



등록특허 10-2712820



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년10월02일
(11) 등록번호 10-2712820
(24) 등록일자 2024년09월26일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2017-7033709
- (22) 출원일자(국제) 2016년05월20일
심사청구일자 2021년05월20일
- (85) 번역문제출일자 2017년11월21일
- (65) 공개번호 10-2018-0009754
- (43) 공개일자 2018년01월29일
- (86) 국제출원번호 PCT/EP2016/061420
- (87) 국제공개번호 WO 2016/185016
국제공개일자 2016년11월24일
- (30) 우선권주장
1508729.9 2015년05월21일 영국(GB)
(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문현

US20100303811 A1*

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 18 항

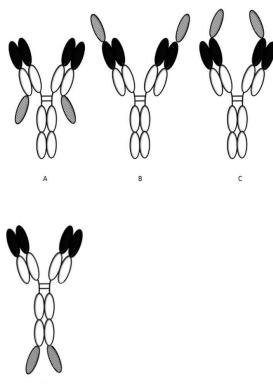
심사관 : 김수진

(54) 발명의 명칭 신규한 폴리펩타이드

(57) 요 약

본 발명은 제1 T 세포 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 제1 결합 도메인 및 제2 T 세포 표적에 특이적으로 결합할 수 있는 제2 결합 도메인을 포함하는 이중특이성 폴리펩타이드, 예컨대 이중특이성 항체를 제공하되, 제1 T 세포 표적과 제2 T 세포 표적은 상이한 표적이다. 본 발명은 상기 이중특이성 폴리펩타이드의 조성물뿐만 아니라 이의 방법 및 용도를 추가로 제공한다. 제1 T 세포 표적 및/또는 제2 T 세포 표적은 OX40, CTLA-4, CD137, CD27, GITR 및 CD28로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류

C07K 14/70532 (2013.01)

A61K 2039/505 (2013.01)

A61K 2039/507 (2013.01)

C07K 2317/31 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

C07K 2317/622 (2013.01)

C07K 2317/734 (2013.01)

C07K 2317/92 (2013.01)

C07K 2319/30 (2013.01)

(72) 발명자

놀렌 폐르

스웨덴 에스이-233 81 룬드 메디콘 빌리지 엘리케
이터 바이오사이언스

달렌 에바

스웨덴 에스이-233 81 룬드 메디콘 빌리지 엘리케
이터 바이오사이언스 에이비

프로트셀 사라

스웨덴 에스이-233 81 룬드 메디콘 빌리지 엘리케
이터 바이오사이언스 에이비

본 산트스 로라

스웨덴 에스이-233 81 룬드 메디콘 빌리지 엘리케
이터 바이오사이언스 에이비

베이톤메키 니나

스웨덴 에스이-233 81 룬드 메디콘 빌리지 엘리케
이터 바이오사이언스 에이비

(56) 선행기술조사문헌

JP2012224631 A

KR1020160099092 A

US20140086932 A1

WO2014207064 A1

WO2015095423 A2

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(30) 우선권주장

1514994.1 2015년08월24일 영국(GB)

1605450.4 2016년03월31일 영국(GB)

명세서

청구범위

청구항 1

CD137에 특이적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편으로서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 209, 214, 및 219의 중쇄 가변 영역 CDR 및 서열번호 80, 81, 및 224의 경쇄 가변 영역 CDR을 포함하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 2

청구항 1에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 185를 포함하고, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 187을 포함하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 3

청구항 1에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 서열번호 186의 핵산 서열에 의해 코딩되는 중쇄 가변 영역 및/또는 서열번호 188의 핵산 서열에 의해 코딩되는 경쇄 가변 영역을 포함하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 항원 결합 단편은 Fv 단편, 단쇄 Fv(scFv) 단편, 이황화 결합된 Fv(sdFv) 단편, Fab-유사 단편, Fab 단편, Fab' 단편 및 $F(ab)_2$ 단편으로 구성된 군으로부터 선택되는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 5

청구항 1에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 인간 Fc 영역을 포함하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 6

청구항 5에 있어서, 상기 인간 Fc 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 Fc 영역인 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 7

청구항 1에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 $10 \times 10^{-9} M$ 미만의 K_D 값으로 인간 CD137에 결합하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 8

청구항 1에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 CD8+ T 세포 활성의 증가를 유도하는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 9

청구항 8에 있어서, 상기 CD8+ T 세포 활성의 증가는 상기 CD8+ T 세포의 증식, IFN- γ 생성, 및/또는 IL-2 생성의 증가인 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 10

청구항 1에 있어서, 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 추가적인 치료 모이어티에 접합되는 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 11

청구항 10에 있어서, 상기 추가적인 치료 모이어티는 세포독성 모이어티 또는 약물인 것인 항체 또는 이의 항원 결합 단편.

