



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년12월07일
(11) 등록번호 10-1805202
(24) 등록일자 2017년11월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/00 (2006.01) C12N 15/10 (2017.01)
C40B 40/08 (2006.01) C40B 50/06 (2017.01)
(21) 출원번호 10-2011-7031164
(22) 출원일자(국제) 2010년05월29일
심사청구일자 2015년05월29일
(85) 번역문제출일자 2011년12월27일
(65) 공개번호 10-2012-0087809
(43) 공개일자 2012년08월07일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2010/057507
(87) 국제공개번호 WO 2010/136598
국제공개일자 2010년12월02일
(30) 우선권주장
09162724.0 2009년06월15일
유럽특허청(EPO)(EP)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
W01999020749 A1
W02006014498 A2

(73) 특허권자
모르포시스 아게
독일 프라네그 디-82152, 제멜바이스스트라쎄 7
(72) 발명자
엔젤베르거, 마르쿠스
독일, 82152 플라네크-마틴스리트, 파스테르슈트
라쎄 41
프라스슬러, 조세프
독일, 82110 게르메링그, 크리게르슈트라쎄 8에이
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
허용록

전체 청구항 수 : 총 34 항

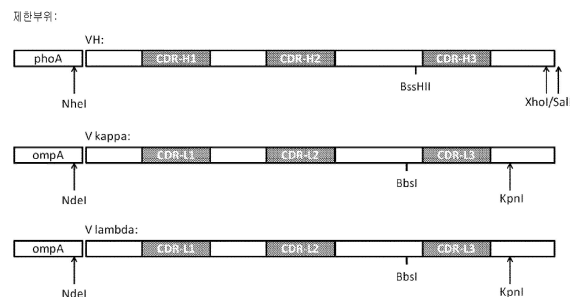
심사관 : 김영수

(54) 발명의 명칭 집합 및 집합의 사용 방법

(57) 요약

본원은 인간 면역 레퍼토리에서 VH 및 VL 류 쌍을 식별하여 가장 일반적이고 호의적인 생물학적 특성을 갖는 VH 및 VL 류 쌍을 확인하는 방법을 제공한다. 더 구체적으로, 본원의 집합은 고도로 다양화된 CDR들을 갖는 가장 일반적이고/일반적이거나 바람직한 VH 및 VL 류 쌍을 포함한다.

대표도



(72) 발명자

우린거, 슈테파니

독일 80689 뮌헨, 아스테른슈트라쎄 12

헤르만, 탄자

독일, 81369 뮌헨, 게오르그-하게르-슈트라쎄. 4

틸러, 토마스

독일, 뮌헨 81377, 사우에르브루크슈트라쎄 60

(30) 우선권주장

61/182,350 2009년05월29일 미국(US)

61/299,401 2010년01월29일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

가변 중쇄 골격(framework) 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합에 있어서,

상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며,

상기 생식세포 단백질 쌍은:

- i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율;
- ii) 표 5, 표 9, 도 45a 및 도 47a에서 표시되는 서열의 Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 0.4 이상의 Fab 포맷의 발현 수준;

[표 5]

C-말단 VLA 및 NdeI 제한 부위(=GCTAGC)를 갖는 변형된 대장균 phoA 신호 서열
M K Q S T I A L A L L P L L F T P V V L A
ATGAAACAGAGCACCATTGCCCTGGCCCTGCTGCCGCTGCTGTTACCCAGTGGT GCTAGCC

[표 9]

C-말단 AYA 및 NdeI 제한 부위(=CATATG)를 갖는 변형된 대장균 ompA 신호 서열
M K K T A I A I A V A L A G F A T V A Y A
ATGAAAAAACCAGCCATTGCCATTGCCGCTGGCCCTGGCAGGCTTTGCCACCGTGG CATATGCC

[도 45a]

		Tomlinson		단백질 서열
Matsuda 등		등		
IGHV1-2	VH 1-2	DP-75		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSLRSDTAVYYCAR
IGHV1-3	VH 1-3	DP-25		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYAMHWVRQAPGQRLWMGWSNAGNGNTKYSQEFQGRVTITRDTSTASTAYMELSSLRSEDMAYVYCAR
IGHV1-8	VH 1-8	DP-15		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYDINWVRQATGGGLEWMGWINPNSGNTGYAQKFQGRVTMTTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG
IGHV1-18	VH 1-18	DP-14		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWSAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDTAVYYCAR
IGHV1-24	VH 1-24	DP-5		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTLTSLMHVWRQAPGKLEWMGGFDPEDEGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTD TAYMELSSLRSEDTAVYYCAT
IGHV1-45	VH 1-45	---		QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSKASGYTFTYRYLHWVRQAPGQALEWMGWITPFNGNTNYAQKFQDRVTITRDRSMSTAYMELSSLRSEDTAMYVYCAR
IGHV1-46	VH 1-46	DP-7		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHVWRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR
IGHV1-58	VH 1-58	DP-2		QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSKASGFTFTSSAMQWVRQARGQRLWIGWIVGSGNTNYAQKFQERVITITRDMSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAA
IGHV1-69*01	VH 1-69	DP-10		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
IGHV1-69*06, IGHV1-e	VH 1-69	DP-88		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAIWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
IGHV1-c	--	--		KSGASVKVSCSFSGFTITSYGIHWVQSPGQGLEWMGWINPNSGSPSYAKKFQGRFTMTTRDMSTTTAYTDLSSLTSEDMAYVYAR
IGHV1-f	--	DP-3		EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYMHVWQQAPGKLEWMGLVDPEDGETIYAEKFQGRVTITADTSTD TAYMELSSLRSEDTAVYYCAT
IGHV2-5	VH 2-5	DP-76		QITLKESGPTLVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGVGVGWIRPPGKALEWLALIYWNDDKRYSPSLKRLTITKDTSKNQVLTMTNMDPVDATATYYCAHR
IGHV2-26	VH 2-26	DP-26		QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLSNARMGVSWIRPPGKALEWLALIFSNDEKSYSTSLKRLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATATYYCARI
IGHV2-70	VH 2-70	DP-27		QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMVCVSWIRPPGKALEWLALIDWDDDKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVLTMTNMDPVDATATYYCARI
IGHV3-7	VH 3-7	DP-54		EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFSSYWMWVRQAPGKLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-9	VH 3-9	DP-31		EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFDYAMHWVRQAPGKLEWVSGISWNSGSIGYADSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKD

[도 47a]

	Kawasaki 등	Frippiat 등	단백질 서열
IGLV1-36	VL 1-11	1a	QSVLTQPPSVSEAPRQRTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGKAPKLLIYYDD LLPSGVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEADYYCAAWDDSLNGP
IGLV1-40	VL 1-13	1e	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITSCSGSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYG NSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLGSGS
IGLV1-44	VL 1-16	1c	QSVLTQPPSAAGTPGQRTVITSCSGSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNN QRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEADYYCAAWDDSLNGP
IGLV1-47	VL 1-17	1g	QSVLTQPPSAAGTPGQRTVITSCSGSSNIGSNYYVWYQQLPGTAPKLLIYSNN QRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEADYYCAAWDDSLSGP
IGLV1-50	VL 1-18	1f	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITSCSGSSNIGAGYVHWYQQLPGTAPKLLIYG NSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQSEADYYCAAWDDSLNA
IGLV1-51	VL 1-19	1b	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYSWYQQLPGTAPKLLIYDNN KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAG
IGLV2-08	VL 1-2	2c	QSALTQPPSAAGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYI EVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYAGSNNF
IGLV2-11	VL 1-3	2e	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYI DVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTF
IGLV2-14	VL 1-4	2a2	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYI VSNRPSGVSNNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYSSSTL
IGLV2-18	VL 1-5	2d	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQQPGTAPKLMYI VSNRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYSSSTF
IGLV2-23	VL 1-7	2b2	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQQHPGKAPKLMYI GSKRPSGVSNNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYAGSSTF
IGLV2-33	VL 1-9	2f	QSALTQPPSVSGAPGQSVTISCTGTSSDVGDYDHFVWYQKRLSTSRLLIYN VNRTPSGISDLFSGSKSGNMASTISGLKSEVEANYHCSLYSSSYTF
IGLV3-1	VL 2-1	3r	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDKLGDKYACWYQKPGQAPVLIYQDSK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTA
IGLV3-9	VL 2-6	3j	SYELTQPLSVSVALGQTARITCSGNNIGSKNVHWYQKPGQAPVLIYRDSN RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRAGQAGDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-10	VL 2-7	3p	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQKSGQAPVLIYEDSK RPSGIPERFSGSSSGTMATLTISGAQVEADYYCYSTDSSGNH
IGLV3-12	VL 2-8	3i	SYELTQPHSVSVATAQMARITCGNNIGSKAVHWYQKPGQDPVLIYSDSN RPSGIPERFSGSNPGNTATLTISRAGQAGDEADYYCQVWDSSTDHP
IGLV3-16	VL 2-11	3a	SYELTQPPSVSVSLGQMARITCSGEALPKKYAYWYQKPGQAPVLIYKDSE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGVQAEDEADYYCLSDSSGTYP
IGLV3-19	VL 2-13	3l	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQKPGQAPVLIYGNKN RPSGIPDRFSGSSSGNTATLTITGAQAEDEADYYCNSRDSGNNHL
IGLV3-21	VL 2-14	3h	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGNNIGSKSVHWYQKPGQAPVLIYVYDSD DRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSTDHP
IGLV3-22	VL 2-15	3e	SYELTQPLSVSVSPGQTARITCSGDVLGENYADWYQKPGQAPVLIYEDSE RYPGIPERFSGSTSGNTTTLTISRVLTEADYYCLSGDEDNP
IGLV3-25	VL 2-17	3m	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKOYAYWYQKPGQAPVLIYKDSE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGVQAEDEADYYCQSDSSGTYP
IGLV3-27	VL 2-19	--	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAKKYARWFQKPGQAPVLIYKDSE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGAQVEADYYCYSAADNNL

iii) 60℃ 이상에서 45분 이상의 시간 동안 Fab 포맷의 열적 안정성;

iv) 37℃에서 10일을 초과하는 기간 동안 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성;

v) 표 31에서 표시되는 CDR 서열들을 갖는 MOR03080에 비해 0.4 이상의 IgG 포맷의 발현 수준; 및

[표 31]

03080 가변 중쇄(CDR은 볼드체로 나타냄)

(1) QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSSYGMH**WVRQAPGKGLEWVSN
(51) **IYSDGSNTFYADSVKGR**FTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNM
(101) **YRWPFFHYFDYWGQ**GLTVTVSS

03080 가변 경쇄(CDR은 볼드체로 나타냄)

(1) DIELTQPPSV SVAPGQTARIS**CGDNIGNKYV**SWYQKPGQAPVVIYGD
(51) **NNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAE**DEADYY**CSSYDSSYFV**FGGG
(101) TKLTVLGQ

vi) 37℃에서 14일 동안 IgG 포맷의 혈청 내 안정성 특성을 포함하며,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 2개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하고,

상기 생식세포 단백질 쌍은 생식세포 유전자 쌍에 의해 암호화되고,

상기 생식세포 단백질 쌍은 IGHV1-18/IGKV1-05; IGHV1-18 /IGLV2-23; IGHV1-46/IGKV1-09; IGHV1-46/IGKV1-39; IGHV1-46/IGKV3-15; IGHV1-69*01/IGKV1-05; IGHV3-07/IGKV1-09; IGHV3-07/IGKV1-12; IGHV3-07/IGKV1-27; IGHV3-07/IGKV3-15; IGHV3-07/IGLV1-47; IGHV3-07/IGLV2-23; IGHV3-07/IGLV3-01; IGHV3-11/IGKV1-05; IGHV3-11/IGKV1-06; IGHV3-11/IGKV1-12; IGHV3-11/IGKV1-16; IGHV3-11/IGKV3-15; IGHV3-11/IGLV1-47; IGHV3-11/IGLV2-23; IGHV3-15/IGKV1-05; IGHV3-15/IGKV1-06; IGHV3-15/IGKV1-09; IGHV3-15/IGKV1-12; IGHV3-15/IGKV1-16; IGHV3-15/IGKV1-27; IGHV3-15/IGKV1-39; IGHV3-15/IGKV3-15; IGHV3-15/IGLV1-40; IGHV3-15/IGLV1-51; IGHV3-15/IGLV2-11; IGHV3-21/IGKV1-06; IGHV3-21/IGKV1-12; IGHV3-21/IGKV1-27; IGHV3-21/IGKV1-39; IGHV3-21/IGLV2-14; IGHV3-21/IGLV2-23; IGHV3-30/IGLV2-23; IGHV3-30/IGLV3-1; IGHV3-33/IGKV3-15; IGHV3-33/IGLV2-23; IGHV3-48/IGKV1-27; IGHV3-53/IGKV1-09; IGHV3-53/IGKV1-12; IGHV3-53/IGLV1-51; IGHV3-53/IGLV2-23; IGHV3-53/IGLV3-1; IGHV3-74/IGKV1-06; IGHV3-74/IGKV1-09; IGHV3-74/IGKV1-27; IGHV3-74/IGKV3-15; IGHV3-74/IGLV1-51; IGHV4-04/IGLV2-23; IGHV4-04/IGLV3-1; IGHV4-04/IGLV3-21; IGHV4-39/IGLV2-14; IGHV4-39/IGLV3-1; IGHV5-51/IGKV1-09; IGHV5-51/IGLV2-23; IGHV5-51/IGLV3-1; IGHV6-1/IGKV1-06; and IGHV6-1/IGLV2-23로부터 선택되며, 이때 이들의 서열들은 도 45a-c, 도 46a-c 및 도 47a-b에서 표시되는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

[도 45a]

		Tomlinson		단백질 서열
Matsuda 등		등		
IGHV1-2	VH 1-2	DP-75		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTGYIMHWVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSLRSDTAVYYCAR
IGHV1-3	VH 1-3	DP-25		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYAMHWVRQAPGQRLEWMGWSNAGNGNTKYSQEFQGRVTITRDTSTASTAYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-8	VH 1-8	DP-15		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGMNPNNGNTGYAQKFQGRVTMTTRNTSISTAYMELSSLRSEDAVYYCARG
IGHV1-18	VH 1-18	DP-14		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWSAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDTAVYYCAR
IGHV1-24	VH 1-24	DP-5		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCVSGYTLELTMHWRQAPGKGLEWMGFGDPEDEGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDAVYYCAT
IGHV1-45	VH 1-45	---		QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSCASGYTFTYRYLHWVRQAPGQALEWMGWITPFGNTNTNYAQKFQDRVTITRDRSMSTAYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-46	VH 1-46	DP-7		QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGYTFTSYIMHWVRQAPGQGLEWMGINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-58	VH 1-58	DP-2		QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSCASGFTFTSSAMQWVRQARGQRLEWIGWIVGSGNTNYAQKFQERVITITRDMSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAA
IGHV1-69*01	VH 1-69	DP-10		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSYASISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-69*06, IGHV1-e	VH 1-69	DP-88		QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGGTFSYASISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-c	---	---		KSGASVKVSCFSGFTITSYGIHWVQSPGQGLEWMGWINPGNGSPSYAKKFQGRFTMTTRDMSTTTAYTDLSSLTSEDAVYYAR
IGHV1-f	---	DP-3		EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYYIMHWVQAPGKGLEWMGLVDPEDGETIYAQKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDAVYYCAT
IGHV2-5	VH 2-5	DP-76		QITLKESGPTLVKPTQLTLCTFSGFSLSTSGVGWVIRQPPGKALEWLALIYWNDDKRYSPSLKSRITITKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAHR
IGHV2-26	VH 2-26	DP-26		QVTLKESGPVLVKPTETLTCTVSGFSLSNARMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSNDKSYSTSLKSRITISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARI
IGHV2-70	VH 2-70	DP-27		QVTLRESGPALVKPTQLTLCTFSGFSLSTSGMCMVSWIRQPPGKALEWLALIDWDDDKYYSTSLKTRITISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCARI
IGHV3-7	VH 3-7	DP-54		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRRAEDATVYYCAR
IGHV3-9	VH 3-9	DP-31		EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSIYADSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRRAEDATVYYCAKD

[도 45b]

IGHV3-11	VH 3-11	DP-35	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSYI SSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-13	VH 3-13	DP-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYDMHWVRQATGKGLEWVSA IGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCAR
IGHV3-15	VH 3-15	DP-38	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVG RIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTT
IGHV3-16	VH 3-16		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNSDMNWARDAPGKGLEWVSG VSWNGSRTHYVDSVK.RRFIISRDNSRNSLYLQKNRRRAEDMAVYYCVR
IGHV3-20	VH 3-20	DP-32	EVQLVESGGGVVRPGLSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKGLEWVS GINWNGGSTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYHCAR
IGHV3-21	VH 3-21	DP-77	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSSI SSSSSYIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-23	VH 3-23	DP-47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
IGHV3-30	VH 3-30	DP-49	QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-30-3	--	DP-46	QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVAV ISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-30-5	--	--	QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
IGHV3-33	VH 3-33	DP-50	QVQLVESGGGVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-35	VH 3-35	DP-59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNSDMNWHQAPGKGLEWVSG VSWNGSRTHYADSVKGRFIISRDNSRNTLYLQTNLSLRAEDTAVYYCVR
IGHV3-38	VH 3-38P	--	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTVSSNEMSWVRQAPGKGLEWVSSI SGGSTYYADSRKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEGTAAYYCARY
IGHV3-43	VH 3-43	DP-33	EVQLVESGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQAPGKGLEWVSLI SWDGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKD
IGHV3-48	VH 3-48	DP-51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYSMNWVRQAPGKGLEWVSY ISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR
IGHV3-49	VH 3-49	3-49RB	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGF IRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR
IGHV3-53	VH 3-53	DP-42	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSI YSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-64	VH 3-64	DP-61	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAI SSNGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDMAVYYCAR
IGHV3-66	VH 3-66	DP-86	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSI YSCGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-72	VH 3-72	DP-29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDHYMDWVRQAPGKGLEWVG RTRNKANSYTTTEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR
IGHV3-73	VH 3-73	DA-11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSAMHWVRQASGKGLEWVGR IRSKANSYATAYAAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR
IGHV3-74	VH 3-74	DP-53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWVRQAPGKGLVWVS RINSDGSSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

[도 45c]

IGHV3-d	--	--	EVQLVESRGVLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNEMSWVRQAPGKGLEWVSSI SGGSTYYADSRKGRFTISRDN SKNTLHLQMNSLRAEDTAVYYCKK
IGHV4-4	VH 4-4	DP-70	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPAKGLEWIGRIY TSGSTNYPNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-28	VH 4-28	DP-68	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSNWWGWIRQPPGKGLEWIGYI YYSGSTYYNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-30-1	--	--	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIG YIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-30-2	--	DP-64	QLQLQESGSGLVKPSQTLSTCAVSGGSISSGGYSWSWIRQPPGKGLEWIG YIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVDRSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-30-4	--	DP-78	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGKGLEWIG YIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-31	VH 4-31	DP-65	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIG YIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-34	VH 4-34	DP-63	QVQLQEWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEI NHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARG
IGHV4-39	VH 4-39	DP-79	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGWIRQPPGKGLEWIGS IYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-59	VH 4-59	DP-71	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIY YSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-61	VH 4-61	DP-66	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSVSSGGYYWSWIRQPPGKGLEWIG YIYYSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-b	--	DP-67	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGGYYWGWIRQPPGKGLEWIGSI YHSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV5-51	VH 5-51	DP-73	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGII YPGDS DTRYSPSFQGGQTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR
IGHV5-a	--	--	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTSYWISWVRQMPGKGLEWMGRI DPDSYTNYSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR
IGHV6-1	VH 6-1	DP-74	QVQLQSGPGLVKPSETLSLTCAISGDSVSSNSAANNWIRQSPSRGLEWLG RTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAR
IGHV7-4-1	--	DP-21	QVQLVQSGSELKPGASVKVSCASGYTFTSYAMNNWVRQAPGQGLEWMG WINTNTGNPTYAQGFTGRFVSLDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYYCAR
IGHV7-81	VH 7-81	--	QVQLVQSGHEVKPGASVKVSCASGYFTTYGMNWWVPQAPGQGLEWMG WFNTYTGNTPTAQGFTGRFVFSMDTSASTAYLQISSLKAEDMAMYYCAR

51개의 기능성 단편
5개의 오픈리딩프레임

[도 46a]

	Zachau	단백질 서열
IGKV1-5	L12	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFRSGSGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNYSY
IGKV1-6	L11	AIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCLQDYNYP
IGKV1-8	L9	AIRMTQSPSSFASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTISCLQSEDFATYYCQQYYSYP
IGKV1-9	L8	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASL QSGVPSRFRSGSGSGTEFTLTISLQPEDFATYYCQQLNSYP
IGKV1-12	L5	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQANSFP
IGKV1-13	L4/18a	AIQLTQSPSSLASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSL ESGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQFNYSYP
IGKV1-16	L1	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYNYSYP
IGKV1-17	A30	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTEFTLTITISLQPEDFATYYCLQHNSYP
IGKV1-27	A20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWYQQKPGKVPKLLIYAASL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDVATYYCQKYNSAP
IGKV1-33	O18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDATYYCQQYDNL
IGKV1-37	O14	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSGGISSYLWYRQKPGKVPKLLIYASNL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDVATYYGQRTYNAPP
IGKV1-39	O12	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLWYRQKPGKAPKLLIYAASL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQSYSTP
IGKV1D-08	L24	VIWMTQSPSLLSASTGDRVTISCRMSQGISSYLAWYQQKPGKAPPELLIYAASL LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTISCLQSEDFATYYCQQYYSFP
IGKV1D-12	L19	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQANSFP
IGKV1D-13	L18	AIQLTQSPSSLASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSL ESGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQFNYSYP
IGKV1D-16	L15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKSLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQYNYSYP
IGKV1D-17	L14	NIQMTQSPSAMSASVGDRVTITCRARQGISNYLAWFQQKPGKVPKHLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTEFTLTITISLQPEDFATYYCLQHNSYP
IGKV1D-33	O8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDATYYCQQYDNL
IGKV1D-37	O4	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRVSGGISSYLWYRQKPGKVPKLLIYASNL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDVATYYGQRTYNAPP

[도 46b]

IGKV1D-39	O2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQSYSTP
IGKV1D-42	L22	DIQMIQSPSFLSASVGDVSIICWASEGISSNLAWYLQKPGKSPKLFYDAKDL HPGVSSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAAYYCKQDFSYPP
IGKV1D-43	L23	AIRMTQSPFSLASVGDRTITCWASQGISSYLAWYQQKPAKAPKLFIIYASSL QSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFATYYCQYYSTP
IGKV2-24	A23	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPRLLI YKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATQFP
IGKV2-28	A19	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLHSGNYLDWYLQKPGQSPQLLI YLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
IGKV2-29	A18b	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTYLYWYLQKPGQSPQLLI YEVSSRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGIHLP
IGKV2-30	A17	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRR LIYKVSNRDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP
IGKV2-40	O11	DIVMTQTPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLDSDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLI YTLTYRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFP
IGKV2D-24	A7	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPRLLI YKVSNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCTQATQFP
IGKV2D-26	A5	EIVMTQTPLSLITPGEQASISCRSSQSLHSDGYTYLYWFLQKARPVSTLLIYE VSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQDAQDPP
IGKV2D-28	A3	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLHSGNYLDWYLQKPGQSPQLLI YLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
IGKV2D-29	A2	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTYLYWYLQKPGQSPQLLI YEVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSIQLP
IGKV2D-30	A1	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVYSDGNTYLNWFQQRPGQSPRR LIYKVSNWDSGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP
IGKV2D-40	O1	DIVMTQTPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLDSDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLI YTLTYRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFP
IGKV3-7	L10	EIVMTQSPPTLSLSPGERVTLSRASQSVSSSYLTWYQQKPGQAPRLLIYGAS TRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDHNLP
IGKV3-11	L6	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWP
IGKV3-15	L2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS TRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWP

[도 46c]

IGKV3-20	A27	EIVLTQSPGTLISLSPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQYSSP
IGKV3D-07	L25	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVSSSYLWYQQKPGQAPRLLIYGAS TRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLP
IGKV3D-11	L20	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRASQGVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWH
IGKV3D-15	L16	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS TRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAVYYCQQYNNWP
IGKV3D-20	A11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDAS SRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQYQYSSP
IGKV4-1	B3	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKL LIYWASTRESGVDPDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQYYSTP
IGKV5-2	B2	ETTLTQSPAFMSATPGDKVNISCKASQDIDDDMNWYQQKPGEAIFIIQEATTL VPGIPPRFSGSGYGTDFLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFP
IGKV6-21	A26	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQS FSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQSSSLP
IGKV6D-21	A10	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQS FSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQSSSLP
IGKV6D-41	A14	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITCAASEGIGNYLWYQQKPDQAPKLLIKYASQ SISGVPSRFSGSGSGTDFTFTISLQSEDAATYYCQQGNKHP

38개의 기능성 단편
8개의 오픈리딩프레임

[도 47a]

	Kawasaki 등	Frippiat 등	단백질 서열
IGLV1-36	VL 1-11	1a	QSVLTQPPSVSEAPRQRTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGKAPKLLIYYDD LLPSGVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGP
IGLV1-40	VL 1-13	1e	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYG NSNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLGSGS
IGLV1-44	VL 1-16	1c	QSVLTQPPSAAGTPGQRTISCSGSSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNN QRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGP
IGLV1-47	VL 1-17	1g	QSVLTQPPSAAGTPGQRTISCSGSSSNIGSNYYWYQQLPGTAPKLLIYSNN CRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGP
IGLV1-50	VL 1-18	1f	QSVLTQPPSVSGAPGQRTISCTGSSSNIGAGYVHWYQQLPGTAPKLLIYG NSNRPSGVPDQFSGSKSGTSASLAITGLQSEDEADYYCKAWDNLNA
IGLV1-51	VL 1-19	1b	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYSWYQQLPGTAPKLLIYDNN KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAG
IGLV2-08	VL 1-2	2c	QSALTQPPSAAGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMY EVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTVSGLQAEDEADYYCQSYAGSNNF
IGLV2-11	VL 1-3	2e	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMY DVSKRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTF
IGLV2-14	VL 1-4	2a2	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMYE VSNRPSGVSNNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYSSSTL
IGLV2-18	VL 1-5	2d	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQQPGTAPKLMYE VSNRPSGVPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYSSSTF
IGLV2-23	VL 1-7	2b2	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQQHPGKAPKLMYE GSKRPSGVSNNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSSTF
IGLV2-33	VL 1-9	2f	QSALTQPPFVSGAPGQSVTISCTGTSSDVGDYDHFVWYQKRLSTTSRLIYN VNRTPSGISDLFSGSKSGNMASTISGLKSEVEANYHCSLYSSSYTF
IGLV3-1	VL 2-1	3r	SYELTQPPSVSVSPGQTASITCSGDKLGDKYACWYQKPGQSPVLVIYQDSK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTA
IGLV3-9	VL 2-6	3j	SYELTQPLSVSVALGQTARITCGGNNIGSKNVHWYQKPGQAPVLVIYRDSN RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRAGAGDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-10	VL 2-7	3p	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQKSGQAPVLVIYEDSK RPSGIPERFSGSSSGTMATLTISGAQVEDEADYYCYSTDSSGNH
IGLV3-12	VL 2-8	3i	SYELTQPHSVSVATAQMARITCGGNNIGSKAVHWYQKPGQDPVLVIYSDSN RPSGIPERFSGSNPGNTATLTISRIEAGDEADYYCQVWDSSTDHP
IGLV3-16	VL 2-11	3a	SYELTQPPSVSVSLGQMARITCSGEALPKKYAYWYQKPGQFPVLVIYKDE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGVQAEDEADYYCLSDSSGTYP
IGLV3-19	VL 2-13	3l	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQKPGQAPVLVIYGKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCNSRSDSSGNHL
IGLV3-21	VL 2-14	3h	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQKPGQAPVLVYDDSD DRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSTDHP
IGLV3-22	VL 2-15	3e	SYELTQLPSVSVSPGQTARITCSGDVLGENYADWYQKPGQAPVLVIYEDSE RYPGIPERFSGSTSGNTTLTISRVLTEADYYCLSGDEDNP
IGLV3-25	VL 2-17	3m	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKOYAYWYQKPGQAPVLVIYKDE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGVQAEDEADYYCQADSSGTYP
IGLV3-27	VL 2-19	--	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAKKYARWFQKPGQAPVLVIYKDE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGAQVEDEADYYCYSAADNNL

[도 47b]

IGLV3-32	VL 2-23P	3i1	SSGPTQVPAVSVALGQMARITCQGDSEMEGSYEHWWYQKPGQAPVLVIYDSS DRPSRIPERFSGSKSGNTTTLITGAQAEDEADYYQLIDNHA
IGLV4-3	VL 5-1	4c	LPVLTQPPSASALLGASIKLTCTLSSEHSTYIEWYQQRPRGRSPQYIMKVKS GSHSGDGIPIPRFSGSSSGADRYLTFSNLQSDDEAEYHCGESHTIDGQVG
IGLV4-60	VL 5-4	4a	QPVLTQSSSASASLGSSVKLTCTLSSGHSSYIAWHQQQPGKAPRYLMKLEG SGSYNKGSGVPDRFSGSSSGADRYLTISNLQFEDEADYYCETWDSNT
IGLV4-69	VL 5-6	4b	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSGHSSYIAWHQQQPEKGPRLMKLNS DGS-HSKGDGIPDRFSGSSSGAERYLTISNLQSEDEADYYCQTWGTG
IGLV5-37	VL 4-1	5e	QPVLTQPPSSASPGESARLTCTLPSDINVGSIYIYWWYQKPGSPPRYLLYY SDSDKQGSGVPSRFRSGSKDASANTGILLISGLQSEDEADYYCMIWPSNAS
IGLV5-39	--	5a	QPVLTQPTSLASPGASARFTCTLRSGINVGTYRIYWWYQKPGSLPRYLLRYK SDSDKQGSGVPSRFRSGSKDASTNAGLLISGLQSEDEADYYCAIWYSSTS
IGLV5-45	VL 4-2	5c	QAVLTQPSLSASPGASASLTCTLRSGINVGTYRIYWWYQKPGSPPYLLRYK SDSDKQGSGVPSRFRSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMIWHSAS
IGLV5-48	VL 4-3	5d	QPVLTQPTSLASPGASARLTCTLRSGINLGSYRIFWYQKPGSPRYLLSY SDSKHQGSGVPSRFRSGSKDASSNAGILVIGLQSEDEADYYCMIWHSAS
IGLV5-52	VL 4-4	5b	QPVLTQPPSHSASSGASVRLTCLMSSGFSVGDWIRWYQKPGNPPRYLLY YHSDSNKGSGVPSRFRSGSDASANAGILRISGLQPEDEADYYCGTWHSN
IGLV6-57	VL 1-22	6a	NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTRSSGSIASNYVQWYQQRPGSSPTTVIYED NQRPFGVPSRFRSGSIDSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSN
IGLV7-43	VL 3-2	7a	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGYYPNWFQKPGQAPRALIYS TSNKHSWTPARFSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCLLYYGGAG
IGLV7-46	VL 3-3	7b	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGHYYPWFQKPGQAPRTLIYD TSNKHSWTPARFSGSLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCLLYYSGAR
IGLV8-61	VL 3-4	8a	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCLSGSVSTSYPSWYQQTPTGQAPRTLIYS TNTRSSGVPDRFSGSILGNKAALTITGAQADESDYYCVLYMGSGIS
IGLV9-49	VL 5-2	9a	QPVLTQPPSASASLGASVLTCTLSSGYSNYKVWYQQRPGKGRFVMRVG TGGIVGSKGDGIPDRFVLSGSLNRYLTIKNIQEEDES DYHCGADHSGSNFV
IGLV10-54	VL 1-20	10a	QAGLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGNSNIVGNQGAWLQHQHPPKLLSYR NNRPSG/SERFSASRSGNTASLTITGLQPEDEADYYCSALDSSLASA
IGLV11-55	VL 4-6	--	RPVLTQPPSLASPGATARLPCTLSSDLSVGGKNNFWYQKPGSSPRILFY HYSDDKQLGPGVPSRVSGSKETSNTAFLISGLQPEDEADYYCQVYESSA

33개의 기능성 단편
5개의 오픈리딩프레임

청구항 2

제 1 항에 있어서,

상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은:

- Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율;
- 표 5, 표 9, 도 45a 및 도 47a에서 표시되는 서열의 Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 0.4 이상의 Fab 포맷의 발현 수준;
- 60℃ 이상에서 45분 이상의 시간 동안 Fab 포맷의 열적 안정성;
- 37℃에서 10일을 초과하는 기간 동안 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성;
- 표 31에서 표시되는 CDR 서열들을 갖는 MOR03080에 비해 0.4 이상의 IgG 포맷의 발현 수준; 및
- 37℃에서 14일 동안 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 3

제 1 항에 있어서,

상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은:

- Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율;
- 표 5, 표 9, 도 45a 및 도 47a에서 표시되는 서열의 Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 0.4 이상의 Fab 포맷의 발현 수준;
- 60℃ 이상에서 45분 이상의 시간 동안 Fab 포맷의 열적 안정성;

iv) 37℃에서 10일보다 많은 날 동안 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성;

v) 표 31에서 표시되는 CDR 서열들을 갖는 MOR03080에 비해 0.4 이상의 IgG 포맷의 발현 수준; 및

vi) 37℃에서 14일 동안 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 4

제 1 항에 있어서,

상기 생식세포 유전자 쌍은 인간 면역 레퍼토리 중에 0.05% 이상의 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 5

제 1 항에 있어서,

상기 생식세포 유전자 쌍은 나이브 인간 면역 레퍼토리 중에 0.07% 이상의 농도로 존재하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 6

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체 또는 이의 기능성 단편은 인간 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 7

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 8개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 8

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 10개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 9

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 15개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 10

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 20개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 11

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 25개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 12

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 30개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 13

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 35개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 14

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 40개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 15

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 45개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 16

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합은 50개 이상의 다른 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 17

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체 또는 이의 기능성 단편은 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함하되, 상기 하나 이상의 상보성 결정 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 18

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체 또는 이의 기능성 단편은 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3 영역을 포함하되, 상기 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 19

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체 또는 이의 기능성 단편은 JH4, J κ 1 및 J λ 2/3으로 구성된 군에서 선택되는 FR4 영역을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 20

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체 또는 이의 기능성 단편은 다양화된 HCDR3 영역을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집

합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 21

제 1 항에 있어서,

상기 합성 항체 또는 이의 기능성 단편은 다양화된 LCDR3 영역을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 22

제 1 항에 있어서,

상기 집합은 1×10^4 개의 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 23

제 1 항에 있어서,

상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab 표본 중 상위 60% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷에서의 상대적 표시율을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 24

제 1 항에 있어서,

상기 생식세포 단백질 쌍은, 표 5, 표 9, 도 45a 및 도 47a에서 표시되는 서열의 Fab VH1-69 VLA_VI1-40 AYA에 비해 0.6 이상의 Fab 포맷의 발현 수준을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 25

제 1 항에 있어서,

상기 생식세포 단백질 쌍은 MOR03080에 비해 0.6 이상의 IgG 포맷의 발현 수준을 포함하는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 26

제 1 항에 있어서,

상기 항체의 상기 기능성 단편은 Fab, F(ab')₂, Fab', Fv 및 scFv로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합.

청구항 27

제 1 항에 따른 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합을 암호화하는 핵산의 집합.

청구항 28

제27항에 따른 핵산의 집합을 포함하는 벡터.

청구항 29

제28항에 따른 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포.

청구항 30

제 29 항에 있어서,

숙주세포는 원핵생물 또는 진핵생물의 세포인 것을 특징으로 하는 재조합 숙주세포.

청구항 31

제 30 항에 있어서,

상기 숙주세포는 대장균 또는 포유류의 세포인 것을 특징으로 하는 재조합 숙주세포.

청구항 32

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 따른 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하는 방법.

청구항 33

제 32 항에 있어서,

상기 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하는 방법은:

- 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 포함하는 데이터를 얻는 단계,
- 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍을 식별하는 단계, 및
- 단계 b)에서 식별된 생식세포 단백질 쌍의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합을 생성하는 단계를 더 포함하되,

상기 b) 단계의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍은:

- Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷에서의 상대적 표시율;
- 표 5, 표 9, 도 45a 및 도 47a에서 표시되는 서열의 Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 0.4 이상의 Fab 포맷의 발현 수준;

[표 5]

C-말단 VLA 및 NheI 제한 부위(=GCTAGC)를 갖는 변형된 대장균 phoA 신호 서열
M K Q S T I A L A L L P L L F T P V V L A
ATGAAACAGAGCACCATTTGCCCTGGCCCTGCTGCCGCTGCTGTTACCCAGTGGT GCTAGCC

[표 9]

C-말단 AYA 및 NdeI 제한 부위(=CATATG)를 갖는 변형된 대장균 ompA 신호 서열
M K K T A I A I A V A L A G F A T V A Y A
ATGAAAAAACCGCCATTGCCATTGCCGTGGCCCTGGCAGGCTTTGCCACCGTGG CATATGCC

[도 45a]

Matsuda 등		Tomlinson 등	단백질 서열
IGHV1-2	VH 1-2	DP-75	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYMHVVRQAPGQGLEWMG WINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSLRSDTAVYYCAR
IGHV1-3	VH 1-3	DP-25	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYAMHVVRQAPGQGLEWMG WSNAGNGNTKYSQEFQGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDMAVYYCAR
IGHV1-8	VH 1-8	DP-15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGW MNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTTRNTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARG
IGHV1-18	VH 1-18	DP-14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGW ISAYNGNTNYAQLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDTAVYYCAR
IGHV1-24	VH 1-24	DP-5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTLTSLMHVVRQAPGKGLEWMG GFDPEDEGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAT
IGHV1-45	VH 1-45	--	QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSKASGYTFTYRYLHWVRQAPGQALEWMG WITPFNGNTNYAQKFQDRVTITRDRSMSTAYMELSSLRSEDTAMYYCAR
IGHV1-46	VH 1-46	DP-7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGI INPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCAR
IGHV1-58	VH 1-58	DP-2	QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSKASGFTFTSSAMQWVRQARGQRLEWIGW IVGSGNTNYAQKFQERVITITRDMSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAA
IGHV1-69*01	VH 1-69	DP-10	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
IGHV1-69*06, IGHV1-e	VH 1-69	DP-88	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGG IPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR
IGHV1-c	--	--	KSGASVKVSCSFSGFTITSYGIHWVQSPGQGLEWMGWINPGNGSPSYAKK FQGRFTMTTRDMSTTTAYTDLSSLTSEDMAVYYAR
IGHV1-f	--	DP-3	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYFTFDYMHVVRQAPGKGLEWMGL VDPEDGETIYAEKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCAT
IGHV2-5	VH 2-5	DP-76	QITLKESGPTLVKPTQLTLCTFSGFSLSTSGVGWVRQPPGKALEWLALI YWNDDKRYSPSLKSLRTITKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAHR
IGHV2-26	VH 2-26	DP-26	QVTLKESGPVLVKPTETLTLCTVSGFSLSNARMGVSWIRQPPGKALEWLAI IFSNDKSYSTSLKSLRTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARI
IGHV2-70	VH 2-70	DP-27	QVTLRESGPALVKPTQLTLCTFSGFSLSTSGMVCVSWIRQPPGKALEWLALI DWDDDKYYSTSLKTRLTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCARI
IGHV3-7	VH 3-7	DP-54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMWVRQAPGKGLEWVA NIKQDGSEKYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-9	VH 3-9	DP-31	EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFDYAMHVVRQAPGKGLEWVSG ISWNSGSGIYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKD

[도 47a]

	Kawasaki 등	Frippiat 등	단백질 서열
IGLV1-36	VL 1-11	1a	QSVLTQPPSVSEAPRQRTISCSGSSSNIGNNAVNWYQQLPGKAPKLLIYYDD LLPSGVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEADYYCAAWDDSLNGP
IGLV1-40	VL 1-13	1e	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITSCSGSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYG NSNRPSGVDPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLGSGS
IGLV1-44	VL 1-16	1c	QSVLTQPPSAAGTPGQRTVITSCSGSSNIGSNTVNWYQQLPGTAPKLLIYSNN QRPSGVDPDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEADYYCAAWDDSLNGP
IGLV1-47	VL 1-17	1g	QSVLTQPPSAAGTPGQRTVITSCSGSSNIGSNYYVWYQQLPGTAPKLLIYSNN QRPSGVDPDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEADYYCAAWDDSLSGP
IGLV1-50	VL 1-18	1f	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITSCSGSSNIGAGYVHWYQQLPGTAPKLLIYG NSNRPSGVDPDRFSGSKSGTSASLAITGLQSEADYYCAWDDSLNA
IGLV1-51	VL 1-19	1b	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSGSSSNIGNNYSWYQQLPGTAPKLLIYDNN KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGEADYYCGTWDSLSAG
IGLV2-08	VL 1-2	2c	QSALTQPPSAAGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMY EVSKRPSGVDPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYAGSNNF
IGLV2-11	VL 1-3	2e	QSALTQPRSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMY DVSKRPSGVDPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTF
IGLV2-14	VL 1-4	2a2	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLMY VSNRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYSSSTL
IGLV2-18	VL 1-5	2d	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQQPGTAPKLMY VSNRPSGVDPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYSSSTF
IGLV2-23	VL 1-7	2b2	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQQHPGKAPKLMY GSKRPSGVSDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSSTF
IGLV2-33	VL 1-9	2f	QSALTQPPSVSGAPGQSVTISCTGTSSDVGDYDHFVWYQKRLTTSRLLIYN VNRTPSGISDLFSGSKSGNMASTISGLKSEVEANYHCSLYSSSYTF
IGLV3-1	VL 2-1	3r	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDKLGDKYACWYQKPGQAPVLIYQDSK RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAMDEADYYCQAWDSSTA
IGLV3-9	VL 2-6	3j	SYELTQPLSVSVALGQTARITCGGNNIGSKNVHWYQKPGQAPVLIYRDSN RPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRAGQDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-10	VL 2-7	3p	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQKSGQAPVLIYEDSK RPSGIPERFSGSSSGTMATLTISGAQVEADYYCYSTDSSGNH
IGLV3-12	VL 2-8	3i	SYELTQPHSVSVATAQMARITCGGNNIGSKAVHWYQKPGQDPVLIYSDSN RPSGIPERFSGSNPGNTATLTISRAGQDEADYYCQVWDSSTDHP
IGLV3-16	VL 2-11	3a	SYELTQPPSVSVSLGQMARITCSGEALPKKYAYWYQKPGQAPVLIYKDE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGVQAEDEADYYCLSDSSGTYP
IGLV3-19	VL 2-13	3l	SSELTQDPVSVSVALGQTVRITCQGDLSRYYASWYQKPGQAPVLIYGNKNN RPSGIPDRFSGSSSGNTATLTITGAQAEADYYCNSRSDSGNHL
IGLV3-21	VL 2-14	3h	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQKPGQAPVLIYVYDSD DRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSSTDHP
IGLV3-22	VL 2-15	3e	SYELTQPLSVSVSPGQTARITCSGDVLGENYADWYQKPGQAPVLIYEDSE RYPGIPERFSGSTSGNTTTLTISRVLTEADYYCLSGDEDNP
IGLV3-25	VL 2-17	3m	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKOYAYWYQKPGQAPVLIYKDE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGVQAEDEADYYCQSDSSGTYP
IGLV3-27	VL 2-19	--	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLAKKYARWFQKPGQAPVLIYKDE RPSGIPERFSGSSSGTIVTLTISGAQVEADYYCYSAADNNL

iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상에서 Fab 포맷의 열적 안정성;

iv) 37℃에서 10일을 초과하는 기간 동안 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성;

v) 표 31에서 표시되는 CDR 서열을 갖는 MOR03080에 비해 0.4 이상의 IgG 포맷의 발현 수준; 및

[표 31]

03080 가변 중쇄(CDR은 볼드체로 나타냄)

(1) QVQLVESGGGLVQPGLSLRLSCAAS**GFTFSSYGMHWRQAPGKGLEWVS**N
(51) **IYSDGSNTFYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNM**
(101) **YRWPFHYFDYWGQGLTVTVSS**

03080 가변 경쇄(CDR은 볼드체로 나타냄)

(1) DIELTQPPSV SVAPGQTARIS**CGDNIGNKYVSWYQKPGQAPVVIYGD**
(51) **NNRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEADYYC**SSYDSSY**FVFGGG**
(101) TKLTVLGQ

vi) 37℃에서 14일 동안 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함하는 것

을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하는 방법.

청구항 34

제 33 항에 있어서,

상기 b) 단계는:

ba) 인간 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상의 농도로 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 식별하는 단계;

bb) 단계 ba)에서 식별된 생식세포 단백질 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 생성하는 단계;

bc) 상기 생식세포 단백질 쌍의 특성을 평가하는 단계를 더 포함하되.

상기 생식세포 단백질 쌍의 특성은:

i) Fab 포맷의 상대적 표시율;

ii) Fab 포맷의 발현 수준;

iii) 60℃ 이상의 온도에서 Fab 포맷의 열적 안정성;

iv) 37℃에서 10일을 초과하는 기간 동안 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성;

v) IgG 포맷의 발현 수준; 및

vi) 37℃에서 14일 동안 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성인 것

을 특징으로 하는, 합성 항체의 집합 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하는 방법.

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은 2010년 1월 29일에 출원된 미국 가출원번호 제61/299,401호 및 2009년 5월 29일에 출원된 미국 가출원번호 제61/182,350호에 따른 우선권의 이익을 주장하며, 상기 문헌들은 전체가 참조로서 포함된다.

배경 기술

[0002] 제약 개발, 특히 치료용 항체 분야의 발전은 많은 질병의 치료를 신속히 가능하게 하고/가능하게 하거나 개선하게 한다. 새로운 목표 장소에 도달하여 새로운 기작을 제공함에 따른, 이러한 발전은 심한 중증의 심각한 질병을 갖는 환자의 삶의 질을 상당히 개선한다. 일반적으로 그리고 특히 환자의 건강 관리 시스템의 어려운 점은 제약 개발의 발전에 따라 사용가능해진 신규 약물의 비용이 급격히 증가 된다는 것이다. 고 비용은 제약 개발을 위해 필요한 투자의 결과이며, 특히 항체의 경우, 시장에서 판매되는 제품은 현재 하나 당 10억 달러를 초과한다. 개발에 실패할 수 있는 높은 위험성 및 매우 장시간의 연구기간은 이러한 투자를 불가피하게 만든다. 이런 개발은 잠재적인 치료용 항체의 발견시부터 시장에서 판매되어 환자에게 혜택을 줄 때까지 15년이 넘게 걸릴 수 있다. 치료용 항체의 발견시부터 개발의 각 단계, 전-임상시험(pre-clinical), 시장진입을 위한 임상시험은 어려움과 위험성을 갖는다. 제약 회사들은 환자가 수중에 가장 효과적인 약을 단기간에 구입하고 구입 가능할 수 있도록 하기 위하여, 실패에 위험성과 시간낭비를 줄임으로써 개발 비용을 줄이는 방법에 대해 지속적으로 가늠하는 중이다.

[0003] 이어지는 공개문헌은 거의 모든 질병을 치료하기 위한 최적의 치료용 항체를 더 신속히 식별하게 하는 가치있는 발전을 제공한다. 치료용 항체 후보는 시장 판매에 적합하도록 하기 위하여 장기간 안정성 및 높은 발현율과 같은 많은 개발 조건을 충족시켜야만 한다. 개시된 발전은 시작서부터 모든 엄격한 개발 조건을 만족할 수 있는 항체를 식별하는 속도 및 확률을 증가시킨다. 이에 따른 항체는 생산하는데 덜 비쌀 것이며, 다양한 질병의 치료에서 효과적이고 안전할 것이다.

[0004] 치료용 항체를 식별하는 잘 알려진 방법은 파지(phage) 표시(display) 기술을 사용하는 것이다. 파지 표시는 항체를 표시하기 위해 박테리아에서 성장되는 바이러스 유사 물질을 이용한다. 이 기술의 한가지 이점은 라이브리리가 최대 1×10^{10} 으로 거대해서, 임의의 질병과 관련된 임의의 목표물에 대한 결합 여부를 빠르게 시험해볼 수 있다는 것이다. 예를 들어, 문헌[Knappik et al., (2000), "Fully synthetic human combinatorial antibody libraries (HuCAL) based on modular consensus frameworks and CDRs randomized with trinucleotides," J. Mol. Biol. 11;296(1):57-86]를 참조. 이렇게 많은 수의 항체로 작업하는 것의 이점은 목표물에 대한 조사의 결과가 치료 목표물에 결합하는 수백 개의 항체일 수 있다는 것이며, 수백 개의 항체들은 모두 치료적으로 의의가 있을 수 있다. 그럼에도 불구하고, 문제는 이러한 항체들 중에 약간만이 종종 개발가능하다는 것이며, 이는 항체들 중 약간만이 시장판매를 위해 요구되는 엄격한 조건을 모두 만족할 수 있다는 것을 의미한다.

[0005] 식별 타임라인(timeline)을 급속히 줄이고 내재하는 위험을 줄이기 위한 새로운 파지 표시 라이브러리를 위해, 상기 라이브러리는 선택 및 임상적 개발을 위해 필요한 특성을 갖는 항체를 포함하여야 할 것이고, 이는 환자에게 안전하고 효과적인 치료를 야기할 것이다. 이러한 특성은: 1) 집합의 각각의 항체 모두가 관심 목표물에 대하여 시험될 수 있도록 하는 높은 파지 표시율; 2) 항체 또는 단편이 유효하게 재생산될 수 있도록 하는 높은 발현 수준; 3) 항체가 유효 형태로 환자에게 도달할 수 있도록 하는 높은 열적 안정성; 4) 항체가 치료적으로 유의한 시간 동안 신체 내에서 생존할 수 있도록 하는 혈청 내 높은 안정성; 5) 안전성을 증가시키기 위한 면역

원성의 낮은 위험도, 및 5) 라이브러리가 임의의 치료상의 목표물에 대한 항체를 식별하는데에 사용될 수 있도록 하는 높은 다양성을 포함한다.

- [0006] 필수적 방식에서 인간 면역계를 모방하는 라이브러리는 매우 가치있으며, 또한 최적의 용액이어야 한다. 인간 면역계는 생식세포 유전자에 의해 암호화된 항체로 구성된다. 부분적으로 항체는 가변 중쇄 및 가변 경쇄로 구성된다. 약 50 종류의 중쇄의 생식세포 유전자 및 약 50 종류의 경쇄의 생식세포 유전자가 있으며, 이들의 결합은 약 2,500개 조합의 상이한 가변 중쇄 및 경쇄 쌍을 제공한다. 인간에서, 이러한 2,500개의 조합 모두가 생산될 것이라고 여겨진다. 이것이 발견됐음에도 불구하고, 특정 가변 중쇄, 가변 경쇄 및/또는 가변 중쇄와 가변 경쇄의 조합(쌍)은 다른 것에 비해 더 높은 수준으로 발현된다. 어떤 것이 다른 어떤 것보다 더 발현되는 것에는 어떠한 이유가 분명히 있을 것이라고 가정하였고, 만일 그러하다면, 고 발현된 생식세포 유전자는 호의적인 기능성을 가질 수 있다. 그러므로, 호의적인 기능성을 갖는 항체의 라이브러리를 제공하는 하나의 방법은 인간 면역 레퍼토리(repertoire)로부터의 풍부한 가변 중쇄, 가변 경쇄, 및/또는 가변 중쇄와 가변 중쇄의 생식세포 쌍을 포함하는 라이브러리를 제조하는 것이다.
- [0007] 게다가, 인간의 생식세포 유전자 서열은 매우 낮은 면역원성을 갖는 것으로 생각되며, 따라서 당연히 이러한 서열은 면역원성의 위험을 낮추기 위하여 재조합 항체로 모조(imitate)될 수 있다.
- [0008] 인간 면역 레퍼토리에서 일반적인 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 평가하기 위한 접근법이 진행되어왔다. 문헌[de Wildt 등, Analysis of heavy and light chain pairings indicates that receptor editing shapes the human antibody repertoire, J Mol Biol. 22;285(3):895-901 (January 1999)]를 참조하며, 상기 문헌은 전체가 본원에 참조로 포함된다. Wildt 등은 인간 기증자로부터 혈액 표본을 얻었고, IgG+ B 세포를 분류하고, 분류된 IgG+ B 세포를 체세포초돌연변이시킨 뒤, cDNA들을 PCR로 증폭시키고, 각각의 cDNA를 시퀀싱하고, 알려진 인간 가변 도메인 생식세포 유전자에 맞게 각각의 서열을 정렬했다. Wildt 등은 소수의 생식세포 유전자만이 중요한 면역 레퍼토리가 되었고 빈번히 발현된 중쇄 및 경쇄 유전자 분절이 종종 쌍이 된다는 것을 관찰했다.
- [0009] 개인의 B 세포의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 쌍짓기를 유지하려는 시도 또한 진행되어왔다. 예를 들어, 가변 도메인 "동종 쌍(cognate pair)"의 라이브러리는 개시되었다. 문헌[Meijer 등, Isolation of human antibody repertoires with preservation of the natural heavy and light chain pairing, J Mol Biol., 358(3):764-72 (May 5 2006)]; WO 2005042774를 참조하라. Meijer 등의 문헌에서 설명되는 기술에 따른 라이브러리들은 면역 숙주로부터 유래된 개인의 B 세포로부터 제조되었다. 일반적으로, B 세포는 FACS에 의해 분류되며, 육체적으로 과다 돌연변이 세포(hypermuted cells)를 보이는 CD38HI B 세포가 선택되며, CD38HI B 세포의 cDNA는 PCR로 증폭되고, 항체 유전자 산물은 선발(selection)용 Fab 벡터안으로 삽입된다. 이러한 동종 쌍 라이브러리는 이들의 제한 없이는 없다. 예를 들어, B 세포를 제공하는 숙주는 일반적으로 면역되며; 분류된 B 세포 집단은 과다 돌연변이되어서, 이에 따른 라이브러리는 특정 면역원에 더 편중된다.
- [0010] 부가적으로, 라이브러리 제조를 위해서 중요한 가변 중쇄 또는 가변 경쇄를 이용하려는 시도가 진행되어왔다. 예를 들어, 문헌[Shi 등, "De Novo Selection of High-Affinity Antibodies from Synthetic Fab Libraries Displayed on Phage as pIX Fusion Proteins; J Mol Biol., 397(2):385-96 (March 26, 2010)] (본 발명에 관한 선행 문헌으로 공인되지 않음), 그리고 각각의 특허 출원서 WO 2009085462; 및 WO 2006014498에서, 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 인간 면역 레퍼토리에서 이들의 사용 빈도에 따라 라이브러리 안에 포함되었다.
- [0011] 또한, 특정 생식세포 쌍을 라이브러리 안에 포함시키려는 추가적인 시도가 진행되어왔다. 예를 들어, WO 1999020749는 라이브러리의 구성원이 인간 생식세포 중쇄 유전자 분절 DP-47(IGHV3-23)에 의해 암호화된 초가변 루프의 표준 구조(canonical structure) 및/또는 생식세포 유전자에 의해 암호화된 구조형성 영역(framework regions)을 갖는 중쇄, 및/또는 인간 생식세포 경쇄 유전자 분절 02/012(IGKV1 -39/1 D-39)에 의해 암호화된 초가변 루프의 표준 구조 및/또는 생식세포 유전자에 의해 암호화된 구조형성 영역을 갖는 경쇄를 포함하는 라이브러리를 설명한다.
- [0012] 추가적인 접근법은 B 세포로부터 직접적으로 또는 B 세포로부터 유도된 라이브러리를 제조했다. 예를 들어, 문헌[Glanville et al., Precise Determination of the Diversity of a Combinatorial Antibody Library Gives Insight into the Human Immunoglobulin Repertoire, Proc Natl Acad Sci 1 ;106(48):20216-21 (December 2009)] (본 발명에 관한 선행 문헌으로 공인되지 않음)은 654개의 인간 기증 면역 글로불린 항체 M(IgM) 레퍼토리의 다양성으로부터 만들어진 항체 라이브러리를 설명한다. 구체적으로, 654개의 인간 기증 면역 글로불린 항

체 M으로부터 유래된 중쇄 및 경쇄 V-유전자 cDNA는 각각 PCR로 증폭되었고(중쇄 및 경쇄 쌍을 분리함), 그 다음에 중쇄 및 경쇄 도메인은 무작위로 재결합되었다. WO 2003052416는 미생물에 의한 감염 또는 백신으로 치료하는 것 중 어느 하나에 의해 야기되는, 관심 있는 병원균에 현저한 반응을 보이는 숙주로부터 B 세포를 분리하는 것을 설명한다. WO 2003052416에서, 가변 영역 중 CDR3 영역을 암호화하는 cDNA는 시퀀싱되었고, 우성 CDR3를 포함하는 항체 단편이 설계되었다. WO 2009100896는 면역 숙주로부터 B 세포를 분리하는 것을 설명하며, 여기서 가변 중쇄 및 가변 경쇄 영역을 암호화하는 cDNA는 시퀀싱되며, 짝지어지지 않은 풍부한 가변 중쇄 및 가변 경쇄 서열이 확인되었다. WO 2009100896(본 발명에 관한 선행 문헌으로 공인되지 않음)에서, 라이브러리는 무작위로 재조합된 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함하여 합성되었으며, 이 때 항체는 면역원으로 특징된다. 이러한 것의 요약 및 추가적인 접근법은 문헌[Fuh 등, Synthetic antibodies as therapeutics, Expert Opin Biol Ther., 7(1):73-87 (January 2007)]에서 발견된다.

[0013] 그러므로, 호의적인 생물학적 특성을 갖는 인간 면역 레퍼토리에서 발견되며, 환자에게 안전하고 효과적인 항체로 용이하게 개발될 수 있는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 포함하는 항체 또는 항체의 단편의 집합에 대한 많은 요구가 존재한다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0014] 본 발명의 목적은 항체 또는 항체의 단편의 집합, 또는 이러한 집합의 사용 방법에 관한 것이다.

과제의 해결 수단

[0015] 본원은 임의의 목표물에 대하여, 개발가능하고 환자에게 안전하고 효과적인 항체를 효율적으로 식별하기 위한 문제에 대하여 가치있는 용액을 제공한다. 거의 전반적으로, 발명자들은 필수적인 방식으로 인간 면역계를 모방하는 항체 라이브러리가 유리할 수 있다는 발상으로부터 시작된다. 일부에서, 발명자는 인간 면역 레퍼토리로부터의 최적의 생식세포 유전자 서열을 항체 안에 포함시킴으로써 인간 면역계를 모방하려 했다. 따라서, 일부 실시예에서, 라이브러리의 항체는 생식세포가 서열로 존재하는 부분, 예를 들어 구조형성 영역을 포함한다. 생식세포 서열을 사용하는 것은 환자에게 치료적으로 사용할 시에 재조합 항체의 면역원성의 위험을 현저하게 줄일 수 있을 것이다.

[0016] 게다가, 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍이 인간 면역 레퍼토리에 풍부하다는 가설에 의거하여 작업하는 발명자는 더 효율적인 임상적 개발을 야기할 것이고 이의 결과로 얻은 항체가 환자에게 안전성과 효율성을 증가시키는 호의적인 생물학적 특성을 얻을 것이다. 배경지식으로, 각각의 B 세포는 하나의 항체를 암호화하고, 각각의 항체는 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함한다. 항체의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 각각은 항체의 기점(origin)을 밝히기 위하여 생식세포 서열과 함께 정렬될 수 있으며, 이를 통해 어떤 생식세포 유전자로부터 가변 중쇄 및 가변 경쇄가 암호화되었는지를 알아낸다. 그러므로, 각각의 항체에 대하여, 가변 중쇄 및 가변 경쇄는 생식세포 쌍, 예를 들어 VK1-5와 쌍을 이루는 VH3-23을 포함한다.

[0017] 중요한 생식세포 유전자 쌍이 호의적인 생물학적 특성을 가질 것이라는 가설을 증명하기 위하여, 첫 번째 단계는 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 식별하는 것이다. 상기 단계는 공개적으로 입수 가능한 문헌을 광범위하게 찾아보고 인간 숙주로부터의 B 세포를 표본화함으로써 이루어진다. 다음 단계로서, 원자료(raw data)를 모으고, 분석하고, 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 쌍을 이들의 발생 정도에 따라 정렬했다. 이런 데이터로부터, 특정 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍이 다른 것들에 비해 인간 면역 레퍼토리에 더 빈번하게 존재한다는 것이 명백해졌다.

[0018] 게다가, 발명자는 특정 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍이 B 세포를 경험한 항원에 비해 나이브(naive) B 세포(항원 비경험)에서 다르게 발현될 수 있다고 생각했고, 따라서, 모아진 데이터는 표본화된 B 세포의 성장 또는 분화에 기초하여 분석되었다. 우리의 분석으로부터, 특정 생식세포 유전자 쌍이 B 세포 집단을 경험한 항원에 비해 나이브 B 세포 집단에서 다르게 발현된다는 것이 명백해졌다.

[0019] 다음 단계로서, 인간 면역 레퍼토리에 약 2500 쌍의 생식세포 단백질 쌍이 존재하기 때문에, 어떤 생식세포 단백질 쌍이 시험 되어야 할지를 결정해야 한다. 하나의 방법은 인간 면역 레퍼토리에서 가장 두드러지게 발생하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍(예를 들어, 표 18 참조)을 테스트하는 것이다. 예를 들어, 하나의 방법으로 테스트를 위해 상위 400개의 쌍을 선택하거나, 특정 역치 농도를 초과하여 발현되는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 선택하는 것이다. 이런 접근법은 많은 수의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의

생식세포 단백질 쌍 서열을 합성하고 시험하는 것이 요구될 것이며; 따라서, 이러한 접근법은 매우 효율적이지 않을 것이다.

[0020] 다른 접근법으로서, 발명자는 인간 면역 레퍼토리로부터 두드러지게 발현된 쌍들 대부분을 포함하거나, 정확하게 재생산하거나, 이들을 대표하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 쌍들의 부분집합을 선택했다. 이런 접근법은 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자의 적은 수가 인간 면역 레퍼토리에 지배적으로 있다는 관찰에 일부 기초되었다. Wildt 등의 문헌 895-896 페이지는 이런 현상을 설명한다. Wildt 등의 문헌은 빈번하게 발현된 중쇄 및 경쇄 유전자 분절이 종종 쌍을 이루고, 표본화된 쌍들의 절반만이 5개의 생식세포 쌍들에 일치된다는 것을 관찰했다고 설명하고 있다. 그러므로, 두드러지게 발현된 중쇄 및 경쇄의 생식세포 유전자(쌍을 이루지 않음)의 적은 수는 인간 면역 레퍼토리를 대표하는 쌍들의 군을 형성하도록 결합될 수 있다.

[0021] 이런 접근법은 이어지는 방식으로 진행되었다. 인간 면역 레퍼토리에서 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자 발현을 확인하기 위하여 모아진 데이터와 추가적인 데이터(VH 또는 VL 발현만을 식별했으며, 연결된 쌍은 식별하지 않음)를 분석했다. 다음 단계로, 두드러지게 발현된 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열(쌍을 이루지 않음)을 평가해서 개발에 의의가 있는 이들의 생물학적 특성을 확인했다. 이어지는 특성들에 대하여 인실리코(in silico)에서 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 평가했다: (i) CDR 길이, (ii) 등전점(pI)(바람직한 등전점은 8이상이며, 이는 중성 제형 완충액에서 안정성을 제공하기 위함이다), (iii) 번역 후 변형(PTM's)(특히, N-결합된 글리코실화 부위(NxS 또는 NxT) 또는 Asp 분해(중성 DP에서 일어남)와 같은 화학적 변이, (iv) Asp 이성질화(DD, DG), (v) 생체 내(혈청 내)에서 발생할 수 있거나 제형 완충액에 저장되어 항체 결합의 손실을 야기하는 탈아미노화(NS, NG), (vi) CDRs에 메티오닌의 존재(용매에 노출되는 경우에 산화될 수 있음), (vii) 쌍을 이루지 않은 시스테인의 존재(임의의 다른 쌍을 이루지 않은 시스테인과 이황화 결합을 형성하여서, 단백질의 가교결합 및/또는 낮은 발현 수준을 야기할 것임), (viii) 생식세포로부터의 편차, (ix) 잠재적 T-세포 에피토프(epitopes)의 존재, 및 (x) 이론적 응집 경향.

[0022] 다음 단계로, 호의적인 생물학적 특성을 가진 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄, 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 쌍을 혼합하여 가변 중쇄 및 가변 경쇄 쌍을 형성했다. 이런 쌍들의 부분 집합은 표 23에 도시되는 바와 같이 인간 면역 레퍼토리로부터 두드러지게 발현된 쌍들 중 대부분을 포함하거나, 정확하게 재생하거나, 이를 대표한다. 이는 가변 중쇄 및 가변의 생식세포 유전자를 합성하고, 이들을 쌍으로 결합시키고, 단백질로서 쌍을 발현하고, 이들의 생물학적 특성을 살펴보기 위해 각각을 시험함으로써 이루어진다. 이어지는 특성들이 시험 되었으며, 이는 (i) 파지 상에서 Fab 포맷의 상대적 표시율; (ii) 예를 들어 대장균에서 Fab 포맷의 상대적 발현 수준; (iii) Fab 포맷의 열적 안정성; (iv) Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; (v) IgG 포맷의 상대적 발현 수준; (vi) IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성이다.

[0023] 호의적인 생물학적 특성을 갖는 생식세포 단백질 쌍이 식별되었다면, 집합은 이러한 쌍들을 포함하도록 설계되었다. 본원의 양태는 가변 중쇄 및 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 포함하는 항체 또는 기능성 단편을 모으는 것으로, 상기 항체 또는 기능성 단편은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된다 하여도, 개발능력을 향상시키는 이로인 특성을 갖는 가변 중쇄 및 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 갖지만 상기 호의적인 생물학적 특성을 갖지 않는 가변 중쇄 및 경쇄의 생식세포 유전자 쌍은 갖지 않는다. 이런 방식으로, 집합은 이로인 기능적 특성을 갖지 못하는, 자연에 존재하는(2500 쌍 중에) 가변 중쇄 및 경쇄 조합 또는 쌍을 제외하도록 설계되었다. 예를 들어, VH4-34는 표 20에서 도시되는 바와 같이 인간 면역 레퍼토리에서 빈번하게 발생하지만, 이 중쇄의 생식세포 유전자로부터 유래된 항체는 B 세포에 세포독성을 가져서, 이 유전자로부터 유래된 항체가 라이브러리 설계로부터 제외될 수 있다고 알려져 있다. 문헌[Bhat 등, Rapid cytotoxicity of human B lymphocytes induced by VH4-34 (VH4.21) gene-encoded monoclonal antibodies, Clin Exp Immunol. ,105(1):183-90 (July 1996)] 참조.

[0024] 일부 실시예에서, 본 집합은 수많은 기능적으로 이로인 가변 중쇄 및 경쇄 조합 또는 쌍을 포함하는 항체를 포함하여, 집합 중의 항체가 꽤 다양하고, 따라서 임의의 치료상의 목표물에 대한 항체를 식별하기 위해 사용될 수 있는 집합을 제공한다.

[0025] 이러한 집합은 많은 선행 기술의 문제를 극복한다. 예를 들어, B 세포로부터 유래된 유사한 라이브러리는, 상기 라이브러리에 존재하는 VH 및 VL류 집합이 B 세포 표본에 존재하는 VH 및 VL류의 집합과 동일할 것이라는 개념을 포함하지 않는다. 만일 충분히 많은 표본의 B 세포가 있다면, 각각의 약 50개의 VH 및 50개의 VL의 집합

조합들(2500개)이 존재할 것이다. 본 공개문서에서 VH 및 VL 쌍의 대규모 시험은 많은 VH 및 VL의 생식세포 유전자 쌍이 임상의 개발능력을 갖게 하는 특성을 갖지 못한다는 것을 보였다. 그러므로, 이러한 유사 라이브러리는 개발 가능성이 낮은 많은 VH 및 VL 쌍들을 포함한다. 그러므로, 이로인 기능성을 갖는 VH 및 VL류 쌍만을 포함하는 더 큰 다양성을 갖는 라이브러리를 만들어내는 것이 필요할 것이지만, 유사한 라이브러리 만으로는 불가능하다.

[0026] 게다가, 일부 실시예에서, 집합에 포함된 생식세포 유전자 쌍은 나이브 또는 B 세포 경험이 없는 항원 표본에 기초함에 따라, 보여지는 생식세포 유전자 쌍은 특정 면역원에 더 치중되고, 집합은 임의의 면역원에 대한 검사에 있어서 우수할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0027] 도 1은 VH3-23 중쇄(상부 패널) 및 VH1-69 중쇄(하부 패널)를 갖는 항체의 주변세포질 추출 후에 항-Fd 발현 ELISA의 결과를 보여주며, 각각의 항체는 야생형(TKA) 신호 서열에 비해 C-말단 제한 부위 AfIII(VLS), NheI(VLA) 및 AvrII(VLG)을 포함하는 3개의 변형된 phoA 신호 서열 중 하나를 함유한다. VH3-23군에서, 모든 변형된 phoA 신호 서열은 야생형(TKA)의 발현 수준 범위로 발현 수준을 유지했다.

도 2는 VK1-39 경쇄(좌측 상부 패널), VK3-11 경쇄(우측 상부 패널), VL1-40 경쇄(좌측 하부 패널) 및 VL3-1 경쇄(우측 하부 패널)를 갖는 항체의 주변세포질 추출 후에 항-Fd 발현 ELISA의 결과를 보여주며, 각각의 항체는 야생형(AQA) 신호 서열에 비해 C-말단 제한 부위 NdeI(AYG), NdeI(AYA) 및 BsiWI(TYA)을 포함하는 3개의 변형된 ompA 신호 서열 중 하나를 함유한다. C-말단 제한 부위 및 야생형 신호 서열을 포함하는 상기 변형된 ompA 신호 서열을 VK 및 VL Fab 단편 모두를 사용하여 시험했다. NdeI(AYA)를 포함하는 신호 서열은 야생형(AQA) 정도의 또는 이보다 나은 발현을 지속적으로 보여준다.

도 3은 실시예 1 내지 1.3에서 구체적으로 설명되는 바와 같이, phoA 및 ompA 대장균 신호 서열 안에 삽입하기 위해 선택된 제한 부위를 보여주고, CDR 3 및 이들 각각의 복제개시지점 주변에 신호 서열을 포함한다. 이 도면은, 대장균 신호 서열을 보이면서, 또한 실시예 1.5에서 구체적으로 설명되는 바와 같이 IgG 발현 인간 중쇄 및 κ 채 선도 서열에 삽입하기 위해 선택된 C-말단 제한 부위를 보여준다.

도 4 내지 도 9는 Tsuiji M. 등(2006)의 문헌에서 설명되고 단리된 B 세포의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍을 보여준다.

도 10 내지 도 12는 Tiller T. 등(2007)의 문헌에서 설명되고 단리된 B 세포의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍을 보여준다.

도 13 내지 도 17은 Mietzner B. 등(2003)의 문헌에서 설명되고 단리된 B 세포의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍을 보여준다.

도 18 내지 도 20은 Wardemann H. 등(2003)의 문헌에서 설명되고 단리된 B 세포의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍을 보여준다.

도 21 내지 도 23은 Yurasov S. 등(2005)의 문헌에서 설명되고 단리된 B 세포의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍을 보여준다.

도 24 내지 도 26은 Yurasov S. 등(2006)의 문헌에서 설명되고 단리된 B 세포의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍을 보여준다.

도 27은 실시예 2.2에서 구체적으로 설명되는 바와 같이, 인간 숙주로부터 단리된 개개의 분리된 성숙한 나이브(mn) B 세포 및 항체 분비 세포(asc)의 cDNA들을 증폭하는데에 사용된 PCR 전략을 보여준다.

도 28 내지 도 36은 실시예 2.2에서 구체적으로 설명되는 바와 같이, 인간 표본으로부터 단리된 B 세포의 VH/VL 쌍들을 보여준다.

도 37은 실시예 4 내지 4.1에서 구체적으로 설명되는 바와 같이, 합성, 조합 및 기능적 특성을 위해 선택된 20개의 VH의 생식세포 유전자를 보여준다. 또한, 상기 도면은 본원에서 설명되는 바와 같이, 인실리코에서 생식세포 유전자 각각의 분석 결과를 보여주며, 여기서 pI는 등전점을 나타내고, PTM들은 영역을 결정하는 상보성에 번역 후 변형이며, NxS/T는 N-결합 글리코실화 부위이고, CDR 중의 Met는 메티오닌이다.

도 38은 실시예 4 내지 4.1에서 구체적으로 설명되는 바와 같이, 합성, 조합 및 기능적 특성을 위해 선택된 8 V

λ 및 12 V_K의 생식세포 유전자를 보여준다. 또한, 상기 도면은 본원에서 설명되는 바와 같이, 인실리코에서 생식세포 유전자 각각의 분석 결과를 보여주며, 여기서 p1은 등전점을 나타내고, PTM들은 영역을 결정하는 상보성에 번역 후 변형이며, NxS/T는 N-결합 글리코실화 부위이고, CDR 중의 Met는 메티오닌이다.

도 39는 도 4 내지 도 26에 도시된 실시예 2.1로 및 도 28 내지 도 36에 도시된 실시예 2.2로부터 모은 데이터 중 VH/V_K 쌍들을 보여준다. 기입된 숫자는 모은 데이터 중에서 식별된 개인의 B 세포로부터의 VH/V_K의 생식세포 유전자 쌍 각각의 수를 나타낸다. Y 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 위(VH3-23)부터 아래(VH3-20)로 순서대로 나열된 VH의 생식세포 유전자를 보여준다. X 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 좌(IGKV3-20)부터 우(IGKV1D-17)로 순서대로 나열된 V_K의 생식세포 유전자를 보여준다. 숫자 1358은 B-세포 표본의 수이다.

도 40은 도 4 내지 도 26에 도시된 실시예 2.1 및 도 28 내지 도 36에 도시된 실시예 2.2로부터 모은 데이터 중 VH/V _{λ} 쌍들을 보여준다. 기입된 숫자는 모은 데이터 중에서 식별된 개인의 B 세포로부터의 VH/V _{λ} 의 생식세포 유전자 쌍 각각의 수를 나타낸다. Y 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 위(VH3-23)부터 아래(VH3-20)로 순서대로 나열된 VH의 생식세포 유전자를 보여준다. X 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 좌(IGLV2-14)부터 우(IGLV4-60)로 순서대로 나열된 V _{λ} 의 생식세포 유전자를 보여준다. 숫자 779은 B-세포 표본의 수이다.

도 41은 도 4 내지 도 26에 도시된 실시예 2.1 및 도 28 내지 도 36에 도시된 실시예 2.2로부터 모은 데이터 중 VH/V_K 쌍들을 보여주되, 나이브 인간 면역 레퍼토리 중에서 두드러진 VH/V_K 쌍들을 식별하기 위하여, 미성숙한 B 세포, 새로운 이주 B 세포 및 성숙한 나이브 B 세포 중 B 세포 집단을 경험하지 않은 항원만을 포함한다. 기입된 숫자는 모은 데이터 중에서 식별된 개인의 B 세포로부터의 VH/V_K의 생식세포 유전자 쌍 각각의 수를 나타낸다. Y 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 위(VH3-23)부터 아래(VH3-20)로 순서대로 나열된 VH의 생식세포 유전자를 보여준다. X 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 좌(IGKV3-20)부터 우(IGKV1D-17)로 순서대로 나열된 V_K의 생식세포 유전자를 보여준다. 숫자 888은 B-세포 표본의 수이다.

도 42는 도 4 내지 도 26에 도시된 실시예 2.1 및 도 28 내지 도 36에 도시된 실시예 2.2로부터 모은 데이터 중 VH/V _{λ} 쌍들을 보여주되, 나이브 인간 면역 레퍼토리 중에서 두드러진 VH/V _{λ} 쌍들을 식별하기 위하여, 미성숙한 B 세포, 새로운 이주 B 세포 및 성숙한 나이브 B 세포 중 B 세포 집단을 경험하지 않은 항원만을 포함한다. 기입된 숫자는 모은 데이터 중에서 식별된 개인의 B 세포로부터의 VH/V _{λ} 의 생식세포 유전자 쌍 각각의 수를 나타낸다. Y 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 위(VH3-23)부터 아래(VH3-20)로 순서대로 나열된 VH의 생식세포 유전자를 보여준다. X 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 좌(IGLV2-14)부터 우(IGLV4-60)로 순서대로 나열된 V _{λ} 의 생식세포 유전자를 보여준다. 숫자 457은 B-세포 표본의 수이다.

도 43은 도 4 내지 도 26에 도시된 실시예 2.1 및 도 28 내지 도 36에 도시된 실시예 2.2로부터 모은 데이터 중 VH/V_K 쌍들을 보여주되, IgG 항체 분비 세포, 및 IgM 및 IgG 기억 B 세포 중 B 세포 집단을 경험한 항원만을 포함한다. 기입된 숫자는 모은 데이터 중에서 식별된 개인의 B 세포로부터의 VH/V_K의 생식세포 유전자 쌍 각각의 수를 나타낸다. Y 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 위(VH3-23)부터 아래(VH3-20)로 순서대로 나열된 VH의 생식세포 유전자를 보여준다. X 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 좌(IGKV3-20)부터 우(IGKV1D-17)로 순서대로 나열된 V_K의 생식세포 유전자를 보여준다. 숫자 470은 B-세포 표본의 수이다.

도 44는 도 4 내지 도 26에 도시된 실시예 2.1 및 도 28 내지 도 36에 도시된 실시예 2.2로부터 모은 데이터 중 VH/V _{λ} 쌍들을 보여주되, IgG 항체 분비 세포, 및 IgM 및 IgG 기억 B 세포 중 B 세포 집단을 경험한 항원만을 포함한다. 기입된 숫자는 모은 데이터 중에서 식별된 개인의 B 세포로부터의 VH/V _{λ} 의 생식세포 유전자 쌍 각각의 수를 나타낸다. Y 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 위(VH3-23)부터 아래(VH3-20)로 순서대로 나열된 VH의 생식세포 유전자를 보여준다. X 축은 모은 데이터 중에서 발현 빈도에 따라서 좌(IGLV2-14)부터 우(IGLV4-60)로 순서대로 나열된 V _{λ} 의 생식세포 유전자를 보여준다. 숫자 322는 B-세포 표본의 수이다.

도 45a 내지 도 45c는 VH의 생식세포 유전자로 암호화된 아미노산 서열을 보여준다(Tomlinson 등, (1992), "The Repertoire of Human Germline Vh Sequences Reveals about Fifty Groups of Vh Segments with Different Hypervariable Loop" J. Mol. Biol. 227, 776-798; Matsuda 등, (1998), "The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus" J Exp Med 188(11):2151-62; LeFranc MP, (2001) "Nomenclature of the human immunoglobulin heavy (IGH) genes." Exp Clin Immunogenet. 18(2):100-16).

도 46a 내지 도 46c는 V_k 의 생식세포 유전자로 암호화된 아미노산 서열을 보여준다(Schable 및 Zachau (1993), "The variable genes of the human immunoglobulin kappa locus," Biol. Chem Hoppe Seyler. 374(11):1001-22; Brensing-Kuppers 등, (1997), "The human immunoglobulin kappa locus on yeast artificial chromosomes (YACs)" Gene. 191(2):173-81; Kawasaki 등, (2001), "Evolutionary dynamics of the human immunoglobulin kappa locus and the germline repertoire of the V_k genes" Eur J Immunol 31(4):1017-28; 및 Lefranc MP, (2001) "Nomenclature of the human immunoglobulin kappa (IGK) genes" Exp Clin Immunogenet., 18, 161-174).

도 47a 및 47b는 V_λ 의 생식세포 유전자로 암호화된 아미노산 서열을 보여준다(Kawasaki 등, (1997) "One-Megabase Sequence Analysis of the Human immunoglobulin lambda Gene Locus" Genome Research 7(3):250-61; Fripiat 등, (1995) Organization of the human immunoglobulin lambda light-chain locus on chromosome 22q11.2" Hum. Mol. Genet., 4, 983-991; 및 LeFranc MP, (2001) "Nomenclature of the human immunoglobulin lambda (IGL) genes. Exp Clin Immunogenet.;18:242-254).

도 48은 pJPd1 트리시스트로닉(tricistronic) 과지 표시 벡터를 보여준다.

도 49는 pJPx1 Fab 발현 벡터를 보여준다.

도 50은 PMx11 (pMORPHX11) Fab 발현 벡터를 보여준다

도 51은 pMORPH30 Fab 표시 벡터를 보여준다.

도 52는 pJP_h-IgG1f 가변 중쇄 IgG 발현 벡터를 보여준다.

도 53은 pJP_h-Ig_κ 가변 κ 경쇄 IgG 발현 벡터를 보여준다.

도 54는 pJP_h-Ig_λ2 가변 λ 경쇄 IgG 발현 벡터를 보여준다.

도 55는 시험된 400개의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍들에 대한 상대적 Fab 표시율을 보여준다. 더 큰 숫자는 더 큰 표시 수준을 나타낸다.

도 56은 시험된 400개의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍들에 대한 상대적 Fab 발현 수준을 보여준다. 더 큰 숫자는 더 큰 발현 수준을 나타낸다.

도 57은 Fab 포맷으로 시험된 400개의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍들의 온도 안정도 데이터를 보여준다. 숫자 60 및 70은 시험에서 60℃ 또는 70℃로 세팅된 온도에서 45분 동안 안정한 VH/VL 쌍들을 나타낸다. 숫자 4는 온도에서 불안정한 쌍들을 나타내고 bg는 낮은 발현 수준을 나타낸다.

도 58은 Fab 포맷으로 시험된 400개의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍의 소 혈청 내 안정성 데이터를 보여준다. 시험 조건하에서, S는 안정하다는 것이고 U는 불안정하다는 것이다.

도 59는 Fab 포맷으로 시험된 마우스 혈청의 400개의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍의 안정성 데이터를 보여준다. 시험 조건하에서, S는 안정하다는 것이고 U는 불안정하다는 것이다.

도 60은 시험된 400개의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍들에 대한 IgG 발현율을 보여준다. 더 큰 숫자는 더 큰 IgG1 발현 수준을 나타낸다.

도 61은 IgG 포맷에서 시험된 400개의 VH/VL의 생식세포 유전자 쌍들의 혈청 안정성 데이터를 보여준다. 시험 조건하에서, S는 안정하다는 것이고 U는 불안정하다는 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

정의

본 발명을 용이하게 이해하도록, 이어지는 정의 및 실례가 제공된다.

일반 용어

숫자 값 및 범위를 기재함에 있어서, 용어 "약" 또는 "대략"은 비슷한 값 또는 범위를 지칭하거나, 소정의 숫자 또는 퍼센트 서열 상동을 갖는 것과 같이 본 발명이 의도한 대로 수행될 수 있는 게시된 값 또는 범위에 근접한 값 또는 범위를 지칭하며, 이는 본원에 교시된 내용으로부터 통상의 기술자에게 자명하다. 이는 적어도 부분적으로 변화하는 배양 조건 및 생물학적 시스템의 가변성 때문이다. 따라서, 이러한 용어는 계통 오차로부터 야

기되는 것들을 넘어서는 값들을 아우른다. 이러한 용어는 불명확한 것을 명확하게 한다. 일반적으로, "약"은 진술된 값의 $\pm 10\%$ 를 아우른다. 그러므로, 상기 용어 "약"은 범위를 설명하기 위해 사용될 수 있다.

[0032] 이하 본 발명의 요약 및 설명에서, 모든 범위들은 모든 숫자 또는 값들의 근처 값 또는 이들 숫자 사이의 값들을 포함한다. 본 발명의 범위는 모두 정수, 소수 및 분수 값으로 명시적으로 표시되고 정해진다.

