207)에 대한 특이성을 갖는 자체 음성 이소형 대조군 항체 뿐만 아니라 인간 C5aR의 N-말단에 대한 특이성을 갖는 자체 양성 대조군 항체(항-C5aR 항체)를 인간 IgG1 또는 인간 IgG1_AEASS 형태 중 어느 하나로 상기 기재된 바와 같이 일시적으로 생산했다.

[0631] **MAB#1 및 MAB#2의 결합 특성 규명**

[0632] **실시예 4: SPR을 사용한 C5aR N-말단 펩티드에 대한 MAB#1 및 MAB#2에 대한 단일가 친화도 결정**

[0633] *방법*

[0634] IgG 캡처 설정을 통한 K_D 결정을 Biacore T200 기기(Biacore, GE Healthcare)를 사용하여 25℃에서 수행했다. 대략 HBS-EP+(pH 7.4)에 희석된 500 RU의 IgG를 표준 EDC-NHS 아민 커플링 화학을 사용하여 항-인간-Fc 항체(GE Healthcare)로 고정된 CM5 칩(Biacore, GE Healthcare)에 포획했다. 참조 플로우 셀(flow cell) 1은 단지 활성화 및 비활성화되었다. 전개 완충액(주입 시간 300초; 해리 시간 600초; 유속 30 μℓ/분)으로 HBS-EP+(GE Healthcare)와 함께 6개의 상이한 인간 또는 시노몰구스 C5aR_NT-바이오 펩티드 농도(각각 서열번호: 13 또는 서열번호: 14)(2n 연속 희석, 2000에서 62.5 nM)를 사용하여 동역학 측정을 수행했다. 각 주기 후에 센서 칩을 3 mM $MgCl_2$의 3x20초 주입으로 재생시켜 결합된 펩티드/항체 복합체를 제거했다. 이중 참조를 위해 전개 완충액의 블랭크(blank) 주입을 사용했다. 모든 센서그램을 K_D를 계산하는 데 사용한 k_{on} 및 k_{off} 속도 상수를 결정하기 위해 Biacore T200 평가 소프트웨어 3.1(Biacore, GE Healthcare)을 사용하여 피팅했다. 원시 데이터를, 매개변수 R_{max}가 로컬로 설정되고 RI가 0으로 설정된, 1:1 바인딩 모델에 맞췄다.

[0635] *결과*

[0636] 결과는 표 11에 요약되어 있다. 두 항체 모두 낮은 두 자릿수 나노몰 범위의 K_D 값으로 인간 C5aR 펩티드에 대한 유사한 결합 및 시노몰구스 C5aR 펩티드에 대한 보다 약한 결합을 나타내었다.

표 11

인간 및 시노몰구스 C5aR N-말단 펩티드에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합에 대한 결합 및 해리 속도 상수의 결정.

항체	항원	k_{on} [1/Ms]	k_{off} [1/s]	K_D [nM]	비고
MAB#2	인간 C5aR_NT	4.33E+04	1.27E-03	29	
MAB#1		5.01E+04	1.79E-03	36	
MAB#2	시노몰구스 C5aR_NT	*4.29E+03**	*1.45E-01**	*34000**	빠른 k_{on}, 빠른 k_{off}
MAB#1		*1.36E+04**	*1.11E-01**	*8200**	빠른 k_{on}, 빠른 k_{off}

* 이탤릭체 형식의 회색으로 나타낸 값은 순위 지정을 위한 것이다.

[0637]

[0638] **실시예 5: Octet을 사용한 C5aR N-말단 펩티드에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 겉보기 친화도(2가) 결정**

[0639] *방법*

[0640] C5aR_NT-바이오 펩티드 포획 설정을 통한 겉보기 K_D 결정을 Octet HTX 기기(FortéBIO, Pall Life Sciences)를

사용하여 27℃에서 수행했다. PBS, pH 7.4에 희석된 대략 0.03 nm의 펩티드를 스트렙타비딘(SA) 센서(FortéBIO, Pall Life Sciences)에 로딩했다. 7개의 상이한 IgG 농도(옥텟 완충액(PBS, 0.05%(v/v) Tween-20, 0.1%(w/v) BSA)에서 인간 C5aR_NT-바이오 펩티드(서열번호: 13)의 경우, 3배 연속 희석, 200 내지 0.27 nM 및 시노몰구스 C5aR_NT-바이오 펩티드(서열번호: 14)의 경우, 1000 내지 1.4 nM)를 사용하여, 480초 결합 시간 및 900초 해리 시간으로 동역학 측정을 수행했다. 각 해리 단계 후 센서를 재생하여 결합된 항체(3x30s Gly/HCl, pH 1.5)를 제거했다. 모든 센서그램은 Octet Data Analysis Software 10.0(FortéBio)을 사용하여 겉보기 k_{on} 및 겉보기 k_{off}를 결정했고, 이들을 K_D를 계산하는 데 사용했다(1:1 결합 모델 사용).

[0641] *결과*

[0642] 결과는 표 12에 요약되어 있다. 두 항체 모두 두 자리 내지 세 자리 피코몰 범위의 겉보기 K_D 값으로 2가 형식의 인간 C5aR 펩티드에 대한 강한 결합을 나타내었다. 시노몰구스 C5aR 펩티드에 대한 결합은 대략 1000배 약했다. 시노몰구스 원숭이 C5aR 펩티드에 대한 관찰된 더 약한 결합은 주로 빠른 k_{off} 비율로 인해 나타났다. 인간 C5aR_NT에 대한 겉보기 친화도의 관점에서, MAB#2는 MAB#1에 비해 약 10배 더 약한 결합 친화도를 나타냈다(K_D: 290 pM 대 20 pM).

표 12

인간 및 시노몰구스 C5aR N-말단 펩티드에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합에 대한 겉보기 결합 및 해리 속도 상수의 결정.

[0643]

항체	항원 명칭	겉보기 k_{on} [1/Ms]	겉보기 k_{off} [1/s]	겉보기 K_D [nM]	비고
MAB#2	인간 C5aR_NT	3.78E+05	1.11E-04	0.29	
MAB#1		4.76E+05	9.99E-06	0.02	
MAB#2	시노몰구스 C5aR_NT	1.38E+05	1.89E-02	140	빠른 k_{off}
MAB#1		1.71E+05	1.08E-02	63	빠른 k_{off}

[0644] **실시예 6: KinExA를 사용하여 세포에서 발현된 전장 C5aR에 대한 MAB#1에 대한 겉보기 친화도(2가) 결정**

[0645] C5aR은 GPCR 계열에 속하기 때문에, SPR 측정에 사용할 수 있는 재조합 전체 길이 항원 물질을 생성하는 것은 매우 어렵다. 따라서, 인간 C5aR 또는 시노몰구스 C5aR을 안정적으로 발현하는 Flp-In CHO 세포 및 KinExA 측정을 수행했다.

[0646] *방법*

[0647] C5aR-발현 세포에 대한 겉보기 K_D 결정을 KinExA 3200 기기(Sapidyne Instruments)를 사용하여 실온에서 수행했다. BSA(1 mg/mℓ) 및 0.02%(v/v) NaN_3가 보충된 PBS(Gibco)를 분석 완충액으로 사용했다. MAB#1(농도: 2nM 및 30pM)을 분석물(analyte)로 Flip-In CHO hC5aR_V5/His 세포(최종 농도 3 Mio 세포/mℓ 및 1 Mio 세포/mℓ, 2n 연속 희석) 또는 Flip-In CHO cyC5aR_V5/His 세포(최종 농도 25 Mio 세포/mℓ 및 6 Mio 세포/mℓ, 2n 연속 희석)를 적정제(titrant)로서 사용하고 오버헤드 진탕기에서 실온에서 밤새 평형화시켰다. 평형화 후, 샘플을 원심분리하고 상청액을 분석에 사용했다. MAB#1의 유리 농도를 MabSSL(GE Healthcare)로 코팅된 폴리메틸메타크릴레이트(PMMA) 비드를 사용하여 결정하고 항-인간 Fab2 Alexa Fluor 647(500ng/mℓ)을 검출에 사용했다. 겉보기 K_D를 KinExA 소프트웨어를 사용하고, 주어진 모든 곡선을 단일 K_D 값에 동시에 맞추는, "n-곡선 분석"에 의해 획득했다.

[0648] *결과*

[0649] 결과는 표 13에 요약되어 있다. MAB#1은 130 pM의 겉보기 K_D 값으로 전장 인간 C5aR에 대한 강한 결합을 나타냈다. 전장 시노몰구스 C5aR에 대한 결합은 대략 3 nM의 K_D 값으로 약 20배 더 약한 것으로 나타났다. 시노몰구스 C5aR에 대한 결합에 관한 유사한 발견은 Octet 및 Biacore 측정에서 이전에 관찰할 수 있었다(실시예 4 및 실시

예 5 참조).

표 13

Flp-In CHO 세포에서 발현된 전체 길이 인간 및 시노몰구스 C5aR에 대한 MAB#1의 2가 결합

	Flp-In CHO	겉보기 K_D [nM]
MAB#1	인간_C5aR	0.130
	시노_C5aR	2.98

[0650]

[0651] **실시예 7: Flp-In CHO 세포 및 전혈 유래 호중구 상에서 발현된 전장 C5aR에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합(FACS 분석)**

[0652] 다양한 전장 C5aR 항원 및 관련 GPCR을 안정적으로 발현하는 CHO Flp-In 세포주에 대한 세포 결합뿐만 아니라, 인간 또는 시노몰구스 C5aR을 내인적으로 발현하는, 정제된 인간 또는 시노몰구스 호중구에 대한 결합을 FACS를 통해 조사했다. 시노몰구스 호중구를 3마리의 다른 동물(LPT Hamburg)로부터의 시노몰구스 원숭이의 전혈에서 얻었다.

[0653] *방법*

[0654] C5aR-CHO Flp-In 세포주를 차단시키고 IgG를 연속 희석액 또는 300 nM의 단일(고) 농도로 첨가했다. IgG 결합의 검출을 위해, R-피코에리트린(R-PE) 컨주게이션된 항-인간 IgG(Fc-감마 단편 특이적)2 항체를 첨가하고 FACS 어레이 또는 Novocyte 장치를 사용하여 형광을 측정했다.

[0655] Miltenyi Biotec의 MACSexpress Neutrophil Isolation Cocktail을 사용하여 EDTA 전혈 샘플에서 호중구를 정제했다. 간단히 말해서, 이 키트를 사용하여, 자기 라벨링(magnetic labeling) 및 음성 자기 분리를 사용하여 세포를 분리했다. 적혈구를 제거한 후, 일련의 희석액으로 IgG를 첨가한 후 Alexa Fluor 647-접합된 항-인간 F(ab)2 단편 특이적 검출 항체를 첨가하여 세포를 염색했다. FACS 어레이 장치에서 측정을 수행했다. FACS 데이터를 FlowJo를 사용하여 평가하고, GraphPad Prism(v4.0)에 입력하고, 비선형 회귀를 사용하여 S자형 용량-반응 곡선에 맞추어 EC50을 계산했다.

[0656] *결과*

[0657] 결과는 표 14와, 도 1 및 2에 요약되어 있다. 도 1a 및 c는 각각의 전장 수용체를 발현하는 조작된 CHO 세포 상에 존재하는 인간 및 시노몰구스 C5aR에 대한 MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1의 결합을 도시한다. 전반적으로, 거의 동일한 EC_{50} 농도를 갖는 인간 C5aR에 대한 매우 유사한 결합 곡선이 MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1에 대해 결정되었다. MAB#1 및 MAB#2의 경우 시노몰구스 C5aR에서 유사한 결과가 얻어졌다. 예상한 대로, RefMAB#1은 CHO 세포에서 발현된 시노몰구스 C5aR에 대한 결합을 나타내지 않았다.

[0658] 시노몰구스 및 인간 C5aR에 대한 결합을 또한 인간 또는 시노몰구스 전혈에서 얻은 정제된 호중구를 사용하여 확인했다(도 1b 및 d). 다시, 인간 및 시노몰구스 호중구에 대한 거의 동일한 EC_{50} 값을 갖는 매우 유사한 결합 곡선이 MAB#1에 대해 관찰할 수 있었다. 흥미롭게도, MAB#2는 MAB#1과 비교할 때 시노몰구스 호중구에서 백그라운드 수준에 비해 전반적으로 더 낮은 신호를 나타냈다. 이 발견은 CHO 세포에서 발현된 시노몰구스 C5aR에 대한 결합을 분석했을 때 관찰할 수 없었다. 시노몰구스 원숭이 호중구에 대한 결합 부족이 RefMAB#1에 대해 확인되었다.

[0659] 설치류 C5aR의 경우, 낮은 서열 상동성(66% 전체 동일성)으로 인해 래트 및 마우스 C5aR에 대한 교차-반응성은 예상되지 않았다. 실제로, MAB#1과 MAB#2 모두 300 nM의 IgG 농도에서 테스트했을 때 CHO-Flp 세포에서 발현된 래트 또는 마우스 C5aR에 대한 유의한 결합을 나타내지 않았다(도 2). C5aR 서브패밀리의 다른 구성원에 대한 교차-반응성을 배제하기 위해, CHO Flp-In 세포에서 발현된 전장 인간 C5L2, ChemR23, FPR1 및 C3aR에 대한 결합을 또한 FACS를 통해 결정했다(형질감염되지 않은 모 CHO Flp-In 세포와 비교함). 도 2에 도시된 바와 같이, 300 nM의 IgG 농도에서조차, MAB#1 및 MAB#2의 유의한 세포 결합은 C5aR-관련 GPCR 또는 모 CHO 세포 중 어느 것에 대해서도 검출가능하지 않았다.

[0660] 종합하면, MAB#1 및 MAB#2 둘 다 인간 및 시노몰구스 원숭이 C5aR에 대한 특이적 결합을 나타내었다.

표 14

조작된 CHO 세포 또는 정제된 호중구에 의해 발현되는 전체 길이 인간 또는 시노몰구스 C5aR에 대한 MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1의 결합. 각 항체를 적어도 2회의 독립적인 분석 실행에서 테스트했다.

[0661]

세포에서 발현되는 전체 길이 단백질	MAB#1	MAB#2	RefMAB#1
CHO 세포에서 발현된 인간 C5aR	EC_{50} = 1.7 nM	EC_{50} = 1.2 nM	EC_{50} = 1.1 nM
정제된 인간 호중구에서 발현된 C5aR	EC_{50} = 6.0 nM	EC_{50} = 5.4 nM	EC_{50} = 3.1 nM
CHO 세포에서 발현된 시노몰구스 C5aR	EC_{50} = 1.1 nM	EC_{50} = 1.4 nM	결합 없음
정제된 사이노몰구스 호중구에서 발현된 C5aR	EC_{50} = 4.5 nM	EC_{50} = 3.8 nM	결합 없음

[0662] **실시예 8: 바이러스 유사 입자(VLP)에 제시된 전장 인간 C5aR에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합 - 인간 C5aR의 천연 변이체에 대한 결합**

[0663] 인간 C5aR의 두 가지 천연 변이체(서열번호: 1; D/K 변이체 및 서열번호: 2; N/N 변이체)가 보고되었다.

[0664] MAB#1 및 Mab#2의 2개의 천연 변이체에 대한 결합을 비교하기 위해, 실시예 1에 기재된 바와 같이 2개의 C5aR 변이체 중 하나를 발현하는 VLP를 생성시켰다. MAB#1 및 Mab#2는 뮤린 C5aR에 대해 교차-반응하지 않았기 때문에, 음성 대조군으로서, 뮤린 C5aR을 발현하는 VLP를 포함시켰다.

[0665] *방법*

[0666] 결합 평가를 위해, 생산된 VLP를 밤새 코팅하고, 차단 단계 후 다음날에 IgG 적정을 추가했다. 코팅된 항원에 대한 IgG의 결합은 알카라인 포스파타제-컨주게이션된 항-인간 IgG2 항체 및 AttoPhos를 기질로 사용하여 검출했다.

[0667] *결과*

[0668] 결과는 표 15에 요약되어 있고 도 3에 도시되어 있다. MAB#1 및 MAB#2 둘 다 동일한 EC_{50} 농도를 가지고 인간 C5aR의 두 천연 변이체에 대해 유사한 적정 곡선을 나타냈다. 예상한 대로, 뮤린 C5aR에 대한 결합은 검출되지 않았다. 이들 데이터에 기초하여, 인간 C5aR에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 고친화도 결합이, 각각의 표적 세포에 존재하는 천연 변이체와 무관하게, 생체내에서 예상될 수 있다.

표 15

VLP에서 발현된 인간 C5aR의 2가지 천연 변이체에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합.

[0669]

C5aR 변이체	MAB#1	MAB#2
huC5aR (D/K)	EC_{50} = 0.5 nM (N=2)	EC_{50} = 0.5 nM (N=2)
huC5aR (N/N)	EC_{50} = 0.5 nM (N=2)	EC_{50} = 0.5 nM (N=2)

[0670] **실시예 9: 단백질 패널 프로파일링(3P)**

[0671] MAB#1에 대한 잠재적인 비특이적 표적외 결합을 일반 3P 분석으로 결정했다.