청구항 12

제1 에피토프에 특이적인 제1 항체 또는 이의 항원 결합 단편 및 제2 에피토프에 특이적인 제2 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는 이중특이성 항체로서, 상기 제1 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원 결합 단편인 것인 이중특이성 항체.

청구항 13

청구항 12에 있어서, 상기 제1 항체 또는 이의 항원 결합 단편과 상기 제2 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 웹 타이드 링커를 통해 연결되는 것인 이중특이성 항체.

청구항 14

청구항 13에 있어서, 상기 웹타이드 링커는 아미노산 서열 SGGGSGGGS (서열번호 47), SGGGSGGGSAP (서열 번호 48), NFSQP (서열번호 49), KRTVA (서열번호 50), GGGSGGGSGGGS (서열번호 144) 또는 $m = 1 \text{ to } 7$ 인 (SG) m 을 포함하는 것인 이중특이성 항체.

청구항 15

청구항 1 내지 11 중 어느 한 항에 따른 항체 또는 이의 항원 결합 단편을 포함하는, 암의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 16

청구항 15에 있어서, 상기 암은 전립선암, 유방암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 폐암, 자궁경부암, 횡문근육종, 신경아세포종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 흑색종, 방광암, 위암, 두경부암, 간암, 피부암, 림프종 또는 교모세포종으로부터 선택되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 17

청구항 12에 따른 이중특이성 항체를 포함하는, 암의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 약제학적 조성물.

청구항 18

청구항 17에 있어서, 상기 암은 전립선암, 유방암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 폐암, 자궁경부암, 횡문근육종, 신경아세포종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 흑색종, 방광암, 위암, 두경부암, 간암, 피부암, 림프종 또는 교모세포종으로부터 선택되는 것인 약제학적 조성물.

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 2개의 상이한 T 세포 표적에 특이적으로 결합하는 이중특이성 폴리펩타이드에 관한 것이다. 예시적인 T 세포 표적은 OX40, CTLA-4 및 CD137, 특히 인간 OX40, CTLA-4 및 CD137을 포함한다.

배경 기술

[0002] 암은 선진국에서 조기 사망의 주된 원인이다. 암의 면역요법은 종양 세포에 대한 효과적인 면역 반응을 증가시키는 것을 목적으로 한다. 이는, 예를 들어, 종양 항원에 대한 내성을 파괴하고, 항-종양 면역 반응을 증대시키며, 종양 부위에서 국소 사이토카인 반응을 자극함으로써 달성될 수 있다. 장기 지속적 항-종양 면역 반응의 중요한 효과기 세포는 활성화된 종양 특이적 효과기 T 세포이다. 활성화된 효과기 T 세포의 강한 확장은 종양에 대한 면역 반응을 다시 보낼 수 있다. 이와 관련하여, 조절 T 세포(Treg)는 항-종양 면역을 저해하는 데 어떤 역할을 한다. 따라서, Treg의 고갈, 저해, 반전 또는 비활성화는 항-종양 효과를 제공하고, 종양 미세환경에서 면역 억제를 반전시킬 수 있다. 추가로, 예를 들어, 수지상 세포에 의한 효과기 T 세포의 불완전 활성화는 비효율적 항-종양 반응을 초래하는 T 세포 무반응(anergy)을 야기할 수 있는 반면, 수지상 세포에 의한 적절한 유도는 활성화된 효과기 T 세포의 강한 확장을 생성하여, 종양에 대한 면역 반응을 다시 보낼 수 있다. 추가로, 자연 살해(Natural killer: NK) 세포는 하향 조절된 인간 백혈구 항원(HLA) 발현에 의해 종양 세포를 공격함으로써 그리고 항원 의존적 세포독성(antibody dependent cellular cytotoxicity: ADCC)을 유도함으로써 종양 면역학에서 중요한 역할을 한다. 따라서, NK 세포의 자극은 또한 종양 성장을 감소시킬 수 있다.