[0033] 용어 "피험자"는 인간 및 비-인간 동물을 포함한다. 비-인간 동물은 모든 척추동물, 예를 들어, 포유류, 및 비-인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류 및 파충류와 같은 비-포유류를 포함한다. 따로 지시되지 않는 한, 용어 "환자" 또는 "피험자"는 본원에서 상호교환적으로 사용된다.

[0034] 용어 "치료"는 조성물 또는 항체를 투여하여 증상, 합병증의 발병, 질병의 생화학적 징후를 방지하거나 늦추거나, 증상을 완화하거나, 질병, 질환 또는 장애가 더 발달하는 것을 정지 또는 억제시키는 것을 포함한다. 그러므로, 치료는 "치유"를 아우르지만, 이에 제한되지 않는다. 치료는 질병의 징후 이후에 (질병의 발병을 방지하거나 늦추기 위해, 또는 질병의 임상 또는 준임상 증상의 징후를 방지하거나 늦추기 위해) 증상을 예방하거나, 치료적으로 억제하거나 완화할 수 있다.

[0035] 본원에서 사용되는 "데이터베이스 또는 판독가능 매체"는 서열 데이터를 저장할 수 있어서 데이터베이스 파일, 록업테이블, 엑셀 시트 등과 같은 정보의 임의의 집합을 저장하기 위한 임의의 포맷을 지칭한다. 특정 실시예에서, 데이터베이스는 컴퓨터 판독가능 메모리 장치와 같은 전자식으로 저장된다. 이는 서버, 고객, 하드디스크, CD, DVD, 팜 파일럿(Palm Pilot)과 같은 개인용 디지털 보조장치, 테이프, zip 디스크(zip disk), 컴퓨터의 내부 롬(ROM) 또는 인터넷 또는 월드와이드웹(WWW)과 같은 매체를 포함한다. 컴퓨터로 불러올 수 있는 파일의 기억 장치용 다른 매체는 당해 분야의 통상의 기술자에게 자명할 것이다.

[0036] "인실리코"는 컴퓨터상에서 수행된 조작, 분석 및 설계를 지칭하지만, 이는 종이 또는 머리속으로 수행될 수도 있을 것이다.

[0037] 항체 및 항체의 특성

[0038] 본원에서 사용된 용어 "항체"는 모든 항체를 포함한다. 항체는 다중클론성, 친화력-정제 다중클론성, 단일클론성, 완전 인간, 쥐와 또는 설치류, 키메라류, 카멜리드류 또는 인간화한 항체일 수 있다. 항체는 IgG, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA(인간 하위 부류 IgA1 및 IgA2를 포함), IgD, IgE, IgG, 또는 IgM과 같은 항체류 중 임의의 부류에 속할 수 있다. 자연 발생적 "항체"는 이항화 결합으로 서로 연결된 적어도 2개의 중(H)쇄 및 2개의 경(L)쇄를 포함하는 당단백질이다.

[0039] 본원에서 사용되는 용어 "항체의 기능성 단편"은 Fab, F(ab')₂, Fab', Fv, scFv와 같은 임의의 항원 단편, Fc 부분, 나노바디 및 가변 골격 영역(framework region) 외에 스캐폴드를 갖는 다른 항체 유사 구조를 포함한다. 용어 "항체의 기능성 단편"은 항체의 임의의 기능을 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 여기서 기능은 면역원 또는 효과 인자 기능의 결합부를 포함한다.

[0040] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "친화력"은 항원부위에서 항체와 항원이 상호작용하는 강도를 지칭한다. 각각의 항원 부위내에서, 항체 "팔"의 가변 영역은 다양한 부위에서 비-공유결합력을 통해 항원과 상호작용하며; 더 많은 상호작용력은 더 강한 친화력을 제공한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, IgG 항체와 같은 항체 또는 항체의 기능성 단편에 대한 "고 친화력"은 목표 항원에 대하여 KD 10^{-8} M 이하, 10^{-9} M 이하, 10^{-10} M 이하, 10^{-11} M 이하를 갖는 항체를 지칭한다. 반면에, "고 친화력" 결합은 다른 항체 아이소타입(isotype)에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, IgM 아이소타입에 대한 "고 친화력" 결합은 KD 10^{-7} M 이하 또는 10^{-8} M 이하를 갖는 항체를 지칭한다.

[0041] 본원에서 사용되는 용어 "카속(kassoc)" 또는 "Ka"는 특정 항체-항원 상호작용의 연관율을 지칭하는 것으로 의도되지만, 본원에서 사용되는 용어 "Kdis" 또는 "Kd"는 특정 항체-항원 상호작용의 해리율을 지칭하는 것으로 의도된다. 본원에서 사용되는 용어 "KD"는 해리 상수를 지칭하는 것으로 의도되며, 상기 해리 상수는 Kd 대 Ka의 비율(즉, Kd/Ka)로부터 얻어지고, 이는 몰농도(M)로 표시된다. 항체들에 대한 KD 값은 당해 분야에 잘 알려진 방법을 사용하여 확인될 수 있다. 항체의 KD 값을 알아내는 방법은 표면 플라즈몬 공명을 사용하거나 Biacore® 시스템과 같은 바이오센서 시스템을 사용하는 것이다.

[0042] 용어 "교차-차단", "교차-차단된", "교차-차단하는"은 표준 경쟁적 결합 측정법에서 다른 항체 또는 결합 물질

이 동일한 목표 지점에 결합을 방해하는 항체 또는 다른 결합 물질의 능력을 의미하는 것으로 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 항체 또는 다른 결합 물질이 또 다른 항체에 결합하거나 동일한 목표 지점에 분자가 결합하는 것을 방해할 수 있어서, 본 발명에 따른 상기 교차-차단할 수 있는 능력 또는 정도는 표준 경쟁적 결합 측정법을 사용하여 결정될 수 있다. 하나의 적합한 측정법은 Biacore 기술(예, Biacore 3000 기구(Biacore, Uppsala, Sweden)를 사용함)의 사용을 수반하며, 이는 표면 플라즈몬 공명 기술을 사용하여 상호작용의 정도를 측정할 수 있다. 교차-차단을 측정하기 위한 또 다른 측정법은 ELISA-기반 접근법을 사용하는 것이다.

[0043] 용어 "에피토프"는 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 단백질 결정부를 의미한다. 에피토프는 보통 아미노산 또는 당 측쇄와 같은 분자 중 화학적 활성 표면 집단으로 구성되고 보통 특정 3차원 구조 특성을 가질 뿐만 아니라 특정 전하 특성을 가진다. 입체형태 및 비-입체형태 에피토프는 입체형태 에피토프에는 결합하지만 비-입체형태 에피토프에서는 변성 용매의 존재 하에서 결합하지 않는다는 점에서 구별된다.

[0044] 용어 "키메라 항체(chimeric antibody)"는 항체 분자의 불변부 또는 일부가 변형, 대체 또는 교체되어 항원 결합 부위(가변 영역)가 상이하거나 변형된 부류, 효과 인자 기능 및/또는 종의 불변부에 결합되는 항체 분자이다.

[0045] 용어 "아이소타입(isotype)"은 중쇄 불변부 유전자에 의해 제공되는 항체류(예, IgM, IgE, IgG1 또는 IgG4와 같은 IgG)를 지칭한다. 또한, 아이소타입은 이러한 부류 중 하나의 변형된 항체를 포함하며, 상기 변형은 Fc 기능을 변형하도록, 예를 들어 효과 인자 기능 또는 Fc 수용체에 대한 결합을 향상시키거나 감소시키도록 이루어진다.

[0046] 용어 "생식세포"는 모체로부터 자손에게 전해지는 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 핵산 서열을 의미한다.

[0047] 용어 "생식세포 단백질 서열"은 a) 생식세포 유전자에 의해 암호화된 항체 또는 이의 기능성 단편 중 가변 영역의 아미노산 서열, b) 생식세포 유전자에 의해 암호화된 항체 또는 이의 기능성 단편 중 가변 영역과 동일한 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 항체의 기능성 단편 중 가변 영역을 암호화하는 변형된 핵산 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열(상기 핵산 서열은 예를 들어, 코돈 최적화, 원하는 제한 부위의 첨가, 최적화된 GC 함량, 원치 않는 스플라이스 부위의 제거 또는 mRNA 불안정성 모티프의 제거에 의해 변형됨), 또는 c) 생식세포 유전자에 의해 암호화되지만 원치 않는 시스테인을 제거하기 위해 또는 원하는 제한 부위 예를 들어, BbsI을 첨가하기 위해, 또는 합성, 증폭 또는 복제에서 발생한 오류로부터 유발되는 아미노산 서열의 점돌연변이를 겪은 아미노산 서열을 의미한다.

[0048] 용어 "생식세포 유전자 서열"은 a) 항체 또는 이의 기능성 단편 중 가변 영역을 암호화하는 생식세포 유전자의 핵산 서열, 또는 b) 생식세포 유전자에 의해 암호화된 항체의 가변 영역과 동일한 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 기능성 단편 중 가변 영역을 암호화하는 변형된 핵산 서열(상기 핵산 서열은 예를 들어, 코돈 최적화, 원하는 제한 부위의 첨가, 최적화된 GC 함량, 원치 않는 스플라이스 부위의 제거 또는 mRNA 불안정성 모티프의 제거에 의해 변형됨)을 의미한다.

[0049] 용어 "생식세포 유전자 쌍(들)"은 핵산 서열의 쌍, 및 이에 대응되는 생식세포 유전자 쌍으로서 항체 또는 이의 기능성 단편의 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 암호화하는 생식세포 유전자 쌍을 의미한다. 예를 들어, 생식세포 유전자 쌍은 VH3-23/Vκ1-5일 수 있으며, 상기 VH3-23/Vκ1-5에 의해 암호화된 항체는, 생식세포 유전자 Vκ1-5에 의해 암호화된, 생식세포 유전자 VH-3-23 및 가변 경쇄, 또는 이의 일부분에 의해 암호화된, 가변 중쇄 또는 이의 일부분을 포함한다.

[0050] 용어 "생식세포 단백질 쌍"은 항체 또는 이의 기능성 단편을 의미하는 것으로, 이 때 가변 중쇄 또는 이의 일부분, 및 가변 경쇄 또는 이의 일부분은 a) 특정 생식세포 유전자에 의해 각각 암호화되거나, b) 특정 생식세포 유전자에 의해 암호화된 항체 중 가변 영역과 동일한 아미노산 서열을 갖는 항체 또는 이의 기능성 단편 중 가변 영역을 암호화하는 변형된 핵산 서열에 의해 각각 암호화되거나(상기 핵산 서열은 예를 들어, 코돈 최적화, 원하는 제한 부위의 첨가, 최적화된 GC 함량, 원치 않는 스플라이스 부위의 제거 또는 mRNA 불안정성 모티프의 제거에 의해 변형됨), c) 생식세포 유전자에 의해 암호화되지만 원치 않는 시스테인을 제거하기 위해 또는 원하는 제한 부위 예를 들어, BbsI을 첨가하기 위해, 또는 합성, 증폭 또는 복제에서 발생한 오류로부터 유발되는 아미노산 서열의 점돌연변이를 겪은 아미노산 서열을 각각 포함한다. 예를 들어, 생식세포 단백질 쌍은 VH3-23/Vκ1-5에 의해 암호화된 항체 또는 기능성 단편일 수 있으며, 여기서 항체는 생식세포 유전자 Vκ1-5에 의해 암호화된, 생식세포 유전자 VH3-23 및 가변 경쇄 또는 이의 일부분에 의해 암호화된, 가변 중쇄 또는 이의 일부

분을 포함한다. "생식세포 단백질 쌍"은 실시예 5에 따라 제조된 구조체를 포함하며, 상기 구조체는:

- [0051] a) VH : 선도서열(도 3에서 도시된 바와 같이 NheI RE 부위를 포함하는 변형된 phoA); 생식세포 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3(도 3에서 도시된 바와 같이 BSSHII RE 부위를 포함); 문헌[Ewert S. 등, J. Mol. Biol. (2003) 325, 531-553]에서 사용되는 바와 같이 4D5 항체 중 CDR-H3 (WGGDGFYAMDY); 및 JH4 FR4 (도 3에서 도시된 바와 같이 XhoI/SaI RE 부위를 포함);
- [0052] b) V_K: 선도서열(도 3에서 도시된 바와 같이 NdeI RE 부위를 포함하는 ompA); 생식세포 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3(도 3에서 도시된 바와 같이 BbsI RE 부위를 포함), 문헌[Ewert S. 등, J. Mol. Biol. (2003) 325, 531-553]에 따른 κ -유사 CDR-L3(QQHYTPPT); 및 Jk1 FR4 (도 3에서 도시된 바와 같이 KpnI RE 부위를 포함); 및
- [0053] c) V _{λ} : 선도서열(도 3에서 도시된 바와 같이 NdeI RE 부위를 포함하는 ompA); 생식세포 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3(도 3에서 도시된 바와 같이 BbsI RE 부위를 포함), 문헌[Ewert S. 등, J. Mol. Biol. (2003) 325, 531-553]에 따른 λ -유사 CDR-L3(QSYDSSLGVV); 및 JI2/3 FR4(도 3에서 도시된 바와 같이 KpnI RE 부위를 포함).
- [0054] 실시예 6 및 7에서 설명된 바와 같이, 하기에 나열된 기능적 특성에 대하여, Fab 및 IgG로서 이러한 구조체 각각을 합성하고, 발현하고, 시험했다. 상기 기능적 특성은 a) 파지를 제조하고, Fab 포맷에서 파지 ELISA한 후에 상대적 표시율 특성; b) 대장균 내에서 Fab를 제조하고, 대장균 세포를 용해하고, 제조된 Fab를 ELISA 검출한 후에 상대적 Fab 발현 수준 특성; c) 상승된 온도에서 배양한 후, 대장균 내에서 Fab를 제조하고, 대장균 세포를 용해하고, 비-변성된 Fab를 ELISA 검출한 후에 Fab의 온도 안정성 특성; d) 소/마우스 혈청에서 배양한 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출에 의한 대장균 용해물로부터 Fab의 소/마우스 혈청 안정성 특성; e) 포유류 세포에서 IgG1을 제조하고 세포 배양 상층액으로부터 분비된 IgG1을 ELISA 검출한 후에 상대적인 인간 IgG1의 발현 수준; 및 f) 소/마우스 혈청에서 배양한 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출에 의한 인간 IgG1의 소 혈청 안정성 특성이다.
- [0055] 용어 "실질적인 생식세포 단백질 서열"은 생식세포 유전자에 의해 암호화되지만 원치 않는 시스테인을 제거하기 위해 또는 원하는 제한 부위 예를 들어, BbsI을 첨가하기 위해, 또는 합성, 증폭 또는 복제에서 발생한 오류로부터 유발되는 아미노산 서열의 점돌연변이를 겪은 아미노산 서열을 의미한다.
- [0056] "생식세포 유전자"는 이어지는 문헌에서 개시되는 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 생식세포 유전자의 핵산이다. VH : 문헌[Tomlinson 등, (1992), "The Repertoire of Human Germline Vh Sequences Reveals about Fifty Groups of Vh Segments with Different Hypervariable Loop" J. Mol. Biol. 227, 776-798]; 문헌[Matsuda 등, (1998), "The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus" J Exp Med 188(11):2151-62]; 및 문헌[LeFranc MP, (2001) "Nomenclature of the human immunoglobulin heavy (IGH) genes." Exp Clin Immunogenet. 18(2):100-16]; V _{λ} : 문헌[Kawasaki 등, (1997) "One-Megabase Sequence Analysis of the Human immunoglobulin lambda Gene Locus" Genome Research 7(3):250-61]; 문헌[Frippiat 등, (1995) Organization of the human immunoglobulin lambda light-chain locus on chromosome 22q11.2" Hum. Mol. Genet., 4, 983-991]; 및 문헌[LeFranc MP, (2001) "Nomenclature of the human immunoglobulin lambda (IGL) genes. Exp Clin Immunogenet.;18:242-254]; 및 VK : 문헌[Schable and Zachau (1993), "The variable genes of the human immunoglobulin kappa locus," Biol. Chem Hoppe Seyler. 374(11):1001-22]; 문헌[Bresing-Kuppers 등, (1997), "The human immunoglobulin kappa locus on yeast artificial chromosomes (YACs)" Gene. 191 (2):173-81]; 문헌[Kawasaki 등, (2001), "Evolutionary dynamics of the human immunoglobulin kappa locus and the germline repertoire of the Vkappa genes" Eur J Immunol 31(4):1017-28]; 및 문헌[Lefranc MP, (2001) "Nomenclature of the human immunoglobulin kappa (IGK) genes" Exp Clin Immunogenet., 18, 161-174], 상기 문헌은 전체가 참조로 본원에 모두 포함된다.
- [0057] 가변 중쇄 영역으로 JH4, 가변 κ 경쇄 영역으로 J _{κ} 1, 및 가변 λ 경쇄 영역으로 J _{λ} 2/3의 서열은 이어지는 공개문헌에서 설명된다. 문헌[Scaviner 등, (1999), "Protein displays of the human immunoglobulin heavy, kappa and lambda variable and joining regions" Exp Clin Immunogenet. 16(4):234-40]; JH : 문헌[Ravetch 등, (1981), "Structure of the human immunoglobulin mu locus: characterization of embryonic and rearranged J and D genes." Cell 27 (3 pt 2): 583-91]; JK : 문헌[Hieter 등, (1982), "Evolution of human immunoglobulin kappa J region genes." J Biol Chem 257(3):1516-22; JL : 문헌[Kawasaki 등, (1997) "One-Megabase Sequence Analysis of the Human immunoglobulin lambda Gene Locus" Genome Research 7(3):250-61], 상기 문헌들은 이들의 전체가 본원에 참조로 모두 포함된다. JH4 서열은 (YFDYWGQGLTVSS)이며; J _{κ} 1 서

열은 (WTFQGQTKVEIK)이며; 그리고 J λ 2/3 서열은 (VVFGGGTKLTVL)이다.

- [0058] 용어 "위치-의존성 아미노산 유용성"은 폴리펩타이드의 주어진 위치에서 특정 아미노산 서열의 발생 가능성을 지칭한다. 본 발명에서, 위치-의존성 아미노산 유용성은 개인의 생식세포 유전자에 의해 분류되는 재-배열된 아미노산 서열에 대해 확인됐다. 이는 천연 생식세포 목록 내에서 CDR의 개별적인 정밀한 설계를 가능하게 한다.
- [0059] 용어 "가변 도메인/영역(VH 또는 VL)"는 경쇄(κ 및 λ 를 포함) 및 중쇄의 면역 글로불린 유전적 좌위를 각각 형성하는 VL(V κ 및 V λ 를 포함), VH, JL(J κ 및 J λ 를 포함) 및 JH 핵산 중 어느 것에 의해 실질적으로 암호화되는 하나 이상의 Ig 도메인을 포함하는 면역 글로불린의 영역을 의미한다. 경쇄 또는 중쇄의 가변 영역(VL 및 VH)은 "상보성 결정 영역" 또는 "CDRs"로 지칭되는 3개의 초가변영역에 의해 산재된 "골격(framework)" 또는 "FR" 영역으로 구성된다. 골격 영역 및 CDR들의 정도는 정확히 정의되었다(Kabat, 1991, J. Immunol., 147, 915-920.; Chothia & Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196: 901-917; Chothia 등, 1989, Nature 342: 877-883; Al-Lazikani 등, 1997, J. Mol. Biol. 273: 927-948 참조). 항체의 골격 영역, 즉 구성 성분인 경쇄 및 중쇄의 결합된 골격 영역은 CDR들을 위치시키고 정렬하는 역할을 하며, 이들은 항원 결합을 주로 책임진다.
- [0060] 용어 "골격 영역"은 가변 도메인의 항원 결합 루프를 위한 스캐폴드 역할을 하는 가변 도메인의 일부로서 Kabat 등(1991)에 의해 정의된 항체 가변 도메인을 의미한다. 골격 영역의 예는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄 중 어느 하나로 이루어진 FR1, FR2, FR3 및 FR4를 포함한다.
- [0061] 용어 "상보적 결정 영역" 또는 "CDR"은 Kabat 등(1991)에 의해 정의된 바와 같이, 항체의 항원 결합 루프를 의미한다. 항체 Fv 단편의 가변 도메인 2개 각각은 3개의 CDR을 함유한다. 상보적 결정 영역은 가변 중쇄 또는 가변 경쇄 중 어느 하나로 이루어진 CDR1, CDR2 및 CDR3를 포함한다.
- [0062] "선호된 VH 및 VL류 쌍"은 면역 레퍼토리, 예를 들어 한계치로 결정된 기준에 따른 인간 면역 레퍼토리에서 선호되는 이러한 VH 및 VL류 쌍을 의미한다. 예를 들어, VH-VL 쌍들은 풍부하거나; 호의적인 생물학적 특성, 예를 들어 낮은 면역원성; 안정도를 가지며; VH-VL 쌍들은 용이하게 보여지고/보여지거나 발현되거나, 약 2500개의 인간 B 세포의 표본 중에 적어도 0.05% 농도로 보여지는 VH-VL 쌍들이다. 인간 면역 레퍼토리에서 선호된 VH 및 VL류 쌍들은 다른 VH 및 VL류 쌍들에 비해 선호되는 특징을 가질 수 있다.
- [0063] 용어 "나이브(naive)"는 항원을 경험하지 않은 것을 의미한다.
- [0064] 용어 "나이브 B 세포"는 B세포를 의미하며, 이 때 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 핵산은 체세포조돌연변이를 겪지 않으며, 따라서 V(D)J 유전자 분절 재배열의 발생과 함께 생식세포 유전자의 핵산을 포함할 것이라고 고려된다. 나이브로 고려되는 B-세포의 집단은 미성숙 B 세포, 새로운 이주 B 세포 및 성숙 나이브 B 세포이다.
- [0065] 용어 "나이브 인간 면역 레퍼토리"는 인간의 면역계의 항원 비경험 B 세포로부터 단리된 핵산의 레퍼토리를 의미하며, 이 때 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 핵산은 체세포조돌연변이를 겪지 않으며, 따라서 V(D)J 유전자 분절 재배열의 발생과 함께 생식세포 유전자의 핵산을 포함할 것이라고 고려된다. 레퍼토리는 개별적으로 또는 집단으로부터 이루어질 수 있다. 본 발명은 개인 각각으로부터의 면역 레퍼토리를 확인함으로써 처리될 수 있으며, 제공된 충분한 B-세포가 얻어진다. 바람직하게, 면역 레퍼토리는 표본 편증을 피하기 위해 다수의 개인으로부터 얻어진다.
- [0066] "인간 면역 레퍼토리"는 인간의 면역 시스템으로부터의 B 세포에서 단리된 핵산의 레퍼토리를 의미한다. 레퍼토리는 개별적 또는 집단의 것일 수 있고, 나이브 B 세포 및/또는 항원 경험 B 세포로부터의 것일 수 있다. 본 발명은 각각의 개인으로부터의 면역 레퍼토리를 확인함으로써 처리될 수 있으며, 제공된 충분한 B-세포가 얻어진다. 바람직하게, 면역 레퍼토리는 표본 편증을 피하기 위해 다수의 개인으로부터 얻어진다.
- [0067] "항원" 및 "면역원"은 항체에 특이적으로 결합하는 임의의 분자로 정의된다.
- [0068] 용어 "면역원에 대해 특이적"은 항체 및 대응되는 분자 간의 특이적 연관성을 의미한다.
- [0069] 본원에서 사용된 "CDR 다양화" 또는 "다양화된 CDR"은 임의의 적합한 방법에 의한 CDR을 갖는 아미노산의 변형이다. CDR은 면역원 결합 영역으로 일반적으로 알려져 있으며, 따라서 CDR 내에 큰 다양성을 보이는 부분을 포함하는 집합을 갖는 CDR은 집합이 임의의 면역원에 대하여 특이적이고 최적의 특성을 갖는 항체 또는 이의 단편을 포함할 가능성을 증가시킨다. 다양성은 하나 이상의 CDR로 이루어진 아미노산 조성물을 변화시킴으로써 얻어진다. 이는 본원에서 설명된 방법을 포함하여, 당해 분야의 통상의 기술자에게 알려진 임의의 방법에 의해

달성될 수 있다.

- [0070] "항체 또는 이의 단편을 암호화하는 합성 핵산의 집합"은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 모든 핵산이 합성된 것을 의미하지만, 다른 합성 핵산과 작동가능하게 연결될 수 있는 벡터와 같은 다른 핵산을 지칭하지는 않는다.
- [0071] 분자 생물학의 교재에서 사용된 용어
- [0072] 용어 "합성" 또는 "합성된"은 유전자 합성을 의미하며, 여기서 핵산 서열은 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 물리적 DNA로 합성된다. 표준 DNA 합성은 단일 뉴클레오타이드 합성을 포함하며, 여기서 단일-가닥 올리고-뉴클레오타이드가 제조된 후 PCR-유사 어셈블리(assembly)를 사용하여 겹친 올리고뉴클레오타이드는 연결된다. 기업체들, 예를 들어 Sloning (Puchheim, Germany), Geneart (Regensburg, Germany), DNA2.0 (Menlo Park, CA USA), 및 Genscript (Piscataway, NJ USA)는 유전자 합성 기술을 제공한다. 예를 들어, Sloning은 기-제조된 이중 가닥 삼중 뉴클레오타이드의 세트를 이용하며, 이는 풀링 직후에 바로 연결된다.
- [0073] 용어 "합성한"은 합성에 의해 만들어진 분자를 설명한다.
- [0074] 용어 "집합" 또는 "라이브러리"는 적어도 2개의 구성원을 의미한다. 용어 "구성원"은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산 또는 항체 또는 이의 단편 자체를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0075] 용어 "숙주"는 포유류, 예를 들어 인간, 쥐과류 또는 설치류, 마우스, 랫트, 다람쥐, 얼룩 다람쥐, 땅 다람쥐, 호저, 비버, 햄스터, 게르빌루스쥐, 기니아 피그, 토끼, 개, 고양이, 소 또는 말을 포함하는 임의의 숙주를 지칭한다.
- [0076] 본원에서 사용되는 용어 "핵산"은 상기 용어 "폴리뉴클레오타이드"와 상호교환적으로 사용되고, 디옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드, 및 단일- 또는 이중-가닥 형태의 이들의 폴리머를 지칭한다. 상기 용어는 알려진 뉴클레오타이드 유사체 또는 변형된 백본(backbone) 잔기 또는 결합부를 함유하는 핵산들을 아우르며, 이들은 합성, 자연 발생, 및 비-자연 발생이며, 이들은 기존 핵산과 동일한 결합 특성을 가진다. 이러한 유사체의 예는 포스포로티오에이트, 포스포아미데이트, 메틸 포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2'-O-메틸 리보뉴클레오타이드, 및 펩티드-핵산(PNAs)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0077] 따로 제시되지 않는 한, 특정 핵산 서열은 보전적으로 변형된 이의 변이체 및 상보적 서열을 암시적으로 포함할 뿐만 아니라 분명히 제시된 서열을 아우른다. 특히, 하기 구체적으로 설명되듯이, 퇴화한 코돈 치환기는 하나 이상의(또는 모든) 선택된 코돈 중 세 번째 자리가 혼합된-염기 및/또는 디옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 제조함으로써 달성될 수 있다(Batzer 등, Nucleic Acid Res. 19:5081, 1991; Ohtsuka 등, J. Biol. Chem. 260:2605-2608, 1985; 및 Rossolini 등, Mol. Cell. Probes 8:91-98, 1994).
- [0078] 용어 "작동가능하도록 연결된"은 2개 이상의 폴리뉴클레오타이드(예, DNA) 분절들 간의 기능적 관계를 지칭한다. 일반적으로, 이것은 전사된 서열에 대한 전사 조절 서열의 기능적 관계를 지칭한다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서 서열은 코딩 서열에 작동가능하도록 연결되며, 만일 연결되면 이는 적절한 숙주 세포 또는 다른 발현 시스템에서 코딩 서열의 전사를 촉진하거나 조절한다. 일반적으로, 전사된 서열에 작동가능하도록 연결되는 프로모터 전사 조절 서열은 전사된 서열에 물리적으로 인접한다, 즉 이들은 수평작용(cis-acting)한다. 반면에, 인핸서와 같은, 일부 전사 조절 서열은 전사를 향상시키기 위해 코딩 서열에 매우 근접하여 위치하거나 물리적으로 인접할 필요가 없다.
- [0079] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "코돈 최적화된" 또는 "코돈 최적화"는 뉴클레오타이드 서열이 세포 또는 유기체의 생산에 선호되는 코돈을 사용하여 아미노산 서열을 암호화하도록 변형되는 것을 의미한다. 최적화된 뉴클레오타이드 서열은 시작 뉴클레오타이드 서열에 의해 원래 암호화된 아미노산 서열을 보유하도록 가공된다. 이 밖에도, 뉴클레오타이드 서열은 억제적 모티프, 스플라이스 부위, mRNA 불안정 모티프 및 원치 않는 제한 부위가 가능하면 없도록 또는 완전히 없도록 설계될 수 있다. 또한, 이는 GC 함량, 원하는 제한 부위 및 다른 파라미터에 대해 최적화될 수 있다. 서열들은 세균 또는 진핵 세포를 포함하는 다른 숙주에서의 발현을 위해 최적화될 수 있다. 또한, 최적화된 뉴클레오타이드 서열에 의해 암호화된 아미노산 서열은 최적화된 것으로서 지칭된다.
- [0080] 용어 "아미노산"은 천연 및 합성 아미노산을 지칭할 뿐만 아니라, 천연 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모사체도 지칭한다. 천연 아미노산은 유전 암호에 의해 암호화되는 것뿐만 아니

라, 이후에 변형된, 예를 들어 히드록시프롤린, Y-카복시글루타메이트 및 O-포스포세린 아미노산이다. 아미노산 유사체는 천연 아미노산과 동일한 기본 화학적 구조, 즉, 수소, 카복실기, 아미노기 및 R기, 예를 들어, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 설펍시드, 메티오닌 메틸 설펍소에 결합된 알파 탄소를 갖는 화합물을 지칭한다. 이러한 유사체는 변형된 R기(예, 노르류신) 또는 변형된 펩티드 백본을 갖지만, 천연 아미노산과 동일한 기본 화학적 구조를 보유한다. 아미노산 유사체는 아미노산의 일반 화학적 구조와 상이한 구조를 갖지만, 천연 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화합물을 지칭한다.

[0081] 용어 "폴리펩티드" 및 "단백질"은 아미노산 잔기로 이루어진 폴리머를 지칭하도록 본원에서 상호교환적으로 사용된다. 상기 용어는 하나 이상의 아미노산 잔기가 대응되는 천연 아미노산의 인공 화학적 유사체로 이루어진 아미노산 폴리머에 사용할 뿐만 아니라, 천연 아미노산 폴리머 및 비-천연 아미노산 폴리머에도 사용된다. 따로 제시되지 않는 한, 특정 폴리펩티드 서열은 보존적으로 변형된 이의 변이체를 암시적으로 포함한다.

[0082] 용어 "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산 및 핵산 서열 둘 모두에 적용된다. 특정 핵산 서열에 관하여, 보존적으로 변형된 변이체는 동일한 또는 필수적으로 동일한 아미노산 서열을 암호화하는 핵산들을 지칭하거나, 여기서 핵산이 필수적으로 동일한 서열에 대하여 아미노산 서열을 암호화하지 않는 것을 지칭한다. 유전 암호의 퇴화 때문에, 많은 수의 기능적으로 동일한 핵산은 임의의 주어진 단백질을 암호화한다. 예를 들어, 코돈 GCA, GCC, GCG 및 GCU 모두는 아미노산 알라닌을 암호화한다. 따라서, 알라닌이 코돈에 의해 특정되는 모든 위치에서, 상기 코돈은 암호화된 폴리펩티드를 변형시키지 않는 것으로 보여지는 임의의 대응되는 코돈으로 변형될 수 있다. 이러한 핵산 변이체는 "사일런트 변이체(silent variants)"이며, 이는 보존적으로 변형된 변이체의 한 종류이다. 또한, 폴리펩티드를 암호화하는 모든 핵산 서열은 핵산의 모든 가능한 사일런트 변이체를 설명한다. 통상의 기술자는 핵산 중의 각각의 코돈(보통 메티오닌에 대한 유일한 코돈인 AUG, 및 보통 트립토판에 대한 유일한 코돈인 TGG를 제외함)이 변형되어 기능적으로 동일한 분자를 내어 놓을 수 있다고 인식할 것이다. 따라서, 폴리펩티드를 암호화하는 핵산의 사일런트 변이체 각각은 설명된 서열 각각에서 암시된다.

[0083] 폴리펩티드 서열에 대하여, "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산을 화학적으로 유사한 아미노산으로 치환하여 야기되는 폴리펩티드 서열에 각각의 치환, 결손 또는 첨가를 포함한다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표는 당해 분야에 잘 알려져 있다. 이러한 보존적으로 변형된 변이체는 제한되지 않고 다형성 변이체, 중간 동족체(interspecies homologs), 및 본 발명의 대립 유전자를 포함한다. 이어지는 8개 기는 서로 간에 보존적 치환을 위한 아미노산을 포함하며: 상기 8개 기는: 1) 알라닌(A), 글리신(G); 2) 아스파르트산(D), 글루탐산(E); 3) 아스파라긴(N), 글루타민(Q); 4) 아르기닌(R), 리신(K); 5) 이소류신(I), 류신(L), 메티오닌(M), 발린(V); 6) 페닐알라닌(F), 티로신(Y), 트립토판(W); 7) 세린(S), 트레오닌(T); 및 8) 시스테인(C), 메티오닌(M)이다(예, Creghton, Proteins (1984) 참조). 일부 실시예에서, 용어 "보존적 서열 변형"은 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특성에 현저히 영향을 주지 않거나 변형하지 않는 아미노산 변형을 지칭하도록 사용된다.

[0084] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 맥락에서, 용어 "동일" 또는 퍼센트 "동일성"은 동일한 2개 이상의 서열 또는 서브서열을 지칭한다. 비교 창(comparison window), 또는 이어지는 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하여 측정되거나 수동 정렬 및 시각적 검사에 의해 측정된 지정된 영역에 걸쳐서 최대로 대응되도록 비교하고 정렬되는 경우에, 만일, 2개의 서열에서 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오타이드의 특정 퍼센트(즉, 60% 동일성, 특정 영역에 걸쳐서 또는 특정되지 않았다면 전체 서열에 걸쳐서 선택적으로 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99% 동일성)를 갖는다면, 2개의 서열은 "실질적으로 동일"하다. 선택적으로, 상기 동일성은 적어도 약 50개의 뉴클레오타이드(또는 10개의 아미노산) 길이, 더 바람직하게는 100 내지 500개 또는 1000개 이상의 뉴클레오타이드(또는 20, 50, 200개 이상의 아미노산) 길이를 갖는 영역에 걸쳐서 존재한다. 서열 비교에 있어서, 일반적으로 하나의 서열은 시험 서열을 비교하기 위해 기준 서열로서 역할한다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우에, 시험 및 기준 서열은 컴퓨터 안에 삽입된 후, 좌표가 지정되고, 필요하다면, 서열 알고리즘 프로그램 파라미터가 지정된다. 초기 프로그램 파라미터가 사용될 수 있거나, 대안적인 파라미터가 지정될 수 있다. 이후에, 서열 비교 알고리즘은 프로그램 파라미터에 기초하여, 기준 서열에 관하여 시험 서열에 대한 퍼센트 서열 동일성을 계산한다.

[0085] 본원에서 사용된 바와 같이, "비교 창"은 2개의 서열이 최적으로 정렬된 후에 서열이 동일한 수의 인접한 위치를 갖는 기준 서열과 비교될 수 있는 20 내지 600개, 바람직하게는 약 50 내지 약 200, 더 바람직하게는 약 100 내지 150개의 서열로 구성된 군으로부터 선택된 많은 인접한 위치 중 임의의 하나의 분절에 대한 기준을 포함한다. 비교하기 위한 서열의 정렬 방법은 당해 분야에 잘 알려져 있다. 비교하기 위한 최적의 서열 정렬이 예를 들어, 문헌[the local homology algorithm of Smith and Waterman (1970) Adv. Appl. Math. 2:482c], 문헌

[the homology alignment algorithm of Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443, (1970)], 문헌[the search for similarity method of Pearson and Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444, (1988)], 이러한 알고리즘의 컴퓨터 실행(Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI에 의해 개발된 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA), 또는 수동 정렬 및 시각적 검사(예, 문헌[Brent 등, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. (2003) 참조]에 의해 수행될 수 있다.

[0086] 퍼센트 서열 동일성 및 서열 유사성을 결정하기에 적합한 알고리즘의 두 가지 예는 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이며, 이들은 문헌[Altschul 등, Nucl. Acids Res. 25:3389-3402, 1977]; 및 문헌[Altschul 등, J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990]에서 각각 설명된다. BLAST 분석을 수행하는 소프트웨어는 생물정보센터를 통해 공공연하게 구입가능하다. 이 알고리즘은 검색을 원하는 서열(query sequence) 중에 길이 W의 짧은 마디를 식별함으로써 최초 높은 점수의 서열 쌍들(HSPs)을 식별하며, 이는 데이터베이스 서열 중 동일한 길이를 갖는 단어와 정렬되는 경우에 일부 양의 값을 갖는 한계점 점수 T와 일치하거나 이를 충족한다. T는 근방 단어 점수 한계점(Altschul 등, supra)으로서 지칭된다. 이러한 초기 근방 단어 히트들(hits)은 이들을 함유하는 더 긴 HSP를 찾기 위한 초기 검출용 시드들(seeds)로서 역할한다. 단어 히트는 서열 각각을 따라 양쪽 방향으로 연장되어 누적 정렬 점수는 증가 될 수 있다. 누적 점수는 뉴클레오타이드 서열에 대하여 파라미터 M(어울리는 잔기 쌍에 대한 보상 점수는 항상 0을 초과함) 및 N(어울리지 않는 잔기에 대한 불이익(penalty) 점수는 항상 0 미만임)을 사용하여 계산된다. 아미노산 서열에 대하여, 점수 행렬은 누적 점수를 계산하기 위해 사용된다. 다음의 경우에, 각각의 방향에서 단어 히트의 증가는 중단된다: 누적 정렬 점수가 이의최대 달성 값으로부터 X로 줄어드는 경우; 하나 이상의 음의 점수를 갖는 잔기 정렬이 누적되어서 누적 점수가 0 이하로 내려가는 경우; 또는 어느 한쪽의 서열 끝에 도달한 경우. BLAST 알고리즘 파라미터 W, T 및 X는 정렬의 민감성 및 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램(뉴클레오타이드 서열용)은 11의 단어 길이(W), 10의 기대치(E), M=5, N=-4 및 양쪽 가닥의 비교를 초기화하는데에 사용한다. 아미노산 서열에 대하여, BLASTP 프로그램은 3의 단어 길이, 10의 기대치(E), 및 BLOSUM62 점수 행렬(Henikoff 및 Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915, 1989 참조), 50의 정렬(B), 10의 기대치(E), M=5, N=-4, 및 양쪽 가닥의 비교를 초기화하는데에 사용한다.

[0087] 또한, BLAST 알고리즘은 2개의 서열 간에 유사성에 대한 통계학적 분석을 수행한다(예, Karlin 및 Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787, 1993 참조). BLAST 알고리즘에 의해 제공되는 유사성의 측정은 가장 작은 합계 확률(P(N))이며, 이는 2개의 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열 사이에 대응이 우연히 발생하는 확률의 표시를 제공한다. 예를 들어, 만일 기준 핵산에 대한 시험 핵산의 비교에서 가장 작은 합계 확률이 약 0.2 미만, 더 바람직하게는 약 0.01 미만, 가장 바람직하게는 약 0.001 미만이면, 핵산은 기준 서열에 대하여 유사하다고 여겨진다.

[0088] 또한, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은, PAM120 중량 잔기 표, 12의 간격 길이 불이익 및 4의 간격 불이익을 사용하는 ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 포함되는 E.Meyers 및 W.Miller(*Comput. Appl. Biosci.*, 4:11-17, 1988)의 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다. 게다가, 2개의 아미노산 서열 사이의 퍼센트 동일성은, Blossom 62 행렬 또는 PAM250 행렬, 및 16, 14, 12, 10, 8, 6 또는 4의 간격 중량 및 1, 2, 3, 4, 5 또는 6의 길이 중량을 사용하는 GCG 소프트웨어 패키지(www.gcg.com에서 구입가능함) 중의 GAP 프로그램에 포함되는 Needleman 및 Wunsch(*J. Mol. Biol.* 48:444-453, 1970) 알고리즘을 사용하여 결정될 수 있다.

[0089] 상기 언급된 서열 동일성의 퍼센트 이외에, 2개의 핵산 서열 또는 폴리펩티드가 실질적으로 동일하다는 것을 나타내는 또 다른 표시는 하기에서 설명되는 바와 같이, 제 1 핵산에 의해 암호화된 폴리펩티드가 제 2 핵산에 의해 암호화된 폴리펩티드에 대하여 발생된 항체와 면역학적으로 교차 반응한다는 것이다. 따라서, 폴리펩티드는 제 2 폴리펩티드에 일반적으로 실질적으로 동일하며, 예를 들어, 여기서 2개의 펩티드는 보존적 치환체만이 다르다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 것을 나타내는 또 다른 표시는 하기에서 설명되는 바와 같이, 2개의 분자 또는 이의 보체는 엄격한 조건 하에서 서로 잡종이 된다. 또한, 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 것을 나타내는 또 다른 표시는 동일한 프라이머가 서열을 증폭하는데에 사용될 수 있다는 것이다.

[0090] 용어 "재조합 숙주 세포" (또는 간단히 "숙주 세포")는 재조합 발현 벡터가 도입되는 세포를 지칭한다. 이러한 용어는 특정 피험자 세포를 지칭하는 것뿐만 아니라 이러한 세포의 자손도 지칭하도록 의도된다고 이해되어야 한다. 왜냐하면, 특정 변형이 돌연변이 또는 환경 영향 중 어느 하나에 의하여 세대를 거치면서 발생할 수 있으며, 이러한 자손은 실제로 친세포와 동일하지 않을 수 있지만, 본원에서 사용되는 바와 같이 용어 "숙주 세포"의 범위 내에 여전히 포함된다. 일반적인 숙주 세포는 원핵생물(예, 대장균을 포함하지만 이에 제한되지

않는 세균) 또는 진핵생물(효모, 포유류 세포 등)이다.

[0091] 용어 "벡터"는 벡터가 결합된 또 다른 폴리뉴클레오티드를 운반할 수 있는 폴리뉴클레오티드 분자를 지칭한다. 선호되는 벡터는 자가 복제 및/또는 벡터에 결합된 핵산의 발현을 가능하게 하는 것이다. 벡터에 작동가능하도록 결합된 핵산의 발현을 직접적으로 가능하게 하는 벡터들은 "발현 벡터"로 본원에서 지칭된다. 벡터의 한 종류는 "플라스미드"이며, 이는 부가적인 DNA 분절이 플라스미드 안에 연결될 수 있는 원형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭한다. 벡터의 또 다른 유형은 바이러스 벡터이며, 이는 부가적인 DNA 분절이 바이러스 게놈 안에 연결될 수 있다. 특정 벡터들은 이들이 도입된 숙주 세포 안에서 자가 복제할 수 있다(예, 세균의 복제 개시점 및 에피솜 포유류 벡터를 갖는 세균 벡터). 다른 벡터들(예, 비-에피솜 포유류 벡터)은 숙주 세포 안으로 도입함에 따라 숙주 세포의 게놈으로 통합될 수 있고, 이에 의하여 숙주 게놈을 따라 복제된다. 나아가, 특정 벡터들은 이들이 작동가능하도록 결합되는 유전자의 발현을 직접적으로 가능하게 한다. 이러한 벡터들은 "재조합 발현 벡터" (또는 간단히 "발현 벡터")로서 본원에서 지칭된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술에서 발현 벡터의 유용성은 종종 플라스미드의 형태에 있다. 본원에서, "플라스미드" 및 "벡터"는 플라스미드가 벡터의 형태로 가장 흔하게 사용되기 때문에 상호교환적으로 사용될 수 있다. 반면에, 본 발명은 다른 형태의 발현 벡터, 예를 들어 동등한 기능을 제공하는 바이러스 벡터(예, 복제 결합 레트로바이러스, 아데노바이러스 및 아데노-연관 바이러스)를 포함하는 것으로 의도된다.

[0092] 벡터들은 세균 숙주 세포로 형질전환된 대장균과 같은 세균 숙주 세포에서 VH- 및/또는 VL-코딩 동족체의 발현(전사 및 번역)을 직접적으로 가능하게 하는 원핵생물 프로모터를 포함할 수 있는 원핵생물 레플리콘(replicon)을 포함한다. 프로모터는 RNA 중합효소의 결합을 가능하게 하여 전사가 일어나는 DNA 서열에 의해 형성된 발현 조절 요소이다. 세균 숙주에 맞는 프로모터 서열은 DNA 분질의 삽입에 편리한 제한 부위를 함유하는 플라스미드 벡터에서 일반적으로 제공된다. 이러한 벡터 플라스미드의 예는 상업적으로 구입할 수 있는 pUC8, pUC9, pBR322 및 pBR329, pPL 및 pKK223를 포함한다.

[0093] "표시 벡터"는 세균 숙주 세포와 같은 숙주 세포에서 추가적인 염색체로 형질전환된 재조합 DNA 분자의 복제 및 유지를 알려주는 능력을 갖는 DNA 서열을 포함한다. 이러한 DNA 서열은 당해 분야에서 잘 알려져 있다. 예를 들어, 표시 벡터들은 fd, M13 또는 f1 섬질의 살균 바이러스로부터 유래되는 파지 벡터 또는 파지플라스미드 복합체 벡터일 수 있다. 이러한 벡터들은 예를 들어, 결합 단백질 또는 이의 단편을 포함하는 단백질의 표시를 섬질의 살균 바이러스 표면에 용이하게 한다. 또한, 파지, DNA, 세균 세포 또는 진핵 세포, 예를 들어 효모 또는 포유류 세포 상에 표시하기에 적합한 표시 벡터들은 당해 분야에서 잘 알려져 있으며, 이러한 표시 벡터들은 예를 들어, 키메라 단백질을 암호화하는 바이러스 벡터 또는 벡터들이다.

[0094] "고유"의 제한 부위는 주어진 핵산 분자 상에 오직 한번 존재하거나 나타나는 제한 부위이다.

[0095] 집합, 이의 제조 방법 및 이의 사용

[0096] 본원은 임의의 목표물에 대한 치료상의 항체의 식별에 사용될 수 있는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 얻을 수 있게 하며, 여기서 상기 항체는 임상적으로 개발가능하고, 환자에게 안정하고 효과적이다. 바탕으로서, 본 발명자는 인간 면역 레퍼토리에 풍부한 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍들이 더 효율적인 개발을 야기하고 환자에 대한 결과물 항체의 안정도 및 효능을 증가시키는 호의적인 생물학적 특성을 가질 것이라고 예측했다. 각각의 B 세포는 하나의 항체를 암호화하고, 각각의 항체는 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 포함한다. 항체의 개시점을 결정하기 위하여, 항체의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 각각은 생식세포 유전자 서열과 정렬될 수 있으며, 이는 생식세포 유전자 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 형성함에 중요성을 갖는다. 그러므로, 각각의 항체에 대하여, 가변 중쇄 및 가변 경쇄가 생식세포 유전자 쌍, 예를 들어 VK1-5와 쌍을 이룬 VH3-23을 포함한다고 말할 수 있다. 이러한 호의적인 생물학적 특성은 a) Fab 포맷의 높은 상대적 표시율; b) 높은 상대적 Fab 발현 수준; c) Fab의 온도 안정성; d) Fab의 소/마우스 혈청 안정성; e) 높은 상대적 인간 IgG1 발현 수준; 및 f) 인간 IgG1의 소 혈청 안정성을 포함할 수 있다.

[0097] 생식세포 유전자 쌍들이 호의적인 생물학적 특성을 가질 것이라는 가설을 증명하기 위하여, 첫 번째 단계는 인간 면역 레퍼토리에 발현된 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍들을 식별했다. 일부 양태에서, 본 발명은 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍들을 포함하는 데이터를 얻는 단계를 포함하는, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 생산하는 방법을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 데이터는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍들을 제공하는 공개적으로 입수 가능한 문헌으

로부터 얻어진다. 일반적으로, 관련 있는 공개적으로 입수가능한 문헌에서, 하기의 방법이 기술된다: 인간 기증자로부터 B 세포를 단리하고, 성장 단계 또는 분화 단계를 결정하기 위하여 상기 B 세포를 분류하고, cDNA들을 제조하고 각각의 B 세포로부터의 항체를 암호화하는 DNA를 증폭하고, cDNA를 시퀀싱하고, 가변 중쇄 및 가변 경쇄를 암호화하는 cDNA를 알려진 생식세포 유전자 서열에 대하여 정렬하고, B 세포로부터의 생식세포 유전자 쌍을 결정했다. 일부 실시예에서, 상기 데이터는 인간 B 세포의 표본화 및 단리로부터 얻어졌으며, 이는 문헌에서 사용된 것과 유사한 방법을 포함했다. 이러한 양태에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편을 생산하는 방법은 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자를 포함하는 데이터를 얻는 단계를 포함하며; 상기 얻는 단계는 aa) 표본으로부터 B 세포를 단리하는 단계; ab) B 세포로부터 cDNA를 제조하는 단계; ac) B 세포로부터의 cDNA를 PCR 증폭하는 단계; ad) PCR 산물을 시퀀싱하는 단계; 및 ae) PCR 산물 중 생식세포 유전자를 식별하는 단계를 더 포함한다. 데이터의 세트 둘 모두는 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍들을 제공했다.

[0098] 다음 단계로서, 처리되지 않은 데이터를 모으고, 분석했고, 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍들은 발현 수준에 따라서 나열되었다. 이러한 양태에서, 본 발명은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자를 식별하는 단계를 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 생산하는 방법을 포함한다.

[0099] 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된 생식세포 유전자 쌍들

[0100] 이런 데이터로부터, 특정 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍들이 인간 면역 레퍼토리에서 다른 것들에 비해 더 자주 보인다는 것은 명백해졌다. 이러한 두드러진 쌍들은 우수한 생물학적 특성을 가질 것으로 기대되었기 때문에, 본 발명의 양태는 인간 면역 레퍼토리에서 두드러진 생식세포 유전자 쌍들로부터 유래된 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러진 생식세포 유전자 쌍들로부터 유래된다. 다른 양태에서, 본 발명은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍들의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 유전자는 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된다.

[0101] 일부 실시예에서, 본 발명은 합성 항체들 또는 이들의 기능성 단편들의 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성된다. 일부 실시예에서, 항체들 또는 이들의 기능성 단편들은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들로 본질적으로 구성되되, 일부 실시예에서, 하나 이상의 CDR은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성된다. 일부 실시예에서, 본 발명은 합성 항체들 또는 이들의 기능성 단편들의 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 생식세포 단백질 서열로 구성된다. 일부 실시예에서, 항체들 또는 이들의 기능성 단편들은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 단백질 쌍들에 의해 암호화된 생식세포 단백질로 구성되되, 일부 실시예에서, 하나 이상의 CDR은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 생식세포 단백질 서열들로 본질적으로 구성된다. 일부 실시예에서, 집합의 항체 또는 이의 기능성 단편의 다수 또는 실질적으로 전부는 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍들의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.

[0102] 일부 실시예에서, 인간 면역 레퍼토리에서 풍부하게 또는 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍은 인간 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.09% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.14%

이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.19% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.23% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.28% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.33% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.37% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.42% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.47% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.51% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.56% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.61% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.66% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.70% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.84% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.89% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 0.94% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 1.03% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 1.12% 이상의 농도, 인간 면역 레퍼토리에서 1.17% 이상의 농도, 또는 인간 면역 레퍼토리에서 1.26% 이상의 농도로 발현된다.

[0103] 본 발명의 추가 양태는 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하기에 유용할 수 있다. 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 적어도 2개의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍들을 갖는 집합을 제조하는 것이 CDR 길이, 및 형태 또는 기본 구조의 다양성 면에서 집합 내에, 특히 집합 중 항체의 상보성 결정 영역 내에 다양성을 제공할 것이라고 생각되었다. 이는 본 발명의 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하는데에 유용하도록 한다. 그러므로, 본 발명의 일부 양태는 인간 면역 레퍼토리 중 두드러지게 발현된 생식세포 단백질 쌍들로부터 선택된 적어도 2개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 3개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 4개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 5개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 6개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 7개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 8개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 9개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 10개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 11개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 12개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 13개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 14개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 15개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 16개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 17개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 18개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 19개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 20개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 21개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 22개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 23개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 24개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 25개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 26개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 27개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 28개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 29개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 30개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 31개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 32개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 33개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 34개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 35개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 36개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 37개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 38개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 39개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 40개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 41개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 42개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 43개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 44개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 45개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 46개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 47개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 48개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 49개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 또는 적어도 50개의 상이한 생식세포 단백질 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 집합을 포함한다.

[0104] 일부 실시예에서, 집합은 표 18에 도시된 생식세포 유전자 쌍들로부터 선택된 하나 이상의 생식세포 단백질을 포함하는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함한다.

[0105] 일부 실시예에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 유전자 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3을 포함하는 가변 중쇄 도메인 및 가변 경쇄 도메인을 포함하며, 상기 생식세포 유전자 쌍은 표 18의 생식세포 유전자 쌍으로부터 선택된다.

[0106] **나이프 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍**

[0107] 특정 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍이 항원 경험 B 세포에 비해 나이브 B 세포(항원 비경험)에서 다르게 발현될 수 있다고 생각할 수 있어서, 데이터는 표본 B 세포의 성장 또는 분화에 기초하여 분석되었다. 나이브 B 세포에서 다르게 발현된 생식세포 유전자 쌍의 생식세포 단백질 쌍을 포함하는 집합은 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 선택하는 데에 이로우 수 있다. 그러므로, 본 발명의 양태는 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍으로부터 유래된 합성 항체 또

는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 일 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍으로부터 유래된다. 다른 양태에서, 본 발명은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍의 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍의 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍의 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍에 의해 암호화된다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍에 의해 암호화된 생식세포 단백질 쌍으로 본질적으로 구성된다. 일부 실시예에서, 본 발명은 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍의 생식세포 단백질 서열로 구성된다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된 생식세포 유전자 쌍에 의해 암호화되는 생식세포 단백질 쌍으로 구성된다. 일부 실시예에서, 집합 중 항체 또는 이의 기능성 단편의 대부분 또는 실질적으로 전부는 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.

[0108] 일부 실시예에서, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 풍부하게 또는 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자 쌍은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.07% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.15% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.22% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.30% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.37% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.45% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.52% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.59% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.67% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.74% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.82% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.89% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 0.97% 이상, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 1.19% 이상, 또는 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 1.56% 이상으로 발현된다.

[0109] 본 발명의 추가 양태는 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하기에 유용할 수 있다. 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된 생식세포 유전자 쌍에 의해 암호화되는 적어도 2개의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍들을 갖는 집합을 제조하는 것이 CDR 길이, 및 형태 또는 기본 구조의 다양성 면에서 집합 내에, 특히 집합 중 항체의 상보성 결정 영역 내에 다양성을 제공할 것이라고 생각되었다. 이는 본 발명의 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하는데에 유용하도록 한다. 그러므로, 본 발명의 일부 양태는 적어도 2개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 3개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 4개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 5개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 6개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 7개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 8개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 9개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 10개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 11개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 12개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 13개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 14개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 15개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 16개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 17개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 18개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 19개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 20개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 21개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 22개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 23개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 24개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 25개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 26개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 27개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 28개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 29개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 30개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 31개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 32개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 33개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 34개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 35개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 36개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 37개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 38개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 39개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 40개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 41개의 상이한 생식세포 단

백질 쌍; 적어도 42개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 43개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 44개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 45개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 46개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 47개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 48개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 적어도 49개의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 또는 적어도 50개의 상이한 생식세포 단백질을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 집합을 포함한다.

[0110] 일부 실시예에서, 집합은 표 19의 생식세포 유전자 쌍들로부터 선택된 하나 이상의 생식세포 단백질을 포함하는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함한다.

[0111] 일부 실시예에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질을 포함하는 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3을 포함하는 가변 중쇄 도메인 및 가변 경쇄 도메인을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 표 19의 생식세포 유전자 쌍으로부터 선택된다.

[0112] 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자

[0113] 다음 단계로서, 인간 면역 레퍼토리에서 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자 발현을 결정하기 위해 모아진 데이터 및 추가적인 데이터를 분석했다. 그러므로, 본 발명의 추가 양태는 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자를 식별하는 단계를 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 생산하는 방법을 포함한다. 이를 행하는 하나의 방식은 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자를 이들의 발현 수준에 기초하여 정렬하는 것이다.

[0114] 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된 생식세포 유전자에 의해 암호화된 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체는 개발 및 환자에 대한 안정성과 효능을 향상시키는 호의적인 생물학적 특성을 가질 것이다. 그러므로, 본 발명의 양태는 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자로부터 유래된 합성 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자로부터 유래된다. 다른 양태에서, 본 발명은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자의 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자의 실질적인 생식세포 단백질을 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자의 생식세포 단백질을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자의 생식세포 단백질을 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자에 의해 암호화된다.

[0115] 일부 실시예에서, 본 발명은 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하여, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자의 생식세포 단백질을 서열로 본질적으로 구성된다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자에 의해 암호화된 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 서열로 본질적으로 구성된다. 일부 실시예에서, 본 발명은 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자의 생식세포 단백질을 서열로 구성된다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자에 의해 암호화된 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 서열로 구성된다. 일부 실시예에서, 집합의 항체 또는 이의 기능성 단편의 대부분 또는 실질적으로 전부는 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현되는 생식세포 유전자에 의해 암호화된 생식세포 단백질을 포함한다.

[0116] 일부 실시예에서, 인간 면역 레퍼토리에 풍부하거나 두드러지게 발현되는 가변 중쇄의 생식세포 유전자는 인간

면역 레퍼토리에서 0.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.2% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.3% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.4% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.5% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.0% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 2.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 2.2% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 2.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 2.7% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 3.0% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 3.2% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 3.3% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 4.0% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 4.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 4.5% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 4.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 5.3% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 5.8% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 6.8% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 7.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 8.0% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 10.6% 이상의 농도로 발현된다.

[0117] 일부 실시예에서, 인간 면역 레퍼토리에 풍부하거나 두드러지게 발현되는 가변 κ 경쇄의 생식세포 유전자는 인간 면역 레퍼토리에서 0.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.2% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.3% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.4% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.5% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.7% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.0% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.3% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.9% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 2.2% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 2.4% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 2.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 4.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 6.0% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 7.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 8.5% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 11.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 11.2% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 14.2% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 16.2% 이상의 농도로 발현된다.

[0118] 일부 실시예에서, 인간 면역 레퍼토리에 풍부하거나 두드러지게 발현되는 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자는 인간 면역 레퍼토리에서 0.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.3% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.5% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 0.6% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.0% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.2% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.5% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 1.7% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 4.5% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 5.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 5.3% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 6.5% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 8.1% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 10.0% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 11.3% 이상, 인간 면역 레퍼토리에서 18.1% 이상의 농도로 발현된다.

[0119] 본 발명의 추가 양태는 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하기에 유용할 수 있다. 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된 하나 이상의 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자를 갖는 집합을 제조하는 것은 집합 내에, 특히 CDR 길이 및 형태나 기본 구조에 다양성을 제공하여 상기 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하는데에 유용하도록 한다고 생각됐다. 본 발명의 실시예는 적어도 2개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 3개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 4개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 5개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 6개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 7개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 8개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 9개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 10개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 11개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 12개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 13개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 14개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 15개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 16개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 17개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 18개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 19개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 20개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 21개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 22개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 23개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 24개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 25개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 26개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 27개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 28개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 29개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 30개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 31개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 32개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 33개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 34개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 35개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 36개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 37개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 38개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 39개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 40개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열;

포함한다.

- [0123] 일부 실시예에서, 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 IGKV3-20; IGKV1-39/1D-39; IGKV1-5; IGKV3-15; IGKV4-1; IGKV3-11; IGKV2-28/2D-28; IGKV1-33/1D-33; IGKV2-30; IGKV1-9; IGKV1-17; IGKV1-27; IGKV1-8; IGKV1-16; IGKV1-6; IGKV1-12; IGKV2D-29; IGKV1-13; IGKV1D-8; 및 IGKV2-24로 구성되는 군으로부터 선택된 하나 이상의 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.
- [0124] 일부 실시예에서, 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 IGLV2-14; IGLV1-40; IGLV1-44; IGLV1-51; IGLV2-23; IGLV3-21; IGLV1-47; IGLV3-1; IGLV2-11; IGLV2-8; IGLV6-57; IGLV3-25; IGLV7-46; IGLV1-36; IGLV7-43; IGLV9-49; IGLV4-69; IGLV2-18; IGLV3-10; 및 IGLV3-27로 구성되는 군으로부터 선택된 하나 이상의 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질을 포함한다.
- [0125] 일부 실시예에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편은 IGHV3-23; IGHV3-30; IGHV4-39; IGHV4-34; IGHV4-59; IGHV1-69; IGHV5-51; IGHV3-7; IGHV1-18; IGHV3-48; IGHV3-15; IGHV3-21; IGHV1-2; IGHV3-33; IGHV4-31; IGHV3-53; IGHV3-11; IGHV3-9; IGHV4-4; IGHV1-46; IGHV3-74; IGHV1-24; IGHV4-61; IGHV1-8; IGHV1-3; IGHV3-49; IGHV3-43; IGHV4-28; IGHV3-64; IGHV7-81; IGKV3-20; IGKV1-39/1D-39; IGKV1-5; IGKV3-15; IGKV4-1; IGKV3-11; IGKV2-28/2D-28; IGKV1-33/1D-33; IGKV2-30; IGKV1-9; IGKV1-17; IGKV1-27; IGKV1-8; IGKV1-16; IGKV1-6; IGKV1-12; IGKV2D-29; IGKV1-13; IGKV1D-8; IGKV2-24; IGLV2-14; IGLV1-40; IGLV1-44; IGLV1-51; IGLV2-23; IGLV3-21; IGLV1-47; IGLV3-1; IGLV2-11; IGLV2-8; IGLV6-57; IGLV3-25; IGLV7-46; IGLV1-36; IGLV7-43; IGLV9-49; IGLV4-69; IGLV2-18; IGLV3-10; 및 IGLV3-27로 구성되는 군으로부터 선택되는 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3을 포함한다.
- [0126] **호의적인 생물학적 특성을 갖는 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자**
- [0127] 다음 단계로서, 개발과 관련하여 두드러진 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열의 생물학적 특성을 확인하기 위하여 이들을 평가했다. 다음 이어지는 특성에 대하여 인실리코에서 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 평가했다: CDR 길이, 등전점(pI), 표준 pH 5.5 내지 pH 7 제제 완충액에서 안정성을 제공하기 때문에 선호되는 등전점은 7.5 이상이며, 상보성 결정 영역(PTM's)(특히, N-결합 글리코실화 부위(NxS 또는 NxT) 또는 화학적 변형 예를 들어, 생체 내에서(혈청 내) 또는 제제 완충액에 저장함에 따라 발생하여 항체 결합의 손실을 가져올 수 있는 Asp 절단(DP에서 종종 발생), Asp 이성질화(DD, DG), 탈아미노화(NS, NG))에서 번역 후 변형, 쌍을 이루지 않은 시스테인의 존재(임의의 다른 쌍을 이루지 않은 시스테인과 이황화 결합을 형성하여 단백질의 가교 결합 및/또는 낮은 발현 수준을 야기할 것임), 생식세포로부터의 편차, 잠재적 T-세포 에피토프의 존재 및 이론상의 응집 경향.
- [0128] 일부 실시예에서, 본 발명은 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 생산하는 방법을 포함하며, 상기 방법은: a) 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 식별하는 단계 및 b) 상기 단계 a)에서 식별된 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자 서열을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하는 단계를 포함하되, 상기 a) 단계는 i) 상보성 결정 영역의 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 하나 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 및 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.
- [0129] 본 발명의 양태는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열로부터 유래되는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 상기 특성을 갖는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열로부터 유래된다.
- [0130] 본 발명의 양태는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열의 실질적인 생식세포 단백질을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단

백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 상기 특성을 갖는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열로부터의 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함한다.

[0131] 본 발명의 양태는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 상기 특성을 갖는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열의 생식세포 단백질을 포함한다.

[0132] 본 발명의 양태는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 쌍을 이루지 않은 시스테인을 포함하지 않는다.

[0133] 본 발명의 양태는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; 상보성 결정 영역에서 3번 이하의 번역 후 변형; 상보성 결정 영역에서 2번 이하의 번역 후 변형; 상보성 결정 영역에서 1번 이하의 번역 후 변형; 또는 상보성 결정 영역에서 번역 후 변형이 없는 것을 포함한다.

[0134] 본 발명의 양태는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 서열로부터 유래된 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 7.5 이상; 8.0 이상; 8.5 이상; 9.0 이상; 9.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.

[0135] 본 발명의 양태는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0136] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 서열을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 적어도 2개의 특성을 포함한다.

[0137] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 서열을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 적어도 4개의 특성을 포함한다.

[0138] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 서열을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 적어도 4개의 특성을 포함한다.

[0139] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질을 서열을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스

테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 적어도 5개의 특성을 포함한다.

[0140] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.

[0141] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성되되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0142] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성되되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0143] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열로 구성되되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0144] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열로 구성되되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0145] 일부 실시예에서, 집합 중 항체 또는 이의 기능성 단편의 대부분 또는 실질적으로 전부는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0146] 일부 실시예는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.

[0147] 일부 실시예는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 i) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인을 갖는 특성을 포함한다.

[0148] 일부 실시예는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 i) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; ii) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프를 갖는 특성을 포함한다.

[0149] 일부 실시예는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 i) 한 개 이

하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; ii) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; 및 iii) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.

[0150] 일부 실시예는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; ii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iii) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; 및 iv) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.

[0151] 본 발명의 추가 양태는 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하기에 유용할 수 있다. 하나 이상의 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자를 갖는 집합을 제조하는 것은 집합 내에, 특히 CDR 길이 및 형태나 기본 구조에 다양성을 제공하여 상기 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하는데에 유용하도록 한다고 생각되었다.

[0152] 본 발명의 실시예는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 집합을 포함하며, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 적어도 2개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 3개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 4개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 5개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 6개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 7개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 8개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 9개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 10개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 11개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 12개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 13개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 14개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 15개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 16개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 17개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 18개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 19개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 20개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.

[0153] 본 발명의 실시예는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 집합을 포함하며, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 적어도 2개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 3개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 4개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 5개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 6개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 7개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 8개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 9개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 10개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 11개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 12개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 13개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 14개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 15개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 16개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 17개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 18개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 19개의 상이한 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 20개의 상이한 가변 κ 경쇄 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.

[0154] 본 발명의 실시예는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 집합을 포함하며, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 적어도 2개의 상이한 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 3개의 상이한 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 4개의 상이한 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 5개의 상이한 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 6개의 상이한 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 7개의 상이한 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열; 적어도 8개의 상이한 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4번 이하의 번역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함한다.

- [0155] 일부 실시예에서, 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 IGHV1-2; IGHV1-18; IGHV1-69; IGHV1-46; IGHV3-7; IGHV3-11; IGHV3-15; IGHV3-21; IGHV3-23; IGHV3-30; IGHV3-33; IGHV3-48; IGHV3-53; IGHV3-73; IGH3-74; IGHV4-4; IGHV4-31; IGHV4-39; IGHV 5-51 및 IGHV6-1로 구성되는 군으로부터 선택된 하나 이상의 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.
- [0156] 일부 실시예에서, 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 IGKV1-5; IGKV1-6; IGKV1-9; IGKV1-12; IGKV1-16; IGKV1-17; IGKV1-27; IGKV1-39; IGKV2-30; IGKV3-11; IGKV3-15; 및 IGKV3-20로 구성되는 군으로부터 선택된 하나 이상의 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.
- [0157] 일부 실시예에서, 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 IGLV1-40; IGLV1-47; IGLV1-51; IGLV2-11; IGLV2-23; IGLV2-14; IGLV3-1 및 IGLV3-21로 구성되는 군으로부터 선택된 하나 이상의 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.
- [0158] 일부 실시예에서, 본 발명은 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하되, 상기 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편은 IGHV1-2; IGHV1-18; IGHV1-69; IGHV1-46; IGHV3-7; IGHV3-11; IGHV3-15; IGHV3-21; IGHV3-23; IGHV3-30; IGHV3-33; IGHV3-48; IGHV3-53; IGHV3-73; IGH3-74; IGHV4-4; IGHV4-31; IGHV4-39; IGHV5-51; IGHV6-1; IGKV1-5; IGKV1-6; IGKV1-9; IGKV1-12; IGKV1-16; IGKV1-17; IGKV1-27; IGKV1-39; IGKV2-30; IGKV3-11; IGKV3-15; IGKV3-20; IGLV1-40; IGLV1-47; IGLV1-51; IGLV2-11; IGLV2-23; IGLV2-14; IGLV3-1 및 IGLV3-21로 구성되는 군으로부터 선택된 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3을 포함한다.
- [0159] **호의적인 생물학적 특성을 갖는 생식세포 유전자 쌍**
- [0160] 다음 단계로서, 인간 면역 레퍼토리에 약 2500 쌍이 있기 때문에 어떤 생식세포 유전자 쌍을 시험할지 결정해야만 한다. 하나의 방법은 인간 면역 레퍼토리에서 가장 두드러지게 발견되는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍을 시험하는 것이다(예, 표 18 참조). 예를 들어, 하나의 방법은 시험을 위한 상위 400 쌍을 선택하거나, 특정 한계점 농도를 초과하여 발현되는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍을 선택할 수 있다. 그러므로, 본 발명의 양태는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 생산하는 방법을 포함하며, 상기 생산하는 단계는 인간 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상의 농도로 발현되는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 식별하는 단계; 식별된 생식세포 단백질 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 제조하는 단계; 및 상기 생식세포 단백질 쌍의 하기 특성을 평가하는 단계를 더 포함하며, 상기 특성은 i) Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab 포맷의 발현 수준; iii) 적어도 45분 동안 60°C 이상 조건에서 Fab 포맷의 열적 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37°C 조건에서 Fab 포맷의 소 혈청 내 안정성; v) IgG 포맷의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37°C 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성에 대한 것이다.
- [0161] 이런 접근법은 많은 수의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍 서열의 합성과 시험을 요구할 것이며; 따라서, 이러한 접근법은 매우 효율적이지 않을 것이다.
- [0162] 다른 접근법으로서, 발명자는 인간 면역 레퍼토리로부터 대부분의 두드러지게 발현된 쌍들을 포함하거나, 정확하게 재생산하거나, 이들을 대표하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 쌍들의 부분집합을 선택했다. 이런 접근법은 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자의 적은 수가 인간 면역 레퍼토리에 지배적으로 있다는 관찰에 일부 기초되었다. Wildt 등의 문헌 895-896 페이지는 이런 현상을 설명한다. Wildt 등의 문헌은 빈번하게 발현된 중쇄 및 경쇄 유전자 분절이 종종 쌍을 이루고, 표본화된 쌍들의 절반만이 5개의 생식세포 쌍들에 일치된다는 것을 관찰했다고 설명하고 있다. 그러므로, 두드러지게 발현된 중쇄 및 경쇄의 생식세포 유전자(쌍을 이루지 않음)의 적은 수는 인간 면역 레퍼토리를 대표하는 쌍들의 군을 형성하도록 결합될 수 있다.
- [0163] 그러므로, 본 발명의 양태는 인간 면역 레퍼토리 또는 나이브 인간 면역 레퍼토리 중 두드러지게 발현된 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍의 대부분을 정확하게 재생산하거나 이를 포함하는 것을 대표하는 생식세포 단백질 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편의 집합을 포함한다. 하기 설명된 바와 같이, 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍이 호의적인 생물학적 특성에 대하여 일차 시험된 후 하나 이상의 이러한 호의적인 생물학적 특성을 포함하는 생식세포 단백질 쌍을 포함하도록 설계되기 때문에, 우리의 접근법은 충분히 개발 가능한 항체 또는 이의 단편을 포함하는 집합을 가져온다.

- [0164] 본 발명의 양태는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 생산하는 방법을 포함하며, 상기 방법은 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍을 식별하는 단계를 포함하되, 상기 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab pMx11_FH VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.
- [0165] 일부 양태에서, 본 발명은 항체 또는 이의 기능성 단편의 조합을 생산하는 방법을 포함하며, 상기 방법은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하는 단계를 포함하며, 상기 하나 이상의 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다. 일부 실시예에서, FR1, FR2 및 FR3 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함한다.
- [0166] 일부 실시예에서, FR1, FR2 및 FR3 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR1 및 CDR 2 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR1 및 CDR2 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, FR4 영역은 JH4 중쇄 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, FR4 영역은 Jκ1 경쇄영역을 포함한다. 일부 실시예에서, FR4 영역은 Jλ2/3 경쇄 영역을 포함한다.
- [0167] 다른 실시예에서, 본 발명은 집합을 제조하는 단계를 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 생산하는 방법을 포함하며, 상기 집합을 제조하는 단계는 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 핵산을 합성하는 단계; 벡터 안으로 핵산을 클로닝하는 단계; 및 항체 또는 이의 기능성 단편을 발현하는 단계를 더 포함한다.
- [0168] 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍으로 이루어진 균을 두드러지게 발현하거나 대표하는 것을 합성하고 시험한 후에, 집합은 호의적인 생물학적 성질을 포함하는 생식세포 단백질 쌍을 포함하도록 설계될 수 있다.
- [0169] 본 발명의 양태는 생식세포 단백질 쌍으로부터 유래된 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 이러한 성질을 갖는 생식세포 단백질 쌍으로부터 유래된다.
- [0170] 본 발명의 양태는 생식세포 단백질 쌍 중 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 이러한 성질을 갖는 생식세포 단백질 쌍의 실질적인 생식세포 단백질 서열을 포함한다.
- [0171] 본 발명의 양태는 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적

표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함하되, 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편 중 하나 이상의 골격 영역 및/또는 상보성 결정 영역은 이러한 성질을 갖는 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.

[0172] 일부 양태에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0173] 일부 실시예에서, 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 골격 영역은 FR1, FR2 및 FR3 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR1 및 CDR2 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, CDR1 및 CDR2 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, FR4 영역은 JH4 중쇄 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, FR4 영역은 J κ 1 경쇄 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, FR4 영역은 J λ 2/3 경쇄 영역을 포함한다.

[0174] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 2개 이상의 특성을 포함한다.

[0175] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 3개 이상의 특성을 포함한다.

[0176] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 4개 이상의 특성을 포함한다.

[0177] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷

에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 5개 이상의 특성을 포함한다.

[0178] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0179] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0180] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0181] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0182] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0183] 일부 실시예에서, 집합 중 항체 또는 이의 기능성 단편의 대부분 또는 실질적으로 전부는 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0184] 일부 양태에서, 집합의 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성 중 하나 이상의 특성을 포함한다.

[0185] 일부 실시예에서, 항체 또는 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로

구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0186] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0187] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; 및 ii) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0188] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; ii) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; 및 iii) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0189] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iii) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; 및 iv) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0190] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; ii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iii) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; iv) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 v) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0191] 다른 실시예에서, 본 발명의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; ii) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; iii) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 iv) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0192] 다른 실시예에서, 본 발명의 집합 및/또는 이러한 집합을 생산하는 방법은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab 포맷에서 대조군에 비해 0.1 이상; 0.2 이상; 0.3 이상; 0.4 이상; 0.5 이상; 0.6 이상; 0.7 이상; 0.8 이상; 0.9 이상; 1.0 이상; 1.1 이상; 1.2 이상; 1.3 이상; 1.4 이상; 1.5 이상; 1.6 이상; 1.7 이상; 1.8 이상; 1.9 이상; 2.0 이상; 2.1 이상; 2.2 이상; 2.3 이상; 2.4 이상; 2.5 이상; 2.6 이상; 2.7 이상; 2.8 이상; 2.9 이상; 3.0 이상; 3.2 이상; 3.3 이상; 3.4 이상; 3.5 이상; 3.6 이상; 3.7 이상; 3.8 이상; 4.1 이상; 4.3 이상; 4.4 이상; 4.5 이상; 4.6 이상; 4.7 이상; 5.0 이상; 5.1 이상; 5.2 이상; 5.4 이상; 5.5 이상; 5.7 이상; 5.9 이상; 6.0 이상; 6.1 이상; 6.3 이상; 6.4 이상; 6.7 이상; 6.9 이상; 7.0 이상; 7.1 이상; 7.2 이상; 7.3 이상; 7.4 이상; 8.1 이상; 8.2 이상; 8.3 이상; 8.4 이상; 8.5 이상; 8.6 이상; 8.7 이상; 8.8 이상; 8.9 이상; 9.1 이상; 9.2 이상; 9.3 이상; 9.4 이상; 9.5 이

상; 9.7 이상; 9.8 이상; 10.0 이상; 10.2 이상; 10.3 이상; 10.5 이상; 10.6 이상; 10.7 이상; 10.8 이상; 11.0 이상; 11.2 이상; 11.3 이상; 11.5 이상; 11.7 이상; 11.8 이상; 12.1 이상; 12.3 이상; 12.4 이상; 12.9 이상; 13.0 이상; 13.6 이상; 14.4 이상; 14.5 이상; 16.1 이상; 16.6 이상; 16.7 이상; 17.1 이상; 19.4 이상; 27.3 이상; 또는 29.0 이상의 상대적 표시율을 포함한다.

[0193] 일부 실시예에서, 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab 표본 중 상위 10% 내의 값; Fab 표본 중 상위 15% 내의 값; Fab 표본 중 상위 20% 내의 값; Fab 표본 중 상위 25% 내의 값; Fab 표본 중 상위 30% 내의 값; Fab 표본 중 상위 35% 내의 값; Fab 표본 중 상위 40% 내의 값; Fab 표본 중 상위 45% 내의 값; Fab 표본 중 상위 50% 내의 값; Fab 표본 중 상위 55% 내의 값; Fab 표본 중 상위 60% 내의 값; Fab 표본 중 상위 65% 내의 값; Fab 표본 중 상위 70% 내의 값; Fab 표본 중 상위 75% 내의 값; Fab 표본 중 상위 80% 내의 값; 또는 Fab 표본 중 상위 90% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율을 포함한다.

[0194] 다른 실시예에서, 본 발명의 집합 및/또는 이러한 집합을 생산하는 방법은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.1 이상의; 0.2 이상의; 0.3 이상의; 0.4 이상의; 0.5 이상의; 0.6 이상의; 0.7 이상의; 0.8 이상의; 0.9 이상의; 1.0 이상의; 1.1 이상의; 1.2 이상의; 1.3 이상의 상대적 발현 수준을 포함한다.

[0195] 다른 실시예에서, 본 발명의 집합 및/또는 이러한 집합을 생산하는 방법은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 생식세포 단백질 쌍은 45분 이상 동안 70℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 열적 안정성 특성을 갖거나; 45분 이상 동안 80℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 열적 안정성 특성을 갖는다.

[0196] 다른 실시예에서, 본 발명의 집합 및/또는 이러한 집합을 생산하는 방법은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 생식세포 단백질 쌍은 MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.1 이상의; 0.2 이상의; 0.3 이상의; 0.4 이상의; 0.5 이상의; 0.6 이상의; 0.7 이상의; 0.8 이상의; 0.9 이상의; 1.0 이상의; 1.1 이상의; 1.2 이상의; 1.3 이상의; 1.4 이상의; 1.5 이상의; 1.6 이상의; 1.7 이상의; 1.8 이상의; 1.9 이상의 상대적 발현 수준을 포함한다.

[0197] 특정 양태에서, 본 발명은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합 및 이를 생산하는 방법 또는 사용하는 방법을 포함하되, 상기 생식세포 단백질 서열은 실질적인 생식세포 서열이거나 생식세포 단백질 서열로부터 유래된 서열이다. 특정 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 CDR1 및 CDR2를 포함한다. 특정 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 CDR1 및 CDR2를 포함한다.

[0198] 일부 양태에서, 하나 이상의 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 양태로서, FR4는 JH4, JK1 및 Jλ2/3으로 구성된 군으로부터 선택된다. 도 45a 내지 47b에서 도시된 바와 같이, 생식세포 단백질 서열은 FR1 내지 FR3만을 포함한다. 그러므로, 특정 양태에서, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역이 생식세포 단백질 서열을 포함하는 경우에, FR1, FR2 및/또는 FR3는 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하여, 하나 이상의 상보성 결정 영역의 다양화를 제공한다. 일부 실시예에서, 본 발명은 다양화된 HCDR3 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합, 및 이를 생산하는 방법 및 이를 만드는 방법을 포함한다. 일부 실시예에서, 본 발명은 다양화된 LCDR3 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합, 및 이를 생산하는 방법 및 이를 사용하는 방법을 포함한다.

[0199] 본 발명에 대한 추가 양태는 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하기에 유용한 집합의 능력이다. 상술한 기능적 특성을 포함하는 적어도 2개의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍을 갖는 집합을 제조하는 것은 CDR 길이 및 형태나 기본 구조에 다양성을 제공한다는 점에서, 집합 내에, 특히 집합 중 항체의 상보성 결정 영역 내에 다양성을 제공할 것이라고 여겨졌다. 이는 본 발명의 집합이 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하는데에 유용하도록 한다.

[0200] 본 발명의 일부 실시예는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 유전자 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, 상기 생식세포 유전자 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함하며, 상기 집합은 2개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 3개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 4개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 5개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 6개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 7개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 8개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 9개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 10개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 11개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 12개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 13개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 14개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 15개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 16개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 17개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 18개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 19개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 20개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 21개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 22개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 23개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 24개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 25개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 26개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 27개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 28개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 29개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 30개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 31개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 32개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 33개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 34개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 35개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 36개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 37개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 38개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 39개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 40개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 41개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 42개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 43개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 44개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 45개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 46개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 47개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 48개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 49개 이상의 상이한 생식세포 단백질 쌍; 또는 50개 이상의 상이한 생식세포 단백질을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함한다.

[0201] 생식세포 유전자 서열을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편

[0202] 부가적으로, 환자에게 투여되는 경우에 생식세포 단백질 서열을 사용하는 것은 항체의 면역원성 위험을 낮출 것으로 생각되었다. 그러므로, 본 발명의 양태는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합, 및 이를 생산하는 방법 및 사용하는 방법을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편의 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 실질적으로 생식세포 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편의 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 서열로부터 유래된다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열, 실질적인 생식세포 서열 또는 생식세포 단백질 서열로부터 유래되는 실질적인 생식세포 서열을 포함하는 FR1, FR2, FR3 및 FR4 영역을 포함한다. 특정 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 대표 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, FR2, FR3을 포함한다. 일부 실시예에서, 사용되는 FR4 영역은 가변 중쇄로서 JH4, 가변 κ 경쇄로서 JK1, 및 가변 λ 경쇄로서 Jλ2/3이다.

[0203] 또, 것은 환자 내로 투여되는 경우에, 생식세포 단백질 서열을 사용하는 항체의 면역원성 위험을 낮출 것이기 때문에, 본 발명의 특정 양태는 생식세포 단백질 서열, 실질적인 생식세포 서열 또는 생식세포 단백질 서열로부터 유래되는 실질적인 생식세포 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합, 및 이의 생산 방법 및 이의 사용 방법을 포함한다. 특정 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 CDR1 및 CDR2를 포함한다. 특정 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 CDR1 및 CDR2를 포함한다.