[0672] *방법:*

[0673] 단백질 패널 프로파일링을 주로 문헌[Frese et al., mAbs 5:2, 279-287; March/April 2013)에 기재된 것과 같이 수행했다. 32개의 다른 단백질과 대조군을 4℃에서 밤새 1.0 ㎍/㎖의 농도로 2개의 384웰 MSD 표준 플레이트에 코팅했다. 코팅 용액을 버리고 플레이트를 PBS 중 50 μL의 PBS 중의 3%(w/v) BSA로 RT에서 마이크로타이터 플레이트 진탕기(~ 500 rpm)에서 1시간 동안 차단한 후 이어서 50 ㎕ 세척 완충액(PBS 0.05%(v/v) 트윈 20이 있는 PBS)으로 세척 단계를 3회 진행했다. IgG 샘플을 분석 완충액(0.5%(w/v) BSA, 0.05%(v/v) Tween 20이 있는

PBS)에서 100 nM 및 10 nM으로 희석시켰다. 대조군으로 이소타입 대조군 항체 MOR03207(IgG1f_AEASS) 및 분석 완충액을 사용했다. 샘플 및 대조군을 30 ㎕/웰로 첨가하고 마이크로타이터 플레이트 진탕기 상에서 실온에서 3시간 동안 인큐베이션했다. 플레이트를 3회 세척하고 웰당 30 ㎕ 검출 항체(ECL-표지된 항-인간 Fab)를 첨가하고 마이크로타이터 플레이트 진탕기(~500rpm)에서 1시간 동안 인큐베이션했다. MSD 플레이트를 세척하고 계면활성제가 포함된 35 μL/웰 MSD 판독 완충액 T를 첨가한 후, 전기화학발광 신호를 SECTOR Imager S600 기기(Meso Scale Diagnostics)를 사용하여 검출했다.

[0674] 평가를 위해, 특정 단백질에 대한 항체 샘플의 결합 신호를 참조 항체 MOR03207의 각 결합 신호로 나누어 결합비(BR)를 산출했다. 그런 다음 대조군(총 25개)을 제외한 모든 단백질의 누적 결합 비율(CBR)을 계산했다: 150까지의 CBR은 검출가능한 비특이적 결합이 없는 IgG를 나타낸다. 150 이상의 값은 참조 항체 MOR03207과 비교하여 증가된 비특이적 결합을 갖는 IgG를 나타낸다.

[0675] *결과*

[0676] MAB#1 및 MAB#2에 대한 결과는 도 10에 요약되어 있다. 요약하면, 테스트된 단백질 중 어느 것에 대해서도 중요한 비특이적 결합이 검출되지 않았다. 소 트랜스페린에 대한 매우 낮은(MAB#2) 결합 및 낮은(MAB#1) 결합이 관찰되었다. 소 트랜스페린에 대한 결합은 Octet 기반 결합 분석에서 확인되었지만, 래트 및 시노몰구스 트랜스페린에 대한 결합은 검출되지 않았다(데이터는 표시되지 않음). 따라서, 소 트랜스페린에 대한 관찰된 결합은 중요하지 않은 것으로 간주되었다.

[0677] **최종 항체 형태 및 안전성**

[0678] C5aR은 백혈구, 호중구 및 림프구와 같은 다양한 면역 세포에서 발현되며 이러한 세포의 인간 IgG1 Fc-매개된 고갈은 원치 않는 부작용을 피하기 위해 방지되어야 한다. 따라서, 항-C5aR 항체의 최종 IgG 형식은 치료적 개입 동안 이펙터 기능을 유도하는 활성의 관점에서 침묵될 필요가 있다.

[0679] MAB#1 및 MAB#2 둘 다 인간 IgG1f의 Fc 영역에 5개의 아미노산 치환, 즉 L234A, L235E, G237A, A330S 및 P331S(hIgG1f_AEASS, EU 인덱스에 따른 넘버링)를 함유하여 항체 유도 이펙터 기능을 폐기시킨다. C5aR 항체 요법의 맥락에서 이 형식의 임상적 안전성은 당업계에 기술되어 있다(Wagner F *et al.*. Annals of the Rheumatic Diseases. 2014; 73: 499. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-eular.2156.)

[0680] 이펙터 기능을 유도하는 MAB#1 및 MAB#2 활성의 결여는 Fcγ 수용체 또는 C1q에 대한 결합 연구 뿐만 아니라 아래에 요약한 것과 같은 시험관내 ADCC 및 ADCP 분석과 같은, 다양한 분석에서 확인되었다.

[0681] **실시예 10: Octet을 이용한 MAB#1 및 MAB#2의 FcRn 수용체에 대한 결합**

[0682] *방법*

[0683] Octet HTX 기기(Fortébio, Pall Life Sciences)를 사용하여 27℃에서 pH 6.0 및 7.2에서 다양한 종으로부터 고정화된 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 대한 겉보기 K_D 측정을 수행했다. 0.5 nm의 비오티닐화된 인간, 시노몰구스, 마우스 및 래트 FcRn이 스트렙타비딘(SA) 센서(Fortébio, Pall Life Sciences)에서 포획되었다. 동역학 측정을 Octet 완충액(PBS, 0.05 %/v/v) Tween-20, 0.1%(w/v) BSA) 중의 8가지 다른 농도의 IgG(3n 연속 희석, 1000 내지 0.46 nM)를 사용하여 240초 결합 시간 및 180초 해리 시간으로 수행했다. 각 주기 후에, 센서를 재생시켜 결합된 리간드/항체 복합체를 제거했다(HBS-EP+에서 2x30초, pH 8.0). 모든 센서그램을 데이터 분석 소프트웨어 10.0(Fortébio, Pall Life Sciences)을 사용하여 맞추어 겉보기 친화도를 결정하고 데이터를 정상 상태 모델로 맞추었다.

[0684] *결과*

[0685] 결과는 표 16에 요약되어 있다. MAB#1 및 MAB#2는 예상 친화도 범위(이소형 대조군 항체 MOR03207 IgG1f와 견줄 수 있음)에서 상이한 종의 FcRn에 대한 겉보기 결합 친화도를 나타내었고 인간 FcRn에 대한 결합에 대한 생리학적 결합 거동은 두 IgG 분자 모두에 대해 확인될 수 있었으며, 즉 중성 pH(7.2)에서의 결합은 검출가능하지 않았다. 따라서, 항체의 Fc 영역에 도입된 5개의 돌연변이는 인간 FcRn 결합에 악영향을 미치지 않았다.

표 16

pH 6.0 및 7.2에서 Fc 영역을 통한 FcRn에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합.

항체	항원	K_D [nM] pH 6.0	K_D [nM] pH 7.2
MAB#2	인간 FcRn	*36**	결합 없음
MAB#1		*9.0**	결합 없음
MAB#2	시노몰구스 FcRn	*30**	결합 없음
MAB#1		*6.8**	*560***
MAB#2	뮤린 FcRn	7.3	130
MAB#1		4.3	39
MAB#2	래트 FcRn	10	300
MAB#1		5.7	110

* 피트 모델에서의 편차(pH 6.0)
** pH 7.2에서 약간의 결합
*** 이탤릭체 형식으로 나타낸 값은 주로 순위 지정을 위한 것이다.

[0686]

[0687] **실시예 11: Octet을 사용한 인간 Fcγ 수용체에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합**

[0688] *방법*

[0689] IgG 포획 설정을 통한 K_D 결정을 Octet(FortéBIO, Pall Life Sciences)을 사용하여 27℃에서 수행했다. Octet 분석 완충액(PBS, 0.05%(v/v) Tween-20, 0.1%(w/v) BSA)에 희석시킨 2.0 nm의 IgG를 단백질 A 센서(FortéBIO, Pall Life Sciences)에서 포획했다. 분석 완충액에서 7가지 농도의 Fc 감마 수용체(2n 연속 희석)를 사용하여 동역학적 측정을 수행했다. 각 주기 후에 센서를 재생시켜 결합된 리간드/항체 복합체를 제거했다(10 mM Gly/HCl, pH 1.5에서 2x30초). 모든 센서그램을 데이타 분석 소프트웨어 10.0(FortéBIO, Pall Life Sciences)을 사용하여 맞추어 k_{on} 및 k_{off} 속도 상수를 결정했고, K_D를 계산하는 데 사용했다. 원시 데이터를, 매개변수 R_{max}가 로컬로 설정된, 1:1 바인딩 모델에 맞추었다.

[0690] *결과*

[0691] 결과는 표 17에 요약되어 있다. 시험된 Fcγ 수용체 중 임의의 것에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합이 없거나 매우 약한 결합만이 검출될 수 있었고 인간 IgG1 Fc 영역에 도입된 돌연변이가 Fcγ 수용체 결합을 폐기하는데 효과적인 것으로 확인되었다.

표 17

Fc-영역을 통한 인간 Fcγ 수용체에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합

FcγR	MAB#2	Mab#1
hu_FcγRI	결합 없음	결합 없음
hu_FcγRIIa (131H)	결합 없음	결합 없음
hu_FcγRIIa (131R)	관찰된 가장 높은 항체 농도에서만 매우 약한 결합	관찰된 가장 높은 항체 농도에서만 매우 약한 결합
hu_FcγRIIIa (158F)	결합 없음	결합 없음
hu_FcγRIIIa (158V)	결합 없음	결합 없음
hu_FcγRIIb	결합 없음	결합 없음

[0692]

[0693] **실시예 12: Octet을 사용한 C1q에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합**

[0694] *방법*

[0695] IgG 캡처 설정을 통한 겉보기(2가) KD 결정을 Octet(Fortébio Pall Life Sciences)을 사용하여 27℃에서 수행했다. Octet 완충액에 희석된 2.0 nm의 IgG를 스트렙타비딘(SA) 센서(FortéBIO, Pall Life Sciences)에 고정된 항-hu Fab CH1 카파/람다(BAC)에 포획시켰다. 동역학 측정을 240초 결합 시간 및 240초 해리 시간으로 Octet 분석 완충액(위 참조)에서 8가지 농도의 C1q(3n 연속 희석, 500에서 0.69nM)를 사용하여 수행했다. 각 주기 후 센서를 (2x 50 mM NaOH, 1x10 mM Gly/HCl, pH 1.5, 각각 30초 동안) 재생하여 결합된 리간드/항체 복합체를 제거했다. 데이터 분석 소프트웨어 9(FortéBIO, Pall Life Sciences)를 사용하여 모든 센서그램을 맞추어 겉보기 친화도를 결정했다. 데이터를 정상 상태 모델에 맞추었다.

[0696] *결과*

[0697] 결과는 표 18에 요약되어 있다. 예상한 바와 같이, C1q에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합(풀링된 인간 혈장으로부터 단리됨)은 관찰불가능했고 인간 IgG1 Fc 영역으로 도입된 돌연변이는 C1q 결합을 폐기시키는 데 효과적인 것을 확인하였다.

표 18

인간 C1q에 대한 MAB#1 및 MAB#2의 결합.

[0698]

항원	MAB#2	MAB#1
인간 C1q	결합 없음	결합 없음

[0699] **실시예 13: MAB#1의 ADCC 및 ADCP 시험관내 활성**

[0700] *방법*

[0701] MAB#1에 대한 ADCC 및 ADCP 활성을 제조업체의 지침(각각 Cat #G7017 및 Cat #G988A)에 따라 Promega ADCC 및 ADCP Reporter Bioassays를 사용하여 테스트했다. 이 키트는 조작된 Jurkat 세포를 이펙터 세포로 사용한다. 세포는 FcγRIIIa 수용체, ADCC에 대한 V158(고친화도) 변이체 및 ADCP에 대한 FcγRIIa_H 수용체 및 반딧불이 루시페라제의 발현을 유도하는 NFAT 반응 요소를 안정적으로 발현한다. 표적 세포로는 인간 C5aR을 발현하는 CHO Flp-In 세포를 사용했다. 항체 브리지(예를 들어, MAB#1 또는 MAB#2를 통해)를 통해 표적에 대한 이펙터 세포의 결합은 NFAT 경로에서 일련의 사건을 개시하여, 반딧불이 루시퍼라제 단백질의 발현을 초래한다. 효소 반응은 루시퍼라제 농도에 비례하는 발광을 생성하며, 이는 ADCC 또는 ADCP 활성과 직접적으로 관련된다. 평균 신호를 백그라운드 값으로 플롯팅하여 ADCC 또는 ADCP 활성을 MAB#1에 대해 분석했다.

[0702] MAB#1의 경우, 야생형 인간 IgG1f 버전을 사용할 수 없었기 때문에, 자체 인간 항-C5aR 대조군 항체의 Fc-침묵 인간 IgG1f_AEASS 버전뿐만 아니라 야생형 IgG1f를 양성 대조군으로 포함시켰다. 또한, 이소형 대조군 항체 MOR03207의 Fc-침묵(hIgG1_AEASS) 및 야생형 버전(hIgG1f) 버전을 음성 대조군으로 포함시켰다.

[0703] *결과*

[0704] 결과는 표 19에 요약되어 있고 10 ㎍/㎖의 IgG 농도에 대하여 도 8A(ADCP) 및 B(ADCC)에 도시되어 있다. MAB#1은, 항-C5aR 대조군 항체의 Fc-침묵 버전 및 MOR03207의 Fc-침묵 버전과 유사하게, C5aR 과발현 CHO 세포의 존재 하에 조작된 이펙터 세포에서 NFAT 경로의 FcγRIIIa 또는 FcγRIIa_H 활성화를 유도하지 않았다. C5aR 특이적 대조군 항체의 야생형(비침묵) 버전은 C5aR 발현 CHO 세포의 존재 하에 조작된 Jurkat 세포에서 루시퍼라제 생산을 명확하게 유도했다.

[0705] 요컨대, 이 실험으로 야생형 인간 IgG1 Fc 영역에 도입된 돌연변이가 ADCC 및 ADCP 활성을 방지하는데 효율적임을 명확히 확인했다.

표 19

MAB#1(hIgG1f_AEASS)이 이펙터 기능을 매개하지 않는다는 것을 확인하기 위해 수행된 시험관내 분석의 개요.

기준	분석	MAB#1에 대한 결과
ADCC 없음	ADCC 리포터 바이오어세이	조작된 이펙터 세포에서 검출가능한 NFAT 경로의 FcγRIIIa_V 활성화가 없음
ADCP 없음	ADCP 리포터 바이오어세이	조작된 이펙터 세포에서 검출가능한 NFAT 경로의 FcγRIIa_H 활성화가 없음
CDC 없음	huC1q 결합 (Octet)	인간 C1q에 대한 검출 가능한 결합 없음
Fcγ 수용체에 대한 결합 없음	FcγR 결합 (Octet)	FcγR에 대한 결합 없음. hFcγRIIa_R에서 가장 높은 백그라운드(약간의 결합에 가까움)
생리학적 FcRn 결합	FcRn 결합 (Octet)	예상된 범위에서의 겉보기 K_D로의 생리학적 결합

[0706]

[0707] **MAB#1 및 MAB#2의 기능적 특성규명**

[0708] MAB#1 및 MAB#2의 중화 활성을 C5a 유도된 C5aR 활성화를 모니터링하는 다양한 시험관내 분석으로 분석했다.

[0709] C5a의 상승된 수준이 병태생리학적 조건에서 설명되었기 때문에, 질환 부위에 국소적으로 존재할 수 있는, 고농도의 C5a를 중화시키는 C5aR 길항 항체의 활성이 생체 내에서 유익한 치료 효과를 제공할 것으로 예상하였다. 따라서, 이러한 생체내 병리학적 상태를 반영하기 위해 시험관내 실험을 또한 설정했다.

[0710] **실시예 14: PathHunter® β-어레스틴 분석(DiscoveRx)**

[0711] *방법:*

[0712] DiscoveRx의 PathHunter® β-어레스틴 분석을 제조업체의 지침에 따라 수행했다. 간단히 말해서, 인간 C5a 유도 인간 C5aR 활성을 β-갈락토시다제 효소 단편 보완을 이용하여 β-어레스틴과 활성화된 C5aR의 상호작용을 검출하여 측정했다.

[0713] β-어레스틴 동원을 재조합 인간 C5a를 사용하여 유도하고, 효소 활성을 DiscoverRx의 화학발광 검출 시약을 사용하여 측정했다. 인간 C5aR의 조작된 버전을 발현하는 차이니즈 햄스터 난소 세포(CHO) 세포를 밤새 시딩하고, 인간 C5a(R&D Systems)의 연속 희석액을 첨가하고 37℃ 및 5% CO_2에서 1.5시간 동안 인큐베이션했다(길항제 부재 하의 적정 곡선을 생성시킴). 병행하여, 인간 C5a의 적정 곡선을 C5aR 특이적 항체(50 nM의 고정된 IgG 농도)의 존재 하에 결정했다. 그렇게 하기 위해, 인간 C5a로 자극하기 전에 IgG를 세포에 첨가하고 37℃ 및 5% CO_2에서 1시간 동안 인큐베이션했다. 결과를 상대 발광 단위로 나타내었다. 길항성 IgG의 존재 및 부재 하에 인간 C5a에 대한 적정 곡선을 GraphPad Prism을 통해 생성시켰다.