[0003] OX40(다르게는 CD134 또는 TNFRSF4로서 알려짐)은 활성화된 T 세포(대부분 CD4+ 효과기 T 세포뿐만 아니라 CD8+ 효과기 T 세포 및 조절 T 세포(Treg)) 상에서 주로 발현되는 TNFR 패밀리의 구성원이다. 마우스에서, 발현은 Treg 상에서 구성적이지만, 인간에서는 그렇지 않다. OX40 발현은 전형적으로 활성화(T 세포 수용체 맞물림)의 24시간 내에 일어나며, 48 내지 72시간 후에 최대로 된다. OX40 자극은 활성화된 T 세포의 생존 및 증식에 중요하다. OX40에 대해 유일하게 알려진 리간드는 OX40L인데, 이는 전형적으로 그들의 활성화 후에 항원 제시 세포, 예컨대 수지상 세포 및 B 세포 상에서 주로 발현된다. OX40-매개 T 세포 활성화의 최종적인 결과는 TH1 효과기 T 세포 활성화 프로파일의 유도 및, 예를 들어 ADCC 또는 ADCP를 통한 Treg 세포의 활성 및/또는 수의 감소이다. 전반적인 이들 효과는 항-종양 면역에 기여할 수 있다. OX40은 다수의 고형 종양, 예컨대 흑색종, 폐암 및 신세포암에서 조절 T 세포 상에서 과발현된다.

[0004] 마우스에서 종양 모델의 OX40 작용제 치료는 흑색종, 신경교종, 육종, 전립선, 결장 및 신세포암을 포함하는, 몇몇 상이한 암 형태의 항-종양 효과 및 치유를 초래하는 것으로 나타났다. 초기 데이터는 CD40 작용제 치료에 의해 보이는 효과와 유사한 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 둘 다 수반하는 종양 특이적 T-세포 반응과 일치된다. IL-12 및 다른 사이토카인의 첨가, 및 다른 면역조절제 및 화학/방사선요법과의 조합은 OX40 작용제 치료의 치료적 효과를 개선시키는 것으로 나타났다. 전임상 모델로부터의 증거는 항-OX40 항체의 효과가 활성화 Fc γ R에 의존한다는 것을 시사한다. 모든 다른 요법에 실패한 말기 환자에서 마우스 항-인간 OX40 클론 9B12를 시험하는 임상 I상 연구는 프로비던스 암 센터(Providence Cancer Centre)에서 수행되었다. 항체는 잘 용인되었다. CD4+ 및 CD8+ T 세포 증식에서의 종양 수축 및 증가가 관찰되었다. 저독성은 낮은 반감기 및 항-약물 항체(항체는 마우스 항체였음)에 의해 야기될 수 있을 뿐만 아니라, 비활성화 T 세포에 대한 OX40의 상대적으로 낮은 발현 수준에 의해 야기될 수 있다. 이 항체에 의한 항-종양 효과는 보통이었다.

[0005] CD137(4-1BB, TNFRSF9)은 또한 TNFR 패밀리의 구성원이다. CD137의 활성화는 수용체 올리고머화에 의존한다. CD137은 활성화된 CD4+ 및 CD8+ T 세포, Treg, DC, 단핵구, 비만세포 및 호산구 상에서 발현된다. CD137 활성화는 CD8+ T 세포 활성화 및 생존에서 중요한 역할을 한다. 이는 효과기 기능을 개시하기보다는 지속하고, 증가시키며, TH1 사이토카인 생성을 우선적으로 지원한다. CD4+ T 세포에서, CD137 자극은 처음에 활성화를 초래하며, 이후에 활성화-유도 세포사를 초래하는데, 이는 CD137 작용 항체가 종양 면역에서 뿐만 아니라 자가면역에서 치료 효과를 나타낸 이유를 설명할 수 있다. CD137은 또한 Treg 기능을 억제한다. CD137은 사이토카인 또는 CD16에 의해 활성화된 NK 세포 상에서 상향조절된다. NK 세포 상에서 CD137의 활성화는 뮤린과 인간 세포 둘 다에서 NK 세포의 ADCC 활성을 증가시키는 것으로 나타났다. 추가로, CD137은 항원 제시 세포, 예컨대 수지상 세포 및 대식세포 상에서 발현되며, 이들 유형에 대한 CD137의 자극은 종양 관련 면역을 초래할 수 있는 면역 활성화를 유도할 수 있다. CD137 작용 항체는 또한 종양 환경에서 내피 세포를 활성화시켜, ICAM-1 및 VCAM-1의 상향조절 및 개선된 T 세포 동원(recruitment)을 야기하는 것으로 나타났다. 몇몇 연구는 작용 CD137 항체에 의한 치료에 의한 종양 면역의 유도를 입증하였다.