[0204] 일부 양태에서, 하나 이상의 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 이는 하나 이상의 상보성 결정 영역의 다양화를 제공한다. 일부 실시예에서, 본 발명은 다양화된 HCDR3 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합, 및 이의 생산 방법 및 제조 방법을 포함한다. 일부 실시예에서, 본 발명은 다양화된 LCDR3 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합, 및 이의 생산 방법 및 이의 사용 방법을 포함한다. CDR은 Knappik 등 2000; W097/08320; W02008053275; W02009036379; W02007056441;

W02009114815에서 개시되는 내용을 포함하여 당해 분야에서 잘 알려진 방법에 의해 설계될 수 있으며, 상기 문헌들은 전체가 참조로 본원에 포함된다.

[0205] 부가적으로, 면역원성의 낮은 위험을 갖는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하는 집합을 제조하기 위하여, 특정 양태에서, 본 발명의 집합, 및 이를 생산하는 방법 및 이를 사용하는 방법은 인간 서열을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함한다.

[0206] 일부 양태에서, 본 발명의 집합은 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 1×10^4 이상; 1×10^5 이상; 1×10^6 이상; 1×10^7 이상; 1×10^8 이상; 1×10^9 이상; 1×10^{10} 이상; 1×10^{11} 이상의 핵산 서열 또는 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함한다.

[0207] 일부 양태에서, 집합 중 항체 또는 이의 기능성 단편은 합성한 것이다.

[0208] 일부 양태에서, 집합은 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 핵산을 포함한다.

[0209] 본 발명의 추가 실시예

[0210] 일부 양태에서, 본 발명은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 혈청 내 안정성 특성을 포함하며, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 적어도 2개의 상이한 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 그리고 상기 생식세포 단백질 쌍은 생식세포 유전자 쌍에 의해 암호화된다.

[0211] 일부 실시예에서, 본 발명은 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 본질적으로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0212] 일부 실시예에서, 본 발명은 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열로 구성되며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0213] 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 인간 면역 레퍼토리에 0.05% 이상의 농도로 존재한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 인간 면역 레퍼토리에 0.23% 이상의 농도로 존재한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 나이트 인간 면역 레퍼토리에 0.51% 이상의 농도로 존재한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 나이트 인간 면역 레퍼토리에 0.27% 이상의 농도로 존재한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 나이트 인간 면역 레퍼토리에 0.52% 이상의 농도로 존재한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 나이트 인간 면역 레퍼토리에 0.88% 이상의 농도로 존재한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 인간 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 적어도 17개의 상이한 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.

[0214] 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 JH4, J

$\kappa 1$ 및 J $\lambda 2/3$ 로 구성된 군으로부터 선택된 FR4 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 다양화된 HCDR3 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 다양화된 LCDR3 영역을 포함한다.

[0215] 일부 실시예에서, 집합은 1×10^4 의 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab 표본 중 상위 60% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.6 이상의 발현 수준을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab 포맷으로 45분 이상 동안 70°C 이상 조건에서 열적 안정성을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 단백질 쌍은 MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.6 이상의 발현 수준을 포함한다.

[0216] 일부 실시예에서, 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은IGHV3-23/IGKV1-5; IGHV3-23/IGKV3-20; IGHV4-39/IGKV3-15; IGHV3-23/IGKV3-15; IGHV4-39/IGKV1-39/1D-39; IGHV1-18/IGKV3-20; IGHV3-30/IGKV3-20; IGHV4-39/IGKV1-5; IGHV1-69/IGKV1-39/1D-39; IGHV5-51/IGLV1-40; IGHV4-39/IGKV3-20; IGHV3-23/IGLV2-14; IGHV4-39/IGLV3-21; IGHV3-23/IGKV1-39/1D-39; IGHV3-30/IGKV1-39/1D-39; IGHV1-69/IGKV3-20; IGHV3-48/IGKV3-20; IGHV1-2/IGKV3-20; IGHV3-30/IGKV4-1; IGHV5-51/IGLV2-14; IGHV5-51/IGKV3-20; IGHV3-7/IGKV1-39/1D-39; IGHV3-7/IGKV1-5; IGHV3-15/IGKV3-20; IGHV4-39/IGLV2-14; IGHV3-23/IGKV3-11; IGHV3-30/IGKV1-5; IGHV3-30/IGKV3-15; IGHV3-21/IGKV1-5; IGHV3-21/IGKV3-15; IGHV3-30/IGLV1-51; IGHV3-21/IGLV1-51; 및 IGHV1-69/IGKV3-11로 구성된 군으로부터 선택된 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.

[0217] 일부 실시예에서, 상기 항체의 기능성 단편은 Fab, F(ab')₂, Fab', Fv, 및 scFv로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0218] 일부 양태에서, 본 발명은 개시된 항체의 집합을 암호화하는 핵산의 집합을 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명은 개시된 항체의 집합을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명은 개시된 항체의 집합을 암호화하는 핵산을 포함하는 재조합 숙주 세포를 포함한다. 일부 실시예에서, 재조합 숙주 세포는 원핵생물 또는 진핵생물이다. 일부 실시예에서, 재조합 숙주 세포는 대장균 또는 포유류이다.

[0219] 일부 양태에서, 본 발명은 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 포함하며, 상기 골격 영역은 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 i) 상보성 결정 영역에서 4회 이하의 변역 후 변형; ii) 상보성 결정 영역에 2개 이하의 메티오닌; iii) 한 개 이하의 쌍을 이루지 않은 시스테인; iv) 한 개 이하의 잠재적 T-세포 에피토프; v) 중등도 이하의 응집 경향; 또는 vi) 7.5 이상의 등전점을 갖는 특성을 포함하며, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합은 적어도 2개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 서열은 생식세포 유전자 서열에 의해 암호화된다.

[0220] 일부 실시예에서, 상기 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자 서열은 인간 면역 레퍼토리에 0.5% 이상의 농도로 존재한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 상기 집합은 적어도 5개의 상이한 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 인간 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 가변 중쇄 또는 가변 경쇄의 생식세포 유전자 서열은 인간 면역 레퍼토리에 5.0% 이상의 농도로 존재한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 JH4, J $\kappa 1$ 및 J $\lambda 2/3$ 로 구성된 군으로부터 선택된 FR4 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 다양화된 HCDR3 영역을 더 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 다양화된 LCDR3 영역을 더 포함한다. 일부 실시예에서, 집합은 1×10^4 의 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함한다.

[0221] 일부 실시예에서, 상기 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열은IGHV3-23; IGHV3-30; IGHV4-39; IGHV4-34; IGHV4-59; IGHV1-69; IGHV5-51; IGHV3-7; IGHV1-18; IGHV3-48; IGHV3-15; IGHV3-21; IGHV1-2; IGHV3-33; IGHV4-31; IGHV3-53; IGHV3-11; IGHV3-9; IGHV4-4; IGHV1-46; IGHV3-74; IGHV1-24; IGHV4-61; IGHV1-8; IGHV1-3; IGHV3-49; IGHV3-43; IGHV4-28; IGHV3-64; 및 IGHV7-81로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0222] 일부 실시예에서, 가변 κ 경쇄의 생식세포 단백질 서열은IGKV3-20; IGKV1-39/1D-39; IGKV1-5; IGKV3-15; IGKV4-1; IGKV3-11; IGKV2-28/2D-28; IGKV1-33/1D-33; IGKV2-30; IGKV1-9; IGKV1-17; IGKV1-27; IGKV1-8;

IGKV1-16; IGKV1-6; IGKV1-12; IGKV2D-29; IGKV1-13; IGKV1 D-8; 및 IGKV2-24로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0223] 일부 실시예에서, 가변 λ 경쇄의 생식세포 단백질 서열은 IGLV2-14; IGLV1-40; IGLV1-44; IGLV1-51; IGLV2-23; IGLV3-21; IGLV1-47; IGLV3-1; IGLV2-11; IGLV2-8; IGLV6-57; IGLV3-25; IGLV7-46; IGLV1-36; IGLV7-43; IGLV9-49; IGLV4-69; IGLV2-18; IGLV3-10; 및 IGLV3-27로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0224] 일부 양태에서, 본 발명은 합성 항체 또는 이의 기능성 단편의 개시된 집합을 생산하는 방법을 포함한다. 일부 실시예에서, 생산 단계는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 제조하는 것을 더 포함하되, 상기 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60°C 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37°C에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37°C 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함하며, 그리고 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 상기 집합은 적어도 2개의 상이한 생식세포 단백질 쌍을 포함한다.

[0225] 일부 실시예에서, 생산 단계는 a) 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 포함하는 데이터를 얻는 단계; b) 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍을 식별하는 단계; 및 c) 단계 b)에서 식별된 생식세포 단백질 쌍의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하는 단계를 포함하되, 상기 생식세포 단백질 쌍은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60°C 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37°C에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37°C 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성을 포함한다.

[0226] 일부 실시예에서, 단계 b)는 ba) 인간 면역 레퍼토리에 0.05% 이상의 농도를 보이는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 식별하는 단계; bb) 단계 ba)에서 식별된 생식세포 단백질 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 제조하는 단계; 그리고 bc) 상기 생식세포 단백질 쌍에 대하여 이어지는 특성을 평가하는 단계를 더 포함한다: i) Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab 포맷의 발현 수준; iii) 60°C 이상 조건에서 Fab 포맷의 열적 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37°C에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) IgG 포맷의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37°C 조건에서 IgG 포맷의 소 혈청 내 안정성 특성.

[0227] 일부 실시예에서, 단계 a)는 aa) 표본으로부터 인간 B 세포를 분리하는 단계; ab) B 세포로부터 cDNA를 제조하는 단계; ac) B 세포로부터의 cDNA를 PCR 증폭하는 단계; ad) PCR 산물을 시퀀싱하는 단계; ae) 각각의 PCR 산물 중 생식세포 유전자를 식별하는 단계를 더 포함한다.

[0228] 일부 실시예에서, 집합을 제조하는 단계는 ca) 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 핵산을 합성하는 단계; cb) 핵산을 벡터 안으로 클로닝하는 단계; 및 cc) 항체 또는 이의 기능성 단편을 발현하는 단계를 더 포함한다.

[0229] 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 인간 면역 레퍼토리에 0.05% 이상의 농도를 나타낸다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 인간 면역 레퍼토리에 0.23% 이상의 농도를 나타낸다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 인간 면역 레퍼토리에 0.51% 이상의 농도를 나타낸다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 나이브 인간 면역 레퍼토리에 0.07% 이상의 농도를 나타낸다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 나이브 인간 면역 레퍼토리에 0.52% 이상의 농도를 나타낸다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 유전자 쌍은 나이브 인간 면역 레퍼토리에 0.88% 이상의 농도를 나타낸다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 인간 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 적어도 17개의 상이한 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 하나 이상의 상보성 결정 영역을 포함한다.

[0230] 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 JH4, J κ 1 및 J λ 2/3로 구성된 군으로부터 선택된 FR4 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 기능성 단편은 다양화된 HCDR3 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편은 다양화된 LCDR3 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 집합은 1×10^4 의 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함한다.

- [0231] 일부 실시예에서, 상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab 표본 중 상위 60% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 단백질 쌍은 Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.6 이상의 발현 수준을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 단백질 쌍은 45분 이상 동안 70℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 열적 안정성을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 생식세포 단백질 쌍은 MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.6 이상의 발현 수준을 포함한다.
- [0232] 일부 실시예에서, 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역은 IGHV3-23/IGKV1-5; IGHV3-23/IGKV3-20; IGHV4-39/IGKV3-15; IGHV3-23/IGKV3-15; IGHV4-59/IGKV1-39/1D-39; IGHV4-39/IGKV1-39/1D-39; IGHV4-59/IGKV3-20; IGHV1-18/IGKV3-20; IGHV3-30/IGKV3-20; IGHV4-39/IGKV1-5; IGHV1-69/IGKV1-39/1D-39; IGHV5-51/IGLV1-40; IGHV3-23/IGKV4-1; IGHV4-39/IGKV3-20; IGHV3-23/IGLV2-14; IGHV4-39/IGLV3-21; IGHV3-23/IGKV1-39/1D-39; IGHV3-30/IGKV1-39/1D-39; IGHV3-30/IGKV3-11; IGHV1-69/IGKV3-20; IGHV3-48/IGKV3-20; IGHV1-2/IGKV3-20; IGHV3-30/IGKV4-1; IGHV5-51/IGLV2-14; IGHV4-59/IGKV4-1; IGHV5-51/IGKV3-20; IGHV3-7/IGKV1-39/1D-39; IGHV3-7/IGKV1-5; IGHV3-15/IGKV3-20; IGHV4-39/IGLV2-14; IGHV4-39/IGLV2-8; IGHV3-23/IGKV3-11; IGHV3-30/IGKV1-5; IGHV3-30/IGKV3-15; IGHV3-21/IGKV1-5; IGHV3-21/IGKV3-15; IGHV3-30/IGLV1-51; IGHV3-21/IGLV1-51; IGHV3-53/IGLV1-44; IGHV4-59/IGKV3-15; IGHV5-51/IGKV4-1; IGHV1-69/IGKV4-1; 및 IGHV1-69/IGKV3-1로 구성된 군으로부터 선택된 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다.
- [0233] 일부 양태에서, 상기 항체의 상기 기능성 단편은 Fab, F(ab')₂, Fab', Fv 및 scFv로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0234] 일부 양태에서, 본 발명은 C-말단 제한 부위를 포함하는 신호 또는 선도 서열을 암호화하는 단리된 핵산을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 제한 부위는 NheI이다. 일부 실시예에서, 신호 또는 선도 서열은 phoA 또는 인간 중쇄 선도 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 제한 부위는 NdeI이다. 일부 실시예에서, 신호 서열은 ompA 또는 인간 κ 선도 서열을 포함한다.
- [0235] 일부 양태에서, 본 발명은 C-말단 제한 부위를 포함하는 신호 또는 선도 서열을 암호화하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명은 벡터를 포함하는 숙주 세포를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 숙주 세포는 원핵생물 또는 진핵생물이다. 일부 실시예에서, 상기 숙주 세포는 대장균이다. 일부 실시예에서, 상기 숙주 세포는 포유류의 세포이다.
- [0236] 일부 양태에서, 본 발명은 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3을 포함하는, 단리된 항체 또는 이의 기능성 단편을 포함하되, 상기 생식세포 단백질 쌍은 IGHV3-23/IGKV1-5; IGHV3-23/IGKV3-20; IGHV4-39/IGKV3-15; IGHV3-23/IGKV3-15; IGHV4-39/IGKV1-39/1D-39; IGHV1-18/IGKV3-20; IGHV3-30/IGKV3-20; IGHV4-39/IGKV1-5; IGHV1-69/IGKV1-39/1D-39; IGHV5-51/IGLV1-40; IGHV4-39/IGKV3-20; IGHV3-23/IGLV2-14; IGHV4-39/IGLV3-21; IGHV3-23/IGKV1-39/1D-39; IGHV3-30/IGKV1-39/1D-39; IGHV1-69/IGKV3-20; IGHV3-48/IGKV3-20; IGHV1-2/IGKV3-20; IGHV3-30/IGKV4-1; IGHV5-51/IGLV2-14; IGHV5-51/IGKV3-20; IGHV3-7/IGKV1-39/1D-39; IGHV3-7/IGKV1-5; IGHV3-15/IGKV3-20; IGHV4-39/IGLV2-14; IGHV3-23/IGKV3-11; IGHV3-30/IGKV1-5; IGHV3-30/IGKV3-15; IGHV3-21/IGKV1-5; IGHV3-21/IGKV3-15; IGHV3-30/IGLV1-51; IGHV3-21/IGLV1-51; 및 IGHV1-69/I로 구성된 군으로부터 선택된다.
- [0237] 일 양태에서, 본원은 생식세포 서열, 특히 FR1을 포함하는 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체의 집합을 설명한다. 환자에게 투여되는 경우에, 생식세포 골격 영역을 갖는 것이 항체의 면역원성 위험을 낮출 것이라고 예상된다. 그러나, 제한 부위는 표시 및/또는 발현 벡터 안으로 항체의 집합을 암호화하는 핵산을 표준 클로닝 하여 항체가 면역원에 대하여 확인될 수 있도록 하기 위하여 사용되어야만 한다. 과거에는, 클로닝을 위해 사용된 제한 부위는 골격 영역 내에 종종 위치되었고, 따라서 생식세포에서 떠나서 핵산 서열을 변형했다. 본 공개문헌 중 항체 각각의 골격 1(FR1) 영역만큼은 생식세포 서열을 유지하도록 하기 위하여, FR1 내에 비-자연 발생 제한 부위가 없어야 할 것이다. 그러므로, 본원의 양태는 원핵생물의 신호 서열 및 인간 선도 서열의 C-말단 내에, 특히 3개의 C-말단 잔기 내에 제한 부위의 합입(incorporation)이다. 또한, 제한 부위를 포함하는 신호 서열 및 선도 서열은 기능성이어야만 하고, 원핵생물 및 포유류의 발현 시스템 모두에서 항체 또는 이의 단편의 훌륭한 표시 및 발현 수준을 제공해야한다.
- [0238] 일부 양태에서, 본 발명은 C-말단 제한 부위를 포함하는 신호 또는 선도 서열을 암호화하는 단리된 핵산을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 제한 부위는 NheI 또는 NdeI이다. 일부 실시예에서, 상기 신호 또는 선도 서열은 phoA 또는 인간 중쇄 선도 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 신호 또는 선도 서열은 ompA 또는 인간 κ 선도 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명은 C-말단 제한 부위를 포함하는 신호 또는 선도 서열을 암

호화하는 단리된 핵산을 포함하는 벡터를 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명은 C-말단 제한 부위를 포함하는 신호 도는 선도 서열을 암호화하는 단리된 핵산을 포함하는 숙주 세포 또는 C-말단 제한 부위를 포함하는 신호 도는 선도 서열을 암호화하는 단리된 핵산을 포함하는 벡터를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 숙주 세포는 원핵생물, 예를 들어 대장균이거나 진핵생물, 예를 들어 포유류의 세포이다.

[0239] 본원은 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 가장 일반적인 VH 및 VL류 쌍이 높은 안정성 및 낮은 면역원성과 같은 바람직한 특징을 가질 것이라는 사상을 최초로 개시한다. 또한, 본원은 집합 설계 및 유전자 합성법을 사용하여 이러한 집합의 제조에 최초로 상기 사상을 포함한다. 본원은 나이브 및 항원-경험 인간 면역 레퍼토리 중의 VH 및 VL류 쌍을 식별하여, 가장 일반적인 VH 및 VL류 쌍을 결정 한 후에, 이러한 VH 및 VL류 쌍을 포함하는 집합을 제조하는 방법을 제공한다. 더 구체적으로, 본원의 집합은 높은 다양성의 CDR을 갖는 가장 일반적이고/일반적이거나 바람직한 VH 및 VL류 쌍을 포함한다. 이런 계획은, 집합이 특정 항원에 대하여 안정하고 낮은 면역 원성을 가지고 높은 친화성을 가지는 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 단편을 포함할 확률을 높인다. 결과는, 집합이 치료상의 또는 진단상의 목적으로 사용될 수 있는 임의의 면역원에 대항하는 높은 효능의 항체 또는 이의 단편을 포함할 확률을 극적으로 상승시켰다.

[0240] 따라서, 인간 숙주로부터의 나이브 B 세포에서 얻은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산 서열(또는 이의 선택된 부분)은 시퀀싱될 수 있다. 이러한 시퀀싱 데이터로부터, 면역 레퍼토리에서 보여진 생식세포 과(family) 가변 중쇄 및 가변 경쇄 류 쌍은 식별될 수 있다. 출현율(prevalence) 및/또는 호의적인 생물학적 특성과 같은 특정 기준에 따라서, 중쇄 및 경쇄 류 쌍은 집합 안으로의 합입을 위해 선택된다. 이후에, 집합은 유전자 합성 법에 의해 합성될 수 있다. 일부 실시예에서, 합성 집합은 실질적인 생식세포 가변 중쇄 골격 영역 및 가변 경쇄 골격 영역을 포함하며, 여기서 CDR은 다양화되거나, 또는 가변 중쇄 및/또는 가변 경쇄 중 하나의 CDR만이 다양화된다.

[0241] "주형"으로서, 인간 숙주의 나이브 B 세포로부터 얻은 DNA 서열을 사용함에 있어서, 본원은 가장 일반적인 가변 중쇄 및 가변 경쇄 쌍을 식별하는 방법을 제공한다. 일단, 상대적으로 풍부한 VH 및 VL류 쌍이 밝혀지면, 가장 일반적이고/일반적이거나 바람직한 VH 및 VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편의 고도 다양화 집합이 제조 될 수 있다. 이런 정보를 사용하여, 통상의 기술자는 가장 일반적이고/일반적이거나 바람직한 VH 및 VL류 쌍 조합에 기인하는 가장 중요한 이점을 희생시키지 않고 높은 정도의 다양성을 제조할 수 있다. 본원 이전에, 누구도 가장 일반적이고/일반적이거나 바람직한 VH 및 VL류 쌍을 밝혀내지 못했고, 또 누구도 지식을 라이브러리 제조 기술 안에 저장하여 이용하려는 시도를 하지 않았다. 그러므로, 이런 접근법은 나이브 인간 면역 시스템을 나타내는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 종합적인 집합을 제공한다.

[0242] 본원에서 개시된 집합 설계 및 표시 방법을 활용하여, 큰 다양성을 갖는 집합이 제조될 수 있되, 일부 실시예에서는 1×10^{10} 의 구성원으로 이루어진 집합을 포함한다.

[0243] 일부 양태에서, 본원은 핵산으로 이루어진 개시된 집합을 포함하는 벡터 및 숙주 세포를 제공한다.

[0244] 일부 양태에서, 본원은 이러한 집합을 생산하는 방법을 제공한다.

[0245] 일부 실시예에서, 인간 면역 레퍼토리를 나타내는 나이브 DNA 서열은 별개의 단계에서 얻어지고, 데이터베이스에 저장되고; 따라서, 집합 설계는 인 실리코에서 손쉽게 변형되고, 최적화되고, 맞춤형이 될 수 있어, 합성 라이브러리에서 일반적으로 실현될 수 있는 맞춤화(customization)의 수준을 달성하게 한다.

[0246] 일부 양태에서, 본원은 개시된 집합을 사용하여 항체 또는 이의 단편을 식별하는 방법을 제공한다.

[0247] 일부 양태에서, 본 발명은 면역 레퍼토리에서 풍부하고/풍부하거나 바람직한 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 집합 또는 라이브러리에 관한 것이다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편으로 암호화된 핵산은 생식세포, 실질적인 생식세포 또는 이의 코돈-최적화된 변이체이다. 이러한 집합 또는 라이브러리는 유리한 생물학적 특성을 갖는 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자를 포함할 수 있되, 상기 이로인 생물학적 특성은 파지상에 높은 표시; 대장균에서 Fab 포맷의 높은 발현; 포유류 세포에서 IgG 포맷의 높은 발현; 높은 열적 안정성; 혈청 안정성; 낮은 응집 경향(즉, 높은 용해도); 및 면역원성 낮은 위험을 포함한다. 일부 실시예에서, 집합 또는 라이브러리는 나이브 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자를 포함할 수 있다. 관련 실시예는 이러한 집합을 만드는 방법 및 사용하는 방법을 포함한다.

[0248] 일부 양태에서, 본 발명은 면역 레퍼토리에서 풍부하고/풍부하거나 바람직한 VH/VL류 쌍과 함께 면역 레퍼토리

에서 풍부하고/풍부하거나 바람직한 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 집합 또는 라이브러리에 관한 것이다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산은 생식세포, 실질적인 생식세포, 또는 이의 코돈-최적화된 변이체이다. 이러한 집합 또는 라이브러리는 이로온 생물학적 특성을 갖는 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자 및/또는 VH/VL류 쌍에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함할 수 있되, 상기 이로온 생물학적 특성은 과지상에 높은 표시; 대장균에서 Fab 포맷의 높은 발현; 포유류 세포에서 IgG 포맷의 높은 발현; 높은 열적 안정성; 혈청 안정성; 낮은 응집 경향(즉, 높은 용해도); 및 면역원성의 낮은 위험을 포함한다. 일부 실시예에서, 집합 또는 라이브러리는 나이브 인간 면역 레퍼토리에 존재하는 VH 및 VL생식세포 과 및/또는 유전자 및/또는 VH/VL류 쌍에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함할 수 있다. 관련 실시예는 이러한 집합을 만드는 방법 및 사용하는 방법을 포함한다.

[0249] 따라서, 본 발명은 면역 레퍼토리를 실질적으로 나타내는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 포함하며, 상기 항체 또는 이의 단편 각각은 VH/VL류 쌍을 포함하며, 상기 면역 레퍼토리를 실질적으로 나타내는 것은 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍의 농도를 보이는 VH/VL류 쌍이다. 면역 레퍼토리는 개별적 또는 집단의 것일 수 있고, 나이브일 수 있다. 이러한 면역 레퍼토리는 예를 들어, 개인으로부터의 1×10^5 이상의 B 세포로 이루어진 VH/VL류 쌍; 개인들의 집단으로부터의 1×10^5 이상의 B 세포로 이루어진 VH/VL류 쌍; 또는 1×10^5 항체에 존재하는 VH/VL류 쌍으로 결정될 수 있다. 면역 레퍼토리는 나이브 B 세포 또는 항원 경험 B 세포로 이루어진 것일 수 있다. 개인 또는 집단은 인간일 수 있다. 면역 레퍼토리는 공개적으로 사용가능한 데이터베이스 및/또는 문헌을 분석하여 결정될 수 있다.

[0250] 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산은 유전자 합성에 의해 제조되는 것과 같은 합성물이다. 관련 실시예에서, 핵산은 생식세포 서열; 실질적인 생식세포 서열; 또는 생식세포 또는 실질적인 생식세포 서열의 코돈 최적화된 변이체이다. 일부 실시예에서, CDR 중 적어도 하나는 고도로 다양화된다.

[0251] 일부 실시예에서, 본원의 집합은 항체 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 VH 및 VL 모두의 FR1, FR2 및 FR3은 바람직한 특징을 갖는 VH 및 VL류 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 가장 바람직하게, 본원의 집합은 항체 또는 이의 단편을 포함하며, 여기서 VH 및 VL 모두의 FR1, FR2 및 FR3은 바람직한 특징을 갖는 VH 및 VL류 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하며, VH 및 VL 모두의 CDR3은 고도로 다양화된다.

[0252] 관련 실시예에서, 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 상기 핵산의 집합은 벡터 안으로 클로닝된다. 적합한 벡터는 당해 분야에 알려져 있으며, 이러한 벡터는 과지 표시 벡터와 같은 표시 벡터, 플라스미드 벡터, 과지플라스미드 벡터, 세균 또는 포유류 발현 벡터를 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 추가 관련 실시예에서, 집합 또는 벡터 안으로 클로닝된 집합은 숙주 세포로 형질전환된다. 따라서, 본 발명은 숙주 세포의 집합을 포함한다. 적합한 숙주 세포는 원핵생물 숙주 세포(예, 대장균) 및 진핵생물 숙주 세포(예, 포유류의 숙주 세포)를 포함한다.

[0253] 또 다른 실시예에서, 본 발명은 약 1345개의 나이브 인간 B 세포 또는 판독 가능한 매체에 기록된 공개적으로 사용가능한 서열로부터의 VH/VL류 쌍을 포함하는 데이터베이스이다.

[0254] 또한, 본 발명은 면역 레퍼토리를 실질적으로 나타내는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 생산하는 방법을 포함한다. 면역 레퍼토리는 나이브 B 세포 또는 인간이나 인간들의 항원 경험 B 세포의 것일 수 있다. 이러한 방법은 (a) 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍의 농도를 나타내는 VH/VL류 쌍을 식별하는 단계; (b) 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍의 농도를 나타내는 VH/VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계를 포함할 수 있다.

[0255] 상기 식별하는 단계는 다른 방식으로 수행될 수 있다. 예를 들어, VH/VL류 쌍을 식별하는 단계는 하나 이상의 인간 숙주로부터 나이브 B-세포를 분리하고, VH/VL류 쌍을 암호화하는 DNA, mRNA 또는 cDNA를 분리하고 시퀀싱하거나 VH 및 VL에 특이적인 하나 이상의 핵산 프로브로 프로빙(probing)하여 각각의 B-세포에서 VH/VL류 쌍을 결정한 후에, VH/VL류 쌍을 분석하는 것을 포함할 수 있다. 대안적인 또는 상보적인 실시예에서, VH/VL류 쌍은 항체 서열의 데이터베이스와 같은 이전에 존재하던 데이터베이스로부터 결정될 수 있다. 대안적인 또는 상보적인 실시예에서, VH/VL류 쌍은 문헌으로부터 식별될 수 있다. 따라서, 일 실시예에서, 본 발명은 항체 핵산 서열(이전에 존재하거나 새로이 제조된 것 중 어느 하나)을 얻는 단계, VH/VL류 쌍을 서열 정렬하여 결정하는 단계, 및 면역 레퍼토리에 존재하는 VH/VL류 쌍을 식별하기 위해 앞선 단계에서 결정된 VH/VL류 쌍으로부터의 서

열을 대조하는 단계를 포함한다.

- [0256] 일부 실시예에서, 방법은 대부분의 구성원이 항체 도는 이의 단편(과지 상의 또는 세포로부터의)의 생산 및 발현을 가능하게 하는 호의적인 생물학적 특성을 갖는 집합을 만들기 위해 사용되어, 가용성, 열역학적으로 안정한 항체를 생산한다. 구체적으로, 이러한 특성은 (i) 과지 상에 유효하게 표시되는 특성; (ii) 포유류 세포 상에 유효하게 표시되는 특성; (iii) 대장균에서 Fab 포맷의 우수한 발현 특성; (iv) 포유류 세포에서 IgG 포맷의 우수한 발현 특성; (v) 열적 안정성; (vi) 용해성; 및 (vii) 낮은 면역원성을 갖는 특성을 포함한다. 이러한 특성 중 일부 또는 전부를 갖는 VH/VL류 쌍을 결정함으로써, 이들 중 하나는 대부분의 구성원이 예를 들어, 단지 이러한 핵산을 상기 특성과 합성함으로써 이러한 생물학적 특성을 갖는 집합을 구성할 수 있다. 따라서, 본 발명은 이러한 집합 및 이를 만드는 방법을 포함한다.
- [0257] 일부 실시예에서, 합성된 핵산은 생식세포, 실질적인 생식세포, 또는 이의 코돈-최적화된 변이체이다. 변이체는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR) 안에 도입될 수 있다. 임의의 CDR은 적절하며, 특히 CDR3가 그러하다. 바람직하게, CDR에 첨가된 서열 변이체는 프레임마다 서열이 한정되고, 시스테인 및 정지 코돈이 없어서, 라이브러리의 모든 구성원이 올바르게 발현되는 것을 보장한다.
- [0258] 일단 핵산이 합성되면, 상기 핵산은 벡터 안에 클로닝될 수 있고(예, 표시 벡터, 과지 표시 벡터; 과지플라스미드 벡터; 또는 포유류 발현 벡터), 숙주 세포로 형질전환될 수 있다. 적합한 숙주 세포는 원핵생물 숙주 세포(예, 대장균) 및 진핵생물 숙주 세포(예, 포유류 숙주 세포)를 포함한다.
- [0259] 추가 실시예에서, 본 발명은 면역원에 특이적인 항체를 식별하는 방법을 제공한다. 일 실시예에서, 이러한 방법은 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍의 농도를 나타내는 VH/VL류 쌍을 식별하는 단계; 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍의 농도를 나타내는 VH/VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계; 상기 집합으로부터 항체 또는 이의 단편을 표시하거나 발현하는 단계; 특정 면역원에 대항하는 집합을 검사하는 단계; 및 상기 면역원에 특이적인 적어도 하나의 항체 또는 이의 단편을 선택하는 단계를 포함할 수 있다. 본 발명의 방법 및 집합이 호의적인 생물학적 특성에 따라 구성될 수 있기 때문에, 본 발명은 이러한 호의적인 특성을 갖는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 만든 후 상기 면역원에 결합하는 항체를 식별하기 위해 특정 면역원에 대하여 검사함으로써, 질병 또는 질환을 치료하기 위한 항체 또는 이의 항체 단편을 식별하는데에 특히 유용하다.
- [0260] 일부 양태에서, 본 발명은 VH/VL 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편의 집합 또는 라이브러리에 관한 것이다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편의 집합 또는 라이브러리는 면역 레퍼토리에 풍부한 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 본 발명은 특정 호의적인 생물학적 특징을 갖는 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체 또는 이의 단편의 집합 또는 라이브러리에 관한 것이다. 일부 실시예에서, VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자는 면역 레퍼토리에서 자연적으로 발생하는 것이며, 레퍼토리에서 그 중에서 더 풍부하거나 더 일반적인 것이다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편의 집합 또는 라이브러리는 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편의 집합 또는 라이브러리는 생식세포, 실질적인 생식세포, 또는 코돈-최적화된 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자로부터의 골격 영역 및/또는 CDR 영역을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편의 집합 또는 라이브러리는 유전자 합성에 의해 만들어진 합성물인 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편의 집합 또는 라이브러리는 유전자 합성에 의해 만들어진 합성물인 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자의 일부분을 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편의 집합 또는 라이브러리는 검사 단계 및 항체의 추가적인 개발, 특히 치료상의 맥락에 도움을 주는 호의적인 생물학적 특성을 갖는 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함한다. 상기 호의적인 생물학적 특성은 (i) 과지 상에서 Fab 포맷의 우수한 표시, (ii) 포유류 세포 상에 IgG 포맷의 우수한 표시, (iii) 예를 들어, 대장균에서 Fab 포맷의 많은 양의 발현 및 예를 들어, 포유류 세포에서 IgG 포맷의 많은 양의 발현, (iv) 열역학적 안정성; (v) 높은 열적 안정성, (vi) 낮은 응집 경향(즉, 높은 용해성); 및 (vii) 면역원성의 적은 위험을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0261] 다른 양태에서, 본원의 집합은 바람직한 VH 및 VL류 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 포함한다. 본원의 집합은 항체 또는 이의 단편을 바람직하게 포함하며, 여기서 하나 이상의 골격 영역은 바람직한 특징을 갖는 VH 및 VL류 쌍에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함하며, 특히 VH 및 VL 모두의 FR1, FR2 및 FR3은 바람직한 특징을 갖는 VH 및 VL류 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함한다. CDR은 고도로 다

양화될 수 있다. 바람직하게, VH 및 VL 모두의 CDR3은 고도로 다양화된다. 일부 실시예에서, VH 및/또는 VL의 CDR1 및 CDR2는 생식세포 또는 실질적인 생식세포 서열이다.

[0262] 이 계획은, 집합에 존재하는 대부분의 항체 또는 이의 단편이 상술한 바람직한 특징을 갖는 VH 및 VL 쌍의 생식세포 서열을 포함하기 때문에, 본원의 집합이 치료적 사용을 위해 개발될 수 있는 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 단편을 포함할 수 있는 확률을 높인다. 또한, 선택된 항체는 특정 항원에 대하여 낮은 면역원성 및 고 친화성을 가질 것이다. 결과는 개시된 집합으로부터 선택되는 항체 또는 이의 단편이 임의의 면역원에 대하여 매우 효과적이고 치료상의 또는 진단상의 목적을 위해 개발될 수 있는 확률을 극적으로 상승시켰다.

[0263] 이러한 집합은 선행 기술의 많은 문제점을 극복한다. 예를 들어, B 세포로부터 유래된 동족 라이브러리에서, 상기 라이브러리에 존재하는 VH 및 VL류 쌍은 표본에 존재하는 상기 VH 및 VL류 쌍에 의존한다. 만일 B 세포의 충분한 표본을 얻었다면, 거의 50개의 VH 및 50 개의 VL 류 쌍 조합(약 2500개) 각각이 존재할 것이다. 너무 많은 VH 및 VL류 쌍의 존재는 바탕 노이즈(noise)로 유추될 수 있다. 이것은 가장 일반적인 VH 및 VL류 쌍만을 포함하는 많은 다양성을 갖는 라이브러리를 제조하는데 필요할 수 있지만, 동족 라이브러리 접근법에 있어서는 다양성을 갖는 라이브러리의 제조가 불가능하다.

[0264] 게다가, 일부 실시예에서, DNA 서열에 기초된 집합은 항원 비-경험 나이브 B-세포의 표본으로부터 얻어지므로, 발현된 구성원은 특정 면역원에 편중되지 않고, 집합은 임의의 면역원에 대하여 검사하기 위해 사용될 수 있다.

[0265] 따라서, 인간 숙주로부터의 나이브(항원 비-경험) B-세포로부터 얻은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산 서열(또는 이의 선택된 일부분)은 시퀀싱될 수 있다. 이러한 서열 데이터로부터, 면역 레퍼토리에서 두드러지게 나타난 생식세포 과 가변 중쇄 및 가변 경쇄 류 쌍은 식별될 수 있다. 출현율과 같은 특정 기준에 따라서, 중쇄 및 경쇄 류 쌍은 집합 안으로의 합입을 위해 선택된다. 이후에, 집합은 유전자 합성에 의해 합성될 수 있다. 일부 실시예에서, 합성 집합은 실질적으로 생식세포 VH 및 VL 골격 영역을 포함하며, 상기 CDR은 다양화된다.

[0266] 예를 들어, "주형"으로서, 인간 숙주 또는 공개적으로 사용가능한 데이터베이스로부터의 문헌 또는 나이브(항원 비-경험) B-세포로부터 얻은 DNA 서열을 사용하여, 본 공개 문헌은 가장 일반적인 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 VH 및 VL 생식세포 유전자 및/또는 VH 및 VL 생식세포 류 쌍을 식별하는 방법을 제공한다. 일단, VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 VH 및 VL 생식세포 유전자 및/또는 VH 및 VL 생식세포 류 쌍이 밝혀지면, VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 VH 및 VL 생식세포 유전자 및/또는 VH 및 VL 생식세포 류 쌍에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체 또는 이의 단편은 이어지는 바람직한 특징에 대하여 시험될 수 있다: (i) 파지 상에서 Fab 포맷의 우수한 표시, (ii) Fab 포맷과 IgG 포맷의 많은 양 및 가용 형태로의 발현, 및 (iii) 열역학적 안정성. 가장 일반적인 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 VH 및 VL 생식세포 유전자 및/또는 VH 및 VL 생식세포 류 쌍에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 시험함으로써, 바람직한 특징들을 갖는 것들은 식별될 수 있다. 이런 정보를 사용하여, 통상의 기술자는 가장 일반적인 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 VH 및 VL 생식세포 유전자 및/또는 VH 및 VL 생식세포 류 쌍 조합에 기인하는 가장 중요한 이점을 희생시키지 않고 높은 정도의 다양성을 제조할 수 있다.

[0267] 본원에 개시된 집합 설계 및 표시 방법을 활용하여, 고도 다양성 집합을 제조할 수 있되, 일부 실시예는 1×10^{10} 의 구성원으로 이루어진 집합을 포함한다.

[0268] 본원은 일반적으로 가장 바람직한 특징을 갖는 VH 및 VL 류 쌍을 포함하는 합성 항체 집합에 관한 것이다. 일부 실시예에서, 집합은 VH 및 VL 류 쌍에 의해 표시되는 VH 및 VL 과에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함한다.

[0269] 본원은 일반적으로 바람직한 특징을 갖는 하나 이상의 VH 및 VL 류 쌍을 포함하는 합성 항체 집합에 관한 것이다. 일부 양태에서, 집합은 VH 및 VL 류 쌍에 의해 표시되는 VH 및 VL 과에 의해 암호화된 생식세포 단백질 서열을 포함한다.

[0270] 일부 양태에서, 본원은 면역 레퍼토리에서 가장 일반적인 VH 및 VL 생식세포 유전자를 식별하고, 바람직한 특징을 갖는 VH 및 VL 생식세포 유전자를 식별하기 위해 가장 일반적인 VH 및 VL 생식세포 유전자의 서열을 갖는 항체를 시험 한 후, 바람직한 VH 및 VL 류를 포함하는 집합을 제조하는 방법을 제공한다. 본원은 나이브일 수 있는 인간 면역 레퍼토리에서 VH 및 VL 류 쌍을 식별하고, 가장 일반적인 VH 및 VL류 쌍을 결정하고, 바람직한 특징을 갖는 VH 및 VL류 쌍을 식별하기 위해 VH 및 VL류 쌍을 시험한 후, 바람직한 VH 및 VL 생식세포 유전자로부터 유래된 바람직한 VH 및 VL류 쌍 및/또는 항체를 포함하는 집합을 제조하는 방법을 제공한다. 일단, VH 및

VL의 및/또는 VH 및 VL 류 쌍이 식별되면, 이들 각각의 생식세포 서열이 식별되어 생식세포 서열이 집합 설계 안으로 포함될 수 있다.

[0271] 일부 양태에서, 본원은 핵산으로 이루어진 개시된 집합을 포함하는 벡터 및 숙주 세포를 제공한다.

[0272] 일부 양태에서, 본원은 이런 집합을 생산하는 방법을 제공한다.

[0273] 일부 실시예에서, 인간 면역 레퍼토리를 나타내는 DNA 서열은 개별 단계에서 얻어지고, 데이터베이스에 저장되며; 따라서, 집합 설계는 인 실리코에서 손쉽게 변형되고, 최적화되고, 맞춤형이 될 수 있어, 합성 라이브러리에서 일반적으로 실현될 수 있는 맞춤화의 수준을 달성하게 한다.

[0274] 일부 양태에서, 본원은 개시된 집합을 사용하여 항체 또는 이의 단편을 식별하는 방법을 제공한다.

[0275] 방법, 핵산, 단백질, 벡터, 숙주 세포

[0276] 일 양태에서, 본원은 유전자 합성법에 의해 생산된 핵산의 집합을 제공한다. 유전자 합성 기술은 최근에 들어서 상당히 발전해왔고, 핵산으로 이루어진 매우 많은 집합들이 제조될 수 있다. 이어지는 기업들은 이러한 합성 서비스를 제공한다: Entelechon (레겐스부르크, 독일), Geneart (레겐스부르크, 독일) 및 Sloning Biotechnology (푸크하임, 독일). 유전자 합성 기업이 집합을 생산하기 위하여, 집합의 구성원 각각의 서열이 제공될 수 있다.

[0277] 일부 실시예에서, 본원은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 합성 핵산의 집합을 제공하되, 상기 항체 또는 이의 단편은 1×10^5 이상의 B 세포의 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍이 0.05% 이상의 농도로 존재하는 VH 및 VL류 쌍을 포함한다. 다른 실시예에서, 본원의 집합은 1×10^5 이상의 B 세포의 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍이 1% 이상의 농도로 존재하는 VH 및 VL류 쌍을 포함한다. 다른 실시예에서, 본원의 집합은 1×10^5 이상의 B 세포의 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍이 1.5% 이상의 농도로 존재하는 VH 및 VL류 쌍을 포함한다. 다른 실시예에서, 본원의 집합은 1×10^5 이상의 B 세포의 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍이 2% 이상의 농도로 존재하는 VH 및 VL류 쌍을 포함한다. 다른 실시예에서, 본원의 집합은 1×10^5 이상의 B 세포의 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍이 3% 이상의 농도로 존재하는 VH 및 VL류 쌍을 포함한다. 다른 실시예에서, 본 공개 문헌의 집합은 1×10^5 이상의 B 세포의 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍이 4% 이상의 농도로 존재하는 VH 및 VL류 쌍을 포함한다. 다른 실시예에서, 본원의 집합은 1×10^5 이상의 B 세포의 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍이 5% 이상의 농도로 존재하는 VH 및 VL류 쌍을 포함한다.

[0278] 일부 실시예에서, 본원은 집합을 제공하며, 여기서 VH 및 VL류 쌍은 인간 숙주로부터 단리된 B 세포로부터 식별된다. 일부 실시예에서, B 세포는 나이브이다. 일부 실시예에서, 핵산의 집합은 생식세포 중쇄 및 경쇄 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화한다. 바람직한 실시예에서, 핵산의 집합은 다양화된 CDR을 갖는 생식세포 중쇄 및 경쇄 골격 영역을 포함하도록 합성된다. 생식세포 골격 영역은 생식세포 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 단편으로 충분하며, 이는 면역성이 아닐 것이다.

[0279] 본원에서 개시된 집합 설계 및 표시 방법을 활용하여, 고도 다양성 집합을 제조할 수 있되, 일부 실시예에서는 1×10^4 이상의 핵산 서열로 이루어진 집합을 포함하며, 일부 실시예에서는 1×10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} 또는 10^{12} 이상의 핵산 서열로 이루어진 집합을 포함한다. 이러한 다양성은 다양화된 CDR을 갖는 일반적인 VH 및 VL류 쌍을 포함하는, 구성원을 포함하는 집합을 합성함으로써 제조된다.

[0280] 본원의 집합은 면역 레퍼토리를 실질적으로 나타내는 서열 데이터로 설계된다. 일부 실시예에서, 서열 데이터는 공개적으로 사용가능한 면역글로불린 서열 목록을 검색해봄으로써 얻어진다. 예를 들어, NCBI는 Ig-Blast를 사용하여 검색될 수 있거나 공개적으로 사용가능한 문헌은 검색될 수 있다. 2005년 현재의 데이터베이스는 25,000개 이상의 재배열된 인간 항체 서열을 FASTA 포맷으로 함유했다. 총 22,500개 중의, 13,235개는 VH 서열을 나타내고, 1,506은 Vκ 서열을 나타내고, 2,259는 Vλ 서열을 나타냈다. VH, Vκ 및 Vλ 서열은 이들 각각의 생식세포 과 및/또는 유전자에 따라 분류될 수 있다. Ig-Blast 중 일부가 모든 항체 서열을 포함하기 때문에, VH 및 VL 도메인 류 쌍 각각의 정확한 생식세포 과 및/또는 유전자는 상기 데이터베이스 서열로부터 결정될 수 있다. 만일 이런 접근법이 사용된다면, 일반적인 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자 각각, 및/또는 VH

및 VL 도메인 류 쌍들 각각의 생식세포 과 및/또는 유전자는 당해 분야의 통상의 기술자에 의해 손쉽게 결정될 수 있다. 어떤 VH 및 VL의 및/또는 VH 및 VL 류 쌍이 라이브러리에 포함될지에 대한 선택은 다수의 방식으로 이루어질 수 있다. 일부 실시예에서, 가장 높은 출현율을 갖는 VH 및 VL은 집합 또는 라이브러리에 포함하기 위하여 선택된다. 일부 실시예에서, 호의적인 생물학적 특성을 갖는 VH 및 VL은 집합 또는 라이브러리에 합입하기 위하여 선택된다. 일부 실시예에서, 가장 높은 출현율을 갖는 VH 및 VL 류 쌍은 집합 또는 라이브러리에 합입하기 위하여 선택된다. 일부 실시예에서, 호의적인 생물학적 특성을 갖는 VH 및 VL 류 쌍은 집합 또는 라이브러리에 합입하기 위하여 선택된다. 일부 실시예에서, 가장 높은 출현율 및/또는 호의적인 생물학적 특성을 갖는 VH 및 VL 둘 모두, 및/또는 가장 높은 출현율을 갖는 VH 및 VL 류 쌍, 및/또는 호의적인 생물학적 특성을 갖는 VH 및 VL 류 쌍은 집합 또는 라이브러리에 합입하기 위하여 선택된다.

[0281] 이런 접근법의 문제점 중 하나는 공개적으로 사용가능한 데이터베이스가 특정 면역원에 대하여 제조된 항체의 서열들로 종종 채워져 있어서, 서열들이 한쪽에 치중된다는 것이다. 또한, 대부분의 데이터베이스에서 중쇄 및 경쇄의 서열이 결합되어 있지 않아서, VH 및 VL 류 쌍을 식별할 수 없다는 것이다.

[0282] 일부 실시예에서, 핵산 서열은 하나 이상의 숙주로부터 B-세포를 채취함으로써; B-세포로부터 DNA를 단리하여 DNA를 바람직하게 시퀀싱하여 얻어진다. 바람직하게, B-세포는 나이브이다. B-세포의 표본은 하나 이상의 인간 기증자로부터 채취된다. 이어지는 기술은 B-세포를 단리하기 위해 사용될 수 있다. 휴면(resting) B 림프구(B 세포)는 항-CD43 및 항-Mac-1/CD11b 단일클론 항체를 갖는 다른 세포 유형에 대하여 음성 선택을 사용하여, 예를 들어 자기 미세구슬을 통해 비장으로부터 단리된다. 이런 계획은 비장세포의 혼합 집단으로부터 비-B-세포를 감소시키고, 휴면 비장 B 세포는 제외하고 대부분의 성숙한 백혈구가 CD43(사실, CD43의 발현은 미성숙 B 세포, 원형질 세포, 일부 성숙한 세포 상에서 보여졌으며, 그 밖에도, 과립구, 단핵구, 대식세포, 혈 소판, 자연 살해(NK) 세포, 흉선세포, 및 말초 CD8+ 및 대부분의 CD4+ T 세포 상에서 보였음)을 발현한다는 사실에 의존한다. 항-Mac-1/CD11b 미세 구슬(microbead)은 골수 세포의 제거를 개선하기 위한 음성 선택에 포함된다. B-세포 단리는 AutoMACS 자동화 자기 구슬 세포 분류기(Miltenyi Biotec)를 사용하여 자동화될 수 있다. B220+ 세포의 형광 분석에 의한 평가에 따라, 이러한 단리는 일상적으로 비장 당 약 4×10^7 의 B 세포를 95% 초과하는 순도로 수득한다(Miltenyi S, Muller W, Weichel W, 및 Radbruch A. (1990) Cytometry 11(2), 231-238 참고).

[0283] 채취된 많은 수의 B 세포는 면역 레퍼토리를 실질적으로 나타낸다. 일부 실시예에서, 1×10^4 이상의 B 세포는 숙주로부터 단리되며, 바람직하게는 1×10^5 이상의 B 세포, 더 바람직하게는 1×10^6 이상의 B 세포, 가장 바람직하게는 1×10^7 이상의 B 세포는 숙주로부터 단리된다.

[0284] B 세포 각각으로부터의 항체 및 이의 단편을 암호화하는 DNA는 단리되고, 증폭된다(예를 들어, 중쇄 및 경쇄는 PCR 반응에 의해 결합됨). DNA는 시퀀싱되는 것이 바람직하다. 시퀀싱된 DNA는 B 세포 mRNA로부터 제조된 cDNA일 수 있다. B 세포와 같은 진행 세포로부터 mRNA 추출은 잘 알려진 기술이다. 다양한 프로토콜이 존재하고, 구입가능한 키트를 이용할 수 있다. 예를 들어, PolyAtract® mRNA 단리 시스템 (Promega, Madison, WI, 미국) 또는 다양한 RNeasy 및 Oligotex DirectmRNA 키트 (Qiagen, Hilden 둘 모두로부터 제조됨, 독일). 수많은 이런 기술들은 진행생물의 mRNA 중 polyA 꼬리의 사용, 예를 들어 올리고(dT) 셀룰로오스와 같은 올리고(dT) 매트릭스에 대한 친화성 정제를 통해 이를 가능하게 한다.

[0285] cDNA는 특정 프라이머를 사용하여 단리된 mRNA로부터 역 전하를 통해 선택적으로 증폭된 후에, 종래의 PCR을 진행할 수 있다. 특정 프라이머는 가변 중쇄 및 경쇄 도메인 핵산을 증폭하기 위해 사용된다(*Cancer Surv.* 1997;30:21-44, *J Clin. Pathol.* 1994;47:493-6, *J. Clin. Pathol.* 1990;43:888-90 또는 *Mol. Pathol.* 2002 April; 55(2): 98-101 참조).

[0286] 하나의 B 세포로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 도메인 둘 모두에 대해 코딩하는 DNA는 함께 유지되어, 가변 도메인 중쇄 및 가변 류 쌍은 식별될 수 있다. 개인의 B 세포로부터의 가변 도메인 쌍을 암호화하는 핵산의 단리를 위한 기술은 당해 분야에 잘 알려져 있다(예를 들어, W001/92291; W092/15678; W093/03151, W02005/042774; Mullinax RL 등, 1992 *Biotechniques* 12:6 864-868; Chapal, N. 등, 1997 *Biotechniques* 23, 518-524, , Embleton MJ 등, 1992 *Nucleic Acids Res.* 20:15, 3831-3837; Coronella, J.A. 등, 2000 *Nucleic Acids Res.* 28:20, E85; Thirion S 등, 1996 *European Journal of Cancer Prevention* 5:6 507-511; 및 Wang, X 등, 2000 *J. Immunol. Methods* 20, 217-225 참조).

[0287] 이러한 기술은 홀로 사용되거나 다른 방법들과 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 만일 많은 표본 중 가변 중쇄

및 경쇄 도메인 서열이 이들 각각의 B 세포로부터 함께 성공적으로 식별되지 않는다면, 이후의 방법은 올바른 가변 중쇄 및 가변 경쇄 도메인 류 쌍을 식별하기 위해 종료될 수 있다. 개인의 B 세포 각각의 단일-세포 PCR 은 종료된다.

[0288] 바람직하게, 각각의 B 세포로부터의 DNA는 시퀀싱된다. Helicos Biosciences Corporation(Cambridge, MA, 미국)과 같은 전체 게놈들을 시퀀싱할 수 있는 다양한 기업들이 존재한다. 이의 True Singl Molecule Sequencing™ 기술에 있어서, Helicos는 DNA 또는 RNA의 단일 분자를 높은 속도 및 효율로 직접적으로 시퀀싱할 수 있다. 유사한 시퀀싱 시도를 수행할 수 있는 다른 기업들로는 Illumina(San Diego, CA, 미국; Solexa 시스템) 및 Roche(Basel, CH; 454 시스템)을 포함한다. 시퀀싱 이전에 클로닝 단계는 필요하지 않다.

[0289] 또 다른 양태에서, 본원은 면역 레퍼토리에 존재하는 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 쌍의 생식세포 과를 식별하는 방법을 제공한다. 모든 항체 또는 이의 기능성 단편은 당해 분야의 통상의 기술자에게 알려진 방법을 사용하여 생식세포 과의 기원을 조사할 수 있다. 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 서열을 분석함으로써, VH 및 VL 둘 모두의 생식세포 과는 당해 분야에 통상의 기술자에게 알려진 방법에 의해 결정될 수 있다. 예를 들어, Wildt 등(1999)은 3명의 환자로부터 B 세포를 표본화했고, 365개의 VH 및 VL류 쌍을 식별했다. B 세포 각각으로부터의 RNA는 cDNA 합성을 위해 사용됐고, VH 및 VL 영역을 암호화하는 상기 cDNA는 PCR 증폭되었고, 시퀀싱되었다. Wildt의 도 1에서 도시되는 바와 같이, VH 및 VL류는 다른 것들보다 더 빈번히 쌍을 이루었다(예를 들어, V_κ3-1, V_κ3-19, V_κ4-1, VA2-3, 또는 V_λ1-2와 함께 VH3-8, 및 V_κ3-1, V_κ3-3 또는 V_λ1-5와 함께 VH3-9).

[0290] 또 다른 양태에서, 본원은 집합을 합성하기 이전에 다양화된 상보성 결정 영역을 설계하는 방법을 제공한다. CDR은 당해 분야에서 잘 알려진 방법에 의해 설계될 수 있다(Knappik 등 2000; WO 97/08320를 포함).

[0291] 또 다른 양태에서, 본원은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합에 포함하기를 희망하는 가변 도메인 류 쌍을 선택하는 방법을 제공한다. 일부 실시예에서, 핵산의 집합은 합성되고, 개시된 방법에 의해 식별된 VH 및 VL 도메인 류 쌍 모두를 포함한다.

[0292] 또한, VH 및 VL 류 쌍의 출현율은 다양한 통계학적 시험에 의해 결정될 수 있다. 이의 가장 쉬운 형태에서, 개인의 VH 및 VL류 쌍의 수는 간단하게 셀 수 있다. 더 세련된 통계학적 시험은 다양한 다른 파라미터를 고려할 수 있다. 제한되지 않는 실시예의 방식에 의해, 이어지는 통계학적 시험 및 기준은 하기의 분석 또는 유사한 분석에서 이루어지는 다양한 접근법의 예로서 보여질 수 있다: Bayesian Shrinkage Estimation (예, Biometrics 59 (2003): 476-486 참조), DADA (Digital Analysis of cDNA Abundance, 예, BMC Genomics 2002, 3:7 참조), 선형 모형(linear modeling) (Pacific Symposium on Biocomputing, 1999, 4:41-52) 및 다양한 클러스터링 방법 (BMC Bioinformatics 2006, 7:397, Fourth IEEE International Conference on Data Mining (ICDM'04), pp. 403-406).

[0293] 다른 양태에서, 본원은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 포함하는 벡터의 집합을 제공한다. 일부 실시예에서, 상기 벡터는 발현 벡터, 표시 벡터, 하지 표시 벡터, 또는 파지플라스미드 벡터를 포함한다.

[0294] 진핵생물 발현 벡터는 당해 분야에서 잘 알려지고 상업적으로 이용가능하다. 일반적으로, 이런 벡터들은 소정의 DNA의 삽입을 위한 편리한 제한 부위를 함유하는 벡터로 제공된다. 이러한 벡터의 예는 pSVL 및 pKSV-10, pBPV-1/PML2d 및 pTDT1(ATCC, No. 31255)를 포함한다.

[0295] 다른 양태에서, 본원은 개시된 벡터의 집합으로 형질전환된 숙주세포의 집합을 제공한다. 숙주 세포는 원핵생물 또는 진핵생물 중 어느 하나 일 수 있다. 세균 세포는 원핵생물 숙주 세포로 바람직하고, 일반적으로 대장균 균주이며, 예를 들어, Bethesda Research Laboratories, Inc.(Bethesda, Md)로부터 제공되는 대장균 균주 DH5이다. 바람직한 진핵생물 숙주 세포는 효모 및 포유류 세포를 포함하되, 상기 포유류 세포는 쥐과 및 설치류, 바람직하게는 마우스, 랫트, 원숭이 또는 인간 세포주로부터 유래된 것과 같은 척추동물의 세포를 포함한다.

[0296] 숙주 세포 안으로 벡터의 도입은 당해 분야에 알려진 다수의 형질전환 또는 형질주입에 의해 달성될 수 있으며, 이러한 방법은 인산 칼슘 침전법, 전기천공법, 미세주입법, 리포솜 융합법, RBC 고스트 융합법(ghost fusion), 원형질체 융합법, 바이러스 감염법 등을 포함한다. 단일클론 전체-길이 항체, Fab 단편, Fv 단편 및 scFv 단편의 생산은 잘 알려져 있다.

[0297] 적절한 세포 숙주를 제조할 DNA 분자로 형질전환하는 것은 일반적으로 사용된 벡터의 유형에 따른 방법에 의해

달성된다. 원핵생물 숙주 세포의 형질전환과 관련하여 문헌[Cohen 등, Proceedings National Academy of Science, USA, Vol. 69, P.2110 (1972)]; 및 문헌[Maniatis 등, Molecular Cloning, a Laboratory Manual, Cold spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. (1982)을 참조하라. 척추동물 세포를 rDNA를 함유하는 레트로바이러스 벡터로 형질전환하는 것은 문헌[Sorge 등, Mol. Cell. Biol., 4:1730-1737 (1984)]; 문헌[Graham 등, Virol., 52:456 (1973)]; 및 문헌[Wigler 등, Proceedings National Academy of Sciences, USA, Vol. 76, P.1373-1376 (1979)]를 참조하라.

[0298] 또 다른 양태에서, 본원은 1 x 10⁵ 이상의 나이브 인간 B 세포의 표본에 존재하는 핵산을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산을 도식하는 서열 데이터를 포함하는, 키트, 또는 데이터베이스를 제공하며, 상기 서열 데이터는 판독가능한 매체에 기록된다.

[0299] 또 다른 양태에서, 본원은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 합성 핵산의 집합을 생산하는 방법을 제공하며, 상기 생산하는 방법은 약 2500개의 B 세포의 표본에 존재하는 0.05% 이상의 농도의 VH 및 VL류 쌍을 보이는 VH 및 VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 본원은 면역 레퍼토리를 실질적으로 나타내는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 생산하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 (a) 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍 농도를 보이는 VH/VL류 쌍을 식별하는 단계; (b) 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍 농도를 보이는 VH/VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, VH/VL류 쌍을 식별하는 단계는 (i) 하나 이상의 인간 숙주로부터 B-세포를 분리하는 단계; (ii) B-세포 각각에서 (A) VH/VL류 쌍을 암호화하는 DNA, mRNA 또는 cDNA를 분리하고 시퀀싱하는 단계; 또는 (B) VH 및 VL 각각에 특이적인 하나 이상의 핵산 프로브로 프로빙하는 단계에서 선택되는 공정에 의해 VH/VL류 쌍을 결정하는 단계; 및 (iii) VH/VL류 쌍을 분석하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, VH/VL류 쌍을 식별하는 단계는 (i) 항체 핵산 서열을 얻는 단계; (ii) 서열을 시퀀싱하여 VH/VL류 쌍을 결정하는 단계; (iii) 면역 레퍼토리에 존재하는 VH/VL류 쌍을 식별하기 위하여 적어도 100개 이상의 항체로부터의 서열을 대조하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 방법은 (i) 파지 상에서 유효한 표시; (ii) 포유류 세포 상에서 유효한 표시; (iii) 대장균에서 Fab 포맷의 우수한 발현; (iv) 포유류 세포에서 IgG 포맷의 우수한 발현; (v) 열적 안정성; (vi) 용해성; 및 (vii) 낮은 면역원성으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 생물학적 특성을 보이는 VH/VL류 쌍을 선택하는 단계; 및 상기 생물학적 특성 중 적어도 하나의 생물학적 특성을 보이는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합은 생식세포, 실질적인 생식세포, 또는 생식세포 핵산의 코돈-최적화된 변이체이다. 일부 실시예에서, VH/VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 동안에, 서열 변이체는 적어도 하나의 상보성 결정 영역(CDR) 안으로 도입된다. 일부 실시예에서, 서열 변이체는 정지 코돈이 없는 서열로 제한된다. 일부 실시예에서, 방법은 벡터 안으로 핵산의 집합을 클로닝하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 벡터는 (i) 표시 벡터; (ii) 파지 표시 벡터; (iii) 파지플라스미드 벡터; (iv) 포유류 발현 벡터로 구성된 군으로부터 선택된다. 일부 실시예에서, 방법은 숙주 세포로 형질전환 하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 (i) 원핵생물 숙주 세포; (ii) 진핵생물 숙주 세포; (iii) 대장균 숙주 세포; 및 (iv) 포유류 숙주 세포로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0300] 일부 실시예에서, 벡터의 집합 안으로 상기 핵산을 삽입하고 숙주 세포로 형질전환/형질주입되고 항체 또는 이의 단편을 표시하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 벡터는 발현 벡터, 표시 벡터, 예를 들어 파지플라스미드 벡터이다. 일부 실시예에서, 적합한 숙주 세포 안으로 상기 벡터를 형질 주입하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 대장균과 같은 원핵생물이거나, 포유류와 같은 진핵생물이다.

[0301] 또 다른 양태에서, 본원은 면역원에 특이적인 항체 또는 이의 항체 단편을 식별하는 방법을 제공하되, 상기 방법은 약 2500개의 B 세포 표본에 존재하는 0.05% 이상 농도의 VH 및 VL류 쌍을 보이는 VH 및 VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계; 특정 면역원에 대하여 집합을 검사하는 단계; 상기 면역원에 특이적인 하나 이상의 항체 또는 이의 단편을 선택하는 단계를 포함한다. 일부 실시예는, 면역원에 특이적인 항체 또는 이의 항체 단편을 식별하는 방법을 포함하되, 상기 식별 방법은 (a) 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍 농도를 보이는 VH/VL류 쌍을 식별하는 단계; (b) 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍 농도를 보이는 VH/VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계; (c) 상기 집합으로부터 항체 또는 이의 단편을 표시하거나 발현시키는 단계; (d) 특정 면역원에 대하여 상기 집합을 검사하는 단계; 및 (e) 상기 면역원에 특이적인 적어도 하나의 항체 또는 이의 단편을 선택하는 단계를 포함한다. 일부 실시예는 질병 또는 질환 치료용 항체 또

는 이의 항체 단편을 식별하는 방법을 포함하되, 상기 방법은 (a) 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍 농도를 보이는 VH/VL류 쌍을 식별하는 단계; (b) (i) 파지 상에서 유효한 표시; (ii) 포유류 세포 상에서 유효한 표시; (iii) 대장균에서 Fab 포맷의 우수한 발현; (iv) 포유류 세포에서 IgG 포맷의 우수한 발현; (v) 열적 안정성; (vi) 용해성; 및 (vii) 낮은 면역원성으로 구성된 군으로부터 선택된 적어도 하나의 생물학적 특성을 보이는 VH/VL류 쌍을 식별하는 단계; (c) 면역 레퍼토리에서 0.05% 이상, 1% 이상 또는 2% 이상의 VH/VL류 쌍 농도를 보이는 VH/VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하고 (i)-(vii) 중 적어도 하나의 생물학적 특성을 표시하는 단계; (d) 상기 집합으로부터 항체 또는 이의 단편을 표시하거나 발현시키는 단계; (e) 질병 또는 질환과 관련된 특정 면역원에 대하여 상기 집합을 검사하는 단계; 및 (f) 상기 면역원에 특이적인 적어도 하나의 항체 또는 이의 단편을 선택하는 단계를 포함한다.

[0302] 일부 실시예에서, B 세포는 인간 숙주로부터 단리된다. 일부 실시예에서, B 세포는 나이브이다. 일부 실시예에서, 약 1 x 2500개 이상의 B 세포 중 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍은 하나 이상의 인간 숙주로부터 나이브 B-세포를 채취하는 단계; 채취된 B-세포로부터 DNA를 단리하는 단계; 및 단리된 DNA를 분석하는 단계를 포함하는 방법에 의해 식별된다. 일부 실시예에서, DNA를 분석하는 단계는 DNA를 시퀀싱하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, DNA를 분석하는 단계는 VH 및 VL류 쌍 각각이 표본에 존재하는 빈도를 식별하는 단계를 더 포함한다.

[0303] 일부 실시예는 벡터의 집합 안으로 상기 핵산을 삽입하여 숙주 세포로 형질전환/형질주입하는 단계, 및 항체 또는 이의 단편을 표시하는 단계를 더 포함한다.

[0304] 또 다른 양태에서, 본원은 면역원에 특이적인 항체 또는 이의 항체 단편을 식별하는 방법을 제공하되, 상기 방법은 약 2500개 이상의 B 세포 표본에 존재하는 0.05% 이상의 VH 및 VL류 쌍 농도를 보이는 VH 및 VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계; 특정 면역원에 대하여 상기 집합을 검사하는 단계; 및 상기 면역원에 특이적인 하나 이상의 항체 또는 이의 단편을 선택하는 단계를 포함한다.

[0305] 일부 실시예에서, B 세포는 인간 숙주로부터 단리된다. 일부 실시예에서, B 세포는 나이브이다. 일부 실시예에서, 약 2500개 이상의 B 세포 표본 중의 VH 및 VL류 쌍은 하나 이상의 숙주 세포로부터 B-세포를 채취하는 단계; 채취된 B-세포로부터 DNA를 단리하는 단계; 및 단리된 DNA를 분석하는 단계를 포함하는 방법에 의해 식별된다. 일부 실시예에서, DNA를 분석하는 단계는 DNA를 시퀀싱하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, DNA를 분석하는 단계는 VH 및 VL류 쌍 각각이 표본에 존재하는 빈도를 식별하는 단계를 더 포함한다.

[0306] 일부 실시예에서, 집합은 파지, 효모, 리보솜, 세균 또는 진핵생물 표시를 이용하여 시험/검사하기 전에 표시된다. 일부 실시예에서, 집합은 Fab 또는 IgG 포맷으로 표시되거나 당해 분야의 통상의 기술자에게 알려진 다른 포맷으로 표시된다.

[0307] 검사는 파지-표시, 선택적 감염 파지, 결합 검사를 위한 폴리솜 기술, 및 효소의 활성 또는 단백질 안정성에 대한 분석 시스템과 같은 당해 분야에 잘 알려진 방법 중 하나의 방법을 사용하여 수행될 수 있다. 많은 이러한 방법은 통상의 기술자에게 알려져 있으며, 참조 문헌은 이하에 제공된다: Valle RP, Curr. Opin. Drug Discov. Devel. 2003 Mar; 6(2):197-203; Ackermann BL Expert Rev. Proteomics. 2007 Apr; 4(2):175-86; 및 Anderson KS J Proteome Res. 2005 Jul-Aug; 4(4):1123-33.

[0308] 일부 실시예에서, 검사 분석은 항체에 의한 결합이 직접적이거나 간접적으로 검출가능한 신호를 생산하도록 수행된다. 예를 들어, 이러한 신호는 착물의 생산, 촉매 반응 산물의 형성, 에너지의 방출 또는 흡수 등을 포함한다. 예를 들어, 본 재조합 DNA로 형질전환을 겪는 집단으로부터의 세포는 단일클론 군집을 생산하도록 클로닝될 수 있다. 이러한 군집으로부터의 세포는 채취되어 용해될 수 있고, 이들의 DNA 함량은 당해 분야에 알려진 방법, 예를 들어 문헌[Southern, J. Mol. Biol., 98:503 (1975)] 또는 문헌[Berent 등, Biotech. 3:208 (1985)]에서 설명된 방법을 사용하여 재조합 DNA의 존재에 대하여 조사될 수 있다.

[0309] 생물학적 특성

[0310] 또한, 본 발명은 요구되는 생물학적 특성을 갖는 VH/VL류 쌍으로 이루어진 집합 및 이러한 집합을 만드는 방법을 포함한다. 호의적이고 요구되는 생물학적 특성은 높은 안정성, 높은 발현 수준 및 낮은 응집 경향을 포함한다.

[0311] 적합한 생물학적 특성은 다른 단계에서 집합의 사용을 가능하게 한다. 예를 들어, 항체 또는 이의 단편이 가용

성이고 응집되지 않으면 집합의 검사는 가능하고, 파지와 같은 검사 바탕에서 우수하게 발현된다. 동물 시험 및 임상적 사용을 위한 항체의 차후 개발은 항체 용해성, 열 안정성, 높은 수준의 발현(특히 포유류 세포의 IgG), 및 낮은 면역원성과 같은 특성에 의해 가능해 진다.

[0312] 항체 또는 이의 단편 모두 또는 적어도 대부분이 이러한 호의적인 생물학적 특성을 갖도록 하기 위하여, VH/VL 류 쌍은 어떤 류 쌍이 어떤 특성을 나타내는지 식별하기 위하여 사전에 검사될 수 있다. 이후에, 라이브러리 는 이러한 호의적인 생물학적 특성을 갖는 항체만을 암호화하는 핵산을 합성함으로써 만들어진다.

[0313] 물론, 모든 VH/VL류 쌍이 모든 생물학적 특성을 동일한 정도로 보이지 않을 것이고, 통상의 기술자는 어떤 성질이 더 적절하고/적절하거나 어떤 VH/VL류 쌍을 합성할 것인지를 결정하기 이전에 특성 각각의 균형을 결정할 것이다.

[0314] 따라서, 본 발명의 특정 양태는 VH/VL 조합에 대해 선택된 합성 항체 라이브러리를 제공하며, 이는 파지의 표면 상에서 또는 다른 표시 기술에서 유효하게 표시된다. 바람직하게, 모든, 필수적으로 모든 또는 실질적으로 모든 VH/VL 조합이 유효하게 표시된다. 표시의 효율은 본 발명에서 설명되는 바와 같이 샌드위치 파지 ELISA에 의해 측정될 수 있다.

[0315] 다른 양태에서, 본 발명은 대장균에서 Fab 포맷으로 우수하게 발현되는 VH-VL 조합에 대해 선택된 합성 항체 라이브러리를 제공한다. 바람직하게, 모든, 필수적으로 모든 또는 실질적으로 모든 VH/VL 조합은 대장균에서 Fab 포맷으로 우수하게 발현된다. 대장균에서 Fab 포맷의 발현은 수량화할 수 있고, 이는 세균 배양에서 2 mg/L을 초과하고, 5 mg/L을 초과하고, 10 mg/L을 초과하고, 15 mg/L을 초과하는 것이 바람직하다. 특정 양태에서, 모든 VH-VL은 세균 배양에서 2 mg/L를 초과하여 발현되며, 필수적으로 모든 VH-VL 조합은 5 mg/L를 초과하여 발현되며, 대부분의 VH-VL조합은 10 mg/L를 초과하여 발현되고/발현되거나 2개 이상, 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상의 VH-VL 조합은 세균 배양에서 15 mg/L를 초과하여 발현된다.

[0316] 본 발명은 특정 양태에서 포유류 시스템에서 IgG 포맷으로 우수하게 발현된 VH-VL 조합에 대해 선택된 합성 항체 라이브러리를 제공한다. 현재 시장에서 판매되는 대부분의 항체-기반 치료상의 생물학적 제제는 IgG 포맷이며, 그 이유는 (i) IgG와 신생아 수용체(FcRn)의 상호작용에 의한 인간 신체 내에서 IgG 분자의 반감기가 매우 긴 것(약 3주); (ii) IgG 분자가 매우 가용성이고 열역학적으로 안정하고 혈액 내 프로테아제에 대하여 상대적으로 저항력이 있다는 것; 및 (iii) IgG가 종양 세포의 제거에 필요한 ADCC(항체-의존 세포-매개 세포독성) 및/또는 CDC(보체 의존적 세포독성)활성을 지닌다는 것이다. 특정 VL/VH-조합의 Fab 포맷으로의 발현은 동일한 VL/VH-조합의 IgG 포맷으로의 발현과 필수적 연관성이 있는 것은 아니기 때문에, VL/VH 조합의 IgG 포맷으로의 발현 및 용해성 또한 중요한 독립적인 인자이다.

[0317] 포유류 시스템은 예를 들어, 포유류의 현탁 배양 조직, 포유류의 부착세포 배양조직, HKB11 세포, PERC.6 세포 또는 CHO 세포를 포함할 수 있다. 바람직하게 모든, 필수적으로 모든 또는 실질적으로 모든 VH/VL 조합은 포유류 시스템에서 IgG 포맷으로 우수하게 발현된다. 특정 양태에서, 본 발명은 합성 인간 항체 라이브러리를 제공하며, 모든 VH-VL 조합은 포유류 시스템에서 IgG 포맷으로 10 mg/L를 초과하여 발현되며, 필수적으로 모든 VH-VL 조합은 포유류 시스템에서 IgG 포맷으로 15 mg/L를 초과하여 발현되며; 대부분의 VH-VL 조합은 포유류 시스템에서 IgG 포맷으로 20 mg/L를 초과하여 발현되며; 및/또는 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상의 VH-VL 조합은 포유류 시스템에서 IgG 포맷으로 25 mg/L를 초과하여 발현된다.

[0318] 특정 양태에서, 본 발명은 열적으로 안정한 VH/VL 조합에 대해 선택된 합성 항체 라이브러리를 제공한다. 바람직하게 모든, 필수적으로 모든 또는 실질적으로 모든 조합은 68℃ 이상, 70℃ 이상, 72℃ 이상, 74℃ 이상, 76℃ 이상의 온도에서 열적으로 안정하다. 열적 안정성은 본원에서 설명된 바와 같이 측정될 수 있다. 특정 양태에서, 본 발명은 합성 인간 항체 라이브러리를 제공하며, 필수적으로 모든 VH-VL 조합은 68℃를 초과하는 온도에서 열적 안정성을 가지며; 필수적으로 모든 VH-VL 조합은 70℃, 또는 72℃를 초과하는 온도에서 열적 안정성을 가지며; 대부분의 VH-VL 조합은 74℃를 초과하는 온도에서 열적 안정성을 가지며; 및/또는 많은 VH-VL 조합은 76℃를 초과하는 온도에서 열적 안정성을 가진다. 특정 양태에서, 3개 이상, 4개 이상 또는 5개 이상의 VH-VL 조합은 70℃를 초과하는 온도에서 열적 안정성을 가진다.

[0319] 특정 양태에서, 본 발명은 가용성, 즉 응집하려는 경향을 보이지 않는 VH-VL 조합에 대해 선택되는 합성 항체 라이브러리를 제공한다. 용해성은 분석용 사이즈 배제 크로마토그래피에 의해 결정되는 바와 같이 예를 들어, 세균 숙주에서 시험된 Fab 또는 진핵생물 숙주에서 IgG1의 호의적인 폴딩(folding) 및 발현 특징 또는 정제 후의 응집에 의해 결정될 수 있다.

- [0320] 낮은 면역원성은 당해 분야에 알려진 방법에 의해 직접적으로 예측되거나 시험될 수 있지만, 주어진 VH/VL류 쌍이 레퍼토리에 가장 풍부하고 사용된 단백질 서열이 실질적으로 생식세포 단백질 서열이라는 사실에 의해 추론될 수도 있다.
- [0321] 본원에서 설명되는 바와 같이, 항체 서열 데이터는 B-세포, 예를 들어 나이브 B-세포, 공개적으로 사용가능한 데이터베이스 및/또는 문헌으로부터 얻어질 수 있다. 항체 서열 각각은 가장 근접한 생식세포 과 및/또는 유전자에 정렬될 수 있다. 이런 데이터로부터, 풍부한 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자 및/또는 VH/VL류 쌍을 결정할 수 있다.
- [0322] 풍부한 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자 및/또는 VH/VL류 쌍이 일단 결정되면, 어떤 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자 및/또는 VH/VL류 쌍이 호의적인 생물학적 특성에 대하여 시험되어야 할지 선택할 수 있다. 하나의 접근법은 풍도(abundance)에 따라 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자를 나열한 후 가장 풍부한, 예를 들어 상위 20위의 풍부한 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자를 테스트하는 것이다. 또한, 예를 들어 상위 20위의 가장 풍부한 VH 및 VL 생식세포 과 및/또는 유전자를 혼합할 수 있고, 그 결과 400개의 VH 및 VL 조합을 결과물로 얻어서 이에 대하여 호의적인 생물학적 특성을 시험할 수 있다. 부가적으로 또는 보충적으로, 가장 풍부한 VH/VL류 쌍을 호의적인 생물학적 특성에 대하여 시험할 수 있다.
- [0323] 호의적인 생물학적 특성은 (i) 과지 상에서 Fab-포맷으로 우수하게 표시되는 것, (ii) 포유류 세포에서 IgG 포맷으로 우수하게 표시되는 것, (iii) 예를 들면, 대장균에서 Fab-포맷의 많은 양이 발현되는 것, 및 예를 들면, 포유류 세포에서 IgG-포맷의 많은 양이 발현되는 것, (iv) 열역학적으로 안정한 것, (v) 높은 혈청 안정성을 가지는 것, (vi) 낮은 응집 경향을 갖는 것(즉, 높은 용해성), 및 (vii) 낮은 면역원성 위험을 가지는 것을 포함하지만 이에 제한되지 않는다.
- [0324] 일부 양태에서, 본 발명은 1×10^5 이상의 B 세포 표본에 존재하는 0.5% 이상의 VH 및 VL류 쌍 농도를 보이는 VH 및 VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 합성 핵산의 집합을 포함한다. 일부 실시예에서, VH 및 VL류 쌍은 1×10^5 이상의 B 세포 표본에 존재하는 1% 이상의 VH 및 VL류 쌍 농도를 보인다. 일부 실시예에서, VH 및 VL류 쌍은 1×10^5 이상의 V 세포 표본에 존재하는 2% 이상의 VH 및 VL류 쌍 농도를 보인다. 일부 실시예에서, B 세포는 인간 숙주로부터 단리된다. 일부 실시예에서, B 세포는 나이브이다. 일부 양태에서, 집합은 생식세포 VH 및 VL 골격 영역을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산을 포함한다. 일부 실시예에서, 집합은 1×10^4 이상의 핵산 서열, 1×10^6 이상의 핵산 서열, 1×10^8 이상의 핵산 서열, 1×10^{10} 이상의 핵산 서열, 1×10^{11} 이상의 핵산 서열을 포함한다.
- [0325] 일부 양태에서, 본 발명은 서열 데이터를 포함하는 키트를 포함하되, 상기 서열 데이터는 1×10^5 이상의 나이브 인간 B 세포 표본에 존재하는 핵산을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산을 도시한다. 일부 실시예에서, 본 발명은 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 포함한다. 일부 실시예에서, 벡터는 과지 표시 벡터이다. 일부 실시예에서, 벡터는 과지플라스미드 벡터이다. 일부 양태에서, 본 발명은 집합 벡터로 형질전환된 숙주 세포를 포함하되, 상기 집합 벡터는 항체 또는 이의 기능성 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 포함한다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 원핵생물이다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 대장균이다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 진핵생물이다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 포유류 세포이다.
- [0326] 일부 양태에서, 본 발명은 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 합성 핵산의 집합을 생산하는 방법을 포함하며, 상기 방법은 1×10^5 이상의 B 세포 표본에 존재하는 0.5% 이상의 VH 및 VL류 쌍 농도를 보이는 VH 및 VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, B 세포는 인간 숙주로부터 단리된다. 일부 실시예에서, B 세포는 나이브이다. 일부 실시예에서, 1×10^5 이상의 B 세포 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍은 이어지는 방법에 의해 식별되며, 이러한 방법은 aa) 하나 이상의 인간 숙주로부터 나이브 B-세포를 채취하는 단계; ab) 단계 aa)에서 채취된 B-세포로부터 DNA를 단리하는 단계; 및 ac) 단계 ab)에서 단리된 DNA를 분석하는 단계를 포함한다.
- [0327] 일부 실시예에서, DNA를 분석하는 단계는 DNA를 시퀀싱하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, DNA를 분석하는 단계는 VH 및 VL류 쌍 각각이 표본에 존재하는 빈도를 식별하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 방법은 벡터의 집합 안으로 핵산을 삽입하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 벡터는 발현 벡터이다. 일부 실시예에서, 상기 벡터는 표시 벡터이다. 일부 실시예에서, 표시 벡터는 과지플라스미드 벡터이다.

일부 실시예에서, 상기 방법은 적합한 숙주 세포 안으로 상기 벡터를 형질주입하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 원핵생물이다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 대장균이다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 진핵생물이다. 일부 실시예에서, 숙주 세포는 포유류의 세포이다.

[0328] 일부 양태에서, 본 발명은 면역원에 특이적인 항체 또는 이의 항체 단편을 식별하는 방법을 포함하며, 상기 방법은 a) 1×10^5 이상의 B 세포 표본에 존재하는 0.5% 이상의 VH 및 VL류 쌍 농도를 보이는 VH 및 VL류 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 핵산의 집합을 합성하는 단계; b) 특정 면역원에 대하여 집합을 검사하는 단계; 및 c) 상기 면역원에 특이적인 하나 이상의 항체 또는 이의 단편을 선택하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, B 세포는 인간 숙주로부터 단리된다. 일부 실시예에서, B 세포는 나이브이다. 일부 실시예에서, 1×10^5 이상의 B 세포 표본에 존재하는 VH 및 VL류 쌍은 하기 방법에 의해 식별되며, 이러한 방법은 aa) 하나 이상의 인간 숙주로부터 나이브 B-세포를 채취하는 단계; ab) 단계 aa)에서 채취된 B-세포로부터 DNA를 단리하는 단계; 및 ac) 단계 ab)에서 단리된 DNA를 분석하는 단계를 포함한다.

[0329] 일부 실시예에서, DNA를 분석하는 단계는 DNA를 시퀀싱하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, DNA를 분석하는 단계는 VH 및 VL류 쌍 각각이 표본에 존재하는 빈도를 식별하는 단계를 포함한다. 일부 실시예에서, 집합을 합성하는 단계는 벡터의 집합 안으로 상기 핵산을 삽입하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 방법은 적합한 숙주 세포 안으로 상기 벡터를 형질주입하는 단계를 더 포함한다. 일부 실시예에서, 상기 방법은 상기 집합을 표시하는 단계를 더 포함한다.