[0714] β-어레스틴 분석의 경우, 인간 C5a에 대한 용량-반응 곡선의 더 높은 용량으로의 이동(즉, 용량 축에서 수평으로 오른쪽으로)을 MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1에 대해 비교했다(도 4A). 또한, 3가지 증가하는 C5a 농도(1.2 nM, 11 nM 및 100 nM)에서 억제율(%)을 계산하고 비교했다(도 4B).

[0715] *결과*

[0716] β-어레스틴 분석의 결과는 도 4A 및 4B에 도시되어 있고 표 20 및 표 21에 요약되어 있다. 항체 부재 시, 평균 EC_{50} 농도가 2.9 nM인 인간 C5a에 대한 용량-반응 곡선이 얻어졌다(도 4A).

[0717] 50 nM의 최종 IgG 농도에서 인간 C5a에 MAB#1 또는 MAB#2를 첨가하면 더 높은 용량의 인간 C5a로 12배 초과의 용량-반응 곡선의 유의한 이동이 초래되었다. 보다 정확하게는, 50 nM MAB#1 또는 MAB#2의 존재 하에, 37 nM의 평균 EC_{50} 농도를 갖는 인간 C5a에 대한 용량-반응 곡선이 획득되었다(도 4A, 표 20). 다시 말해서, MAB#1 또는 MAB#2의 존재는 C5aR 활성화를 유도하는 인간 C5의 활성을 상당히 감소시키거나, 달리, MAB#1 또는 MAB#2의 존재 하에, 인간 C5a는 항체 부재 시의 활성과 비교할 때 동일한 C5aR 활성을 유도하기 위해 적어도 12배 더 높은 농도로 첨가될 필요가 있다.

[0718] 이 관찰은 3개의 증가하는 C5a 농도에서 억제율(%)을 계산할 때도 반영되었다(도 4B). 1.2 nM 인간 C5a에서, 테스트한 3개의 항체, MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1 모두, 50 nM의 IgG 농도에서 80% 이상의 C5a 유도된 C5aR 활성에 대한 필적할만한 억제를 나타냈다. 그러나, 약 10배 더 높은 농도의 인간 C5a(11 nM)가 C5aR의 활성화에 사용된 경우, RefMAB#1은 단지 약 50%의 C5a 유도된 C5aR 활성을 중화할 수 있었다. 이는, 최대 80%의 C5a 유도된 C5aR 활성을 여전히 중화할 수 있었던, MAB#1 및 MAB#2와 매우 대조적이었다.

[0719] 이 효과는 C5aR의 활성화를 위해 100배 더 높은 농도의 인간 C5a(100 nM)를 사용했을 때 훨씬 더 두드러졌다. 여기서, RefMAB#1에 대해서는 중화 활성이 거의 검출불가능 했던 반면, MAB#1 및 MAB#2는 여전히 인간 C5a 유도된 C5aR 활성의 약 40% 및 30%를, 각각, 중화할 수 있었다.

[0720] 따라서 MAB#1 및 MAB#2 모두 시험관내에서 병태생리학적 C5a 농도를 중화하는 데 효율적이며 RefMAB#1에 비해 유의하게 더 강력하다.

표 20

[0721] 시험관내 β-아레스틴 분석(n=3): β-갈락토시다제 효소 단편 보완을 이용하여 β-아레스틴과 활성화된 C5aR의 상호작용 검출에 의해 측정한 C5a 유도된 C5aR 활성에 대한 C5aR 특이적 항체의 억제 활성.

	항-C5aR 항체의 부재 또는 존재하에서의 인간 C5a EC_{50}(nM)의 활성	항-C5aR 항체의 존재하에서 C5a의 x배 감소된 활성
hC5a	2,9	-
hC5a + MAB#1 (50 nM)	37	12,8
hC5a + MAB#2 (50 nM)	37	12,8
hC5a + RefMAB#1 (50nM)	10	3,4

표 21

[0722] 시험관내 β-아레스틴 분석(n=3): C5a의 3가지 농도 및 50 nM의 고정된 IgG 농도에 대해 계산되고, β-갈락토시다제 효소 단편 보완을 이용하여 β-아레스틴과 활성화된 C5aR의 상호작용의 검출에 의해 측정된 C5a-유도된 C5aR 활성에 대한 C5aR 특이적 항체의 억제 활성.

	MAB#2	MAB#1	RefMab#1
1.2 nM C5a 및 50 nM IgG에서 억제 [%]	90.5	91.9	84.2
11 nM C5a 및 50 nM IgG에서 억제 [%]	75.2	79.9	38.9
100 nM C5a 및 50 nM IgG에서 억제 [%]	31.2	41.8	6.4

[0723] **실시예 15: MAB#1 및 MAB#2에 의한 호중구 및 단핵구 활성화의 억제 -CD11b 분석**

[0724] MAB#1 및 MAB#2의 중화 효능을 더욱 생리학적 설정을 나타내는 기능적 CD11b 전혈 분석에서 추가로 결정했다. CD11b는 CD18과 결합하여, 다중-리간드 수용체 역할을 하는, 인테그린 Mac-1 복합체를 형성한다. CD11b는 >50% 말초 혈액 백혈구의 표면에서 구성적으로 발현되며; 백혈구 활성화 시, 이의 발현은 분비성 과립을 포함하는 CD11b의 세포막으로의 융합을 통해 상향 조절된다. 따라서, CD11b 발현은 생체내(*in vivo*) 및 시험관내(*in vitro*) 둘 다에서 백혈구 활성화의 마커로서 널리 사용된다.

[0725] C5a는 인간 호중구 및 단핵구의 강력한 활성제로서 표면 항원 CD11b의 상향조절을 유도한다. 따라서, 과립구 및 단핵구의 C5a 유도 활성화를 방지하는 MAB#1 및 MAB#2의 활성을 전혈 유래된 과립구 및 단핵구에서 CD11b 수준을 평가함으로써 조사했다. 이 실험을 기본적으로 미국 특허 출원 US2013/0295116(Novo Nordisk)에 설명된 대로 수행했다.

[0726] *방법*

[0727] 첫 번째 분석 설정에서, 헤파린 처리된 전혈을 IgG(연속 희석)와 혼합하고 37℃, 5% CO_2에서 20분 동안 인큐베

이션했다. 인간 C5a를 15 nM의 표준 농도로 첨가하고 37℃, 5% CO_2에서 20분 동안 인큐베이션했다. 항-CD11b-PE 또는 이소형 대조군 항체 MOR03207을 첨가하고 플레이트를 37℃, 5% CO_2에서 20분 동안 인큐베이션했다. 마지막으로, 적혈구 용해 완충액을 첨가하고 암실에서 15분 동안 실온에서 인큐베이션하고, 세포를 세척하고 다시 용해 완충액에 재현탁시켰다.

[0728] 두 번째 실험 설정에서, 위에서 설명한 것과 같은 나머지 분석 설정을 수정하지 않고 인간 C5a를 150 nM의 보다 임상적으로 관련된 병태생리학적 농도로 첨가했다.

[0729] MAB#1의 수용체 체류 시간을 조사하기 위해, 헤파린 처리된 전혈과 IgG의 인큐베이션 시간을 20분에서 300분으로 연장하여 분석을 추가로 조정했다.

[0730] FACS 어레이 또는 Novocyte 장치를 사용하여 형광을 측정했다. 죽은 세포와 파편을 배제하기 위해 샘플을 게이팅시켰다. 단핵구 및 과립구는 FSC 및 SSC 프로파일에 따라 식별되고 게이팅되었다. CD11b-PE 채널(노란색-A)에 있는 게이팅된 과립구 및/또는 단핵구의 중앙 형광 강도(MFI)를 계산했다. 결과를 억제 백분율(% 억제)로 나타냈다. 최대 CD11b 발현(MFI_{Max})은 IgG 없이 C5a와 함께 인큐베이션된 세포의 평균 MFI이었다. 최소(백그라운드) CD11b 발현(MFI_{Min})은 C5a도 IgG 없이 인큐베이션된 세포의 평균 MFI이었다. 각 샘플에 대한 억제율(%)을 계산하는 데 사용된 공식은 다음과 같다:

[0731] 억제 % = 100 - ((MFI_{Sample} - MFI_{Min})) / ((MFI_{Max}-MFI_{Min})) x 100)

[0732] FlowJo를 사용하여 데이터를 평가하고, GraphPad Prism(v4.0)에 입력하고 비선형 회귀를 이용하여 S자형 용량-반응 곡선에 맞춰 IC_{50}을 계산했다.

[0733] *15 nM C5a 리간드를 사용한 MAB#1에 대한 결과*

[0734] CD11b 전혈 분석의 MAB#1에 대한 결과는 표 22에 요약되어 있다. 두 게이팅된 세포 집단(단핵구 및 과립구)에 대해, 한 자리 nM 범위의 IC_{50} 값이 과립구의 경우 거의 88% 및 단핵구의 경우 83%의 최대 억제율로 결정되었다.

표 22

과립구 및 단핵구의 C5a-매개된 활성화를 방지하는 MAB#1의 활성. 개요 최대 억제 및 IC_{50} 값을 15 nM C5a(n=3)를 사용하여 CD11b 분석에서 결정했다.

[0735]

세포 유형	**MAB#1 –** CD11b 발현 억제	
CD11b 과립구	최대 억제 % (600 nM IgG에서)	87.2 ± 1.7 (N=3)
	IC_{50} (nM)	9.8 ± 0.6 (N=3)
CD11b 단핵구	최대 억제 % (600 nM IgG에서)	83.3 ± 3.6 (N=3)
	IC_{50} (nM)	4.2 ± 0.8 (N=3)

[0736] *15 nM 대 150 nM C5a 리간드를 사용한 MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1에 대한 결과*

[0737] (위에서 설명한 대로) 과립구의 자극을 위해 15 nM의 인간 C5a를 첨가하는 것 이외에, 10배 더 높은 농도(150 nM)의 리간드를 사용하여 더 많은 병태생리학적 리간드 농도를 시뮬레이션했다.

[0738] 다시, MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1을 용량-적정하고, 비선형 회귀 함수를 통해 GraphPad Prism을 사용하여 억제 곡선을 생성시켰다. 결과는 "50% 억제를 유도하기 위해 필요한 길항제의 농도"로서 정량적으로 나타냈다.

[0739] 이 CD11b 전혈 분석 결과는 도 5A 및 B에 도시되어 있다.

[0740] 도 5A는 15 nM C5a에서 MAB#1, MAB#2 및 RefMAB#1의 중화 활성을 도시하고 도 5B는 150 nM C5a에서 각각의 중화 활성을 도시한다. 정량적 판독으로서, CD11b 상향조절의 50% 억제에 도달하기 위한 IgG 농도를 계산했고, 결과는 두 도면에서 x축 아래에 표시되어 있다.

[0741] 전반적으로, 1차 표적 세포로서 과립구에 게이팅된 CD11b 전혈 분석에서 증가하는 C5a 농도를 사용할 때 β-어레스틴 분석(실시예 14)과 유사한 관찰이 이루어졌다. 15 nM 인간 C5a의 효과를 50%로 차단하기 위해, MAB#1 및

RefMAB#1의 경우 12 nM의 IgG 농도가 필요한 반면, MAB#2의 경우 17 nM의 IgG 농도로 충분했다. 그러나, 10배 더 높은 C5a 농도(150 nM)에 의해 유도된 CD11b 상향조절의 50%를 차단하기 위해서는 상당히 다른 양의 길항제가 필요했다. MAB#1의 경우, 42 nM의 IgG 농도가 이제 C5a로 유도된 C5aR의 활성화를 50% 억제하기에 충분했지만, 동일한 차단 효과에 도달하려면 RefMAB#1는 7배 더 높은 농도(291 nM)가 필요했다. MAB#2의 경우 114 nM의 IgG 농도로 충분했다.

[0742] 따라서, b-어레스틴 분석(MAB#1 > MAB#2 > RefMAB#1)에서 이미 확인된 바와 같이 효능 측면에서 3가지 IgG의 동일한 순위가 결정될 수 있었고, MAB#1 및 MAB#2 둘 다 시험관내에서 병태생리학적 C5a 농도를 중화하는 데 효율적인 것으로 나타났고 RefMAB#1에 비해 유의하게 더 강력했다.

[0743] *MAB#1에 대한 결과 - 수용체 체류 시간에 대한 영향*

[0744] Seow와 동료(Seow V et al., Sci Rep. 2016; 6: 24575)는 C5a의 생성이 세포막에 국한되어 있고, 짧지만 반복되는 기간 동안 매우 높을 수 있다고 보고했다. 따라서, 체류 시간이 긴 C5aR의 길항제가 빠르고 일시적인 신호 전달 시스템에서 유리할 수 있다고 제안되었다. 또한 시험관내에서 측정된 증가된 수용체 체류 시간이 생체내에서 작용 지속 시간 및 효능 정도로 해석될 수 있다고 결론지었다.

[0745] Seow와 동료들이 발표한 유사한 설정에서 두 항체의 수용체 체류 시간을 비교하기 위해, 전혈에 존재하는 과립구 및 단핵구와 함께 20분 및 300분 IgG 인큐베이션에 대한 로그 용량 억제 곡선을 위에서 설명한 것과 같이 평가했다.

[0746] CD11b 전혈 분석의 이 실험 설정의 결과는 도 6A-D에 도시되어 있다. 놀랍게도, 장기간의 인큐베이션 기간에 걸친 중화 활성의 유의한 증가가 MAB#1에서 관찰될 수 있었다. 도 6A 및 C에 나타낸 바와 같이, 과립구 및 단핵구 집단 둘 다에 대해, MAB#1에 대해 계산된 IC_{50} 농도는 시간이 지남에 따라 약 6배 감소했다(IC_{50} 값은 표 23에 요약되어 있음). RefMAB#1의 경우, 300분 후에 억제 곡선의 이동 또는 감소가 관찰되지 않았다(도 6B 및 D).

표 23

15 nM C5a에서 전혈과 함께 20분 또는 300분의 IgG 인큐베이션 후 CD11b 분석. 과립구(상단 패널) 및 단핵구(하단 패널)에 대한 IC_{50} 값 및 x-배 효능 개선(20분 대 300분)이 제공되어 있음.

CD11b 과립구	MAB#1		RefMAB#1	
	IC50 (nM)	x-배 개선	IC50 (nM)	x-배 개선
20 분	11.0 ± 1.0 (N=2)	4,8	10.2 ± 1.9 (N=2)	1,6
300 분	2.3 ± 0.0 (N=2)		6.5 ± 0.5 (N=2)	
CD11b 단핵구	**MAB#1**		**RefMAB#1**	
	IC50 (nM)	x-배 개선	**IC50 (nM)**	x-배 개선
20 분	4.0 ± 1.0 (N=2)	5,7	1.8 ± 0.5 (N=2)	0,3
300 분	0.7 ± 0.2 (N=2)		5.3 ± 1.0 (N=2)	

[0747]

[0748] 요약하면, 병태생리학적 C5a 수준의 효율적인 중화와 시간 경과에 따른 증가된 효능, 둘 모두의 조합은 생체내에서(*in vivo*) 유익할 것으로 예상되었다.

[0749] **실시예 16: C5a 유도된 호중구 이동**

[0750] 정제된 호중구의 C5a 유도 화학주성(chemotaxis)을 분석했다. 이 실험은 기본적으로 미국 특허 출원 US2013/0295116에 설명된 대로 수행되었다.

[0751] *방법*

[0752] 호중구를 MACSxpress Whole Blood Neutrophil Isolation Kit, 인간(Miltenyi Biotec Cat# 130-104-434) 및 MACSxpress Erythrocyte Depletion Kit, 인간(Miltenyi Biotec, CAT#130-098-196)을 사용하여 3명의 다른 인간 공여자의 전혈에서 분리 및 정제했다.

[0753] hC5a 의존성 호중구 이동을 억제하는 IgG의 효능을 FluoroBlok® 3.0㎛M 기공 크기 96웰 플레이트를 사용하여 Boyden 챔버 기술로 분석했다. Boyden 챔버 기공의 멤브레인을 37℃에서 2시간 동안 1 mg/㎖ 인간 피브리노겐으로 코팅시켰다. 세척후, 37℃에서 1시간 동안 2% 소 혈청 알부민(BSA)을 함유하는 용액으로 막을 차단시켰다. 그런 다음 정제된 호중구를 칼세인으로 염색하고 10^5개의 염색된 세포를 길항성 IgG(100 및 600 nM)가 있거나 없는 Boyden 챔버의 상부 구획에 첨가했다. hC5a(R&D Systems, 10 nM)를 Boyden 챔버의 하부 구획에 적용했다. 플레이트 판독기(Tecan M1000Pro)에서 37℃, 485/538 nm에서 60분 동안 5분 마다 플레이트를 측정했다. 하부 챔버로 이동하는 호중구의 활성을 플루오로블록(fluoroblok) 막을 통과하는 칼세인-염색된 호중구를 측정하여 결정했다. 결과를 동적 이동 곡선(5 내지 60분)을 비롯한 선택된 시점(15, 25 및 35분)에서 계산된 억제 백분율로 표시하였다.