[0006] 두 CD137 항체는 임상 연구 중에 있다. 우렐루맙(BMS-66513)은 브리스톨-마이어스 스큅(Bristol-Myers Squibb)에 의해 개발된 완전 인간 IgG4 항체이다. 다양한 적응증에서의 몇몇 I 및 II상 연구는 현재 진행 중에 있다. 전이 흑색종에서 2차 요법(second line therapy)으로서 우렐루맙에 의한 II상 연구는 치명적 간세포독성에 기인하여 2009년에 종결되었다. 임상 연구에서 다른 CD137 mAb는 화이자(Pfizer)에 의해 개발된 완전 인간 IgG2 항체인 PF-05082566이다. 이는 럼프종 및 다양한 고형암에서 I상 연구 중에 있으며, 예비 데이터는 그것이 잘 용인되지만, 단지 보통의 항-종양 효과만을 지닌다는 것을 시사한다.

[0007] CD137 또는 OX40를 표적화하는 존재하는 항체는 일반적으로, 예를 들어, 다른 세포 상의 Fc감마 수용체를 통한 가교에 의존하여 각각 수용체를 발현시키는 세포 내로 강한 신호전달을 유도한다. 따라서, 그들은 이러한 가교가 제공되지 않을 때 효율적으로 신호전달하지 못 한다. 추가로, TNF 수용체 패밀리 구성원을 통한 장기간의 그리고 지속적인 활성화는 면역 고갈을 야기할 수 있다.

[0008] T 세포 수용체 CTLA-4는 T 세포 활성화의 음성 조절제로서 작용하며, 초기 활성화 후 T-세포 표면 상에서 상향 조절된다. 항원 제시 세포에 의해 발현되는 CTLA-4 수용체의 리간드는 B7 단백질이다. T 세포 활성화의 상향조절을 초래하는 대응하는 리간드 수용체 쌍은 CD28 - B7이다. CD28을 통한 신호전달은 공자극 경로를 구성하며, MHC 복합체에 의해 제시되는 항원 펩타이드를 인식하는 T 세포 수용체를 통해 T 세포의 활성화에 따른다. B7-1 및, 또는 B7-2 리간드에 대한 CTLA-4 상호작용을 차단함으로써, 면역 반응의 정상 확인점 중 하나가 제거될 수 있다. 최종적인 결과는 항-종양 면역에 기여할 수 있는 효과기 T 세포의 향상된 활성이다. OX40에 의해, 이는 효과기 T 세포의 직접적인 활성화에 기인할 수 있지만, 또한, 예를 들어, ADCC 또는 ADCP를 통한 Treg 세포의 활성 및/또는 수의 감소에 기인할 수 있다. 임상 연구는 CTLA-4 차단이 항-종양 효과를 생성하지만, 항-CTLA-4 항체의 투여는 독성 부작용과 관련되었다는 것을 입증하였다. CTLA-4는 다수의 고형 종양, 예컨대 흑색종 폐암 및 신세포암에서 조절 T 세포 상에서 과발현된다.

[0009] OX40 또는 CD137 또는 CTLA-4와 같은 단지 하나의 T 세포 표적을 표적화하는 현재의 단일특이성 약물에 대한 대안에 대한 필요가 있다.

발명의 내용

[0010] 본 발명의 제1 양상은 제1 T 세포 표적에 특이적으로 결합할 수 있는, B1로 표기되는 제1 결합 도메인, 및 제2 T 세포 표적에 특이적으로 결합할 수 있는, B2로 표기되는 제2 결합 도메인을 포함하는 이중특이성 폴리펩타이드를 제공하되, 제1 T 세포 표적과 제2 T 세포 표적은 상이한 표적이다.

[0011] 두 상이한 T 세포 표적, 예컨대 CTLA-4, CD137 및 OX40을 표적화하는 이중특이성 항체는 표적이 둘 다 과발현되는 위치에서 면역계를 특이적으로 활성화시킬 잠재력을 가진다. 예를 들어, CTLA-4 및 OX40은 종양 미세환경에서 조절 T 세포(Treg) 상에서 과발현된 반면, 효과기 T 세포 상에서 그들의 발현은 더 낮다. 따라서, 본 발명의 이중특이성 항체는 종양 미세환경에서 조절 T 세포를 선택적으로 표적화하는 잠재력을 가진다.