[0330] 실시예

[0331] 실시예 1 : 원핵생물 신호 서열 및 인간 선도 서열의 C-말단에 제한 부위를 제조하여, 완전 생식세포 FR1 영역을 제공

[0332] 일 양태에서, 본원은 생식세포 단백질 서열, 특히 FR1을 포함하는 골격 영역을 포함하는 항체의 집합을 설명한다. 생식세포 서열을 갖는 것은 인간에게 투여되는 경우에 항체의 면역원성 위험을 낮출 것으로 예상된다. 반면에, 양립가능한 제한 부위는, 항체가 면역원에 대하여 검사될 수 있도록 항체의 집합을 암호화하는 핵산을 표시 및/또는 발현 벡터 안으로 표준 클로닝 할 수 있도록 사용되어야만 한다. 과거에는, 클로닝을 위해 사용된 제한 부위는 골격 영역 내에 종종 위치되어서, 생식세포에 없는 핵산 및/또는 아미노산 서열을 변형했다. 본원의 항체 각각의 적어도 골격 1(FR1) 영역은 생식세포 단백질 서열을 유지하도록 보장하기 위하여, FR1 내에 임의의 비-자연 발생적 제한 부위가 없어야 할 것이다. 그러므로, 본 공개 문헌의 양태는 원핵생물 신호 서열의 C-말단 및 인간 선도 서열 내에, 특히 3개의 C-말단 잔기 내에 동일하거나 적어도 양립가능한 제한 부위의 합입이다. 또한, 동일하거나 양립가능한 제한 부위를 포함하는 신호 서열 및 선도 서열은 원핵생물 및 포유류 발현 시스템 모두에서 기능성이어야만 하고, 항체 또는 이의 단편의 우수한 표시 및 발현 수준을 보여야 한다.

[0333] 실시예 1.1 : 대장균 신호 서열 중 C-말단에 풍부한 아미노산 잔기의 분석

[0334] 하기는 대장균 ompA 및 phoA 둘 모두의 신호 서열의 C-말단 안에 포함시킬 제한 부위의 선택, 및 이에 따른 결과 신호 서열의 기능성의 평가를 설명한다.

[0335] 첫 번째 단계로, 신호 서열(-3 내지 -1)의 C-말단 3개의 아미노산에서 공통 아미노산 잔기를 분석하고 공통 서열을 제조했다(표 1에 도시됨)(Chou 등, Prediction of protein signal sequences, Protein Pept. Sci. 3(6):615-22 (December 2002) 참조).

표 1

신호 서열의 3개의 C-말단 아미노산의 공통 서열		
	-3	-2
	-1	
A	L	A
S	A	G
V	S	S
T	Q	

[0337] -3 위치에서, 두드러지게 A, S, V 및 T 아미노산을 관찰했다. -2 위치에서, 두드러지게 L, A, S 및 Q 아미노산

을 관찰했다. -1 위치에서, 두드러지게 A, G 및 S를 관찰했다.

[0338] 실시예 1.2 : 중쇄 대장균 신호 서열(phoA)에 대한 제한 부위의 선택

[0339] 표 1에 도시된 공통 서열을 알려진 제한 부위와 비교한 후에, phoA C-말단 안으로의 합입을 위해 3개의 제한 부위인 AfIII, NheI 및 AvrII을 선택한 후에 발현 수준을 연구했다. 야생형 뉴클레오타이드 서열을 변형된 뉴클레오타이드 서열로 교체하는 경우에, 아미노산 서열도 교체된다는 것이 중요하다. 선택된 제한 부위의 핵산 및 이에 대응하는 아미노산 서열은 표 2에 도시된다.

표 2

[0340]

AfIII	V	L	S
	GTC	TTA	AGY
NheI	V	L	A
	GTG	CTA	GCN
AvrII	V	L	G
	GTC	CTA	GGN

[0341] 대조군으로, 야생형 phoA 신호 서열을 발현 수준에 대하여 연구했다. 3 개의 C-말단 서열을 포함하는 야생형 phoA 신호 서열의 핵산 및 아미노산 서열은 표 3에 도시된다.

표 3

[0342]

야생형 대장균 phoA 신호 서열(-3에서 -1위치로의 C-말단 아미노산 서열은 제한부위 없이 TKA이다)																				
M	K	Q	S	T	I	A	L	A	L	L	P	L	L	F	T	P	V	T	K	A
ATGAAACAGAGCACCATTTGCCCTGGCCCTGCTGCCGCTGCTGTTTACCCAGTGACCAAAGCC																				

[0343] phoA 야생형 C-말단은 T K A

[0344] ACC AAA GCC 이다.

[0345] 발현 수준을 평가하기 위하여, phoA 서열 안에 표 2에 도시된 제한 부위를 포함시켜 야생형 아미노산 서열도 변형시켰다. a) VH3-23 또는 b) VH1-69 생식세포 단백질 서열 중 어느 하나를 포함하는 Fab 단편을 발현시키기 위하여 이로부터 얻은 신호 서열을 사용했다. 이러한 생식세포 유전자를 선택했으며, 이들은 안정하고 우수하게 발현되는 것으로 알려져 있다. VH3-23 및 VH1-69 생식세포 유전자 서열 둘 모두 안으로 4D5 항체의 CDR-H3(WGGDGFYAMDY)을 합입했고, JH4 생식세포 유전자 서열을 FR4에 대하여 사용했다. 4D5 항체는 문헌[PDB entry 1 FVC; Carter, P., Presta, L., Gorman, C. M., Ridgway, J. B., Henner, D., Wong, W. L. 등 (1992); Humanization Biophysical Properties of Human Antibody Domains 551 of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 89, 4285-4289]에 개시된다. a) 표 2의 C-말단 제한 부위 및 아미노산 서열을 포함하는 phoA 신호 서열, b) 상술한 바와 같이 CDR-H3 및 JH4를 포함하는 VH3-23 및 VH1-69의 VH 서열, 및 c) MOR03207로부터의 안정하고 우수하게 발현하는경쇄를 포함하는 pMORPHX11(도 50에 도시됨) 기반 플라스미드를 제조했다. 모든 유전자는 Geneart(레겐스부르크, 독일)에서 제조되었다.

[0346] 원형질 추출 후에 항-Fd ELISA를 수행함으로써 발현 및 원형질 수송을 확인했다. BBS 완충액을 사용하는 원형질 추출 후에 항-Fd 발현 ELISA의 결과는 도 1에 도시된다. 도시된 바와 같이, VH3-23 그룹에서, C-말단 제한 부위 AfIII(VLS), NheI(VLA) 및 AvrII(VLG)를 포함하는 신호 서열은 야생형(TKA)의 발현 수준 범위로 발현 수준을 유지했고, NheI(VLA)에서의 수행은 야생형(TKA)보다 더 좋은 발현 수준을 보였다.

[0347] 또한, 플라스크를 흔들면서 밤새도록 배양한 후에 대장균에서의 Fab 발현을 수행했고, 친화성 크로마토그래피와 완충액 교환에 의해 Fab 정제 후에 Fab 생산 수준을 확인했다. 이의 결과는 표 4에 도시된다.

표 4

[0348]

야생형(TKA)에 비하여, C-말단 제한 부위 AfIII(VLS), NheI(VLA) 및 AvrII(VLG)를 포함하는 신호 서열을 사용하는 Fab 발현	
Fab 구조체	발현 용(mg/L)

VH3-23 TKA	11.0
VH3-23 VLS	2.0
VH3-23 VLA	11.0
VH3-23 VLG	9.0
VH1-69 TKA	7.5
VH1-69 VLS	5.0
VH1-69 VLA	2.5
VH1-69 VLG	3.5

[0349] 도시된 바와 같이, 야생형(TKA)과 비교할 때, C-말단 제한 부위 AfIII(VLS), NheI(VLA) 및 AvrII(VLG)를 포함하는 신호 서열은 비슷한 양의 Fab를 발현한다.

[0350] 상기 데이터에 기초할 때, 중쇄 신호 서열(phoA) 안으로의 합입을 위해 NheI(VLA) 제한 부위를 선택했다. 변형된 NheI(VLA) phoA 신호 서열의 핵산 및 아미노산 서열은 표 5에 도시된다.

표 5

[0351]	C-말단 VLA 및 NheI 제한 부위(=GCTAGC)를 갖는 변형된 대장균 phoA 신호 서열
	M K Q S T I A L A L L P L L F T P V V L A
	ATGAAACAGAGCACCATTTGCCCTGGCCCTGCTGCCGCTGCTGTTTACCCAGTGGTGCTAGCC

[0352] 실시예 1.3 : κ 및 λ 경쇄 대장균 신호 서열(ompA)에 대한 제한 부위의 선택

[0353] κ 및 λ 둘 모두에 대한 경쇄 신호 서열(ompA)의 C-말단 안으로의 합입을 위해 제한 부위를 선택하기 위하여 실시예 1.2에서 설명된 방법과 유사한 방법을 사용했다.

[0354] 표 1에 도시된 공통 서열을 알려진 제한 부위와 비교한 후에, ompA C-말단 안으로의 합입을 위해 제한부위 NdeI(AYG), NdeI(AYA) 및 BsiWI(TYA)를 선택했으며, 이에 의하여 아미노산 서열도 변경되고, 그 뒤에 발현 수준에 대하여 연구했다. 선택된 제한 부위의 서열은 표 6에 도시된다.

표 6

[0355]	NdeI	A Y G GCA TAT GGN
	NdeI	A Y A GCA TAT GCN
	BsiWI	T Y A ACG TAC GCN

[0356] 대조군으로, 야생형 ompA 신호 서열을 발현 수준에 대하여 연구했다. 3개의 C-말단 서열을 포함하는 야생형 ompA 신호 서열의 핵산 및 아미노산 서열은 표 7에 도시된다.

표 7

[0357]	야생형 대장균 ompA 신호 서열(-3에서 -1까지의 위치에서 C-말단 아미노산 서열은 제한 부위를 갖지 않는 AQA이다)
	M K K T A I A I A V A L A G F A T V A Q A
	ATGAAAAAACCGCCATTGCCATTGCCGTGGCCCTGGCAGGCTTTGCCACCGTGGCGCAGGCC

[0358] ompA 야생형 C-말단 A Q A

[0359] GCG CAG GCC

[0360] 발현 수준을 평가하기 위하여, 표 6에 도시된 제한 부위를 ompA 신호 서열 안으로 합입했다. 이로부터 얻은 변형된 신호 서열을 Fab 단편을 발현하기 위하여 사용했으며, 상기 Fab 단편은 a) κ 1 O12(IGKV1-39), b) κ 3 L6(IGKV3-11), 또는 c) λ 1 V-13(IGLV1-40) 생식세포 유전자 서열을 포함한다. 이러한 생식세포 유전자는 안정

하고 우수하게 발현되는 지에 따라 선택했다. a) κ 1 O12(IGKV1-39), b) κ 3 L6(IGKV3-11)에서, CDR-L3 영역:QQHYTTPPT(κ 에 대하여)을 합입했으며, c) λ 1 V-13(IGLV1-40)에서, CDR-L3 영역:QSYDSSLGVV(λ 에 대하여)를 합입했으며, a)-c)에서, κ 경쇄에 대하여 FR4로서 J κ 1 생식세포 유전자 서열을 사용했으며; 그리고 λ 경쇄에 대하여 FR4로서 JI2/3 생식세포 유전자 서열을 사용했다. pMORPHX11(도 50에 도시됨) 플라스미드를 제조했으며, 상기 플라스미드는 a) 표 6의 C-말단 제한 부위를 포함하는 ompA 신호 서열, b) 상술한 바와 같이 CDR-L3 및 FR4를 포함하는 κ 1 O12(IGKV1-39), κ 3 L6(IGKV3-11), 또는 λ 1 V-13(IGLV1-40)의 VL 생식세포 서열, 및 c) 실시예 1.2에서 설명된 중쇄로서 IGHVH3-23 TKA 구조체를 포함한다. 모든 유전자는 Genearth(레겐스 부르크, 독일) 제조되었다.

[0361] 대장균에서 밤새도록 Fab 생산, 원형질 추출, 그리고 원형질 추출 후에 항-Fd ELISA를 수행하여 발현 및 원형질 수송을 확인했다. BBS 완충액을 사용하는 원형질 추출 후에 항-Fd 발현 ELISA의 결과는 도 2에 도시된다. 도시된 바와 같이, NdeI(AYA)를 포함하는 신호 서열은 야생형(AQA)에 비해 더 좋거나 비슷한 발현을 보인다.

[0362] 또한, 플라스미드를 흔들면서 밤새도록 배양한 후에 대장균에서의 Fab 발현을 수행했고, 친화성 크로마토그래피와 완충액 교환에 의해 Fab 정제 후에 Fab 생산 수준을 확인했다. 이의 결과는 표 8에 도시된다.

표 8

구조체	발현율(mg/L)
VK1-39 AQA	8.5
VK1-39 AYA	5.5
VK3-11 AQA	7.0
VK3-11 AYA	9.5
VL1-40 AQA	5.0
VL1-40 AYA	5.0

[0364] 상기 데이터에 기초하여, κ 및 λ 신호 서열(ompA) 안으로의 합입을 위한 NdeI(AYA) 제한 부위를 선택했다. 변형된 NdeI(AYA) ompA 신호 서열의 핵산 및 아미노산 서열은 표 9에서 도시된다.

표 9

C-말단 AYA 및 NdeI 제한 부위(=CATATG)를 갖는 변형된 대장균 ompA 신호 서열
M K K T A I A I A V A L A G F A T V A Y A ATGAAAAAACGCCATTGCCATTGCCGTGGCCCTGGCAGGCTTTGCCACCGTGGCATATGCC

[0366] 실시예 1.4 : 파지 표시 중의 신호 서열에 의해 Fab 단편의 표시 효율 평가

[0367] 실시예 1.2 및 1.3에서 설명된 바와 같이, Fab 신호 서열 및 IgG 선도 서열의 C-말단 안으로의 합입을 위해 하기 제한 부위를 선택했다:

[0368] 중쇄 가변 영역(phoA 및 중쇄 선도): NheI(VLA)

[0369] 경쇄 가변 영역(κ 및 λ)(ompA 및 κ 선도): NdeI(AYA).

[0370] 도 3은 선택된 제한 부위 및 이에 대응되는 아미노산 서열을 도시한다.

[0371] 이러한 변형 신호 서열이 Fab 단편의 효율적인 수송 및 생산을 매개하는 것을 보이기 위하여, VH, VL 및 PIII (파지 표시를 위해 사용된 파지 코팅 단백질 pIII)를 암호화하는 트리시스트로닉(tricistronic) 표시 벡터 안으로 선택된 신호 서열을 합입하는 벡터 구조체를 제조했다. 이는 선택된 신호 서열을 포함하는 벡터가 유용한 파지 표시율을 제공할 수 있다는 것을 확인하기 위하여 수행했다. VH3-23 또는 VH1-69 생식세포 유전자의 VH, 또는 VL1-40, VK3-11 또는 VK1-39 생식세포 유전자의 VL, 그리고 선택된 중쇄(phoA) 제한 부위: NheI(VLA) 및 대조군으로 야생형 phoA(TKA), 또는 선택된 경쇄(ompA) 제한 부위: NdeI(AYA) 및 대조군으로 야생형 ompA(AQA)를 포함하는 pJPd1(도 48에 도시됨) 트리시스트로닉 벡터 구조체를 제조했다. 또한, 상기와 동일한 것을 포함하는 pMORPH30(도 51에 도시됨) 트리시스트로닉 벡터 구조체를 대조군으로 제조했다. 상대적 표시율은 표 10에 도시된다.

표 10

벡터	신호 서열	상대적인 표시율	
		VCSM13	하이퍼파지
pMORPH30	VH1-69_TKA VL1-40_AQA	0.6 / 0.7 / 0.9	0.7 / 1.0 / 1.6
pMORPH30	VH1-69_VLA VL1-40_AYA	0.4 / 0.2 / 0.4	0.7 / 0.4 / 0.7
pJPd1	VH1-69_TKA VL1-40_AQA	0.6 / 0.5 / 0.7	4.8 / 5.7 / 5.5
pJPd1	VH1-69_VLA VL1-40_AYA	0.6 / 0.4 / 0.7	3.2 / 2.9 / 2.9
pMORPH30	VH1-69_TKA Vk3-11_AQA	0.8	0.9
pMORPH30	VH1-69_VLA Vk3-11_AYA	0.1	0.4
pJPd1	VH1-69_TKA Vk3-11_AQA	0.3	1.8
pJPd1	VH1-69_VLA Vk3-11_AYA	0.1	1.2
pMORPH30	VH1-69_TKA Vk1-39_AQA	이루어지지 않음	이루어지지 않음
pMORPH30	VH1-69_VLA Vk1-39_AYA	0.3	0.4
pJPd1	VH1-69_TKA Vk1-39_AQA	이루어지지 않음	이루어지지 않음
pJPd1	VH1-69_VLA Vk1-39_AYA	0.2	1.3
pMORPH30	VH3-23_TKA VL1-40_AQA	0.6	1.6
pMORPH30	VH3-23_VLA VL1-40_AYA	0.5	1.2
pJPd1	VH3-23_TKA VL1-40_AQA	0.5	7.3
pJPd1	VH3-23_VLA VL1-40_AYA	0.4	4.8
pMORPH30	VH3-23_TKA Vk1-39_AQA	이루어지지 않음	이루어지지 않음
pMORPH30	VH3-23_VLA Vk1-39_AYA	0.5	1.6
pJPd1	VH3-23_TKA Vk1-39_AQA	이루어지지 않음	이루어지지 않음
pJPd1	VH3-23_VLA Vk1-39_AYA	0.6	5.5
pMORPH30	VH3-23_TKA Vk3-11_AQA	0.7	2.0
pMORPH30	VH3-23_VLA Vk3-11_AYA	1.1	2.8
pJPd1	VH3-23_TKA Vk3-11_AQA	0.5	3.9
pJPd1	VH3-23_VLA Vk3-11_AYA	0.4	5.7

[0372]

[0373]

도시된 바와 같이, 선택된 신호 서열을 포함하는 pJPd1 벡터는 pMORPH30 벡터와 비슷한 상대적 표시율을 보였고; 파지 생산에 보조 파지로서 하이퍼파지(hyperphage)를 사용하는 경우에, pMORPH30 벡터에 비해 우수한 상대적 표시율을 검출했다. 그러므로, 변형된 신호 서열을 포함하는 pJPd1 벡터는 목표 항원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편의 파지 표시 선택에 있어서 우수하게 작용할 것이다.

[0374]

실시에 1.2-1.4는 생식세포 단백질 서열을 갖는 FR1 영역을 허용하는 제한 부위를 포함하는 신호 서열 및 선도 서열을 설명하고, 임의의 면역원에 대항하는 항체의 식별을 위해 파지 표시 선택 시스템 또는 포유류 발현 시스템 안으로 개시된 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 합입하기에 유용한 벡터 골격(backbone)을 설명하듯이, 본원의 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하고, 발현하고, 표시하기 위한 필수 도구를 설명한다. 또한, 신호 서열은 Fab 파지 표시 및 발현 플라스미드, 및 이에 대응하는 IgG 발현 플라스미드 둘 모두와 완전히 양립할 수 있는 제한 부위를 지닌다.

[0375]

실시에 1.5 : IgG 발현에 대하여 선택된 C-말단 제한 부위를 포함하는 인간 중쇄 및 κ 선도 서열의 시험

[0376]

대장균 발현 Fab로부터 포유류 발현 IgG 포맷으로의 손쉬운 전환을 가능하게 하기 위하여, ompA(NdeI(AYA)) 및 phoA(NheI(VLA)) 신호 서열의 C-말단과 동일한 제한 부위를 함유하도록 IgG 경쇄(인간 κ 선도) 및 IgG 중쇄(인간 중쇄 선도)에 대한 인간 선도 서열을 제조하였고, 이에 의하여 3개의 C-말단 아미노산 서열의 일부가 변형된다.

[0377]

대장균-기반 Fab 발현 플라스미드로부터의 VH를 포유류의 IgG 발현 벡터 안으로 이동시키는 것은 (a) phoA 신호 서열의 C-말단에 위치될 뿐만 아니라, (b) 인간 중쇄 선도의 C-말단에서 대응되는 장소에 위치되는 설명된 NheI 제한 부위를 이용하여 수행될 수 있다. 이를 위하여, phoA 신호 서열의 3개의 최종 아미노산을 변형시켰고(TKA로부터 VLA로), VLS로부터의 야생형 아미노산 서열(-3 내지 -1)을 phoA 양립 VLA로 바꿈으로써 인간 중쇄 선도의 C-말단을 조정했다.

[0378]

대장균-기반 κ 류 발현 플라스미드로부터의 VL을 포유류의 IgG 발현 벡터 안으로 이동시키는 것은 (a) ompA 신호 서열의 C-말단에 위치될 뿐만 아니라, (b) 인간 κ 선도의 C-말단에서 대응되는 장소에 위치되는 설명된

NdeI 제한 부위를 이용하여 수행될 수 있다. 이를 위하여, ompA 신호 서열 중 3개의 최종 아미노산을 변형시켰고(AQA로부터 AYA로), AYG로부터의 야생형 아미노산 서열(-3 내지 -1)을 ompA 양립 AYA로 바꿈으로써 인간 κ 선도의 C-말단을 조정했다. 야생형 및 변형된 인간 중쇄 선도 및 인간 κ 선도 서열은 표 11에 도시된다.

표 11

중쇄 선도		
A) 야생형 인간 중쇄 선도(C-말단 아미노산의 -3에서 -1까지의 위치는 제한부위를 갖지 않는 VLS이다)		
M K H L W F F L L L V A A P R W V L S		
ATGAAACACCTGTGGTTCTTCCTCCTGCTGGTGGCAGCTCCCAGATGGGTCCTGTCC		
야생형 중쇄 선도 C-말단	V L S	
	GTC CTG TCC	
B) C-말단 VLA 및 NheI 제한 부위(=GCTAGC)를 갖는 변형된 인간 중쇄 선도		
M K H L W F F L L L V A A P R W V L A		
ATGAAGCACCTGTGGTTCTTCTGCTGCTGGTGGCCGCTCCCGGTGGGTGCTAGCC		
C) 야생형 인간 κ 선도(C-말단 아미노산의 -3에서 -1까지의 위치는 제한부위를 갖지 않는 AVG이다)		
M V L Q T Q V F I S L L L W I S G A Y G		
ATGGTGTGTCAGACCCAGGTCTTCATTCTCTGTTGCTCTGGATCTCTGGTGCCTACGGG		
κ 선도 C-말단	A Y G	
	GCC TAC GGG	
D) C-말단 AYA 및 NdeI 제한 부위(=CATATG)를 갖는 변형된 인간 κ 선도		
M V L Q T Q V F I S L L L W I S G A Y A		
ATGGTGTCTCCAGACCCAGGTGTTTCATCAGCCTGCTGCTGTGGATCAGCGGCGCATATGCG		

이러한 변형된 신호/선도 서열이 인간 IgG1 단백질의 효율적인 수송 및 생산을 매개한다는 것을 보여주기 위하여, 전체 길이 인간 IgG1의 포유류의 발현을 위해 변형된 인간 중쇄 선도 및 변형된 인간 κ 선도를 pJP_Ig 플라스미드(도 52-54에 도시됨) 안으로 클로닝했으며, 이는 야생형 선도 서열을 대신했다. 변형된 선도 서열, 표 12에 도시된 가변 영역 유전자, 및 κ 또는 λ 경쇄 및 중쇄 중 어느 하나에 대하여 불변부를 함유하는 수득한 발현 벡터를 HKB11 세포 안으로 형질주입했고, 형질주입 후 몇 일 뒤에 단백질 A 크로마토그래피를 사용하여 세포 배양조각 상청액으로부터 인간 IgG1을 정제했다. 정제하고 완충액을 교환한 후에 IgG1 함량을 확인했다. 발현율은 표 12에 도시된다.

표 12

VH	VL	인간 IgG1 발현
>hVH_1_69*01	>hVL_3-1	36.4 mg/L
>hVH_1_69*01	>hVL_3-21	34.5 mg/L
>hVH_3_23	>hVL_3-1	40.0 mg/L
>hVH_3_23	>hVL_3-21	34.5 mg/L
>hVH_3_30	>hVK_3_20	25.6 mg/L

시험한 모든 구조체는 많은 양의 인간 IgG1을 발현하며, 이는 변형된 선도 서열이 발현 수준을 유지한다는 것을 나타낸다. 선택된 변형 선도 서열은, (a) 사용된 벡터 시스템에 따라 IgG 단백질의 높은 수율을 낳으며, (b) 진핵생물 및 포유류 시스템 사이에서 항체 포맷, 벡터 및 발현 시스템을 전환하기 위해 완전한 양립 가능성을 제공하며, (c) 신호/선도 서열에 위치하여 FR1의 완전 생식세포 서열을 유지한다.

실시예 2 : 인간 레퍼토리에서 가장 풍부한 VH/VL 쌍의 식별

본원의 양태는 인간 면역 레퍼토리에 가장 풍부한 생식세포 유전자 쌍의 생식세포 유전자 서열을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편으로 이루어진 집합 또는 라이브러리이되, 상기 항체 또는 이의 기능성 단편 각각은 각각의 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하고, 상기 집합 안으로 합입하기 위하여 선택된 생식세포

포 단백질 쌍은 집합으로부터 선택된 항체 또는 이의 기능성 단편 각각이 임상용으로 개발가능하고 상업적으로 성공할 가능성을 증가시키는 생물학적 특성을 포함한다. 이러한 집합을 제조하기 위하여, 많은 조건이 되어야 한다. 일반적으로, 이어지는 단계를 수행했다: 인간 면역 레퍼토리로부터 두드러진 생식세포 유전자 쌍을 식별했다; 인간 면역 레퍼토리로부터 두드러진 생식세포 유전자 쌍의 cDNA를 합성했고, 이를 다양한 벡터 바탕 안으로 클로닝하고, 항체 또는 이의 기능성 단편을 생산했다; 두드러진 생식세포 유전자 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 기능에 대해 시험하여 이들의 생물학적 특성을 결정했고; 각각의 생식세포 단백질 쌍을 포함하는 항체 또는 이의 기능성 단편의 생물학적 특성을 비교한 후에; 생식세포 단백질 쌍의 하위 집합을 집합 안으로의 합입을 위해 선택했다. 일부 실시예에서, 선택된 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열은 스캐폴드로서 역할한다. 이러한 실시예에서, 상기 스캐폴드는 선택된 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 포함하되, VH 및 VL 둘 모두는 각각의 생식세포 단백질 쌍의 생식세포 단백질 서열을 적어도 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3에 포함한다. 특정 실시예에서, CDR3은 다양화될 수 있다. 특정 실시예에서, FR4는 고정되며, 예를 들어, VH에 대하여 JH4 서열이 사용될 수 있으며, κ VL에 대하여 JK1 서열이 사용될 수 있으며, λ VL에 대하여 JI2/3이 사용될 수 있다.

[0385] 실시예 2.1 : VH/VL 쌍 생식세포 유전자 사용의 결정

[0386] 인간 면역 레퍼토리로부터 두드러진 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 식별하기 위하여, 공개적으로 사용가능한 데이터를 분석했고, 인간 B 세포를 표본화했다. 첫번째 단계로, 공개적으로 사용가능한 데이터를 검토하여 B-세포로부터 단리된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 설명하는 부분을 식별하였다. 언급하였듯이, 많은 공개적으로 사용가능한 데이터베이스는 항체 서열을 제공하지만, 많은 공개적으로 사용가능한 데이터베이스는 가변 도메인인 VH 또는 VL 중 어느 하나의 서열만을 제공하지 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 결합을 제공하지는 않는다. 이어지는 문헌을 확인하고 구체적으로 분석했다: Wardemann H. 등 (2003) Science 301, 1374-1377 및 임의의 추가 표; Yurasov S. 등 (2005) J. Exp. Med. 201, 703-712 및 임의의 추가 표; Tsuiji M. 등 (2006) J. Exp. Med. 203, 393-401 및 임의의 추가 표; Yurasov S. 등 (2006) J. Exp. Med. 203, 2255-2262 및 임의의 추가 표; Tiller T. 등 (2007) Immunity 26, 205-213 및 임의의 추가 표; 및 Mietzner B. 등 (2008) PNAS 105, 9727-9732 및 임의의 추가 표.

[0387] 도 4-9는 Tsuiji M. 등 (2006)에서 단리된 B 세포의 VH/VL 쌍을 도시한다.

[0388] 도 10-12는 Tiller T. 등 (2007)에서 단리된 B 세포의 VH/VL 쌍을 도시한다.

[0389] 도 13-17은 Mietzner B. 등 (2008)에서 단리된 B 세포의 VH/VL 쌍을 도시한다.

[0390] 도 18-20은 Wardemann H. 등 (2003)에서 단리된 B 세포의 VH/VL 쌍을 도시한다.

[0391] 도 21-23은 Yurasov S. 등 (2005)에서 식별된 것에서 단리된 B 세포의 VH/VL 쌍을 도시한다.

[0392] 도 24-26은 Yurasov S. 등 (2006)에서 단리된 B 세포의 VH/VL 쌍을 도시한다.

[0393] 하기 설명되는 바와 같이, 부가적인 VH/VL 쌍 데이터를 인간 B 세포의 표본으로부터 식별했다.

[0394] 실시예 2.2 : 인간 표본으로부터의 VH/VL 쌍 유전자 사용의 결정

[0395] 부가적인 VH/VL 생식세포 유전자 쌍 사용 데이터를 얻기 위하여, PBMC를 인간 숙주로부터 단리했다. 상기 PBMC를 분류했고, B 세포의 cDNA를 PCR로 증폭했으며, B 세포로부터의 DNA를 시퀀싱한 후에, 시퀀싱한 서열을 IgBLAST(NCBI)로 블라스트(blasted)하여 각각의 B세포로부터 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 식별했다.

[0396] 실시예 2.2(a) : 인간 말초혈 단핵 세포(PBMC)의 단리 및 분류

[0397] 정맥혈로부터 인간 PBMC 그리고 골수로부터 단핵 세포를 단리하고 분류하는 일반적인 방법은 Tiller 등의 JIM 2008에서 설명된다. PBMC를 다음과 같이 단리했다. 40 ml 정맥혈을 인간 기증자(PandemrixTM 백신(H1N1 백신 GlaxoSmithKline)접종 후 7일 후)로부터 수집하여 4 x Li-헤파린 혈액 수집 시험관(Sarstedt)(각 10 ml)에 담았다. 각각의 모노베트(monovette)의 내용물을 50 ml Falcon(총 40 ml)안으로 혼합한 후에, 100 μ l RosetteSep(줄기세포 기술)(2.5 μ l/ml)을 첨가하고, 로테이터(5 rpm)로 잘 혼합한 뒤, 30분 동안 실온에서 배

양했다. 혈액/RosettaSep 결합물을 동일한 부피의 1 x PBS(Invitrogen)로 희석했다. 15 ml의 FicollPaque(GE Healthcare)를 새로운 50 ml 원뿔형 관에 첨가했고, FicollPaque 위로 20 ml의 희석된 혈액이 층을 이뤘다(총 4개의 시험관: 각각의 시험관은 15 ml FicollPaque + 20 ml 혈액으로 채워짐). 시험관을 실온에서 400 g(시그마 실험실 원심분리기 상에서 1400 rpm)으로 30분 동안 씩없이 원심 분리기에서 회전시켰다. 원심분리 후에, 농축된 PBMC는 혈장과 FicollPaque 사이의 경계면에서 밴드를 형성했다. 각각의 시험관으로부터 PBMC를 피펫으로 제거하여, 새로운 50 ml 시험관으로 옮겼다. FACS 완충액(PBS, 3% FCS)을 사용하여 40 ml로 희석함으로써 PBMC를 세척했고, 1250 rpm으로 4℃에서 10분 동안 원심분리했다. PBMC를 Trypan Blue(10 μ l 표본 + 90 μ l Trypan Blue(1:10, PBS로 희석됨))를 사용하여 셸다.

[0398] 약 5 ml의 얼음같이 차가운 FACS 완충액에 PBMC를 재현탁시킴으로써 착색했다. 착색을 위해 세포의 부분 표본을 준비했다. 시험을 위해 형광단을 준비했다. 부분 표본을 4℃에서 1250 rpm에서 가라앉혔고, 상청액을 제거했다. 표 13에서 설명된 계획에 따라서, 착색을 위한 항체를 세포 펠렛에 첨가했다.

표 13

	1	2	3	4	5	6	7
	염색안함	APC	FITC	PE	PE-Cy7	ASC	mn Bcells
부피	1.3. ml	250 μ l	250 μ l	250 μ l	250 μ l	1.3ml	1.3ml
세포 수 (x 10e6)	~2.7	~0.5	~0.5	~0.5	~0.5	~2.7	~2.7
CD19-APC	-	15 μ l	-	-	-	15 μ l	15 μ l
CD27-FITC	-	-	30 μ l	-	-	30 μ l	30 μ l
CD38-PE	-	-	-	15 μ l	-	15 μ l	-
CD20-Biotin	-	-	-	-	2 μ l	2 μ l	-
CD10-PE	-	-	-	-	-	-	15 μ l
IgM-Biotin	-	-	-	-	-	-	2 μ l
4℃ 어둠 속에서 20분 동안 배양(여기선 30분 배양)							
FACS 완충액 1 ml로 세척한 후, 4℃에서 5분간 1250 rpm으로 원심분리하고, 상청액을 제거함							
SA-PE-Cy7 (1:500)					100 μ l (~1:1500)	200 μ l (~1:5000)	200 μ l (~1:5000)
4℃ 어둠 속에서 20분 동안 배양							
FACS 완충액 1 ml로 2회 세척한 후, 4℃에서 5분간 1250 rpm으로 원심분리하고, 상청액을 제거함							
500 μ l FACS 완충액에 염색된 세포 펠렛을 재현탁함							

[0399]

[0400] 이후에, 세포분석기에서 막히는 것을 방지하기 위하여, 세포를 FACS 시험관 상의 세포 여과기(Eppendorf)를 통과시켰다. 세포를 얼음 상에 놓고 어둠 속에 방지했다.

[0401] 관심 있는 표현형의 세포 표면 표지에 따라서 세포를 각각 분류했다. 예를 들어, 항체 분비 세포는 CD19⁺CD20^{low}CD27^{hi}CD38^{hi} 이고, 성숙한 나이브 B 세포는 CD19⁺CD27^{neg}CD10^{neg}IgM⁺ 이다. 마우스 항-인간 항체(AbD: CD19, CD27, CD38, CD-20, 및 CD10)(Becton Dickinson: IgM)를 사용하여 세포 표면 표지의 존재를 확인했다. 포워드 vs 사이드 스캐터 방식(forward versus side scatter)(이중 차별을 갖는 살아있는 셀 게이트)으로 세포를 분류하여, FACS Aria를 사용하는 4 μ l 0.5 x PBS, 10 mM DTT, 8 U RNAsin(Promega)를 함유하는 단일 세포 96 웰 PCR 플레이트(Eppendorf)에 담았다.

[0402] PCR 플레이트를 표 14에 도시된 바와 같이 준비했다.

표 14

뉴클리아제가 없는 H ₂ O	3200 μ l
10 x PBS	200 μ l
0.1M DTT	400 μ l
RNAsin(40U/ μ l, Promega)	200 μ l
총	4000 μ l

[0404] 분류 후에, 각각의 플레이트를 미세밀봉(microseal) 호일(BioRad)로 즉시 밀봉했고, 건조한 얼음 상에 놓았다. 일단 세포 분류가 완료되면, 모든 플레이트를 -80℃에서 냉동시켰다.

[0405] 실시예 2.2(b) : 인간 B 세포 DNA의 PCR 증폭

[0406] 실시예 2.2(a)에서 설명된 바와 같이, PBMC를 분리했고 분류했다. 이후에, VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 결정을 위해서, 단일 분류된 성숙한 나이브(mn) B 세포 및 항체 분비 세포(asc)의 Ig 유전자 전사물을 PCR로 증폭시켰다. 동일하게 유용한 B 세포 및 프라이머의 cDNA를 PCR 증폭시키는 일반적인 방법은 문헌[Tiller 등, J Immunol Methods, 2008]에서 설명된다.

[0407] 전체적인 PCR 계획은 도 27에 도시된다. 사용된 특정 프라이머는 표 15에 도시된다.

표 15

μ 또는 γ 중쇄 PCR:

μ C 1st PCR		
5' L-VH 1	ACAGGTGCCACTCCAGGTGCAG	24
5' L-VH 3	AAGGTGTCCAGTGTGARGTGCAG	23
5' L-VH 4/6	CCCAGATGGGTCTGTCCAGGTGCAG	27
5' L-VH 5	CAAGGAGTCTGTTCAGGTGCAG	24
3' Cμ CH1 (mu)	GGGAATTCTCACAGGAGACGA	21
3' Cγ CH1 (gamma)	GGAAAGGTGTGCACGCCGCTGGTC	23
μ C 2nd PCR		
5' AgeI VH1	CTGCAACCGGTGTACATTCCAGGTGCAGCTGGTGCAG	38
5' AgeI VH1/5	CTGCAACCGGTGTACATTCCAGGTGCAGCTGGTGCAG	38
5' AgeI VH3	CTGCAACCGGTGTACATTCTGAGGTGCAGCTGGTGGAG	38
5' AgeI VH3-23	CTGCAACCGGTGTACATTCTGAGGTGCAGCTGGTGGAG	38
5' AgeI VH4	CTGCAACCGGTGTACATTCCAGGTGCAGCTGCAGGAG	38
5' AgeI VH 4-34	CTGCAACCGGTGTACATTCCAGGTGCAGCTACAGCAGTG	40
3' Sall JH 1/2/4/5	TGCGAAGTCGACGCTGAGGAGACGGTGACCAAG	32
3' Sall JH 3	TGCGAAGTCGACGCTGAGGAGACGGTGACCAATTG	34
3' Sall JH 6	TGCGAAGTCGACGCTGAGGAGACGGTGACCGTG	33
3' IgG (internal)	GTTCGGGGAAGTAGTCCTTGAC	22

κ 경쇄 PCR:

κ LC 1st PCR		
5' L-Vκ 1/2	ATGAGGSTCCCYGCTCAGCTGCTGG	25
5' L-Vκ 3	CTCTTCTCCTGCTACTCTGGCTCCAG	28
5' L-Vκ 4	ATTCTCTGTTGCTCTGGATCTCTG	25
3' Cκ 543	GTTTCTCGTAGTCTGCTTGTCTCA	24
κ LC 2nd PCR		
5' Pan Vκ	ATGACCCAGWCTCCABYCWCCCTG	24
3' Cκ 494	GTGCTGTCCTTGCTGTCCTGCT	22

λ 경쇄 PCR:

(LC 1st PCR		
5' L-VI 1	GGTCTCTGGGCCAGTCTGTGCTG	23
5' L-VI 2	GGTCTCTGGGCCAGTCTGCCCTG	23
5' L-VI 3	GCTCTGTGACCTCCTATGAGCTG	23
5' L-VI 4/5	GGTCTCTCTCAGCYTGTGCTG	23
5' L-VI 6	GTTCTTGGGCCAATTTATGCTG	23
5' L-VI 7	GGTCCAATTCYAGGCTGTGGTG	23
5' L-VI 8	GAGTGGATTCTCAGACTGTGGTG	23
3' C(	CACCAGTGTGGCCTTGTTGGCTTG	24
(LC 2nd PCR		
5' AgeI VI 1	CTGCTACCGGTTCTGGGCCAGTCTGTGCTGACKCAG	38
5' AgeI VI 2	CTGCTACCGGTTCTGGGCCAGTCTGCCCTGACTCAG	38
5' AgeI VI 3	CTGCTACCGGTTCTGTGACCTCCTATGAGCTGACW CAG	38
5' AgeI VI 4/5	CTGCTACCGGTTCTCTCTCAGCYTGTGCTGACTCA	37
5' AgeI VI 6	CTGCTACCGGTTCTTGGGCCAATTTATGCTGACTCAG	38
5' AgeI VI 7/8	CTGCTACCGGTTCCAATTCYAGRCTGTGGTGACYCAG	38
3' XhoI CI	CTCCTCACTCGAGGGYGGGAACAGAGTG	28

[0408]

[0409] 단일 분류된 성숙한 나이브(mn) B 세포 및 항체 분비 세포(asc)의 cDNA를다음과 같이 합성했다. 먼저, RHP-Mix, RT-Mix 및 RT-Mix를 얼음 상에 준비했다. RHP-Mix를 115 μl의 Random Hexamer Primer(Roche)(300 ng/μl), 115 μl NP-40(Sigma)(10%), 35 μl RNasin 및 542 μl 물과 함께 준비했다. RT-Mix를 660 μl의 5 x RT 완충액, 110 μl의 dNTP(Invitrogen)(각각 25 mM), 450 μl의 물, 220 μl의 0.1M DTT, 44 μl의 RNasin(Promega), 55 μl의 Superscript III(역전사 효소)(Invitrogen)과 함께 준비했다.

[0410] 다음 단계로, 플레이트를 건조한 얼음 상에 놓고, 3.5 μ l의 RHP-Mix를 첨가했다. 상기 플레이트를 호일로 덮었고 1분 동안 68°C 항온 수조에서 배양했다. 이후에, 상기 플레이트를 보통의 얼음 상에 놓았다. 그 다음으로, 7 μ l의 RT-Mix를 첨가하고 웰들은 알루미늄 호일로 덮었다. RT-증폭 - 프로그램은 이어지는 온도 및 지속 시간 동안 진행된다: 42°C에서 5분간, 25°C에서 10분간, 50°C에서 60분간, 94°C에서 5분간 및 4°C에서 유지. cDNA를 -20°C에서 저장했다.

[0411] Nested PCR은 다음과 같이 진행된다. 인간 IgH, Igk 및 IgL V 유전자 전사물을 독립적으로 PCR 증폭시켰다. 3.5 μ l cDNA를 주형으로 사용했다. 모든 PCR 반응을 웰 당 총 부피가 40 μ l인 96 웰 플레이트에서 수행했다. 각각의 플레이트에 대하여, 3개의 반응 시험관을 준비했고, 각각의 반응 시험관 안에는 1154 μ l의 물, 150 μ l의 10 x 완충액, 16 μ l의 dNTP, 5 μ l의 5' 프라이머 혼합물, 5 μ l의 3' 프라이머 및 7 μ l의 HotStar Taq(Qiagen)이 있다. 3.5 μ l의 비정제된 일차 PCR 산물은 유전자-특이적 프라이머 또는 프라이머 혼합물로 모든 Nested PCR 반응을 수행했다. 표 16에서 도시된 바와 같이 PCR의 각 순환을 수행했다.

표 16

인간 Ig 유전자 전사물을 증폭하기 위한 PCR 프로그램

단계	온도	시간
Hotstar Taq의 활성화	94 °C	15 min
변성	94 °C	30 sec
어닐링(annealing)	58 °C (IgH/Igk)	30 sec
신장(elongation)	60 °C (IgL)	55 sec (1 st PCR) 45 sec (2 nd PCR)
신장(elongation)	72 °C	
최종 신장	72 °C	10 min
유지	4 °C	∞

[0412]

[0413] 다음으로, 로딩 완충액(loading buffer)과 동일한 양을 갖는 1 x TBE 완충액 내에 브롬화 에티듐을 함유하는 2% 아가로스 겔 상에서 이차 PCR 중 3 μ l 부분 표본을 45 분 동안 150 V로 진행시켰다. DNA 밴드를 UV 광 하에서 시각화했다. 예상되는 PCR 산물의 크기는, IgY의 경우 약 450 bp, Igk의 경우 약 510 bp 및 Igλ의 경우 약 405 bp였다.

[0414] 4 μ l의 VH, VK 및 VL PCR 산물(어울리는 상응하는 VH 또는 VL 산물과 함께)을 16 μ l ddH₂O와 혼합하여 96 웰 플레이트 안에 주입하고, 플레이트 시퀀싱을 위한 Eurofins MWG 오페론(Ebersberg, 독일)에 제출했다. 10 pmol/ μ l(보존(stock) 50 pmol/ μ l, 1:5 희석)의 시퀀싱 프라이머를 제공했고 표 17에 도시된다.

표 17

[0415]

μ HC	5'Age VH-Mix
YHC	3'IgGinternal
VK	5'Pan-VK
VL	5'VL-Mix

[0416] 시퀀싱 결과를 IgBLAST(NCBI)로 블라스트하여 VH, VK 및 VL 생식세포 유전자를 식별했으며, 이는 도 28A-C(28-36)에 도시된다.

[0417] 실시예 2.3 인간 면역 레퍼토리에서 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍

[0418] 실시예 2.1에서 설명되고 도 4-26에서 도시된 바와 같이 공개적으로 입수가능한 문헌으로부터 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍 데이터를 실시예 2.2에서 설명되고 도 28-36에서 도시되는 바와 같이 인간 표본으로부터 식별

된 데이터와 함께 모았다.

[0419] 모은 데이터를 분석했고 표 18에서 순위에 따라, 즉 인간 면역 레퍼토리에서 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 농도(%) 순위에 따라 도시했다.

[0420] 하기 표 18은 인간 면역 레퍼토리에서 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 사용 빈도에 관한 것으로, Pos는 전체 표본으로부터 VH/VL 쌍 각각의 퍼센트(%)에 의해 결정되는 VH/VL 쌍의 상대적 순위를 나타낸다.

[0421] [표 18]

N= 2137

순위	가변 중쇄	가변 경쇄	%
1	IGHV3-23	IGKV1-5	1,26
2	IGHV4-34	IGKV3-20	1,17
3	IGHV3-23	IGKV3-20	1,12
4	IGHV4-39	IGKV3-15	1,03
5	IGHV3-23	IGKV3-15	0,94
6	IGHV4-59	IGKV1-39/1D-39	0,89
7	IGHV4-39	IGKV1-39/1D-39	0,84
	IGHV4-34	IGKV1-39/1D-39	0,84
8	IGHV4-59	IGKV3-20	0,70
	IGHV1-18	IGKV3-20	0,70
9	IGHV3-30	IGKV3-20	0,66
	IGHV4-39	IGKV1-5	0,66
	IGHV1-69	IGKV1-39/1D-39	0,66
	IGHV5-51	IGLV 1-40	0,66
10	IGHV3-23	IGKV4-1	0,61
	IGHV4-39	IGKV3-20	0,61
	IGHV3-23	IGLV 2-14	0,61
	IGHV4-39	IGLV 3-21	0,61
11	IGHV3-23	IGKV1-39/1D-39	0,56
	IGHV3-30	IGKV1-39/1D-39	0,56
	IGHV3-30	IGKV3-11	0,56
	IGHV1-69	IGKV3-20	0,56
	IGHV3-48	IGKV3-20	0,56
	IGHV1-2	IGKV3-20	0,56
12	IGHV3-30	IGKV4-1	0,51

[0422]

	IGHV5-51	IGLV 2-14	0,51
13	IGHV4-59	IGKV4-1	0,47
	IGHV5-51	IGKV3-20	0,47
	IGHV3-7	IGKV1-39/1D-39	0,47
	IGHV3-7	IGKV1-5	0,47
	IGHV3-15	IGKV3-20	0,47
	IGHV4-39	IGLV 2-14	0,47
	IGHV4-39	IGLV 2-8	0,47
	IGHV4-34	IGLV 2-14	0,47
14	IGHV3-23	IGKV3-11	0,42
	IGHV3-30	IGKV1-5	0,42
	IGHV3-30	IGKV3-15	0,42
	IGHV4-34	IGKV1-5	0,42
	IGHV3-21	IGKV1-5	0,42
	IGHV3-21	IGKV3-15	0,42
	IGHV3-30	IGLV 1-51	0,42
	IGHV4-34	IGLV 1-51	0,42
	IGHV3-21	IGLV 1-51	0,42
	IGHV3-53	IGLV 1-44	0,42
15	IGHV4-59	IGKV3-15	0,37
	IGHV4-34	IGKV3-15	0,37
	IGHV5-51	IGKV4-1	0,37
	IGHV1-69	IGKV4-1	0,37
	IGHV1-69	IGKV3-11	0,37
	IGHV3-7	IGKV3-15	0,37
	IGHV1-18	IGKV1-39/1D-39	0,37
	IGHV3-48	IGKV1-39/1D-39	0,37
	IGHV3-33	IGKV3-15	0,37
	IGHV3-53	IGKV1-5	0,37
	IGHV4-59	IGLV 1-40	0,37
	IGHV1-69	IGLV 2-14	0,37
	IGHV1-69	IGLV 1-44	0,37
	IGHV4-31	IGLV 2-14	0,37
	IGHV1-2	IGLV 2-14	0,37
16	IGHV3-23	IGKV2-28/2D-28	0,33
	IGHV3-30	IGKV1-9	0,33
	IGHV4-34	IGKV4-1	0,33
	IGHV5-51	IGKV1-39/1D-39	0,33
	IGHV5-51	IGKV3-15	0,33
	IGHV1-69	IGKV3-15	0,33
	IGHV1-18	IGKV1-33/1D-33	0,33
	IGHV3-48	IGKV3-11	0,33
	IGHV3-21	IGKV1-39/1D-39	0,33
	IGHV4-31	IGKV3-20	0,33
	IGHV4-31	IGKV3-11	0,33
	IGHV3-30	IGLV 2-14	0,33
	IGHV4-39	IGLV 1-44	0,33
	IGHV1-69	IGLV 1-40	0,33
	IGHV3-9	IGLV 2-23	0,33
17	IGHV3-23	IGKV1-33/1D-33	0,28

[0423]

	IGHV4-39	IGKV3-11	0,28
	IGHV4-34	IGKV3-11	0,28
	IGHV4-34	IGKV2-28/2D-28	0,28
	IGHV5-51	IGKV3-11	0,28
	IGHV5-51	IGKV1-13	0,28
	IGHV3-7	IGKV3-20	0,28
	IGHV3-48	IGKV3-15	0,28
	IGHV3-48	IGKV4-1	0,28
	IGHV3-48	IGKV1-33/1D-33	0,28
	IGHV3-15	IGKV1-39/1D-39	0,28
	IGHV3-15	IGKV1-5	0,28
	IGHV1-2	IGKV1-39/1D-39	0,28
	IGHV3-33	IGKV3-20	0,28
	IGHV3-33	IGKV1-39/1D-39	0,28
	IGHV3-33	IGKV4-1	0,28
	IGHV3-53	IGKV3-15	0,28
	IGHV3-11	IGKV1-5	0,28
	IGHV4-4	IGKV3-20	0,28
	IGHV1-46	IGKV3-20	0,28
	IGHV3-23	IGLV 1-40	0,28
	IGHV3-23	IGLV 3-21	0,28
	IGHV4-39	IGLV 1-40	0,28
	IGHV4-34	IGLV 1-40	0,28
	IGHV4-34	IGLV 1-47	0,28
	IGHV3-48	IGLV 2-14	0,28
	IGHV3-48	IGLV 1-47	0,28
	IGHV1-2	IGLV 1-40	0,28
	IGHV3-9	IGLV 2-14	0,28
	IGHV4-4	IGLV 1-44	0,28
18	IGHV3-23	IGKV1-17	0,23
	IGHV4-39	IGKV4-1	0,23
	IGHV4-39	IGKV2-28/2D-28	0,23
	IGHV1-69	IGKV1-5	0,23
	IGHV3-7	IGKV4-1	0,23
	IGHV1-18	IGKV1-5	0,23
	IGHV1-18	IGKV2-28/2D-28	0,23
	IGHV3-21	IGKV3-20	0,23
	IGHV3-33	IGKV1-5	0,23
	IGHV3-53	IGKV1-39/1D-39	0,23
	IGHV3-53	IGKV1-33/1D-33	0,23
	IGHV3-11	IGKV1-39/1D-39	0,23
	IGHV3-11	IGKV3-15	0,23
	IGHV4-4	IGKV1-39/1D-39	0,23
	IGHV1-46	IGKV1-39/1D-39	0,23
	IGHV4-61	IGKV4-1	0,23
	IGHV3-23	IGLV 1-44	0,23
	IGHV3-23	IGLV 2-11	0,23
	IGHV3-23	IGLV 3-1	0,23
	IGHV3-30	IGLV 1-40	0,23
	IGHV4-39	IGLV 1-51	0,23

[0424]

	IGHV4-39	IGLV 2-23	0,23
	IGHV4-59	IGLV 3-1	0,23
	IGHV5-51	IGLV 1-44	0,23
	IGHV1-69	IGLV 1-51	0,23
	IGHV1-69	IGLV 2-11	0,23
	IGHV1-18	IGLV 2-14	0,23
	IGHV1-18	IGLV 1-40	0,23
	IGHV3-21	IGLV 2-14	0,23
	IGHV1-2	IGLV 1-44	0,23
19	IGHV3-23	IGKV1-27	0,19
	IGHV3-23	IGKV1-8	0,19
	IGHV3-30	IGKV2-28/2D-28	0,19
	IGHV4-39	IGKV1-33/1D-33	0,19
	IGHV4-39	IGKV1-27	0,19
	IGHV4-59	IGKV3-11	0,19
	IGHV5-51	IGKV1-5	0,19
	IGHV5-51	IGKV2-28/2D-28	0,19
	IGHV3-7	IGKV3-11	0,19
	IGHV3-7	IGKV2-30	0,19
	IGHV1-18	IGKV3-15	0,19
	IGHV1-18	IGKV3-11	0,19
	IGHV3-21	IGKV4-1	0,19
	IGHV3-15	IGKV3-15	0,19
	IGHV3-15	IGKV4-1	0,19
	IGHV3-15	IGKV1-33/1D-33	0,19
	IGHV4-31	IGKV1-39/1D-39	0,19
	IGHV4-31	IGKV1-5	0,19
	IGHV4-31	IGKV3-15	0,19
	IGHV4-31	IGKV2-28/2D-28	0,19
	IGHV3-33	IGKV2-28/2D-28	0,19
	IGHV3-53	IGKV4-1	0,19
	IGHV3-53	IGKV3-11	0,19
	IGHV3-74	IGKV3-20	0,19
	IGHV4-4	IGKV1-5	0,19
	IGHV1-46	IGKV1-9	0,19
	IGHV1-8	IGKV3-15	0,19
	IGHV1-24	IGKV3-11	0,19
	IGHV1-3	IGKV1-39/1D-39	0,19
	IGHV3-49	IGKV1-39/1D-39	0,19
	IGHV3-23	IGLV 2-23	0,19
	IGHV3-30	IGLV 1-44	0,19
	IGHV4-59	IGLV 2-14	0,19
	IGHV4-59	IGLV 1-44	0,19
	IGHV4-59	IGLV 1-51	0,19
	IGHV4-34	IGLV 2-8	0,19
	IGHV5-51	IGLV 1-47	0,19
	IGHV1-69	IGLV 2-8	0,19
	IGHV3-7	IGLV 1-40	0,19
	IGHV3-15	IGLV 1-44	0,19
	IGHV4-31	IGLV 2-23	0,19

[0425]

	IGHV3-33	IGLV 2-14	0,19
	IGHV3-33	IGLV 1-47	0,19
	IGHV3-33	IGLV 2-23	0,19
	IGHV3-33	IGLV 3-21	0,19
	IGHV3-9	IGLV 1-44	0,19
	IGHV4-4	IGLV 2-14	0,19
	IGHV1-46	IGLV 1-51	0,19
	IGHV4-61	IGLV 1-44	0,19
	IGHV1-8	IGLV 2-14	0,19
	IGHV4-28	IGLV 2-23	0,19
20	IGHV3-23	IGKV1-9	0,14
	IGHV3-23	IGKV1-16	0,14
	IGHV4-39	IGKV1-6	0,14
	IGHV4-59	IGKV1-5	0,14
	IGHV4-59	IGKV1-27	0,14
	IGHV4-34	IGKV1-33/1D-33	0,14
	IGHV5-51	IGKV1-33/1D-33	0,14
	IGHV1-69	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV1-69	IGKV1-33/1D-33	0,14
	IGHV3-7	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV3-7	IGKV1-8	0,14
	IGHV3-48	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV3-48	IGKV1-8	0,14
	IGHV3-15	IGKV3-11	0,14
	IGHV3-15	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV3-15	IGKV1-9	0,14
	IGHV4-31	IGKV1-33/1D-33	0,14
	IGHV1-2	IGKV1-5	0,14
	IGHV1-2	IGKV4-1	0,14
	IGHV3-11	IGKV3-20	0,14
	IGHV3-11	IGKV3-11	0,14
	IGHV3-11	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV3-9	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV3-9	IGKV1-5	0,14
	IGHV3-9	IGKV4-1	0,14
	IGHV3-9	IGKV2D-29	0,14
	IGHV3-74	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV3-74	IGKV1-5	0,14
	IGHV3-74	IGKV3-15	0,14
	IGHV3-74	IGKV4-1	0,14
	IGHV4-4	IGKV3-15	0,14
	IGHV4-4	IGKV4-1	0,14
	IGHV4-4	IGKV3-11	0,14
	IGHV1-46	IGKV1-5	0,14
	IGHV1-46	IGKV3-15	0,14
	IGHV4-61	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV1-24	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV1-24	IGKV3-15	0,14
	IGHV1-3	IGKV3-15	0,14
	IGHV3-49	IGKV1-17	0,14

[0426]

	IGHV3-43	IGKV1-5	0,14
	IGHV7-81	IGKV3-20	0,14
	IGHV3-13	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV3-23	IGLV 1-51	0,14
	IGHV3-30	IGLV 3-21	0,14
	IGHV3-30	IGLV 3-1	0,14
	IGHV4-39	IGLV 1-47	0,14
	IGHV4-39	IGLV 2-18	0,14
	IGHV4-59	IGLV 1-47	0,14
	IGHV5-51	IGLV 2-23	0,14
	IGHV5-51	IGLV 3-21	0,14
	IGHV1-69	IGLV 2-23	0,14
	IGHV3-7	IGLV 1-44	0,14
	IGHV3-7	IGLV 1-51	0,14
	IGHV3-7	IGLV 1-47	0,14
	IGHV3-7	IGLV 3-21	0,14
	IGHV1-18	IGLV 1-44	0,14
	IGHV1-18	IGLV 1-51	0,14
	IGHV3-48	IGLV 3-1	0,14
	IGHV3-21	IGLV 1-47	0,14
	IGHV3-15	IGLV 7-46	0,14
	IGHV4-31	IGLV 1-40	0,14
	IGHV4-31	IGLV 1-51	0,14
	IGHV4-31	IGLV 1-47	0,14
	IGHV1-2	IGLV 1-51	0,14
	IGHV1-2	IGLV 2-23	0,14
	IGHV1-2	IGLV 3-1	0,14
	IGHV3-11	IGLV 2-14	0,14
	IGHV3-11	IGLV 1-44	0,14
	IGHV3-11	IGLV 2-11	0,14
	IGHV3-11	IGLV 3-1	0,14
	IGHV3-9	IGLV 1-47	0,14
	IGHV3-9	IGLV 2-11	0,14
	IGHV3-74	IGLV 2-23	0,14
	IGHV3-74	IGLV 3-21	0,14
	IGHV4-4	IGLV 1-40	0,14
	IGHV1-46	IGLV 2-14	0,14
	IGHV1-46	IGLV 1-44	0,14
	IGHV4-61	IGLV 2-14	0,14
21	IGHV3-23	IGKV2D-29	0,09
	IGHV3-23	IGKV2-29	0,09
	IGHV3-23	IGKV2-40/2D-40	0,09
	IGHV3-30	IGKV1-33/1D-33	0,09
	IGHV3-30	IGKV2-30	0,09
	IGHV3-30	IGKV1-8	0,09
	IGHV3-30	IGKV1-6	0,09
	IGHV3-30	IGKV2-24	0,09
	IGHV3-30	IGKV1D-8	0,09
	IGHV4-39	IGKV2-30	0,09
	IGHV4-59	IGKV1-33/1D-33	0,09

[0427]

	IGHV4-59	IGKV1-12	0,09
	IGHV4-34	IGKV1-9	0,09
	IGHV4-34	IGKV1-17	0,09
	IGHV4-34	IGKV1-16	0,09
	IGHV5-51	IGKV2-30	0,09
	IGHV1-69	IGKV1-27	0,09
	IGHV1-69	IGKV1-8	0,09
	IGHV1-69	IGKV3D-15	0,09
	IGHV3-7	IGKV1-9	0,09
	IGHV3-7	IGKV1-17	0,09
	IGHV3-7	IGKV1-27	0,09
	IGHV3-7	IGKV1-13	0,09
	IGHV1-18	IGKV4-1	0,09
	IGHV1-18	IGKV2-30	0,09
	IGHV3-48	IGKV1-9	0,09
	IGHV3-48	IGKV1-17	0,09
	IGHV3-48	IGKV1-16	0,09
	IGHV3-21	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-21	IGKV2-28/2D-28	0,09
	IGHV3-21	IGKV1-27	0,09
	IGHV3-21	IGKV1-8	0,09
	IGHV3-21	IGKV1-6	0,09
	IGHV4-31	IGKV4-1	0,09
	IGHV4-31	IGKV1-17	0,09
	IGHV4-31	IGKV1-27	0,09
	IGHV1-2	IGKV3-15	0,09
	IGHV1-2	IGKV2-28/2D-28	0,09
	IGHV1-2	IGKV1-27	0,09
	IGHV3-33	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-33	IGKV1-33/1D-33	0,09
	IGHV3-33	IGKV1-9	0,09
	IGHV3-53	IGKV3-20	0,09
	IGHV3-53	IGKV1-27	0,09
	IGHV3-53	IGKV1-8	0,09
	IGHV3-11	IGKV4-1	0,09
	IGHV3-11	IGKV1-6	0,09
	IGHV3-9	IGKV3-15	0,09
	IGHV3-9	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-9	IGKV1-16	0,09
	IGHV3-74	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-74	IGKV2-30	0,09
	IGHV4-4	IGKV2-28/2D-28	0,09
	IGHV4-4	IGKV2D-29	0,09
	IGHV1-46	IGKV3-11	0,09
	IGHV1-46	IGKV1-27	0,09
	IGHV1-46	IGKV1-16	0,09
	IGHV4-61	IGKV3-15	0,09
	IGHV1-8	IGKV3-20	0,09
	IGHV1-8	IGKV4-1	0,09
	IGHV1-24	IGKV2-28/2D-28	0,09

[0428]

	IGHV1-24	IGKV2-30	0,09
	IGHV1-3	IGKV3-20	0,09
	IGHV3-49	IGKV3-20	0,09
	IGHV3-49	IGKV1-5	0,09
	IGHV3-43	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-64	IGKV1-5	0,09
	IGHV3-64	IGKV3-11	0,09
	IGHV7-81	IGKV1-39/1D-39	0,09
	IGHV3-13	IGKV4-1	0,09
	IGHV3-72	IGKV1-5	0,09
	IGHV3-72	IGKV3-15	0,09
	IGHV1-58	IGKV3-20	0,09
	IGHV3-66	IGKV1-39/1D-39	0,09
	IGHV3-23	IGLV 1-36	0,09
	IGHV3-30	IGLV 2-23	0,09
	IGHV3-30	IGLV 2-11	0,09
	IGHV3-30	IGLV 9-49	0,09
	IGHV3-30	IGLV 3-10	0,09
	IGHV4-39	IGLV 3-1	0,09
	IGHV4-39	IGLV 6-57	0,09
	IGHV4-59	IGLV 2-23	0,09
	IGHV4-59	IGLV 3-21	0,09
	IGHV4-59	IGLV 2-11	0,09
	IGHV4-34	IGLV 1-44	0,09
	IGHV4-34	IGLV 2-23	0,09
	IGHV4-34	IGLV 3-21	0,09
	IGHV4-34	IGLV 3-25	0,09
	IGHV5-51	IGLV 1-36	0,09
	IGHV5-51	IGLV 3-25	0,09
	IGHV1-69	IGLV 1-47	0,09
	IGHV1-69	IGLV 3-21	0,09
	IGHV1-69	IGLV 3-1	0,09
	IGHV3-7	IGLV 2-14	0,09
	IGHV1-18	IGLV 2-8	0,09
	IGHV1-18	IGLV 6-57	0,09
	IGHV3-48	IGLV 2-11	0,09
	IGHV3-21	IGLV 1-40	0,09
	IGHV3-21	IGLV 1-44	0,09
	IGHV3-21	IGLV 3-21	0,09
	IGHV3-21	IGLV 2-11	0,09
	IGHV3-21	IGLV 4-69	0,09
	IGHV3-15	IGLV 1-40	0,09
	IGHV3-15	IGLV 1-51	0,09
	IGHV3-15	IGLV 3-1	0,09
	IGHV3-15	IGLV 2-8	0,09
	IGHV3-15	IGLV 7-43	0,09
	IGHV4-31	IGLV 3-21	0,09
	IGHV1-2	IGLV 2-8	0,09
	IGHV1-2	IGLV 7-46	0,09
	IGHV3-33	IGLV 6-57	0,09

[0429]

	IGHV3-53	IGLV 2-14	0,09
	IGHV3-11	IGLV 2-23	0,09
	IGHV3-11	IGLV 3-21	0,09
	IGHV3-11	IGLV 4-69	0,09
	IGHV3-9	IGLV 3-21	0,09
	IGHV3-9	IGLV 2-8	0,09
	IGHV3-74	IGLV 2-14	0,09
	IGHV4-4	IGLV 1-51	0,09
	IGHV4-4	IGLV 2-23	0,09
	IGHV4-4	IGLV 2-8	0,09
	IGHV1-46	IGLV 2-11	0,09
	IGHV4-61	IGLV 2-11	0,09
	IGHV1-8	IGLV 1-47	0,09
	IGHV1-24	IGLV 2-23	0,09
	IGHV1-3	IGLV 2-14	0,09
	IGHV1-3	IGLV 2-23	0,09
	IGHV1-3	IGLV 3-1	0,09
	IGHV3-49	IGLV 3-21	0,09
	IGHV4-28	IGLV 1-44	0,09
	IGHV4-28	IGLV 1-51	0,09
	IGHV4-28	IGLV 1-36	0,09
	IGHV3-43	IGLV 1-51	0,09
	IGHV3-64	IGLV 3-21	0,09
	IGHV7-81	IGLV 2-14	0,09
	IGHV7-81	IGLV 3-21	0,09
22	IGHV3-23	IGKV2-30	0,05
	IGHV3-23	IGKV1-12	0,05
	IGHV3-23	IGKV3D-20	0,05
	IGHV3-23	IGKV1D-12	0,05
	IGHV3-23	IGKV1D-13	0,05
	IGHV3-30	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-30	IGKV1-27	0,05
	IGHV3-30	IGKV1-16	0,05
	IGHV3-30	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-30	IGKV1-13	0,05
	IGHV3-30	IGKV5-2	0,05
	IGHV3-30	IGKV2D-30	0,05
	IGHV4-39	IGKV1-17	0,05
	IGHV4-39	IGKV3D-15	0,05
	IGHV4-59	IGKV2-30	0,05
	IGHV4-59	IGKV1-17	0,05
	IGHV4-59	IGKV1-8	0,05
	IGHV4-59	IGKV1-16	0,05
	IGHV4-59	IGKV1D-43	0,05
	IGHV4-59	IGKV2D-30	0,05
	IGHV4-59	IGKV1D-17	0,05
	IGHV4-34	IGKV1-27	0,05
	IGHV4-34	IGKV1-8	0,05
	IGHV4-34	IGKV1-12	0,05
	IGHV5-51	IGKV1-9	0,05

[0430]

	IGHV5-51	IGKV1-17	0,05
	IGHV5-51	IGKV1-27	0,05
	IGHV5-51	IGKV1-12	0,05
	IGHV1-69	IGKV2-30	0,05
	IGHV1-69	IGKV1-16	0,05
	IGHV1-69	IGKV1-6	0,05
	IGHV1-69	IGKV2D-29	0,05
	IGHV1-69	IGKV2D-30	0,05
	IGHV1-69	IGKV1D-16	0,05
	IGHV3-7	IGKV1-6	0,05
	IGHV3-7	IGKV1D-8	0,05
	IGHV3-7	IGKV1D-17	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-17	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-8	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-16	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-12	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-13	0,05
	IGHV1-18	IGKV2-40/2D-40	0,05
	IGHV3-48	IGKV1-5	0,05
	IGHV3-48	IGKV1-27	0,05
	IGHV3-48	IGKV1-6	0,05
	IGHV3-48	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-48	IGKV3D-20	0,05
	IGHV3-48	IGKV1D-12	0,05
	IGHV3-21	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-15	IGKV2-30	0,05
	IGHV3-15	IGKV1-27	0,05
	IGHV3-15	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-15	IGKV1-13	0,05
	IGHV3-15	IGKV1D-43	0,05
	IGHV4-31	IGKV1-6	0,05
	IGHV4-31	IGKV2-29	0,05
	IGHV4-31	IGKV2-40/2D-40	0,05
	IGHV1-2	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-2	IGKV2-30	0,05
	IGHV1-2	IGKV1-8	0,05
	IGHV1-2	IGKV1-6	0,05
	IGHV3-33	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-33	IGKV1-8	0,05
	IGHV3-33	IGKV1-16	0,05
	IGHV3-33	IGKV2-24	0,05
	IGHV3-53	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-53	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-53	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-53	IGKV1-12	0,05
	IGHV3-53	IGKV2-29	0,05
	IGHV3-53	IGKV1D-16	0,05
	IGHV3-11	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV3-11	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-11	IGKV1-17	0,05

[0431]

	IGHV3-11	IGKV1-12	0,05
	IGHV3-11	IGKV1D-8	0,05
	IGHV3-9	IGKV3-20	0,05
	IGHV3-9	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-9	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-9	IGKV1-27	0,05
	IGHV3-9	IGKV1-8	0,05
	IGHV3-9	IGKV1-12	0,05
	IGHV3-9	IGKV1D-8	0,05
	IGHV4-4	IGKV1-17	0,05
	IGHV4-4	IGKV1-27	0,05
	IGHV4-4	IGKV1-6	0,05
	IGHV4-4	IGKV1D-8	0,05
	IGHV1-46	IGKV4-1	0,05
	IGHV1-46	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-46	IGKV1-8	0,05
	IGHV4-61	IGKV3-11	0,05
	IGHV4-61	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV4-61	IGKV1-16	0,05
	IGHV4-61	IGKV1-12	0,05
	IGHV4-61	IGKV1-13	0,05
	IGHV1-8	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV1-8	IGKV1-5	0,05
	IGHV1-8	IGKV3-11	0,05
	IGHV1-8	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV1-8	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-8	IGKV1-9	0,05
	IGHV1-8	IGKV2-29	0,05
	IGHV1-24	IGKV3-20	0,05
	IGHV1-24	IGKV4-1	0,05
	IGHV1-24	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-24	IGKV2-24	0,05
	IGHV1-24	IGKV2-40/2D-40	0,05
	IGHV1-3	IGKV1-5	0,05
	IGHV1-3	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-3	IGKV2-30	0,05
	IGHV1-3	IGKV1-6	0,05
	IGHV1-3	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-49	IGKV3-15	0,05
	IGHV3-49	IGKV3-11	0,05
	IGHV3-49	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV4-28	IGKV3-20	0,05
	IGHV4-28	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV3-43	IGKV3-15	0,05
	IGHV3-43	IGKV4-1	0,05
	IGHV3-43	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-43	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV3-64	IGKV3-15	0,05
	IGHV3-64	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-64	IGKV2D-29	0,05

[0432]

	IGHV7-81	IGKV1-5	0,05
	IGHV7-81	IGKV4-1	0,05
	IGHV7-81	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-13	IGKV1-5	0,05
	IGHV3-13	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV3-13	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-13	IGKV2-30	0,05
	IGHV3-72	IGKV3-20	0,05
	IGHV3-72	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-72	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-72	IGKV1-16	0,05
	IGHV3-73	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-73	IGKV1-9	0,05
	IGHV1-58	IGKV1-5	0,05
	IGHV1-58	IGKV4-1	0,05
	IGHV1-58	IGKV3-11	0,05
	IGHV4-30.2	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV4-30.2	IGKV4-1	0,05
	IGHV7-4.1	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV7-4.1	IGKV1-5	0,05
	IGHV3-20	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV3-23	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-23	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-23	IGLV 7-43	0,05
	IGHV3-23	IGLV 2-18	0,05
	IGHV3-23	IGLV 3-19	0,05
	IGHV3-30	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-30	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-30	IGLV 6-57	0,05
	IGHV3-30	IGLV 3-27	0,05
	IGHV4-39	IGLV 7-46	0,05
	IGHV4-39	IGLV 3-9	0,05
	IGHV4-59	IGLV 2-8	0,05
	IGHV4-59	IGLV 6-57	0,05
	IGHV4-59	IGLV 3-12	0,05
	IGHV4-34	IGLV 2-11	0,05
	IGHV4-34	IGLV 1-36	0,05
	IGHV4-34	IGLV 7-43	0,05
	IGHV4-34	IGLV 9-49	0,05
	IGHV5-51	IGLV 7-43	0,05
	IGHV1-69	IGLV 6-57	0,05
	IGHV1-69	IGLV 3-25	0,05
	IGHV1-69	IGLV 3-10	0,05
	IGHV3-7	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-7	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-7	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-7	IGLV 7-46	0,05
	IGHV3-7	IGLV 3-27	0,05
	IGHV1-18	IGLV 2-23	0,05

[0433]

	IGHV1-18	IGLV 2-11	0,05
	IGHV1-18	IGLV 1-36	0,05
	IGHV1-18	IGLV 3-25	0,05
	IGHV1-18	IGLV 3-10	0,05
	IGHV3-48	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-48	IGLV 1-44	0,05
	IGHV3-48	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-48	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-48	IGLV 3-21	0,05
	IGHV3-48	IGLV 3-25	0,05
	IGHV3-48	IGLV 7-46	0,05
	IGHV3-48	IGLV 9-49	0,05
	IGHV3-21	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-21	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-21	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-21	IGLV 6-57	0,05
	IGHV3-21	IGLV 3-25	0,05
	IGHV3-21	IGLV 7-46	0,05
	IGHV3-15	IGLV 2-14	0,05
	IGHV3-15	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-15	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-15	IGLV 3-21	0,05
	IGHV3-15	IGLV 6-57	0,05
	IGHV3-15	IGLV 3-25	0,05
	IGHV3-15	IGLV 2-18	0,05
	IGHV3-15	IGLV 3-22	0,05
	IGHV4-31	IGLV 1-44	0,05
	IGHV4-31	IGLV 2-11	0,05
	IGHV4-31	IGLV 3-1	0,05
	IGHV4-31	IGLV 4-69	0,05
	IGHV4-31	IGLV 7-43	0,05
	IGHV1-2	IGLV 3-21	0,05
	IGHV1-2	IGLV 2-11	0,05
	IGHV1-2	IGLV 3-27	0,05
	IGHV3-33	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-33	IGLV 1-44	0,05
	IGHV3-33	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-33	IGLV 2-11	0,05
	IGHV3-33	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-33	IGLV 4-69	0,05
	IGHV3-33	IGLV 3-27	0,05
	IGHV3-33	IGLV 9-49	0,05
	IGHV3-33	IGLV 3-9	0,05
	IGHV3-53	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-53	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-53	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-53	IGLV 2-11	0,05
	IGHV3-53	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-53	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-53	IGLV 7-46	0,05

[0434]

IGHV3-11	IGLV 1-40	0,05
IGHV3-11	IGLV 1-51	0,05
IGHV3-11	IGLV 1-47	0,05
IGHV3-11	IGLV 2-8	0,05
IGHV3-11	IGLV 3-25	0,05
IGHV3-11	IGLV 7-46	0,05
IGHV3-11	IGLV 9-49	0,05
IGHV3-11	IGLV 8-61	0,05
IGHV3-9	IGLV 1-40	0,05
IGHV3-9	IGLV 1-51	0,05
IGHV3-9	IGLV 4-69	0,05
IGHV3-9	IGLV 4-60	0,05
IGHV3-74	IGLV 1-47	0,05
IGHV3-74	IGLV 2-11	0,05
IGHV3-74	IGLV 3-1	0,05
IGHV3-74	IGLV 2-8	0,05
IGHV3-74	IGLV 7-43	0,05
IGHV3-74	IGLV 7-46	0,05
IGHV4-4	IGLV 2-11	0,05
IGHV4-4	IGLV 3-1	0,05
IGHV4-4	IGLV 3-25	0,05
IGHV4-4	IGLV 9-49	0,05
IGHV1-46	IGLV 1-40	0,05
IGHV1-46	IGLV 1-47	0,05
IGHV1-46	IGLV 2-23	0,05
IGHV1-46	IGLV 3-21	0,05
IGHV1-46	IGLV 6-57	0,05
IGHV4-61	IGLV 2-23	0,05
IGHV4-61	IGLV 3-21	0,05
IGHV4-61	IGLV 3-1	0,05
IGHV4-61	IGLV 7-43	0,05
IGHV1-8	IGLV 1-51	0,05
IGHV1-8	IGLV 2-11	0,05
IGHV1-8	IGLV 2-8	0,05
IGHV1-8	IGLV 9-49	0,05
IGHV1-24	IGLV 2-14	0,05
IGHV1-24	IGLV 1-40	0,05
IGHV1-24	IGLV 1-44	0,05
IGHV1-24	IGLV 3-21	0,05
IGHV1-24	IGLV 2-11	0,05
IGHV1-3	IGLV 1-40	0,05
IGHV3-49	IGLV 2-14	0,05
IGHV3-49	IGLV 1-40	0,05
IGHV3-49	IGLV 2-23	0,05
IGHV3-49	IGLV 2-8	0,05
IGHV4-28	IGLV 2-14	0,05
IGHV3-43	IGLV 2-14	0,05
IGHV3-43	IGLV 2-11	0,05
IGHV3-43	IGLV 3-1	0,05
IGHV3-43	IGLV 1-36	0,05

[0435]

IGHV3-43	IGLV 9-49	0,05
IGHV3-64	IGLV 2-14	0,05
IGHV3-64	IGLV 7-43	0,05
IGHV7-81	IGLV 1-40	0,05
IGHV3-13	IGLV 1-40	0,05
IGHV3-13	IGLV 1-47	0,05
IGHV3-72	IGLV 1-51	0,05
IGHV3-72	IGLV 4-69	0,05
IGHV3-73	IGLV 1-40	0,05
IGHV3-73	IGLV 1-51	0,05
IGHV3-73	IGLV 1-47	0,05
IGHV3-73	IGLV 2-11	0,05
IGHV3-73	IGLV 6-57	0,05
IGHV1-58	IGLV 2-14	0,05
IGHV3-66	IGLV 1-44	0,05
IGHV3-66	IGLV 1-47	0,05
IGHV3-66	IGLV 3-25	0,05
IGHV4-30.2	IGLV 3-21	0,05
IGHV7-4.1	IGLV 1-51	0,05
IGHV3-20	IGLV 2-14	0,05

[0436]

[0437] 실시예 2.4 "나이트" 인간 면역 레퍼토리에서 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 사용

[0438] 또한, 나이트 인간 레퍼토리에서 생식세포 유전자의 사용을 식별하기 위하여, 실시예 2.1에서 설명되고 도 4-26에서 도시된 바와 같이 공개적으로 입수가 가능한 문헌으로부터 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍 데이터 및 실시예 2.2에서 설명되고 도 28-36에서 도시된 바와 같이 인간 표본으로부터 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍 데이터를 포함하는 모든 데이터를 분석했다. 나이트, 항원 비경험 및 항원 경험 B 세포 집단을 구별하는 것은 중요

하다. 나이브, 항원 비경험 B 세포는 미성숙 B 세포, 새로운 이주 B 세포, 및 성숙한 나이브 B 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 이 때 항체 서열은 여전히 생식세포이다. 항원 경험 B 세포는 IgG 항체 분비 세포, 및 IgM 및 IgG 기억 B 세포를 포함하지만 이에 제한되지 않으며, 이 때 대부분의 항체는 체세포초돌연변이를 포함한다.

[0439] 상이한 생식세포 유전자 쌍이 2개의 B 세포 집단, 나이브 항원 비경험 B 세포와 항원 경험 B 세포 집단 사이에서 과다 표시되는 것으로 여겨진다. 본원의 양태는 임의의 면역원에 대항하는 항체 또는 이의 기능성 단편을 식별하기 위해 사용될 수 있는 항체 또는 이의 기능성 단편의 집합을 제조하는 것이며, 그러므로, 나이브, 항원 비경험 면역 레퍼토리어에서 두드러지게 발현된 VH/VL 생식세포 단백질 쌍을 포함하는 집합을 생산하는 것이 바람직할 것이다.

[0440] 나이브 항원 비경험 면역 레퍼토리어에서 두드러지게 발현된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 식별하기 위하여, 실시예 2.1에서 설명되고 도 4-26에서 도시된 바와 같이 공개적으로 입수가능한 문헌으로부터 모은 데이터 및 실시예 2.2에서 설명되고 도 28-36에서 도시된 바와 같이 인간 표본으로부터 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍 데이터를 분석하여 미성숙 B 세포, 새로운 이주 B 세포 및 성숙한 나이브 세포로 이루어진 항원 비경험 B 세포 집단을 항원 경험 B 세포 집단을 분리했다. 나이브 인간 면역 레퍼토리를 대표하는 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 순위는 표 19에서 도시된다.