[0754] 억제율 (%)을 계산하는 데 사용된 공식은 다음과 같았다:

[0755] 억제율 % = 100 - (((RFU$_{Sample}$-RFU$_{Min}$))/((RFU$_{Max}$-RFU$_{Min}$)) x 100)

[0756] *결과*

[0757] 2개의 시험된 IgG 농도에서 선택된 시점에서의 호중구 이동의 평균 억제 백분율을 3명의 상이한 인간 공여자로부터의 호중구를 이용하는 3회의 독립적인 실험으로부터 계산했다.

[0758] 도 7에 도시된 바와 같이, 이동 15분 후, MAB#1의 경우 C5a-유도된 호중구 이동의 거의 완전한 억제에 도달했다. 35분의 이동 및 테스트한 최고 IgG 농도(600 nM) 후, MAB#1은 여전히 > 50% 억제를 나타냈다. 음성 이소형 대조군 항체 MOR03207은 호중구 이동에 대한 억제 효과를 나타내지 않았다.

[0759] **실시예 17: 대식세포에 의한 C5a 유도된 사이토카인 방출**

[0760] 대식세포는 극성화(polarization)에 따라 활성화시 향(pro)- 또는 항-염증성 사이토카인을 방출한다. 따라서, MAB#1과의 C5a/C5aR 상호작용의 차단이 M1 및 M2 대식세포에 의한 사이토카인의 C5a-유도된 방출에 영향을 미치는지 여부를 평가했다. M2 대식세포에 의한 항-염증성 IL-10 및 M1 대식세포에 의한 향-염증성 IL-12의 생성을 검출하기 위해 사이토카인 ELISA를 수행했다.

[0761] *방법*

[0762] 간단히 말해서, Biocoll 분리 용액 및 SepMate 튜브(Stemcell)를 사용한 밀도 구배 원심분리에 의해 말초 혈액 단핵 세포(PBMC)를 건강한 인간 공여자의 전혈로부터 제조했다. CD14+ 선택 키트(Miltenyi Biotech)를 사용하여 PBMC에서 단핵구를 단리하고, 96웰 플레이트에서 10% FCS 및 1x GlutaMax가 보충된 RPMI에서 배양했다. 밤새 플레이팅시킨 단핵구를 LPS(20 ng/㎖) 및 IFNγ(50 ng/㎖)를 사용하여 37℃에서 M1 대식세포로 24시간 동안 극성화하고, MAB#1(30 nM)과 함께 30분 동안 사전 인큐베이션한 후 이어서 추가로 24시간 동안 C5a(15 nM)를 첨가했다. MAB#1의 부재 하에 C5a로 자극한 M1 대식세포 및 미처리 대조군을 포함시켰다. 24시간 후, 세포 상청액을 제조사의 지침에 따라 IL-12/IL23 DuoSet ELISA(R&D Systems)로 분석했다. M2 대식세포의 생성을 위해, 단핵구를 M-CSF가 보충된 RPMI/10% FCS에서의 5일 동안의 배양 및 5일째에 M-CSF, IL-4, IL-13 및 IL-6(40 ng/㎖ 각각)의 첨가로 대식세포로 사전-분화(pre-differentiation)시켰다. 9일째에, 세포 상청액을 제조사의 지침에 따라 IL-10 DuoSet ELISA(R&D Systems)로 분석했다.

[0763] *결과*

[0764] C5a와 함께 인큐베이션하면 M1 대식세포의 IL-12 생산 감소가 야기되지만, 무처리된 대조군과 비교하여 MAB#1로 전처리한 후에는 IL-12 수준의 감소가 관찰되지 않았다. 반면, MAB#1 처리는 M2 대식세포에서 C5a-유도된 IL-10 생산을 억제했다(도 11 참조).

[0765] 결론적으로, MAB#1은 M2 대식세포에 의한 항-염증성 IL-10의 C5a-유도된 생산을 효율적으로 억제하고 M1 대식세포에 의한 향-염증성 IL-12의 생산을 회복시켰으며, 그로 인해 MAB#1의 시험관내 작용 방식이 입증되었다.

[0766] **약동학**

[0767] **실시예 18: 약동학**

[0768] MAB#1의 약동학적 프로파일을 10 mg/kg IgG의 단일 정맥내(i.v.) 투여 후 수컷 Han-Wistar 래트(n = 3마리 동물)에서 평가했다.

[0769] *방법*

[0770] 다음 시점에서 안구후방 공동(retro-orbital sinus) 또는 하악정맥(mandibular vein) 천자를 통해 각 동물로부터 혈장 샘플을 수집했다: 투여 전, 투여 후 0.083, 1, 3, 8, 24, 48, 72, 96, 168, 240, 336 및 504시간.

[0771] MSD-기반 리간드-결합 분석을 이용하여, 래트 혈장에서 유리된, 생리활성 MAB#1 농도를 결정했다. 간단히 말해서, 비오티닐화된 N-말단 인간 C5aR 펩티드를 96-웰 스트렙타비딘-MSD 플레이트의 표면에 코팅시켰다. 결합된 분석물을 약물 특이적 항-이디오타입 ECL 표지 항체를 사용하여 검출했다. MAB#1의 약동학적 특성을 혈장 내 유리 약물 농도에 기초한 비구획 데이터 분석(non-compartmental data analysis, NCA)을 이용하여 평가했다.

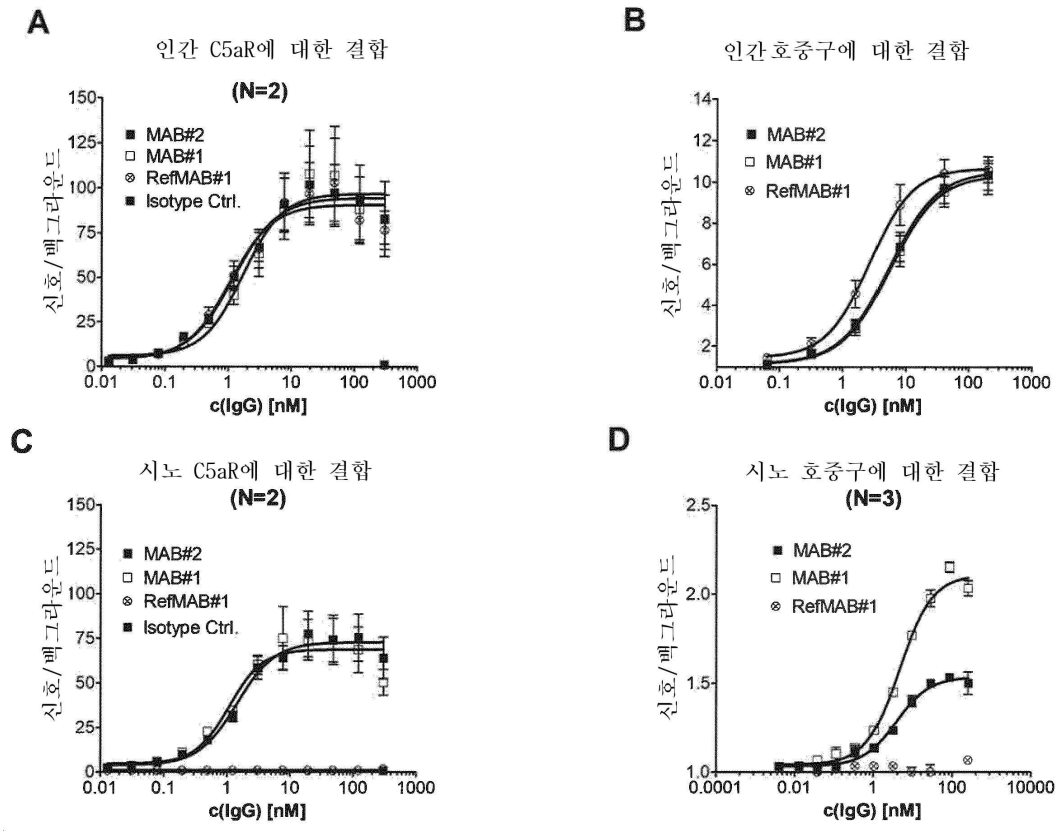
[0772] *결과*

[0773] 시간 경과에 따른 평균 혈장 농도는 도 9에 도시되어 있다. 단일 정맥내(i.v.) 투여 후 MAB#1의 평균 최대 혈장 농도를 3마리 동물 모두에서 투여 후 5분(즉, 0.083시간)(T_{max})에 관찰했다(즉, 투여 후 첫 번째 샘플링 시점). 106 mℓ/kg의 평균 분포 부피(Vz)는 혈장 부피와 세포외 부피 사이에 존재했다(Davies et al., 1993). 정맥내(i.v.) 투여 후 평균 최종 제거 반감기를 9.0일째에 결정했고, 평균 총 제거(clearance)가 0.341 mℓ/h/kg에서 결정되었다.

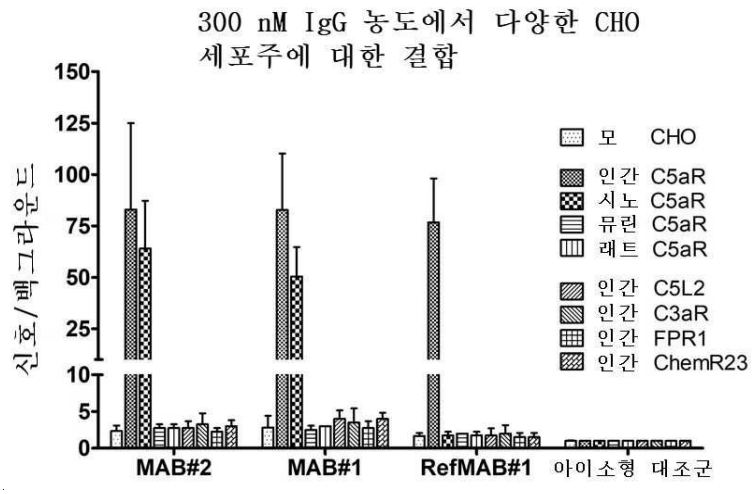
[0774] 전반적으로, MAB#1은 설치류 C5aR에 대한 교차-반응성이 없는 래트 혈장에서 인간 IgG1 항체의 전형적인 약동학적 프로파일을 입증했다. 항-약물-항체(ADA)-매개된 제거에 대한 징후를 검출할 수 없었다.

도면

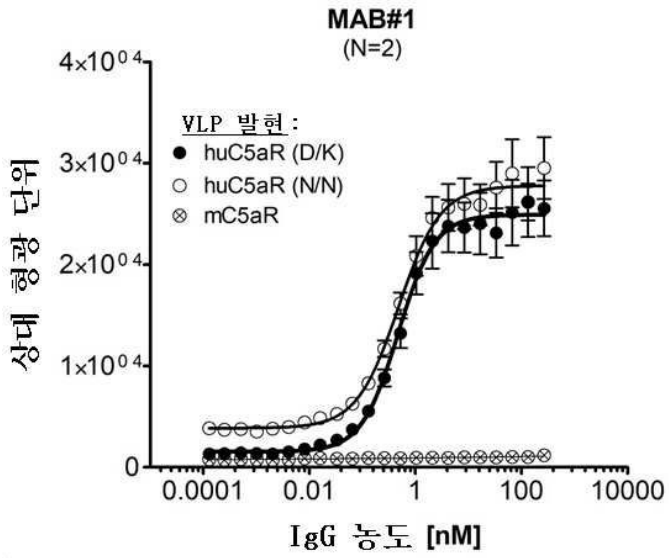
도면1



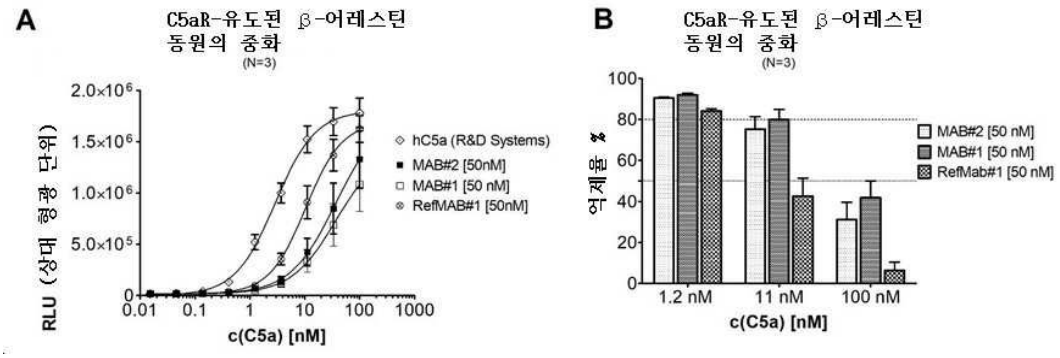
도면2


300 nM IgG 농도에서 다양한 CHO 세포주에 대한 결합
신호/백그라운드
150
125
100
75
50
25
10
5
0
모 CHO
인간 C5aR
시노 C5aR
뮤린 C5aR
래트 C5aR
인간 C5L2
인간 C3aR
인간 FPR1
인간 ChemR23
MAB#2
MAB#1
RefMAB#1
아이소형 대조군

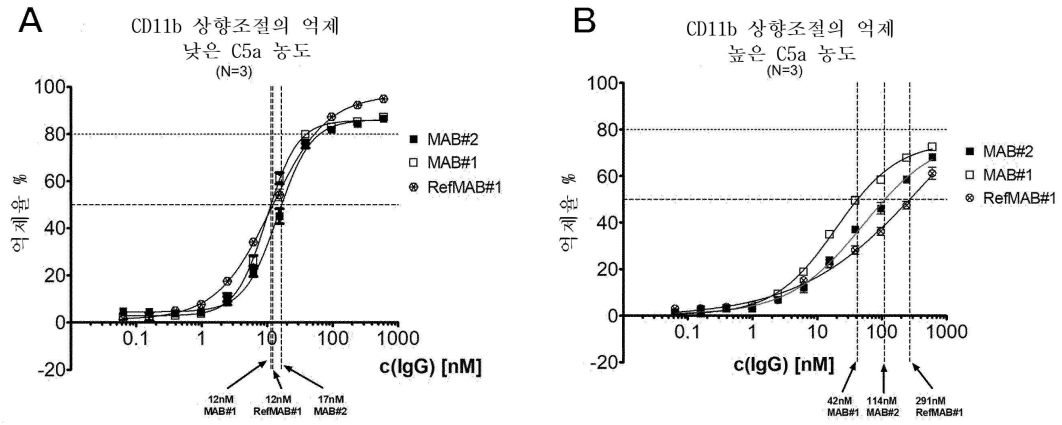
도면3


MAB#1
(N=2)
VLP 발현:
huC5aR (D/K)
huC5aR (N/N)
mC5aR
상대 형광 단위
4x10^04
3x10^04
2x10^04
1x10^04
0
0.0001
0.01
1
100
10000
IgG 농도 [nM]

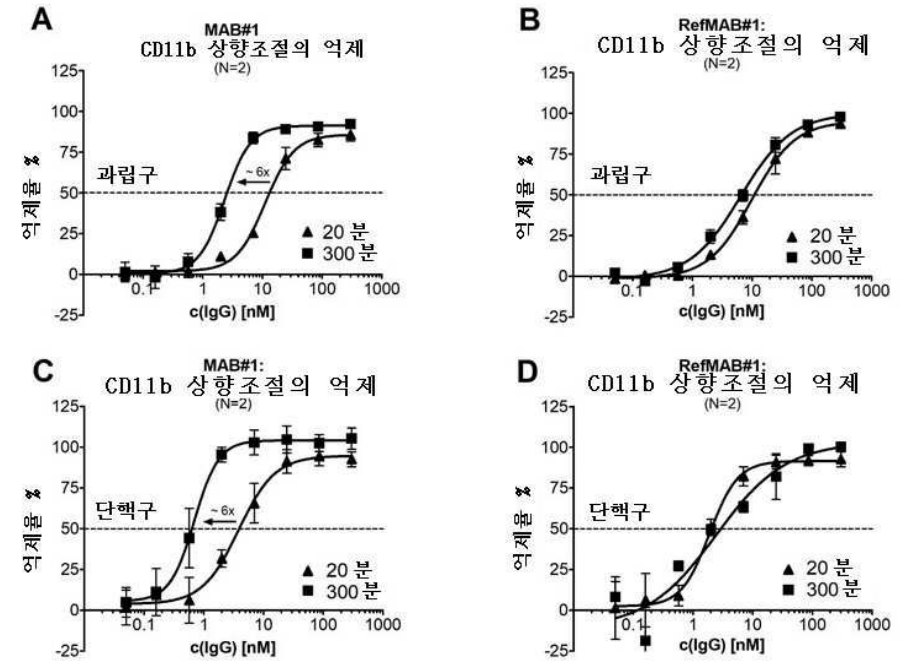
도면4


A
C5aR-유도된 β-어레스틴 동원의 중화
(N=3)
RLU (상대 형광 단위)
2.0x10^6
1.5x10^6
1.0x10^6
5.0x10^5
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
c(C5a) [nM]
hC5a (R&D Systems)
MAB#2 [50nM]
MAB#1 [50 nM]
RefMAB#1 [50nM]
B
C5aR-유도된 β-어레스틴 동원의 중화
(N=3)
억제율 %
100
80
60
40
20
0
1.2 nM
11 nM
100 nM
c(C5a) [nM]
MAB#2 [50 nM]
MAB#1 [50 nM]
RefMab#1 [50 nM]