[0012] 본 발명의 이중특이성 항체를 이용하여 종양 미세환경 내 Treg 세포를 표적화하는 것은 또한 Treg의 면역 억제 기능을 고갈 또는 반전시키는 잠재력을 가진다. 이 효과는 본 발명의 이중특이성 항체의 Fc 부분을 통한 ADCC 또는 ADCP 유도에 의해(예를 들어, 문헌[Furness et al., 2014 *Trends Immunol* 35(7):290-8]; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨) 또는 OX40 및/또는 CTLA-4를 통해 유도된 신호전달에 의해 및/또는 CTLA-4 신호전달 경로를 차단함으로써(예를 들어, 문헌[Walker, 2014, *Nature Reviews* 11(12):852-63] 참조; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨) 매개될 수 있었다. 다른 한편으로, 효과기 T 세포 상에서, 본 발명의 이중특이성 항체는 OX40 자극을 통해 그리고 CTLA-4 관문(checkpoint) 차단을 통해 활성화 및 증가된 기능을 유도하는 잠재력을 가진다.

[0013] 따라서 두 T-세포 수용체를 표적화하는 이중특이성 항체의 순 효과는 이하와 같다:

[0014] 1. 단일특이성 항체에 비해 더 높은 정도의 면역 활성화. 면역 활성화는 단일특이성 항체의 조합보다 더 높다.

[0015] 2. 조합된 단일특이성 결합제에 비해 더 높은 정도의 ADCC의 유도.

[0016] 3. 더 지향된/국소화된 면역 활성화. 면역 활성화는 높은 CTLA-4 발현과 OX40 발현을 둘 다 포함하는 환경에서만 일어난다. 종양 미세환경은 이러한 환경이다. 이는 효과를 증가시키기 위한 그리고 또한 독성 부작용을 최소화하기 위한 잠재력을 가진다. 따라서, 치료적 창이 증가될 것이다.

[0017] 예시적인 실시형태에서, 이중특이성 폴리펩타이드는 하기에 특이적으로 결합할 수 있다:

[0018] (a) OX40 및 CTLA-4;

[0019] (b) OX40 및 CD137; 또는

[0020] (c) CD137 및 CTLA-4.

[0021] "폴리펩타이드"는 본 명세서에서 2 이상의 서브유닛 아미노산, 아미노산 유사체, 또는 다른 펩티도미메틱 (peptidomimetic)의 화합물을 지칭하기 위한 그의 가장 넓은 의미로 사용된다. 따라서 상기 용어 "폴리펩타이드"는 짧은 펩타이드 서열 및 또한 더 긴 폴리펩타이드 및 단백질을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "아미노산"은 D 또는 L 광학 이성질체, 및 아미노산 유사체 및 펩티도미메틱을 포함하는 천연 및/또는 비천연 또는 합성 아미노산 중 하나를 지칭한다.

[0022] 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 "이중특이성"은 폴리펩타이드가 적어도 2개의 표적 독립체에 특이적으로 결합할 수 있다는 것을 의미한다.

[0023] 일 실시형태에서, 제1 결합 도메인 및/또는 제2 결합 도메인은 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0024] 예를 들어, 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 하기를 포함할 수 있다:

[0025] (i) 항체 가변 도메인 또는 이의 부분을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 제1 결합 도메인 및 항체 가변 도메인 또는 이의 부분을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 제2 결합 도메인; 또는

[0026] (ii) 항체 가변 도메인 또는 이의 부분을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 제1 결합 도메인 및 항체 가변 도메인 또는 이의 부분이 아닌 제2 결합 도메인.

[0027] 따라서, 일 실시형태에서, 폴리펩타이드는 이중특이성 항체이다.