[0441] [표 19]

N= 1345

순위	가변 중쇄	가변 경쇄	%
1	IGHV4-34	IGKV3-20	1,56
2	IGHV4-39	IGKV3-15	1,19
3	IGHV4-34	IGKV1-39/1D-39	0,97
4	IGHV3-23	IGKV3-20	0,89
	IGHV4-59	IGKV1-39/1D-39	0,89
	IGHV1-69	IGKV1-39/1D-39	0,89
5	IGHV4-39	IGKV1-39/1D-39	0,82
	IGHV1-18	IGKV3-20	0,82
	IGHV5-51	IGLV 1-40	0,82
6	IGHV4-39	IGKV3-20	0,74
	IGHV4-39	IGKV1-5	0,74
	IGHV4-59	IGKV3-20	0,74
7	IGHV3-23	IGKV1-5	0,67
	IGHV3-23	IGKV3-15	0,67
	IGHV3-30	IGKV1-39/1D-39	0,67
	IGHV3-30	IGKV3-11	0,67
	IGHV1-69	IGKV3-20	0,67
	IGHV4-39	IGLV 2-8	0,67
8	IGHV3-23	IGKV1-39/1D-39	0,59
	IGHV3-30	IGKV1-5	0,59
	IGHV3-7	IGKV1-39/1D-39	0,59
	IGHV1-2	IGKV3-20	0,59
	IGHV4-59	IGLV 1-40	0,59
	IGHV4-34	IGLV 2-14	0,59

[0442]

9	IGHV3-23	IGKV4-1	0,52
	IGHV5-51	IGKV3-20	0,52
	IGHV5-51	IGKV4-1	0,52
	IGHV3-53	IGKV1-5	0,52
	IGHV3-23	IGLV 2-14	0,52
	IGHV4-34	IGLV 1-51	0,52
	IGHV1-69	IGLV 2-14	0,52
	IGHV1-69	IGLV 1-40	0,52
10	IGHV3-23	IGKV1-33/1D-33	0,45
	IGHV3-30	IGKV3-20	0,45
	IGHV3-30	IGKV4-1	0,45
	IGHV3-30	IGKV1-9	0,45
	IGHV4-59	IGKV4-1	0,45
	IGHV4-34	IGKV3-15	0,45
	IGHV4-34	IGKV4-1	0,45
	IGHV1-18	IGKV1-33/1D-33	0,45
	IGHV3-48	IGKV3-20	0,45
	IGHV3-48	IGKV3-11	0,45
	IGHV3-21	IGKV1-39/1D-39	0,45
	IGHV3-21	IGKV3-15	0,45
	IGHV3-15	IGKV3-20	0,45
	IGHV3-15	IGKV1-39/1D-39	0,45
	IGHV3-30	IGLV 2-14	0,45
	IGHV5-51	IGLV 2-14	0,45
	IGHV3-21	IGLV 1-51	0,45
	IGHV1-2	IGLV 2-14	0,45
11	IGHV3-23	IGKV2-28/2D-28	0,37
	IGHV3-30	IGKV3-15	0,37
	IGHV4-39	IGKV3-11	0,37
	IGHV1-69	IGKV4-1	0,37
	IGHV1-18	IGKV1-39/1D-39	0,37
	IGHV1-18	IGKV1-5	0,37
	IGHV1-18	IGKV2-28/2D-28	0,37
	IGHV3-48	IGKV1-39/1D-39	0,37
	IGHV3-48	IGKV3-15	0,37
	IGHV3-48	IGKV1-33/1D-33	0,37
	IGHV3-21	IGKV1-5	0,37

[0443]

	IGHV3-15	IGKV1-5	0,37
	IGHV4-31	IGKV3-11	0,37
	IGHV3-33	IGKV3-20	0,37
	IGHV3-53	IGKV1-33/1D-33	0,37
	IGHV3-23	IGLV 1-40	0,37
	IGHV3-30	IGLV 1-51	0,37
	IGHV4-39	IGLV 2-14	0,37
	IGHV4-59	IGLV 3-1	0,37
	IGHV1-18	IGLV 1-40	0,37
	IGHV3-48	IGLV 2-14	0,37
	IGHV4-31	IGLV 2-14	0,37
12	IGHV3-23	IGKV3-11	0,30
	IGHV3-23	IGKV1-17	0,30
	IGHV3-23	IGKV1-27	0,30
	IGHV4-39	IGKV1-33/1D-33	0,30
	IGHV4-59	IGKV3-11	0,30
	IGHV4-34	IGKV1-5	0,30
	IGHV4-34	IGKV3-11	0,30
	IGHV4-34	IGKV2-28/2D-28	0,30
	IGHV5-51	IGKV3-15	0,30
	IGHV5-51	IGKV3-11	0,30
	IGHV5-51	IGKV2-28/2D-28	0,30
	IGHV1-69	IGKV1-5	0,30
	IGHV3-7	IGKV3-15	0,30
	IGHV3-48	IGKV4-1	0,30
	IGHV3-21	IGKV3-20	0,30
	IGHV3-21	IGKV4-1	0,30
	IGHV3-15	IGKV3-15	0,30
	IGHV3-33	IGKV1-39/1D-39	0,30
	IGHV3-53	IGKV1-39/1D-39	0,30
	IGHV3-53	IGKV3-15	0,30
	IGHV3-53	IGKV4-1	0,30
	IGHV3-11	IGKV1-39/1D-39	0,30
	IGHV4-4	IGKV3-20	0,30
	IGHV1-46	IGKV3-20	0,30
	IGHV1-46	IGKV1-39/1D-39	0,30
	IGHV3-23	IGLV 3-21	0,30

[0444]

	IGHV3-23	IGLV 3-1	0,30
	IGHV4-39	IGLV 1-40	0,30
	IGHV4-39	IGLV 1-44	0,30
	IGHV4-39	IGLV 1-51	0,30
	IGHV4-59	IGLV 1-51	0,30
	IGHV4-34	IGLV 1-40	0,30
	IGHV4-34	IGLV 1-47	0,30
	IGHV4-34	IGLV 2-8	0,30
	IGHV5-51	IGLV 1-44	0,30
	IGHV1-69	IGLV 1-51	0,30
	IGHV1-69	IGLV 2-8	0,30
	IGHV3-9	IGLV 2-14	0,30
	IGHV3-9	IGLV 2-23	0,30
	IGHV4-4	IGLV 1-44	0,30
	IGHV4-61	IGLV 1-44	0,30
13	IGHV3-23	IGKV1-8	0,22
	IGHV3-30	IGKV2-28/2D-28	0,22
	IGHV4-39	IGKV4-1	0,22
	IGHV4-39	IGKV1-27	0,22
	IGHV5-51	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV1-69	IGKV1-33/1D-33	0,22
	IGHV3-7	IGKV3-20	0,22
	IGHV3-7	IGKV3-11	0,22
	IGHV3-7	IGKV1-8	0,22
	IGHV1-18	IGKV3-11	0,22
	IGHV3-48	IGKV1-8	0,22
	IGHV3-15	IGKV3-11	0,22
	IGHV3-15	IGKV1-33/1D-33	0,22
	IGHV4-31	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV4-31	IGKV3-15	0,22
	IGHV4-31	IGKV1-33/1D-33	0,22
	IGHV1-2	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV1-2	IGKV1-5	0,22
	IGHV3-33	IGKV3-15	0,22
	IGHV3-33	IGKV4-1	0,22
	IGHV3-11	IGKV1-5	0,22
	IGHV3-11	IGKV3-15	0,22

[0445]

	IGHV3-9	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV4-4	IGKV3-15	0,22
	IGHV4-4	IGKV3-11	0,22
	IGHV1-46	IGKV1-9	0,22
	IGHV4-61	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV4-61	IGKV4-1	0,22
	IGHV1-3	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV3-49	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV3-49	IGKV1-17	0,22
	IGHV3-43	IGKV1-5	0,22
	IGHV7-81	IGKV3-20	0,22
	IGHV3-23	IGLV 2-23	0,22
	IGHV3-23	IGLV 2-11	0,22
	IGHV4-39	IGLV 2-23	0,22
	IGHV1-69	IGLV 2-23	0,22
	IGHV1-18	IGLV 2-14	0,22
	IGHV3-48	IGLV 3-1	0,22
	IGHV3-15	IGLV 1-44	0,22
	IGHV4-31	IGLV 1-40	0,22
	IGHV1-2	IGLV 1-40	0,22
	IGHV1-2	IGLV 3-1	0,22
	IGHV3-33	IGLV 2-14	0,22
	IGHV3-33	IGLV 1-47	0,22
	IGHV3-33	IGLV 3-21	0,22
	IGHV3-9	IGLV 1-44	0,22
	IGHV3-9	IGLV 1-47	0,22
	IGHV3-9	IGLV 2-11	0,22
	IGHV1-46	IGLV 1-44	0,22
	IGHV1-8	IGLV 2-14	0,22
14	IGHV3-23	IGKV1-16	0,15
	IGHV3-23	IGKV2D-29	0,15
	IGHV3-23	IGKV2-40/2D-40	0,15
	IGHV3-30	IGKV1-33/1D-33	0,15
	IGHV3-30	IGKV1D-8	0,15
	IGHV4-39	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV4-39	IGKV2-30	0,15
	IGHV4-39	IGKV1-6	0,15

[0446]

	IGHV4-59	IGKV1-5	0,15
	IGHV4-59	IGKV3-15	0,15
	IGHV4-59	IGKV1-33/1D-33	0,15
	IGHV4-34	IGKV1-33/1D-33	0,15
	IGHV4-34	IGKV1-17	0,15
	IGHV4-34	IGKV1-16	0,15
	IGHV5-51	IGKV1-5	0,15
	IGHV5-51	IGKV1-33/1D-33	0,15
	IGHV1-69	IGKV3-15	0,15
	IGHV1-69	IGKV3-11	0,15
	IGHV1-69	IGKV1-8	0,15
	IGHV3-7	IGKV1-5	0,15
	IGHV3-7	IGKV4-1	0,15
	IGHV3-7	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-7	IGKV1-9	0,15
	IGHV3-7	IGKV1-17	0,15
	IGHV3-7	IGKV1-13	0,15
	IGHV1-18	IGKV4-1	0,15
	IGHV1-18	IGKV2-30	0,15
	IGHV3-48	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-48	IGKV1-17	0,15
	IGHV3-21	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-21	IGKV1-8	0,15
	IGHV3-15	IGKV4-1	0,15
	IGHV3-15	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-15	IGKV1-9	0,15
	IGHV4-31	IGKV3-20	0,15
	IGHV4-31	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV1-2	IGKV3-15	0,15
	IGHV1-2	IGKV4-1	0,15
	IGHV1-2	IGKV1-27	0,15
	IGHV3-33	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-33	IGKV1-9	0,15
	IGHV3-53	IGKV3-20	0,15
	IGHV3-53	IGKV3-11	0,15
	IGHV3-53	IGKV1-8	0,15
	IGHV3-11	IGKV3-20	0,15

[0447]

	IGHV3-11	IGKV4-1	0,15
	IGHV3-11	IGKV3-11	0,15
	IGHV3-11	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-11	IGKV1-6	0,15
	IGHV3-9	IGKV1-5	0,15
	IGHV3-9	IGKV1-16	0,15
	IGHV3-9	IGKV2D-29	0,15
	IGHV3-74	IGKV1-39/1D-39	0,15
	IGHV3-74	IGKV1-5	0,15
	IGHV3-74	IGKV4-1	0,15
	IGHV4-4	IGKV1-39/1D-39	0,15
	IGHV4-4	IGKV1-5	0,15
	IGHV4-4	IGKV4-1	0,15
	IGHV4-4	IGKV2D-29	0,15
	IGHV1-46	IGKV3-15	0,15
	IGHV1-46	IGKV1-16	0,15
	IGHV4-61	IGKV3-15	0,15
	IGHV1-24	IGKV3-15	0,15
	IGHV1-24	IGKV3-11	0,15
	IGHV1-24	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-49	IGKV3-20	0,15
	IGHV3-64	IGKV1-5	0,15
	IGHV3-64	IGKV3-11	0,15
	IGHV7-81	IGKV1-39/1D-39	0,15
	IGHV3-13	IGKV1-39/1D-39	0,15
	IGHV3-13	IGKV4-1	0,15
	IGHV3-72	IGKV3-15	0,15
	IGHV3-30	IGLV 1-40	0,15
	IGHV3-30	IGLV 1-44	0,15
	IGHV3-30	IGLV 2-23	0,15
	IGHV3-30	IGLV 3-21	0,15
	IGHV3-30	IGLV 9-49	0,15
	IGHV4-39	IGLV 2-18	0,15
	IGHV4-59	IGLV 2-23	0,15
	IGHV4-59	IGLV 2-11	0,15
	IGHV4-34	IGLV 1-44	0,15
	IGHV4-34	IGLV 2-23	0,15

[0448]

	IGHV4-34	IGLV 3-25	0,15
	IGHV5-51	IGLV 1-47	0,15
	IGHV5-51	IGLV 2-23	0,15
	IGHV5-51	IGLV 3-21	0,15
	IGHV5-51	IGLV 1-36	0,15
	IGHV5-51	IGLV 3-25	0,15
	IGHV1-69	IGLV 1-44	0,15
	IGHV1-69	IGLV 2-11	0,15
	IGHV1-69	IGLV 3-1	0,15
	IGHV1-18	IGLV 1-44	0,15
	IGHV1-18	IGLV 2-8	0,15
	IGHV1-18	IGLV 6-57	0,15
	IGHV3-48	IGLV 1-47	0,15
	IGHV3-21	IGLV 2-14	0,15
	IGHV3-21	IGLV 1-47	0,15
	IGHV3-21	IGLV 2-11	0,15
	IGHV3-15	IGLV 7-46	0,15
	IGHV4-31	IGLV 1-51	0,15
	IGHV4-31	IGLV 1-47	0,15
	IGHV4-31	IGLV 2-23	0,15
	IGHV1-2	IGLV 1-44	0,15
	IGHV1-2	IGLV 1-51	0,15
	IGHV1-2	IGLV 2-23	0,15
	IGHV1-2	IGLV 2-8	0,15
	IGHV3-11	IGLV 3-21	0,15
	IGHV3-11	IGLV 3-1	0,15
	IGHV3-9	IGLV 3-21	0,15
	IGHV3-74	IGLV 3-21	0,15
	IGHV4-4	IGLV 2-14	0,15
	IGHV4-4	IGLV 1-51	0,15
	IGHV1-46	IGLV 1-51	0,15
	IGHV4-61	IGLV 2-11	0,15
	IGHV1-24	IGLV 2-23	0,15
	IGHV1-3	IGLV 2-14	0,15
	IGHV1-3	IGLV 3-1	0,15
	IGHV4-28	IGLV 1-44	0,15
	IGHV4-28	IGLV 1-36	0,15

[0449]

	IGHV3-43	IGLV 1-51	0,15
15	IGHV3-23	IGKV1-9	0,07
	IGHV3-23	IGKV2-30	0,07
	IGHV3-23	IGKV1-12	0,07
	IGHV3-23	IGKV2-29	0,07
	IGHV3-23	IGKV3D-20	0,07
	IGHV3-23	IGKV1D-12	0,07
	IGHV3-30	IGKV2-30	0,07
	IGHV3-30	IGKV1-27	0,07
	IGHV3-30	IGKV1-16	0,07
	IGHV3-30	IGKV1-6	0,07
	IGHV3-30	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-30	IGKV2-24	0,07
	IGHV3-30	IGKV2D-30	0,07
	IGHV4-39	IGKV1-17	0,07
	IGHV4-59	IGKV2-30	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-17	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-27	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-8	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-16	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-12	0,07
	IGHV4-59	IGKV1D-17	0,07
	IGHV4-34	IGKV1-9	0,07
	IGHV4-34	IGKV1-27	0,07
	IGHV4-34	IGKV1-8	0,07
	IGHV4-34	IGKV1-12	0,07
	IGHV5-51	IGKV1-17	0,07
	IGHV5-51	IGKV1-27	0,07
	IGHV1-69	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV1-69	IGKV2-30	0,07
	IGHV1-69	IGKV1-16	0,07
	IGHV1-69	IGKV2D-29	0,07
	IGHV1-69	IGKV2D-30	0,07
	IGHV1-69	IGKV1D-16	0,07
	IGHV1-69	IGKV3D-15	0,07
	IGHV3-7	IGKV2-30	0,07
	IGHV3-7	IGKV1-27	0,07

[0450]

	IGHV3-7	IGKV1D-8	0,07
	IGHV3-7	IGKV1D-17	0,07
	IGHV1-18	IGKV3-15	0,07
	IGHV1-18	IGKV1-8	0,07
	IGHV1-18	IGKV1-16	0,07
	IGHV1-18	IGKV1-12	0,07
	IGHV1-18	IGKV1-13	0,07
	IGHV1-18	IGKV2-40/2D-40	0,07
	IGHV3-48	IGKV1-5	0,07
	IGHV3-48	IGKV1-9	0,07
	IGHV3-48	IGKV1-27	0,07
	IGHV3-48	IGKV1-16	0,07
	IGHV3-48	IGKV1-6	0,07
	IGHV3-48	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-48	IGKV3D-20	0,07
	IGHV3-48	IGKV1D-12	0,07
	IGHV3-21	IGKV3-11	0,07
	IGHV3-21	IGKV1-27	0,07
	IGHV3-21	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-15	IGKV1-27	0,07
	IGHV3-15	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-15	IGKV1D-43	0,07
	IGHV4-31	IGKV1-5	0,07
	IGHV4-31	IGKV4-1	0,07
	IGHV4-31	IGKV1-17	0,07
	IGHV4-31	IGKV1-27	0,07
	IGHV4-31	IGKV1-6	0,07
	IGHV4-31	IGKV2-40/2D-40	0,07
	IGHV1-2	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV1-2	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV1-2	IGKV2-30	0,07
	IGHV1-2	IGKV1-8	0,07
	IGHV1-2	IGKV1-6	0,07
	IGHV3-33	IGKV1-5	0,07
	IGHV3-33	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV3-33	IGKV1-8	0,07
	IGHV3-53	IGKV2-28/2D-28	0,07

[0451]

	IGHV3-53	IGKV1-9	0,07
	IGHV3-53	IGKV1-17	0,07
	IGHV3-53	IGKV1-27	0,07
	IGHV3-53	IGKV1-12	0,07
	IGHV3-53	IGKV2-29	0,07
	IGHV3-53	IGKV1D-16	0,07
	IGHV3-11	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV3-11	IGKV1-9	0,07
	IGHV3-11	IGKV1-17	0,07
	IGHV3-11	IGKV1D-8	0,07
	IGHV3-9	IGKV3-15	0,07
	IGHV3-9	IGKV4-1	0,07
	IGHV3-9	IGKV3-11	0,07
	IGHV3-9	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV3-9	IGKV1-27	0,07
	IGHV3-9	IGKV1-8	0,07
	IGHV3-9	IGKV1D-8	0,07
	IGHV3-74	IGKV3-20	0,07
	IGHV3-74	IGKV3-15	0,07
	IGHV3-74	IGKV3-11	0,07
	IGHV3-74	IGKV2-30	0,07
	IGHV4-4	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV4-4	IGKV1-17	0,07
	IGHV4-4	IGKV1-27	0,07
	IGHV4-4	IGKV1D-8	0,07
	IGHV1-46	IGKV1-5	0,07
	IGHV1-46	IGKV4-1	0,07
	IGHV1-46	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV1-46	IGKV1-8	0,07
	IGHV4-61	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV4-61	IGKV1-16	0,07
	IGHV4-61	IGKV1-12	0,07
	IGHV1-8	IGKV1-39/1D-39	0,07
	IGHV1-8	IGKV3-15	0,07
	IGHV1-8	IGKV4-1	0,07
	IGHV1-8	IGKV3-11	0,07
	IGHV1-8	IGKV2-28/2D-28	0,07

[0452]

	IGHV1-8	IGKV1-9	0,07
	IGHV1-8	IGKV2-29	0,07
	IGHV1-24	IGKV3-20	0,07
	IGHV1-24	IGKV1-39/1D-39	0,07
	IGHV1-24	IGKV4-1	0,07
	IGHV1-24	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV1-24	IGKV2-30	0,07
	IGHV1-24	IGKV2-24	0,07
	IGHV1-3	IGKV1-5	0,07
	IGHV1-3	IGKV3-15	0,07
	IGHV1-3	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV1-3	IGKV2-30	0,07
	IGHV1-3	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-49	IGKV1-5	0,07
	IGHV3-49	IGKV3-15	0,07
	IGHV3-49	IGKV3-11	0,07
	IGHV3-49	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV3-43	IGKV4-1	0,07
	IGHV3-43	IGKV3-11	0,07

[0453]

[0454]

실시예 3 : VH 및 VL 생식세포 유전자 사용의 결정

[0455]

실시예 2,3-4로부터의 표 18-19의 검토는 적은 수의 VH, VK 및 VL 생식세포 유전자가 인간 면역 레퍼토리에서 지배적으로 존재하고, 전체 생식세포 유전자의 수에 비하여 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 지배적으로 존재한

다는 것을 보인다. 또한, Wildt 등의 문헌 페이지 895-896은 이러한 현상을 설명했다. 또한, Wildt 등의 문헌은 자주 발현된 중쇄 및 경쇄 유전자 분절이 쌍을 이루고 쌍을 이룬 표본의 절반이 오직 5 개의 VH/VL 생식세포 유전자 쌍에 대응된다는 것을 관찰했다고 설명했다.

[0456]

또한, 인간 면역 레퍼토리에서 독립적으로 높게 발현되는 VH, V_K 및 V_L 생식세포 유전자를 식별하기 위해 모은 데이터를 분석했다. 이에 의하여, 인간 면역 레퍼토리에서 어떤 VH, V_K 및 V_L 생식세포 유전자가 가장 높게 발현되는지를 결정하기 위하여, 실시예 2.1에서 설명되고 도 4-26에서 도시된 공개적으로 입수가 가능한 문헌으로부터 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍; 실시예 2.2에서 설명되고 도 28-36에서 도시된 인간 표본으로부터 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 포함하는 데이터, 및 쌍을 이루지 않은 VH 및/또는 VL 생식세포 유전자 발현이 포함된 추가적인 참고 문헌(Brezinschek H. P. 등 (1997) J. Clin. Invest. 99, 2488; Demaison C. 등 (1995) Immunogenetics 42, 342; 및 Foster SJ. 등 (1997) J. Clin. Invest. 99, 1614를 참조하고, 상기 문헌들은 전체가 참조로 모두 포함됨)을 모았고 순위를 매겼다. 표 20은 VH, V_L 및 V_K 생식세포 유전자의 출현율의 순위를 도시한다.

[0457]

[표 20]

VH			V _K			V _L		
n=2463			n=1656			n=780		
1	IGHV3-23	10.6	1	IGKV3-20	16.2	1	IGLV2-14	18.1
2	IGHV3-30	8.0	2	IGKV1-39/1D-39	14.2	2	IGLV1-40	11.3
3	IGHV4-39	7.6	3	IGKV1-5	11.2	3	IGLV1-44	11.3
4	IGHV4-34	6.8	4	IGKV3-15	11.1	4	IGLV1-51	10.0
5	IGHV4-59	5.8	5	IGKV4-1	8.5	5	IGLV2-23	8.1
6	IGHV1-69	5.3	6	IGKV3-11	7.6	6	IGLV3-21	8.1
7	IGHV5-51	4.6	7	IGKV2-28/2D-28	6.0	7	IGLV1-47	6.5
8	IGHV3-7	4.5	8	IGKV1-33/1D-33	4.6	8	IGLV3-1	5.3
9	IGHV1-18	4.1	9	IGKV2-30	2.6	9	IGLV2-11	5.1
10	IGHV3-48	4.0	10	IGKV1-9	2.4	10	IGLV2-8	4.5
11	IGHV3-15	3.3	11	IGKV1-17	2.4	11	IGLV6-57	1.7
12	IGHV3-21	3.3	12	IGKV1-27	2.2	12	IGLV3-25	1.5
13	IGHV1-2	3.2	13	IGKV1-8	1.9	13	IGLV7-46	1.5
14	IGHV3-33	3.0	14	IGKV1-16	1.3	14	IGLV1-36	1.2
15	IGHV4-31	3.0	15	IGKV1-6	1.1	15	IGLV7-43	1.2
16	IGHV3-53	2.7	16	IGKV1-12	1.1	16	IGLV9-49	1.2
17	IGHV3-11	2.6	17	IGKV2D-29	1.0	17	IGLV4-69	1.0
18	IGHV3-9	2.2	18	IGKV1-13	0.7	18	IGLV2-18	0.6
19	IGHV4-4	2.1	19	IGKV1D-8	0.5	19	IGLV3-10	0.5
20	IGHV1-46	2.1	20	IGKV2-24	0.5	20	IGLV3-27	0.5
21	IGHV3-74	1.6	21	IGKV5-2	0.4	21	IGLV3-9	0.3
22	IGHV1-24	1.1	22	IGKV1D-12	0.3	22	IGLV3-12	0.1
23	IGHV4-61	1.1	23	IGKV2-40/2D-40	0.3	23	IGLV3-19	0.1
24	IGHV1-8	1.1	24	IGKV3D-20	0.3	24	IGLV3-22	0.1
25	IGHV1-3	1.0	25	IGKV1D-43	0.2	25	IGLV4-60	0.1
26	IGHV3-49	1.0	26	IGKV2D-30	0.2	26	IGLV8-61	0.1
27	IGHV3-43	0.6	27	IGKV3D-11	0.2	27	IGLV3-16	0.0
28	IGHV4-28	0.6	28	IGKV3D-15	0.2	28	IGLV4-3	0.0
29	IGHV3-64	0.5	29	IGKV2-29	0.2	29	IGLV5-37	0.0
30	IGHV7-81	0.5	30	IGKV1D-16	0.1	30	IGLV5-39	0.0
31	IGHV3-13	0.4	31	IGKV1D-17	0.1	31	IGLV5-45	0.0
32	IGHV3-72	0.4	32	IGKV3D-7	0.1	32	IGLV5-52	0.0
33	IGHV1-58	0.3	33	IGKV6-21/6D-21	0.1	33	IGLV10-54	0.0
34	IGHV3-73	0.3	34	IGKV6D-41	0.1			
35	IGHV3-66	0.2	35	IGKV1D-13	0.0			
36	IGHV7-4.1	0.2						
37	IGHV2-5	0.1						
38	IGHV4-30.2	0.1						
39	IGHV3-20	0.1						
40	IGHV6-1	0.0						
41	IGHV1-e	0.0						
42	IGHV1-f	0.0						
43	IGHV1-45	0.0						
44	IGHV2-26	0.0						
45	IGHV2-70	0.0						
46	IGHV3-d	0.0						
47	IGHV4-b	0.0						
48	IGHV4-30.4	0.0						
49	IGHV5-a	0.0						

[0459]

[0460]

표 20과 비교하는 경우, 연결되지 않은 VH, V_L 및 V_K 생식세포 유전자 출현율을 보이고, 표 18-19과 비교하는 경우, 인간 면역 레퍼토리 및 나이브 인간 면역 레퍼토리 내에서 결합된 VH/VL 쌍 생식세포 유전자 출현율을 보

이며, 결합 또는 쌍과는 별도로 평가하는 경우에 높게 발현되는 많은 VH, V λ 및 V κ 생식세포 유전자들은 VH/VL 쌍에서 평가되는 경우에도 높게 발현된다고 여겨졌다.

[0461] 이러한 관찰은 도 39-40에 도시된 인간 면역 레퍼토리의 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 보여주는 도표에서 확인되며, 나이브 인간 면역 레퍼토리의 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 보여주는 도 41-42에 도시된 도표에서 확인된다. 상기 도면들은 모든 데이터로부터 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍 각각의 실제 갯수를 보여주며, 행렬 방식으로 도표가 만들어졌고, 이 도표에서 Y 축은 VH 생식세포 유전자의 순위를 포함하고, X 축은 VL 생식세포 유전자의 순위를 포함한다.

[0462] 실시예 4 : VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 생물학적 특성의 추가 평가를 위한 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 선택

[0463] 다음 단계로, 인간 면역 레퍼토리에 약 2500개의 쌍이 존재하기 때문에 어떤 생식세포 단백질 쌍을 시험할지를 결정해야만 하고, 발명자의 목표는 어떤 생식세포 단백질 쌍이 선택 및 개발에 도움을 줄 호의적인 생물학적 특성을 포함하는 지를 식별하는 것이었다. 인간 면역 레퍼토리에서 가장 두드러지게 발생하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍을 시험하는 것이 하나의 방법일 것이다(예를 들어, 표 18 참조). 다른 방법으로 예를 들어, 시험을 위해 상위 400 개의 쌍을 선택하거나, 특정 임계 농도를 초과하여 발현되는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 유전자 쌍을 선택하는 것이다. 이러한 접근법은 많은 수의 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 쌍 서열을 합성하고 시험해야 하며; 따라서, 이러한 접근법은 매우 효율적이지 않을 수 있다.

[0464] 대안적인 접근법으로, 발명자는 인간 면역 레퍼토리로부터 두드러지게 발현된 쌍의 대부분을 아우르거나, 이를 대표하거나, 이를 정확하게 재생산하는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 쌍의 하위 집합을 선택했다. 이런 접근법은 적은 수의 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자가 인간 면역 레퍼토리에서 우세하다는 상기 관찰에 일부 기초했다. 그러므로, 적은 수의 두드러지게 발현된 중쇄 및 경쇄의 생식세포 유전자(쌍을 이루지 않음)는 인간 면역 레퍼토리를 대표하는 쌍들의 군을 제조하도록 혼합될 수 있다.

[0465] 이런 접근법은 이어지는 방법에서 착수되었다. 실시예 3에서, 가변 중쇄, 가변 κ 경쇄 및 가변 λ 경쇄의 생식세포 유전자 발현을 확인했다. 다음 단계로, 두드러진 VH, V λ 및 V κ 생식세포 유전자에 대하여 인 실리코 분석을 완료했으며, 상기 분석에서는 적어도 이어지는 요소에 대해 평가했다: CDR 길이, 등전점(pI)(표준 pH 5.5 내지 pH7 제제 완충액에서 안정성을 제공하기 때문에, 바람직한 등전점은 7.5이상임), 번역 후 변형(PTM's)(특히, N-결합 글리코실화 부위(NxS 또는 NxT) 또는 화학적 변형 예를 들어, 생체 내에서(혈청 내) 또는 제제 완충액에 저장함에 따라 발생하여 항체 결합의 손실을 가져올 수 있는 Asp 절단(DP에서 종종 발생), Asp 이성질화(DD, DG), 탈아미노화(NS, NG)), 쌍을 이루지 않은 시스테인의 존재(임의의 다른 쌍을 이루지 않은 시스테인과 이황화 결합을 형성하여 단백질의 가교 결합 및/또는 낮은 발현 수준을 야기할 것임), 생식세포로부터의 편차, 잠재적 T-세포 에피토프의 존재 및 이론상의 응집 경향. 인 실리코 분석으로부터 선택된 데이터는 도 37-38에서 도시된다.

[0466] 가장 두드러진 VH, V λ 및 V κ 생식세포 유전자의 인 실리코 분석에 기초하여, 이들의 하위 집합을 합성, 조합 및 차후의 기능성 시험을 위해 선택했으며, 이런 하위 집합은 도 37-38에 도시된다. 도시된 바와 같이, 가장 두드러진 VH, V λ 및 V κ 생식세포 유전자의 전부를 추가적인 시험을 위해 선택하지는 않았다. 가장 두드러진 VH 생식세포 유전자 중, 표 20에 도시된 바와 같이, IGHV4-34, IGHV4-59 및 IGHV3-9를 선택하지 않았다. 반면에, 도 37-38 및 표 21에서 도시된 바와 같이, IGHV3-74, IGHV3-73 및 IGHV6-1을 선택했다. 총 20개의 VH 생식세포 유전자를 선택했다. 가장 두드러진 V κ 생식세포 유전자 중, 표 20에서 도시된 바와 같이, IGKV4-1, IGKV2-28/2D-28, IGKV1-33/1D-33 및 IGKV1-8을 선택하지 않았다. 총 12개의 V κ 생식세포 유전자를 선택했다. 가장 두드러진 V λ 생식세포 유전자 중, 표 20에서 도시된 바와 같이, IGLV1-44를 선택하지 않았다. 총 8개의 V λ 생식세포 유전자를 선택했다.

[0467] 표 21은 인간 면역 레퍼토리로부터의 VH, V κ 및 V λ 생식세포 유전자 사용의 순위를 보여주고, 볼드체 및 밑줄 친 생식세포 유전자를 이어지는 기능성 시험을 위해 선택했다.

[0468] 하기 표 21은 공개적으로 입수가 가능한 데이터 및 인간 B 세포 표본으로부터의 VH, V λ 및 V κ 생식세포 유전자의 출현율의 순위, 그리고 이어지는 기능성 시험을 위해 선택되는 VH, V λ 및 V κ 생식세포 유전자의 식별은 볼드체 및 밑줄로 나타내었다.

[0469] [표 21]

VH			Vκ			Vλ		
n=2463			n=1656			n=780		
1	IGHV3-23	10.6	1	IGKV3-20	16.2	1	IGLV2-14	18.1
2	IGHV3-30	8.0	2	IGKV1-39/1D-39	14.2	2	IGLV1-40	11.3
3	IGHV4-39	7.6	3	IGKV1-5	11.2	3	IGLV1-44	11.3
4	IGHV4-34	6.8	4	IGKV3-15	11.1	4	IGLV1-51	10.0
5	IGHV4-59	5.8	5	IGKV4-1	8.5	5	IGLV2-23	8.1
6	IGHV1-69	5.3	6	IGKV3-11	7.6	6	IGLV3-21	8.1
7	IGHV5-51	4.6	7	IGKV2-28/2D-28	6.0	7	IGLV1-47	6.5
8	IGHV3-7	4.5	8	IGKV1-33/1D-33	4.6	8	IGLV3-1	5.3
9	IGHV1-18	4.1	9	IGKV2-30	2.6	9	IGLV2-11	5.1
10	IGHV3-48	4.0	10	IGKV1-9	2.4	10	IGLV2-8	4.5
11	IGHV3-15	3.3	11	IGKV1-17	2.4	11	IGLV6-57	1.7
12	IGHV3-21	3.3	12	IGKV1-27	2.2	12	IGLV3-25	1.5
13	IGHV1-2	3.2	13	IGKV1-8	1.9	13	IGLV7-46	1.5
14	IGHV3-33	3.0	14	IGKV1-16	1.3	14	IGLV1-36	1.2
15	IGHV4-31	3.0	15	IGKV1-6	1.1	15	IGLV7-43	1.2
16	IGHV3-53	2.7	16	IGKV1-12	1.1	16	IGLV9-49	1.2
17	IGHV3-11	2.6	17	IGKV2D-29	1.0	17	IGLV4-69	1.0
18	IGHV3-9	2.2	18	IGKV1-13	0.7	18	IGLV2-18	0.6
19	IGHV4-4	2.1	19	IGKV1D-8	0.5	19	IGLV3-10	0.5
20	IGHV1-46	2.1	20	IGKV2-24	0.5	20	IGLV3-27	0.5
21	IGHV3-74	1.6	21	IGKV5-2	0.4	21	IGLV3-9	0.3
22	IGHV1-24	1.1	22	IGKV1D-12	0.3	22	IGLV3-12	0.1
23	IGHV4-61	1.1	23	IGKV2-40/2D-40	0.3	23	IGLV3-19	0.1
24	IGHV1-8	1.1	24	IGKV3D-20	0.3	24	IGLV3-22	0.1
25	IGHV1-3	1.0	25	IGKV1D-43	0.2	25	IGLV4-60	0.1
26	IGHV3-49	1.0	26	IGKV2D-30	0.2	26	IGLV8-61	0.1
27	IGHV3-43	0.6	27	IGKV3D-11	0.2	27	IGLV3-16	0.0
28	IGHV4-28	0.6	28	IGKV3D-15	0.2	28	IGLV4-3	0.0
29	IGHV3-64	0.5	29	IGKV2-29	0.2	29	IGLV5-37	0.0
30	IGHV7-81	0.5	30	IGKV1D-16	0.1	30	IGLV5-39	0.0
31	IGHV3-13	0.4	31	IGKV1D-17	0.1	31	IGLV5-45	0.0
32	IGHV3-72	0.4	32	IGKV3D-7	0.1	32	IGLV5-52	0.0
33	IGHV1-58	0.3	33	IGKV6-21/6D-21	0.1	33	IGLV10-54	0.0
34	IGHV3-73	0.3	34	IGKV6D-41	0.1			
35	IGHV3-66	0.2	35	IGKV1D-13	0.0			
36	IGHV7-4.1	0.2						

[0470]

37	IGHV2-5	0.1
38	IGHV4-30.2	0.1
39	IGHV3-20	0.1
40	IGHV6-1	0.0
41	IGHV1-e	0.0
42	IGHV1-f	0.0
43	IGHV1-45	0.0
44	IGHV2-26	0.0
45	IGHV2-70	0.0
46	IGHV3-d	0.0
47	IGHV4-b	0.0
48	IGHV4-30.4	0.0
49	IGHV5-a	0.0

[0471]

[0472] 실시예 4.1 : 인간 면역 레퍼토리에서 가장 두드러진 VH/VL 쌍의 대표를 얻기 위해 풍부한 VH, Vκ 및 Vλ 생식 세포 유전자의 재조합

[0473] 상기 논의하고 표 21에서 도시하고 도 39-40, 41-42에서 도시된 바와 같이, 20 VH, 12 Vκ 및 8 Vλ를 선택했으며, 이들이 혼합된 경우에, 인간 면역 레퍼토리 및 나이브 인간 면역 레퍼토리로부터 두드러지게 발현된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 대부분을 아우르거나 정확하게 재생산한다.

[0474] 다음 단계로, 20 VH, 12 Vκ 및 8 Vλ를 선택했고, 선택된 VH, Vκ 및 Vλ 생식세포 유전자를 합성했고, 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 대부분을 아우르거나 정확하게 재생산하는 400 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 제조하도록 혼합했다. 다음으로, 400 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 생물학적 특성을 시험했다.

[0475] 표 22는 400 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 제조하기 위해 혼합될 수 있는 선택된 VH, Vκ 및 Vλ 생식세포 유전자 보여준다.

[0476] [표 22]

<u>VH</u>	<u>Vκ</u>	<u>VA</u>
1. IGHV3-23	1. IGKV3-20	1. IGLV2-14
2. IGHV3-30	2. IGKV1-39/1D-39	2. IGLV1-40
3. IGHV4-39	3. IGKV1-5	3. IGLV1-51
4. IGHV1-69	4. IGKV3-15	4. IGLV2-23
5. IGHV5-51	5. IGKV3-11	5. IGLV3-21
6. IGHV3-7	6. IGKV2-30	6. IGLV1-47
7. IGHV1-18	7. IGKV1-9	7. IGLV3-1
8. IGHV3-48	8. IGKV1-17	8. IGLV2-11
9. IGHV3-15	9. IGKV1-27	
10. IGHV3-21	10. IGKV1-16	
11. IGHV1-2	11. IGKV1-6	
12. IGHV3-33	12. IGKV1-12	
13. IGHV4-31		
14. IGHV3-53		
15. IGHV3-11		
16. IGHV4-4		
17. IGHV1-46		
18. IGHV3-74		
19. IGHV3-73		
20. IGHV6-1		

[0478]

[0479] 기능성 시험을 수행하기 위해 제조된 400 VH/VL 생식세포 유전자 쌍이 인간 면역 레퍼토리에서 두드러지게 발현된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 대부분을 아우르거나 정확하게 재생산한다는 사실을 보여주기 위하여, 표 18은 하기 표 23으로 재작성되었으며, 시험된 400 VH/VL 쌍은 볼드체와 밑줄을 그었다.

[0480] 하기 표 23은 인간 면역 레퍼토리에서 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 대표를 도시하며 그 중 400 VH/VL 생식세포 유전자 쌍은 기능성 시험을 받은 것이다.

[0481] [표 23]

순위	가변 종쇄	가변 경쇄	%
1	IGHV3-23	IGKV1-5	1.26
2	IGHV4-34	IGKV3-20	1.17
3	IGHV3-23	IGKV3-20	1.12
4	IGHV4-39	IGKV3-15	1.03
5	IGHV3-23	IGKV3-15	0.94
6	IGHV4-59	IGKV1-39/1D-39	0.89
7	IGHV4-39	IGKV1-39/1D-39	0.84
	IGHV4-34	IGKV1-39/1D-39	0.84
8	IGHV4-59	IGKV3-20	0.70
	IGHV1-18	IGKV3-20	0.70
9	IGHV3-30	IGKV3-20	0.66
	IGHV4-39	IGKV1-5	0.66
	IGHV1-69	IGKV1-39/1D-39	0.66
	IGHV5-51	IGLV 1-40	0.66
10	IGHV3-23	IGKV4-1	0.61
	IGHV4-39	IGKV3-20	0.61
	IGHV3-23	IGLV 2-14	0.61
	IGHV4-39	IGLV 3-21	0.61
11	IGHV3-23	IGKV1-39/1D-39	0.56
	IGHV3-30	IGKV1-39/1D-39	0.56
	IGHV3-30	IGKV3-11	0.56
	IGHV1-69	IGKV3-20	0.56
	IGHV3-48	IGKV3-20	0.56

[0482]

	IGHV1-2	IGKV3-20	0.56
12	IGHV3-30	IGKV4-1	0.51
	IGHV5-51	IGLV 2-14	0.51
13	IGHV4-59	IGKV4-1	0.47
	IGHV5-51	IGKV3-20	0.47
	IGHV3-7	IGKV1-39/1D-39	0.47
	IGHV3-7	IGKV1-5	0.47
	IGHV3-15	IGKV3-20	0.47
	IGHV4-39	IGLV 2-14	0.47
	IGHV4-39	IGLV 2-8	0.47
	IGHV4-34	IGLV 2-14	0.47
14	IGHV3-23	IGKV3-11	0.42
	IGHV3-30	IGKV1-5	0.42
	IGHV3-30	IGKV3-15	0.42
	IGHV4-34	IGKV1-5	0.42
	IGHV3-21	IGKV1-5	0.42
	IGHV3-21	IGKV3-15	0.42
	IGHV3-30	IGLV 1-51	0.42
	IGHV4-34	IGLV 1-51	0.42
	IGHV3-21	IGLV 1-51	0.42
	IGHV3-53	IGLV 1-44	0.42
15	IGHV4-59	IGKV3-15	0.37
	IGHV4-34	IGKV3-15	0.37
	IGHV5-51	IGKV4-1	0.37
	IGHV1-69	IGKV4-1	0.37
	IGHV1-69	IGKV3-11	0.37
	IGHV3-7	IGKV3-15	0.37
	IGHV1-18	IGKV1-39/1D-39	0.37
	IGHV3-48	IGKV1-39/1D-39	0.37
	IGHV3-33	IGKV3-15	0.37
	IGHV3-53	IGKV1-5	0.37
	IGHV4-59	IGLV 1-40	0.37
	IGHV1-69	IGLV 2-14	0.37
	IGHV1-69	IGLV 1-44	0.37
	IGHV4-31	IGLV 2-14	0.37
	IGHV1-2	IGLV 2-14	0.37
16	IGHV3-23	IGKV2-28/2D-28	0.33
	IGHV3-30	IGKV1-9	0.33
	IGHV4-34	IGKV4-1	0.33
	IGHV5-51	IGKV1-39/1D-39	0.33
	IGHV5-51	IGKV3-15	0.33
	IGHV1-69	IGKV3-15	0.33
	IGHV1-18	IGKV1-33/1D-33	0.33
	IGHV3-48	IGKV3-11	0.33
	IGHV3-21	IGKV1-39/1D-39	0.33
	IGHV4-31	IGKV3-20	0.33
	IGHV4-31	IGKV3-11	0.33
	IGHV3-30	IGLV 2-14	0.33
	IGHV4-39	IGLV 1-44	0.33
	IGHV1-69	IGLV 1-40	0.33

[0483]

	IGHV3-9	IGLV 2-23	0,33
17	IGHV3-23	IGKV1-33/1D-33	0,28
	IGHV4-39	IGKV3-11	0,28
	IGHV4-34	IGKV3-11	0,28
	IGHV4-34	IGKV2-28/2D-28	0,28
	IGHV5-51	IGKV3-11	0,28
	IGHV5-51	IGKV1-13	0,28
	IGHV3-7	IGKV3-20	0,28
	IGHV3-48	IGKV3-15	0,28
	IGHV3-48	IGKV4-1	0,28
	IGHV3-48	IGKV1-33/1D-33	0,28
	IGHV3-15	IGKV1-39/1D-39	0,28
	IGHV3-15	IGKV1-5	0,28
	IGHV1-2	IGKV1-39/1D-39	0,28
	IGHV3-33	IGKV3-20	0,28
	IGHV3-33	IGKV1-39/1D-39	0,28
	IGHV3-33	IGKV4-1	0,28
	IGHV3-53	IGKV3-15	0,28
	IGHV3-11	IGKV1-5	0,28
	IGHV4-4	IGKV3-20	0,28
	IGHV1-46	IGKV3-20	0,28
	IGHV3-23	IGLV 1-40	0,28
	IGHV3-23	IGLV 3-21	0,28
	IGHV4-39	IGLV 1-40	0,28
	IGHV4-34	IGLV 1-40	0,28
	IGHV4-34	IGLV 1-47	0,28
	IGHV3-48	IGLV 2-14	0,28
	IGHV3-48	IGLV 1-47	0,28
	IGHV1-2	IGLV 1-40	0,28
	IGHV3-9	IGLV 2-14	0,28
	IGHV4-4	IGLV 1-44	0,28
18	IGHV3-23	IGKV1-17	0,23
	IGHV4-39	IGKV4-1	0,23
	IGHV4-39	IGKV2-28/2D-28	0,23
	IGHV1-69	IGKV1-5	0,23
	IGHV3-7	IGKV4-1	0,23
	IGHV1-18	IGKV1-5	0,23
	IGHV1-18	IGKV2-28/2D-28	0,23
	IGHV3-21	IGKV3-20	0,23
	IGHV3-33	IGKV1-5	0,23
	IGHV3-53	IGKV1-39/1D-39	0,23
	IGHV3-53	IGKV1-33/1D-33	0,23
	IGHV3-11	IGKV1-39/1D-39	0,23
	IGHV3-11	IGKV3-15	0,23
	IGHV4-4	IGKV1-39/1D-39	0,23
	IGHV1-46	IGKV1-39/1D-39	0,23
	IGHV4-61	IGKV4-1	0,23
	IGHV3-23	IGLV 1-44	0,23
	IGHV3-23	IGLV 2-11	0,23
	IGHV3-23	IGLV 3-1	0,23

[0484]

	IGHV3-30	IGLV 1-40	0,23
	IGHV4-39	IGLV 1-51	0,23
	IGHV4-39	IGLV 2-23	0,23
	IGHV4-59	IGLV 3-1	0,23
	IGHV5-51	IGLV 1-44	0,23
	IGHV1-69	IGLV 1-51	0,23
	IGHV1-69	IGLV 2-11	0,23
	IGHV1-18	IGLV 2-14	0,23
	IGHV1-18	IGLV 1-40	0,23
	IGHV3-21	IGLV 2-14	0,23
	IGHV1-2	IGLV 1-44	0,23
19	IGHV3-23	IGKV1-27	0,19
	IGHV3-23	IGKV1-8	0,19
	IGHV3-30	IGKV2-28/2D-28	0,19
	IGHV4-39	IGKV1-33/1D-33	0,19
	IGHV4-39	IGKV1-27	0,19
	IGHV4-59	IGKV3-11	0,19
	IGHV5-51	IGKV1-5	0,19
	IGHV5-51	IGKV2-28/2D-28	0,19
	IGHV3-7	IGKV3-11	0,19
	IGHV3-7	IGKV2-30	0,19
	IGHV1-18	IGKV3-15	0,19
	IGHV1-18	IGKV3-11	0,19
	IGHV3-21	IGKV4-1	0,19
	IGHV3-15	IGKV3-15	0,19
	IGHV3-15	IGKV4-1	0,19
	IGHV3-15	IGKV1-33/1D-33	0,19
	IGHV4-31	IGKV1-39/1D-39	0,19
	IGHV4-31	IGKV1-5	0,19
	IGHV4-31	IGKV3-15	0,19
	IGHV4-31	IGKV2-28/2D-28	0,19
	IGHV3-33	IGKV2-28/2D-28	0,19
	IGHV3-53	IGKV4-1	0,19
	IGHV3-53	IGKV3-11	0,19
	IGHV3-74	IGKV3-20	0,19
	IGHV4-4	IGKV1-5	0,19
	IGHV1-46	IGKV1-9	0,19
	IGHV1-8	IGKV3-15	0,19
	IGHV1-24	IGKV3-11	0,19
	IGHV1-3	IGKV1-39/1D-39	0,19
	IGHV3-49	IGKV1-39/1D-39	0,19
	IGHV3-23	IGLV 2-23	0,19
	IGHV3-30	IGLV 1-44	0,19
	IGHV4-59	IGLV 2-14	0,19
	IGHV4-59	IGLV 1-44	0,19
	IGHV4-59	IGLV 1-51	0,19
	IGHV4-34	IGLV 2-8	0,19
	IGHV5-51	IGLV 1-47	0,19
	IGHV1-69	IGLV 2-8	0,19
	IGHV3-7	IGLV 1-40	0,19

[0485]

	IGHV3-15	IGLV 1-44	0,19
	IGHV4-31	IGLV 2-23	0,19
	IGHV3-33	IGLV 2-14	0,19
	IGHV3-33	IGLV 1-47	0,19
	IGHV3-33	IGLV 2-23	0,19
	IGHV3-33	IGLV 3-21	0,19
	IGHV3-9	IGLV 1-44	0,19
	IGHV4-4	IGLV 2-14	0,19
	IGHV1-46	IGLV 1-51	0,19
	IGHV4-61	IGLV 1-44	0,19
	IGHV1-8	IGLV 2-14	0,19
	IGHV4-28	IGLV 2-23	0,19
20	IGHV3-23	IGKV1-9	0,14
	IGHV3-23	IGKV1-16	0,14
	IGHV4-39	IGKV1-6	0,14
	IGHV4-59	IGKV1-5	0,14
	IGHV4-59	IGKV1-27	0,14
	IGHV4-34	IGKV1-33/1D-33	0,14
	IGHV5-51	IGKV1-33/1D-33	0,14
	IGHV1-69	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV1-69	IGKV1-33/1D-33	0,14
	IGHV3-7	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV3-7	IGKV1-8	0,14
	IGHV3-48	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV3-48	IGKV1-8	0,14
	IGHV3-15	IGKV3-11	0,14
	IGHV3-15	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV3-15	IGKV1-9	0,14
	IGHV4-31	IGKV1-33/1D-33	0,14
	IGHV1-2	IGKV1-5	0,14
	IGHV1-2	IGKV4-1	0,14
	IGHV3-11	IGKV3-20	0,14
	IGHV3-11	IGKV3-11	0,14
	IGHV3-11	IGKV2-28/2D-28	0,14
	IGHV3-9	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV3-9	IGKV1-5	0,14
	IGHV3-9	IGKV4-1	0,14
	IGHV3-9	IGKV2D-29	0,14
	IGHV3-74	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV3-74	IGKV1-5	0,14
	IGHV3-74	IGKV3-15	0,14
	IGHV3-74	IGKV4-1	0,14
	IGHV4-4	IGKV3-15	0,14
	IGHV4-4	IGKV4-1	0,14
	IGHV4-4	IGKV3-11	0,14
	IGHV1-46	IGKV1-5	0,14
	IGHV1-46	IGKV3-15	0,14
	IGHV4-61	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV1-24	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV1-24	IGKV3-15	0,14

[0486]

	IGHV1-3	IGKV3-15	0,14
	IGHV3-49	IGKV1-17	0,14
	IGHV3-43	IGKV1-5	0,14
	IGHV7-81	IGKV3-20	0,14
	IGHV3-13	IGKV1-39/1D-39	0,14
	IGHV3-23	IGLV 1-51	0,14
	IGHV3-30	IGLV 3-21	0,14
	IGHV3-30	IGLV 3-1	0,14
	IGHV4-39	IGLV 1-47	0,14
	IGHV4-39	IGLV 2-18	0,14
	IGHV4-59	IGLV 1-47	0,14
	IGHV5-51	IGLV 2-23	0,14
	IGHV5-51	IGLV 3-21	0,14
	IGHV1-69	IGLV 2-23	0,14
	IGHV3-7	IGLV 1-44	0,14
	IGHV3-7	IGLV 1-51	0,14
	IGHV3-7	IGLV 1-47	0,14
	IGHV3-7	IGLV 3-21	0,14
	IGHV1-18	IGLV 1-44	0,14
	IGHV1-18	IGLV 1-51	0,14
	IGHV3-48	IGLV 3-1	0,14
	IGHV3-21	IGLV 1-47	0,14
	IGHV3-15	IGLV 7-46	0,14
	IGHV4-31	IGLV 1-40	0,14
	IGHV4-31	IGLV 1-51	0,14
	IGHV4-31	IGLV 1-47	0,14
	IGHV1-2	IGLV 1-51	0,14
	IGHV1-2	IGLV 2-23	0,14
	IGHV1-2	IGLV 3-1	0,14
	IGHV3-11	IGLV 2-14	0,14
	IGHV3-11	IGLV 1-44	0,14
	IGHV3-11	IGLV 2-11	0,14
	IGHV3-11	IGLV 3-1	0,14
	IGHV3-9	IGLV 1-47	0,14
	IGHV3-9	IGLV 2-11	0,14
	IGHV3-74	IGLV 2-23	0,14
	IGHV3-74	IGLV 3-21	0,14
	IGHV4-4	IGLV 1-40	0,14
	IGHV1-46	IGLV 2-14	0,14
	IGHV1-46	IGLV 1-44	0,14
	IGHV4-61	IGLV 2-14	0,14
21	IGHV3-23	IGKV2D-29	0,09
	IGHV3-23	IGKV2-29	0,09
	IGHV3-23	IGKV2-40/2D-40	0,09
	IGHV3-30	IGKV1-33/1D-33	0,09
	IGHV3-30	IGKV2-30	0,09
	IGHV3-30	IGKV1-8	0,09
	IGHV3-30	IGKV1-6	0,09
	IGHV3-30	IGKV2-24	0,09
	IGHV3-30	IGKV1D-8	0,09

[0487]

	IGHV4-39	IGKV2-30	0,09
	IGHV4-59	IGKV1-33/1D-33	0,09
	IGHV4-59	IGKV1-12	0,09
	IGHV4-34	IGKV1-9	0,09
	IGHV4-34	IGKV1-17	0,09
	IGHV4-34	IGKV1-16	0,09
	IGHV5-51	IGKV2-30	0,09
	IGHV1-69	IGKV1-27	0,09
	IGHV1-69	IGKV1-8	0,09
	IGHV1-69	IGKV3D-15	0,09
	IGHV3-7	IGKV1-9	0,09
	IGHV3-7	IGKV1-17	0,09
	IGHV3-7	IGKV1-27	0,09
	IGHV3-7	IGKV1-13	0,09
	IGHV1-18	IGKV4-1	0,09
	IGHV1-18	IGKV2-30	0,09
	IGHV3-48	IGKV1-9	0,09
	IGHV3-48	IGKV1-17	0,09
	IGHV3-48	IGKV1-16	0,09
	IGHV3-21	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-21	IGKV2-28/2D-28	0,09
	IGHV3-21	IGKV1-27	0,09
	IGHV3-21	IGKV1-8	0,09
	IGHV3-21	IGKV1-6	0,09
	IGHV4-31	IGKV4-1	0,09
	IGHV4-31	IGKV1-17	0,09
	IGHV4-31	IGKV1-27	0,09
	IGHV1-2	IGKV3-15	0,09
	IGHV1-2	IGKV2-28/2D-28	0,09
	IGHV1-2	IGKV1-27	0,09
	IGHV3-33	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-33	IGKV1-33/1D-33	0,09
	IGHV3-33	IGKV1-9	0,09
	IGHV3-53	IGKV3-20	0,09
	IGHV3-53	IGKV1-27	0,09
	IGHV3-53	IGKV1-8	0,09
	IGHV3-11	IGKV4-1	0,09
	IGHV3-11	IGKV1-6	0,09
	IGHV3-9	IGKV3-15	0,09
	IGHV3-9	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-9	IGKV1-16	0,09
	IGHV3-74	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-74	IGKV2-30	0,09
	IGHV4-4	IGKV2-28/2D-28	0,09
	IGHV4-4	IGKV2D-29	0,09
	IGHV1-46	IGKV3-11	0,09
	IGHV1-46	IGKV1-27	0,09
	IGHV1-46	IGKV1-16	0,09
	IGHV4-61	IGKV3-15	0,09
	IGHV1-8	IGKV3-20	0,09

[0488]

	IGHV1-8	IGKV4-1	0,09
	IGHV1-24	IGKV2-28/2D-28	0,09
	IGHV1-24	IGKV2-30	0,09
	IGHV1-3	IGKV3-20	0,09
	IGHV3-49	IGKV3-20	0,09
	IGHV3-49	IGKV1-5	0,09
	IGHV3-43	IGKV3-11	0,09
	IGHV3-64	IGKV1-5	0,09
	IGHV3-64	IGKV3-11	0,09
	IGHV7-81	IGKV1-39/1D-39	0,09
	IGHV3-13	IGKV4-1	0,09
	IGHV3-72	IGKV1-5	0,09
	IGHV3-72	IGKV3-15	0,09
	IGHV1-58	IGKV3-20	0,09
	IGHV3-66	IGKV1-39/1D-39	0,09
	IGHV3-23	IGLV 1-36	0,09
	IGHV3-30	IGLV 2-23	0,09
	IGHV3-30	IGLV 2-11	0,09
	IGHV3-30	IGLV 9-49	0,09
	IGHV3-30	IGLV 3-10	0,09
	IGHV4-39	IGLV 3-1	0,09
	IGHV4-39	IGLV 6-57	0,09
	IGHV4-59	IGLV 2-23	0,09
	IGHV4-59	IGLV 3-21	0,09
	IGHV4-59	IGLV 2-11	0,09
	IGHV4-34	IGLV 1-44	0,09
	IGHV4-34	IGLV 2-23	0,09
	IGHV4-34	IGLV 3-21	0,09
	IGHV4-34	IGLV 3-25	0,09
	IGHV5-51	IGLV 1-36	0,09
	IGHV5-51	IGLV 3-25	0,09
	IGHV1-69	IGLV 1-47	0,09
	IGHV1-69	IGLV 3-21	0,09
	IGHV1-69	IGLV 3-1	0,09
	IGHV3-7	IGLV 2-14	0,09
	IGHV1-18	IGLV 2-8	0,09
	IGHV1-18	IGLV 6-57	0,09
	IGHV3-48	IGLV 2-11	0,09
	IGHV3-21	IGLV 1-40	0,09
	IGHV3-21	IGLV 1-44	0,09
	IGHV3-21	IGLV 3-21	0,09
	IGHV3-21	IGLV 2-11	0,09
	IGHV3-21	IGLV 4-69	0,09
	IGHV3-15	IGLV 1-40	0,09
	IGHV3-15	IGLV 1-51	0,09
	IGHV3-15	IGLV 3-1	0,09
	IGHV3-15	IGLV 2-8	0,09
	IGHV3-15	IGLV 7-43	0,09
	IGHV4-31	IGLV 3-21	0,09
	IGHV1-2	IGLV 2-8	0,09

[0489]

	IGHV1-2	IGLV 7-46	0,09
	IGHV3-33	IGLV 6-57	0,09
	IGHV3-53	IGLV 2-14	0,09
	IGHV3-11	IGLV 2-23	0,09
	IGHV3-11	IGLV 3-21	0,09
	IGHV3-11	IGLV 4-69	0,09
	IGHV3-9	IGLV 3-21	0,09
	IGHV3-9	IGLV 2-8	0,09
	IGHV3-74	IGLV 2-14	0,09
	IGHV4-4	IGLV 1-51	0,09
	IGHV4-4	IGLV 2-23	0,09
	IGHV4-4	IGLV 2-8	0,09
	IGHV1-46	IGLV 2-11	0,09
	IGHV4-61	IGLV 2-11	0,09
	IGHV1-8	IGLV 1-47	0,09
	IGHV1-24	IGLV 2-23	0,09
	IGHV1-3	IGLV 2-14	0,09
	IGHV1-3	IGLV 2-23	0,09
	IGHV1-3	IGLV 3-1	0,09
	IGHV3-49	IGLV 3-21	0,09
	IGHV4-28	IGLV 1-44	0,09
	IGHV4-28	IGLV 1-51	0,09
	IGHV4-28	IGLV 1-36	0,09
	IGHV3-43	IGLV 1-51	0,09
	IGHV3-64	IGLV 3-21	0,09
	IGHV7-81	IGLV 2-14	0,09
	IGHV7-81	IGLV 3-21	0,09
22	IGHV3-23	IGKV2-30	0,05
	IGHV3-23	IGKV1-12	0,05
	IGHV3-23	IGKV3D-20	0,05
	IGHV3-23	IGKV1D-12	0,05
	IGHV3-23	IGKV1D-13	0,05
	IGHV3-30	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-30	IGKV1-27	0,05
	IGHV3-30	IGKV1-16	0,05
	IGHV3-30	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-30	IGKV1-13	0,05
	IGHV3-30	IGKV5-2	0,05
	IGHV3-30	IGKV2D-30	0,05
	IGHV4-39	IGKV1-17	0,05
	IGHV4-39	IGKV3D-15	0,05
	IGHV4-59	IGKV2-30	0,05
	IGHV4-59	IGKV1-17	0,05
	IGHV4-59	IGKV1-8	0,05
	IGHV4-59	IGKV1-16	0,05
	IGHV4-59	IGKV1D-43	0,05
	IGHV4-59	IGKV2D-30	0,05
	IGHV4-59	IGKV1D-17	0,05
	IGHV4-34	IGKV1-27	0,05
	IGHV4-34	IGKV1-8	0,05

[0490]

	IGHV4-34	IGKV1-12	0,05
	IGHV5-51	IGKV1-9	0,05
	IGHV5-51	IGKV1-17	0,05
	IGHV5-51	IGKV1-27	0,05
	IGHV5-51	IGKV1-12	0,05
	IGHV1-69	IGKV2-30	0,05
	IGHV1-69	IGKV1-16	0,05
	IGHV1-69	IGKV1-6	0,05
	IGHV1-69	IGKV2D-29	0,05
	IGHV1-69	IGKV2D-30	0,05
	IGHV1-69	IGKV1D-16	0,05
	IGHV3-7	IGKV1-6	0,05
	IGHV3-7	IGKV1D-8	0,05
	IGHV3-7	IGKV1D-17	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-17	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-8	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-16	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-12	0,05
	IGHV1-18	IGKV1-13	0,05
	IGHV1-18	IGKV2-40/2D-40	0,05
	IGHV3-48	IGKV1-5	0,05
	IGHV3-48	IGKV1-27	0,05
	IGHV3-48	IGKV1-6	0,05
	IGHV3-48	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-48	IGKV3D-20	0,05
	IGHV3-48	IGKV1D-12	0,05
	IGHV3-21	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-15	IGKV2-30	0,05
	IGHV3-15	IGKV1-27	0,05
	IGHV3-15	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-15	IGKV1-13	0,05
	IGHV3-15	IGKV1D-43	0,05
	IGHV4-31	IGKV1-6	0,05
	IGHV4-31	IGKV2-29	0,05
	IGHV4-31	IGKV2-40/2D-40	0,05
	IGHV1-2	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-2	IGKV2-30	0,05
	IGHV1-2	IGKV1-8	0,05
	IGHV1-2	IGKV1-6	0,05
	IGHV3-33	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-33	IGKV1-8	0,05
	IGHV3-33	IGKV1-16	0,05
	IGHV3-33	IGKV2-24	0,05
	IGHV3-53	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-53	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-53	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-53	IGKV1-12	0,05
	IGHV3-53	IGKV2-29	0,05
	IGHV3-53	IGKV1D-16	0,05
	IGHV3-11	IGKV1-33/1D-33	0,05

[0491]

	IGHV3-11	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-11	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-11	IGKV1-12	0,05
	IGHV3-11	IGKV1D-8	0,05
	IGHV3-9	IGKV3-20	0,05
	IGHV3-9	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-9	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-9	IGKV1-27	0,05
	IGHV3-9	IGKV1-8	0,05
	IGHV3-9	IGKV1-12	0,05
	IGHV3-9	IGKV1D-8	0,05
	IGHV4-4	IGKV1-17	0,05
	IGHV4-4	IGKV1-27	0,05
	IGHV4-4	IGKV1-6	0,05
	IGHV4-4	IGKV1D-8	0,05
	IGHV1-46	IGKV4-1	0,05
	IGHV1-46	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-46	IGKV1-8	0,05
	IGHV4-61	IGKV3-11	0,05
	IGHV4-61	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV4-61	IGKV1-16	0,05
	IGHV4-61	IGKV1-12	0,05
	IGHV4-61	IGKV1-13	0,05
	IGHV1-8	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV1-8	IGKV1-5	0,05
	IGHV1-8	IGKV3-11	0,05
	IGHV1-8	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV1-8	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-8	IGKV1-9	0,05
	IGHV1-8	IGKV2-29	0,05
	IGHV1-24	IGKV3-20	0,05
	IGHV1-24	IGKV4-1	0,05
	IGHV1-24	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-24	IGKV2-24	0,05
	IGHV1-24	IGKV2-40/2D-40	0,05
	IGHV1-3	IGKV1-5	0,05
	IGHV1-3	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV1-3	IGKV2-30	0,05
	IGHV1-3	IGKV1-6	0,05
	IGHV1-3	IGKV2D-29	0,05
	IGHV3-49	IGKV3-15	0,05
	IGHV3-49	IGKV3-11	0,05
	IGHV3-49	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV4-28	IGKV3-20	0,05
	IGHV4-28	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV3-43	IGKV3-15	0,05
	IGHV3-43	IGKV4-1	0,05
	IGHV3-43	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-43	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV3-64	IGKV3-15	0,05

[0492]

	IGHV3-64	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-64	IGKV2D-29	0,05
	IGHV7-81	IGKV1-5	0,05
	IGHV7-81	IGKV4-1	0,05
	IGHV7-81	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-13	IGKV1-5	0,05
	IGHV3-13	IGKV1-33/1D-33	0,05
	IGHV3-13	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-13	IGKV2-30	0,05
	IGHV3-72	IGKV3-20	0,05
	IGHV3-72	IGKV1-9	0,05
	IGHV3-72	IGKV1-17	0,05
	IGHV3-72	IGKV1-16	0,05
	IGHV3-73	IGKV2-28/2D-28	0,05
	IGHV3-73	IGKV1-9	0,05
	IGHV1-58	IGKV1-5	0,05
	IGHV1-58	IGKV4-1	0,05
	IGHV1-58	IGKV3-11	0,05
	IGHV4-30.2	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV4-30.2	IGKV4-1	0,05
	IGHV7-4.1	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV7-4.1	IGKV1-5	0,05
	IGHV3-20	IGKV1-39/1D-39	0,05
	IGHV3-23	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-23	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-23	IGLV 7-43	0,05
	IGHV3-23	IGLV 2-18	0,05
	IGHV3-23	IGLV 3-19	0,05
	IGHV3-30	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-30	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-30	IGLV 6-57	0,05
	IGHV3-30	IGLV 3-27	0,05
	IGHV4-39	IGLV 7-46	0,05
	IGHV4-39	IGLV 3-9	0,05
	IGHV4-59	IGLV 2-8	0,05
	IGHV4-59	IGLV 6-57	0,05
	IGHV4-59	IGLV 3-12	0,05
	IGHV4-34	IGLV 2-11	0,05
	IGHV4-34	IGLV 1-36	0,05
	IGHV4-34	IGLV 7-43	0,05
	IGHV4-34	IGLV 9-49	0,05
	IGHV5-51	IGLV 7-43	0,05
	IGHV1-69	IGLV 6-57	0,05
	IGHV1-69	IGLV 3-25	0,05
	IGHV1-69	IGLV 3-10	0,05
	IGHV3-7	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-7	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-7	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-7	IGLV 7-46	0,05

[0493]

	IGHV3-7	IGLV 3-27	0,05
	IGHV1-18	IGLV 2-23	0,05
	IGHV1-18	IGLV 2-11	0,05
	IGHV1-18	IGLV 1-36	0,05
	IGHV1-18	IGLV 3-25	0,05
	IGHV1-18	IGLV 3-10	0,05
	IGHV3-48	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-48	IGLV 1-44	0,05
	IGHV3-48	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-48	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-48	IGLV 3-21	0,05
	IGHV3-48	IGLV 3-25	0,05
	IGHV3-48	IGLV 7-46	0,05
	IGHV3-48	IGLV 9-49	0,05
	IGHV3-21	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-21	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-21	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-21	IGLV 6-57	0,05
	IGHV3-21	IGLV 3-25	0,05
	IGHV3-21	IGLV 7-46	0,05
	IGHV3-15	IGLV 2-14	0,05
	IGHV3-15	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-15	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-15	IGLV 3-21	0,05
	IGHV3-15	IGLV 6-57	0,05
	IGHV3-15	IGLV 3-25	0,05
	IGHV3-15	IGLV 2-18	0,05
	IGHV3-15	IGLV 3-22	0,05
	IGHV4-31	IGLV 1-44	0,05
	IGHV4-31	IGLV 2-11	0,05
	IGHV4-31	IGLV 3-1	0,05
	IGHV4-31	IGLV 4-69	0,05
	IGHV4-31	IGLV 7-43	0,05
	IGHV1-2	IGLV 3-21	0,05
	IGHV1-2	IGLV 2-11	0,05
	IGHV1-2	IGLV 3-27	0,05
	IGHV3-33	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-33	IGLV 1-44	0,05
	IGHV3-33	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-33	IGLV 2-11	0,05
	IGHV3-33	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-33	IGLV 4-69	0,05
	IGHV3-33	IGLV 3-27	0,05
	IGHV3-33	IGLV 9-49	0,05
	IGHV3-33	IGLV 3-9	0,05
	IGHV3-53	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-53	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-53	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-53	IGLV 2-11	0,05
	IGHV3-53	IGLV 3-1	0,05

[0494]

	IGHV3-53	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-53	IGLV 7-46	0,05
	IGHV3-11	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-11	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-11	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-11	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-11	IGLV 3-25	0,05
	IGHV3-11	IGLV 7-46	0,05
	IGHV3-11	IGLV 9-49	0,05
	IGHV3-11	IGLV 8-61	0,05
	IGHV3-9	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-9	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-9	IGLV 4-69	0,05
	IGHV3-9	IGLV 4-60	0,05
	IGHV3-74	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-74	IGLV 2-11	0,05
	IGHV3-74	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-74	IGLV 2-8	0,05
	IGHV3-74	IGLV 7-43	0,05
	IGHV3-74	IGLV 7-46	0,05
	IGHV4-4	IGLV 2-11	0,05
	IGHV4-4	IGLV 3-1	0,05
	IGHV4-4	IGLV 3-25	0,05
	IGHV4-4	IGLV 9-49	0,05
	IGHV1-46	IGLV 1-40	0,05
	IGHV1-46	IGLV 1-47	0,05
	IGHV1-46	IGLV 2-23	0,05
	IGHV1-46	IGLV 3-21	0,05
	IGHV1-46	IGLV 6-57	0,05
	IGHV4-61	IGLV 2-23	0,05
	IGHV4-61	IGLV 3-21	0,05
	IGHV4-61	IGLV 3-1	0,05
	IGHV4-61	IGLV 7-43	0,05
	IGHV1-8	IGLV 1-51	0,05
	IGHV1-8	IGLV 2-11	0,05
	IGHV1-8	IGLV 2-8	0,05
	IGHV1-8	IGLV 9-49	0,05
	IGHV1-24	IGLV 2-14	0,05
	IGHV1-24	IGLV 1-40	0,05
	IGHV1-24	IGLV 1-44	0,05
	IGHV1-24	IGLV 3-21	0,05
	IGHV1-24	IGLV 2-11	0,05
	IGHV1-3	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-49	IGLV 2-14	0,05
	IGHV3-49	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-49	IGLV 2-23	0,05
	IGHV3-49	IGLV 2-8	0,05
	IGHV4-28	IGLV 2-14	0,05
	IGHV3-43	IGLV 2-14	0,05
	IGHV3-43	IGLV 2-11	0,05

[0495]

	IGHV3-43	IGLV 3-1	0,05
	IGHV3-43	IGLV 1-36	0,05
	IGHV3-43	IGLV 9-49	0,05
	IGHV3-64	IGLV 2-14	0,05
	IGHV3-64	IGLV 7-43	0,05
	IGHV7-81	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-13	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-13	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-72	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-72	IGLV 4-69	0,05
	IGHV3-73	IGLV 1-40	0,05
	IGHV3-73	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-73	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-73	IGLV 2-11	0,05
	IGHV3-73	IGLV 6-57	0,05
	IGHV1-58	IGLV 2-14	0,05
	IGHV3-66	IGLV 1-44	0,05
	IGHV3-66	IGLV 1-47	0,05
	IGHV3-66	IGLV 3-25	0,05
	IGHV4-30.2	IGLV 3-21	0,05
	IGHV7-4.1	IGLV 1-51	0,05
	IGHV3-20	IGLV 2-14	0,05

[0496]

[0497]

실시예 4.2

[0498]

실시예 2.4에서 논의된 바와 같이, 나이브 항원 비경험 및 항원 경험 B 세포 집단 간의 구분은 중요할 것으로 생각되었다. 그러므로, 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 순위를 보여주는 표 19는 하기 표 24로 재작성되었으며, 여기서 합성되고 추가 기능성 시험을 위해 혼합된 400 VH/VL 생식세포

유전자 쌍은 볼드체 및 밑줄을 그었다.

[0499] 하기 표 24는 나이브 인간 면역 레퍼토리에서 식별된 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 대표를 도시하며 그 중 400 VH/VL 생식세포 유전자 쌍은 기능성 시험을 받은 것이다.

[0500] [표 24]

순위	가변 중쇄	가변 경쇄	%
1	IGHV4-34	IGKV3-20	1,56
2	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV3-15</u>	1,19
3	IGHV4-34	IGKV1-39/1D-39	0,97
4	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,89
	IGHV4-59	IGKV1-39/1D-39	0,89

[0501]

	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,89
5	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,82
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,82
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGLV 1-40</u>	0,82
6	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,74
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,74
	IGHV4-59	IGKV3-20	0,74
7	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,67
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,67
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,67
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,67
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,67
	IGHV4-39	IGLV 2-8	0,67
8	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,59
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,59
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,59
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,59
	IGHV4-59	IGLV 1-40	0,59
	IGHV4-34	IGLV 2-14	0,59
9	IGHV3-23	IGKV4-1	0,52
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,52
	IGHV5-51	IGKV4-1	0,52
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,52
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,52
	IGHV4-34	IGLV 1-51	0,52
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,52
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGLV 1-40</u>	0,52
10	IGHV3-23	IGKV1-33/1D-33	0,45
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,45
	IGHV3-30	IGKV4-1	0,45
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,45
	IGHV4-59	IGKV4-1	0,45
	IGHV4-34	IGKV3-15	0,45
	IGHV4-34	IGKV4-1	0,45
	IGHV1-18	IGKV1-33/1D-33	0,45
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,45
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,45

[0502]

	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,45
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,45
	<u>IGHV3-15</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,45
	<u>IGHV3-15</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,45
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,45
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,45
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGLV 1-51</u>	0,45
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,45
11	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV2-28/2D-28</u>	0,37
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,37
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,37
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGKV4-1</u>	0,37
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,37
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,37
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV2-28/2D-28</u>	0,37
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,37
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,37
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV1-33/1D-33</u>	0,37
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,37
	<u>IGHV3-15</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,37
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,37
	<u>IGHV3-33</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,37
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV1-33/1D-33</u>	0,37
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGLV 1-40</u>	0,37
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGLV 1-51</u>	0,37
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,37
	<u>IGHV4-59</u>	<u>IGLV 3-1</u>	0,37
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGLV 1-40</u>	0,37
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,37
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,37
12	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,30
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,30
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,30
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV1-33/1D-33</u>	0,30
	<u>IGHV4-59</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,30
	<u>IGHV4-34</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,30
	<u>IGHV4-34</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,30

[0503]

	IGHV4-34	IGKV2-28/2D-28	0,30
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,30
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,30
	IGHV5-51	IGKV2-28/2D-28	0,30
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,30
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,30
	IGHV3-48	IGKV4-1	0,30
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,30
	IGHV3-21	IGKV4-1	0,30
	<u>IGHV3-15</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,30
	<u>IGHV3-33</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,30
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,30
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,30
	IGHV3-53	IGKV4-1	0,30
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,30
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,30
	<u>IGHV1-46</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,30
	<u>IGHV1-46</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,30
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGLV 3-21</u>	0,30
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGLV 3-1</u>	0,30
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGLV 1-40</u>	0,30
	IGHV4-39	IGLV 1-44	0,30
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGLV 1-51</u>	0,30
	IGHV4-59	IGLV 1-51	0,30
	IGHV4-34	IGLV 1-40	0,30
	IGHV4-34	IGLV 1-47	0,30
	IGHV4-34	IGLV 2-8	0,30
	IGHV5-51	IGLV 1-44	0,30
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGLV 1-51</u>	0,30
	IGHV1-69	IGLV 2-8	0,30
	IGHV3-9	IGLV 2-14	0,30
	IGHV3-9	IGLV 2-23	0,30
	IGHV4-4	IGLV 1-44	0,30
	IGHV4-61	IGLV 1-44	0,30
13	IGHV3-23	IGKV1-8	0,22
	IGHV3-30	IGKV2-28/2D-28	0,22
	IGHV4-39	IGKV4-1	0,22

[0504]

	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,22
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,22
	IGHV1-69	IGKV1-33/1D-33	0,22
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,22
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,22
	IGHV3-7	IGKV1-8	0,22
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,22
	IGHV3-48	IGKV1-8	0,22
	<u>IGHV3-15</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,22
	IGHV3-15	IGKV1-33/1D-33	0,22
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,22
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,22
	IGHV4-31	IGKV1-33/1D-33	0,22
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,22
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,22
	<u>IGHV3-33</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,22
	IGHV3-33	IGKV4-1	0,22
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,22
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,22
	IGHV3-9	IGKV1-39/1D-39	0,22
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,22
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,22
	<u>IGHV1-46</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,22
	IGHV4-61	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV4-61	IGKV4-1	0,22
	IGHV1-3	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV3-49	IGKV1-39/1D-39	0,22
	IGHV3-49	IGKV1-17	0,22
	IGHV3-43	IGKV1-5	0,22
	IGHV7-81	IGKV3-20	0,22
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGLV 2-23</u>	0,22
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGLV 2-11</u>	0,22
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGLV 2-23</u>	0,22
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGLV 2-23</u>	0,22
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,22
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGLV 3-1</u>	0,22
	IGHV3-15	IGLV 1-44	0,22

[0505]

	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGLV 1-40</u>	0,22
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGLV 1-40</u>	0,22
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGLV 3-1</u>	0,22
	<u>IGHV3-33</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,22
	<u>IGHV3-33</u>	<u>IGLV 1-47</u>	0,22
	<u>IGHV3-33</u>	<u>IGLV 3-21</u>	0,22
	IGHV3-9	IGLV 1-44	0,22
	IGHV3-9	IGLV 1-47	0,22
	IGHV3-9	IGLV 2-11	0,22
	IGHV1-46	IGLV 1-44	0,22
	IGHV1-8	IGLV 2-14	0,22
14	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV1-16</u>	0,15
	IGHV3-23	IGKV2D-29	0,15
	IGHV3-23	IGKV2-40/2D-40	0,15
	IGHV3-30	IGKV1-33/1D-33	0,15
	IGHV3-30	IGKV1D-8	0,15
	IGHV4-39	IGKV2-28/2D-28	0,15
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV2-30</u>	0,15
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV1-6</u>	0,15
	IGHV4-59	IGKV1-5	0,15
	IGHV4-59	IGKV3-15	0,15
	IGHV4-59	IGKV1-33/1D-33	0,15
	IGHV4-34	IGKV1-33/1D-33	0,15
	IGHV4-34	IGKV1-17	0,15
	IGHV4-34	IGKV1-16	0,15
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,15
	IGHV5-51	IGKV1-33/1D-33	0,15
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,15
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,15
	IGHV1-69	IGKV1-8	0,15
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,15
	IGHV3-7	IGKV4-1	0,15
	IGHV3-7	IGKV2-28/2D-28	0,15
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,15
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,15
	IGHV3-7	IGKV1-13	0,15
	IGHV1-18	IGKV4-1	0,15

[0506]

	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV2-30</u>	0,15
	IGHV3-48	IGKV2-28/2D-28	0,15
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,15
	IGHV3-21	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-21	IGKV1-8	0,15
	IGHV3-15	IGKV4-1	0,15
	IGHV3-15	IGKV2-28/2D-28	0,15
	<u>IGHV3-15</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,15
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,15
	IGHV4-31	IGKV2-28/2D-28	0,15
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,15
	IGHV1-2	IGKV4-1	0,15
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,15
	IGHV3-33	IGKV2-28/2D-28	0,15
	<u>IGHV3-33</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,15
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,15
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,15
	IGHV3-53	IGKV1-8	0,15
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,15
	IGHV3-11	IGKV4-1	0,15
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,15
	IGHV3-11	IGKV2-28/2D-28	0,15
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGKV1-6</u>	0,15
	IGHV3-9	IGKV1-5	0,15
	IGHV3-9	IGKV1-16	0,15
	IGHV3-9	IGKV2D-29	0,15
	<u>IGHV3-74</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,15
	<u>IGHV3-74</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,15
	IGHV3-74	IGKV4-1	0,15
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGKV1-39/1D-39</u>	0,15
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,15
	IGHV4-4	IGKV4-1	0,15
	IGHV4-4	IGKV2D-29	0,15
	<u>IGHV1-46</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,15
	<u>IGHV1-46</u>	<u>IGKV1-16</u>	0,15
	IGHV4-61	IGKV3-15	0,15
	IGHV1-24	IGKV3-15	0,15

[0507]

	IGHV1-24	IGKV3-11	0,15
	IGHV1-24	IGKV2-28/2D-28	0,15
	IGHV3-49	IGKV3-20	0,15
	IGHV3-64	IGKV1-5	0,15
	IGHV3-64	IGKV3-11	0,15
	IGHV7-81	IGKV1-39/1D-39	0,15
	IGHV3-13	IGKV1-39/1D-39	0,15
	IGHV3-13	IGKV4-1	0,15
	IGHV3-72	IGKV3-15	0,15
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGLV 1-40</u>	0,15
	IGHV3-30	IGLV 1-44	0,15
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGLV 2-23</u>	0,15
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGLV 3-21</u>	0,15
	IGHV3-30	IGLV 9-49	0,15
	IGHV4-39	IGLV 2-18	0,15
	IGHV4-59	IGLV 2-23	0,15
	IGHV4-59	IGLV 2-11	0,15
	IGHV4-34	IGLV 1-44	0,15
	IGHV4-34	IGLV 2-23	0,15
	IGHV4-34	IGLV 3-25	0,15
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGLV 1-47</u>	0,15
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGLV 2-23</u>	0,15
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGLV 3-21</u>	0,15
	IGHV5-51	IGLV 1-36	0,15
	IGHV5-51	IGLV 3-25	0,15
	IGHV1-69	IGLV 1-44	0,15
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGLV 2-11</u>	0,15
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGLV 3-1</u>	0,15
	IGHV1-18	IGLV 1-44	0,15
	IGHV1-18	IGLV 2-8	0,15
	IGHV1-18	IGLV 6-57	0,15
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGLV 1-47</u>	0,15
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,15
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGLV 1-47</u>	0,15
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGLV 2-11</u>	0,15
	IGHV3-15	IGLV 7-46	0,15
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGLV 1-51</u>	0,15

[0508]

	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGLV 1-47</u>	0,15
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGLV 2-23</u>	0,15
	IGHV1-2	IGLV 1-44	0,15
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGLV 1-51</u>	0,15
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGLV 2-23</u>	0,15
	IGHV1-2	IGLV 2-8	0,15
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGLV 3-21</u>	0,15
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGLV 3-1</u>	0,15
	IGHV3-9	IGLV 3-21	0,15
	<u>IGHV3-74</u>	<u>IGLV 3-21</u>	0,15
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGLV 2-14</u>	0,15
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGLV 1-51</u>	0,15
	<u>IGHV1-46</u>	<u>IGLV 1-51</u>	0,15
	IGHV4-61	IGLV 2-11	0,15
	IGHV1-24	IGLV 2-23	0,15
	IGHV1-3	IGLV 2-14	0,15
	IGHV1-3	IGLV 3-1	0,15
	IGHV4-28	IGLV 1-44	0,15
	IGHV4-28	IGLV 1-36	0,15
	IGHV3-43	IGLV 1-51	0,15
15	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,07
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV2-30</u>	0,07
	<u>IGHV3-23</u>	<u>IGKV1-12</u>	0,07
	IGHV3-23	IGKV2-29	0,07
	IGHV3-23	IGKV3D-20	0,07
	IGHV3-23	IGKV1D-12	0,07
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV2-30</u>	0,07
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV1-16</u>	0,07
	<u>IGHV3-30</u>	<u>IGKV1-6</u>	0,07
	IGHV3-30	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-30	IGKV2-24	0,07
	IGHV3-30	IGKV2D-30	0,07
	<u>IGHV4-39</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,07
	IGHV4-59	IGKV2-30	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-17	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-27	0,07

[0509]

	IGHV4-59	IGKV1-8	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-16	0,07
	IGHV4-59	IGKV1-12	0,07
	IGHV4-59	IGKV1D-17	0,07
	IGHV4-34	IGKV1-9	0,07
	IGHV4-34	IGKV1-27	0,07
	IGHV4-34	IGKV1-8	0,07
	IGHV4-34	IGKV1-12	0,07
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,07
	<u>IGHV5-51</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07
	IGHV1-69	IGKV2-28/2D-28	0,07
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGKV2-30</u>	0,07
	<u>IGHV1-69</u>	<u>IGKV1-16</u>	0,07
	IGHV1-69	IGKV2D-29	0,07
	IGHV1-69	IGKV2D-30	0,07
	IGHV1-69	IGKV1D-16	0,07
	IGHV1-69	IGKV3D-15	0,07
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV2-30</u>	0,07
	<u>IGHV3-7</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07
	IGHV3-7	IGKV1D-8	0,07
	IGHV3-7	IGKV1D-17	0,07
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,07
	IGHV1-18	IGKV1-8	0,07
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV1-16</u>	0,07
	<u>IGHV1-18</u>	<u>IGKV1-12</u>	0,07
	IGHV1-18	IGKV1-13	0,07
	IGHV1-18	IGKV2-40/2D-40	0,07
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,07
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,07
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV1-16</u>	0,07
	<u>IGHV3-48</u>	<u>IGKV1-6</u>	0,07
	IGHV3-48	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-48	IGKV3D-20	0,07
	IGHV3-48	IGKV1D-12	0,07
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,07
	<u>IGHV3-21</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07

[0510]

	IGHV3-21	IGKV2D-29	0,07
	<u>IGHV3-15</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07
	IGHV3-15	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-15	IGKV1D-43	0,07
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,07
	IGHV4-31	IGKV4-1	0,07
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,07
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07
	<u>IGHV4-31</u>	<u>IGKV1-6</u>	0,07
	IGHV4-31	IGKV2-40/2D-40	0,07
	IGHV1-2	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV1-2	IGKV1-33/1D-33	0,07
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGKV2-30</u>	0,07
	IGHV1-2	IGKV1-8	0,07
	<u>IGHV1-2</u>	<u>IGKV1-6</u>	0,07
	<u>IGHV3-33</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,07
	IGHV3-33	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV3-33	IGKV1-8	0,07
	IGHV3-53	IGKV2-28/2D-28	0,07
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,07
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,07
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07
	<u>IGHV3-53</u>	<u>IGKV1-12</u>	0,07
	IGHV3-53	IGKV2-29	0,07
	IGHV3-53	IGKV1D-16	0,07
	IGHV3-11	IGKV1-33/1D-33	0,07
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGKV1-9</u>	0,07
	<u>IGHV3-11</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,07
	IGHV3-11	IGKV1D-8	0,07
	IGHV3-9	IGKV3-15	0,07
	IGHV3-9	IGKV4-1	0,07
	IGHV3-9	IGKV3-11	0,07
	IGHV3-9	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV3-9	IGKV1-27	0,07
	IGHV3-9	IGKV1-8	0,07
	IGHV3-9	IGKV1D-8	0,07
	<u>IGHV3-74</u>	<u>IGKV3-20</u>	0,07

[0511]

	<u>IGHV3-74</u>	<u>IGKV3-15</u>	0,07
	<u>IGHV3-74</u>	<u>IGKV3-11</u>	0,07
	<u>IGHV3-74</u>	<u>IGKV2-30</u>	0,07
	IGHV4-4	IGKV2-28/2D-28	0,07
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGKV1-17</u>	0,07
	<u>IGHV4-4</u>	<u>IGKV1-27</u>	0,07
	IGHV4-4	IGKV1D-8	0,07
	<u>IGHV1-46</u>	<u>IGKV1-5</u>	0,07
	IGHV1-46	IGKV4-1	0,07
	IGHV1-46	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV1-46	IGKV1-8	0,07
	IGHV4-61	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV4-61	IGKV1-16	0,07
	IGHV4-61	IGKV1-12	0,07
	IGHV1-8	IGKV1-39/1D-39	0,07
	IGHV1-8	IGKV3-15	0,07
	IGHV1-8	IGKV4-1	0,07
	IGHV1-8	IGKV3-11	0,07
	IGHV1-8	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV1-8	IGKV1-9	0,07
	IGHV1-8	IGKV2-29	0,07
	IGHV1-24	IGKV3-20	0,07
	IGHV1-24	IGKV1-39/1D-39	0,07
	IGHV1-24	IGKV4-1	0,07
	IGHV1-24	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV1-24	IGKV2-30	0,07
	IGHV1-24	IGKV2-24	0,07
	IGHV1-3	IGKV1-5	0,07
	IGHV1-3	IGKV3-15	0,07
	IGHV1-3	IGKV1-33/1D-33	0,07
	IGHV1-3	IGKV2-30	0,07
	IGHV1-3	IGKV2D-29	0,07
	IGHV3-49	IGKV1-5	0,07
	IGHV3-49	IGKV3-15	0,07
	IGHV3-49	IGKV3-11	0,07
	IGHV3-49	IGKV2-28/2D-28	0,07
	IGHV3-43	IGKV4-1	0,07

[0512]

	IGHV3-43	IGKV3-11	0,07

[0513]

[0514] 실시예 5 : 기능성 분석을 위한 생식세포 유전자의 형성

[0515] 다음 단계로, 표 25에서 도시되는 바와 같이, 대장균 발현(포유류의 발현에 대해 중성), 및 합성 각각에 대하여 코돈 최적화를 위해, 조합하여 차후에 시험하기 위해 선택된 VH, VL 및 VK 생식세포 유전자를 Genart(레겐스 부르크, 독일)로 보냈다.