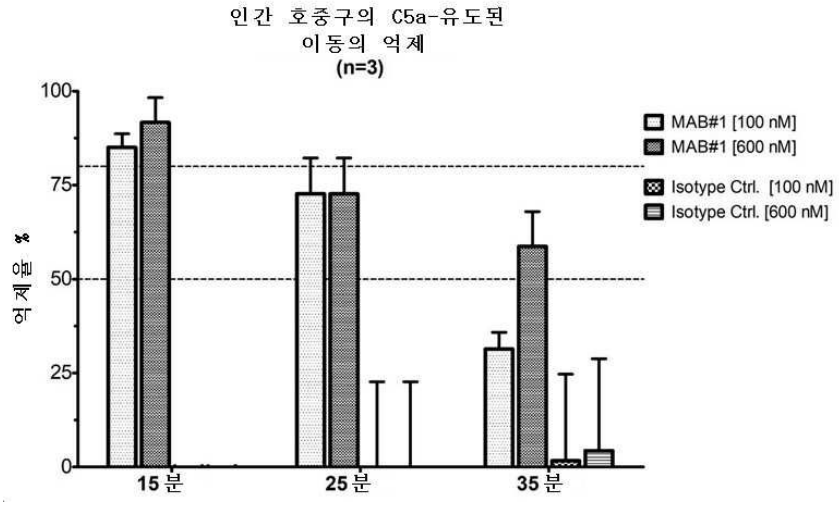
도면5


A
CD11b 상향조절의 억제
낮은 C5a 농도
(N=3)
억제율 %
c(IgG) [nM]
MAB#2
MAB#1
RefMAB#1
12nM MAB#1
12nM RefMAB#1
17nM MAB#2
B
CD11b 상향조절의 억제
높은 C5a 농도
(N=3)
억제율 %
c(IgG) [nM]
MAB#2
MAB#1
RefMAB#1
42nM MAB#1
114nM MAB#2
291nM RefMAB#1

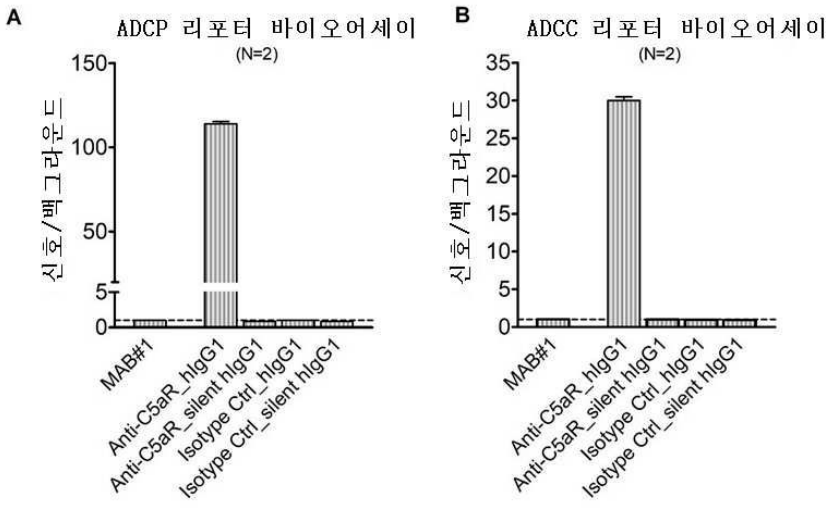
도면6


A
MAB#1
CD11b 상향조절의 억제
(N=2)
과립구
~6x
20 분
300 분
억제율 %
c(IgG) [nM]
B
RefMAB#1:
CD11b 상향조절의 억제
(N=2)
과립구
20 분
300 분
억제율 %
c(IgG) [nM]
C
MAB#1:
CD11b 상향조절의 억제
(N=2)
단핵구
~6x
20 분
300 분
억제율 %
c(IgG) [nM]
D
RefMAB#1:
CD11b 상향조절의 억제
(N=2)
단핵구
20 분
300 분
억제율 %
c(IgG) [nM]

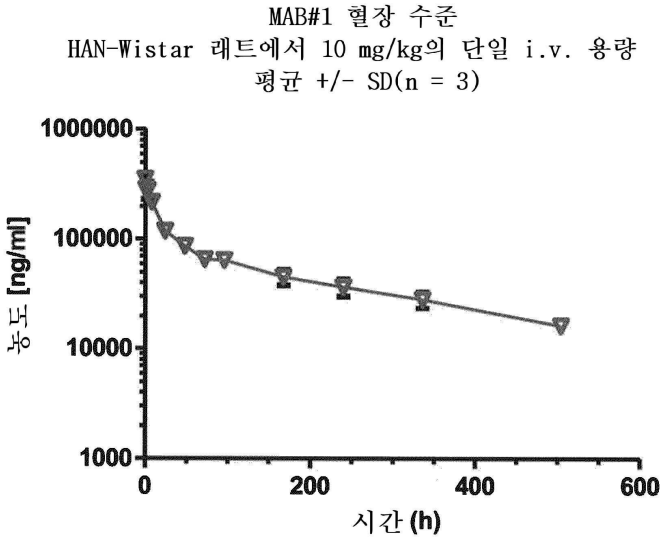
도면7


인간 호중구의 C5a-유도된
이동의 억제
(n=3)
억제율 %
MAB#1 [100 nM]
MAB#1 [600 nM]
Isotype Ctrl. [100 nM]
Isotype Ctrl. [600 nM]
15 분
25 분
35 분

도면8


A
ADCP 리포터 바이오어세이
(N=2)
신호/백그라운드
150
100
50
5
0
MAB#1
Anti-C5aR_hIgG1
Anti-C5aR_silent hIgG1
Isotype Ctrl_hIgG1
Isotype Ctrl_silent hIgG1
B
ADCC 리포터 바이오어세이
(N=2)
신호/백그라운드
35
30
25
20
15
10
5
0
MAB#1
Anti-C5aR_hIgG1
Anti-C5aR_silent hIgG1
Isotype Ctrl_hIgG1
Isotype Ctrl_silent hIgG1

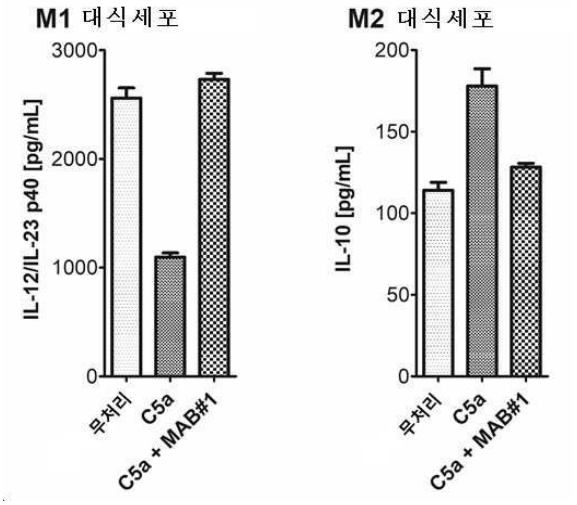
도면9


MAB#1 혈장 수준
HAN-Wistar 래트에서 10 mg/kg의 단일 i.v. 용량
평균 +/- SD(n = 3)
농도 [ng/ml]
1000000
100000
10000
1000
0
200
400
600
시간 (h)

도면10

항원	MAB#2		MAB#1	
	100 nM	10 nM	100 nM	10 nM
블랭크	2	1	2	1
huC5aR_NT_bio	49	46	84	82
단백질 A	1	1	1	1
혈청 알부민 (h)	2	1	2	2
피브리노겐 (b)	2	1	2	1
헤모글로빈 (h)	2	1	2	1
트랜스페린 (b)	9	4	19	8
항트립신	2	2	2	1
재조 표면 수용체1_Lys (h)	2	1	2	1
재조 표면 수용체2_Fc (h)	2	1	2	1
재조 표면 수용체3_Fc (h)	2	2	2	2
GFP	2	1	2	1
배큘로바이러스 입자	3	1	3	1
Fc (h)	3	1	2	1
HKB11 비히클	3	1	3	1
덱스트란설페이트 소듐 염	2	1	2	1
콜시노겐	5	1	4	1
아밀로글리코시다제	2	1	3	1
트립신 억제자	7	3	5	2
시토크롬 C	2	1	2	1
미오글로빈	2	1	2	1
렉틴	2	1	2	1
오발부민	4	1	2	1
트립시노겐	2	1	2	1
밀크 분말	2	1	2	1
RNA제 B	2	1	2	1
RNA제 A	6	2	4	2
리소자임	2	1	2	1
항-인간 Fab (Dianova)	1	1	1	1
항-인간 Fc	1	1	1	1
블랭크	2	1	2	1
블랭크	2	1	2	1

도면11



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> MORPHOSYS AG

<120> ANTIBODIES TARGETING C5AR

<130> MS294/EP-PROV

<140><141><160> 96

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 350

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Asp Ser Phe Asn Tyr Thr Thr Pro Asp Tyr Gly His Tyr Asp Asp
1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Asp Leu Asn Thr Pro Val Asp Lys Thr Ser Asn Thr
20 25 30

Leu Arg Val Pro Asp Ile Leu Ala Leu Val Ile Phe Ala Val Val Phe
35 40 45

Leu Val Gly Val Leu Gly Asn Ala Leu Val Val Trp Val Thr Ala Phe
50 55 60

Glu Ala Lys Arg Thr Ile Asn Ala Ile Trp Phe Leu Asn Leu Ala Val
65 70 75 80

Ala Asp Phe Leu Ser Cys Leu Ala Leu Pro Ile Leu Phe Thr Ser Ile
85 90 95

Val Gln His His His Trp Pro Phe Gly Gly Ala Ala Cys Ser Ile Leu
100 105 110

Pro Ser Leu Ile Leu Leu Asn Met Tyr Ala Ser Ile Leu Leu Leu Ala
115 120 125

Thr Ile Ser Ala Asp Arg Phe Leu Leu Val Phe Lys Pro Ile Trp Cys
130 135 140

Gln Asn Phe Arg Gly Ala Gly Leu Ala Trp Ile Ala Cys Ala Val Ala
145 150 155 160

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

Val Arg Glu Glu Tyr Phe Pro Pro Lys Val Leu Cys Gly Val Asp Tyr
180 185 190

Ser His Asp Lys Arg Arg Glu Arg Ala Val Ala Ile Val Arg Leu Val
195 200 205

Leu Gly Phe Leu Trp Pro Leu Leu Thr Leu Thr Ile Cys Tyr Thr Phe
210 215 220
Ile Leu Leu Arg Thr Trp Ser Arg Arg Ala Thr Arg Ser Thr Lys Thr

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

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

<210> 2
<211> 350
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 2

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

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

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

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

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

305 310 315 320

Asn Val Leu Thr Glu Glu Ser Val Val Arg Glu Ser Lys Ser Phe Thr
325 330 335

Arg Ser Thr Val Asp Thr Met Ala Gln Lys Thr Gln Ala Val
340 345 350

<210> 3

<211> 350

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 3

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

Lys Asn Val Leu Asp Ser Asp Thr Pro Val Asp Lys Thr Ser Asn Thr
20 25 30

Leu Arg Val Pro Asp Ile Leu Ala Leu Val Val Phe Ala Val Val Phe
35 40 45

Leu Val Gly Val Leu Gly Asn Ala Leu Val Val Trp Val Thr Ala Phe
50 55 60

Glu Val Lys Arg Thr Ile Asn Ala Ile Trp Phe Leu Asn Leu Ala Val
65 70 75 80

Ala Asp Phe Leu Ser Cys Leu Ala Leu Pro Ile Leu Phe Thr Ser Ile
85 90 95

Val Gln His His His Trp Pro Phe Gly Gly Thr Ala Cys Arg Ile Leu
100 105 110

Pro Ser Leu Ile Leu Leu Asn Met Tyr Ala Ser Ile Leu Leu Leu Ala
115 120 125

Thr Ile Ser Ala Asp Arg Phe Leu Leu Val Phe Asn Pro Ile Trp Cys
130 135 140

Gln Asn Phe Arg Gly Ala Gly Leu Ala Trp Ile Ala Cys Ala Val Ala
145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asn Asn Asp Thr Arg Arg Glu Arg Ala Val Ala Ile Val Arg Leu Val

195 200 205

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

210 215 220

Leu Leu Leu Arg Thr Trp Ser Arg Arg Ala Thr Arg Ser Thr Lys Thr

225 230 235 240

Leu Lys Val Val Val Ala Val Val Ala Ser Phe Phe Ile Phe Trp Leu

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Ala Tyr Ile Asn Cys Cys Ile Asn Pro Val Ile Tyr Val Val Ala Gly

290 295 300

Gln Gly Phe Gln Gly Arg Leu Arg Lys Ser Leu Pro Ser Leu Leu Arg

305 310 315 320

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

325 330 335

Arg Ser Thr Val Asp Thr Met Thr Glu Lys Thr Gln Ala Val

340 345 350

<210> 4

<211> 351

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 4

Met Asp Pro Ile Asp Asn Ser Ser Phe Glu Ile Asn Tyr Asp His Tyr

1 5 10 15

Gly Thr Met Ala Pro Asn Ile Pro Ala Asp Gly Ile His Leu Pro Lys

20 25 30

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

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

Pro Ser Leu Ile Leu Leu Asn Met Tyr Ala Ser Ile Leu Leu Leu Ala
115 120 125
Thr Ile Ser Ala Asp Arg Phe Leu Leu Val Phe Lys Pro Ile Trp Cys
130 135 140
Gln Lys Val Arg Gly Thr Gly Leu Ala Trp Met Ala Cys Gly Val Ala
145 150 155 160
Trp Val Leu Ala Leu Leu Leu Thr Ile Pro Ser Phe Val Tyr Arg Glu
165 170 175

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

Thr Leu Lys Val Val Met Ala Val Val Ile Cys Phe Phe Ile Phe Trp
245 250 255
Leu Pro Tyr Gln Val Thr Gly Val Met Ile Ala Trp Leu Pro Pro Ser
260 265 270
Ser Pro Thr Leu Lys Arg Val Glu Lys Leu Asn Ser Leu Cys Val Ser

275 280 285

Leu Ala Tyr Ile Asn Cys Cys Val Asn Pro Ile Ile Tyr Val Met Ala

290 295 300

Gly Gln Gly Phe His Gly Arg Leu Leu Arg Ser Leu Pro Ser Ile Ile

305 310 315 320

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

325 330 335

Thr Pro Ser Thr Thr Asp Thr Ser Thr Arg Lys Ser Gln Ala Val

340 345 350

<210> 5

<211> 352

<212> PRT

<213> Rattus norvegicus

<400> 5

Met Asp Pro Ile Ser Asn Asp Ser Ser Glu Ile Thr Tyr Asp Tyr Ser

1 5 10 15

Asp Gly Thr Pro Asn Pro Asp Met Pro Ala Asp Gly Val Tyr Ile Pro

20 25 30

Lys Met Glu Pro Gly Asp Ile Ala Ala Leu Ile Ile Tyr Leu Ala Val

35 40 45

Phe Leu Val Gly Val Thr Gly Asn Ala Leu Val Val Trp Val Thr Ala

50 55 60

Phe Glu Ala Lys Arg Thr Val Asn Ala Ile Trp Phe Leu Asn Leu Ala

65 70 75 80

Val Ala Asp Leu Leu Ser Cys Leu Ala Leu Pro Ile Leu Phe Thr Ser

85 90 95

Ile Val Lys His Asn His Trp Pro Phe Gly Asp Gln Ala Cys Ile Val

100 105 110

Leu Pro Ser Leu Ile Leu Leu Asn Met Tyr Ser Ser Ile Leu Leu Leu

115 120 125

Ala Thr Ile Ser Ala Asp Arg Phe Leu Leu Val Phe Lys Pro Ile Trp

130 135 140

Cys Gln Lys Phe Arg Arg Pro Gly Leu Ala Trp Met Ala Cys Gly Val

145 150 155 160

Thr Trp Val Leu Ala Leu Leu Leu Thr Ile Pro Ser Phe Val Phe Arg

165 170 175

Arg Ile His Lys Asp Pro Tyr Ser Asp Ser Ile Leu Cys Asn Ile Asp

180 185 190

Tyr Ser Lys Gly Pro Phe Phe Ile Glu Lys Ala Ile Ala Ile Leu Arg

195 200 205

Leu Met Val Gly Phe Val Leu Pro Leu Leu Thr Leu Asn Ile Cys Tyr

210 215 220

Thr Phe Leu Leu Ile Arg Thr Trp Ser Arg Lys Ala Thr Arg Ser Thr

225 230 235 240

Lys Thr Leu Lys Val Val Met Ala Val Val Thr Cys Phe Phe Val Phe

245 250 255

Trp Leu Pro Tyr Gln Val Thr Gly Val Ile Leu Ala Trp Leu Pro Arg

260 265 270

Ser Ser Ser Thr Phe Gln Ser Val Glu Arg Leu Asn Ser Leu Cys Val

275 280 285

Ser Leu Ala Tyr Ile Asn Cys Cys Val Asn Pro Ile Ile Tyr Val Met

290 295 300

Ala Gly Gln Gly Phe His Gly Arg Leu Arg Arg Ser Leu Pro Ser Ile

305 310 315 320

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

325 330 335

Phe Thr Arg Ser Thr Met Asp Thr Ser Thr Gln Lys Ser Gln Ala Val

340 345 350

<210> 6

<211> 74

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 6

Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala Lys Tyr Lys His Ser
1 5 10 15
Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys Val Asn Asn Asp Glu
20 25 30