[0028] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "항체" 또는 "항체들"은 항원 결합 부위, 예를 들어, 면역글로불린 분자를 함유하는 분자 및 항원 결합 부위를 함유하는 면역글로불린 분자의 면역학적으로 활성인 단편을 지칭한다. 면역글로불린 분자는 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 분류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2) 또는 면역글로불린 분자의 하위분류를 가질 수 있다. 항체는 합성 항체, 단클론성 항체, 단일 도메인 항체, 단일쇄 항체, 재조합적으로 생성된 항체, 다중-특이성 항체(이중특이성 항체를 포함), 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 인트라바디, scFv(예를 들어, 단일-특이성 및 이중-특이성 등을 포함), Fab 단편, F(ab') 단편, 이황화 결합된 Fv(sdFv), 항-유전자형(항-Id) 항체, 및 상기 중 임의의 에피토프-결합 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0029] 용어 "로 항하는" 또는 "에 대한" 항체는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되며, 특정 표적/마커/에피토프/항원에서 그의 결합 특이성(들)을 지시하도록 구성된 항체, 즉, 특정 표적/마커/에피토프/항원에 면역특이적으로 결합하는 항체를 지칭한다. 또한, "로 항하는" 또는 "에 대한"과 동일한 정의를 갖는 특정 표적/마커/에피토프"에 선택적인" 항체라는 표현이 사용될 수 있다. 두 상이한 표적/ 마커/에피토프/항원에 대한(선택적인) 이중 특이성 항체는 표적/마커/에피토프/항원에 면역특이적으로 결합한다. 항체가 특정 표적 항원, 예컨대 CD137로 항한다면, 따라서 상기 항체는 상기 표적 항원 구조 상에 존재하는 임의의 적합한 에피토프로 항할 수 있다는 것이 추정된다.

[0030] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "항체 단편"은 F(ab')₂, F(ab)₂, Fab', Fab, Fv, scFv 등과 같은 항체의 일부이다. 구조와 상관없이, 항체 단편은 무손상 항체에 의해 인식되는 동일한 항원에 결합한다. 예를 들어, 항-OX4 항체 단편은 OX40에 결합한다. 용어 "항체 단편"은 또한 중쇄 및 경쇄의 가변 영역으로 이루어진 단리된 단편, 예컨대 "Fv" 단편 및 경쇄 및 중쇄 가변 영역이 펩타이드 링커에 의해 연결되는 재조합 단일쇄 폴리펩타이드 분자("scFv 단백질")를 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같은 용어 "항체 단편"은 항원 결합 활성, 예컨대 Fc 단편 또는 단일 아미노산 잔기가 없는 항체의 부분을 포함하지 않는다.

[0031] ScFv는 본 발명의 이중특이성 항체 내에 포함되는 것이 특히 바람직하다.

[0032] 따라서, 본 발명의 이중특이성 항체의 예시적인 실시형태에서:

[0033] (a) 결합 도메인 B1 및/또는 결합 도메인 B2는 무손상 IgG 항체이고(또는 함께 무손상 IgG 항체를 형성한다);