[0516] 하기 표 25는 합성을 위해 보낸 VH, VL 및 VK 생식세포 유전자를 도시한다.

[0517] [표 25]

VH	Vκ	Vλ
1.IGHV3-23	1.IGKV3-20	1.IGLV2-14
2.IGHV3-30	2.IGKV1-39/1D-39	2.IGLV1-40
3.IGHV4-39	3.IGKV1-5	3.IGLV1-51
4.IGHV1-69	4.IGKV3-15	4.IGLV2-23
5.IGHV5-51	5.IGKV3-11	5.IGLV3-21
6.IGHV3-7	6.IGKV2-30	6.IGLV1-47
7.IGHV1-18	7.IGKV1-9	7.IGLV3-1
8.IGHV3-48	8.IGKV1-17	8.IGLV2-11
9.IGHV3-15	9.IGKV1-27	
10.IGHV3-21	10.IGKV1-16	
11.IGHV1-2	11.IGKV1-6	
12.IGHV3-33	12.IGKV1-12	
13.IGHV4-31		
14.IGHV3-53		
15.IGHV3-11		
16.IGHV4-4		
17.IGHV1-46		
18.IGHV3-74		
19.IGHV3-73		
20.IGHV6-1		

[0518]

[0519] VH, Vλ 및 Vκ 생식세포 유전자 각각의 생식세포 유전자 서열은 도 45-47에 도시된다. 각각의 생식세포 유전자 서열은 하기를 포함하도록 합성했다:

[0520] a) VH : 선도서열(도 3에서 도시된 바와 같이 NheI 제한 부위를 포함하는 변형된 phoA 신호 서열); 생식세포 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3(도 3에서 도시된 바와 같이 BSSHII 제한 부위를 포함); 문헌[Ewert S. 등, J. Mol. Biol. (2003) 325, 531-553]에서 사용되는 바와 같이 4D5 항체 중 CDR-H3 (WGGDGFYAMDY); 및 JH4 FR4 (도 3에서 도시된 바와 같이 XhoI/SalI RE 부위를 포함);

[0521] b) Vκ : 선도서열(도 3에서 도시된 바와 같이 NdeI 제한 부위를 포함하는 ompA 신호 서열); 생식세포 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3(도 3에서 도시된 바와 같이 BbsI 제한 부위를 포함), 문헌[Ewert S. 등, J. Mol. Biol. (2003) 325, 531-553]에 따른 κ-유사 CDR-L3(QQHYTTPPT); 및 Jk1 FR4 (도 3에서 도시된 바와 같이 KpnI RE 부위를 포함); 및

[0522] c) Vλ : 선도서열(도 3에서 도시된 바와 같이 NdeI 제한 부위를 포함하는 ompA 신호 서열); 생식세포 FR1, CDR1, FR2, CDR2 및 FR3(도 3에서 도시된 바와 같이 BbsI 제한 부위를 포함), 문헌[Ewert S. 등, J. Mol. Biol. (2003) 325, 531-553]에 따른 λ-유사 CDR-L3(QSYDSSLGVV); 및 JI2/3 FR4(도 3에서 도시된 바와 같이 KpnI RE 부위를 포함).

[0523] 실시예 6 : 인간 면역 레퍼토리를 대표하는 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 기능성 시험

[0524] 다음으로, 400개의 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 하기 특성에 대하여 시험했으며, 이러한 특성은 a) 과지를 제조하고, Fab 포맷에서 과지 ELISA한 후에 상대적 표시율 특성; b) 대장균 내에서 Fab를 제조하고, 대장균 세포를 용해하고, 제조된 Fab를 ELISA 검출한 후에 상대적 Fab 발현 수준 특성; c) 상승된 온도에서 배양한 후, 대장균 내에서 Fab를 제조하고, 대장균 세포를 용해하고, 비-변성된 Fab를 ELISA 검출한 후에 Fab의 온도 안정성 특성; d) 소/마우스 혈청에서 배양한 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출에 의한 대장균 용해물로부터 Fab의 소/마우스 혈청 안정성 특성; e) 포유류 세포에서 IgG1을 제조하고 세포 배양 상층액으로부터 분리된 IgG1을 ELISA 검출한 후에 상대적인 인간 IgG1의 발현 수준; 및 f) 소/마우스 혈청에서 배양한 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출에 의한 인간 IgG1의 소 혈청 안정성 특성이다.

[0525] 실시예 6.1 : 기능성 특징 평가를 위한 과지 상에 표시된 Fab 풀(pool)의 제조

[0526] 표 25에서 도시된 실시예 5에서 합성된 항체 또는 항체 단편을 기능성 시험하기 위하여 트리시스트로닉 Fab 표시 벡터 pJPd1 안에 클로닝하였다. 마스터 유전자 각각의 조합을 함유하는 Fab 풀을 제조했으며, 이는 표18 및 도 39-40에서 도시된 바와 같아, 8개의 Vλ 및 12개의 Vκ가 20개의 VH와 결합하여 400개의 조합을 만들어내고, 인간 면역 레퍼토리로 부터 가장 두드러진 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 압도적 다수를 보여준다.

[0527] 상기 유전자 쌍을 포함하는 과지를 96 웰 플레이트를 이용하여 소규모 생산했다. 각각의 웰을

2xYT/CAM/TET/Gluc 배지로 채우고 400개의 VH/VL 조합으로부터의 클론들을 접종하여 마스터 플레이트를 제조했으며, 여기서 pMORPH30_V_K3-11_AQA/VH3-23_TKA 또는 pMORPH30_V_K3-11_AYA/VH3-23_VLA(pMORPH30는 도 51에서 도시됨)을 대조군으로 사용했다. 상기 플레이트를 밤새도록 37℃에서 교반하며 배양했다. 상기 마스터 플레이트를 15% 글리세롤의 최종농도로 저장했고, -80℃에서 냉동했다.

[0528] 파지 제조를 위해 2xYT/CAM/TET/Gluc 배지를 사용하고 상기 설명된 마스터 플레이트로부터의 클론으로 접종된 부가적인 96 웰 플레이트를 제조했다. 상기 플레이트를 400 rpm으로 교반하면서 약 0.5의 OD_{600nm}를 달성할 때까지 약 2~4시간 동안 37℃에서 배양했다.

[0529] 각 웰당 5 μl 보조 파지로 상기 플레이트를 감염시켰다(하이퍼파지; PROGEN; 1 x 10¹² pfu/ml). 상기 플레이트를 교반없이 37℃에서 45분 동안 배양한 후에 400rpm으로 교반하면서 60분 동안 배양했다. 세균을 4℃에서 5분 동안 2200g에서 가라앉혔다.

[0530] 상청액을 함유하는 보조 파지를 제거하였고, 감염된 대장균 펠릿을 글루코오스가 없는 2xYT/Cam/TET/Kan/IPTG로 재현탁했다. 재현탁된 펠릿을 2xYT/Cm/TET/Kan/IPTG로 미리 채워진 새로운 96 깊은 웰 플레이트로 옮겨 담았다. 상기 플레이트를 교반하며 22℃에서 밤새도록 배양했다. 상청액을 함유하는 파지를 침전시킴으로써 채취하였고, 대장균 세포 및 잔유물을 제거했다.

[0531] 실시예 6.2 : ELISA를 사용하는 Fab 파지 표시 순위 평가

[0532] 파지 ELISA에서 Fab 파지 표시 순위를 매기기 위하여 실시예 6.1에서 설명되는 바와 같이 제조된 파지 상청액을 제조했다.

[0533] 파지 ELISA에서 2개의 상이한 포획 항체를 사용하여 Fab 단편의 표시를 평가했다:

[0534] (1) 주 코팅 단백질 g8P를 통해 파지 입자를 포획하기 위해 항-M13 항체(Amersham #27-9420-01)를 사용했으며; 이에 따라서, 파지 역가는 결정될 수 있다.

[0535] (2) 항-Fd 항체(결합 부위 #PC075)를 사용했고, 이는 표시된 Fab에 결합하며; 이에 의하여, 마스터 유전자를 포함하는 파지 표시 Fab만이 포획된다.

[0536] 항-M13 항체에 대하여 7.5 μg/ml의 농도로 그리고 항-Fd 항체에 대하여 1.0 μg/ml의 농도로 100 μl 항체 용액을 각각의 웰에 분배하고, 래미네이트된 호일로 플레이트를 밀봉하고, 4℃에서 밤새도록 배양함으로써 각각의 포획 항체를 블랙 96-웰 MaxisorpTM 플레이트 상에 고정했다. 다음 날에, 상기 플레이트를 TBST로 2회 세척했고, 각각의 웰을 실온에서 1시간 동안 300 μl의 CTBST로 차단했다.

[0537] 파지 상청액 및 기준 표본 둘 모두를 이어지는 검출을 위해 옮겼다. 차단된 ELISA 플레이트를 TBST로 2회 세척했다. CTBST에서 적절히 희석된 파지 상청액 100 μl를 희석 플레이트에서 코팅된 ELISA 플레이트로 옮겼고, 실온에서 1 내지 2시간동안 배양하고, TBST로 5회 세척했다. CTBST에서 1:5000으로 희석된 항-M13 페록시다아제 콘주게이트(Amersham)를 100 μl 웰에 첨가했고, 실온에서 1 내지 2시간 동안 배양했다. 과산화물 용액 1 부분(예, 0.5 ml)과 기질 용액 9 부분(예, 4.5 ml)를 혼합하고, 30분 이상 동안 실온에서 평형을 이루게 방치하여 Quanta Blu(Pierce) 실험 용액(working solution)을 제조했다. ELISA 플레이트를 TBST로 5회 세척하고, Quanta Blu 실험 용액을 100 μl 웰에 첨가했다. 약 2분간의 배양 후 형광을 측정했고(여기: 320 nm, 방출: 430 nm), 5분 간격으로 형광을 측정했다.

[0538] ELISA 데이터의 평가를 다음과 같이 종료했다: HuCAL GOLD 기준 파지 제조 물질(VH3_K+_L)을 사용하여 검량선을 그린 뒤, 파지 상청액 및 대조군의 적정 농도를 계산했다. 각각의 표본에 대하여, 항-Fd 상의 적정 농도를 항-M13(항-pVIII 상의 적정 농도로 나누었으며, 그 결과 비율은 상대적 표시율이다.

[0539] Fab에서 상대적 표시율을 내부 표준(HuCAL GOLD 파지 제조 물질 VH3_K+_L)에 의해 계산했으며, 이는 공개적으로 입수 불가능하다. 상대적 표시율을 순위로서 평가했다. 상대적 표시 값의 순위 매김으로써, 당해 분야의 통상의 기술자는 임의의 대조군을 사용하여 상기 방법을 재현할 수 있다. 예를 들어, 생식세포 단백질 쌍 각각은 대조군에 관한 양을 보여준다. 그러므로, 특정 상대적 표시율이 다를 것이라는 사실에도 불구하고, 우리의 대조군에 비해 가장 높은 상대적 표시율을 갖는 생식세포 단백질 쌍은 임의의 대조군에 비해 가장 높은 상대적 표시율을 가질 것이다. 따라서, 도 55에 도시되고 표32에도 도시된 상대적 표시 데이터를 사용하여 값의 순위를 매겼으며, 이러한 데이터는 높은 값으로부터 낮은 값의 순위로 나열했다. 이 순위는 표 26에 도시된다. 이에

의하여, Fab 표본 중 상위 10%, 20%, 30%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 80% 및 90% 내의 상대적 표시율을 포함하는 생식세포 단백질 쌍을 식별할 수 있다.

[0540] 특히, 시험된 400 쌍으로부터, 196쌍에 대하여 상대적 표시 값을 얻었다(표 26 참조). 따라서, 당해 분야의 통상의 기술자는 어떤 단백질 쌍이 Fab 표본 중 상위 10%, 20%, 30%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 80% 또는 90% 내에 속하는지 정확히 결정할 수 있다. 예를 들어, 상위 75%는 표 26에서 번호 1-147 순위의 생식세포 단백질 쌍을 포함한다.

[0541] 하기 표 26은 상대적 Fab 표시 값의 순위에 관한 것이다.

[0542] [표 26]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표시 (Cys표시)
1	hVH_3_11	hVK_1_39	29,0
2	hVH_3_07	hVK_1_39	27,3
3	hVH_3_15	hVK_3_11	19,4
4	hVH_3_23	hVK_1_27	17,1
5	hVH_3_33	hVL_2-23	17,1
6	hVH_3_15	hVL_1-40	16,7
7	hVH_3_30	hVL_3-21	16,6
8	hVH_3_21	hVK_1_06	16,1
9	hVH_3_53	hVK_1_12	14,8
10	hVH_3_15	hVK_1_16	14,5
11	hVH_3_07	hVK_3_15	14,5
12	hVH_3_07	hVK_1_27	14,5
13	hVH_3_15	hVK_1_39	14,2
14	hVH_3_23	hVL_2-11	13,6
15	hVH_3_23	hVK_3_20	13,3
16	hVH_3_30	hVK_1_39	13,1
17	hVH_3_15	hVL_1-47	13,0
18	hVH_3_07	hVK_2_30	13,0
19	hVH_3_11	hVL_1-40	12,4
20	hVH_3_33	hVK_3_15	12,3
21	hVH_3_15	hVK_3_15	12,1
22	hVH_3_48	hVK_3_15	12,1
23	hVH_3_21	hVL_3-21	11,8
24	hVH_3_15	hVK_1_06	11,7
25	hVH_3_21	hVK_1_39	11,6
26	hVH_3_15	hVK_1_12	11,5
27	hVH_3_07	hVL_2-14	11,3
28	hVH_3_21	hVK_1_12	11,3
29	hVH_3_53	hVK_1_05	11,1
30	hVH_3_15	hVL_1-51	11,0
31	hVH_3_23	hVK_1_39	10,8
32	hVH_3_53	hVK_1_16	10,7
33	hVH_3_07	hVK_1_12	10,6

[0543]

34	hVH_3_15	hVL_2-11	10,5
35	hVH_3_07	hVK_1_17	10,5
36	hVH_3_11	hVK_1_16	10,3
37	hVH_3_48	hVL_1-47	10,3
38	hVH_3_23	hVL_1-51	10,2
39	hVH_3_15	hVL_2-23	10,1
40	hVH_3_21	hVK_1_05	10,0
41	hVH_3_15	hVK_1_09	10,0
42	hVH_3_74	hVK_3_15	10,0
43	hVH_3_11	hVL_3-21	9,8
44	hVH_3_15	hVL_2-14	9,7
45	hVH_3_53	hVK_3_15	9,6
46	hVH_3_30	hVL_2-23	9,5
47	hVH_3_74	hVK_1_06	9,5
48	hVH_3_15	hVL_3-1	9,4
49	hVH_3_48	hVL_2-23	9,3
50	hVH_3_15	hVL_3-21	9,2
51	hVH_3_30	hVK_1_27	9,1
52	hVH_3_23	hVL_2-14	9,1
53	hVH_3_48	hVK_1_27	8,9
54	hVH_3_15	hVK_3_20	8,9
55	hVH_3_11	hVL_2-23	8,9
56	hVH_3_21	hVL_2-23	8,8
57	hVH_3_74	hVL_1-40	8,8
58	hVH_3_30	hVL_3-1	8,8
59	hVH_3_74	hVK_1_39	8,7
60	hVH_3_48	hVK_1_16	8,7
61	hVH_3_74	hVK_1_09	8,7
62	hVH_3_21	hVK_1_27	8,7
63	hVH_3_74	hVK_1_12	8,4
64	hVH_3_11	hVL_2-11	8,4
65	hVH_3_23	hVK_1_16	8,4
66	hVH_3_53	hVK_1_09	8,3
67	hVH_4_04*03	hVL_1-47	8,3
68	hVH_3_11	hVK_1_12	8,2
69	hVH_3_07	hVL_1-40	8,2
70	hVH_3_15	hVK_1_05	8,1
71	hVH_3_11	hVL_1-47	8,1
72	hVH_3_74	hVK_1_16	8,0
73	hVH_3_15	hVK_1_27	7,8
74	hVH_3_23	hVL_2-23	7,4
75	hVH_3_23	hVL_3-21	7,4
76	hVH_3_53	hVL_2-11	7,2

[0544]

77	hVH_6_1	hVL_1-40	7,2
78	hVH_3_74	hVL_1-51	7,1
79	hVH_3_74	hVL_3-1	7,0
80	hVH_3_07	hVK_1_16	7,0
81	hVH_3_07	hVL_2-23	6,9
82	hVH_3_53	hVK_1_27	6,9
83	hVH_3_11	hVK_1_09	6,7
84	hVH_3_07	hVK_1_09	6,7
85	hVH_3_21	hVL_2-14	6,5
86	hVH_3_74	hVK_1_05	6,4
87	hVH_3_11	hVL_2-14	6,4
88	hVH_3_15	hVK_1_17	6,4
89	hVH_3_53	hVL_1-51	6,4
90	hVH_3_53	hVL_2-23	6,3
91	hVH_3_07	hVL_1-47	6,3
92	hVH_3_23	hVK_1_09	6,1
93	hVH_3_48	hVL_3-1	6,0
94	hVH_3_11	hVK_1_27	6,0
95	hVH_6_1	hVK_1_09	5,9
96	hVH_1_46	hVL_1-51	5,7
97	hVH_3_11	hVK_1_05	5,5
98	hVH_3_30	hVK_1_12	5,4
99	hVH_1_46	hVL_3-21	5,2
100	hVH_4_04*03	hVL_3-21	5,2
101	hVH_3_53	hVL_3-1	5,1
102	hVH_3_07	hVL_3-1	5,0
103	hVH_3_74	hVK_1_27	5,0
104	hVH_3_21	hVK_1_17	5,0
105	hVH_3_74	hVL_2-14	4,7
106	hVH_3_11	hVK_3_15	4,6
107	hVH_3_23	hVL_3-1	4,6
108	hVH_1_69*01	hVL_3-21	4,6
109	hVH_4_04*03	hVK_1_09	4,5
110	hVH_1_18	hVL_3-1	4,4
111	hVH_1_18	hVL_2-23	4,3
112	hVH_1_46	hVL_3-1	4,3
113	hVH_3_11	hVK_1_06	4,3
114	hVH_3_23	hVK_2_30	4,1
115	hVH_5_51	hVL_3-1	3,8
116	hVH_1_18	hVK_1_39	3,7
117	hVH_5_51	hVK_1_39	3,7
118	hVH_3_73	hVK_1_27	3,6
119	hVH_4_39	hVL_3-1	3,6

[0545]

120	hVH_1_69*01	hVK_1_39	3,5
121	hVH_1_69*01	hVL_3-1	3,4
122	hVH_1_18	hVL_3-21	3,4
123	hVH_6_1	hVK_1_06	3,3
124	hVH_4_04*03	hVK_1_16	3,2
125	hVH_3_74	hVL_1-47	3,2
126	hVH_1_46	hVK_3_15	3,0
127	hVH_5_51	hVL_2-23	3,0
128	hVH_1_46	hVK_1_09	3,0
129	hVH_1_69*01	hVK_1_06	2,9
130	hVH_3_53	hVK_1_17	2,9
131	hVH_1_46	hVL_2-23	2,7
132	hVH_4_04*03	hVL_2-23	2,7
133	hVH_5_51	hVK_1_09	2,6
134	hVH_1_18	hVK_3_15	2,6
135	hVH_1_46	hVK_1_39	2,5
136	hVH_1_18	hVL_2-14	2,5
137	hVH_1_18	hVL_1-40	2,4
138	hVH_4_04*03	hVL_3-1	2,2
139	hVH_1_18	hVK_3_20	2,2
140	hVH_4_39	hVK_1_39	2,1
141	hVH_1_69*01	hVK_1_05	2,1
142	hVH_5_51	hVL_2-14	2,1
143	hVH_1_69*01	hVK_1_12	2,1
144	hVH_6_1	hVL_2-23	2,1
145	hVH_4_39	hVL_2-14	2,0
146	hVH_1_18	hVK_1_05	2,0
147	hVH_1_18	hVK_1_16	2,0
148	hVH_1_18	hVL_2-11	1,9
149	hVH_1_18	hVK_2_30	1,9
150	hVH_5_51	hVK_3_15	1,9
151	hVH_5_51	hVK_1_12	1,8
152	hVH_1_69*01	hVL_2-23	1,8
153	hVH_3_74	hVL_3-21	1,8
154	hVH_4_39	hVK_1_06	1,6
155	hVH_1_46	hVL_2-11	1,6
156	hVH_1_69*01	hVK_3_15	1,6
157	hVH_1_18	hVK_1_12	1,6
158	hVH_6_1	hVK_1_12	1,5
159	hVH_4_31	hVL_3-1	1,4
160	hVH_1_46	hVK_1_16	1,3
161	hVH_3_53	hVK_2_30	1,3
162	hVH_5_51	hVK_1_16	1,3

[0546]

163	hVH_1_46	hVK_1_17	1,3
164	hVH_1_69*01	hVK_1_16	1,2
165	hVH_1_18	hVK_1_27	1,2
166	hVH_6_1	hVL_2-11	1,0
167	hVH_1_69*01	hVK_1_17	0,9
168	hVH_4_39	hVL_2-23	0,9
169	hVH_5_51	hVK_2_30	0,9
170	hVH_1_69*01	hVL_2-11	0,8
171	hVH_3_73	hVL_2-23	0,8
172	hVH_4_39	hVK_1_17	0,7
173	hVH_4_39	hVL_1-40	0,6
174	hVH_1_18	hVK_1_06	0,6
175	hVH_3_73	hVK_3_11	0,5
176	hVH_3_73	hVK_1_05	0,4
177	hVH_5_51	hVK_1_27	0,4
178	hVH_6_1	hVL_3-21	0,4
179	hVH_3_73	hVL_3-21	0,4
180	hVH_1_2	hVL_3-1	0,4
181	hVH_4_04*03	hVK_2_30	0,3
182	hVH_3_73	hVK_1_06	0,3
183	hVH_3_73	hVL_1-51	0,3
184	hVH_3_73	hVK_1_09	0,3
185	hVH_3_73	hVK_1_12	0,3
186	hVH_3_73	hVK_1_16	0,3
187	hVH_3_73	hVK_1_39	0,2
188	hVH_3_73	hVK_3_15	0,2
189	hVH_3_73	hVL_2-11	0,2
190	hVH_1_69*01	hVK_1_27	0,2
191	hVH_1_2	hVL_2-11	0,1
192	hVH_1_2	hVK_1_05	0,1
193	hVH_1_2	hVK_1_16	0,1
194	hVH_3_73	hVK_1_17	0,1
195	hVH_1_2	hVK_1_06	0,1
196	hVH_1_2	hVL_2-14	0,1

[0547]

[0548]

도 55는 400개의 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 대부분에 대한 상대적 표시율을 보여준다.

[0549]

실시예 6.3 : 대장균 용해물에서 Fab 발현 수준을 결정하기 위한 400개의 VH/VL 조합의 ELISA 검사

[0550]

Fab 발현 벡터 pJPx1(도 49에서 도시됨) 내의 VH/VL 조합의 폴로 형질전환된 클론을 채집함으로써 마스터 플레이트(MP)를 각각의 웰의 2YT/Cam/1%Gluc 배지 안으로 접종했다. 이러한 플레이트를 교반하며 밤새도록 37℃에서 배양했다. MP로부터의 배양균 2.5 μl와 함께 발현 플레이트(EP)를 각각의 웰의 2YT/Cam/0.1%글루코오스 안으로 접종했다. 글리세롤 원료는 대조군(표 27 참조)에 접종했다. 이러한 플레이트를 37℃에서 6시간 동안 배양하고, 교반한 후에, IPTG를 첨가하여 Fab 발현을 유도하고, 교반하며 22℃에서 밤새도록 배양했다. 붕산/산/EDTA/리소자임-완충액을 EP에 첨가(22℃에서 1시간 배양, 교반)하여 대장균 세포 용해물을 제조하고, 이후에 세균 용해물을 12.5% MPBST로 차단했고, 실온에서 30분 이상 동안 교반했다. 발현 플레이트로부터의 대장균 용해물을 0.5% MPBST로 적절히 희석하고 이어지는 분석에 사용했다.

[0551]

표 27은 사용된 라벨링 되지 않은 코팅 항체 및 AP-라벨링된 검출 항체를 도시한다.

표 27

[0552]

	MOR 명칭	라벨링	숙주	항체	기업	번호	농도	희석	로트(lot)
코팅 Ab	15	라벨링 안됨	양	항-인간 IgG(Fd)	Binding Site	pc075	12.1 mg/ml	1:1000	236366, Exp2009/10
검출 Ab	AP27	AP	마우스	항-FlagM2	Sigma	A9469	1.1 mg/ml	1:5000	048K6143, 새로운 로트

[0553]

표 28은 사용된 대조군을 설명한다.

표 28

[0554]

#	구조체 명칭
3	pMx11_FH VH1-69 VLA_VI1-40 AYA
5	pMx11_FH VH3-23 VLA_Vκ3-11 AYA
비어있는 BEL	pMx9_APStuffer_FHClone1(Fab 분자를 함유하지 않음!)

[0555]

ELISA 검사는 다음의 단계를 포함하며, 상기 단계는 PBS로 희석된 항-인간 IgG Fd 특이 항체로 384 웰의 MaxiSorp 플레이트를 코팅하고 이를 4℃에서 밤새도록 배양하는 단계를 포함한다. 다음 날에, 상기 플레이트를 PBST로 2회 세척했고, 각각의 웰에 PBS 중의 5% 밀크파우더를 첨가하여 차단하고, 교반하며 실온에서 1 내지 2 시간 동안 배양했다. 이후에, 상기 플레이트를 다시 PBST로 세척했고, 0.5% MPBS로 희석된 기차단된 (preblocked) 대장균-용해물을 첨가했고, 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양했다. 또한, 대조군 #3 및 #5를 첨가했다. 다음으로, 상기 플레이트를 PBST로 세척했고, AP-라벨링된 검출 항체를 0.5% MPBS로 희석했다. 희석된 검출 항체를 첨가한 후에 온화하게 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양했다. 하기 단계로 신호를 식별했다: TBST로 웰을 세척하는 단계, 20 μl의 AttoPhos(ddH₂O에서 1:5로 희석됨)를 첨가하는 단계, 및 Tecan(infiniTe F200), 프로그램 Prime Screen을 이용하여 5분 및 7-8분에 신호를 읽는 단계.

[0556]

기준 Fab pMx11_FH VH1-69 VLA_VI1-40 AYA의 ELISA 신호를 각각의 VH/VL 쌍의 ELISA 신호로 나누어서 상대적 Fab 발현 수준을 계산했다. 이에 의하여, 동일하게 높은 ELISA 신호는 상대적 Fab 발현 수준으로 1을 나타낸다. 기준 Fab는 pMORPHX11 플라스미드(도 50에서 도시됨)에서 발현되며, 상기 pMORPHX11 플라스미드는 a) C-말단 NheI 제한 부위를 포함하는 변형된 phoA 중쇄 신호 서열; b) C-말단 NdeI 제한 부위를 포함하는 변형된 ompA 경쇄 신호 서열; c) 도 45a에서 도시된 VH1-69*01 생식세포 유전자의 가변 중쇄의 생식세포 단백질 서열; d) 도 47a에서 도시된 IGLV1-40 생식세포 유전자의 가변 경쇄 단백질 서열; e) hu4D508 항체의 CDR-H3(WGGDGFYAMDY)을 포함하며, 중쇄 FR4에 대하여 JH4 생식세포 단백질 서열을 포함; f) 경쇄 FR4에 대하여 CDR-L3 영역(QSYDSSLGVV) 및 JI2/3 생식세포 단백질 서열을 포함하는 것을 포함한다. hu4D5-8은 문헌[Carter P. 등 (1992) "Humanization of an anti-p185Her2 antibody for human cancer therapy" Proc.Natl. Acad. Sci. USA 89, 4285-4289]에서 설명된다. Geneart(레겐스부르크, 독일)에서 모든 유전자를 제조했다.

[0557]

결과는 도 56에 도시된다.

[0558]

실시에 6.4 : BEL 용해물에서 Fab의 온도 안정성을 확인하기 위한 400개의 VH/VL 조합의 ELISA 검사

[0559]

발현 플레이트를 실시에 6.3에 따라 제조했다. 발현 플레이트로부터의 희석된 대장균 용해물을 45분 동안 다양한 온도에서 배양했고, 이어지는 분석에 사용했다.

[0560]

표 29는 사용된 라벨링 되지 않은 코팅 항체 및 AP-라벨링된 검출 항체를 도시한다.

표 29

[0561]

	MOR 명칭	라벨링	숙주	항체	기업	번호	농도	희석	로트
코팅 Ab	57	라벨링 안됨	마우스	단일클론 항 폴리 히스티딘 항체 IgG1(항 6x-히스티딘); 폴리히스티딘 태그(tag)를 함유하는 폴리 펩타이드	R & D 시스템	MAB050	500 μg/ml	1:250	AEJ1708111
검출 Ab	AP30	AP	염소	항-인간 κ 경쇄	Sigma	A3813	2.3 mg/ml	1:2300	018K6069
검출 Ab	AP5	AP	염소	항-인간 λ 경쇄	Sigma	A2904	0.8 mg/ml	1:800	096K6030

[0562]

ELISA 검사는 PBS에서 희석된 코팅 항체(상기 표 참조)로 384 웰 MaxiSorp 플레이트를 코팅하는 단계를 포함했

다. 상기 플레이트를 밤새도록 4℃에서 배양했다. 다음 날, 상기 플레이트를 PBST로 세척한 후, 각각의 웰에 5% MPBS를 첨가하여 차단했고, 교반하며 실온에서 1 내지 2시간 배양했다. 다음으로, 발현 플레이트로부터의 희석된 대장균 용해물을 96 웰 PCR 플레이트(각각 약 40 μ l) 안으로 분배하였고, PCR-순환기(Cycler)에서 45분 동안 다양한 온도(4℃(얼음 상), 60℃, 70℃, 80℃ 이후에 다시 얼음 상) 각각에 노출시켰다. 차단된 384 우레 플레이트를 PBST로 세척한 후에, 기점중된(pre-incubated) Fab 용해물을 플레이트에 첨가했다. 다음으로, 플레이트를 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양했다. 상기 플레이트를 PBST로 세척했으며, AP-라벨링된 검출 항체를 0.5% MPBS로 희석했다. 20 μ l/웰의 희석된 검출 항체를 첨가했고 온화하게 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양했다. TBST로 웰을 세척하고 AttoPhos(ddH₂O로 1:5 희석됨)를 모든 웰에 첨가하여 신호를 식별했다. Tecan(infiniTe F200), 프로그램 PimeScreen을 이용하여 다양한 시점(5분 내지 10분)에서 신호를 읽었다.

[0563] 결과는 도 57에 도시된다.

[0564] 실시예 6.5 : 대장균 용해물에서 Fab의 혈청 안정성을 확인하기 위한 400 VH/VL 조합의 ELISA 검사

[0565] 실시예 6.3과 같이 발현 플레이트를 제조했다. 대장균 용해물을 함유하는 Fab를 희석하고, 하기 단계를 이용하여 소 및 마우스 혈청에서 배양했다: 발현 플레이트로부터의 대장균 용해물을 50% 혈청(총 부피 100 μ l)에서 희석하고, 세균의 성장을 방지하기 위하여 1:1000 Cam을 첨가한 뒤, 용해물을 2개의 96 웰 플레이트로 분류한 뒤, 2개의 플레이트를 모두 냉동했다. 첫 번째 플레이트를 해동하고 12 내지 13일 동안 37℃에서 배양했다. 두 번째 플레이트를 ELISA를 수행할 때까지(37℃에서 0일째 배양) -80℃에서 저장했다.

[0566] 표 30은 사용된 라벨링 되지 않은 코팅 항체 및 AP-라벨링된 검출 항체를 도시한다.

표 30

[0567]

	MOR 명칭	라벨링	숙주	항체	기업	번호	농도	희석	로트
코팅 Ab	36	Fab	염소	항-인간 IgG(H+L)	Jackson Immuno Research	109-006-008	1.3 mg/ml	1:1000	80299
검출 Ab	AP30	AP	염소	항-인간 κ 경쇄	Sigma	A3813	2.3 mg/ml	1:2300	018K6069
검출 Ab	AP5	AP	염소	항-인간 λ 경쇄; 결합 유리 (free)	Sigma	A2904	0.8 mg/ml	1:800	096K6030

[0568] 11일 또는 12일째에, 384 웰의 MaxiSorp 플레이트를 PBS로 희석된 코팅 항체 20 μ l로 코팅했다. 상기 플레이트를 밤새도록 4℃에서 배양했다. 다음날에, 상기 플레이트를 PBST로 세척했고, 각각의 웰에 5% MPBS를 첨가하여 차단하고, 교반하며 실온에서 1 내지 2시간 동안 배양했다. 다음으로, 차단된 384 웰 플레이트를 PBST로 세척했다. -80℃ 및 37℃ 표본으로부터의 혈청 중의 대장균 용해물을 코팅된 ELISA 플레이트로 옮겼고, 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양했다. 상기 플레이트를 PBST로 세척했고, AP-라벨링된 검출 항체를 0.5% MPBS로 희석했다. AP-라벨링된 검출 항체를 첨가한 뒤 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양했다. TBST로 웰을 세척하고 AttoPhos(ddH₂O로 1:5 희석됨)를 모든 웰에 첨가하여 신호를 식별했다. Tecan(infiniTe F200), 프로그램 PimeScreen을 이용하여 다양한 시점(5분 내지 10분)에서 신호를 읽었다.

[0569] 소 혈청 안정성 시험의 결과는 도 58에 도시된다.

[0570] 마우스 혈청 안정성 시험의 결과는 도 59에 도시된다.

[0571] 실시예 7 : 생물학적 특성의 평가를 위한 IgGs의 제조

[0572] 400개의 VH/VL 생식세포 유전자 쌍의 제조를 위해, 20개의 가변 영역 중쇄 유전자를 도 52에 도시된 인간 IgG1 발현 벡터 pJP_hIgG1 안으로 서브클로닝(sub-cloned)했다. 이와 동일하게, 12개의 가변 영역 κ 유전자를 도 53에 도시된 포유류의 κ 경쇄 발현 벡터 pJP_hIg κ 안으로 서브클로닝하고, 8개의 가변 영역 λ 유전자를 도

54에 도시된 포유류의 λ 경쇄 발현 벡터 pJP_hIg λ 안으로 서브클로닝했다.

[0573] 각각의 공동형질주입에 의해, 중쇄 및 경쇄 발현 플라스미드 모두 400개의 VH/VL 쌍은 단지 40개의 발현 구조체를 클로닝하는 것에 의해 별도로 제조될 수 있다. 따라서, 모든 20 개의 중쇄 구조체를 HEK.EBNA 세포 내의 경쇄 발현 구조체 각각과 공동형질주입했다. 형질주입을 한 지 몇일 후에 세포 배양 상청액으로부터 인간 IgG1을 채취하거나 검출했다.

[0574] 실시예 7.1 : IgG 발현 순위

[0575] 라이브러리에 포함될 수 있는 VH/VL 쌍을 선택하기 위한 하나의 기준은 IgG 포맷에서 400개의 다른 VH/VL 쌍의 발현 수준이다. 인간 IgG1 포맷의 VH/VL 쌍 각각의 발현 수준을 샌드위치 ELISA로 평가했다. 따라서, 인간 IgG1 포맷의 모든 400개의 VH/VL 조합을 HEK.EBNA 세포 안에 형질주입했고, 소규모로 발현했다. 몇 일 뒤에 세포 배양 상청액을 채취하고 IgG 수준을 평가했다.

[0576] 이어지는 과정을 수행했다. PBS 중의 Fc γ -pan R10Z8E9 마우스 항-인간 IgG를 2.5 μ g/ml로 384 웰 MaxiSorpTM 플레이트를 코팅했다. 상기 플레이트를 밤새도록 4℃에서 배양했다. 상기 플레이트를 PBST로 세척했다. 상기 플레이트를 PBS 중의 5% BSA 또는 1 x Chemiblocker로 차단했고, 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양한 뒤, 다시 PBST로 세척했다. IgG 발현 상청액을 2.5% BSA-PBST로 희석했고, 희석된 표본을 차단되고 세척된 ELISA 플레이트에 첨가했다. 빈 상청액 및 저 발현 항체, 중등도 발현 항체, 고 발현 항체를 포함하는 상청액을 대조군으로 사용했다. 플레이트를 교반하며 실온에서 2시간 동안 배양했다. 다음으로, 상기 플레이트를 TBST로 세척했다. 1% BSA-TBST에 콘주게이션된 적절하게 희석된 Fc γ -pan R10Z8E9 마우스 항-인간 IgG Biotin을 첨가했다. 상기 플레이트를 실온에서 1시간 동안 배양했다. 상기 플레이트를 TBST로 세척했다. 0.5% BSA-TBST로 1:2000 희석된 Streptavidin-AP를 첨가했고, 플레이트를 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양했다. 상기 플레이트를 TBST로 세척했다. 사용하기 직전에 TBST로 희석된 AttoPhosTM 형광 기질(제조자의 지침에 따라 제조됨)을 첨가했다. 5분 및 10분 뒤에, 형광을 Tecan 마이크로플레이트 리더를 통해 측정했다.

[0577] 기준 IgG1 MOR03080의 ELISA 신호(표 31에 도시됨)를 상대적 VH/VL 쌍의 ELISA 신호로 나누어서 상대적 IgG1 발현 수준을 계산했다. 이에 의하여, 동일하게 높은 ELISA 신호는 상대적 IgG1 발현 수준 1을 가져온다.

[0578] MOR03080의 아미노산 서열은 표 31에 도시되는 바와 같다

[0579] [표 31]

03080 가변 중쇄(CDR은 볼드체로 나타냄)

(1) QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS**GFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVS**N
(51) **IYSDGSNTFYADSVKGRFTISRDN**SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARNM
(101) **YRWPFHYFFDYWGQGT**LVTVSS

03080 가변 경쇄(CDR은 볼드체로 나타냄)

(1) DIELTQPPSV SVAPGQTARIS**CGDNIGNKYVSWYQQKPGQAPV**VVIYGD
(51) **NNRPSG**IPERFSGSNSGNTATLTISGTQAEDEADYY**CSSYDSSYFV**FGGG
(101) TKLTVLGQ

[0580]

[0581] 결과는 도 60에 도시된다.

[0582] 실시예 7.2 : IgG1 혈청 안정성 순위

[0583] 라이브러리에 포함될 수 있는 가변 중쇄 및 가변 경쇄 쌍을 선택하기 위한 하나의 조건은 IgG 포맷에서 400 개의 다양한 가변 중쇄 및 가변 경쇄 쌍의 혈청 안정성이다. 14일 동안 50% 마우스 혈청에서 배양하고 이후에 마우스 항-인간 IgG(CH2) 클론 R10Z8E9로 샌드위치 ELISA하여 IgG 항체 상청액 각각의 혈청 안정성을 평가했다. 또, 인간 IgG1 포맷의 모든 400개의 VH/VL 조합을 HEK.EBNA 세포 안으로 형질주입하고 소규모로 발현했다. 몇 일 뒤에 세포 배양 상청액을 채취하고 혈청 안정성에 대하여 상청액에서 IgG를 평가했다.

- [0584] 이어지는 과정을 수행했다. PBS 중의 Fc_γ-pan R10Z8E9 마우스 항-인간 IgG를 2.5 μg/ml로 384 웰 MaxiSorp™ 플레이트를 코팅했다. 상기 플레이트를 밤새도록 4℃에서 배양했다. 상기 플레이트를 PBST로 세척한 후, 교반하며 실온에서 1시간 동안 5% BSA-PBST로 차단하거나 1 x Chemiblocker로 차단했다. 상기 플레이트를 PBST로 세척했다. 세포 배양 상청액을 함유하는 IgG1을 a) 2.5% BSA-PBST 및 b) 50% 마우스 혈청으로 희석하고 14일 이상 동안 37℃에서 배양한 후에, 이러한 표본을 차단되고 세척된 ELISA 플레이트에 첨가했다. 빈 상청액 및 저 발현 항체, 중등도 발현 항체, 고 발현 항체를 포함하는 상청액을 대조군으로 사용했다. 플레이트를 교반하며 실온에서 2시간 동안 배양했다. 상기 플레이트를 TBST로 세척했다. 1% BSA-TBST 중의 0.8 μg/ml로 희석된 Fc_γ-pan R10Z8E9 마우스 항-인간 IgG Biotin 콘주게이트를 첨가했다. 상기 플레이트를 실온에서 1시간 동안 배양했다. 상기 플레이트를 TBST로 세척했다. 0.5% BSA-TBST 중의 1:2000으로 희석된 Streptavidin-AP를 첨가했다. 상기 플레이트를 교반하며 실온에서 1시간 동안 배양했다. 상기 플레이트를 TBST로 세척했다. 사용하기 직전에 TBST 중의 1:5로 희석된 AttoPhos™ 형광 기질(제조사에 따라 제조됨)을 첨가했다. 5분 및 10분 후에, Tecan 마이크로플레이트 리더를 통해 형광을 측정했다.
- [0585] 결과는 도 61에 도시된다.
- [0586] 실시예 8 : 집합 안으로 합입하기 위한 호의적인 생물학적 특성을 갖는 VH/VL 쌍의 선택
- [0587] 일단 하기 특성에 대하여 400개의 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 시험하며, 다음으로 어떤 VH/VL 생식세포 쌍이 집합 안으로 합입될 수 있을지를 선택한다. 상기 특성은 a) Fab 포맷으로 파지를 제조하고 파지 ELISA 후에 상대적 표시; b) 대장균에서 Fab를 제조하고 대장균 세포를 용해하고 제조된 Fab를 ELISA 검출한 후에 상대적 Fab 발현 수준; c) 대장균에서 Fab 제조 후에 Fab의 온도 안정성, 대장균 세포 용해 및 상승된 온도에서 배양 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출; d) 소/마우스 혈청에서 배양한 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출에 의한 대장균 용해물로부터 Fab의 소/마우스 혈청 안정성; e) 포유류 세포에서 IgG1을 제조하고 세포 배양 상층액으로부터 분리된 IgG1의 ELISA 검출한 후에 상대적 인간 IgG1 발현 수준; 및 f) 소/마우스 혈청에서 배양한 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출에 의한 인간 IgG1의 소 혈청 안정성이다.
- [0588] VH/VL 생식세포 단백질 쌍 각각에 대한 시능성 시험의 결과는 표 32에 도시된다.
- [0589] 하기 표 32는 400개의 VH/VL 생식세포 유전자 쌍 각각에 대한 기능성 데이터의 모음이다.

[0590] [표 32]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표지 (Oys표지)	상대적인 Fab 발현	Fab 온도안정성	마우스 혈청에서 Fab 안정성	소 혈청에서 Fab 안정성	Fab 순위 값	상대적인 IgG1 발현	소 혈청에서 IgG1 안정성
1	hVH_1_2	hVK_1_05	0.1	0.0	bg	U	S	10	0.0	bg
2	hVH_1_2	hVK_1_06	0.1	0.2	60	S	S	42	0.0	bg
3	hVH_1_2	hVK_1_09	0.0	0.0	bg	U	S	11	0.0	bg
4	hVH_1_2	hVK_1_12	0.0	0.0	bg	S	S	20	0.0	bg
5	hVH_1_2	hVK_1_16	0.1	0.0	bg	S	S	20	0.0	bg
6	hVH_1_2	hVK_1_17	0.0	0.0	bg	S	S	21	0.0	bg
7	hVH_1_2	hVK_1_27	0.0	0.1	bg	S	S	22	0.0	bg
8	hVH_1_2	hVK_1_39	0.0	0.0	bg	S	S	21	0.0	bg
9	hVH_1_2	hVK_2_30		0.0	bg	S	S	20	0.0	bg
10	hVH_1_2	hVK_3_11	0.0	0.0	bg	S	S	20	0.0	bg
11	hVH_1_2	hVK_3_15	0.0	0.0	bg	U	S	10	0.0	bg
12	hVH_1_2	hVK_3_20		0.0	bg	S	S	21	0.0	bg
13	hVH_1_2	hVL_140						0	0.3	bg
14	hVH_1_2	hVL_147	0.0	0.0	4	U	U	2	0.0	bg
15	hVH_1_2	hVL_151	0.0	0.0	4	U	U	0	0.4	bg
16	hVH_1_2	hVL_2-11	0.1	0.0	4	S	S	22	0.3	bg
17	hVH_1_2	hVL_2-14	0.1	0.0	4	U	U	0	0.1	bg
18	hVH_1_2	hVL_2-23	0.0	0.0	4	U	U	0	0.0	bg
19	hVH_1_2	hVL_3-1	0.4	0.0	4	U	U	1	0.0	bg
20	hVH_1_2	hVL_3-21	0.0	0.0	4	U	U	0	0.0	bg
21	hVH_1_18	hVK_1_05	2.0	0.4	60	S	S	54	0.4	S
22	hVH_1_18	hVK_1_06	0.6	0.5	60	S	S	56	0.2	S
23	hVH_1_18	hVK_1_09						0	0.1	S
24	hVH_1_18	hVK_1_12	1.6	0.5	60	S	S	56	0.1	bg
25	hVH_1_18	hVK_1_16	2.0					3	0.2	S
26	hVH_1_18	hVK_1_17		0.5		S	S	38	0.3	S
27	hVH_1_18	hVK_1_27	1.2	0.4	70	S	S	62	0.5	S
28	hVH_1_18	hVK_1_39	3.7	0.3	60	S	S	53	0.1	S
29	hVH_1_18	hVK_2_30	1.9	0.5	60	S	S	56	0.0	S
30	hVH_1_18	hVK_3_11		0.6	60	S	S	56	0.0	S
31	hVH_1_18	hVK_3_15	2.6	0.5	70	S	S	67	0.3	S
32	hVH_1_18	hVK_3_20	2.2	0.9	60	S	S	72	0.0	S
33	hVH_1_18	hVL_140	2.4					4	0.5	S
34	hVH_1_18	hVL_147		0.8	60	S	S	66	0.4	U
35	hVH_1_18	hVL_151						0	0.5	S
36	hVH_1_18	hVL_2-11	1.9					3	0.5	U
37	hVH_1_18	hVL_2-14	2.5	0.6	60	S	S	64	0.5	U
38	hVH_1_18	hVL_2-23	4.3	0.7	60	S	S	70	0.4	S
39	hVH_1_18	hVL_3-1	4.4	0.6	60	S	S	65	0.2	U
40	hVH_1_18	hVL_3-21	3.4	0.6	60	S	S	64	0.2	S
41	hVH_1_46	hVK_1_05		0.4	60	S	S	51	0.9	S
42	hVH_1_46	hVK_1_06						0	0.9	S
43	hVH_1_46	hVK_1_09	3.0	0.6	60	S	S	63	0.4	S
44	hVH_1_46	hVK_1_12		0.5	60	S	S	55	0.2	S
45	hVH_1_46	hVK_1_16	1.3	0.6	60	S	S	61	0.3	S
46	hVH_1_46	hVK_1_17	1.3					2	0.5	S
47	hVH_1_46	hVK_1_27						0	0.6	S
48	hVH_1_46	hVK_1_39	2.5	0.4	60	S	S	55	0.5	S
49	hVH_1_46	hVK_2_30		0.2	4	U	S	16	0.0	S

[0591]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표시 (Oys표시)	상대적인 Fab 발현	Fab 온도안정성	마우스 혈청에서 Fab 안정성	소 혈청에서 Fab 안정성	Fab 순위 값	상대적인 IgG1 발현	소 혈청에서 IgG1 안정성
50	hVH 1 46	hVK 3 11						0	0.1	S
51	hVH 1 46	hVK 3 15	3.0	0.7	60	S	S	68	0.4	S
52	hVH 1 46	hVK 3 20						0	0.1	S
53	hVH 1 46	hVL 1 40		1.0	60	S	S	73	0.9	S
54	hVH 1 46	hVL 1 47						0	0.6	U
55	hVH 1 46	hVL 1 51	5.7					10	0.3	S
56	hVH 1 46	hVL 2 11	1.6					3	0.3	S
57	hVH 1 46	hVL 2 14						0	0.3	U
58	hVH 1 46	hVL 2 23	2.7	1.0	60	S	S	79	0.3	S
59	hVH 1 46	hVL 3 1	4.3					7	0.4	S
60	hVH 1 46	hVL 3 21	5.2					9	0.3	S
61	hVH 1 69*01	hVK 1 05	2.1	0.5	60	S	S	59	0.9	S
62	hVH 1 69*01	hVK 1 06	2.9					5	0.5	S
63	hVH 1 69*01	hVK 1 09		0.3	60	S	U	37	0.4	S
64	hVH 1 69*01	hVK 1 12	2.1	0.4	60	S	S	53	0.3	S
65	hVH 1 69*01	hVK 1 16	1.2					2	0.4	S
66	hVH 1 69*01	hVK 1 17	0.9	0.3	4	S	S	31	0.3	S
67	hVH 1 69*01	hVK 1 27	0.2	0.3	70	S	S	56	0.4	S
68	hVH 1 69*01	hVK 1 39	3.5	0.1	4	S	S	31	0.4	U
69	hVH 1 69*01	hVK 2 30						0	0.0	S
70	hVH 1 69*01	hVK 3 11		0.7	60	S	S	60	0.0	S
71	hVH 1 69*01	hVK 3 15	1.6	0.5	70	S	S	66	0.5	S
72	hVH 1 69*01	hVK 3 20		0.5	60	S	S	54	0.0	S
73	hVH 1 69*01	hVL 1 40		1.0	60	S	S	72	0.2	S
74	hVH 1 69*01	hVL 1 47						0	0.2	U
75	hVH 1 69*01	hVL 1 51		0.8	60	S	S	64	0.3	S
76	hVH 1 69*01	hVL 2 11	0.8	0.7	60	S	S	65	0.2	S
77	hVH 1 69*01	hVL 2 14		0.8	60	S	S	64	0.3	U
78	hVH 1 69*01	hVL 2 23	1.8					3	0.3	S
79	hVH 1 69*01	hVL 3 1	3.4	0.7		S	S	52	0.2	S
80	hVH 1 69*01	hVL 3 21	4.6	0.7	60	S	S	71	0.1	S
81	hVH 3 07	hVK 1 05		0.7	60	S	S	63	0.9	U
82	hVH 3 07	hVK 1 06		0.9	60	S	S	69	1.3	S
83	hVH 3 07	hVK 1 09	6.7	0.4	60	S	S	50	1.5	S
84	hVH 3 07	hVK 1 12	10.6	0.9	70	S	S	97	0.9	S
85	hVH 3 07	hVK 1 16	7.0					12	1.5	S
86	hVH 3 07	hVK 1 17	10.5	0.5	4	S	S	40	0.9	S
87	hVH 3 07	hVK 1 27	14.5	0.5	70	S	S	87	1.8	S
88	hVH 3 07	hVK 1 39	27.3	0.3	60	U	S	85	1.2	S
89	hVH 3 07	hVK 2 30	13.0					0	0.3	S
90	hVH 3 07	hVK 3 11						0	0.4	S
91	hVH 3 07	hVK 3 15	14.5	0.7	70	S	S	95	1.8	S
92	hVH 3 07	hVK 3 20						0	0.4	S
93	hVH 3 07	hVL 1 40	8.2					14	0.3	S
94	hVH 3 07	hVL 1 47	6.3	1.2	60	S	S	90	0.8	U
95	hVH 3 07	hVL 1 51		1.0	60	S	S	74	0.9	S
96	hVH 3 07	hVL 2 11						0	1.2	S
97	hVH 3 07	hVL 2 14	11.3					19	0.8	U
98	hVH 3 07	hVL 2 23	6.9	0.8	60	S	S	76	0.7	S
99	hVH 3 07	hVL 3 1	5.0	0.5	60	S	S	64	1.2	S

[0592]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표시 (Oys표시)	상대적인 Fab 발현	Fab 온도안정성	마우스 혈청에서 Fab 안정성	소 혈청에서 Fab 안정성	Fab 순위 값	상대적인 IgG1 발현	소 혈청에서 IgG1 안정성
100	hVH 3 07	hVL 3-21		0.7	60	S	S	61	0.3	S
101	hVH 3 11	hVK 1 05	5.5	0.5	60	S	S	65	0.5	S
102	hVH 3 11	hVK 1 06	4.3	0.6	60	S	S	64	1.4	S
103	hVH 3 11	hVK 1 09	6.7					0	0.9	S
104	hVH 3 11	hVK 1 12	8.2	0.6	60	S	S	73	0.9	S
105	hVH 3 11	hVK 1 16	10.3	0.6	60	S	U	61	1.2	S
106	hVH 3 11	hVK 1 17						0	0.9	S
107	hVH 3 11	hVK 1 27	6.0					0	1.7	S
108	hVH 3 11	hVK 1 39	29.0					50	1.8	S
109	hVH 3 11	hVK 2 30		0.4	4	S	S	34	1.1	U
110	hVH 3 11	hVK 3 11	0.0					0	0.6	S
111	hVH 3 11	hVK 3 15	4.6	0.7	60	S	S	68	1.6	S
112	hVH 3 11	hVK 3 20						0	0.2	S
113	hVH 3 11	hVL 1-40	12.4					21	0.3	S
114	hVH 3 11	hVL 1-47	8.1	0.8	60	S	S	80	1.3	U
115	hVH 3 11	hVL 1-51		1.1	60	S	S	77	1.9	S
116	hVH 3 11	hVL 2-11	8.4					14	1.1	S
117	hVH 3 11	hVL 2-14	6.4	0.9	60	S	S	81	0.4	U
118	hVH 3 11	hVL 2-23	8.9	1.0	60	S	S	88	0.4	S
119	hVH 3 11	hVL 3-1		0.5	60	S	S	53	1.6	S
120	hVH 3 11	hVL 3-21	9.8					17	0.3	S
121	hVH 3 15	hVK 1 05	8.1	0.5	60	S	S	68	0.4	S
122	hVH 3 15	hVK 1 06	11.7	0.6	60	S	S	79	0.8	S
123	hVH 3 15	hVK 1 09	10.0	0.5	70	S	S	80	0.9	S
124	hVH 3 15	hVK 1 12	11.5	0.7	70	S	S	90	0.7	S
125	hVH 3 15	hVK 1 16	14.5	0.7	60	S	S	86	1.5	S
126	hVH 3 15	hVK 1 17	6.4	0.6	4	U	U	30	0.8	S
127	hVH 3 15	hVK 1 27	7.8	0.5	70	S	S	77	1.7	S
128	hVH 3 15	hVK 1 39	14.2	0.4	60	S	S	76	1.8	S
129	hVH 3 15	hVK 2 30		0.3	4	S	U	23	0.6	S
130	hVH 3 15	hVK 3 11	19.4					33	0.8	S
131	hVH 3 15	hVK 3 15	12.1	0.6	70	S	S	70	1.9	S
132	hVH 3 15	hVK 3 20	8.9					0	0.5	S
133	hVH 3 15	hVL 1-40	16.7	0.9	60	S	S	98	0.1	S
134	hVH 3 15	hVL 1-47	13.0	1.2	60	S	S	102	0.2	U
135	hVH 3 15	hVL 1-51	11.0	1.1	60	S	S	94	0.9	S
136	hVH 3 15	hVL 2-11	10.5	0.9	60	S	S	88	0.8	S
137	hVH 3 15	hVL 2-14	9.7	0.8	60	S	S	83	0.9	U
138	hVH 3 15	hVL 2-23	10.1					17	0.4	S
139	hVH 3 15	hVL 3-1	9.4	0.3	4	S	S	46	1.0	S
140	hVH 3 15	hVL 3-21	9.2	0.8		S	S	65	0.2	S
141	hVH 3 21	hVK 1 05	10.0					17	0.8	S
142	hVH 3 21	hVK 1 06	16.1	1.0	60	S	S	99	0.9	S
143	hVH 3 21	hVK 1 09						0	0.4	S
144	hVH 3 21	hVK 1 12	11.3	0.6	60	S	S	77	0.5	S
145	hVH 3 21	hVK 1 16		0.9	60	S	S	68	0.0	S
146	hVH 3 21	hVK 1 17	5.0					9	0.0	S
147	hVH 3 21	hVK 1 27	8.7	0.6	60	S	S	78	0.5	S
148	hVH 3 21	hVK 1 39	11.6	0.5	60	S	S	54	0.8	S
149	hVH 3 21	hVK 2 30		0.6	4	S	S	44	0.1	U

[0593]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표시 (Cys표시)	상대적인 Fab 발현	Fab 온도안정성	마우스 혈청에서 Fab 안정성	소 혈청에서 Fab 안정성	Fab 순위 값	상대적인 IgG1 발현	소 혈청에서 IgG1 안정성
150	hVH_3_21	hVK_3_11						0	0.2	S
151	hVH_3_21	hVK_3_15		0.8	60	S	S	65	0.3	S
152	hVH_3_21	hVK_3_20						0	0.5	S
153	hVH_3_21	hVL_1_40		1.0	60	S	S	72	0.5	S
154	hVH_3_21	hVL_1_47	0.0	1.2	60	S	S	81	0.3	S
155	hVH_3_21	hVL_1_51						0	0.9	S
156	hVH_3_21	hVL_2_11		0.9	60	S	S	68	0.7	S
157	hVH_3_21	hVL_2-14	6.5	0.9	60	S	S	81	1.2	S
158	hVH_3_21	hVL_2-23	8.8	1.0	60	S	S	90	0.9	S
159	hVH_3_21	hVL_3-1		0.7	60	S	S	60	0.4	S
160	hVH_3_21	hVL_3-21	11.8	0.9	60	S	S	88	0.1	S
161	hVH_3_23	hVK_1_05		0.8	60	S	S	64	0.2	S
162	hVH_3_23	hVK_1_06		0.7	60	S	S	61	0.2	S
163	hVH_3_23	hVK_1_09	6.1	0.8	70	S	S	86	0.1	S
164	hVH_3_23	hVK_1_12		0.9	60	S	S	68	0.1	S
165	hVH_3_23	hVK_1_16	8.4	0.6	60	S	S	72	0.2	S
166	hVH_3_23	hVK_1_17		0.6	4	S	U	31	0.1	S
167	hVH_3_23	hVK_1_27	17.1					29	0.2	S
168	hVH_3_23	hVK_1_39	10.8					19	0.3	S
169	hVH_3_23	hVK_2_30	4.1	0.3	4	S	S	39	0.0	bg
170	hVH_3_23	hVK_3_11						0	0.0	bg
171	hVH_3_23	hVK_3_15		0.7	70	S	S	73	0.4	S
172	hVH_3_23	hVK_3_20	13.3					0	0.2	S
173	hVH_3_23	hVL_1_40						0	0.1	S
174	hVH_3_23	hVL_1_47						0	0.1	S
175	hVH_3_23	hVL_1_51	10.2	1.1	60	S	S	94	0.2	S
176	hVH_3_23	hVL_2-11	13.6					23	0.1	S
177	hVH_3_23	hVL_2-14	9.1					16	0.3	S
178	hVH_3_23	hVL_2-23	7.4	0.9	60	S	S	82	0.3	S
179	hVH_3_23	hVL_3-1	4.6	0.4	60	S	S	60	0.1	S
180	hVH_3_23	hVL_3-21	7.4	0.8	60	S	S	78	0.1	S
181	hVH_3_30	hVK_1_05						0	0.7	S
182	hVH_3_30	hVK_1_06		1.0	60	S	S	75	0.6	S
183	hVH_3_30	hVK_1_09						0	0.3	S
184	hVH_3_30	hVK_1_12	5.4	0.8	60	S	S	73	0.3	S
185	hVH_3_30	hVK_1_16		0.9	60	S	S	69	0.4	S
186	hVH_3_30	hVK_1_17						0	0.5	S
187	hVH_3_30	hVK_1_27	9.1	0.4	60	S	U	38	0.5	S
188	hVH_3_30	hVK_1_39	13.1	0.0	bg	U	U	19	1.0	S
189	hVH_3_30	hVK_2_30		0.4	4	S	U	23	0.1	bg
190	hVH_3_30	hVK_3_11		0.4	60	S	S	50	0.1	S
191	hVH_3_30	hVK_3_15		0.7	60	S	S	61	0.9	S
192	hVH_3_30	hVK_3_20		0.7	60	S	S	63	0.4	S
193	hVH_3_30	hVL_1_40						0	0.8	S
194	hVH_3_30	hVL_1_47		1.1	60	S	S	78	0.3	S
195	hVH_3_30	hVL_1_51						0	0.4	S
196	hVH_3_30	hVL_2-11		0.7	60	S	S	62	0.4	S
197	hVH_3_30	hVL_2-14		0.8	60	S	S	66	1.0	S
198	hVH_3_30	hVL_2-23	9.5	1.0	60	S	S	89	0.5	S
199	hVH_3_30	hVL_3-1	8.8	0.6	60	S	S	73	0.5	S

[0594]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표시 (Cys표시)	상대적인 Fab 발현	Fab 온도안정성	마우스 혈청에서 Fab 안정성	소 혈청에서 Fab 안정성	Fab 순위 값	상대적인 IgG1 발현	소 혈청에서 IgG1 안정성
200	hVH 3 30	hVL 3-21	16.6	0.8	60	S	S	93	0.2	S
201	hVH 3 33	hVK 1 05		0.3	60	S	S	46	0.0	S
202	hVH 3 33	hVK 1 06						0	0.6	S
203	hVH 3 33	hVK 1 09		0.7	60	S	S	60	0.2	S
204	hVH 3 33	hVK 1 12		0.2	60	S	U	34	0.2	S
205	hVH 3 33	hVK 1 16						0	0.4	S
206	hVH 3 33	hVK 1 17						0	0.5	S
207	hVH 3 33	hVK 1 27		0.6	60	S	S	57	0.2	S
208	hVH 3 33	hVK 1 39						0	0.8	S
209	hVH 3 33	hVK 2 30						0	0.3	S
210	hVH 3 33	hVK 3 11						0	0.6	S
211	hVH 3 33	hVK 3 15	12.3	0.6	60	S	S	77	0.9	S
212	hVH 3 33	hVK 3 20		1.0	60	S	S	72	0.3	S
213	hVH 3 33	hVL 1-40						0	1.0	S
214	hVH 3 33	hVL 1-47		1.1	60	S	S	77	0.4	S
215	hVH 3 33	hVL 1-51						0	0.6	S
216	hVH 3 33	hVL 2-11		0.5	60	S	S	54	0.5	S
217	hVH 3 33	hVL 2-14		0.9	4	S	S	53	0.9	S
218	hVH 3 33	hVL 2-23	17.1	0.5	60	S	S	82	0.5	S
219	hVH 3 33	hVL 3-1		0.2	60	S	S	44	0.7	S
220	hVH 3 33	hVL 3-21		0.8	60	S	S	67	0.5	S
221	hVH 3 48	hVK 1 05						0	0.6	S
222	hVH 3 48	hVK 1 06						0	0.7	S
223	hVH 3 48	hVK 1 09						0	0.2	S
224	hVH 3 48	hVK 1 12						0	0.3	S
225	hVH 3 48	hVK 1 16	8.7					15	0.5	S
226	hVH 3 48	hVK 1 17						0	0.5	S
227	hVH 3 48	hVK 1 27	8.9	0.7	60	S	S	74	0.9	S
228	hVH 3 48	hVK 1 39						0	0.5	S
229	hVH 3 48	hVK 2 30						0	0.3	S
230	hVH 3 48	hVK 3 11						0	0.7	S
231	hVH 3 48	hVK 3 15	12.1					21	0.3	S
232	hVH 3 48	hVK 3 20		0.8	60	S	S	65	0.4	S
233	hVH 3 48	hVL 1-40		0.8		S	S	51	0.6	S
234	hVH 3 48	hVL 1-47	10.3					18	0.4	S
235	hVH 3 48	hVL 1-51		1.2	60	S	S	80	0.7	S
236	hVH 3 48	hVL 2-11						0	0.6	S
237	hVH 3 48	hVL 2-14						0	0.6	S
238	hVH 3 48	hVL 2-23	9.3					16	0.5	S
239	hVH 3 48	hVL 3-1	6.0	0.8		S	S	61	0.5	S
240	hVH 3 48	hVL 3-21						0	0.3	S
241	hVH 3 53	hVK 1 05	11.1	0.7	4	U	S	60	0.8	S
242	hVH 3 53	hVK 1 06		0.7	60	S	S	63	0.7	S
243	hVH 3 53	hVK 1 09	8.3	0.9	60	S	S	83	0.4	S
244	hVH 3 53	hVK 1 12	14.8	0.7	60	S	S	60	0.2	S
245	hVH 3 53	hVK 1 16	10.7	0.0	bg	bg	U	20	0.3	S
246	hVH 3 53	hVK 1 17	2.9	0.5	4	S	S	42	0.5	S
247	hVH 3 53	hVK 1 27	6.9	0.4	60	S	S	62	0.2	S
248	hVH 3 53	hVK 1 39		0.6	60	S	S	56	0.2	S
249	hVH 3 53	hVK 2 30	1.3	0.3	4	S	S	32	0.0	bg

[0595]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표시 (Oys표시)	상대적인 Fab 발현	Fab 온도안정성	마우스 혈청에서 Fab 안정성	소 혈청에서 Fab 안정성	Fab 순위 값	상대적인 IgG1 발현	소 혈청에서 IgG1 안정성
260	hVH 3 53	hVK 3 11		0.8	60	S	S	64	0.3	S
261	hVH 3 53	hVK 3 15	9.6	0.7	60	S	S	63	0.5	S
262	hVH 3 53	hVK 3 20		0.3	4	S	S	32	0.3	S
263	hVH 3 53	hVL 1 40		1.1	4	S	S	60	1.1	S
264	hVH 3 53	hVL 1 47		1.1	60	S	S	79	0.2	S
265	hVH 3 53	hVL 1 51	6.4	1.3	60	S	S	96	0.4	S
265b	hVH 3 53	hVL 2 11	7.2	0.8	60	S	S	78	0.3	S
267	hVH 3 53	hVL 2 14		1.0	60	S	S	75	0.8	S
268	hVH 3 53	hVL 2 23	6.3	1.1	60	S	S	86	0.6	S
268b	hVH 3 53	hVL 3 1	5.1	0.6	60	S	S	67	0.5	S
269	hVH 3 53	hVL 3 21		0.8	60	S	S	66	0.5	S
261	hVH 3 73	hVK 1 05	0.4	0.2	60	S	S	45	1.1	S
262	hVH 3 73	hVK 1 06	0.3	0.2	60	S	S	45	1.0	S
263	hVH 3 73	hVK 1 09	0.3	0.1	60	S	S	39	0.9	S
264	hVH 3 73	hVK 1 12	0.3	0.1	60	S	S	38	0.5	S
266	hVH 3 73	hVK 1 16	0.3	0.2	60	S	S	44	1.1	S
268	hVH 3 73	hVK 1 17	0.1					0	1.0	S
267	hVH 3 73	hVK 1 27	3.6	0.1	4	S	S	24	0.9	S
268	hVH 3 73	hVK 1 39	0.2	0.2	4	S	S	27	0.8	S
269	hVH 3 73	hVK 2 30		0.1	bg	S	S	22	0.3	S
270	hVH 3 73	hVK 3 11	0.5					0	0.2	S
271	hVH 3 73	hVK 3 15	0.2	0.1	60	S	S	39	0.1	S
272	hVH 3 73	hVK 3 20						0	1.1	S
273	hVH 3 73	hVL 1 40		0.1	60	S	S	40	1.2	S
274	hVH 3 73	hVL 1 47	0.0	0.3	4	S	S	31	0.8	S
275	hVH 3 73	hVL 1 51	0.3	0.2	60	S	S	44	0.7	S
276	hVH 3 73	hVL 2 11	0.2	0.2	4	S	S	26	0.8	S
277	hVH 3 73	hVL 2 14						0	0.4	S
278	hVH 3 73	hVL 2 23	0.8					1	0.1	S
279	hVH 3 73	hVL 3 1	0.0	0.1	60	S	S	39	1.0	S
280	hVH 3 73	hVL 3 21	0.4	0.2	60	S	S	43	1.1	S
281	hVH 3 74	hVK 1 05	6.4					11	0.6	S
282	hVH 3 74	hVK 1 06	9.5	0.9	60	S	S	86	1.0	S
283	hVH 3 74	hVK 1 09	8.7	0.6	60	S	S	74	0.5	S
284	hVH 3 74	hVK 1 12	8.4	0.6	60	S	S	74	0.0	S
285	hVH 3 74	hVK 1 16	8.0					11	0.8	S
286	hVH 3 74	hVK 1 17		0.6	60	S	S	58	0.2	S
287	hVH 3 74	hVK 1 27	5.0	0.6	70	S	S	77	1.1	S
288	hVH 3 74	hVK 1 39	8.7					15	0.3	S
289	hVH 3 74	hVK 2 30		0.4		S	S	37	0.7	S
290	hVH 3 74	hVK 3 11						0	0.1	S
291	hVH 3 74	hVK 3 15	10.0	0.8	70	S	S	94	1.0	S
292	hVH 3 74	hVK 3 20		0.7	60	S	S	62	0.6	S
293	hVH 3 74	hVL 1 40	8.8	0.4	4	S	S	51	1.3	S
294	hVH 3 74	hVL 1 47	3.2	1.2		S	S	72	0.6	S
295	hVH 3 74	hVL 1 51	7.1	1.1	60	S	S	91	1.2	S
296	hVH 3 74	hVL 2 11		0.6	60	S	S	59	0.8	S
297	hVH 3 74	hVL 2 14	4.7					8	0.6	S
298	hVH 3 74	hVL 2 23						0	1.0	S
299	hVH 3 74	hVL 3 1	7.0	0.6	60	S	S	70	0.3	S

[0596]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표시 (Cys표시)	상대적인 Fab 발현	Fab 온도안정성	마우스 혈청에서 Fab 안정성	소 혈청에서 Fab 안정성	Fab 순위 값	상대적인 IgG1 발현	소 혈청에서 IgG1 안정성
300	hVH 3_74	hVL 3_21	1.8	0.6	60	S	S	60	0.3	S
301	hVH 4_04*03	hVK 1_05		0.8	60	S	S	67	0.6	S
302	hVH 4_04*03	hVK 1_06		0.8	60	S	S	64	1.1	S
303	hVH 4_04*03	hVK 1_09	4.5	0.1	bg	S	S	30	0.6	S
304	hVH 4_04*03	hVK 1_12		0.7	60	S	S	61	0.8	S
305	hVH 4_04*03	hVK 1_16	3.2	0.2	60	S	S	48	0.4	S
306	hVH 4_04*03	hVK 1_17		0.4	4	S	S	34	0.8	S
307	hVH 4_04*03	hVK 1_27		0.4	60	S	S	48	0.9	S
308	hVH 4_04*03	hVK 1_39		0.2	bg	S	S	26	1.0	S
309	hVH 4_04*03	hVK 2_30	0.3	0.5	4	S	S	38	0.2	U
310	hVH 4_04*03	hVK 3_11		0.6	bg	S	S	43	0.3	S
311	hVH 4_04*03	hVK 3_15		0.6	60	S	S	58	1.1	S
312	hVH 4_04*03	hVK 3_20		1.1	60	S	U	65	1.1	S
313	hVH 4_04*03	hVL 1_40		1.0	60	S	S	75	0.9	S
314	hVH 4_04*03	hVL 1_47	8.3					14	0.4	S
315	hVH 4_04*03	hVL 1_51		0.9	60	S	S	71	0.6	S
316	hVH 4_04*03	hVL 2_11		1.0	60	S	S	73	0.7	S
317	hVH 4_04*03	hVL 2_14		0.7	60	S	S	63	0.4	S
318	hVH 4_04*03	hVL 2_23	2.7	1.0	60	S	S	77	0.7	S
319	hVH 4_04*03	hVL 3_1	2.2	0.6	60	S	S	63	1.3	S
320	hVH 4_04*03	hVL 3_21	5.2	0.7	60	S	S	69	0.5	S
321	hVH 4_31	hVK 1_05		0.0	bg	S	S	21	0.0	bg
322	hVH 4_31	hVK 1_06						0	0.2	bg
323	hVH 4_31	hVK 1_09		0.1	4	S	S	23	0.6	S
324	hVH 4_31	hVK 1_12		0.1	60	S	S	37	0.4	S
325	hVH 4_31	hVK 1_16		0.0	bg	S	S	20	0.0	bg
326	hVH 4_31	hVK 1_17		0.0	bg	U	bg	1	0.2	bg
327	hVH 4_31	hVK 1_27		0.0	bg	S	S	20	0.0	bg
328	hVH 4_31	hVK 1_39		0.8	60	S	S	65	0.5	S
329	hVH 4_31	hVK 2_30		0.0	bg	S	S	20	0.0	bg
330	hVH 4_31	hVK 3_11						0	0.0	bg
331	hVH 4_31	hVK 3_15		0.1	bg	S	S	24	0.1	S
332	hVH 4_31	hVK 3_20						0	0.4	S
333	hVH 4_31	hVL 1_40	0.0	0.6	60	S	S	57	0.8	S
334	hVH 4_31	hVL 1_47	0.0	0.7	60	S	S	62	0.1	S
335	hVH 4_31	hVL 1_51		0.9	60	S	S	70	0.3	S
336	hVH 4_31	hVL 2_11		0.5	60	S	S	55	0.2	S
337	hVH 4_31	hVL 2_14	0.0					0	0.5	S
338	hVH 4_31	hVL 2_23		0.0	60	S	S	37	0.3	S
339	hVH 4_31	hVL 3_1	1.4	0.3	60	S	S	50	1.3	S
340	hVH 4_31	hVL 3_21		0.4	60	S	S	50	0.4	bg
341	hVH 4_39	hVK 1_05	0.0	0.3	60	S	S	45	0.3	S
342	hVH 4_39	hVK 1_06	1.6					3	0.8	S
343	hVH 4_39	hVK 1_09		0.5	4	S	S	37	0.7	S
344	hVH 4_39	hVK 1_12						0	0.9	S
345	hVH 4_39	hVK 1_16						0	0.5	S
346	hVH 4_39	hVK 1_17	0.7	0.3	4	S	S	33	1.0	S
347	hVH 4_39	hVK 1_27						0	0.4	S
348	hVH 4_39	hVK 1_39	2.1	0.3	60	S	S	48	1.2	S
349	hVH 4_39	hVK 2_30		0.2	4	S	S	27	0.2	S

[0597]

No.	VH	VL	상대적인 Fab 표시 (%표시)	상대적인 Fab 발현	Fab 온도안정성	마우스 혈청에서 Fab 안정성	소 혈청에서 Fab 안정성	Fab 순위 값	상대적인 IgG1 발현	소 혈청에서 IgG1 안정성
350	hVH 4 39	hVK 3 11		0.3	60	S	S	48	0.2	S
351	hVH 4 39	hVK 3 15		0.6	70	S	S	68	1.0	S
352	hVH 4 39	hVK 3 20		0.6	60	S		49	1.2	S
353	hVH 4 39	hVL 1-40	0.6	0.9	70	S	S	81	1.1	S
354	hVH 4 39	hVL 1-47		0.7	70	S	S	72	0.3	S
355	hVH 4 39	hVL 1-51		0.8	60	S	S	65	0.5	S
356	hVH 4 39	hVL 2-11						0	0.3	S
357	hVH 4 39	hVL 2-14	2.0	0.6	60	S	S	63	0.5	S
358	hVH 4 39	hVL 2-23	0.9	0.7	60	S	S	62	0.4	S
359	hVH 4 39	hVL 3-1	3.6	0.5	60	S	S	59	0.9	S
360	hVH 4 39	hVL 3-21		0.6	60	S	S	57	0.6	S
361	hVH 5 51	hVK 1 05		0.5	60	S	S	52	0.4	S
362	hVH 5 51	hVK 1 06		0.5	60	S	S	54	0.9	S
363	hVH 5 51	hVK 1 09	2.6	0.5	60	S	S	57	0.5	S
364	hVH 5 51	hVK 1 12	1.8					3	0.8	S
365	hVH 5 51	hVK 1 16	1.3					2	0.5	S
366	hVH 5 51	hVK 1 17		0.3	4	S	S	32	0.6	S
367	hVH 5 51	hVK 1 27	0.4	0.2	60	S	S	43	1.0	S
368	hVH 5 51	hVK 1 39	3.7	0.3	60	S	S	51	1.2	S
369	hVH 5 51	hVK 2 30	0.9	0.2	4	S		19	0.7	S
370	hVH 5 51	hVK 3 11		1.0	60	S		62	0.6	S
371	hVH 5 51	hVK 3 15	1.9					3	1.2	S
372	hVH 5 51	hVK 3 20						0	1.1	S
373	hVH 5 51	hVL 1-40		1.0	60	S	S	72	1.3	S
374	hVH 5 51	hVL 1-47		1.0	60	S	S	73	0.8	S
375	hVH 5 51	hVL 1-51		1.1	60	S	S	77	0.5	S
376	hVH 5 51	hVL 2-11	0.0	0.7	60	S	S	63	0.3	S
377	hVH 5 51	hVL 2-14	2.1					4	0.8	S
378	hVH 5 51	hVL 2-23	3.0	1.0	60	S	S	79	0.7	S
379	hVH 5 51	hVL 3-1	3.8	0.7	60	S	S	67	1.3	S
380	hVH 5 51	hVL 3-21						0	0.7	S
381	hVH 6 1	hVK 1 05		0.7	60	S	S	62	0.0	S
382	hVH 6 1	hVK 1 06	3.3	0.6	60	S	S	64	1.2	S
383	hVH 6 1	hVK 1 09	5.9					10	1.3	S
384	hVH 6 1	hVK 1 12	1.5	0.0	bg	U	S	13	1.1	S
385	hVH 6 1	hVK 1 16						0	1.4	S
386	hVH 6 1	hVK 1 17		0.5	60	S	S	54	1.3	S
387	hVH 6 1	hVK 1 27		0.5	70	S	S	63	1.2	S
388	hVH 6 1	hVK 1 39		0.3	60	S	S	45	1.1	S
389	hVH 6 1	hVK 2 30		0.3	4	S	S	32	0.3	S
390	hVH 6 1	hVK 3 11						0	0.9	S
391	hVH 6 1	hVK 3 15		0.7	70	S	S	70	1.3	S
392	hVH 6 1	hVK 3 20		0.9	60	S	S	70	1.3	S
393	hVH 6 1	hVL 1-40	7.2					12	1.4	S
394	hVH 6 1	hVL 1-47		1.1	60	S	S	75	0.2	S
395	hVH 6 1	hVL 1-51		1.1	60	S	S	75	0.5	S
396	hVH 6 1	hVL 2-11	1.0	1.0	60	S	S	73	0.2	S
397	hVH 6 1	hVL 2-14						0	0.4	S
398	hVH 6 1	hVL 2-23	2.1	0.8	60	S	S	69	0.4	S
399	hVH 6 1	hVL 3-1		0.5	60	S	S	55	1.4	S
400	hVH 6 1	hVL 3-21	0.4	0.8	60	S	S	66	0.5	S

[0598]

[0599]

상기 실시예들에서 설명하였듯이, 두드러진 VH 및 VL 생식세포 유전자 및 두드러진 VH/VL 생식세포 유전자 쌍을 인간 면역 레퍼토리 및 나이브 인간 면역 레퍼토리로부터 식별했으며, 그 후에 호의적인 생물학적 특성을 갖는 가변 중쇄 및 가변 경쇄의 생식세포 단백질 서열을 식별하여 선택하기 위하여 두드러진 VH 및 VL 생식세포 단백질 서열을 인 실리코에서 분석했다. 표 21 및 도 37-38에서 도시된 바와 같이, 일반적으로 합성, 조합 및 차후의 기능성 분석을 위해 상위 20개의 VH, 상위 8개의 VL 및 상위 12개의 VK를 선택했다. 생식세포 유전자 서열을 합성한 뒤, 면역 레퍼토리에서 발견된 풍부한 생식세포 유전자 쌍을 대표하는 400개의 생식세포 단백질 쌍을 제조하기 위하여 이들을 혼합했으며, 여기서 각각의 가변 영역은 인 실리코에서 식별된 바와 같이 호의적인 생물학적 특성을 가진다. 400개의 VH/VL 생식세포 단백질 특성을 하기 특성에 대하여 시험했으며, 이러한 특성은 a) Fab 포맷으로 파지를 제조하고 파지 ELISA 후에 상대적 표시; b) 대장균에서 Fab를 제조하고 대장균 세포를 용해하고 제조된 Fab를 ELISA 검출한 후에 상대적 Fab 발현 수준; c) 대장균에서 Fab 제조 후에 Fab의 온도 안정성, 대장균 세포 용해 및 상승된 온도에서 배양 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출; d) 소/마우스 혈청에서 배양한 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출에 의한 대장균 용해물로부터 Fab의 소/마우스 혈청 안정성; e) 포유류 세포에서 IgG1을 제조하고 세포 배양 상층액으로부터 분리된 IgG1의 ELISA 검출한 후에 상대적 인간 IgG1 발현 수준; 및 f) 소/마우스 혈청에서 배양한 후에 비-변성된 Fab의 ELISA 검출에 의한 인간 IgG1의 소 혈청 안정성이다.