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

<210> 7
<211> 337
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 7
Met Gly Asn Asp Ser Val Ser Tyr Glu Tyr Gly Asp Tyr Ser Asp Leu
1 5 10 15

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

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

130 135 140

Val Gln Arg Ala Cys Gly Val Gln Val Ala Cys Gly Ala Ala Trp Thr
145 150 155 160
Leu Ala Leu Leu Leu Thr Val Pro Ser Ala Ile Tyr Arg Arg Leu His
165 170 175
Gln Glu His Phe Pro Ala Arg Leu Gln Cys Val Val Asp Tyr Gly Gly
180 185 190
Ser Ser Ser Thr Glu Asn Ala Val Thr Ala Ile Arg Phe Leu Phe Gly
195 200 205

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

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

Val

<210> 8
<211> 482
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ala Ser Phe Ser Ala Glu Thr Asn Ser Thr Asp Leu Leu Ser Gln
1 5 10 15

Pro Trp Asn Glu Pro Pro Val Ile Leu Ser Met Val Ile Leu Ser Leu
20 25 30

Thr Phe Leu Leu Gly Leu Pro Gly Asn Gly Leu Val Leu Trp Val Ala
35 40 45

Gly Leu Lys Met Gln Arg Thr Val Asn Thr Ile Trp Phe Leu His Leu
50 55 60

Thr Leu Ala Asp Leu Leu Cys Cys Leu Ser Leu Pro Phe Ser Leu Ala
65 70 75 80

His Leu Ala Leu Gln Gly Gln Trp Pro Tyr Gly Arg Phe Leu Cys Lys
85 90 95

Leu Ile Pro Ser Ile Ile Val Leu Asn Met Phe Ala Ser Val Phe Leu
100 105 110

Leu Thr Ala Ile Ser Leu Asp Arg Cys Leu Val Val Phe Lys Pro Ile
115 120 125

Trp Cys Gln Asn His Arg Asn Val Gly Met Ala Cys Ser Ile Cys Gly
130 135 140

Cys Ile Trp Val Val Ala Cys Val Met Cys Ile Pro Val Phe Val Tyr
145 150 155 160

Arg Glu Ile Phe Thr Thr Asp Asn His Asn Arg Cys Gly Tyr Lys Phe
165 170 175

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

Glu Asn Arg Ser Leu Glu Asn Ile Val Gln Pro Pro Gly Glu Met Asn
195 200 205

Asp Arg Leu Asp Pro Ser Ser Phe Gln Thr Asn Asp His Pro Trp Thr
210 215 220

Val Pro Thr Val Phe Gln Pro Gln Thr Phe Gln Arg Pro Ser Ala Asp
225 230 235 240

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

245 250 255

Asn Val Phe Lys Pro Ala Asp Val Val Ser Pro Lys Ile Pro Ser Gly

260 265 270

Phe Pro Ile Glu Asp His Glu Thr Ser Pro Leu Asp Asn Ser Asp Ala

275 280 285

Phe Leu Ser Thr His Leu Lys Leu Phe Pro Ser Ala Ser Ser Asn Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

Thr Ile Thr Arg Leu Val Val Gly Phe Leu Leu Pro Ser Val Ile Met

340 345 350

Ile Ala Cys Tyr Ser Phe Ile Val Phe Arg Met Gln Arg Gly Arg Phe

355 360 365

Ala Lys Ser Gln Ser Lys Thr Phe Arg Val Ala Val Val Val Val Ala

370 375 380

Val Phe Leu Val Cys Trp Thr Pro Tyr His Ile Phe Gly Val Leu Ser

385 390 395 400

Leu Leu Thr Asp Pro Glu Thr Pro Leu Gly Lys Thr Leu Met Ser Trp

405 410 415

Asp His Val Cys Ile Ala Leu Ala Ser Ala Asn Ser Cys Phe Asn Pro

420 425 430

Phe Leu Tyr Ala Leu Leu Gly Lys Asp Phe Arg Lys Lys Ala Arg Gln

435 440 445

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

450 455 460

Ser Thr His Cys Pro Ser Asn Asn Val Ile Ser Glu Arg Asn Ser Thr

465 470 475 480

Thr Val

<210> 9

<211> 350

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Glu Thr Asn Ser Ser Leu Pro Thr Asn Ile Ser Gly Gly Thr Pro
1 5 10 15

Ala Val Ser Ala Gly Tyr Leu Phe Leu Asp Ile Ile Thr Tyr Leu Val
20 25 30

Phe Ala Val Thr Phe Val Leu Gly Val Leu Gly Asn Gly Leu Val Ile
35 40 45

Trp Val Ala Gly Phe Arg Met Thr His Thr Val Thr Thr Ile Ser Tyr
50 55 60

Leu Asn Leu Ala Val Ala Asp Phe Cys Phe Thr Ser Thr Leu Pro Phe
65 70 75 80

Phe Met Val Arg Lys Ala Met Gly Gly His Trp Pro Phe Gly Trp Phe
85 90 95

Leu Cys Lys Phe Leu Phe Thr Ile Val Asp Ile Asn Leu Phe Gly Ser
100 105 110

Val Phe Leu Ile Ala Leu Ile Ala Leu Asp Arg Cys Val Cys Val Leu
115 120 125

His Pro Val Trp Thr Gln Asn His Arg Thr Val Ser Leu Ala Lys Lys
130 135 140

Val Ile Ile Gly Pro Trp Val Met Ala Leu Leu Leu Thr Leu Pro Val
145 150 155 160

Ile Ile Arg Val Thr Thr Val Pro Gly Lys Thr Gly Thr Val Ala Cys
165 170 175

Thr Phe Asn Phe Ser Pro Trp Thr Asn Asp Pro Lys Glu Arg Ile Asn
180 185 190

Val Ala Val Ala Met Leu Thr Val Arg Gly Ile Ile Arg Phe Ile Ile

195 200 205

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

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

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

<210> 10
<211> 373
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 10

Met Arg Met Glu Asp Glu Asp Tyr Asn Thr Ser Ile Ser Tyr Gly Asp
1 5 10 15
Glu Tyr Pro Asp Tyr Leu Asp Ser Ile Val Val Leu Glu Asp Leu Ser
20 25 30
Pro Leu Glu Ala Arg Val Thr Arg Ile Phe Leu Val Val Val Tyr Ser

35 40 45
Ile Val Cys Phe Leu Gly Ile Leu Gly Asn Gly Leu Val Ile Ile Ile

50 55 60

Ala Thr Phe Lys Met Lys Lys Thr Val Asn Met Val Trp Phe Leu Asn

65 70 75 80

Leu Ala Val Ala Asp Phe Leu Phe Asn Val Phe Leu Pro Ile His Ile

85 90 95

Thr Tyr Ala Ala Met Asp Tyr His Trp Val Phe Gly Thr Ala Met Cys

100 105 110

Lys Ile Ser Asn Phe Leu Leu Ile His Asn Met Phe Thr Ser Val Phe

115 120 125

Leu Leu Thr Ile Ile Ser Ser Asp Arg Cys Ile Ser Val Leu Leu Pro

130 135 140

Val Trp Ser Gln Asn His Arg Ser Val Arg Leu Ala Tyr Met Ala Cys

145 150 155 160

Met Val Ile Trp Val Leu Ala Phe Phe Leu Ser Ser Pro Ser Leu Val

165 170 175

Phe Arg Asp Thr Ala Asn Leu His Gly Lys Ile Ser Cys Phe Asn Asn

180 185 190

Phe Ser Leu Ser Thr Pro Gly Ser Ser Ser Trp Pro Thr His Ser Gln

195 200 205

Met Asp Pro Val Gly Tyr Ser Arg His Met Val Val Thr Val Thr Arg

210 215 220

Phe Leu Cys Gly Phe Leu Val Pro Val Leu Ile Ile Thr Ala Cys Tyr

225 230 235 240

Leu Thr Ile Val Cys Lys Leu His Arg Asn Arg Leu Ala Lys Thr Lys

245 250 255

Lys Pro Phe Lys Ile Ile Val Thr Ile Ile Ile Thr Phe Phe Leu Cys

260 265 270

Trp Cys Pro Tyr His Thr Leu Asn Leu Leu Glu Leu His His Thr Ala

275 280 285

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

290 295 300

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

355 360 365
Glu Thr Gly Met Leu
370
<210> 11
<211> 216
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 11
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
1 5 10 15
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
20 25 30
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
35 40 45

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

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
115 120 125
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

130 135 140

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
145 150 155 160

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
165 170 175

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
180 185 190

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

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
210 215

<210> 12

<211> 31

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Met Asp Ser Phe Asn Tyr Thr Thr Pro Asp Tyr Gly His Tyr Asp Asp
1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Asp Leu Asn Thr Pro Val Asp Lys Thr Ser Asn
20 25 30

<210> 13

<211> 37

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 13

Met Asp Ser Phe Asn Tyr Thr Thr Pro Asp Tyr Gly His Tyr Asp Asp
1 5 10 15

Lys Asp Thr Leu Asp Leu Asn Thr Pro Val Asp Lys Thr Ser Asn Thr
20 25 30

Leu Arg Val Pro Asp
35

<210> 14

<211> 37

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 14

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

Lys Asn Val Leu Asp Ser Asp Thr Pro Val Asp Lys Thr Ser Asn Thr
20 25 30

Leu Arg Val Pro Asp
35

<210> 15

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 15

Ala Glu Ser His Leu Ser Leu Leu Tyr His Leu Thr Ala Val Ser Ser
1 5 10 15

Pro Ala Pro Gly Thr Pro Ala Phe Trp Val Ser Gly Trp Leu Gly Pro
20 25 30

Gln Gln Tyr Leu Ser Tyr Asn Ser Leu Arg Gly Glu Ala Glu Pro Cys
35 40 45

Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu
50 55 60

Thr Thr Asp Leu Arg Ile Lys Glu Lys Leu Phe Leu Glu Ala Phe Lys
65 70 75 80

Ala Leu Gly Gly Lys Gly Pro Tyr Thr Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys
85 90 95

Glu Leu Gly Pro Asp Asn Thr Ser Val Pro Thr Ala Lys Phe Ala Leu
100 105 110

Asn Gly Glu Glu Phe Met Asn Phe Asp Leu Lys Gln Gly Thr Trp Gly

115 120 125

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

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

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

Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gly Phe His Pro Ser Asp Ile Glu Val
325 330 335
Asp Leu Leu Lys Asn Gly Glu Arg Ile Glu Lys Val Glu His Ser Asp
340 345 350
Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu
355 360 365

Phe Thr Pro Thr Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val
370 375 380

Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
385 390 395

<210> 16

<211> 398

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 16

Ala Glu Ser His Leu Ser Leu Leu Tyr His Leu Thr Ala Val Ser Ser
1 5 10 15

Pro Ala Pro Gly Thr Pro Ala Phe Trp Val Ser Gly Trp Leu Gly Pro
20 25 30

Gln Gln Tyr Leu Ser Tyr Asp Ser Leu Arg Gly Gln Ala Glu Pro Cys
35 40 45

Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu
50 55 60

Thr Thr Asp Leu Arg Ile Lys Glu Lys Leu Phe Leu Glu Ala Phe Lys
65 70 75 80

Ala Leu Gly Gly Lys Gly Pro Tyr Thr Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys
85 90 95

Glu Leu Ser Pro Asp Asn Thr Ser Val Pro Thr Ala Lys Phe Ala Leu
100 105 110

Asn Gly Glu Glu Phe Met Asn Phe Asp Leu Lys Gln Gly Thr Trp Gly
115 120 125

Gly Asp Trp Pro Glu Ala Leu Ala Ile Ser Gln Arg Trp Gln Gln Gln
130 135 140

Asp Lys Ala Ala Asn Lys Glu Leu Thr Phe Leu Leu Phe Ser Cys Pro

145 150 155 160

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

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

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

Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Leu Leu Tyr Tyr Thr Glu
355 360 365
Phe Thr Pro Asn Glu Lys Asp Glu Tyr Ala Cys Arg Val Asn His Val
370 375 380
Thr Leu Ser Gly Pro Arg Thr Val Lys Trp Asp Arg Asp Met
385 390 395

<210> 17

<211> 400

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 17

Ser Glu Thr Arg Pro Pro Leu Met Tyr His Leu Thr Ala Val Ser Asn
1 5 10 15

Pro Ser Thr Gly Leu Pro Ser Phe Trp Ala Thr Gly Trp Leu Gly Pro
20 25 30

Gln Gln Tyr Leu Thr Tyr Asn Ser Leu Arg Gln Glu Ala Asp Pro Cys
35 40 45

Gly Ala Trp Met Trp Glu Asn Gln Val Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu
50 55 60

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

Thr Leu Glu Lys Ile Leu Asn Gly Thr Tyr Thr Leu Gln Gly Leu Leu
85 90 95

Gly Cys Glu Leu Ala Ser Asp Asn Ser Ser Val Pro Thr Ala Val Phe
100 105 110

Ala Leu Asn Gly Glu Glu Phe Met Lys Phe Asn Pro Arg Ile Gly Asn
115 120 125

Trp Thr Gly Glu Trp Pro Glu Thr Glu Ile Val Ala Asn Leu Trp Met
130 135 140

Lys Gln Pro Asp Ala Ala Arg Lys Glu Ser Glu Phe Leu Leu Asn Ser
145 150 155 160

Cys Pro Glu Arg Leu Leu Gly His Leu Glu Arg Gly Arg Arg Asn Leu
165 170 175

Glu Trp Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys Ala Arg Pro Gly Asn

180 185 190

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

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

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

His Asp Ser Met Ala Glu Pro Lys Thr Val Tyr Trp Asp Arg Asp Met
385 390 395 400

<210> 18

<211> 274

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 18

Gln Val Asp Thr Thr Lys Ala Val Ile Thr Leu Gln Pro Pro Trp Val
1 5 10 15

Ser Val Phe Gln Glu Glu Thr Val Thr Leu His Cys Glu Val Leu His
20 25 30

Leu Pro Gly Ser Ser Ser Thr Gln Trp Phe Leu Asn Gly Thr Ala Thr
35 40 45

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

Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Arg Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Pro
65 70 75 80

Ile Gln Leu Glu Ile His Arg Gly Trp Leu Leu Leu Gln Val Ser Ser
85 90 95

Arg Val Phe Thr Glu Gly Glu Pro Leu Ala Leu Arg Cys His Ala Trp
100 105 110

Lys Asp Lys Leu Val Tyr Asn Val Leu Tyr Tyr Arg Asn Gly Lys Ala
115 120 125

Phe Lys Phe Phe His Trp Asn Ser Asn Leu Thr Ile Leu Lys Thr Asn
130 135 140

Ile Ser His Asn Gly Thr Tyr His Cys Ser Gly Met Gly Lys His Arg
145 150 155 160

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

Pro Val Leu Asn Ala Ser Val Thr Ser Pro Leu Leu Glu Gly Asn Leu
180 185 190

Val Thr Leu Ser Cys Glu Thr Lys Leu Leu Leu Gln Arg Pro Gly Leu
195 200 205

Gln Leu Tyr Phe Ser Phe Tyr Met Gly Ser Lys Thr Leu Arg Gly Arg

210 215 220

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

<210> 19
<211> 186
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"
<400> 19
Gln Ala Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp
1 5 10 15
Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Ala
20 25 30
Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu
35 40 45
Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn
50 55 60

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

115 120 125

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

<210> 20
<211> 186
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 20
Gln Ala Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Pro Trp
1 5 10 15
Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly Ala
20 25 30
Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu
35 40 45

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

Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys
115 120 125

Ser Gln Lys Phe Ser Arg Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln Ala
130 135 140

Asn His Ser His Ser Gly Asp Tyr His Cys Thr Gly Asn Ile Gly Tyr
145 150 155 160

Thr Leu Phe Ser Ser Lys Pro Val Thr Ile Thr Val Gln Val Pro Ser
165 170 175

Val Asn Ser Arg His His His His His His
180 185

<210> 21

<211> 187

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 21

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
1 5 10 15

Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln
20 25 30

Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu
35 40 45

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr
50 55 60

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

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln
85 90 95

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys
100 105 110

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

Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
165 170 175
Gly Val Asn Ser Arg His His His His His His
180 185
<210> 22
<211> 187
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 22
Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
1 5 10 15