- [0034] (b) 결합 도메인 B1 및/또는 결합 도메인 B2는 Fv 단편(예를 들어, scFv)이며;
- [0035] (c) 결합 도메인 B1 및/또는 결합 도메인 B2는 Fab 단편이고; 그리고/또는
- [0036] (d) 결합 도메인 B1 및/또는 결합 도메인 B2는 단일 도메인 항체(예를 들어, 도메인 항체 및 나노바디)이다.
- [0037] 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 몇몇 상이한 구조적 형식을 가질 수 있다는 것이 당업자에 의해 인식될 것이다(예를 들어, 문헌[Chan & Carter, 2016, *Nature Reviews Immunology* 10, 301-316] 참조, 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨).
- [0038] 예시적인 실시형태에서, 이중특이성 항체는 하기 (a) 내지 (h)로 이루어진 군으로부터 선택된다:
- [0039] (a) 2가 이중특이성 항체, 예컨대 IgG-scFv 이중특이성 항체(예를 들어, B1은 무손상 IgG이고, B2는 IgG의 경쇄의 N-말단에서 및/또는 경쇄의 C-말단에서 및/또는 중쇄의 N-말단에서 및/또는 중쇄의 C-말단에서 B1에 부착되는 scFv이거나, 또는 그 반대이다);
- [0040] (b) 1가 이중특이성 항체, 예컨대 듀오바디(DuoBody)(등록상표)(덴마크 코펜하겐에 소재한 젠맙 AS(젠맙 AS)) 또는 '놉-인-홀(knob-in-hole)' 이중특이성 항체(예를 들어, scFv-KIH, scFv-KIH^r, BiTE-KIH 또는 BiTE- KIH^r(문헌[Xu et al., 2015, *mbAbs* 7(1):231-242] 참조);
- [0041] (c) scFv₂-Fc 이중특이성 항체(예컨대, 이머전트 바이오솔루션스 인코포레이티드(Emergent Biosolutions Inc))로부터의 ADAPTIR(상표명) 이중특이성 항체);
- [0042] (d) BiTE/scFv₂ 이중특이성 항체;
- [0043] (e) DVD-Ig 이중특이성 항체;
- [0044] (f) DART-기반 이중특이성 항체(예를 들어, DART₂-Fc, DART₂-Fc 또는 DART);
- [0045] (g) DNL-Fab₃ 이중특이성 항체; 및
- [0046] (h) scFv-HSA-scFv 이중특이성 항체.
- [0047] 예를 들어, 이중특이성 항체는 IgG-scFv 항체일 수 있다. IgG-scFv 항체는 VH-VL 또는 VL-VH 배향 중 하나일 수 있다. 일 실시형태에서, scFv는 VH와 VL 사이의 S-S 브릿지에 의해 안정화될 수 있다.
- [0048] 일 실시형태에서, 결합 도메인 B1 및 결합 도메인 B2는 서로 직접적으로 융합된다.
- [0049] 대안의 실시형태에서, 결합 도메인 B1 및 결합 도메인 B2는 폴리펩타이드 링커를 통해 결합된다. 예를 들어, 폴리펩타이드 링커는 약 10 내지 약 25개 아미노산의 짧은 링커 웹타이드일 수 있다. 링커는 가요성을 위해 보통 글리신이 풍부할 뿐만 아니라 용해도를 위해 세린 또는 트레오닌이 풍부하고, VH의 N-말단을 VL의 C-말단과 연결할 수 있고, 또는 그 반대이다. 예시적인 링커는 서열번호 47 내지 50, 또는 144 중 임의의 하나에 나타낸 바와 같은 아미노산 서열의 웹타이드를 포함한다. 서열 GGGGSGGGSGGGGS(서열번호 144)의 웹타이드가 특히 바람직하다. 항-CD137 부분에 본 발명의 이중특이성 항체의 항-OX40 부분을 결합하기 위해 동일한 링커가 사용될 수 있다.
- [0050] 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 당업계에서 사용되는 임의의 공지된 적합한 방법에 의해 제조될 수 있다. 본 발명의 이중특이성 항체의 제조방법은 BiTE(마이크로메트(Micromet)), DART(마크로제닉스(MacroGenics)), Fcab 및 Mab²(F-스타(F-star)), Fc-조작 IgG1(젠크(Xencor)) 또는 듀오바디(DuoBody)(Fab 아암(arm) 교환에 기반, 젠맙)을 포함한다. 이중-특이성 항체를 제조하는 데 유용한 다른 플랫폼의 예는 WO 2008/119353(젠탑), WO 2011/131746(젠탑)에 기재되어 있고, 문헌[van der Neut- Kolfschoten et al. (2007, *Science* 317(5844):1554-7)]에 의해 보고된 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 전통적인 방법, 예컨대 혼성 하이브리도마 및 화학적 접합 방법(Marvin and Zhu (2005) *Acta Pharmacol Sin* 26: 649)이 또한 사용될 수 있다. 상이한 중쇄 및 경쇄로 이루어진 두 항체의 속주 세포에서의 공동발현은 요망되는 이중특이성 항체에 추가로 가능한 항체 생성물의 혼합물을 유발하고, 이어서, 이는 친화도 크로마토그래피 또는 유사한 방법에 의해 단리될 수 있다.
- [0051] 이중특이성 항체는 인간 Fc 영역, 또는 상기 영역의 변이체를 포함하며, 상기 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 영역, 바람직하게는 IgG1 또는 IgG4 영역이라는 것이 당업자에 의해 인식될 것이다.

[0052] 면역계의 다양한 세포(예를 들어, 효과기 세포) 및 고전적 보체 시스템의 제1 성분(Clq)을 포함하는 항체의 불변(Fc) 영역은 숙주 조직 또는 인자에 대한 면역글로불린의 결합을 매개할 수 있다. Fc 영역은 바람직하게는 인간 Fc 영역, 또는 상기 영역의 변이체이다. Fc 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 영역, 바람직하게는 IgG1 또는 IgG4 영역일 수 있다. Fc 영역의 변이체는 폴리펩타이드의 개선된 기능 및/또는 반감기를 제공하는 변경된 친화도를 갖는 Fc 수용체, 예컨대 Fc감마R 및/또는 신생아 Fc 수용체(FcRn)에 전형적으로 결합한다. 생물학적 기능 및/또는 반감기는 천연 Fc 영역을 포함하는 폴리펩타이드의 반감기에 비해 증가 또는 감소될 수 있다. 변이체 Fc 영역의 존재에 의해 조절될 수 있는 이러한 생물학적 기능의 예는 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC), 항체-의존적 세포의 식세포 작용(ADCP), 보체-의존적 세포독성(CDC) 및/또는 세포자멸사를 포함한다.