[0600]

표 32에서 제공된 데이터를 사용하여, 당해 분야의 통상의 기술자는 호의적인 생물학적 특성을 갖는 생식세포 단백질 쌍을 손쉽게 식별할 수 있다.

[0601]

일반적으로, 집합 안에 합입하기 위하여 각각의 기능적 특성에서 역치 값을 갖는 생식세포 단백질 쌍을 선택했다. 예를 들어, 일부 실시예에서, 집합 안에 합입하기 위하여 하기 특성 모두를 포함하는 생식세포 단백질 쌍

을 선택했으며, 이러한 특성은 i) Fab 표본 중 상위 75% 내의 값을 포함하는 Fab 포맷의 상대적 표시율; ii) Fab VH1-69 VLA_V11-40 AYA에 비해 Fab 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; iii) 45분 이상 동안 60℃ 이상 조건에서 Fab 포맷의 온도 안정성; iv) 10일을 넘는 기간 동안 37℃에서 Fab 포맷의 소 또는 마우스 혈청 내 안정성; v) MOR03080에 비해 IgG 포맷에서 0.4 이상의 발현 수준; 및 vi) 14일 동안 37℃ 조건에서 IgG 포맷의 혈청 내 안정성 특성이다. 표 32는 이러한 기능적 특성을 모두 포함하는 생식세포 단백질 쌍을 볼드체 및 밑줄로 보여준다.

[0602]

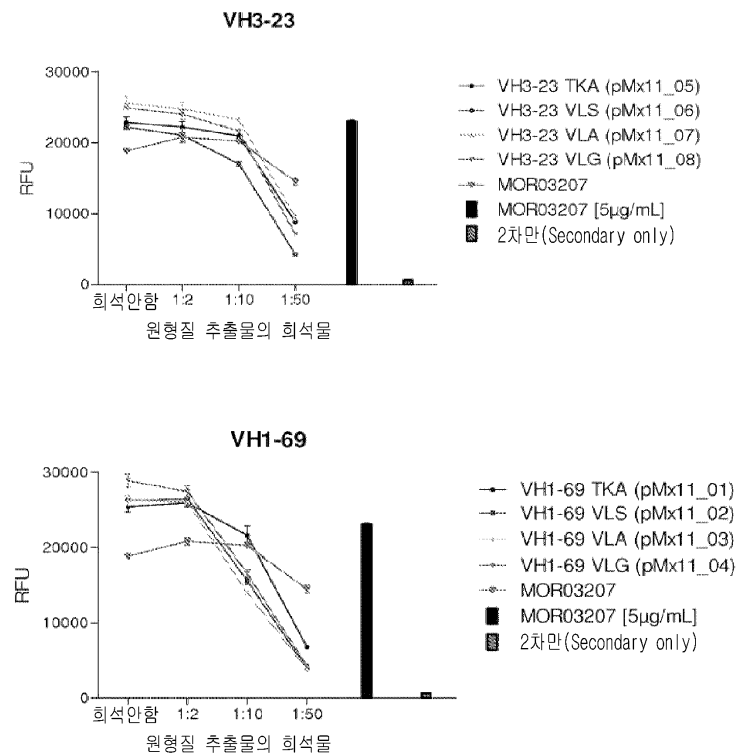
상술한 한 것과 다르게, 하나 이상의 기능적 특성을 갖는 생식세포 단백질 쌍은 집합 안에 합입하기 위하여 선택될 수 있다. 여기서, 시험된 400개의 생식세포 단백질 쌍의 합계 순위를 만들어서, 생식세포 단백질 쌍 각각은 시험된 기능적 특성 각각에 대하여 다른 주어진 가중치에 대하여 순위를 매길 수 있었다. 이는 발명자가 나열된 기능적 특성을 모두 갖거나 하나 이상을 갖는 하나 이상의 생식세포 단백질 쌍을 선택할 수 있게 한다. 일부 실시예에서, 집합은 상기 특징을 갖는 생식세포 단백질 쌍 모두를 포함한다. 일부 실시예에서, 집합은 시험된 400개 쌍 중 가장 높은 합계 점수를 갖는 생식세포 단백질 쌍을 포함한다. 일부 실시예에서, 시험된 400개의 쌍 중 상위 10%, 상위 20% 또는 상위 30% 이내의 합계 점수를 갖는 생식세포 단백질 쌍을 집합 안에 합입하기 위해 선택했다.

[0603]

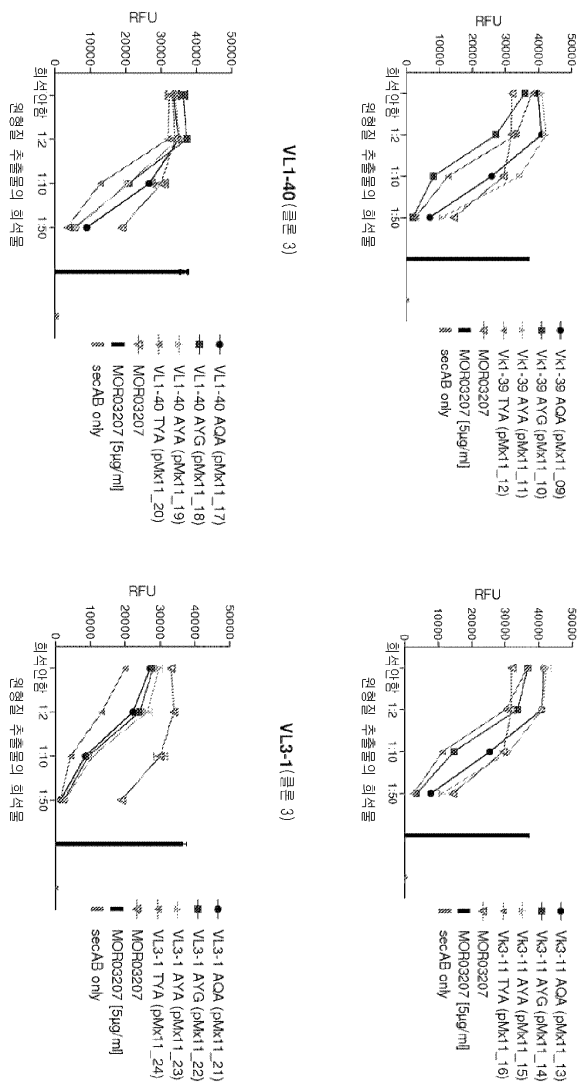
예시적인 실시예를 표시하면서, 발명의 상세한 설명, 특정 실시예 및 데이터는 실례의 방식으로 주어진 것이고 본 발명을 제한하기 위한 의도가 아니라는 것을 이해해야 할 것이다. 본 발명 내에서 다양한 변화 및 변형은 본원에 기술된 상기 논의, 공개문헌 및 데이터로부터 통상의 기술자에게 자명할 것이며, 따라서 이는 본 발명의 일부로 여겨진다.

도면

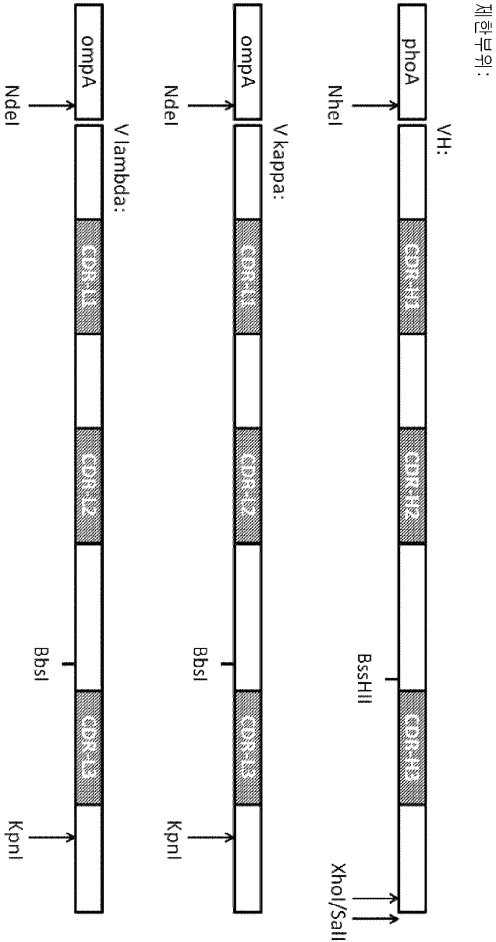
도면1



도면2



도면3



도면4

lg	중쇄	경쇄
mm-JB	VH	Vκ
mm-JB1	3-23	3-20
mm-JB4	3-15	3-20
mm-JB14	3-23	4-1
mm-JB15	4-39*	2(D)-28
mm-JB17	4-59	3-15
mm-JB18#	3-23	3-11
mm-JB19	1-2	3-20
mm-JB23#	3-30	4-1
mm-JB28	3-72	1-16
mm-JB29	3-23	3-20
mm-JB37	3-30	2-24
mm-JB38	3-30*	1(D)-8
mm-JB40	3-23	3-20
mm-JB43#	3-53*	1-27
mm-JB50	4-59	4-1
mm-JB52	3-33	3-11
mm-JB56	3-15	3-20
mm-JB57	4-34	1(D)-33
mm-JB60#	5-51	2-30
mm-JB65#	1-24	3-11
mm-JB68#	3-72	1-5
mm-JB70#	3-30*	1-5*
mm-JB73#	3-7	2-30
mm-JB75	3-30	3-11
mm-JB76#	4-59	3-15
mm-JB77#	3-30*	3-15
mm-JB86	3-33	2-24
mm-JB90+l	3-30*	2-30
mm-JB	VH	Vλ
mm-JB13#	3-7*	3-1
mm-JB16	3-11	3-1
mm-JB33	1-3*	2-23
mm-JB48	3-33	1-47*
mm-JB62#	3-15	7-43
mm-JB64	3-15	2-18
mm-JB80	3-72	1-51
mm-JB81#	3-11	2-14
mm-JB82	3-53*	2-14*
mm-JB87	3-11	2-8
mm-JB88	3-30	1-44
mm-JB93	4-39*	2-18*

도면5

lg	중쇄	경쇄	mm-GO	VH	VI
mm-GO1#	3-30*	1-8	mm-GO2#	3-23	1-51
mm-GO12	4-34	1-5	mm-GO9	3-7	2-14*
mm-GO14	4-28	1-39	mm-GO61#	4-31*	2-14
mm-GO15#	3-74	4-1	mm-GO79	3-11	4-69*
mm-GO16#	3-21	1-5	mm-GO85#	3-9	4-60*
mm-GO18	3-21	1-5	mm-GO88#	4-39	2-8
mm-GO19#	3-43	3-11	mm-GO90	1-18	1-44
mm-GO26	3-23	1-9*	mm-GO91	4-28	1-51
mm-GO30	4-34	3-15	mm-5-GO30	3-11	2-14*
mm-GO38	4-34	1-5	mm-5-GO37	3-11	1-44
mm-GO43#	3-23	3-11	mm-5-GO41#	3-48	2-14*
mm-GO50	4-39	1-39*	mm-5-GO44	3-74	2-14*
mm-GO68#	3-15	2D-28	mm-5-GO47	3-48*	2-11
mm-GO73#	7-81*	4-1	mm-5-GO49	4-31*	2-14*
mm-GO75#	3-48	3-20	mm-5-GO61	3-15	7-46*
mm-GO80	3-53*	3-11	mm-5-GO64#	3-7	1-47
mm-GO86	3-30	3(D)-20	mm-5-GO84	3-15	1-40
mm-GO89#	3-7	1-5	mm-5-GO91	3-23	1-40
mm-GO93#	3-7*	2-30	mm-5-GO94	3-23	1-36
mm-5-GO1	3-11	3-15	mm-5+GO3	1-69*	1-44
mm-5-GO2#	3-23	1-5	mm-5+GO25#	4-59	2-14
mm-5-GO14	3-7*	1-5	mm-5+GO27	4-39	2-14*
mm-5-GO20	5-51	1D-39*	mm-5+GO39	3-23	1-44
mm-5-GO25#	1-3	3-15	mm-5+GO57	3-23	2-14*
mm-5-GO33	3-30*	4-1			
mm-5-GO38	3-48	4-1			
mm-5-GO39	4-39	1-5			
mm-5-GO43	3-53	1-5			
mm-5-GO50	4-31*	3-20			
mm-5-GO57	5-51	1-5			
mm-5-GO65	4-34	1-5			
mm-5-GO68#	3-53	3-11			
mm-5-GO74	3-23	1(D)-13			
mm-5-GO77#	3-23	4-1			
mm-5-GO85	4-59	3-20			
mm-5-GO86	3-7	3-15			
mm-5-GO87	3-30*	1-8			
mm-5+GO13#	1-2	1D-39			
mm-5+GO18#	1-8	3-15			
mm-5+GO26#	1-3	1-6			
mm-5+GO43	3-23	3-15			
mm-5+GO47#	3-9	3-15			
mm-5+GO49#	3-33	3-15			
mm-5+GO51#	3-15	4-1			
mm-5+GO52#	1-2	3-20			
mm-5+GO65#	5-51	1D-39			
mm-5+GO66#	3-7	2D-28			
mm-5+GO71#	3-23	1-8			
mm-5+GO72	3-30	3-20			

도면6

lg	중쇄	경쇄
mm-JH	VH	Vk
mmJH.2 A1	4-59	1-27
mmJH.2 A4#	3-23	1-5*
mmJH.2 A9	4-59	1D-39
mmJH.2 C5	3-23	3-20
mmJH.2 C10#	1-2	1D-39
mmJH.2 C12	3-21	1D-39
mmJH.2 D1	3-23	3-20
mmJH.2 D4	7-81*	1-5*
mmJH.2 D9	3-23	3-15
mmJH.2 D11	3-74	1-5*
mmJH.2 E7	3-11	3-11
mmJH.2 F1	7-81	2D-28
mmJH.2 F7	3-23	3-15
mmJH.2 G3	1-3*	1D-39
mmJH.2 H2	3-23	3-15
mmJH.3 A1	3-74	3-11
mmJH.3 A6	3-23	3-20
mmJH.3 B1#	3-23	4-1
mmJH.3 B2	3-7*	1-5
mmJH.3 B3	3-33	3-11
mmJH.3 B4	3-23	2D-28
mmJH.3 D2	3-21	3-11
mmJH.3 D4	1-18	3-11
mmJH.3 D10	3-72	1-9
mmJH.3 F2	4-59	1D-39
mmJH.3 F3#	3-15	1-9
mmJH.3 G9	3-33	4-1
mm-JH	VH	VI
mmJH.2 B2	4-31*	1-47*
mmJH.2 B11	4-59	1-44*
mmJH.2 C3	3-9	2-23
mmJH.2 F2	3-23	2-18*
mmJH.2 F3	3-9	2-23
mmJH.2 H3#	3-15	3-1
mmJH.3 A3	7-81*	2-14*
mmJH.3 A5	3-9	2-8
mmJH.3 D1-k	4-4	3-1
mmJH.3 D3	3-7*	3-27
mmJH.3 D9	3-15	7-43
mmJH.3 E10	3-30	2-8
mmJH.3 F1#	3-23	2-14
mmJH.3 F4#	3-7	3-21*
mmJH.3 F9	4-39	1-47*
mmJH.3 G8	3-53	1-44*

도면7

lg	중쇄	경쇄
m-JB	VH	Vk
m-JB 39+l	4-39	3-15
m-JB 49	1-2	3-20
m-JB 63	4-39	3-20
m-JB 74	3-48	3-20
m-JB 77	5-51	1-39
m-JB 86	4-39	3-15
m-JB 87	3-30	1-9
m-JB	VH	VI
m-JB 8	1-69	2-8
m-JB 17	3-30	9-49
m-JB 29	4-39	3-1
m-JB 38	3-48	2-14
m-JB 39+k		3-21
m-JB 64	3-9	1-47
m-JB 85	1-18	2-14
m-JB 88	4-39	2-23

도면8

lg	중쇄	경쇄
m-GO	VH	Vκ
m-GO4	3-7	2D-28
m-GO6	4-59	3-20
m-GO13	3-43	1-5
m-GO15	3-53	1-5
m-GO21	3-15	1-5
m-GO26	3-48	3-11
m-GO40	4-34	3-20
m-GO43	4-34	3-20
m-GO53	4-39	3-15
m-GO56	3-15	3-20
m-GO64	3-30	1-39
m-GO66	3-48	1-39
m-GO75	1-18	1-33
m-GO79	3-30	1-9
m-GO86	4-34	3-20
m-GO88	3-23	2D-28
m-GO119	3-49	3-20
m-GO126	1-46	1-39
m-GO132	4-59	1-39
m-GO162	1-69	1-39
m-GO166	4-39	3-15
m-GO186	1-46	1-9
m-GO191	3-15	1-39
m-GO193	3-48	3-15
m-GO	VH	Vλ
m-GO3	4-28	1-44
m-GO16	4-34	2-14
m-GO19	3-74	3-21
m-GO28	3-23	3-1
m-GO67	3-48	2-14
m-GO76	1-69	2-14
m-GO77	4-39	1-40
m-GO102	4-28	1-36
m-GO113	1-2	1-40
m-GO115	5-51	1-40
m-GO152	3-9	1-44
m-GO157	5-51	1-36
m-GO163	4-34	2-23
m-GO173	3-43	1-51
m-GO189	1-8	2-14

도면9

Ig	중쇄	경쇄
m-JH	VH	Vk
m-JH.1 D4	7-81	3-20
m-JH.1 D12#	4-4	3-15
m-JH.1 E3	4-34	3-20
m-JH.1 F5	3-30	3-15
m-JH.1 F8	3-21	2D-28
m-JH.1 G8	3-48	1D-12
m-JH.1 G10	3-23	3-15
m-JH.1 H5	4-59	3-20
m-JH.1 H11	3-33	2D-28
m-JH.2 A2	3-74	1D-39
m-JH.2 A8	3-7	1-8
m-JH.2 A9	4-31	3-11
m-JH.2 A11	4-61	4-1
m-JH.2 A12#	3-9	1D-8
m-JH.2 B5	7-81	3-20
m-JH.2 C3	3-23	3-20
m-JH.2 C6	3-23	1-9
m-JH.2 C10	4-59	3-15
m-JH.2 D6	3-49	1-17
m-JH.2 D7	3-48	3-15
m-JH.2 E3	1-18	3-20
m-JH.2 E5	4-39	1D-39
m-JH.2 E8	3-9	3-15
m-JH.2 E10#	3-48	3-11
m-JH.2 F3	7-81	3-20
m-JH.2 F9	5-51	3-20
m-JH.2 H12#	3-9	2D-28
m-JH	VH	VI
m-JH.1 B11	3-23	2-14
m-JH.1 C12	4-59	1-40
m-JH.1 D2	1-18	2-8
m-JH.1 D10	4-59	2-14
m-JH.1 F6	1-8	2-14
m-JH.1 H6	3-9	2-11
m-JH.1 H12#	4-34	3-25
m-JH.2 B12	3-23	2-14
m-JH.2 C8#	1-3	2-14
m-JH.2 C12	4-4	2-14
m-JH.2 D8	3-21	6-57
m-JH.2 E6	3-33	2-11
m-JH.2 F6	1-2	2-14
m-JH.2 G12	5-51	2-14
m-JH.2 H4	4-59	1-40
m-JH.2 H12#		2-14

도면10

Ig	중쇄	경쇄
gmVB	VH	Vκ
VB1	4-59	4-1
VB4	4-39	3-11
VB7#	3-74	3-15
VB10#	4-31*	4-1
VB11#	4-34	2-28
VB23#	4-31*	1-5*
VB26#	3-30	1-13
VB34	3-30	3-20
VB41#	3-15	3-20
VB50	3-11	1-5*
VB52	3-53	1-39
VB54#	3-23	3-20
VB56	3-7*	3-15
VB57	4-31*	3-20
VB58#	4-31*	1-5*
VB60	3-11	3-15
VB65	3-74	1-39
VB68#	5-51	1-5
VB72	3-30	2-28
VB78#	4-31*	3-20
VB83	4-34	1-39
VB86	3-33	1-17
VB92#	1-24	1-39
VB110	4-61	4-1
VB111	3-48	4-1
VB114#	3-74	3-20
VB120#	3-49	1-39
VB121#	3-7*	1-6
VB126	4-39	3D-15
VB129	3-23	1-39
VB132	3-23	1-5*
VB137	3-30	1-5
VB139#	5-51	4-1
VB140	3-21	3-15
VB142	3-33	4-1
VB148	3-33	1-16
VB155	5-51	3-20
VB161	4-61	3-11
VB162	3-48	3-11
VB165	3-30	3-20
VB168	5-51	1-39
VB171#	3-33	3-20
VB174	3-72	1-17
VB176	3-74	3-20
VB179#	3-23	1-17

gmVB	VH	Vλ
VB13	5-51	7-43
VB18	1-46	1-51
VB28	3-23	2-11
VB43	1-69*	2-11
VB45	3-21	2-14
VB53	5-51	2-14
VB70	4-59	1-44
VB73#	3-53	7-46*
VB75	3-21	2-14
VB90#	3-21	4-69
VB101	3-23	1-51
VB102	4-31*	2-11
VB107#	5-51	1-47
VB108	3-64	7-43
VB117#	4-28	2-23
VB138	3-7*	7-46*
VB157	3-30	3-1
VB164	3-7*	1-51
VB173	3-21	1-47

도면11

lg	경쇄	경쇄
gmPN	VH	V _K
PN1	1-46	3-15
PN2#	3-7	1-5*
PN4	5-51	1-9
PN8	4-59	4-1
PN13	3-43	2-28
PN16	4-4	1-39
PN30	1-46	1-5*
PN33	4-34	3-11
PN40#	3-48	1-16
PN46	4-34	3-20
PN49#	3-48	1-39
PN52	3-23	4-1
PN53#	3-23	3-11
PN54	4-59	1-12
PN56	3-23	3-20
PN60	3-7	3-20
PN64	3-23	3-20
PN73	1-18	1-39
PN75	5-51	3-15
PN76#	4-59	1-27
PN79	1-46	1-5*
PN83#	3-23	3-11
PN84	3-23	1-5*
PN87	4-39	1-5*
PN89	3-74	2-30
PN102	3-7	3-20
PN116	4-34	1-39
PN117#	3-33	1-39
PN119	1-69*	1-5*
PN120#	1-69	1-27
PN123	1-46	3-11
PN138	3-7	1-39
PN140#	1-8	3-20
PN147#	4-59	2D-30
PN148	4-34	2-28
PN156	1-69	2-28
PN157	4-39	3-20
PN158	3-9	1-17
PN162	1-69*	3-11
PN164	1-69*	3-11
PN167	1-69*	1-6
PN169	3-13	1-9
PN171	1-2	3-20
PN175	1-46	1-9
PN182	4-4	1-39
PN184	4-39	1-5
PN187	3-9	3-11
PN189	3-11	1-5*
PN191	3-15	1-13

gmPN	VH	V _L
PN7	3-74	7-46
PN14	4-4	1-40
PN18#	3-23	2-14
PN42	3-7	2-8
PN51	5-51	3-21
PN57	4-34	1-40
PN58	4-31*	7-43
PN67	4-59	1-47
PN69	1-8	2-14
PN88	3-15	1-51
PN107	3-7	1-40
PN115	3-7	1-51
PN131	3-21	3-21
PN134#	1-2	1-40
PN139	3-33	3-21
PN153	3-9	1-40
PN161	3-74	3-21
PN192#	3-21	1-44

도면12

Ig	경쇄	경쇄
gmHW	VH	Vκ
HW 106#	4-61	4-1
HW 120	4-31	3-15
HW 149	3-21	1-6
HW 154	3-53	3-15
HW 156	3-7	3-15
HW 161	3-74	3-15
HW 168	4-39	3-15
HW 169	1-18	3-15
HW 175	1-18	3-20
HW 209#	4-39	3-15
HW 221	3-74	3-20
HW 224	3-15	4-1
HW 230	3-7	3-15
HW 247	3-9	3-20
HW 266	3-9	1-5*
HW 285	3-33	1D-39
HW 290	3-15	1-5*
HW 307	4-39	1D-39
HW 311	4-59	3-20
HW 326	3-7	1-5*
HW 329	4-34	3-20
HW 337	4-34	3-20
HW 352	1-3*	3-20
HW 376	4-28	3-20
HW 378	1-46	1-27
HW 386#	3-30	1D-39
HW 387	1-46	3-20

gmHW	VH	Vλ
HW 101#	1-18	2-23*
HW 109	3-30	2-11
HW 124	3-7	1-40
HW 157#	3-23	7-43
HW 158	3-11	2-14
HW 174	7-81	2-14*
HW 177	5-51	1-47*
HW 181	1-46	2-14*
HW 182	4-39	2-14*
HW 205	1-69	2-11
HW 225	3-30	1-40
HW 231	3-21	1-51*
HW 237	3-48	1-47*
HW 248	3-21	1-40
HW 251	3-30	1-51
HW 259	1-46	2-11
HW 296	3-21	2-14*
HW 313	3-33	2-23*
HW 327#	3-9	2-14*
HW 330	3-15	1-40
HW 338#	3-21	1-51
HW 345	4-39	1-51*
HW 355	3-73	6-57
HW 357#	3-33	1-51
HW 360	1-46	2-14*

도면13

lg	중쇄	경쇄
gm/gp169	VH	Vκ
gm169-3κ	3-48	3-20
gm169-15	1-24	3-11
gm169-16κ	1-8	1-33
gm169-20κ	3-7	4-1
gm169-22κ	3-23	3-15
gm169-24κ	4-4	2-28
gm169-28κ	3-33	1-5
gm169-31κ	3-66	1-39
gm169-34κ#	4-4	1-39
gm169-38κ	3-23	3-15
gm169-42	3-33	1-5
gm169-44	3-48	2-28
gm169-46	4-39	1-39
gm169-57	3-23	1-5
gm169-60	3-43	1-33
gm169-61	4-39	3-20
gm169-64κ	3-7	3-20
gm169-68	4-34	1-5
gm169-70κ	3-13	1-39
gm169-76κ	3-11	2-28
gm169-80κ	4-39	2-28
gm169-86	4-4	1-5
gm169-94	3-30	4-1
gm169-95	1-46	1-39
gp169-8	1-24	3-15
gp169-26κ	3-33	4-1
gp169-29	4-4	3-20
gp169-53κ	4-4	4-1
gp169-64κ	3-30	3-11
gp169-66	4-4	3-20
gp169-81	5-51	2-30
gp169-87	4-39	3-15
gp169-103κ	4-39	4-1
gp169-108	1-2	2-28
gp169-117#	4-59	1-5
gp169-126	3-23	3-15
gp169-127κ	1-69	3-11
gp169-129	5-51	1-12
gp169-144κ	4-4	1-6

gm/gp169	VH	Vλ
gm169-3λ		1-47
gm169-4	3-11	2-23
gm169-8	4-34	1-47
gm169-11	1-2	1-44
gm169-16λ#		2-11
gm169-20λ		3-21
gm169-22λ		3-21
gm169-24λ		9-49
gm169-28λ		2-14
gm169-31λ		3-25
gm169-33#	4-34	2-14
gm169-34λ		1-40
gm169-38λ		3-21
gm169-48	4-4	1-44
gm169-64λ		1-40
gm169-70λ#		1-40
gm169-74	1-46	1-40
gm169-76λ		2-11
gm169-80λ		3-21
gm169-83	3-74	2-11
gm169-85	3-48	1-47
gm169-88	3-30	3-1
gp169-23#	1-58	2-14
gp169-26λ		1-44
gp169-32	4-59	3-21
gp169-43	4-4	1-40
gp169-53λ		2-14
gp169-64λ		6-57
gp169-65	3-30	3-10
gp169-71#	1-18	1-51
gp169-74	3-23	3-1
gp169-77	3-33	6-57
gp169-82#	3-30	1-47
gp169-83	3-23	2-14
gp169-85	3-43	1-36
gp169-86	3-30	3-10
gp169-103λ		6-57
gp169-113	1-69	3-21
gp169-116	3-30	1-40
gp169-122	4-4	2-11
gp169-127λ		1-51
gp169-142	5-51	1-44
gp169-144λ#		2-8
gp169-148#	1-46	6-57

도면14

lg	중쇄	경쇄
gm174	VH	Vk
174-2	4-39	2-28
174-5	1-69	3-11
174-8	3-11	1-5
174-9	1-2	4-1
174-12#	1-46	1-27
174-17#	3-23	2-29
174-23	5-51	3-11
174-24#	3-30	3-20
174-28	3-23	1-39
174-32	3-49	1-5
174-35	1-46	3-11
174-55#	1-3	3-15
174-60	5-51	1-39
174-67	3-30	1-6
174-79#	3-30	1-39
174-84	4-34	1-39
174-87	3-48	3-20
174-91#	4-31	1-17
174-117#	4-34	1-39
174-119	3-48	3-20
174-120k	1-24	2-30
174-129	3-30	4-1
174-130	4-31	3-11
174-133	1-69	2-28
174-140	4-59	1-39
174-146#	3-72	3-20
174-148#	5-51	1-33
174-154	4-34	1-5
174-156	4-39	1-5
174-157#	3-53	3-15
174-169#	3-23	1-5
174-176	3-23	4-1
174-177	5-51	3-20
174-179#	4-39	1-39
174-184#	4-39	1-5
174-194#	4-31	2-29
174-196	3-7	2-30

gm174	VH	VI
174-1	1-69	3-10
174-16	4-28	2-23
174-18#	5-51	2-14
174-29	3-15	3-1
174-33	3-21	1-40
174-44	3-33	2-23
174-45	3-53	2-11
174-54	4-59	3-12
174-59	3-33	2-23
174-63	3-74	7-43
174-68	3-7	2-23
174-71	1-46	2-23
174-77	3-15	2-8
174-82	5-51	2-14
174-114	1-18	2-14
174-115#	4-39	2-14
174-118	4-59	1-44
174-120I		2-14
174-125#	7-81	1-40
174-127	3-33	6-57
174-131	4-28	1-51
174-151	3-53	3-1
174-162#	5-51	2-14
174-165	3-53	2-14
174-174	4-39	2-23
174-180	5-51	1-40
174-183#	3-11	1-44

도면15

lg	중쇄	경쇄
gm175	VH	Vk
175-19	3-23	1-5
175-29	5-51	3-15
175-39#	3-43	3-15
175-62	4-61	1-13
175-77	3-23	1-5
175-79	3-73	2-28
175-86#	3-23	3-15
175-90	4-4	1-5
175-95#	4-34	1-39
175-107	3-7	1-5
175-108	1-69	3-11
175-113#	3-33	1-33
175-116	4-34	4-1
175-128	3-23	2-28
175-140	4-59	1D-43
175-150#	1-18	3-15
175-153	3-7	3-11
175-157	3-23	1-9
175-162	3-33	1-5
175-217	1-8	4-1
175-229#	3-30	3-20
175-233	3-15	2-30
175-240	1-2	1-39
175-241	4-31	1-27
175-250	1-2	3-20
175-258#	3-23	1-16
175-260#	3-30	4-1
175-263#	1-8	3-15
175-264	3-33	3-15
175-265	3-23	3-11
175-266	3-15	3-20
175-269	1-3	3-20
175-276	1-24	2-40
175-277	3-21	1-5
175-285#	3-9	2D-29
175-292#	1-69	3-20

gm175	VH	VI
175-23	4-39	2-14
175-42	3-74	2-23
175-80	4-34	2-11
175-82#	1-3	1-40
175-101#	4-39	1-47
175-114#	1-3	2-23
175-142#	4-31	2-23
175-146#	4-34	1-51
175-160	3-23	2-11
175-165	3-23	1-44
175-169	1-8	1-47
175-215	4-28	2-23
175-236#	3-49	3-21
175-238	1-2	1-40
175-242	3-11	2-11
175-248#	7-81	3-21
175-249#	3-33	2-23
175-270#	4-34	1-51
175-280	3-48	2-23
175-282	3-74	3-1
175-286	4-61	2-23
175-289	3-11	2-11
175-295	3-9	2-23

도면16

lg	중쇄	경쇄
gm176	VH	Vk
176-10	3-48	1-33
176-62	3-23	3-15
176-66	4-31	1-5
176-91#	3-21	1-5
176-172#	3-21	3-15
176-214	1-69	3-15
176-236#	4-59	3-15
176-256	1-18	3-15
176-267	3-23	3-15
176-270	4-34	3-15
176-301	3-33	2-28
176-337	3-33	2-28
176-435	1-69	3-15
176-514	1-69	1-39
176-534	3-21	3-15
176-548	3-21	1-27
176-585	4-59	3-20
176-592#	4-31	3-11
176-611	3-9	4-1
176-618	1-58	3-11
176-621	4-34	1-9
176-632	4-59	4-1
176-641	3-23	3-15
176-650k	3-9	4-1
176-655	4-39	3-15
176-694	3-48	1-39

gm176	VH	VI
176-29	3-48	2-14
176-130#	4-4	1-44
176-223	4-34	1-40
176-226	1-46	1-51
176-229	3-21	1-44
176-241	3-9	2-14
176-253#	4-39	1-40
176-272	4-39	3-9
176-275	1-8	1-51
176-287#	1-2	1-40
176-290#	4-34	2-14
176-310	3-7	1-47
176-318#	5-51	1-40
176-323	1-69	2-14
176-365	4-31	3-21
176-392	4-4	2-14
176-393#	4-61	2-14
176-395	4-59	3-21
176-428#	1-18	2-14
176-447#	4-59	2-14
176-508#	4-4	2-23
176-523	3-30	1-51
176-535	3-11	2-23
176-536	1-2	2-23
176-540	3-30	1-51
176-558	3-48	1-47
176-614	4-39	1-44
176-616	3-9	1-44
176-620	3-9	2-8
176-627	3-30	1-44
176-650l#		4-69
176-662#	3-30	1-51

도면17

lg	중쇄	경쇄
gmJH	VH	Vκ
JH1	1-18	3-20
JH5	3-30	3-20
JH17	4-34	3-11
JH19#	4-59	3-20
JH20	3-33	3-15
JH22#	1-24	1-39
JH23#	1-18	3-20
JH-26#	5-51	3-20
JH35	3-21	1-6
JH38	3-7	1-39
JH39#	3-30	1-39
JH40#	4-31	3-20
JH55	3-30	3-20
JH56#	1-8	3-20
JH57	4-59	1-39
JH60	3-23	3-20
JH65	1-18	1-39
JH66	3-48	1-39
JH69	3-7	4-1
JH76#	4-31	1-39
JH78#	1-8	3-15
JH81#	7-4	1-39
JH82#	3-48	1-9
JH96	3-30	3-15
JH101#	1-69	3-20
JH103	4-31	2-28
JH113	3-33	1-5
JH114#	1-46	3-20
JH117#	3-23	3-20
JH124#	4-39	1-39
JH125#	3-9	1-12
JH129	1-18	1-33
JH131#	3-7	1-5
JH132	4-39	1-39
JH135	1-18	1-39
JH147#	3-30	3-20
JH148	3-23	1-5
JH154	3-33	3-15
JH156	3-7	1-27
JH160#	3-21	3-20
JH162	3-15	1-33
JH165	3-7	4-1
JH167#	4-59	3-20
JH179	3-23	4-1
JH183#	3-11	3-20
JH186	1-2	1-39
JH188	3-30	1-17
JH192	3-48	3-15
JH194	7-4	1-5
JH195	4-34	3-20

gmJH	VH	Vλ
JH16	4-39	1-47
JH21	3-15	1-44
JH28#	3-74	2-23
JH42	7-4	1-51
JH48#	5-51	1-40
JH50	4-31	2-23
JH59#	1-2	1-44
JH63	4-34	1-47
JH75	4-34	3-21
JH79	4-31	2-14
JH88	3-66	1-44
JH91	3-21	2-8
JH93	4-39	3-1
JH95	4-59	1-47
JH105#	4-4	2-8
JH107#	3-23	2-14
JH109#	5-51	2-14
JH128	4-59	6-57
JH143#	5-51	2-23
JH171	4-39	2-23
JH185#	4-59	2-14

도면18

S3 preB		S4 ei		S5 imm	
VH	Vk	VH	Vk	VH	Vk
3-9	1-16	3-23	4-1	3-48	1-8
3-30	2D-30	3-23	1-8	3-15	1-9
3-48	1-33	4-34	1-16	4-39	1-39
4-59	1D-17	3-33	1-39	3-7	1-8
3-30	1D-8	3-30	3-20	3-33	1-5
1-2	1-5	4-34	2D-28	1-18	1-5
1-2	1-6	3-74	4-1	3-15	1-9
3-15	1D-43	VH	VL	3-23	1-8
3-30	2-30	3-21	1-47	4-34	1-39
3-30	3-11	3-23	1-36	3-30	1-39
3-11	1-6	3-48	3-25	3-15	1-39
4-59	2-30	4-39	1-44	7-81	1-39
3-30	3-20	1-69	3-1	3-15	1-33
1-3	2-30	4-59	1-40	3-23	3-15
VH	VL	4-34	1-44	4-39	3-11
3-21	1-51			4-34	3-15
3-21	7-46			3-11	1D-8
3-53	1-47			1-2	3-20
1-2	3-27			4-31	3-15
1-69	1-44			3-21	1-39
3-21	2-23			3-33	1-9
				3-15	1-5
				4-39	1-5
				1-69	4-1
				1-58	4-1
				VH	VL
				1-46	1-44
				3-11	4-69
				3-23	3-19
				1-18	2-11
				4-61	7-43
				5-51	2-14
				3-15	1-44
				3-11	3-1
				3-15	3-25
				5-51	2-14
				1-69	1-51
				1-18	2-14
				3-23	3-1

도면19

S6 imm		S7 ne		S8 ne	
VH	Vk	VH	Vk	VH	Vk
1-18	2-40	3-53	1-39	3-13	1-39
4-59	3-20	1-69	1-33	3-7	3-11
3-21	1-5	3-21	3-15	1-46	3-15
1-2	1-5	5-51	2D-28	3-48	3-11
1-18	1-33	3-13	1-5	3-48	3-20
4-34	1-39	1-69	1-8	1-46	1-33
1-8	2D-28	3-30	1-27	3-49	1-5
4-34	3-20	4-34	1-27	1-3	1-39
4-34	1-39	3-30	1-9	1-18	3-20
1-2	1-39	1-69	1-39	4-59	1-5
3-30	2-24	3-15	1-5	4-39	3-11
3-15	3-20	4-49	3-20	3-23	1-5
1-24	2-24	3-21	2D-28	4-39	1-33
1-3	1-39	4-39	3-15	1-69	3D-15
3-30	3-20	3-15	1-39	3-33	1-9
4-4	1D-8	3-74	3-20	1-3	3-15
3-21	3-15	3-30	2D-28	1-46	1-8
4-39	3-20	3-30	1-6	3-7	1-39
4-59	1-27	3-23	3D-20	5-51	1-5
3-9	1-8	3-30	3-11	3-33	3-15
3-7	3-15	VH	VL	4-34	1-39
3-33	sD-28	5-51	1-40	3-53	1D-16
1-69	1-39	3-7	1-51	1-18	3-20
3-30	1-5	3-9	2-14	1-2	3-20
1-18	3-11	4-59	1-44	3-7	1-13
3-15	3-20	4-49	2-14	VH	VL
3-21	1-5	1-69	1-40	1-18	3-10
1-2	1-8	4-39	1-51	1-2	3-1
3-74	3-15	4-31	2-14	3-30	3-1
4-4	4-1	3-9	2-14	1-3	3-1
VH	VL	5-51	1-44	3-30	1-51
4-34	1-47	3-49	1-40	3-7	1-40
5-51	1-40	4-39	2-14	5-51	3-21
4-61	2-11	5-51	1-44	1-46	1-44
3-30	2-23			3-21	2-14
3-15	2-23			1-2	1-40
4-31	1-44			4-59	2-11
3-13	1-47			4-34	2-14
4-39	1-44			3-48	2-14
5-51	2-14			1-2	2-14
3-33	1-40			3-48	1-51
3-30	1-51			3-48	3-1
4-34	1-51				
3-21	3-1				
3-30	2-14				
4-31	3-21				

도면20

S9 mn	
VH	Vk
4-39	3-15
3-7	2D-28
4-59	3-20
3-43	1-5
3-53	1-5
3-15	1-5
1-24	1-39
3-48	3-11
4-39	3-15
4-34	3-20
4-34	3-20
3-43	1-5
4-39	3-15
3-15	3-20
1-3	1-39
3-30	1-39
3-48	1-39
3-48	1-9
1-69	2-30
1-18	1-33
3-30	1-9
3-21	3-11
4-34	3-20
3-23	2D-28
1-24	3-11
3-49	3-20
5-51	2D-28
1-46	1-39
4-59	1-39
1-69	1-39
3-15	1-33
4-34	3-15
3-48	1-39
1-69	1-39
4-39	3-15
3-74	1D-37
3-23	1-39
1-46	1-9
3-23	3-15
3-15	1-39
3-48	3-15

VH	VL
1-24	1-44
4-28	1-44
4-34	2-14
3-74	3-21
5-51	3-21
3-23	3-1
3-15	1-44
4-39	2-14
3-48	2-14
1-69	2-14
4-39	1-40
5-51	3-25
3-64	3-21
4-28	1-36
4-59	3-1
1-2	1-40
5-51	1-40
3-7	3-21
1-69	1-51
3-9	2-14
3-9	1-44
3-33	2-14
5-51	1-36
4-34	2-23
3-30	3-21
1-69	1-40
3-43	1-51
3-11	1-47
4-34	2-8
1-8	2-14

S10 mn	
VH	Vk
1-2	4-1
4-34	3-20
1-18	3-20
3-30	1-39
4-39	1-39
4-59	4-1
4-39	3-15
4-39	3-20
1-24	2-30
1-2	3-20
3-9	1-16
4-59	3-20
4-31	2-28
4-59	1-16
4-39	3-20
3-53	1-17
3-48	3-11
3-48	3-20
4-59	3-20
5-51	1-39
3-9	1-5
4-39	3-15
3-30	1-9
4-34	1-39
VH	VL
1-69	2-8
5-51	1-44
3-30	9-49
5-51	1-44
4-39	3-1
1-69	3-25
4-59	2-23
3-48	2-14
3-21	1-51
5-51	1-40
4-31	4-69
1-69	1-40
1-46	1-47
3-9	1-47
1-18	2-14
4-39	2-23
1-2	3-1

도면21

S1 ne		S2 mn	
VH	Vk	VH	Vk
3-23	3-20	3-7	4-1
4-59	1-33	3-73	1-9
1-18	3-20	1-18	1-5
3-48	1-33	3-23	3-15
4-34	3-20	5-51	4-1
3-23	4-1	3-23	1-12
4-4	2D-29	3-9	1-39
3-11	1-5	3-33	4-1
3-53	1-5	3-53	1-12
3-9	1-39	4-39	3-20
3-7	1-27	3-23	3-20
3-48	4-1	3-72	3-15
5-51	4-1	3-48	1-33
3-30	3-20	5-51	3-15
3-53	3-20	5-51	4-1
3-30	1-39	5-51	3-20
3-30	4-1	1-2	3-15
3-7	1-5	3-21	4-1
7-81	1-39	3-11	1-39
3-9	4-1	1-2	3-20
5-51	3-15	3-48	4-1
3-23	4-1	4-39	1-5
1-2	1-39	4-39	1-39
4-59	3-20	1-2	1-27
4-34	4-1	4-31	1-39
3-33	1-8	4-59	1-39
3-48	1-33	4-39	1-33
5-51	3-15	4-39	1-6
3-15	2D-28	3-48	4-1
1-18	1-39	3-23	4-1
1-3	1-33	3-7	3-15
4-59	4-1	3-53	4-1
4-39	1-33	3-7	3-20
3-15	3-11	VH	VL
1-18	2-30	4-39	1-44
4-39	4-1	1-2	1-44
3-48	3D-20	1-69	2-8
VH	VL	4-59	3-1
3-23	2-8	4-39	2-8
4-39	2-14	3-23	1-40
3-23	3-21	4-31	1-51
3-33	3-27	4-34	1-51
5-51	1-40	3-49	2-14
7-81	3-21	4-31	1-47
4-4	1-44	1-18	1-40
1-2	2-14	4-31	2-14
4-4	1-44	4-39	1-51
		4-39	2-14
		3-48	7-46

도면22

S3 ne			
VH	Vk	VH	VL
3-30	4-1	1-18	1-36
3-49	1-17	3-43	2-14
3-23	1-8	5-51	1-40
3-30	3-15	5-51	1-40
3-64	3-15	4-39	1-51
1-18	3-11	3-23	2-14
3-48	1-5	3-43	3-1
1-24	1-33	4-59	1-40
3-30	1-5	3-7	2-14
1-69	4-1	3-7	1-47
1-8	3-11	1-18	1-40
3-9	2D-29	4-61	3-1
1-18	2-28	3-30	1-44
3-30	3-15	4-61	2-14
3-23	4-1	3-33	2-14
1-8	3-15	1-18	1-40
4-39	1-5	4-59	1-40
4-31	1-6	1-24	2-11
3-23	1-5	5-51	1-47
3-33	3-20	4-34	2-14
3-53	1-8	1-8	9-49
3-53	1-8		
3-7	1D-8		
4-39	1-39		
3-30	1-9		
5-51	4-1		
3-53	1-5		
4-39	1-5		
4-34	3-20		
1-69	1-5		
4-59	3-20		
3-7	1-17		
3-21	1-8		
3-23	1-5		
3-30	1-33		
3-30	1-5		
4-31	3-11		
1-2	1-5		
4-61	3-15		
3-30	1-39		
3-48	3-15		
3-7	1-8		
3-23	1-5		

도면23

S4 mn		S5 ne		S6 mn	
VH	Vk	VH	Vk	VH	Vk
3-30	3-11	4-34	1-39	3-13	4-1
4-34	3-11	3-23	3-15	4-34	4-1
3-30	1-5	3-23	3-20	3-15	4-1
1-58	1-5	4-61	1-39	1-18	2-28
3-21	3-15	3-64	3-11	1-69	1-16
4-39	2-30	3-15	3-15	3-23	4-1
3-23	1-33	3-53	2-28	3-23	1-5
3-7	1-9	1-18	3-11	3-30	3-15
3-30	3-11	3-49	1-39	3-48	1-17
3-23	3-20	3-64	2D-29	3-23	1-33
4-34	1-5	3-21	3-15	3-23	1-16
4-34	1-17	4-59	1-33	3-53	3-15
3-53	1-33	3-53	3-11	3-48	2-28
3-21	3-20	3-23	3-15	3-7	1-9
4-31	1-33	3-9	1-27	3-30	3-11
4-34	1-39	3-13	2-30	3-30	4-1
1-18	3-20	4-4	3-11	3-43	3-11
3-53	1-5	3-33	3-20	1-18	2-28
4-61	1-39	5-51	2-28	3-30	4-1
3-21	1-39	3-7	3-20	5-51	3-11
5-51	1-27	3-23	2-40	3-23	2-28
5-51	4-1	4-31	1-39	1-2	3-15
3-30	2D-29	3-23	1-16	3-11	3-20
3-53	1-5	3-48	2-28	4-31	3-11
3-23	1-39	4-31	1-33	1-24	2D-28
5-51	4-1	4-31	1-27	1-46	3-20
3-11	3-20	3-48	3-20	5-51	1-17
VH	VL	3-53	4-1	1-58	3-20
4-59	1-51	4-4	2D-29	4-59	3-20
3-23	2-14	4-31	4-1	3-21	1-5
3-15	2-8	4-34	2-28	1-8	4-1
3-11	3-1	4-34	3-15	3-53	4-1
4-28	2-23	1-69	3-20	3-23	1-39
4-34	1-44	3-15	1-27	3-64	1-5
4-59	3-1	1-24	3-15	4-4	3-15
3-30	1-51	1-2	2D-26	1-46	4-1
3-30	3-27	VH	VL	VH	VL
4-39	2-18	1-3	3-1	3-64	2-14
5-51	1-40	1-69	2-11	3-23	1-40
5-51	1-47	3-33	3-9	3-74	2-8
4-39	2-8	4-31	1-51	4-34	1-40
3-33	1-47	4-59	3-1	5-51	2-14
		1-46	1-44	3-21	1-51
		4-4	2-23	3-11	1-51
		4-39	2-8	1-8	1-47
		1-3	2-14	3-48	1-19
		3-15	1-47	1-69	2-14
		3-48	3-21	3-23	2-11
		3-21	2-14	3-23	1-40
		3-11	3-21		
		3-30	2-14		

도면24

S1 mn		S2 mn			
VH	Vk	VH	Vk	VH	VL
4-4	3-11	3-7	3-11	5-51	2-23
1-18	3-20	3-23	3-11	1-46	1-51
3-74	2-30	4-4	4-1	3-48	3-1
5-51	3-11	4-59	1-12	3-30	1-40
3-30	1-5	4-39	1-5	1-46	1-51
3-21	3-20	1-3	1-5	3-30	1-40
3-23	2D-40	5-51	4-1	4-31	1-40
4-39	3-20	4-34	4-1	4-59	1-47
4-31	3-20	4-34	3-20	4-31	3-1
3-15	3-15	4-39	3-11	3-9	2-23
4-39	3-15	3-33	3-15	4-34	1-40
4-4	3-20	3-15	1-39	3-9	2-14
1-18	1-5	1-18	4-1	3-9	2-11
4-39	3-20	4-34	3-15	4-39	2-8
4-59	1D-39	4-31	3-15	1-18	1-51
3-30	3-20	1-2	1-33	4-59	1-51
3-33	1D-39	4-39	1-5	4-31	2-14
4-34	1-5	4-34	1-39	4-61	1-44
3-21	3-20	4-39	1-5	4-31	1-40
1-8	1-9	3-74	1-5	3-9	1-44
4-34	3-20	4-39	3-20	3-30	1-51
4-4	3-11	1-18	3-20	3-11	9-49
1-46	3-20	4-34	3-20	4-4	1-51
1-18	1-8	4-39	1-5	1-18	3-25
4-39	1-39	3-7	1D-17		
4-59	1-8	5-51	2-28		
3-7	3-15	3-53	1-27		
3-53	1D-39	1-69	1D-16		
VH	VL	4-34	3-11		
3-33	1-47	3-53	1-39		
3-30	3-21	1-69	1-5		
4-59	1-51	4-31	3-20		
3-15	6-57	4-31	1-33		
4-39	2-14	3-15	3-20		
3-73	1-51	3-48	3-20		
5-51	3-25	5-51	1-5		
3-53	1-51	4-59	3-11		
3-48	3-1	3-30	1-39		
4-39	7-46	3-11	1-39		
4-39	6-57	3-33	3-15		
1-18	1-40	4-59	3-11		
4-34	2-8	4-34	3-11		
5-51	1-40	3-30	1-5		
4-39	2-8	4-39	1-27		
4-39	1-40	3-30	3-11		
4-39	2-8	4-34	2-28		
1-18	2-8	3-33	3-20		
		3-30	3-11		
		4-34	3-15		
		4-39	1-39		
		3-48	1-27		
		4-34	3-20		
		4-4	3-20		

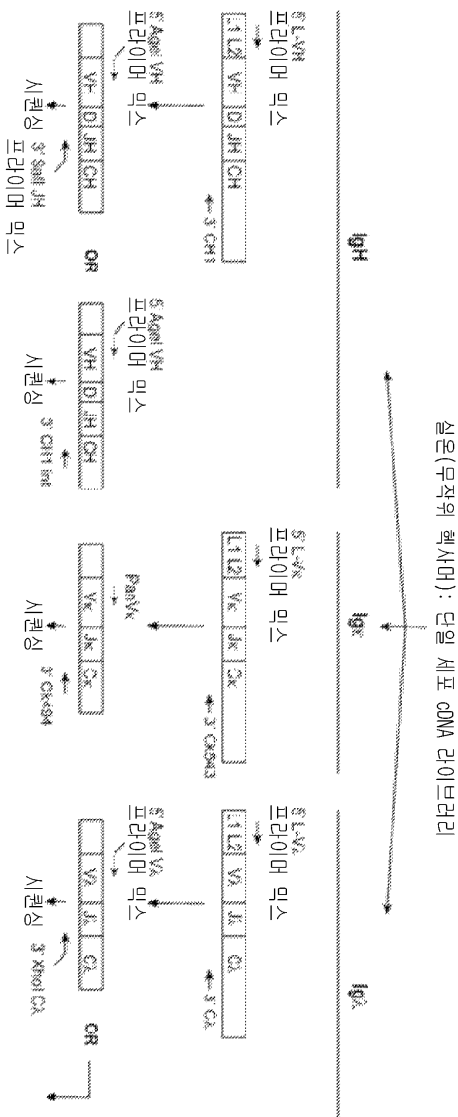
도면25

S3 mn				S4 mn			
VH	Vk	VH	VL	VH	Vk	VH	VL
3-23	3-20	3-15	1-44	1-69	1D-39	3-21	2-11
1-46	1-16	3-23	2-23	3-23	3-15	1-69	2-8
3-30	1-5	4-4	1-44	4-4	3-20	4-34	2-14
3-33	1D-33	3-15	3-21	3-21	1-27	1-24	2-23
3-7	1D-39	1-2	2-8	3-23	1-17	3-23	1-40
1-69	1D-39	3-30	2-11	1-18	1D-39	4-34	1-40
4-34	3-20	4-31	2-23	3-23	3-20	3-48	1-44
3-74	3-11	3-49	2-28	4-4	1D-39	3-48	1-47
3-15	1D-33	1-18	6-57	1-46	1D-39	3-73	1-47
1-3	2D-29	3-11	1-44	3-7	1D-39	4-4	2-14
1-18	1D-33	1-69	2-11	4-34	3-20	3-23	1-40
1-46	1-16	4-39	2-23	3-30	1-16		
3-23	1-5	1-2	2-8	1-69	2D-28		
4-39	3-20	3-49	3-21	1-69	3-20		
3-30	3-11	4-34	2-8	3-53	1D-33		
3-11	2D-28	3-9	2-11	1-69	1D-39		
3-7	4-1			4-31	3-11		
3-23	1-5			3-21	1D-39		
3-15	1-5			4-39	1-27		
3-72	3-15			1-18	3-20		
3-11	3-11			1-24	3-20		
3-21	2D-29			3-23	3-20		
3-23	1-5			3-23	1-27		
1-69	3-20			3-30	3-15		
1-69	1D-39			1-2	2D-28		
1-69	3-20			4-61	3-15		
3-11	1-16			3-15	1D-39		
3-23	1-27			3-7	1D-39		
4-34	2D-28			1-18	1D-39		
3-53	1-9			3-23	3-11		
1-69	2D-30			1-18	1D-39		
1-8	2-29			3-23	2D-28		
3-7	3-15			1-2	1-27		
3-53	1-5			3-53	3-15		
3-23	1D-33			4-34	1-17		
3-48	1D-33			3-15	1D-39		
3-15	3-11			3-53	1D-39		
4-31	2D-28			3-30	2D-28		
3-23	1D-39			3-11	1D-39		
3-23	2D-28			3-23	3-20		
4-61	1-16			3-23	3-15		
3-30	1D-39						
4-34	3-15						
3-33	4-1						
3-21	1-5						
3-49	3-15						
5-51	3-20						
4-31	1-17						
4-34	1D-39						
1-18	2D-28						
3-53	1D-33						
5-51	3-20						
5-51	3-20						
3-53	2-29						

도면26

S5 mn				S6 mn			
VH	Vk	VH	VL	VH	Vk	VH	VL
4-39	1D-39	1-69	2-14	1-18	3-20	1-8	2-8
4-34	3-20	3-15	3-22	4-59	1D-39	4-34	1-51
3-21	3-15	5-51	1-40	3-53	3-11	3-11	8-61
3-48	3-20	4-34	1-51	4-4	1-5	1-18	6-57
3-15	3-20	3-23	1-51	3-53	1D-33	4-34	2-14
4-59	1-39	1-2	2-11	3-9	1D-39	4-34	1-47
4-4	3-20	4-59	1-51	5-51	1D-39	1-2	2-14
4-39	1-17	3-49	2-8	3-11	1-9	3-21	4-69
3-49	1-39	1-18	1-44	3-7	3-11	3-74	1-47
4-4	1-5	1-69	1-40	1-18	4-1		
4-34	4-1	3-66	1-47	3-48	1-6		
4-34	1-9	3-48	2-11	4-59	1D-39		
3-15	3-11	4-31	2-14	3-53	4-1		
4-34	1-39	4-28	2-14	3-30	4-1		
3-48	3-11	1-2	2-14	4-59	4-1		
3-30	3-20	3-73	1-40	3-30	1-5		
3-20	1-39	3-48	1-47	4-59	1D-39		
3-48	1-16	4-34	2-14	3-7	2-30		
3-30	1-39	3-23	2-23	4-59	1D-39		
1-69	3-20	1-24	2-23	3-53	3-15		
4-39	3-15			3-23	1-27		
4-31	2-40			4-34	1D-39		
3-33	3-20			1-2	1D-39		
4-59	4-1			3-23	2-29		
4-34	1-39			3-13	1D-33		
4-59	3-11			4-59	3-20		
3-11	3-15			3-21	4-1		
1-18	1-5			3-7	3-20		
3-7	1-39			3-21	3-15		
4-34	4-1			1-8	1D-39		
				3-66	1D-39		
				3-23	3-20		
				3-21	1-8		
				3-13	1D-39		
				3-23	1-27		
				3-23	1-17		
				3-21	1D-39		
				1-18	2-28		
				4-34	1-5		
				4-54	3-11		
				3-49	1D-39		
				4-39	1D-39		
				3-48	2D-29		
				3-21	1D-39		
				3-64	1-9		
				3-23	3-20		
				3-53	3-20		
				4-34	3-20		
				3-23	1-17		
				4-4	1-27		
				4-34	1D-33		
				3-48	1-8		
				1-24	4-1		
				4-4	2-28		

도면27



도면28

	VH	Vk	VI
ascTT_201	1-02*02		1-44*01
ascTT_65	1-02*02		1-51*01
ascTT_153	1-02*02		2-14*04
ascTT_316	1-02*02		7-46*01
ascTT_294	1-02*04		2-14*03
ascTT_307	1-08*01	1-05*03	
ascTT_350	1-18*01	1-17*01	
ascTT_06	1-18*01	3-20*01	
ascTT_207	1-18*01		1-51*01
ascTT_164	1-58*01	3-20*01	
ascTT_395	1-69*01	3-15*01	
ascTT_138	1-69*01	3-20*01	
ascTT_214	1-69*01	4-01*01	
ascTT_51	1-69*01		1-44*01
ascTT_176	1-69*01		1-44*01
ascTT_212	1-69*01		1-44*01
ascTT_258	1-69*01		1-44*01
ascTT_327	1-69*01		1-44*01
ascTT_08	1-69*01		2-11*01
ascTT_310	1-69*06	1-27*01	
ascTT_255	1-69*06	1-39*01	
ascTT_178	1-69*06	3-11*01	
ascTT_79	1-69*06	3-15*01	
ascTT_334	1-69*06	3-15*01	
ascTT_105	1-69*06	3D-15*01	
ascTT_61	1-69*06	4-01*01	
ascTT_231	1-69*06	4-01*01	
ascTT_265	1-69*06		1-47*01
ascTT_179	1-69*06		6-57*01
ascTT_101	3-07*01	1-05*03	
ascTT_42	3-07*01		1-44*01
ascTT_195	3-07*01		1-44*01
ascTT_390	3-09*01		1-51*01
ascTT_182	3-09*01		
ascTT_188	3-09*01		
ascTT_225	3-09*01		
ascTT_319	3-11*01	1-12*01	
ascTT_29	3-11*01		1-40*01
ascTT_385	3-11*01		7-46*01
ascTT_87	3-11*03	1-39*01	
ascTT_349	3-20*01		2-14*03
ascTT_156	3-21*01		1-51*01
ascTT_344	3-21*01		3-21*01

도면29

	VH	Vk	VI
ascTT_31	3-23*01	1-05*03	
ascTT_45	3-23*01	1-05*03	
ascTT_59	3-23*01	1-05*03	
ascTT_78	3-23*01	1-05*03	
ascTT_88	3-23*01	1-05*03	
ascTT_148	3-23*01	1-05*03	
ascTT_292	3-23*01	1-05*03	
ascTT_320	3-23*01	1-05*03	
ascTT_348	3-23*01	1-05*03	
ascTT_358	3-23*01	1-39*01	
ascTT_365	3-23*01	1-39*01	
ascTT_158	3-23*01	3-20*01	
ascTT_204	3-23*01		1-44*01
ascTT_245	3-23*01		1-44*01
ascTT_275	3-23*01		1-44*01
ascTT_56	3-23*01		2-14*04
ascTT_278	3-23*01		2-23*01
ascTT_21	3-30*18	1-09*01	
ascTT_335	3-30*18	3-11*01	
ascTT_159	3-30*18	3-15*01	
ascTT_274	3-30*18	3-15*01	
ascTT_109	3-30*18		1-40*01
ascTT_27	3-30*18		2-14*01
ascTT_394	3-30*18		3-21*03
ascTT_193	3-33*01	3-15*01	
ascTT_144	3-33*05		4-69*02
ascTT_162	3-43*01		2-11*01
ascTT_124	3-43*01		9-49*01
ascTT_57	3-48*01	3-20*01	
ascTT_77	3-48*01	3-20*01	
ascTT_01	3-53*01		1-44*01
ascTT_28	3-53*01		1-44*01
ascTT_36	3-53*01		1-44*01
ascTT_141	3-53*01		1-44*01
ascTT_229	3-53*01		1-44*01
ascTT_304	3-53*01		1-44*01
ascTT_341	3-53*01		1-44*01
ascTT_354	3-53*01		1-44*01
ascTT_134	3-64*05		3-21*01
ascTT_03	3-74*01		2-23*01
ascTT_259	4-30*2*01	4-01*01	
ascTT_328	4-31*03	3-20*01	
ascTT_306	4-31*03		1-51*01

도면30

	VH	Vk	VI
ascTT_25	4-31*03		2-08*01
ascTT_85	4-31*03		2-08*01
ascTT_96	4-31*03		2-08*01
ascTT_185	4-31*03		2-08*01
ascTT_187	4-31*03		2-08*01
ascTT_312	4-31*03		2-08*01
ascTT_311	4-31*03		2-08*01
ascTT_313	4-31*03		2-08*01
ascTT_116	4-31*03		2-08*01
ascTT_196	4-39*01	1-06*01	
ascTT_47	4-39*01	2-28*01	
ascTT_295	4-39*01		1-40*01
ascTT_318	4-39*01		1-44*01
ascTT_337	4-39*01		1-44*01
ascTT_35	4-39*01		3-21*03
ascTT_40	4-39*01		3-21*03
ascTT_81	4-39*01		3-21*03
ascTT_93	4-39*01		3-21*03
ascTT_126	4-39*01		3-21*03
ascTT_166	4-39*01		3-21*03
ascTT_210	4-39*01		3-21*03
ascTT_224	4-39*01		3-21*03
ascTT_244	4-39*01		3-21*03
ascTT_370	4-39*01		3-21*03
ascTT_392	4-39*01		3-21*03
ascTT_232	4-39*01		3-21*03
ascTT_263	4-59*01		2-08*01
ascTT_15	4-59*01	1-39*01	
ascTT_122	4-59*01	3-15*01	
ascTT_276	4-59*01	3-15*01	
ascTT_302	4-59*01	3-15*01	
ascTT_110	4-59*03	1-39*01	
ascTT_34	4-59*04	1-39*01	
ascTT_173	4-61*01		2-14*03
ascTT_177	5-51*01	1-13*02	
ascTT_190	5-51*01	1-13*02	
ascTT_233	5-51*01	1-13*02	
ascTT_84	5-51*01	1-13*02	
ascTT_43	5-51*01	1-13*02	
ascTT_147	5-51*01	1-13*02	
ascTT_377	5-51*01	3-11*01	
ascTT_82	5-51*01	3-15*01	

도면31

	VH	Vk	VI
mnTT 16	1-02*02	2-30*01	
mnTT 125	1-02*02	3-20*01	
mnTT 436	1-02*02	3-20*01	
mnTT 507	1-02*02	3-20*01	
mnTT 238	1-02*02		1-44*01
mnTT 260	1-02*02		1-51*01
mnTT 451	1-02*02		1-51*01
mnTT 284	1-02*02		2-14*03
mnTT 20	1-02*02		2-23*01
mnTT 278	1-02*02		2-23*01
mnTT 166	1-02*02		3-21*02
mnTT 170	1-02*02		7-46*01
mnTT 548	1-02*03	4-01*01	
mnTT 70	1-02*03		3-01*01
mnTT 75	1-18*01	1-05*03	
mnTT 149	1-18*01	1-12*02	
mnTT 17	1-18*01	1-13*02	
mnTT 06	1-18*01	1-16*02	
mnTT 492	1-18*01	1-33*01	1-44*01
mnTT 490	1-18*01	1-33*01	
mnTT 321	1-18*01	1-39*01	
mnTT 542	1-18*01	2-30*01	
mnTT 318	1-18*01	3-15*01	
mnTT 101	1-18*01	3-20*01	
mnTT 29	1-18*01		1-40*01
mnTT 309	1-24*01	2-28*01	
mnTT 220	1-24*01	3-11*01	
mnTT 311	1-24*01	3-15*01	
mnTT 145	1-24*01		1-40*01
mnTT 217	1-24*01		3-21*02
mnTT 119	1-46*01	1-05*03	
mnTT 76	1-46*01	1-09*01	
mnTT 230	1-46*01	1-39*01	
mnTT 365	1-46*01	3-15*01	
mnTT 328	1-46*01	3-20*01	
mnTT 526	1-46*01	3-20*01	
mnTT 457	1-46*01		2-11*01
mnTT 57	1-46*01		2-14*03
mnTT 88	1-46*01		3-21*02
mnTT 530	1-69*01	1-05*03	
mnTT 263	1-69*01	1-33*01	
mnTT 317	1-69*01	1-33*01	
mnTT 61	1-69*01	1-39*01	
mnTT 331	1-69*01	1-39*01	
mnTT 395	1-69*01	1-39*01	
mnTT 487	1-69*01	2D-29*01	
mnTT 18	1-69*01	3-11*01	
mnTT 234	1-69*01	3-15*01	2-23*01

도면32

	VH	Vk	VI
mnTT 379	1-69°01	3-15°01	
mnTT 27	1-69°01	3-20°01	
mnTT 90	1-69°01	3-20°01	
mnTT 209	1-69°01	3-20°01	
mnTT 351	1-69°01	3-20°01	
mnTT 432	1-69°01	4-01°01	
mnTT 545	1-69°01	4-01°01	
mnTT 95	1-69°01		1-40°01
mnTT 279	1-69°01		1-40°01
mnTT 332	1-69°01		1-40°02
mnTT 147	1-69°01		1-44°01
mnTT 183	1-69°01		1-51°01
mnTT 01	1-69°01		2-14°03
mnTT 292	1-69°01		2-14°03
mnTT 244	1-69°01		2-14°04
mnTT 71	1-69°01		2-23°01
mnTT 525	1-69°01		2-23°01
mnTT 250	1-69°01		3-01°01
mnTT 136	1-69°01		1-51°01
mnTT 342	1-69°06	1-05°03	
mnTT 163	1-69°06	1-08°01	
mnTT 48	1-69°06	3-11°01	
mnTT 255	1-69°06	4-01°01	
mnTT 196	1-69°06		1-47°01
mnTT 226	1-69°06		3-21°02
mnTT 168	3-07°01	1-17°01	
mnTT 281	3-07°01	1-39°01	
mnTT 381	3-07°01	1-39°01	
mnTT 518	3-07°01	1-39°01	
mnTT 327	3-07°01		1-44°01
mnTT 64	3-07°02	1-05°03	
mnTT 434	3-07°02	1-13°02	
mnTT 303	3-09°01	1-37°01	
mnTT 419	3-09°01		1-47°01
mnTT 144	3-09°01		2-23°01
mnTT 13	3-09°01		2-23°03
mnTT 39	3-09°01		2-23°03
mnTT 37	3-09°01		3-21°02
mnTT 405	3-09°01		3-21°03
mnTT 131	3-09°01	3-11°01	
mnTT 121	3-11°01	1-05°03	
mnTT 473	3-11°01	1-05°03	
mnTT 385	3-11°01	1-17°01	
mnTT 256	3-11°01	1-33°01	
mnTT 382	3-11°01	3-20°01	
mnTT 66	3-11°01	4-01°01	
mnTT 111	3-11°01		3-25°01
mnTT 127	3-11°01	2-28°01	
mnTT 49	3-11°03	1-39°01	

도면33

	VH	Vk	VI
mnTT_537	3-11*03	3-11*01	
mnTT_246	3-11*03	3-15*01	
mnTT_481	3-11*03	4-01*01	
mnTT_272	3-11*03		3-21*01
mnTT_368	3-13*01	4-01*01	
mnTT_252	3-15*01	1-05*03	
mnTT_290	3-15*01	1-05*03	
mnTT_259	3-15*01	2-28*01	
mnTT_228	3-15*01	2D-29*01	
mnTT_326	3-15*01	4-01*01	
mnTT_192	3-15*01		1-51*01
mnTT_59	3-15*01		2-14*04
mnTT_12	3-15*01		7-46*01
mnTT_63	3-15*01		7-46*01
mnTT_233	3-21*01	1-05*03	
mnTT_221	3-21*01	1-39*01	
mnTT_41	3-21*01	3-20*01	
mnTT_56	3-21*01	4-01*01	
mnTT_383	3-21*01	4-01*01	
mnTT_148	3-21*01		1-47*01
mnTT_182	3-21*01		1-51*01
mnTT_215	3-21*01		1-51*01
mnTT_369	3-21*01		1-51*01
mnTT_443	3-21*01		2-11*01
mnTT_350	3-21*01		3-25*01
mnTT_335	3-23*01	1-05*03	
mnTT_15	3-23*01	1-17*01	
mnTT_78	3-23*01	1-33*01	3-21*02
mnTT_418	3-23*01	1-33*01	
mnTT_520	3-23*01	1-33*01	
mnTT_107	3-23*01	1-39*01	
mnTT_466	3-23*01	1-39*01	
mnTT_485	3-23*01	1-39*01	
mnTT_488	3-23*01	1-39*01	
mnTT_34	3-23*01	1D-12*01	
mnTT_158	3-23*01	2-30*01	
mnTT_176	3-23*01	2D-29*01	
mnTT_315	3-23*01	2D-29*01	
mnTT_116	3-23*01	3-11*01	2-23*01
mnTT_87	3-23*01	3-11*01	
mnTT_512	3-23*01	3-15*01	
mnTT_393	3-23*01	3-20*01	
mnTT_539	3-23*01	4-01*01	
mnTT_480	3-23*01		1-47*01
mnTT_322	3-23*01		2-11*01
mnTT_329	3-23*01		2-11*01
mnTT_162	3-23*01		2-14*03
mnTT_258	3-23*01		2-14*03
mnTT_216	3-23*01		2-14*04

도면34

	VH	Vk	VI
mnTT 108	3-23°01		3-01°01
mnTT 179	3-23°01		3-21°02
mnTT 195	3-23°01		3-21°02
mnTT 423	3-30°18	1-33°01	
mnTT 468	3-30°18	1D-8°01	
mnTT 153	3-30°18	2-28°01	
mnTT 286	3-30°18	3-11°01	
mnTT 242	3-30°18	4-01°01	
mnTT 185	3-30°18		1-44°01
mnTT 547	3-30°18		1-51°01
mnTT 251	3-30°18		2-14°03
mnTT 126	3-30°18		2-14°04
mnTT 415	3-30°18		2-14°04
mnTT 440	3-30°18		2-14°04
mnTT 72	3-30°18		2-23°01
mnTT 267	3-33°01	1-39°01	
mnTT 123	3-33°01	3-20°01	
mnTT 493	3-33°01	4-01°01	
mnTT 516	3-33°01		1-47°01
mnTT 184	3-33°01		2-14°03
mnTT 44	3-33°01		3-21°01
mnTT 156	3-33°01		3-21°01
mnTT 10	3-33°01		9-49°01
mnTT 140	3-33°01	1-39°01	
mnTT 138	3-33°01		3-01°01
mnTT 81	3-33°01		3-21°01
mnTT 506	3-43°01	4-01°01	
mnTT 08	3-48°01	1-08°01	
mnTT 522	3-48°01	1-39°01	
mnTT 106	3-48°01	4-01°01	
mnTT 91	3-48°01		1-40°01
mnTT 79	3-48°02	1-17°01	
mnTT 194	3-48°02	1-39°01	
mnTT 130	3-48°02	3-15°01	
mnTT 282	3-48°02		9-49°01
mnTT 426	3-49°03	3-11°01	
mnTT 474	3-49°05	1-17°01	
mnTT 270	3-49°05	2-28°01	
mnTT 453	3-53°01	1-33°01	
mnTT 305	3-53°01	3-15°01	
mnTT 137	3-53°01		2-08°01
mnTT 65	3-53°01		2-23°01
mnTT 358	3-64°05	1-05°03	
mnTT 53	3-64°05	3-11°01	
mnTT 447	3-72°01	1-05°03	
mnTT 283	3-72°01		4-69°01
mnTT 82	3-73°01		2-11°01
mnTT 177	3-74°01	1-05°03	
mnTT 09	3-74°01	4-01°01	

도면35

	VH	Vk	VI
mnTT 143	3-74°01		2-14°04
mnTT 276	4-04°07	1-17°01	
mnTT 102	4-04°07	3-15°01	
mnTT 191	4-04°07		1-44°01
mnTT 467	4-04°07		1-51°01
mnTT 374	4-04°07		3-25°01
mnTT 132	4-04°07	1-39°01	
mnTT 104	4-30-2°01	1-39°01	
mnTT 408	4-30-2°01		3-21°01
mnTT 319	4-31°01	1-05°03	
mnTT 323	4-31°01	3-15°01	
mnTT 50	4-31°02	1-39°01	
mnTT 188	4-31°02	3-11°01	
mnTT 14	4-31°02		2-14°03
mnTT 77	4-31°02		2-23°01
mnTT 257	4-31°03		1-40°01
mnTT 533	4-31°03		1-47°01
mnTT 546	4-34°01	1-05°03	
mnTT 02	4-34°01	1-08°01	
mnTT 266	4-34°01	1-12°01	
mnTT 380	4-34°01	1-16°01	
mnTT 157	4-34°01	1-33°01	
mnTT 146	4-34°01	1-39°01	
mnTT 384	4-34°01	3-11°01	
mnTT 73	4-34°01	3-20°01	
mnTT 376	4-34°01	3-20°01	
mnTT 236	4-34°01	4-01°01	
mnTT 89	4-34°01		1-36°01
mnTT 68	4-34°01		1-40°02
mnTT 69	4-34°01		1-47°01
mnTT 367	4-34°01		1-47°01
mnTT 32	4-34°01		1-51°01
mnTT 225	4-34°01		1-51°01
mnTT 511	4-34°01		1-51°01
mnTT 441	4-34°01		2-08°01
mnTT 294	4-34°01		2-14°03
mnTT 219	4-34°01		3-21°01
mnTT 165	4-34°01		3-25°01
mnTT 241	4-34°01		7-43°01
mnTT 523	4-34°01		9-49°01
mnTT 273	4-39°01	1-05°03	
mnTT 333	4-39°01	1-05°03	
mnTT 262	4-39°01	1-06°01	
mnTT 459	4-39°01	1-27°01	1-40°01
mnTT 361	4-39°01	1-33°01	
mnTT 84	4-39°01	1-39°01	
mnTT 312	4-39°01	1-39°01	
mnTT 141	4-39°01	2-28°01	
mnTT 455	4-39°01	2-28°01	

도면36

	VH	Vk	VI
mnTT 458	4-39°01	2-30°01	
mnTT 360	4-39°01	3-11°01	
mnTT 544	4-39°01	3-11°01	
mnTT 103	4-39°01	3-15°01	
mnTT 110	4-39°01	3-15°01	
mnTT 513	4-39°01	3-15°01	
mnTT 316	4-39°01	3-20°01	
mnTT 271	4-39°01	4-01°01	
mnTT 448	4-39°01	4-01°01	
mnTT 83	4-39°01		1-44°01
mnTT 05	4-39°01		1-51°01
mnTT 74	4-39°01		2-08°01
mnTT 254	4-39°01		2-08°01
mnTT 462	4-39°01		2-18°02
mnTT 171	4-39°01		3-01°01
mnTT 135	4-39°01		2-08°01
mnTT 340	4-59°01	1-05°03	
mnTT 477	4-59°01	1-17°01	
mnTT 28	4-59°01	1-39°01	
mnTT 47	4-59°01	1-39°01	
mnTT 353	4-59°01	3-11°01	
mnTT 269	4-59°01	3-15°01	
mnTT 338	4-59°01	4-01°01	
mnTT 357	4-59°01	4-01°01	
mnTT 118	4-59°01		1-40°01
mnTT 231	4-59°01		1-40°01
mnTT 337	4-59°01		1-40°02
mnTT 427	4-59°01		2-11°01
mnTT 519	4-59°01		2-23°01
mnTT 339	4-59°01		3-01°01
mnTT 442	4-59°01	1-39°01	
mnTT 207	4-61°01	1-12°01	
mnTT 218	4-61°01	1-39°01	
mnTT 159	4-61°01	2-28°01	
mnTT 211	4-61°01		1-44°01
mnTT 253	4-61°01		1-44°01
mnTT 521	4-61°01		1-44°01
mnTT 428	4-61°01		3-21°01
mnTT 151	4-61°07		2-11°01
mnTT 352	4-61°08	4-01°01	
mnTT 407	4-61°08	4-01°01	
mnTT 169	5-51°01	1-33°01	
mnTT 62	5-51°01	3-11°01	
mnTT 430	5-51°01	3-11°01	
mnTT 295	5-51°01	3-15°01	
mnTT 424	5-51°01	3-20°01	
mnTT 444	5-51°01	3-20°01	
mnTT 464	5-a°01	1D-33°01	
mnTT 26	5-a°01		2-14°03
mnTT 210	5-a°01		2-23°03

도면37

20개의 BA 영역 유전자의 요약

CpG 길(Å)										예피베이스(Epibase) 검색										응답 해결	
종래 생식세포 유전자	카버트 CpG-H1	카버트 CpG-H2	VNT1 p1	순위	PTMs (w/o NKS/T)	NKS/T	CpG 중의 Met의 수	제거됨 시스템인	생식세포로 부딪힌 편차	강한 T-세포 예피토프	이론상의 응답 경향										
1 hVH_1_2	5	17	9.4	14	2	0	1	0	0	0	중간										
2 hVH_1_18	5	17	9.2	9	2	0	0	0	0	0	중간										
3 hVH_1_69	5	17	9.3	7	0	0	0	0	0	0	중간										
4 hVH_1_46	5	17	9.2	21	0	0	1	0	0	0	중간										
5 hVH_3_7	5	17	8.6	8	4	0	1	0	0	0	중간										
6 hVH_3_11	5	17	8.0	17	2	0	1	0	0	0	중간										
7 hVH_3_15	5	19	9.0	12	3	0	1	0	0	0	중간										
8 hVH_3_21	5	17	9.6	11	3	0	1	0	0	0	중간										
9 hVH_3_23	5	17	8.7	1	3	0	1	0	0	0	중간										
10 hVH_3_30	5	17	9.3	2	4	0	1	0	0	0	중간										
11 hVH_3_33	5	17	9.3	15	4	0	1	0	0	0	중간										
12 hVH_3_48	5	17	8.0	10	3	0	1	0	0	0	중간										
13 hVH_3_53	5	16	8.7	18	3	0	1	0	0	0	중간										
14 hVH_3_73	5	19	9.5	33	3	0	1	0	0	0	중간										
15 hVH_3_74	5	17	9.1	19	4	0	1	0	0	0	중간										
16 hVH_4_4	6	16	9.3	20	0	0	0	1	0	0	중간										
17 hVH_4_31	7	16	9.2	13	0	0	0	0	0	0	중간										
18 hVH_4_39	7	16	9.0	1	0	0	0	0	0	0	중간										
19 hVH_5_51	5	17	8.6	6	1	0	0	0	0	0	중간										
20 hVH_6_1	7	18	9.3	39	3	0	1	0	0	0	중간										

201의 VL 영역 유전자의 요약

	경해 생식세포 유전자	커버트 COR-H1	커버트 COR-H2	VNTI pI	순위	PTMs (w/o Nxs/T)	Nxs/T	COR 종의 수	제거될 시스템인	생식세포로 부턴의 편차	강한 T-세포 에피토프	이론상의 응집 경향
1	NVL_1-40	14	7	4.9	2	1	0	0	0	0	0	중간
2	NVL_1-47	13	7	5.0	3	0	0	0	0	0	0	중간
3	NVL_1-51	13	7	6.2	4	0	0	0	0	1	0	중간
4	NVL_2-11	14	7	6.7	3	0	0	0	0	0	0	중간
5	NVL_2-23	14	7	6.7	3	0	0	0	0	0	0	중간
6	NVL_2-14	14	7	5.6	1	0	0	0	0	0	0	중간
7	NVL_3-1	11	7	4.5	9	2	0	0	1	2	1+	중간
8	NVL_3-21	11	7	4.8	7	2	0	0	0	1	1+	중간
9	NVL_1-5	11	7	5.0	3	1	0	0	0	0	0	중간
10	NVL_1-6	11	7	8.0	16	0	0	0	0	0	0	중간
11	NVL_1-9	11	7	8.0	9	0	0	0	0	0	0	중간
12	NVL_1-12	11	7	8.0	15	0	0	0	0	1	0	중간
13	NVL_1-16	11	7	8.0	14	0	0	0	0	0	0	중간
14	NVL_1-17	11	7	8.7	11	0	0	0	0	0	0	중간
15	NVL_1-27	11	7	8.7	12	0	0	0	0	0	0	중간
16	NVL_1-39	11	7	8.0	2	0	0	0	0	0	0	중간
17	NVL_2-30	16	7	8.0	10	2	0	0	0	0	0	중간
18	NVL_3-11	11	7	6.3	9	0	0	0	0	0	0	중간
19	NVL_3-15	11	7	8.0	4	0	0	0	0	0	0	중간
20	NVL_3-20	12	7	6.3	1	0	0	0	0	0	0	중간
alt	NVL_1-8	11	7	8.9	13	0	0	0	1	0	0	중간