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

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

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn
115 120 125
Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro
130 135 140

Lys Ala Thr Leu Lys Asp Ser Gly Ser Tyr Phe Cys Arg Gly Leu Val
145 150 155 160
Gly Ser Lys Asn Val Ser Ser Glu Thr Val Asn Ile Thr Ile Thr Gln
165 170 175
Gly Val Asn Ser Arg His His His His His His
180 185

<210> 23
<211> 186
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 23
Thr Pro Ala Ala Pro Pro Lys Ala Val Leu Lys Leu Glu Pro Gln Trp
1 5 10 15
Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Arg Gly Thr
20 25 30
His Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn Leu
35 40 45
Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn Asn
50 55 60

Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser Asp
65 70 75 80
Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr Pro
85 90 95
His Leu Glu Phe Gln Glu Gly Glu Thr Ile Val Leu Arg Cys His Ser
100 105 110

Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly Lys
115 120 125

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

<210> 24
<211> 907
<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 24
Asp Gly Ser His His His His His His Gly Thr Met Asp Ser Phe Asn
1 5 10 15
Tyr Thr Thr Pro Asp Tyr Gly His Tyr Asp Asp Lys Asp Thr Leu Asp
20 25 30
Leu Asn Thr Pro Val Asp Lys Thr Ser Asn Thr Leu Arg Val Pro Asp
35 40 45

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

100 105 110

Trp Pro Phe Gly Gly Ala Ala Cys Ser Ile Leu Pro Ser Leu Ile Leu
115 120 125
Leu Asn Met Tyr Ala Ser Ile Leu Leu Leu Ala Thr Ile Ser Ala Asp
130 135 140
Arg Phe Leu Leu Val Phe Lys Pro Ile Trp Cys Gln Asn Phe Arg Gly
145 150 155 160
Ala Gly Leu Ala Trp Ile Ala Cys Ala Val Ala Trp Gly Leu Ala Leu
165 170 175

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

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

Cys Ile Asn Pro Ile Ile Tyr Val Val Ala Gly Gln Gly Phe Gln Gly
305 310 315 320
Arg Leu Arg Lys Ser Leu Pro Ser Leu Leu Arg Asn Val Leu Thr Glu
325 330 335
Glu Ser Val Val Arg Glu Ser Lys Ser Phe Thr Arg Ser Thr Val Asp
340 345 350

Thr Met Ala Gln Lys Thr Gln Ala Val Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp
355 360 365

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

Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser
435 440 445
Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val
450 455 460
His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile
465 470 475 480
Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala
485 490 495

Asp Thr Gly His Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln
500 505 510
Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu
515 520 525
Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val
530 535 540
Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu
545 550 555 560

Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met
565 570 575
Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His
580 585 590
Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg

595 600 605

Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly

610 615 620

Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg

625 630 635 640

Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr

645 650 655

Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr

660 665 670

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

675 680 685

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

690 695 700

Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu

705 710 715 720

Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala

725 730 735

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

740 745 750

Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg Asn Gln Arg Lys Met Val Lys Cys

755 760 765

Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Thr Ala Arg Asn Cys Arg Ala Pro

770 775 780

Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys

785 790 795 800

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

805 810 815

Tyr Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro Glu Pro Thr

820 825 830

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

835 840 845

Glu Ser Phe Arg Ser Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Pro Gln Lys Gln
850 855 860
Glu Pro Ile Asp Lys Glu Leu Tyr Pro Leu Thr Ser Leu Arg Ser Leu
865 870 875 880

Phe Gly Asn Asp Pro Ser Ser Gln Val Asn Ser Arg Gly Leu Asn Asp
885 890 895
Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu
900 905

<210> 25
<211> 874
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 25
Asp Gly Ser His His His His His His Gly Thr Met Asn Ser Phe Asn
1 5 10 15

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

Ile Asn Ala Ile Trp Phe Leu Asn Leu Ala Val Ala Asp Phe Leu Ser
85 90 95
Cys Leu Ala Leu Pro Ile Leu Phe Thr Ser Ile Val Gln His His His
100 105 110
Trp Pro Phe Gly Gly Ala Ala Cys Ser Ile Leu Pro Ser Leu Ile Leu
115 120 125

Leu Asn Met Tyr Ala Ser Ile Leu Leu Leu Ala Thr Ile Ser Ala Asp
130 135 140

Arg Phe Leu Leu Val Phe Lys Pro Ile Trp Cys Gln Asn Phe Arg Gly
145 150 155 160
Ala Gly Leu Ala Trp Ile Ala Cys Ala Val Ala Trp Gly Leu Ala Leu
165 170 175
Leu Leu Thr Ile Pro Ser Phe Leu Tyr Arg Val Val Arg Glu Glu Tyr
180 185 190
Phe Pro Pro Lys Val Leu Cys Gly Val Asp Tyr Ser His Asp Lys Arg
195 200 205

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

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

Glu Ser Val Val Arg Glu Ser Lys Ser Phe Thr Arg Ser Thr Val Asp
340 345 350
Thr Met Ala Gln Lys Thr Gln Ala Val Asp Ile Gly Ala Arg Ala Ser
355 360 365
Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys Ile Arg Leu Arg

370 375 380

Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Trp Ala Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu Gln Pro Ser Leu Gln Thr

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys Lys Lys Ala Gln Gln Ala

465 470 475 480

Ala Ala Asp Thr Gly His Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Tyr Pro Ile

485 490 495

Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His Gln Ala Ile Ser Pro Arg

500 505 510

Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu Glu Lys Ala Phe Ser Pro

515 520 525

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

530 535 540

Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln Ala Ala Met

545 550 555 560

Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu Trp Asp Arg

565 570 575

Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala Pro Gly Gln Met Arg Glu

580 585 590

Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Thr Leu Gln Glu Gln

595 600 605

Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile Tyr

610 615 620

Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg Met Tyr Ser
625 630 635 640
Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly Pro Lys Glu Pro Phe Arg
645 650 655

Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu Arg Ala Glu Gln Ala Ser
660 665 670
Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr Leu Leu Val Gln Asn Ala
675 680 685
Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala Leu Gly Pro Ala Ala Thr
690 695 700
Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly Pro Gly His
705 710 715 720

Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser Gln Val Thr Asn Thr Ala
725 730 735
Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg Asn Gln Arg Lys Met Val
740 745 750
Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Thr Ala Arg Asn Cys Arg
755 760 765
Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His Gln
770 775 780

Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu Gly Lys Ile Trp
785 790 795 800
Pro Ser Tyr Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro Glu
805 810 815
Pro Thr Ala Pro Pro Phe Leu Gln Ser Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro
820 825 830
Pro Glu Glu Ser Phe Arg Ser Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Pro Gln
835 840 845

Lys Gln Glu Pro Ile Asp Lys Glu Leu Tyr Pro Leu Thr Ser Leu Arg
850 855 860
Ser Leu Phe Gly Asn Asp Pro Ser Ser Gln

865 870

<210> 26

<211> 908

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 26

Asp Gly Ser His His His His His His Gly Thr Met Asp Pro Ile Asp
1 5 10 15

Asn Ser Ser Phe Glu Ile Asn Tyr Asp His Tyr Gly Thr Met Ala Pro
20 25 30

Asn Ile Pro Ala Asp Gly Ile His Leu Pro Lys Arg Gln Pro Gly Asp
35 40 45

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

Gly Asn Ala Leu Val Val Trp Val Thr Ala Phe Glu Ala Arg Arg Ala
65 70 75 80

Val Asn Ala Ile Trp Phe Leu Asn Leu Ala Val Ala Asp Leu Leu Ser
85 90 95

Cys Leu Ala Leu Pro Val Leu Phe Thr Thr Val Leu Asn His Asn Tyr
100 105 110

Trp Tyr Phe Asp Ala Thr Ala Cys Ile Val Leu Pro Ser Leu Ile Leu
115 120 125

Leu Asn Met Tyr Ala Ser Ile Leu Leu Leu Ala Thr Ile Ser Ala Asp
130 135 140

Arg Phe Leu Leu Val Phe Lys Pro Ile Trp Cys Gln Lys Val Arg Gly
145 150 155 160

Thr Gly Leu Ala Trp Met Ala Cys Gly Val Ala Trp Val Leu Ala Leu
165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ser Glu His Thr Val Cys Gly Ile Asn Tyr Gly Gly Gly Ser Phe

195 200 205

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

210 215 220

Leu Pro Leu Leu Thr Leu Asn Ile Cys Tyr Thr Phe Leu Leu Leu Arg

225 230 235 240

Thr Trp Ser Arg Lys Ala Thr Arg Ser Thr Lys Thr Leu Lys Val Val

245 250 255

Met Ala Val Val Ile Cys Phe Phe Ile Phe Trp Leu Pro Tyr Gln Val

260 265 270

Thr Gly Val Met Ile Ala Trp Leu Pro Pro Ser Ser Pro Thr Leu Lys

275 280 285

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

290 295 300

Cys Cys Val Asn Pro Ile Ile Tyr Val Met Ala Gly Gln Gly Phe His

305 310 315 320

Gly Arg Leu Leu Arg Ser Leu Pro Ser Ile Ile Arg Asn Ala Leu Ser

325 330 335

Glu Asp Ser Val Gly Arg Asp Ser Lys Thr Phe Thr Pro Ser Thr Thr

340 345 350

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

355 360 365

Asp Asp Asp Lys Ile Glu Gly Arg Met Asp Gly Ala Arg Ala Ser Val

370 375 380

Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro

385 390 395 400

Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Trp Ala Ser Arg

405 410 415

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

420 425 430

Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly
435 440 445
Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys
450 455 460

Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys
465 470 475 480
Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala
485 490 495
Ala Asp Thr Gly His Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val
500 505 510
Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr
515 520 525

Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu
530 535 540
Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp
545 550 555 560
Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln Ala Ala Met Gln
565 570 575
Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val
580 585 590

His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro
595 600 605
Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile
610 615 620
Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys
625 630 635 640
Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro
645 650 655

Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp
660 665 670
Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln

675 680 685

Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn

690 695 700

Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu

705 710 715 720

Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly Pro Gly His Lys

725 730 735

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

740 745 750

Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg Asn Gln Arg Lys Met Val Lys

755 760 765

Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Thr Ala Arg Asn Cys Arg Ala

770 775 780

Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys Glu Gly His Gln Met

785 790 795 800

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

805 810 815

Ser Tyr Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln Ser Arg Pro Glu Pro

820 825 830

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

835 840 845

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

850 855 860

Gln Glu Pro Ile Asp Lys Glu Leu Tyr Pro Leu Thr Ser Leu Arg Ser

865 870 875 880

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

885 890 895

Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu

900 905

<210> 27

<211

> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 27

Ser Tyr Ala Met His
1 5

<210> 28

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 28

Arg Ile Lys Ser Lys Ala Gln Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala His
1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 29

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 29

Val Ser Phe Ser Thr Phe Asp Val
1 5

<210> 30

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 30

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr

1 5

<210> 31

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 31

Lys Ser Lys Ala Gln Gly Gly Thr

1 5

<210> 32

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 32

Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Tyr Tyr Val Ser

1 5 10

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 33

Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser

1 5

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 34

Asp Ser Trp Asp His Ser Ser Met Asn Val

1 5 10

<210> 35

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 35

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Ala Gln Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Val Ser Phe Ser Thr Phe Asp Val Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 36
<211> 111
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 36
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Tyr
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Val Leu
35 40 45

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

<210> 37
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 37

```
Glu 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 Ser Tyr
            20                  25                  30
Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
        115                 120                 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
            180                 185                 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro
```

225 230 235 240

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

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

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

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

<210> 38
<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 38

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Tyr
20 25 30

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

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

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asp Ser Trp Asp His Ser Ser
85 90 95

Met Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln Pro
100 105 110

Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu
115 120 125

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala

145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190

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

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 39

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 39

Arg Ile Lys Ser Val Ala Gln Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala His

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 40

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 40

Val Ser His Ser Thr Phe Asp Val

1 5

<210> 41

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<400> 41

Lys Ser Val Ala Gln Gly Gly Thr

1 5

<210> 42

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 42

Glu 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 Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 43

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 43

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

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

<210> 44

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 44

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

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

65 70 75 80

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

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

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

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

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

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro
225 230 235 240

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

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

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

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

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

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

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

Lys

<210> 45
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 45
Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Tyr
20 25 30
Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Val Leu

35 40 45

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

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

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

<210> 46
<211> 15
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"
<400> 46
agctatgcga tgcac 15
<210> 47

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 47

cgtatcaaat ccaaagccca gggcggtacg accgactacg cggcgcacgt gaaaggc 57

<210> 48

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 48

gtttctttct ccactttcga tgtt 24

<210> 49

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 49

ggatttacct tcagcagcta t 21

<210> 50

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<

400> 50

aaatccaaag cccagggcgg tacg 24

<210> 51

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 51

agcggcagct cctccaatat tggtagctat tacgtgagc 39

<210> 52

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 52

cgtaataatc aacgtcctag c 21

<210> 53

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 53

gacagctggg atcacagctc catgaatgtt 30

<210> 54

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400>

54

gaggtgcaat tggtggaaag cggcggtggc ctggtgaaac caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg cctccggatt taccttcagc agctatgcga tgcactgggt gcgccaggcc 120

ccgggcaaag gtctcgaatg ggtgggtcgt atcaaatcca aagcccaggg cggtacgacc 180

gactacgcgg cgcacgtgaa aggccgcttt accattagcc gcgatgattc gaaaaacacc 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaagatacgg ccgtgtatta ttgcgcgcgt 300

gtttctttct ccactttcga tgtttggggc caaggcaccc tggtgactgt ctcgagc 357

<210> 55

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 55

cagagcgtgc tgacccagcc tcctagcgtg agcggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagctcctc caatattggt agctattacg tgagctggta tcagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaagt tctgatctat cgtaataatc aacgtcctag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcgccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagatg aagcggatta ttactgcgac agctgggatc acagctccat gaatgttttt 300

ggcggcggta ccaagctgac cgtgctgggc cag 333

<210> 56

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 56

gaggtgcaat tggtggaaag cggcggtggc ctggtgaaac caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg cctccggatt taccttcagc agctatgcga tgcactgggt gcgccaggcc 120

ccgggcaaag gtctcgaatg ggtgggtcgt atcaaatcca aagcccaggg cggtacgacc 180

gactacgcgg cgcacgtgaa aggccgcttt accattagcc gcgatgattc gaaaaacacc 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaagatacgg ccgtgtatta ttgcgcgcgt 300

gtttctttct ccactttcga tgtttggggc caaggcaccc tggtgactgt ctcgagcgcg 360

tcgaccaaag gccccagcgt gttccctctg gcccccagca gcaagagcac ctctggcgga 420

acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 480

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctcca gagcagcggc 540

ctgtacagcc tgagcagcgt cgtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac acaaaggtgg acaagcgggt ggaacccaag 660

agctgcgaca agacccacac ctgtcccccc tgccctgccc ctgaagcgga gggagccccc 720

tccgtgttcc tgttcccccc aaagcctaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgaa 780

gtgacctgcg tggtggtgga cgtgtcccac gaggaccctg aagtgaagtt taattggtac 840

gtggacggcg tggaagtgca caacgccaag accaagccca gagaggaaca gtacaacagc 900

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagag 960

tacaagtgca aggtgtccaa caaggccctg ccttcctcca tcgagaaaac catcagcaag 1020

gccaaaggcc agccccgcga gccccaggtg tacacactgc cccctagccg ggaagagatg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctc gtgaagggct tctaccccag cgacattgcc 1140

gtggaatggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 1200

gacagcgacg gctcattctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag ccggtggcag 1260

cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 1320

aagtccctga gcctgagccc cggcaag 1347

<210> 57

<211> 645

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 57

cagagcgtgc tgacccagcc tcctagcgtg agcggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagctcctc caatattggt agctattacg tgagctggta tcagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaagt tctgatctat cgtaataatc aacgtcctag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcgccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagatg aagcggatta ttactgcgac agctgggatc acagctccat gaatgttttt 300

ggcggcggta ccaagctgac cgtgctgggc cagcccaaag ccgcccctag cgtgaccctg 360

ttcccccccct cgagtgagga actccaggcc aacaaggcca ccctcgtgtg cctgatcagc 420

gacttctacc ctggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg atagcagccc tgtgaaggcc 480

ggcgtggaaa ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca aatacgccgc cagcagctac 540