도면39

1358.0	GK3-20	GK1-38/D-39	GK1-5	GK3-15	GK4-1	GK3-11	GK2-28/D-28	GK1-33/D-33	GK1-9	GK2-30	GK1-17	GK1-27	GK1-8	GK1-16	GK1-12	GK1-6	GK2-29	GK1-13	GK2-24	GK1-8	GK2-28	GK5-2	GK3-20	GK1-12	GK2-40/D-40	GK1-43	GK2-30	GK1-16	GK3-15	GK1-13	GK1-17
>VH3-23	24	32	27	20	19	7	6	3	1	5	4	4	3	1	0	2	0	0	0	2	0	1	1	1	2	0	0	0	0	1	0
>VH3-30	13	12	8	8	13	4	2	7	2	1	1	2	1	0	2	1	1	2	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
>VH4-39	13	18	13	22	5	6	5	4	0	2	1	4	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
>VH4-59	13	19	5	6	0	4	0	2	0	1	1	3	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
>VH4-34	25	16	0	8	7	6	6	3	2	0	2	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH5-51	10	7	4	7	3	6	4	3	1	2	1	1	0	0	1	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-69	12	14	5	7	6	3	3	0	1	0	2	2	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0
>VH3-7	6	10	10	6	5	4	3	0	2	4	2	2	3	0	0	1	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
>VH1-18	15	9	9	4	2	4	5	7	0	2	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-48	12	6	1	6	6	7	3	6	2	0	2	1	3	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
>VH3-21	5	7	0	9	4	2	2	0	0	0	0	2	2	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-15	10	6	6	4	4	3	3	4	3	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
>VH4-31	7	4	4	4	2	7	4	3	0	0	2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
>VH1-2	12	6	3	2	3	0	2	1	0	1	0	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-33	6	5	5	6	6	2	4	2	2	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-53	2	5	8	6	4	4	1	5	1	0	1	2	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
>VH3-11	3	5	6	5	2	3	3	1	1	0	1	0	0	0	1	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-9	1	3	3	2	3	2	1	0	0	0	1	1	1	2	1	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-74	4	3	3	3	3	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-4	6	5	4	3	3	3	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-46	6	5	3	3	1	2	0	1	4	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-61	0	3	0	2	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-8	2	1	1	4	2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-24	1	3	0	3	1	4	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
>VH1-3	2	4	1	3	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-49	2	4	2	1	0	1	1	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-28	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-43	0	0	3	1	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-64	0	0	2	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH7-81	3	2	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-13	0	3	1	0	2	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-72	1	0	2	2	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-73	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-58	2	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-66	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-30.2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH7-4.1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH2-5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH6-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-30.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-20	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

도면40

779.0	GLV 2-14	GLV 1-40	GLV 1-44	GLV 1-51	GLV 1-47	GLV 2-23	GLV 3-21	GLV 2-11	GLV 3-1	GLV 2-8	GLV 6-57	GLV 1-36	GLV 3-25	GLV 4-69	GLV 7-43	GLV 7-46	GLV 2-18	GLV 3-27	GLV 9-49	GLV 3-10	GLV 3-9	GLV 8-61	GLV 3-12	GLV 3-19	GLV 3-22	GLV 4-60
>VH3-23	13	6	5	3	1	4	6	5	5	1	0	2	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
>VH3-30	7	5	4	9	1	2	3	2	3	1	1	0	0	0	0	0	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-39	10	6	7	5	3	5	13	0	2	10	2	0	0	0	0	1	3	0	0	0	1	0	0	0	0	0
>VH4-59	4	6	4	4	3	2	2	2	5	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
>VH4-34	10	6	2	9	6	2	2	1	0	4	0	1	2	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
>VH5-51	11	14	5	0	4	3	3	0	0	0	0	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-69	8	7	8	5	2	3	2	5	2	4	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
>VH3-7	2	4	3	3	3	1	3	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-18	5	5	3	3	0	1	0	1	0	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
>VH3-48	6	1	1	1	6	1	1	2	3	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-21	5	2	2	9	3	1	2	2	1	1	1	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-15	1	2	4	2	1	1	1	0	2	2	1	0	1	0	2	3	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
>VH4-31	6	3	1	3	3	4	2	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-2	8	6	5	3	0	3	1	1	3	2	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-33	4	1	1	1	4	4	1	1	0	2	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
>VH3-53	2	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-11	3	1	3	1	1	2	2	3	3	1	0	0	1	2	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
>VH3-9	6	1	4	1	3	7	2	3	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
>VH3-74	2	0	0	0	1	3	3	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-4	4	3	6	2	0	2	0	1	1	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-46	3	1	3	4	1	1	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-61	3	0	4	0	0	1	1	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-8	4	0	0	1	2	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-24	1	1	1	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-3	2	1	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-49	1	1	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-28	1	0	2	2	0	4	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-43	1	0	0	2	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-64	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH7-81	2	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-13	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-72	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-73	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-58	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-66	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-30.2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH7-4.1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH2-5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH6-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-30.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

도면41

[illegible]

도면42

457.0		IGLV 2-14	IGLV 1-40	IGLV 1-44	IGLV 1-51	IGLV 1-47	IGLV 2-23	IGLV 3-21	IGLV 2-11	IGLV 3-1	IGLV 2-8	IGLV 6-57	IGLV 1-36	IGLV 3-25	IGLV 4-69	IGLV 7-43	IGLV 7-46	IGLV 2-18	IGLV 3-27	IGLV 9-49	IGLV 3-10	IGLV 3-9	IGLV 8-61	IGLV 3-12	IGLV 3-19	IGLV 3-22
	>VH3-23	7	5	0	1	1	3	4	3	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
	>VH3-30	6	2	2	5	0	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0
	>VH4-39	5	4	4	4	0	3	0	0	1	9	1	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	>VH4-59	1	6	1	4	1	2	0	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	>VH4-64	6	4	2	7	4	2	1	0	0	4	0	1	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
	>VH5-51	5	11	4	0	2	2	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	>VH1-69	7	7	2	4	1	3	1	2	2	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	>VH3-7	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	>VH1-18	3	5	2	1	0	0	0	1	0	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
	>VH3-48	5	1	1	1	2	0	1	1	3	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	>VH3-21	2	0	0	6	2	1	0	2	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	>VH3-15	1	0	3	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1
	>VH4-31	5	3	1	2	2	2	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	>VH1-2	6	3	2	2	0	2	1	1	3	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
	>VH3-33	3	1	0	0	3	0	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0
>VH3-53	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-11	0	0	1	1	1	0	2	0	2	0	0	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	
>VH3-9	4	0	3	0	3	4	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-74	1	0	0	0	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH4-4	2	0	4	2	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH1-46	1	0	3	2	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH4-61	1	0	4	0	0	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH1-8	3	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
>VH1-24	0	1	1	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH1-3	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-49	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH4-28	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-43	1	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-64	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH7-81	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-13	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-73	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH1-58	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH3-66	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
>VH4-30.2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

도면43

470.0	IGKV3-20	IGKV1-39/1D-39	IGKV1-5	IGKV3-15	IGKV4-1	IGKV3-11	IGKV2-28/2D-28	IGKV1-33/1D-33	IGKV1-9	IGKV2-30	IGKV1-17	IGKV1-27	IGKV1-8	IGKV1-16	IGKV1-12	IGKV1-6	IGKV2D-29	IGKV1-13	IGKV2-24	IGKV1D-8	IGKV2-29	IGKV5-2	IGKV3D-20	IGKV1D-12	IGKV2-40/2D-40	IGKV1D-43	IGKV2D-30	IGKV1D-16	IGKV3D-15	IGKV1D-13
>VH3-23	3	4	13	11	5	2	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
>VH3-30	3	3	1	4	5	3	1	0	1	1	1	0	2	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-39	3	7	4	4	2	1	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
>VH4-59	5	7	1	5	4	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
>VH4-34	4	5	5	2	1	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH5-51	3	4	2	3	1	2	0	1	1	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-69	3	2	1	5	3	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
>VH3-7	3	2	0	4	3	1	1	0	0	0	3	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-18	4	3	0	3	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-48	1	3	0	1	2	1	1	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-21	1	1	4	3	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-15	4	0	1	0	2	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-31	5	1	3	1	1	2	2	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-2	4	3	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-33	1	2	4	5	3	2	2	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-53	0	1	1	2	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-11	1	1	3	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-9	1	0	1	1	2	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-74	3	1	1	2	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-4	2	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-46	2	1	2	1	0	2	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-61	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-8	2	0	1	3	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-24	0	2	0	1	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
>VH1-3	2	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-49	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-28	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-43	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH7-81	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-13	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-72	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-73	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-58	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-66	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-30.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH7-4.1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

도면44

322.0	GLV 2-14	GLV 1-40	GLV 1-44	GLV 1-51	GLV 1-47	GLV 2-23	GLV 3-21	GLV 2-11	GLV 3-1	GLV 2-8	GLV 6-57	GLV 1-36	GLV 3-25	GLV 4-69	GLV 7-43	GLV 7-46	GLV 2-18	GLV 3-27	GLV 9-49	GLV 3-10	GLV 3-9	GLV 8-61	GLV 3-12	GLV 3-19	GLV 3-22	GLV 4-60
>VH3-23	6	1	5	2	0	1	2	2	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-30	1	3	2	4	1	0	1	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
>VH4-39	5	2	3	1	3	2	13	0	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
>VH4-59	3	0	3	0	2	0	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
>VH4-34	2	2	0	2	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH5-51	5	3	1	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-69	1	0	6	1	1	0	1	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-7	1	3	2	2	2	1	2	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-18	2	0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-48	1	0	0	0	4	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-21	3	2	2	3	1	0	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-15	0	2	1	1	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-31	3	0	0	1	1	2	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-2	2	3	3	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-33	1	0	1	1	1	4	1	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-53	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-11	3	1	2	0	0	2	0	3	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-9	2	1	1	1	0	3	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
>VH3-74	1	0	0	0	0	3	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-4	2	3	2	0	0	1	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-46	2	1	0	2	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-61	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-8	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-24	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-3	0	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-49	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-28	0	0	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-43	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-64	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH7-81	2	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-13	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-72	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH1-58	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-66	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-30.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH7-4.1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH2-5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH6-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH4-30.4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
>VH3-20	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

도면45a

	Matsuda 등	Tomlinson 등	단백질 서열
IGHV1-2	VH 1-2	DP-75	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTGYYMHVVRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAR
IGHV1-3	VH 1-3	DP-25	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYAMHWVRQAPGQRLWMGWSNAGNGNTKYSQEFQGRVTITRDTASTAYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-8	VH 1-8	DP-15	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYDINWVRQATGQGLEWMGMNPNSGNTGYAQKFQGRVTMTNRTSISTAYMELSSLRSEDAVYYCARG
IGHV1-18	VH 1-18	DP-14	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYGISWVRQAPGQGLEWMGWSAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYMELSLRSDDTAVYYCAR
IGHV1-24	VH 1-24	DP-5	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKVSGYTLTELSMHVVRQAPGKGLEWMGFGDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYMELSSLRSEDAVYYCAT
IGHV1-45	VH 1-45	--	QMQLVQSGAEVKKTGSSVKVSKASGYTFTYRYLHWVRQAPGQALEWMGWITPFNGNTNYAQKFQDRVTITRDRSMSTAYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-46	VH 1-46	DP-7	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSYMHVVRQAPGQGLEWMGINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTTRDTSSTVYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-58	VH 1-58	DP-2	QMQLVQSGPEVKKPGTSVKVSKASGFTFTSSAMQWVRQARGQRLWIGWIVGSGNTNYAQKFQERVITITRDMSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAA
IGHV1-69*01	VH 1-69	DP-10	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-69*06, IGHV1-e	VH 1-69	DP-88	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGGTFSSYAISWVRQAPGQGLEWMGGIPIFGTANYAQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDAVYYCAR
IGHV1-c	--	--	KSGASVKVSCSFSGFTITSYGIHWVQSPGQGLEWMGWINPGNGSPSYAKKFQGRFTMTTRDMSTTTAYTDLSSLTSEDAVYYCAR
IGHV1-f	--	DP-3	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYFTFDYYMHVVRQAPGKGLEWMGLVDPEDGETIYAQKFQGRVTITADTSTDTAYMELSSLRSEDAVYYCAT
IGHV2-5	VH 2-5	DP-76	QITLKESGPTLVKPTQLTLTCTFSGFSLSTSGVGWIRQPPGKALEWLALIYWNDKRYSPSLKSLRTITIKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCAHR
IGHV2-26	VH 2-26	DP-26	QVTLKESGPVLVKTETLTCTVSGFSLSNARMGVSWIRQPPGKALEWLAHIFSNDKSYSTSLKSLRTISKDTSKSQVVLMTNMDPVDATATYYCARI
IGHV2-70	VH 2-70	DP-27	QVTLRESGPALVKPTQLTLTCTFSGFSLSTSGMVCVSWIRQPPGKALEWLALIDWDDDKYYSTSLKSLRTISKDTSKNQVVLMTNMDPVDATATYYCARI
IGHV3-7	VH 3-7	DP-54	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMVVRQAPGKGLEWVANIKQDGESEKYYVDSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDATVYYCAR
IGHV3-9	VH 3-9	DP-31	EVQLVESGGGLVQPGSLRLSCAASGFTFDYAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSGSGIYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDATVYYCAKD

도면45b

IGHV3-11	VH 3-11	DP-35	QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDDYMSWIRQAPGKGLEWVSYI SSSGSTIYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-13	VH 3-13	DP-48	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYDMHWVRQATGKGLEWVSA IGTAGDTYYPGSVKGRFTISRENAKNSLYLQMNSLRAGDTAVYYCAR
IGHV3-15	VH 3-15	DP-38	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVG RIKSKTDGGTTDYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTT
IGHV3-16	VH 3-16		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNSDMNWARDAPGKGLEWVSG VSWNGSRTHYVDSVK.RRFIISRDNSRNSLYLQKNRRRAEDMAVYYCVR
IGHV3-20	VH 3-20	DP-32	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYGMWVRQAPGKGLEWVS GINWNGSGTGYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTALYHCA
IGHV3-21	VH 3-21	DP-77	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYMNWVRQAPGKGLEWVSSI SSSSYIYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-23	VH 3-23	DP-47	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMWVRQAPGKGLEWVSAI SGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
IGHV3-30	VH 3-30	DP-49	QVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-30-3	--	DP-46	QVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVA ISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-30-5	--	--	QVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAK
IGHV3-33	VH 3-33	DP-50	QVQLVESGGGVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGMHWVRQAPGKGLEWVA VIWYDGSNKYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-35	VH 3-35	DP-59	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNSDMNWARDAPGKGLEWVSG VSWNGSRTHYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQTNLSLRAEDTAVYYCVR
IGHV3-38	VH 3-38P	--	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTVSSNEMSWIRQAPGKGLEWVSSI SGGSTYYADSRKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARY
IGHV3-43	VH 3-43	DP-33	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYTMHWVRQAPGKGLEWVSLI SWDGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRTEDTALYYCAKD
IGHV3-48	VH 3-48	DP-51	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYMNWVRQAPGKGLEWVSY ISSSSSTIYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQMNSLRDEDTAVYYCAR
IGHV3-49	VH 3-49	3-49RB	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFGDYAMSWFRQAPGKGLEWVGF IRSKAYGGTTEYAASVKGRFTISRDDSKSIAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR
IGHV3-53	VH 3-53	DP-42	EVQLVESGGGLIQQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSI YSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-64	VH 3-64	DP-61	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYAMHWVRQAPGKGLEWVSAI SSNGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDMAVYYCAR
IGHV3-66	VH 3-66	DP-86	EVQLVESGGGLIQQPGGSLRLSCAASGFTVSSNYMSWVRQAPGKGLEWVSI YSCGSTYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR
IGHV3-72	VH 3-72	DP-29	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDDHYMDWVRQAPGKGLEWVG RTRNKANSYTTTEYAASVKGRFTISRDDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCAR
IGHV3-73	VH 3-73	DA-11	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSGSAMHWVRQASGKGLEWVGR IRSKANSYATAYAAASVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTR
IGHV3-74	VH 3-74	DP-53	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYWMHWVRQAPGKGLVWVS RINSDGSSTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR

도면45c

IGHV3-d	--	--	EVQLVESRGVLPQPGSLRLSCAASGFTVSSNEMSWVRQAPGKGLEWVSSI SGGSTYYADSRKGRFTISRDNKNTLHLQMNSLRAEDTAVYYCKK
IGHV4-4	VH 4-4	DP-70	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPAGKGLEWIGRIY TSGSTNYPNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-28	VH 4-28	DP-68	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSNWWGWIRQPPGKGLEWIGYI YYSGSTYYNPSLKSRVTMSVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-30-1	--	--	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIG YIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-30-2	--	DP-64	QLQLQESGSGLVKPSQTLSTCAVSGGSISSGGYWSWIRQPPGKGLEWIG YIYHSGSTYYNPSLKSRVTISVDRSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-30-4	--	DP-78	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGKGLEWIG YIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-31	VH 4-31	DP-65	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQHPGKGLEWIG YIYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-34	VH 4-34	DP-63	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEI NHSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCARG
IGHV4-39	VH 4-39	DP-79	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSSSYYWGIRQPPGKGLEWIGS IYYSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-59	VH 4-59	DP-71	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSYYWSWIRQPPGKGLEWIGYIY YSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-61	VH 4-61	DP-66	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISSGGYYWSWIRQPPGKGLEWIG YIYYSGSTNYPNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV4-b	--	DP-67	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVSGYSISSGGYYWGIRQPPGKGLEWIGSI YHSGSTYYNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADTAVYYCAR
IGHV5-51	VH 5-51	DP-73	EVQLVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVRQMPGKGLEWMGII YPGDSDFRYSPFQGGVTSADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR
IGHV5-a	--	--	EVQLVQSGAEVKKPGESLRISCKGSGYSFTSYWISWVRQMPGKGLEWMGRI DPSDSYTNYSFQGHVTISADKSISTAYLQWSSLKASDTAMYYCAR
IGHV6-1	VH 6-1	DP-74	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAISGDSVSSNSAANNWIRQSPSRGLEWLG RTYYRSKWYNDYAVSVKSRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCAR
IGHV7-4-1	--	DP-21	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCASGYTFTSYAMNWWVRQAPGQGLEWMG WINTNTGNPTYAQGFTGRFVFLDTSVSTAYLQICSLKAEDTAVYYCAR
IGHV7-81	VH 7-81	--	QVQLVQSGHEVKQPGASVKVSCASGYFTTYGMNWWVRQAPGQGLEWMG WFNTYTGNTYAQGFTGRFVFSMDTSASTAYLQISSLKAEDMAMYYCAR

51개의 기능성 단편
5개의 오픈리딩프레임

도면46a

	Zachau	단백질 서열
IGKV1-5	L12	DIQMTQSPSTLSASVGDRVITITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYDASS LESGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPDFAFYCYCQYNSYS
IGKV1-6	L11	AIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCLQDYNYP
IGKV1-8	L9	AIRMTQSPSSFSASTGDRVITITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTISCLQSEDFATYYCQYYSY
IGKV1-9	L8	DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCRASQGISSYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQLNSYP
IGKV1-12	L5	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQANSFP
IGKV1-13	L4/18a	AIQLTQSPSSLASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSL ESGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQFNSYP
IGKV1-16	L1	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCRASQGISNYLAWFQQKPGKAPKSLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQYNSYP
IGKV1-17	A30	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCRASQGIRNDLGWYQQKPGKAPKRLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCLQHNSYP
IGKV1-27	A20	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCRASQGISNYLAWYQQKPGKVPKLLIYAASL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDVATYYCQYNSAP
IGKV1-33	O18	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDATYYCQYDNL
IGKV1-37	O14	DIQLTQSPSSLASVGDRVITITCRVSGGISSYLNWYRQKPGKVPKLLIYASNL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDVATYYGQRTYNAPP
IGKV1-39	O12	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQYSYTP
IGKV1D-08	L24	VIWMTQSPSLLSASTGDRVITISCRMSQGISSYLAWYQQKPGKAPPELLIYAASL LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTISCLQSEDFATYYCQYYSF
IGKV1D-12	L19	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQQANSFP
IGKV1D-13	L18	AIQLTQSPSSLASVGDRVITITCRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSL ESGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQFNNYP
IGKV1D-16	L15	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCQYNSYP
IGKV1D-17	L14	NIQMTQSPSAMSASVGDRVITITCRARQGISNYLAWFQQKPGKVPKHLIYAASS LQSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDFATYYCLQHNSYP
IGKV1D-33	O8	DIQMTQSPSSLASVGDRVITITCRASQDISNYLNWYQQKPGKAPKLLIYDASN LETGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDATYYCQYDNL
IGKV1D-37	O4	DIQLTQSPSSLASVGDRVITITCRVSGGISSYLNWYRQKPGKVPKLLIYASNL QSGVPSRFRSGSGSGTDFLTITISLQPEDVATYYGQRTYNAPP

도면46b

IGKV1D-39	O2	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQSISSYLNWYQQKPKGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQSYSTP
IGKV1D-42	L22	DIQMIQSPSFLSASVGDRTIICWASEGISSNLAWYLQKPGKSPKLFYDAKDLHPGVSSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAAYYCKQDFSYP
IGKV1D-43	L23	AIRMTQSPFSLASVGDRTITCRASQGISSYLAWYQQKPAKAPKLFYIYASSLQSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISLQPEDFAVYYCQYYSTP
IGKV2-24	A23	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISCRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPRLLIYKISNRFSGVPDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQATQFP
IGKV2-28	A19	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRASGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
IGKV2-29	A18b	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTYLYWYLQKPGQSPQLLIYEVSSRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGIHLP
IGKV2-30	A17	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVSDGNTYLNWFQQRPGQSPRLLIYKVSNRDVGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP
IGKV2-40	O11	DIVMTQTPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLDSDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLRYASGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFP
IGKV2D-24	A7	DIVMTQTPLSSPVTLGQPASISFRSSQSLVHSDGNTYLSWLQQRPGQPRLLIYKVSNRFSGVDRFSGSGAGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCTQATQFP
IGKV2D-26	A5	EIVMTQTPLSLSPITPGEQASISCRSSQSLHSDGYTYLYWFLQKARPVSTLLIYEVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDFGVYYCMQDAQDPP
IGKV2D-28	A3	DIVMTQSPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLHNSGYNLDWYLQKPGQSPQLLIYLGNSRASGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTP
IGKV2D-29	A2	DIVMTQTPLSLSVTPGQPASISCKSSQSLHSDGKTYLYWYLQKPGQSPQLLIYEVSNRFSGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQSIQLP
IGKV2D-30	A1	DVVMQTQSPSLPVTLGQPASISCRSSQSLVSDGNTYLNWFQQRPGQSPRLLIYKVSNRDVGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQGTHWP
IGKV2D-40	O1	DIVMTQTPLSLPVTGPGEASISCRSSQSLDSDGNTYLDWYLQKPGQSPQLLIYTLRYASGVDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQRIEFP
IGKV3-7	L10	EIVMTQSPPTLSLSPGERVTLSRASQSVSSSYLTWYQQKPGQAPRLLIYGAS
IGKV3-11	L6	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWP
IGKV3-15	L2	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS

도면46c

IGKV3-20	A27	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS
IGKV3D-07	L25	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVSSSYLSWYQQKPGQAPRLLIYGAS
IGKV3D-11	L20	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQDYNLP
IGKV3D-15	L16	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGAS
IGKV3D-20	A11	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSRASQSVSSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSP
IGKV4-1	B3	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVDRFSGSGSGTDFTLTISLQAEADVAVYYCQQYYSTP
IGKV5-2	B2	ETTLTQSPAFMSATPGDKVNISCKASQDIDDMNWWYQQKGEAAFIQEAATTLVPGIPRFSGSYGTDFTLTINNIESEDAAYYFCLQHDNFP
IGKV6-21	A26	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQSSSLP
IGKV6D-21	A10	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSSSLHWYQQKPDQSPKLLIKYASQSFSGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEAEDAATYYCHQSSSLP
IGKV6D-41	A14	DVVMQTQSPAFLSVTPGKVTITCQASEGIGNYLYWYQQKPDQAPKLLIKYASQSISGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQAEEDAATYYCQQGNKHP

38개의 기능성 단편
8개의 오픈리딩프레임

도면47a

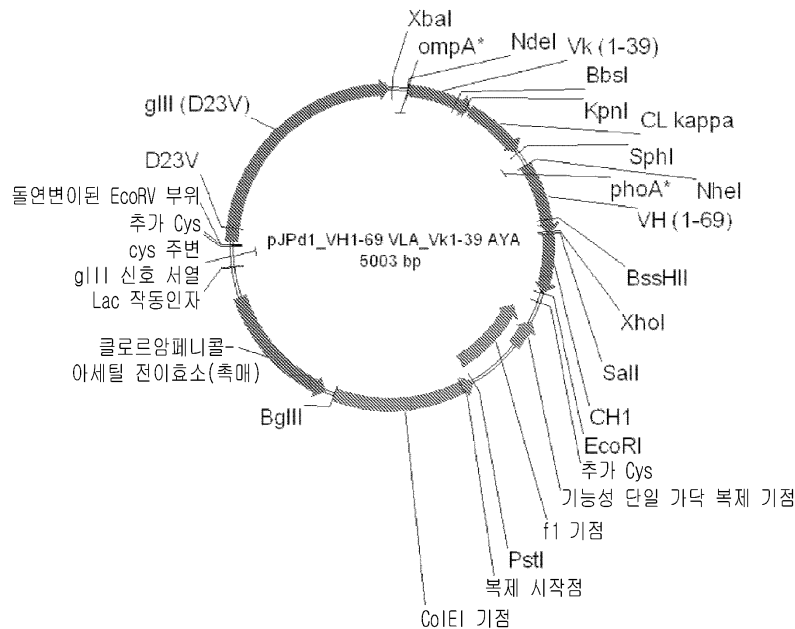
	Kawasaki 등	Frippiat 등	단백질 서열
IGLV1-36	VL 1-11	1a	QSVLTQPPSVSEAPRQRTVISCSSSSNIGNNAVNWYQQLPGKAPKLLIYYDD LLPSGVSDRFSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGP
IGLV1-40	VL 1-13	1e	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYG NSNRPSGVPDFRSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGS
IGLV1-44	VL 1-16	1c	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNTNVWYQQLPGTAPKLLIYSNN QRPSGVPDFRSGSKSGTSASLAISGLQSEDEADYYCAAWDDSLNGP
IGLV1-47	VL 1-17	1g	QSVLTQPPSASGTPGQRTVISCSSSSNIGSNYYWYQQLPGTAPKLLIYSNN QRPSGVPDFRSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDSLSGP
IGLV1-50	VL 1-18	1f	QSVLTQPPSVSGAPGQRTVISCSSSSNIGAGYVHWYQQLPGTAPKLLIYG NSNRPSGVPDFRSGSKSGTSASLAITGLQSEDEADYYCKAWDNLNA
IGLV1-51	VL 1-19	1b	QSVLTQPPSVSAAPGQKVTISCSSSSNIGNNYVSWYQQLPGTAPKLLIYDNN KRPSGIPDRFSGSKSGTSATLGITGLQTGDEADYYCGTWDSLSAG
IGLV2-08	VL 1-2	2c	QSALTQPPSASGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLMY EVSKRPSGVPDFRSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYAGSNNF
IGLV2-11	VL 1-3	2e	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLMY DVSKRPSGVPDFRSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCCSYAGSYTF
IGLV2-14	VL 1-4	2a2	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGGYNYVSWYQHPGKAPKLMY VSNRPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYAGSNNF
IGLV2-18	VL 1-5	2d	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNRVSWYQHPGKAPKLMY VSNRPSGVPDFRSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYAGSNNF
IGLV2-23	VL 1-7	2b2	QSALTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTSSDVGSYNLVSWYQHPGKAPKLMY GSKRPSGVSNRFGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQSYAGSNNF
IGLV2-33	VL 1-9	2f	QSALTQPPSVSGAPGQSVTISCTGTSSDVGDYCHVFWYQKRLSTTSRLIYN VNTRPSGISDLFSGSKSGNMASLTISGLQAEDEADYYCQSYAGSNNF
IGLV3-1	VL 2-1	3r	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-9	VL 2-6	3j	SYELTQPLSVSVALGQTARITCGGNNIGSKNVHWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-10	VL 2-7	3p	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-12	VL 2-8	3i	SYELTQPPSVSVATAQMARITCGGNNIGSKAVHWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-16	VL 2-11	3a	SYELTQPPSVSVSLGQMARITCSGEALPKKYAYWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-19	VL 2-13	3l	SSELTQPPSVSVSLGQMARITCSGEALPKKYAYWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-21	VL 2-14	3h	SYELTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKNVHWYQKPGQAPVLVIYDSE DRPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-22	VL 2-15	3e	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLENYADWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-25	VL 2-17	3m	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDALPKKYAYWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA
IGLV3-27	VL 2-19	--	SYELTQPPSVSVSPGQTARITCSGDVLENYADWYQKPGQAPVLVIYDSE RPSGIPERFSGSSSGTATLTISGAQVEDEADYYCQVWDSSTA

도면47b

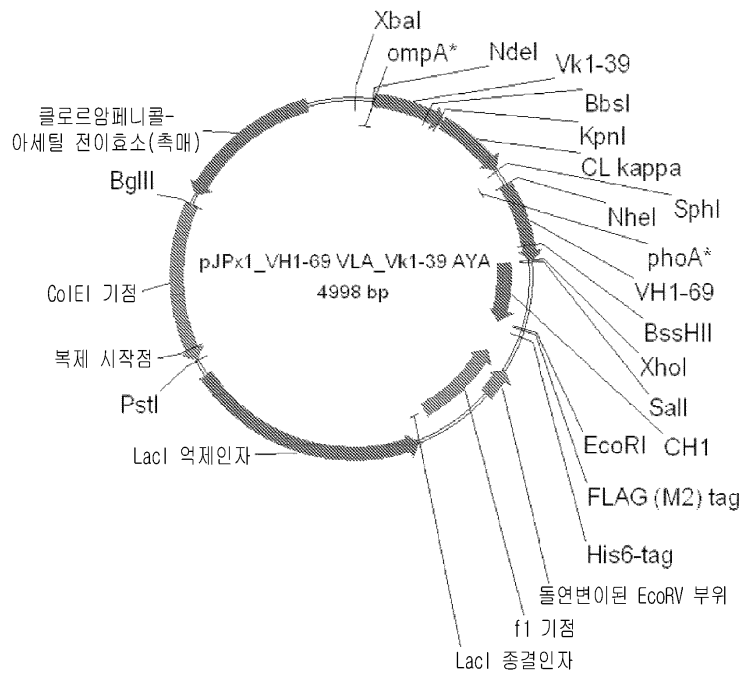
IGLV3-32	VL 2-23P	3i1	SSGPTQVPVAVSVALGQMARITCQGDSEMEGSYEHWYQQKPGQAPVLVIYDSS DRPSRIPERFSGSKSGNTTTLITGAQAEDEADYYQLIDNHA
IGLV4-3	VL 5-1	4c	LPVLTQPPSASALLGASIKLTCTLSSEHSTYTIWYQQRPGRSPQYIMKVKS GSHSKGDGIPDRFMGSSSGADRYLTFSNLQSDDEAEYHCGESHTIDGOVG
IGLV4-60	VL 5-4	4a	QPVLQSSSASASLGSSVKLTCTLSSGHSSYIAWHQQQKPGKAPRYLMKLEG SGSYNKGSGVPDRFSGSSSGADRYLTISNLQFEDEADYYCETWDSNT
IGLV4-69	VL 5-6	4b	QLVLTQSPSASASLGASVKLTCTLSSGHSSYIAWHQQQKPGKAPRYLMKLN DGS-SKGDGIPDRFSGSSSGAERYLTISNLQSEDEADYYCQTWGTG
IGLV5-37	VL 4-1	5e	QPVLQPPSSSASPGEARLTCTLPDINVGSYNIWYQQKPGSPRYLLYYY SDSDKQGQSGVPSRFSGSKDASANTGILLISGLQSEDEADYYCMWPSNAS
IGLV5-39	--	5a	QPVLQPTSLASPGASARFTCTLRSGINVGTYRIWYQQKPGSLPRYLLRYK SDSDKQGQSGVPSRFSGSKDASTNAGLLISGLQSEDEADYYCAIWSSTS
IGLV5-45	VL 4-2	5c	QAVLTQPSLSASPGASASLTCTLRSGINVGTYRIWYQQKPGSPQYLLRYK SDSDKQGQSGVPSRFSGSKDASANAGILLISGLQSEDEADYYCMWHSSAS
IGLV5-48	VL 4-3	5d	QPVLQPTSLASPGASARLTCTLRSGINLGSYRIFWYQQKPESPRYLLSY SDSKKHQSGVPSRFSGSKDASSNAGILVISGLQSEDEADYYCMWHSSAS
IGLV5-52	VL 4-4	5b	QPVLQPPSSSASSGASVRLTCLSSGFSVGFWRWYQQKPGNPPRYLLY YHSDSNKGQSGVPSRFSGSNDASANAGILRISGLQPEDEADYYCGTWHSN
IGLV6-57	VL 1-22	6a	NFMLTQPHSVSESPGKVTITCTRSSGSIASNYQWYQQRPGSSPTTVIYED NQRPSSGVDPDRFSGSIDSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSN
IGLV7-43	VL 3-2	7a	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCASTGAVTSGYYPNWFQKPGQAPRALIYS TSNKHSWTPARFSGSLLGGKAALTLGSGVQPEDEAEYCLLYYGAQ
IGLV7-46	VL 3-3	7b	QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSGSTGAVTSGHYYPWFQKPGQAPRTLIYD TSNKHSWTPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYCLLYSGAR
IGLV8-61	VL 3-4	8a	QTVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCLSSGSSVSTSYPPSWYQQTGQAPRTLIYS TNTRSSGVDPDRFSGSILGNKAALTITGAQADDESYYCVLYMGSGIS
IGLV9-49	VL 5-2	9a	QPVLQPPSASASLGASVLTCTLSSGSYNYKVDWYQQRPGKGRFVVRVG TGGIVGSKGDGIPDRFVLSGSLNRYLTIKNIQEEDES DYHCGADHSGS NFV
IGLV10-54	VL 1-20	10a	QAGLTQPPSVSKGLRQTATLTCTGNSNIVGNQGAAWLQQHQQHPPKLLSYR NNNRPSGISERFSASRSGNTASLTITGLQPEDEADYYCSALDSSLSA
IGLV11-55	VL 4-6	--	RPVLTQPPSLASPGATARLPCTLSSDLSVGGKNMFYQQKPGSSPRILFLY HYSDSDKQLGPGVPSRVSGSKETSNTAFLISGLQPEDEADYYCQVYESSA

33개의 기능성 단편
5개의 오픈리딩프레임

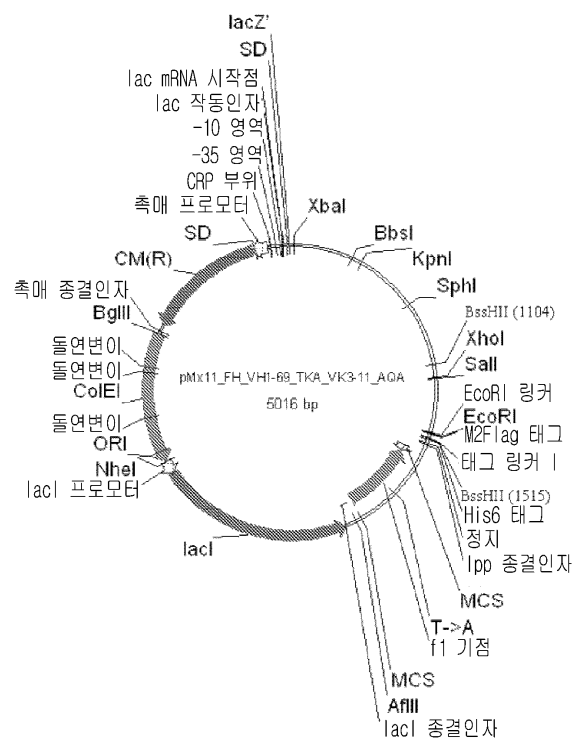
도면48



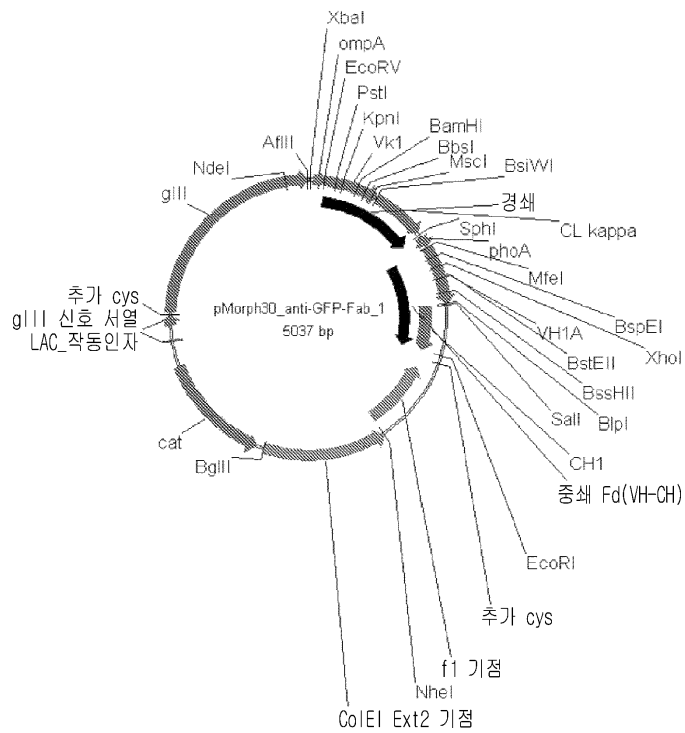
도면49



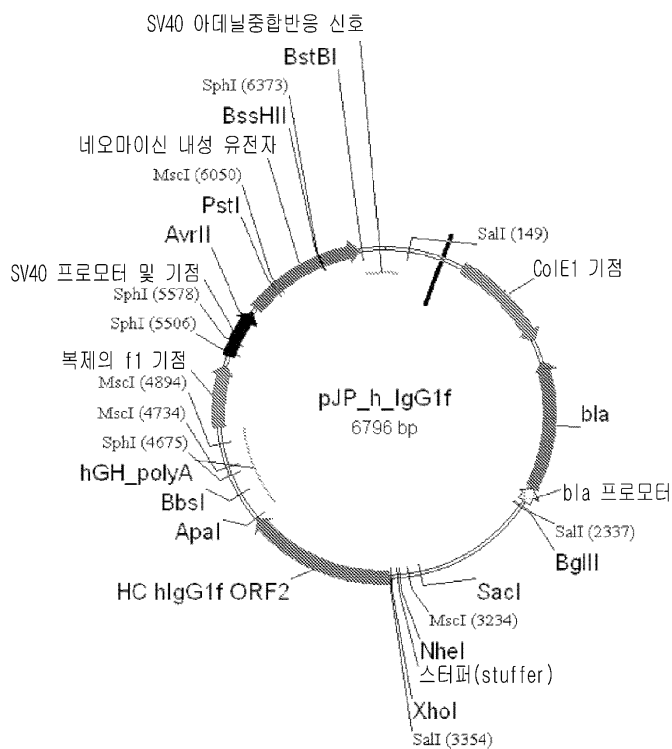
도면50



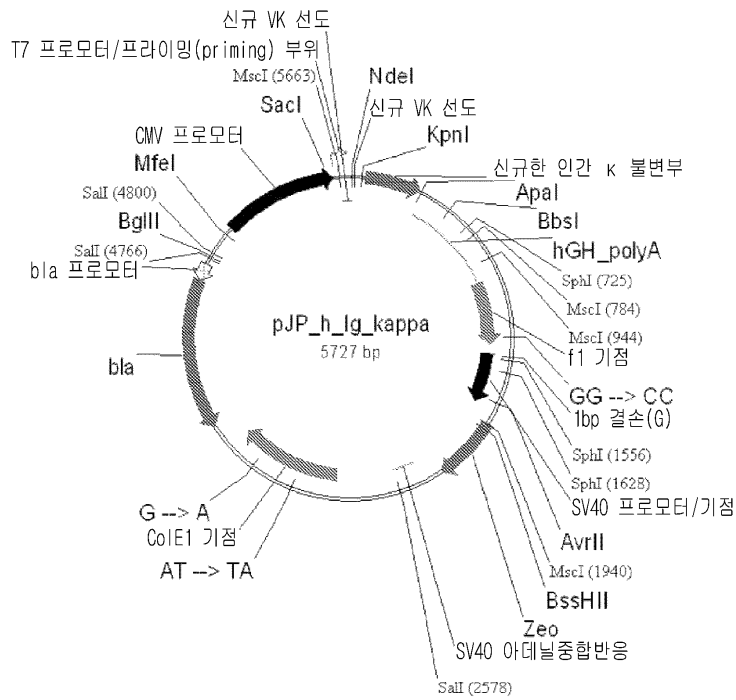
도면51



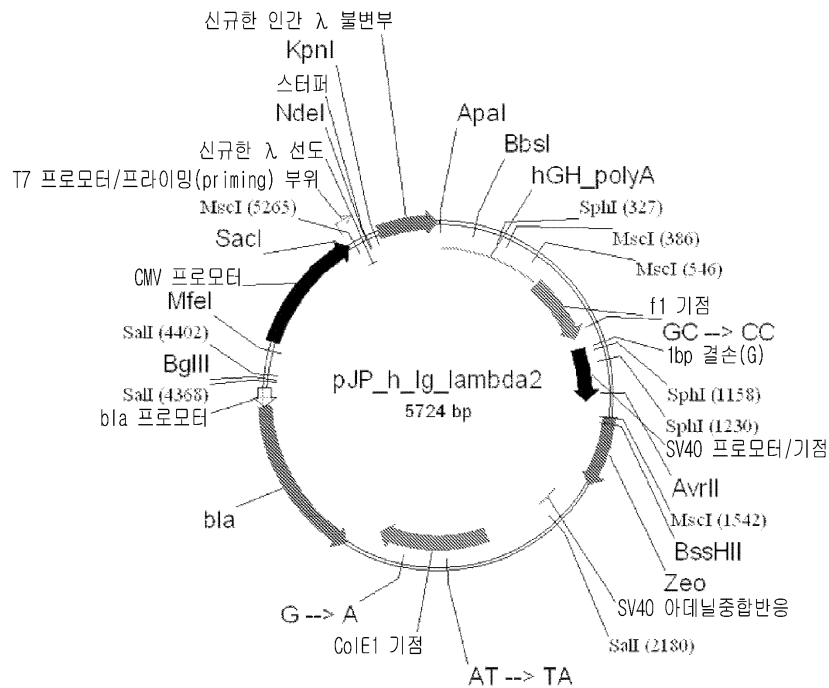
도면52



도면53



도면54



도면55

ELISA에서 상대적인 Fab 표시 (pM)		51																				
		hVK_1_05	hVK_1_06	hVK_1_09	hVK_1_12	hVK_1_16	hVK_1_17	hVK_1_27	hVK_1_39	hVK_2_30	hVK_3_11	hVK_3_15	hVK_3_20	hVL_1-40	hVL_1-47	hVL_1-51	hVL_2-11	hVL_2-14	hVL_2-23	hVL_3-1	hVL_3-21	
1	hVH 1_2	A	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.6	2.2	2.4	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.4	0.0
2	hVH 1_18	B	2.0	0.6		1.6	2.0		1.2	3.7	1.9						1.9	2.5	4.3	4.4	3.4	
3	hVH 1_46	C			3.0		1.3	1.3		2.5		3.0				5.7	1.6		2.7	4.3	5.2	
4	hVH 1_69-01	D	2.1	2.9		2.1	1.2	0.9	0.2	3.5		1.6		8.2	6.3		0.8		1.8	3.4	4.6	
5	hVH 3_07	E			6.7	10.6	7.0	10.5	14.5	27.3	13.0	14.5		12.4	8.1		8.4	6.4	8.9	6.9	5.0	
6	hVH 3_11	F	5.5	4.3	6.7	8.2	10.3	6.0	29.0		0.0	4.6		0.0	0.0		10.5	9.7	10.1	9.4	9.2	
7	hVH 3_15	G	8.1	11.7	10.0	11.5	14.5	6.4	7.8	14.2	19.4	12.1	8.9	16.7	13.0	11.0	10.5	9.7	10.1	9.4	9.2	
8	hVH 3_21	H	10.0	16.1		11.3		5.0	8.7	11.6			13.3		0.0	10.2	13.6	9.1	6.5	8.8	11.8	
9	hVH 3_23	I				5.4		9.1	13.1										7.4	4.6	7.4	
10	hVH 3_30	J										12.3							9.5	8.8	16.6	
11	hVH 3_33	K										12.1							17.1			
12	hVH 3_48	L					8.7	8.9				9.6			10.3				9.3	6.0		
13	hVH 3_53	M	11.1			8.3	14.8	10.7	2.9	6.9		1.3				6.4	7.2		6.3	5.1		
14	hVH 3_73	N	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.1	3.6	0.2		0.5	0.2		0.0	0.3	0.2		0.8	0.0	0.4	
15	hVH 4_04-03	O	6.4	9.5	8.7	8.4	8.0		5.0	8.7		10.0		8.8	3.2	7.1		4.7		7.0	1.8	
16	hVH 4_04-03	P			4.5		3.2			0.3				0.0	8.3				2.7	2.2	5.2	
17	hVH 4_31	Q												0.0	0.0			0.0		1.4		
18	hVH 4_39	R	0.0	1.6				0.7		2.1				0.6				2.0	0.9	3.6		
19	hVH 5_51	S			2.6	1.8	1.3		0.4	3.7	0.9	1.9					0.0	2.1	3.0	3.8		
20	hVH 6_1	T	3.3	5.9	1.5								7.2				1.0		2.1		0.4	

들은 더 나은 Fab 표시를 도출하며, 더 나은 Fab 표시를 나타낸다.

값들은 대조군과 비교한 Fab 표시를 도시하며: 더 큰 숫자는 더 높은 표시 수준을 나타낸다

도면56

ELISA 및 BE에서 상대적인 Fab 발현 (a.u.)																					
1	hVH 1.2	1	hVK_1_05	2	hVK_1_06	3	hVK_1_09	4	hVK_1_12	5	hVK_1_16	6	hVK_1_17	7	hVK_1_27	8	hVK_1_39	9	hVK_2_30	10	hVK_3_11
2	hVH 1.18	2	hVK_1_05	3	hVK_1_06	4	hVK_1_09	5	hVK_1_12	6	hVK_1_16	7	hVK_1_17	8	hVK_1_27	9	hVK_1_39	10	hVK_2_30	11	hVK_3_15
3	hVH 1.46	3	hVK_1_05	4	hVK_1_06	5	hVK_1_09	6	hVK_1_12	7	hVK_1_16	8	hVK_1_17	9	hVK_1_27	10	hVK_1_39	11	hVK_2_30	12	hVK_3_20
4	hVH 1.69/01	4	hVK_1_05	5	hVK_1_06	6	hVK_1_09	7	hVK_1_12	8	hVK_1_16	9	hVK_1_17	10	hVK_1_27	11	hVK_1_39	12	hVK_2_30	13	hVK_3_11
5	hVH 3.07	5	hVK_1_05	6	hVK_1_06	7	hVK_1_09	8	hVK_1_12	9	hVK_1_16	10	hVK_1_17	11	hVK_1_27	12	hVK_1_39	13	hVK_2_30	14	hVK_3_15
6	hVH 3.11	6	hVK_1_05	7	hVK_1_06	8	hVK_1_09	9	hVK_1_12	10	hVK_1_16	11	hVK_1_17	12	hVK_1_27	13	hVK_1_39	14	hVK_2_30	15	hVK_3_20
7	hVH 3.15	7	hVK_1_05	8	hVK_1_06	9	hVK_1_09	10	hVK_1_12	11	hVK_1_16	12	hVK_1_17	13	hVK_1_27	14	hVK_1_39	15	hVK_2_30	16	hVK_3_11
8	hVH 3.21	8	hVK_1_05	9	hVK_1_06	10	hVK_1_09	11	hVK_1_12	12	hVK_1_16	13	hVK_1_17	14	hVK_1_27	15	hVK_1_39	16	hVK_2_30	17	hVK_3_15
9	hVH 3.23	9	hVK_1_05	10	hVK_1_06	11	hVK_1_09	12	hVK_1_12	13	hVK_1_16	14	hVK_1_17	15	hVK_1_27	16	hVK_1_39	17	hVK_2_30	18	hVK_3_20
10	hVH 3.30	10	hVK_1_05	11	hVK_1_06	12	hVK_1_09	13	hVK_1_12	14	hVK_1_16	15	hVK_1_17	16	hVK_1_27	17	hVK_1_39	18	hVK_2_30	19	hVK_3_11
11	hVH 3.38	11	hVK_1_05	12	hVK_1_06	13	hVK_1_09	14	hVK_1_12	15	hVK_1_16	16	hVK_1_17	17	hVK_1_27	18	hVK_1_39	19	hVK_2_30	20	hVK_3_15
12	hVH 3.48	12	hVK_1_05	13	hVK_1_06	14	hVK_1_09	15	hVK_1_12	16	hVK_1_16	17	hVK_1_17	18	hVK_1_27	19	hVK_1_39	20	hVK_2_30		
13	hVH 3.53	13	hVK_1_05	14	hVK_1_06	15	hVK_1_09	16	hVK_1_12	17	hVK_1_16	18	hVK_1_17	19	hVK_1_27	20	hVK_1_39				
14	hVH 3.73	14	hVK_1_05	15	hVK_1_06	16	hVK_1_09	17	hVK_1_12	18	hVK_1_16	19	hVK_1_17	20	hVK_1_27						
15	hVH 3.74	15	hVK_1_05	16	hVK_1_06	17	hVK_1_09	18	hVK_1_12	19	hVK_1_16	20	hVK_1_17								
16	hVH 4.04/03	16	hVK_1_05	17	hVK_1_06	18	hVK_1_09	19	hVK_1_12												
17	hVH 4.31	17	hVK_1_05	18	hVK_1_06	19	hVK_1_09														
18	hVH 4.39	18	hVK_1_05	19	hVK_1_06																
19	hVH 5.51	19	hVK_1_05																		
20	hVH 6.1	20	hVK_1_05																		

값들은 대조군과 비교하여 Fab 발현 수준을 도시하며, 더 큰 숫자는 더 높은 발현 수준을 나타낸다.

도면57

ELISA 및 RFL에서 상대적인 Fab 온도 안정성 (aPx1)		hVK_1_05		hVK_1_06		hVK_1_09		hVK_1_12		hVK_1_16		hVK_1_17		hVK_1_27		hVK_1_39		hVK_2_30		hVK_3_11		hVK_3_15		hVK_3_20		hVL_1-40		hVL_1-47		hVL_1-51		hVL_2-11		hVL_2-14		hVL_2-23		hVL_3-1		hVL_3-21			
1	hVH 1 2	A	bq	60	60	bq	60	bq	60	bq	60	bq	60	bq	60	bq	60	bq	60	bq	60	bq	60	bq	60	bq	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60
2	hVH 1 18	B	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
3	hVH 1 46	C	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
4	hVH 1 69-01	D	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
5	hVH 3 07	E	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
6	hVH 3 11	F	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
7	hVH 3 15	G	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
8	hVH 3 21	H	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
9	hVH 3 23	I	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
10	hVH 3 30	J	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
11	hVH 3 33	K	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
12	hVH 3 48	L	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
13	hVH 3 53	M	4	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
14	hVH 3 73	N	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
15	hVH 3 74	O	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
16	hVH 4 04-03	P	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
17	hVH 4 31	Q	bq	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
18	hVH 4 39	R	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
19	hVH 5 51	S	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	
20	hVH 6 1	T	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	60	

숫자 60 및 70은 60°C 또는 70°C의 조건에서 45분 동안 시험 장치에서 안정한 hVH 샘플을 나타낸다. 숫자 4는 온도-불안정 샘플을 나타낸다. 비음(60)은 낮은 발현 수준을 나타낸다.

도면58

EIS 및 EES에 상대적인 하소 물질의 안정성 (이하)					
1	NH-1-2				hVK_1_05
2	NH-1-18				hVK_1_06
3	NH-1-46				hVK_1_09
4	NH-1-69/71				hVK_1_12
5	NH-3-07				hVK_1_16
6	NH-3-11				hVK_1_17
7	NH-3-15				hVK_1_27
8	NH-3-21				hVK_1_39
9	NH-3-23				hVK_2_30
10	NH-3-30				hVK_3_11
11	NH-3-33				hVK_3_15
12	NH-3-48				hVK_3_20
13	NH-3-53				hVL_1-40
14	NH-3-73				hVL_1-47
15	NH-3-74				hVL_1-51
16	NH-4-04/03				hVL_2-11
17	NH-4-31				hVL_2-14
18	NH-4-39				hVL_2-23
19	NH-5-51				hVL_3-1
20	NH-6-1				hVL_3-21

도면59

ELISA 및 BEI에서 상대적인 fab 마우스 항체의 안정성 (pRx1)			
1	hvh 1_2	A	hVK_1_05
2	hvh 1_18	B	hVK_1_06
3	hvh 1_46	C	hVK_1_09
4	hvh 1_69/01	D	hVK_1_12
5	hvh 3_07	E	hVK_1_16
6	hvh 3_11	F	hVK_1_17
7	hvh 3_15	G	hVK_1_27
8	hvh 3_21	H	hVK_1_39
9	hvh 3_23	I	hVK_2_30
10	hvh 3_30	J	hVK_3_11
11	hvh 3_33	K	hVK_3_15
12	hvh 3_48	L	hVK_3_20
13	hvh 3_53	M	hVL_1-40
14	hvh 3_73	N	hVL_1-47
15	hvh 3_74	O	hVL_1-51
16	hvh 4_04/03	P	hVL_2-11
17	hvh 4_31	Q	hVL_2-14
18	hvh 4_39	R	hVL_2-23
19	hvh 5_51	S	hVL_3-1
20	hvh 6_1	T	hVL_3-21

S는 시험 조건에서 안정성을 나타내고, T는 시험 조건에서 불안정성을 나타내며, h는 비특이이다.

도면60

MPO3080에 대하여 EUS에서 상대적인 [039] 발현																					
1	hVH_1_2	hVK_1_05	hVK_1_06	hVK_1_09	hVK_1_12	hVK_1_16	hVK_1_17	hVK_1_27	hVK_1_39	hVK_2_30	hVK_3_11	hVK_3_15	hVK_3_20	hVL_1-40	hVL_1-47	hVL_1-51	hVL_2-11	hVL_2-14	hVL_2-23	hVL_3-1	hVL_3-21
2	hVH_1_18	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.4	0.3	0.1	0.0	0.0	0.0
3	hVH_1_46	0.0	0.4	0.2	0.1	0.1	0.2	0.3	0.5	0.1	0.0	0.0	0.3	0.0	0.5	0.4	0.5	0.5	0.4	0.2	0.2
4	hVH_1_69*01	0.0	0.9	0.9	0.4	0.2	0.3	0.5	0.6	0.5	0.0	0.1	0.4	0.1	0.9	0.6	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3
5	hVH_3_07	0.0	0.9	0.5	0.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4	0.0	0.0	0.5	0.0	0.2	0.2	0.3	0.2	0.3	0.2	0.1
6	hVH_3_11	0.0	0.9	1.3	1.5	0.9	1.5	0.9	1.8	1.2	0.3	0.4	1.8	0.4	0.3	0.8	0.9	1.2	0.8	0.7	1.2
7	hVH_3_15	0.0	0.5	1.4	0.9	0.9	1.2	0.9	1.7	1.8	1.1	0.6	1.6	0.2	0.3	1.3	1.9	1.1	0.4	0.4	1.6
8	hVH_3_21	0.0	0.4	0.8	0.9	0.7	1.5	0.8	1.7	1.8	0.6	0.8	1.9	0.5	0.1	0.2	0.9	0.8	0.9	0.4	1.0
9	hVH_3_23	0.0	0.8	0.9	0.4	0.5	0.0	0.0	0.5	0.8	0.1	0.2	0.3	0.5	0.5	0.3	0.9	0.7	1.2	0.9	0.4
10	hVH_3_30	0.0	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1	0.2	0.3	0.0	0.0	0.4	0.2	0.1	0.1	0.2	0.1	0.3	0.3	0.1
11	hVH_3_33	0.0	0.6	0.2	0.3	0.3	0.4	0.5	0.5	1.0	0.1	0.9	0.4	0.8	0.3	0.4	0.4	1.0	0.5	0.5	0.2
12	hVH_3_48	0.0	0.6	0.7	0.2	0.2	0.3	0.5	0.5	0.9	0.5	0.3	0.7	0.3	0.4	0.6	0.4	0.6	0.5	0.5	0.7
13	hVH_3_53	0.0	0.8	0.7	0.4	0.2	0.3	0.5	0.2	0.2	0.0	0.3	0.5	0.3	1.1	1.2	0.4	0.3	0.8	0.6	0.5
14	hVH_3_73	0.0	1.1	1.0	0.9	0.5	1.1	1.0	0.9	0.8	0.3	0.2	0.1	1.1	1.2	0.8	0.7	0.8	0.4	0.1	1.0
15	hVH_3_74	0.0	0.6	1.0	0.5	0.0	0.8	0.2	1.1	0.3	0.7	0.1	1.0	0.6	1.3	0.6	1.2	0.8	0.6	1.0	0.3
16	hVH_4_04*03	0.0	0.6	1.1	0.6	0.8	0.4	0.8	0.9	1.0	0.2	0.3	1.1	1.1	0.9	0.4	0.6	0.7	0.4	0.7	1.3
17	hVH_4_31	0.0	0.0	0.2	0.6	0.4	0.0	0.2	0.0	0.5	0.0	0.0	0.1	0.4	0.8	0.1	0.3	0.2	0.5	0.3	1.3
18	hVH_4_39	0.0	0.3	0.8	0.7	0.9	0.5	1.0	0.4	1.2	0.2	0.2	1.0	1.2	1.1	0.3	0.5	0.3	0.5	0.4	0.9
19	hVH_5_51	0.0	0.4	0.9	0.5	0.8	0.5	0.6	1.0	1.2	0.7	0.6	1.2	1.1	1.3	0.8	0.5	0.3	0.8	0.7	1.3
20	hVH_6_1	0.0	1.2	1.3	1.1	1.4	1.3	1.2	1.1	0.3	0.9	1.3	1.3	1.4	0.2	0.5	0.2	0.4	0.4	1.4	0.5
그림은 대조군과 비교한 [06] 발현 수준을 도시하며, 다른 숫자는 다른 표본 발현 수준을 나타낸다.																					

값들은 대조군과 비교한 [03] 발현 수준을 도시함. 단, 숫자는 대조군 발현 수준을 나타낸다.

도면61

37℃에서 14일간 배양한 후에, EISA에서 상대적인 log 2 수준의 안정성			
1	NVH_1_2	4	
2	NVH_1_18	5	bg
3	NVH_1_46	6	s
4	NVH_1_69*01	7	bg
5	NVH_3_07	8	bg
6	NVH_3_11	9	bg
7	NVH_3_15	10	bg
8	NVH_3_21	11	bg
9	NVH_3_23	12	bg
10	NVH_3_30	13	bg
11	NVH_3_33	14	bg
12	NVH_3_48	15	bg
13	NVH_3_53	16	bg
14	NVH_3_73	17	bg
15	NVH_3_74	18	bg
16	NVH_4_04*03	19	bg
17	NVH_4_31	20	bg
18	NVH_4_39		
19	NVH_5_51		
20	NVH_6_1		
*는 시험 조건에서 안정성을 나타내고, *는 시험 조건에서 불안정성을 나타낸다. *는 배양이다.			
			hVK_1_05
			hVK_1_06
			hVK_1_09
			hVK_1_12
			hVK_1_16
			hVK_1_17
			hVK_1_27
			hVK_1_39
			hVK_2_30
			hVK_3_11
			hVK_3_15
			hVK_3_20
			hVL_1_40
			hVL_1_47
			hVL_1_51
			hVL_2_11
			hVL_2_14
			hVL_2_23
			hVL_3_1
			hVL_3_21

서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> MORPHOSYS AG

<120> A COLLECTION AND METHODS FOR ITS USE

<130> MS091PCT

<140> PCT/EP2010/057507

<141> 2010-05-29

<150> 61/299,401

<151> 2010-01-29

<150> 61/182,350

<151> 2009-05-29

<160> 202
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 1
 Trp Gly Gly Asp Gly Phe Tyr Ala Met Asp Tyr

1 5 10
 <210> 2
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 2
 Gln Gln His Tyr Thr Thr Pro Pro Thr

1 5
 <210> 3
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 peptide"
 <400> 3
 Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu Ser Gly Val Val

1 5 10
 <210> 4

<211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 4
 Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 1 5 10 15
 <210> 5
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 5
 Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 1 5 10
 <210> 6
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"
 <400> 6
 Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
 1 5 10
 <210> 7
 <211> 63
 <212> DNA
 <213> Escherichia coli
 <220><221> CDS

<222> (1)..(63)

<400> 7

atg aaa cag agc acc att gcc ctg gcc ctg ctg ccg ctg ctg ttt acc 48

Met Lys Gln Ser Thr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu Phe Thr

1 5 10 15

cca gtg acc aaa gcc 63

Pro Val Thr Lys Ala

20

<210> 8

<211> 21

<212> PRT

<213> Escherichia coli

<400> 8

Met Lys Gln Ser Thr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu Phe Thr

1 5 10 15

Pro Val Thr Lys Ala

20

<210> 9

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> CDS

<222> (1)..(63)

<400> 9

atg aaa cag agc acc att gcc ctg gcc ctg ctg ccg ctg ctg ttt acc 48

Met Lys Gln Ser Thr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu Phe Thr

1 5 10 15

cca gtg gtg cta gcc 63

Pro Val Val Leu Ala

20

<210> 10

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 10

Met Lys Gln Ser Thr Ile Ala Leu Ala Leu Pro Leu Leu Phe Thr

1 5 10 15

Pro Val Val Leu Ala

20

<210> 11

<211> 63

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<220><221> CDS

<222> (1)..(63)

<400> 11

atg aaa aaa acc gcc att gcc att gcc gtg gcc ctg gca ggc ttt gcc 48

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala

1 5 10 15

acc gtg gcg cag gcc 63

Thr Val Ala Gln Ala

20

<210> 12

<211> 21

<212> PRT

<213> Escherichia coli

<400> 12

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala

1 5 10 15

Thr Val Ala Gln Ala

20

<210> 13

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> CDS

<222> (1)..(63)

<400> 13

atg aaa aaa acc gcc att gcc att gcc gtg gcc ctg gca ggc ttt gcc 48

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala

1 5 10 15

acc gtg gca tat gcc 63

Thr Val Ala Tyr Ala

20

<210> 14

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

peptide"

<400> 14

Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala

1 5 10 15

Thr Val Ala Tyr Ala

20

<210> 15

<211> 57

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (1)..(57)

<400> 15

atg aaa cac ctg tgg ttc ttc ctc ctg ctg gtg gca gct ccc aga tgg 48

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

gtc ctg tcc 57

Val Leu Ser

<210> 16

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 17

<211> 57

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> CDS

<222> (1)..(57)

<400> 17

atg aag cac ctg tgg ttc ttt ctg ctg ctg gtg gcc gct ccc cgg tgg 48

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

gtg cta gcc 57

Val Leu Ala

<210> 18

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 18

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ala

<210> 19

<211> 60

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><221> CDS

<222> (1)..(60)

<400> 19

atg gtg ttg cag acc cag gtc ttc att tct ctg ttg ctc tgg atc tct 48

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

ggt gcc tac ggg 60

Gly Ala Tyr Gly

20

<210> 20

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 20

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly

20

<210> 21

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> CDS

<222> (1)..(60)

<400> 21

atg gtg ctc cag acc cag gtg ttc atc agc ctg ctg ctg tgg atc agc 48

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

ggc gca tat gcg 60

Gly Ala Tyr Ala

20

<210> 22

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 22

Met Val Leu Gln Thr Gln Val Phe Ile Ser Leu Leu Leu Trp Ile Ser

1 5 10 15

Gly Ala Tyr Ala

20

<210> 23

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 23

acaggtgccc actcccaggt gcag 24

<210> 24

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 24

aaggtgtcca gtgtgargtg cag 23

<210> 25

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 25

cccagatggg tcctgtcca ggtgcag 27

<210> 26

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 26
caaggagtct gttccgaggt gcag 24
<210> 27
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"
<400> 27
gggaattctc acaggagacg a 21
<210> 28
<211> 23
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"
<400> 28
ggaaggtgtg cacgccgtg gtc 23
<210> 29
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"
<400> 29
ctgcaaccgg tgtacattcc caggtgcagc tgggtgcag 38
<210> 30
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 30

ctgcaaccgg tgtacattcc gaggtgcagc tgggtgcag 38

<210> 31

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 31

ctgcaaccgg tgtacattct gaggtgcagc tgggtggag 38

<210> 32

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 32

ctgcaaccgg tgtacattct gaggtgcagc tgggtggag 38

<210> 33

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 33

ctgcaaccgg tgtacattcc caggtgcagc tgcaggag 38

<210> 34

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 34

ctgcaaccgg tgtacattcc caggtgcagc tacagcagtg 40

<210> 35

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400>

> 35

tgcgaagtcg acgctgagga gacggtgacc ag 32

<210> 36

<211> 34

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 36

tgcgaagtcg acgctgaaga gacggtgacc attg 34

<210> 37

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 37

tgccaagtcg acgctgagga gacggtgacc gtg 33

<210> 38

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 38

gttcggggaa gtagtccttg ac 22

<210> 39

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 39

atgaggstcc cygctcagct gctgg 25

<210> 40

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 40

ctcttcctcc tgctactctg gctccag 28

<210> 41

<211> 25

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"
<400> 41
atttctctgt tgctctggat ctctg 25
<210> 42
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"
<400> 42
gtttctcgta gtctgctttg ctca 24
<210> 43
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"
<400> 43
atgacccagw ctccabycwc cctg 24
<210> 44
<211> 22
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"
<400> 44
gtgctgcct tgctgcctg ct 22
<210> 45
<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 45

ggtcctgggc ccagtctgtg ctg 23

<210> 46

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 46

ggtcctgggc ccagtctgcc ctg 23

<210> 47

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 47

gctctgtgac ctcctatgag ctg 23

<210> 48

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400>

> 48

gggtctctctc scagcytgtg ctg 23

<210> 49

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 49

gttcttgggc caatttatg ctg 23

<210> 50

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 50

ggccaattc ycaggctgtg gtg 23

<210> 51

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 51

gagtggattc tcagactgtg gtg 23

<210> 52

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

primer"

<400> 52

caccagtgtg gccttgttgg cttg 24

<210> 53

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 53

ctgctaccgg ttcttgggcc cagtctgtgc tgackcag 38

<210> 54

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 54

ctgctaccgg ttcttgggcc cagtctgccc tgactcag 38

<210> 55

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic primer"

<400> 55

ctgctaccgg ttctgtgacc tcctatgagc tgacwcag 38

<210> 56

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 56

ctgctaccgg ttctctctcs cagcytgtgc tgactca 37

<210> 57

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 57

ctgctaccgg ttcttgggcc aattttatgc tgactcag 38

<210> 58

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 58

ctgctaccgg ttccaattcy cagrcgtgtg tgacycag 38

<210> 59

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
primer"

<400> 59

ctcctcactc gaggyggga acagagtg 28

<210> 60

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 60

Gln 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

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asn Met Tyr Arg Trp Pro Phe His Tyr Phe Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 61

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"

<400> 61

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Ser Cys Ser Gly Asp Asn Ile Gly Asn Lys Tyr Val

20 25 30

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

35 40 45

Gly Asp Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Asp Ser Ser Tyr Phe Val

85 90 95

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln

100 105

<210> 62

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 63

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Trp Ser Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Lys Tyr Ser Gln Glu Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 64

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asn Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Gly

<210> 65

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

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

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

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

35 40 45

Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg

<210> 66

<211> 98

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

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

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

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

<210> 67

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Gln Met Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Thr Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Tyr Arg

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

<210> 68

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 69

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

 85 90 95
Ala Ala

<210> 70

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ser
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Gly	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr
				20				25					30		

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

Ala Arg

<210> 71

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

Ala Arg

<210> 72

<211> 86

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Lys Ser Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Ser Phe Ser Gly Phe Thr
1 5 10 15

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

Val Tyr Tyr Tyr Ala Arg
85

<210> 73

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

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

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

<210> 74

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

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

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

65 70 75 80
 Val Leu Thr Met Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala His Arg

100

<210> 75

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Ala His Ile Phe Ser Asn Asp Glu Lys Ser Tyr Ser Thr Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg Ile

100

<210> 76

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

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

<210> 77

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

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

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

<210> 78

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

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

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

<210> 79

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

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

<210> 80

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

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

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

<210> 81

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

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 Asn Ala

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Ile Lys Ser Lys Thr Asp Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Ala Ala

50 55 60

Pro 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 Thr Thr
 100

<210> 82

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

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

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

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

<210> 83

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

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

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 84

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

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

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

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Ser Ser Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 85

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys

<210> 86

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

Ala Arg

<210> 87

<211> 98

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

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

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

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

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

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

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

Ala Arg

<210> 88

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

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

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

20 25 30

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

85 90 95
 Ala Lys

<210> 89

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

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

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

Ala Arg

<210> 90

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 90

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

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

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

<210> 91

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

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

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

85

90

95

Tyr

<210> 92

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 92

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp

<210> 93

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

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

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

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

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

<210> 94

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 94

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Met Ser Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45
 Gly Phe Ile Arg Ser Lys Ala Tyr Gly Gly Thr Thr Glu Tyr Ala Ala
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Ser Ile
 65 70 75 80
 Ala Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg
 100

<210> 95

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg

<210> 96

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 96

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 97

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Val Ser Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg

<210> 98

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 98

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 Asp His

20 25 30

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

35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
 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
 100
 <210> 99
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 99
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser

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

 85 90 95
 Tyr Cys Thr Arg
 100
 <210> 100
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 100
 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
 Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Val Trp Val
 35 40 45
 Ser Arg Ile Asn Ser Asp Gly Ser Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg

<210> 101

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

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

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

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

<210> 102

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 102

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg

<210> 103

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

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

85

90

95

Ala Arg

<210> 104

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 104

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Cys Ala Arg

<210> 105

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Cys Ala Arg

<210> 106

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 106

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Cys Ala Arg

<210> 107

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Cys Ala Arg

<210> 108

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 108

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Gly

<210> 109

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

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

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Ser

20 25 30
Ser Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu

35 40 45
Trp Ile Gly Ser Ile Tyr Tyr Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser

50 55 60
Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe

65 70 75 80
Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr

85 90 95
Cys Ala Arg

<210> 110

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 110

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

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

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

Arg

<210> 111

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

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

50 55 60
 Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe
 65 70 75 80
 Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
 85 90 95
 Cys Ala Arg

<210> 112

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 112

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 113

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 113

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

1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg

<210> 114

<211> 98

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 114

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gln Gly His Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg

<210> 115

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala

50 55 60
Val Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn
65 70 75 80
Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95
Tyr Tyr Cys Ala Arg

100

<210> 116

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 116

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Ile Cys Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg

<210> 117

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 117

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

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

65 70 75 80
 Leu Gln Ile Ser Ser Leu Lys Ala Glu Asp Met Ala Met Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg

<210> 118

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 118

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

1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
 20 25 30

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

35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

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

65 70 75 80
 Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser
 85 90 95

<210> 119

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 119

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 120

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 120

Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Phe Ser Ala Ser Thr Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 121

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 122

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 122

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85

90

95

<210> 123

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 123

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

<210> 124

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 124

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

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

<210> 125

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 125

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

1 5 10 15

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

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

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

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

65 70 75 80

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

<210> 126

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 126

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

1 5 10 15

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

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

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

<210> 127

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 127

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

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro
85 90 95

<210> 128

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 128

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Val Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Gly Gln Arg Thr Tyr Asn Ala Pro Pro
 85 90 95

<210> 129

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 129

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

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

<210> 130

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 130

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

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

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

<210> 131

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp

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

<210> 132

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 132

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

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

<210> 133

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 133

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

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

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

65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro
 85 90 95

<210> 134

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 134

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys His Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 135

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn Leu Pro

85 90 95

<210> 136

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 136

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Gly Gln Arg Thr Tyr Asn Ala Pro Pro

85 90 95

<210> 137

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 138

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 138

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Ser Ile Ile Cys Trp Ala Ser Glu Gly Ile Ser Ser Asn

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Asp Ala Lys Asp Leu His Pro Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 139

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 140

 $\langle 211 \rangle$ 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 140

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Ile Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85 90 95

Thr Gln Phe Pro

100

<210> 141

 $\langle 211 \rangle$ 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 141

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

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

85 90 95
Leu Gln Thr Pro

100

<210> 142

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 142

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly

85 90 95

Ile His Leu Pro

100

<210> 143

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 143

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

Pro Arg Arg Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Asp Ser Gly Val Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly

85 90 95

Thr His Trp Pro

100

<210> 144

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 144

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys

65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln

85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro

100

<210> 145

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 145

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

1 5 10 15

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Phe Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Ser Trp Leu Gln Gln Arg Pro Gly Gln Pro

35 40 45

Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile

65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Thr Gln Ala

85 90 95

Thr Gln Phe Pro

100

<210> 146

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 146

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Thr Leu Leu Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50

55

60

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

65

70

75

80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Asp

85

90

95

Ala Gln Asp Pro Pro

100

<210> 147

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 147

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

1

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala

85

90

95

Leu Gln Thr Pro

100

<210> 148

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 148

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

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

Ile Gln Leu Pro
 100

<210> 149

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

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

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

100

<210> 150

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 150

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Thr Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60

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

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro
100

<210> 151

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

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

Glu Arg Val Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

<210> 152

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 152

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

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

<210> 153

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn

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

85 90 95
 <210> 154
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 154

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

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

<210> 155
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 155
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

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

65 70 75 80
 Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Asp Tyr Asn Leu Pro
 85 90 95

<210> 156

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 156

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Ser Ser Tyr
 20 25 30

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

<210> 157

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Asn
20 25 30

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

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

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Asn Trp Pro
85 90 95

<210> 158

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 158

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Gly Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

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

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

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

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

<210> 159

<211> 101

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr

65 70 75 80

Ile Ser Ser Leu Gln Ala Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln

85 90 95

Tyr Tyr Ser Thr Pro

100

<210

> 160

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 160

Glu Thr Thr Leu Thr Gln Ser Pro Ala Phe Met Ser Ala Thr Pro Gly

1 5 10 15

Asp Lys Val Asn Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp

20 25 30

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Ala Ala Ile Phe Ile Ile

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Ile Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Tyr Tyr Phe Cys Leu Gln His Asp Asn Phe Pro

85

90

95

<210> 161

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys

1

5

10

15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser

20

25

30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35

40

45

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

50

55

60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Ala

65

70

75

80

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

85

90

95

<210> 162

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 162

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys

1

5

10

15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser

20

25

30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile

35

40

45

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

50

55

60

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

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

<210> 163

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 163

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

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Gly Ile Gly Asn Tyr
20 25 30

Leu Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Lys His Pro
85 90 95

<210> 164

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 164

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

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Tyr Asp Asp Leu Leu Pro Ser Gly Val Ser Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu

85 90 95

Asn Gly Pro

<210> 165

<211> 100

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

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 Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser

100

<210> 166

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 166

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

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

65	70	75	80
Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu			
85	90	95	
Asn Gly Pro			

<210> 167

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

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

Ser Gly Pro

<210> 168

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 168

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 Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly

20 25 30

Tyr Val Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Gln Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu

65 70 75 80

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Lys Ala Trp Asp Asn Ser

85 90 95

Leu Asn Ala

<210> 169

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

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

1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95
Ser Ala Gly

<210> 170

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 170

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Ser Pro Gly Gln
1 5 10 15

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

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45
Met Ile Tyr Glu Val Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60
Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Ser Gly Leu

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

85 90 95
Asn Asn Phe

<210> 171

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

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

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

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

<210> 172

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 172

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

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
 65 70 75 80
 Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
 85 90 95
 Ser Thr Leu

<210> 173

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Arg Val Ser Trp Tyr Gln Gln Pro Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Thr Phe

<210> 174

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 174

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu

35 40 45

Met Ile Tyr Glu Gly Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu

65 70 75 80
Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Cys Ser Tyr Ala Gly Ser
85 90 95
Ser Thr Phe

<210> 175

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 175

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Pro Phe Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15
Ser Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Val Gly Asp Tyr
20 25 30

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

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Met Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80
Lys Ser Glu Val Glu Ala Asn Tyr His Cys Ser Leu Tyr Ser Ser Ser
85 90 95

Tyr Thr Phe

<210> 176

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 176

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

Thr Ala Ser Ile Thr Cys Ser Gly Asp Lys Leu Gly Asp Lys Tyr Ala
20 25 30

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

Gln Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Thr Gln Ala Met
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ala Trp Asp Ser Ser Thr Ala
85 90 95

<210> 177

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 177

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Asn Val
20 25 30

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

Arg Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ala Gln Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Thr Ala
85 90 95

<210> 178

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 178

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Lys Tyr Ala
20 25 30

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

35 40 45
Glu Asp Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Thr Met Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Val Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Tyr Ser Thr Asp Ser Ser Gly Asn His
85 90 95

<210> 179

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 179

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Val Ala Thr Ala Gln
1 5 10 15

Met Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ala Val
20 25 30

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

Ser Asp Ser Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Pro Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Ile Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Pro

<210> 180

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 180

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

1 5 10 15

Met Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Glu Ala Leu Pro Lys Lys Tyr Ala

20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Phe Pro Val Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Leu Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Tyr

85 90 95

Pro

<210> 181

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 181

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu

65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
 85 90 95
 Leu

<210> 182

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 182

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

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

65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
 85 90 95
 Pro

<210> 183

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 183

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

1 5 10 15
 Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Val Leu Gly Glu Asn Tyr Ala

20 25 30

Asp Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Val Ile Tyr

35 40 45

Glu Asp Ser Glu Arg Tyr Pro Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Thr Ser Gly Asn Thr Thr Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Leu Thr Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

<210> 184

<211> 97

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 184

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Ala Leu Pro Lys Gln Tyr Ala

20 25 30

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

35 40 45

Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Ala Asp Ser Ser Gly Thr Tyr

85 90 95

Pro

<210> 185

<211> 95

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 185

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

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Ser Gly Asp Val Leu Ala Lys Lys Tyr Ala
20 25 30

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

Lys Asp Ser Glu Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Thr Thr Val Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Val Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Tyr Ser Ala Ala Asp Asn Asn Leu
85 90 95

<210> 186

<211> 94

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 186

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

Met Ala Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Met Glu Gly Ser Tyr Glu
20 25 30

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

35 40 45

Asp Ser Ser Asp Arg Pro Ser Arg Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Lys Ser Gly Asn Thr Thr Thr Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Tyr Gln Leu Ile Asp Asn His Ala
85 90

<210> 187

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 187

```

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

Arg Phe Met Gly Ser Ser Ser Gly Ala Asp Arg Tyr Leu Thr Phe Ser
65           70           75           80
Asn Leu Gln Ser Asp Asp Glu Ala Glu Tyr His Cys Gly Glu Ser His
           85           90           95
Thr Ile Asp Gly Gln Val Gly
           100

```

<210> 188

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 188

```

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

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

```


65 70 75 80

Asn Leu Gln Phe Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Glu Thr Trp Asp

85 90 95

Ser Asn Thr

<210> 189

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 189

Gln	Leu	Val	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ala	Ser	Ala	Ser	Leu	Gly	Ala
1				5					10					15	
Ser	Val	Lys	Leu	Thr	Cys	Thr	Leu	Ser	Ser	Gly	His	Ser	Ser	Tyr	Ala
				20					25					30	
Ile	Ala	Trp	His	Gln	Gln	Gln	Pro	Glu	Lys	Gly	Pro	Arg	Tyr	Leu	Met

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

<210> 190

<211> 104

<212

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 190

Gln Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ser Ser Ala Ser Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Ala Arg Leu Thr Cys Thr Leu Pro Ser Asp Ile Asn Val Gly Ser

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

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

<210> 191

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 191

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

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

Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ile Trp Tyr Ser Ser Thr Ser
100

<210> 192

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 192

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Arg Ile Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr

35 40 45

Leu Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Lys Gln Gln Gly Ser Gly Val

50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly Ile

65 70 75 80

Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys

85 90 95

Met Ile Trp His Ser Ser Ala Ser

100

<210> 193

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 193

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

1 5 10 15

Ser Ala Arg Leu Thr Cys Thr Leu Arg Ser Gly Ile Asn Leu Gly Ser

20 25 30

Tyr Arg Ile Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Ser Pro Pro Arg Tyr

35 40 45

Leu Leu Ser Tyr Tyr Ser Asp Ser Ser Lys His Gln Gly Ser Gly Val

50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Lys Asp Ala Ser Ser Asn Ala Gly Ile

65 70 75 80

Leu Val Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Met Ile Trp His Ser Ser Ala Ser
100

<210> 194

<211> 102

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 194

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

Ser Val Arg Leu Thr Cys Met Leu Ser Ser Gly Phe Ser Val Gly Asp
20 25 30

Phe Trp Ile Arg Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Pro Pro Arg Tyr
35 40 45

Leu Leu Tyr Tyr His Ser Asp Ser Asn Lys Gly Gln Gly Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Asn Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly Ile
65 70 75 80

Leu Arg Ile Ser Gly Leu Gln Pro Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Gly Thr Trp His Ser Asn
100

<210> 195

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 195

Asn Phe Met Leu Thr Gln Pro His Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Arg Ser Ser Gly Ser Ile Ala Ser Asn
20 25 30

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

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

<210> 196

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 196

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Leu Thr Val Ser Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Thr Val Thr Leu Thr Cys Ala Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly
 20 25 30
 Tyr Tyr Pro Asn Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Ala

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

<210> 197

<211> 98

<212>

> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 197

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

1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Ser Ser Thr Gly Ala Val Thr Ser Gly

20 25 30

His Tyr Pro Tyr Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Gly Ser Leu Leu Gly Gly Lys Ala Ala Leu Thr Leu Leu Gly Ala

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 198

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 198

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Thr

35 40 45

Leu Ile Tyr Ser Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe

50 55 60

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala

65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Val Leu Tyr Met Gly Ser

85 90 95

Gly Ile Ser

<210> 199

<211> 104

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 199

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Val Asp Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Lys Gly Pro Arg Phe Val Met

35 40 45

Arg Val Gly Thr Gly Gly Ile Val Gly Ser Lys Gly Asp Gly Ile Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Asn Ile Gln Glu Glu Asp Glu Ser Asp Tyr His Cys Gly Ala Asp

85 90 95

His Gly Ser Gly Ser Asn Phe Val

100

<210> 200

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 200

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Ala Ala Trp Leu Gln Gln His Gln Gly His Pro Pro Lys Leu Leu

35 40 45

Ser Tyr Arg Asn Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Ser Glu Arg Phe Ser
50 55 60

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

<210> 201

<211> 103

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 201

Arg Pro Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala
1 5 10 15
Thr Ala Arg Leu Pro Cys Thr Leu Ser Ser Asp Leu Ser Val Gly Gly

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

<210> 202

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
6xHis tag"
<400> 202
His His His His His His
1 5