ctgagcctga cccccgagca gtggaagtcc cacagatcct acagctgcca ggtcacacac 600

gagggcagca ccgtggaaaa gaccgtggcc cccaccgagt gcagc 645

<210> 58

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 58

agctatgcga tgcac 15

<210> 59

<211> 57

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 59

cgtatcaaat ccgtggccca gggcggtacg accgactacg cggcgcacgt gaaaggc 57

<210> 60

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 60

gtttctcatt ccactttcga tgtt 24

<210> 61

<211> 21

<212>
DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 61

ggatttacct tcagcagcta t 21

<210> 62

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 62

aaatccgtgg cccagggcgg tacg 24

<210> 63

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 63

agcggcagct cctccaatat tggtagctat tacgtgagc 39

<210> 64

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 64

cgtaataatc aacgtcctag c 21

<210> 65

<211> 30

<212> DNA

<

213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 65

gacagctggg atcacagctc catgaatgtt 30

<210> 66

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 66

gaggtgcaat tggtggaaag cggcggtggc ctggtgaaac caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg cctccggatt taccttcagc agctatgcga tgcactgggt gcgccaggcc 120

ccgggcaaag gtctcgaatg ggtgggtcgt atcaaatccg tggcccaggg cggtacgacc 180

gactacgcgg cgcacgtgaa aggccgcttt accattagcc gcgatgattc gaaaaacacc 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaagatacgg ccgtgtatta ttgcgcgcgt 300

gtttctcatt ccactttcga tgtttggggc caaggcaccc tggtgactgt ctcgagc 357

<210> 67

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 67

cagagcgtgc tgacccagcc tcctagcgtg agcggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagctcctc caatattggt agctattacg tgagctggta tcagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaagt tctgatctat cgtaataatc aacgtcctag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcgccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagatg aagcggatta ttactgcgac agctgggatc acagctccat gaatgttttt 300

ggcggcggta ccaagctgac cgtgctgggc cag 333

<210> 68

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 68

gaggtgcaat tggtggaaag cggcggtggc ctggtgaaac caggcggcag cctgcgcctg 60

agctgcgccg cctccggatt taccttcagc agctatgcga tgcactgggt gcgccaggcc 120

ccgggcaaag gtctcgaatg ggtgggtcgt atcaaatccg tggcccaggg cggtacgacc 180

gactacgcgg cgcacgtgaa aggccgcttt accattagcc gcgatgattc gaaaaacacc 240

ctgtatctgc aaatgaacag cctgaaaacc gaagatacgg ccgtgtatta ttgcgcgcgt 300

gtttctcatt ccactttcga tgtttggggc caaggcaccc tggtgactgt ctcgagcgcg 360

tcgaccaaag gccccagcgt gttccctctg gcccccagca gcaagagcac ctctggcgga 420

acagccgccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg agcccgtgac cgtgtcctgg 480

aactctggcg ccctgaccag cggcgtgcac acctttccag ccgtgctcca gagcagcggc 540

ctgtacagcc tgagcagcgt cgtgaccgtg cccagcagca gcctgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaaccacaa gcccagcaac acaaaggtgg acaagcgggt ggaacccaag 660

agctgcgaca agacccacac ctgtcccccc tgccctgccc ctgaagcgga gggagccccc 720

tccgtgttcc tgttcccccc aaagcctaag gacaccctga tgatcagccg gacccccgaa 780

gtgacctgcg tggtggtgga cgtgtcccac gaggaccctg aagtgaagtt taattggtac 840

gtggacggcg tggaagtgca caacgccaag accaagccca gagaggaaca gtacaacagc 900

acctaccggg tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg actggctgaa cggcaaagag 960

tacaagtgca aggtgtccaa caaggccctg ccttcctcca tcgagaaaac catcagcaag 1020

gccaaaggcc agccccgcga gccccaggtg tacacactgc cccctagccg ggaagagatg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctc gtgaagggct tctaccccag cgacattgcc 1140

gtggaatggg agagcaacgg ccagcccgag aacaactaca agaccacccc ccctgtgctg 1200

gacagcgacg gctcattctt cctgtacagc aagctgaccg tggacaagag ccggtggcag 1260

cagggcaacg tgttcagctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaacca ctacacccag 1320

aagtccctga gcctgagccc cggcaag 1347

<210> 69

<211> 645

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 69

cagagcgtgc tgacccagcc tcctagcgtg agcggtgcac cgggccagcg cgtgaccatt 60

agctgtagcg gcagctcctc caatattggt agctattacg tgagctggta tcagcagctg 120

ccgggcacgg cgccgaaagt tctgatctat cgtaataatc aacgtcctag cggcgtgccg 180

gatcgcttta gcggatccaa aagcggcacc agcgccagcc tggcgattac cggcctgcaa 240

gcagaagatg aagcggatta ttactgcgac agctgggatc acagctccat gaatgttttt 300

ggcggcggta ccaagctgac cgtgctgggc cagcccaaag ccgcccctag cgtgaccctg 360

ttcccccccct cgagtgagga actccaggcc aacaaggcca ccctcgtgtg cctgatcagc 420

gacttctacc ctggcgccgt gaccgtggcc tggaaggccg atagcagccc tgtgaaggcc 480

ggcgtggaaa ccaccacccc cagcaagcag agcaacaaca aatacgccgc cagcagctac 540

ctgagcctga cccccgagca gtggaagtcc cacagatcct acagctgcca ggtcacacac 600

gagggcagca ccgtggaaaa gaccgtggcc cccaccgagt gcagc 645

<210> 70

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 70

agctacgcta tgcac 15

<210> 71

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 71

cggatcaaga gcaaggctca aggcggcacc accgattacg ccgctcatgt gaagggc 57

<210> 72

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 72

gtgtccttct ccaccttcga tgtg 24

<210> 73

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 73

ggcttcacct tctccagcta c 21

<

210> 74

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 74

aagagcaagg ctcaaggcgg cacc 24

<210> 75

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 75

tccggctcct cctccaacat cggctcctac tacgtgtcc 39

<210

> 76

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 76

cggaacaacc agcggccttc t 21

<210> 77

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 77

gactcttggg accactcctc catgaacgtg 30

<210>

78

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 78

gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga cttgtgaaac ctggcggctc tctgagactg 60

tcttgtgccg cttccggctt caccttctcc agctacgcta tgcactgggt ccgacaggcc 120

cctggcaaag gattggagtg ggtcggacgg atcaagagca aggctcaagg cggcaccacc 180

gattacgccg ctcatgtgaa gggcagattc accatctctc gggacgactc caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga 300

gtgtccttct ccaccttcga tgtgtggggc cagggcacac tggttacagt ctcgagc 357

<210> 79

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 79

cagtccgtgc tgacccagcc tccttctgtt tctggtgctc ctggccagag agtgaccatc 60

tcttgctccg gctcctcctc caacatcggc tcctactacg tgtcctggta tcagcagctg 120

cctggcaccg ctcctaaggt gctgatctac cggaacaacc agcggccttc tggcgtgccc 180

gatagattct ccggctctaa gtctggcacc tctgccagcc tggctatcac tggactgcag 240

gctgaggacg aggccgacta ctactgcgac tcttgggacc actcctccat gaacgtgttc 300

ggcggaggta ccaagctgac cgtgctggga cag 333

<210> 80

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 80

gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga cttgtgaaac ctggcggctc tctgagactg 60

tcttgtgccg cttccggctt caccttctcc agctacgcta tgcactgggt ccgacaggcc 120

cctggcaaag gattggagtg ggtcggacgg atcaagagca aggctcaagg cggcaccacc 180

gattacgccg ctcatgtgaa gggcagattc accatctctc gggacgactc caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga 300

gtgtccttct ccaccttcga tgtgtggggc cagggcacac tggttacagt ctcgagcgcc 360

tccaccaaag gaccctctgt gtttcctctg gctccctcca gcaagtctac ctctggtgga 420

acagctgccc tgggctgcct ggtcaaggat tactttcctg agcctgtgac cgtgtcctgg 480

aactctggcg ctctgacatc tggcgtgcac acctttccag ctgtgctgca gtcctctggc 540

ctgtacagcc tgtcctctgt cgtgaccgtg ccttctagct ctctgggcac ccagacctac 600

atctgcaatg tgaaccacaa gccttccaac accaaggtgg acaagagagt ggaacccaag 660

tcctgcgaca agacccacac ctgtcctcca tgtcctgctc cagaagctga gggcgctcct 720

tccgtgttcc tgtttcctcc aaagcctaag gacaccctga tgatctctcg gacccctgaa 780

gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtctcac gaggacccag aagtgaagtt caattggtac 840

gtggacggcg tggaagtgca caacgccaag accaagccta gagaggaaca gtacaactcc 900

acctacagag tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg attggctgaa cggcaaagag 960

tacaagtgca aggtgtccaa caaggccctg ccttccagca tcgaaaagac catctccaag 1020

gccaagggcc agcctaggga accccaggtt tacaccctgc ctccaagccg ggaagagatg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctc gtgaagggct tctaccctcc cgatatcgcc 1140

gtggaatggg agagcaatgg ccagcctgag aacaactaca agacaacccc tcctgtgctg 1200

gactccgacg gctcattctt cctgtactcc aagctgacag tggacaagtc cagatggcag 1260

cagggcaacg tgttctcctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaatca ctacacacag 1320

aagtccctgt ctctgtcccc tggcaag 1347

<210> 81

<211> 645

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polynucleotide"

<400> 81

cagtccgtgc tgacccagcc tccttctgtt tctggtgctc ctggccagag agtgaccatc 60

tcttgctccg gctcctcctc caacatcggc tcctactacg tgtcctggta tcagcagctg 120

cctggcaccg ctcctaaggt gctgatctac cggaacaacc agcggccttc tggcgtgccc 180

gatagattct ccggctctaa gtctggcacc tctgccagcc tggctatcac tggactgcag 240

gctgaggacg aggccgacta ctactgcgac tcttgggacc actcctccat gaacgtgttc 300

ggcggaggta ccaagctgac cgtgctggga cagcctaagg ctgcccttc cgtgacactg 360

ttccctccat cctctgagga actgcaggcc aacaaggcta ccctcgtgtg cctgatctcc 420

gacttttacc ctggcgctgt gaccgtggcc tggaaggctg atagttctcc tgtgaaggcc 480

ggcgtggaaa ccaccacacc ttccaagcag tccaacaaca aatacgccgc ctcctcctac 540

ctgtctctga cccctgaaca gtggaagtcc caccggtcct acagctgcca agtgacccat 600

gagggctcca ccgtggaaaa gaccgtggct cctaccgagt gctct 645

<210> 82

<211> 15

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 82

agctacgcta tgcac 15

<210> 83

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 83

cggatcaaga gcgttgccca aggcggcacc accgattacg ctgctcatgt gaagggc 57

<210> 84

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 84

gtgtcccact ctaccttcga tgtg 24

<210> 85

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 85

ggcttcacct tctccagcta c 21

<210> 86

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<

400> 86

aagagcgttg cccaaggcgg cacc 24

<210> 87

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 87

tccggctcct cctccaacat cggctcctac tacgtgtcc 39

<210> 88

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400
> 88

cggaacaacc agcggccttc t 21

<210> 89

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 89

gactcttggg accactcctc catgaacgtg 30

<210> 90

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400>
90

gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga cttgtgaaac ctggcggctc tctgagactg 60

tcttgtgccg cttccggctt caccttctcc agctacgcta tgcactgggt ccgacaggcc 120

cctggcaaag gattggagtg ggtcggacgg atcaagagcg ttgcccaagg cggcaccacc 180

gattacgctg ctcatgtgaa gggcagattc accatcagcc gggacgactc caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga 300

gtgtcccact ctaccttcga tgtgtggggc cagggcacac tggttacagt ctcgagc 357

<210> 91

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 91

cagtccgtgc tgacccagcc tccttctgtt tctggtgctc ctggccagag agtgaccatc 60

tcttgctccg gctcctcctc caacatcggc tcctactacg tgtcctggta tcagcagctg 120

cctggcaccg ctcctaaggt gctgatctac cggaacaacc agcggccttc tggcgtgccc 180

gatagattct ccggctctaa gtctggcacc tctgccagcc tggctatcac tggactgcag 240

gctgaggacg aggccgacta ctactgcgac tcttgggacc actcctccat gaacgtgttc 300

ggcggaggta ccaagctgac cgtgctggga cag 333

<210> 92

<211> 1347

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polynucleotide"

<400> 92

gaagtgcagc tggtggaatc tggcggcgga cttgtgaaac ctggcggctc tctgagactg 60

tcttgtgccg cttccggctt caccttctcc agctacgcta tgcactgggt ccgacaggcc 120

cctggcaaag gattggagtg ggtcggacgg atcaagagcg ttgcccaagg cggcaccacc 180

gattacgctg ctcatgtgaa gggcagattc accatcagcc gggacgactc caagaacacc 240

ctgtacctgc agatgaactc cctgaaaacc gaggacaccg ccgtgtacta ctgcgccaga 300

gtgtcccact ctaccttcga tgtgtggggc cagggcacac tggttacagt ctcgagcgcc 360

tccaccaaag gaccctctgt gtttcctctg gctccctcca gcaagtctac ctctggtgga 420

acagctgccc tgggctgcct ggtcaaggat tactttcctg agcctgtgac cgtgtcctgg 480

aactctggcg ctctgacatc tggcgtgcac acctttccag ctgtgctgca gtcctctggc 540

ctgtacagcc tgtcctctgt cgtgaccgtg ccttctagct ctctgggcac ccagacctac 600

atctgcaatg tgaaccacaa gccttccaac accaaggtgg acaagagagt ggaacccaag 660

tcctgcgaca agacccacac ctgtcctcca tgtcctgctc cagaagctga gggcgctcct 720

tccgtgttcc tgtttcctcc aaagcctaag gacaccctga tgatctctcg gacccctgaa 780

gtgacctgcg tggtggtgga tgtgtctcac gaggacccag aagtgaagtt caattggtac 840

gtggacggcg tggaagtgca caacgccaag accaagccta gagaggaaca gtacaactcc 900

acctacagag tggtgtccgt gctgaccgtg ctgcaccagg attggctgaa cggcaaagag 960

tacaagtgca aggtgtccaa caaggccctg ccttccagca tcgaaaagac catctccaag 1020

gccaagggcc agcctaggga accccaggtt tacaccctgc ctccaagccg ggaagagatg 1080

accaagaacc aggtgtccct gacctgcctc gtgaagggct tctacccttc cgatatcgcc 1140

gtggaatggg agagcaatgg ccagcctgag aacaactaca agacaacccc tcctgtgctg 1200

gactccgacg gctcattctt cctgtactcc aagctgacag tggacaagtc cagatggcag 1260

cagggcaacg tgttctcctg ctccgtgatg cacgaggccc tgcacaatca ctacacacag 1320

aagtccctgt ctctgtcccc tggcaag 1347

<210> 93

<211> 645

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polynucleotide"

<400> 93

cagtccgtgc tgacccagcc tccttctgtt tctggtgctc ctggccagag agtgaccatc 60

tcttgctccg gctcctcctc caacatcggc tcctactacg tgtcctggta tcagcagctg 120

cctggcaccg ctcctaaggt gctgatctac cggaacaacc agcggccttc tggcgtgccc 180

gatagattct ccggctctaa gtctggcacc tctgccagcc tggctatcac tggactgcag 240

gctgaggacg aggccgacta ctactgcgac tcttgggacc actcctccat gaacgtgttc 300

ggcggaggta ccaagctgac cgtgctggga cagcctaagg ctgcccctc cgtgacactg 360

ttccctccat cctctgagga actgcaggcc aacaaggcta ccctcgtgtg cctgatctcc 420

gacttttacc ctggcgctgt gaccgtggcc tggaaggctg atagttctcc tgtgaaggcc 480

ggcgtggaaa ccaccacacc ttccaagcag tccaacaaca aatacgccgc ctcctcctac 540

ctgtctctga cccctgaaca gtggaagtcc caccggtcct acagctgcca agtgacccat 600

gagggctcca ccgtggaaaa gaccgtggct cctaccgagt gctct 645

<210> 94

<211> 454

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 94

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 Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys
115 120 125

Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
130 135 140

Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
145 150 155 160
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
165 170 175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
180 185 190
Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
195 200 205

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

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

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

385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
405 410 415
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
420 425 430
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
435 440 445
Ser Leu Ser Pro Gly Lys
450

<210> 95
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 95
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 Arg
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 Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 96

<211> 400

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 96

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

1 5 10 15

Leu Ser Thr Gly Leu Pro Ser Phe Trp Ala Thr Gly Trp Leu Gly Ala

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

Lys Gln Pro Glu Ala Ala Arg Lys Glu Ser Glu Phe Leu Leu Thr Ser
145 150 155 160
Cys Pro Glu Arg Leu Leu Gly His Leu Glu Arg Gly Arg Gln Asn Leu
165 170 175
Glu Trp Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys Ala Arg Pro Gly Asn
180 185 190
Ser Gly Ser Ser Val Leu Thr Cys Ala Ala Phe Ser Phe Tyr Pro Pro
195 200 205

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

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

Pro Asn Phe Leu Asn Cys Tyr Val Ser Gln Phe His Pro Pro Gln Ile
325 330 335

Glu Ile Glu Leu Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Asn Ile Glu Met
340 345 350

Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile Leu Ala His
355 360 365

Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Val Tyr Ala Cys Arg Val Lys
370 375 380

His Val Thr Leu Lys Glu Pro Lys Thr Val Thr Trp Asp Arg Asp Met
385 390 395 400