[0053] (완전한 중쇄를 형성하기 위한) 본 명세서에 개시된 임의의 VH 영역 서열과 조합될 수 있는 예시적인 중쇄 불변 영역 아미노산 서열은 본 명세서에서 재현되는 IgG1 중쇄 불변 영역 서열이다:

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPALQ
SSGLYSLSSVVTPSSSLGTQTYICNVNKHPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPEL
LGGPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPR
EEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
PPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

(서열 번호 135)

[0054] 다른 중쇄 불변 영역 서열은 당업계에 공지되어 있으며, 또한 본 명세서에 개시된 임의의 VH 영역과 조합될 수 있었다. 예를 들어, 바람직한 불변 영역은 변형된 IgG4 불변 영역, 예컨대 본 명세서에 재현된 것이다:

```
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPALQ
SSGLYSLSSVVTPSSSLGTKYTCNCNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG
GPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVGVEVHNAKTKPREE
QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNRYTQKSLSLSPGK
```

(서열 번호 137)

[0055] 이 변형된 IgG4 서열은 감소된 FcRn 결합을 나타내며, 따라서, 야생형 IgG4에 비해 감소된 혈청 반감기를 초래 한다. 추가로, 이는 IgG4를 더 안정하게 만들어서 Fab 아암 교환을 방지하는, IgG4의 코어 힌지의 안정화를 나타낸다.

[0056] 다른 바람직한 불변 영역은 변형된 IgG4 불변 영역, 예컨대 본 명세서에 재현된 것이다:

```
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPALQ
SSGLYSLSSVVTPSSSLGTKYTCNCNDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLG
GPSVFLFPPKPKDLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVGVEVHNAKTKPREE
QFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPP
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

(서열 번호 139)

[0057] 이 변형된 IgG4 서열은 IgG4를 더 안정하게 만들어서 Fab 아암 교환을 방지하는 IgG4의 코어 힌지의 안정화를 초래한다.

[0061]

또한 야생형 IgG4 불변 영역, 예컨대 본 명세서에 재현된 것이 바람직하다:

```
ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLG
GPSVFLFPKPDKDTLMISRTPEVTCVVVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVTLP
SQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLT
VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
```

(서열 번호 138)

[0062]

(완전한 경쇄를 형성하기 위해) 본 명세서에 개시된 임의의 VL 영역 서열과 조합될 수 있는 예시적인 경쇄 불변 영역 아미노산 서열은 본 명세서에 재현된 카파쇄 불변 영역 서열이다:

```
RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFRGE
```

(서열 번호 136)

[0064]

다른 경쇄 불변 영역 서열은 당업계에 공지되어 있으며, 또한 본 명세서에 개시된 임의의 VL 영역과 조합될 수 있다.

[0066]

항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이하에 더 상세하게 설명하는 바람직한 결합 특징 및 기능적 효과를 가진다. 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 바람직하게는 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드의 부분으로서 혼입될 때 이를 결합 특징 및 기능적 효과를 보유한다.

[0067]

일 실시형태에서, 항원-결합 단편은 Fv 단편(예컨대, 단일쇄 Fv 단편, 또는 이황화-결합 Fv 단편), Fab-유사 단편(예컨대, Fab 단편; Fab' 단편 또는 F(ab)₂ 단편) 및 도메인 항체로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.

[0068]

일 실시형태에서, 이중특이성 폴리펩타이드는 카파쇄의 C-말단 부분에 융합된 비-면역글로불린 폴리펩타이드(예컨대, CTLA-4 결합 도메인, 예를 들어, CD86 또는 이의 돌연변이 형태, 예컨대 서열번호 17; 이하 참조)를 지니는 IgG1 항체일 수 있다.

[0069]

일 실시형태에서, 이중특이성 폴리펩타이드는 중쇄 감마 1의 C-말단 끝에 융합된 scFv 단편을 지니는 IgG1 항체일 수 있다.

[0070]

일 실시형태에서, 이중특이성 폴리펩타이드는 두 상이한 표적에 대한 2 내지 4개의 scFv 결합을 포함할 수 있다.

[0071]

"T 세포 표적"에 의해 본 발명자들은 활성화 또는 비활성화 상태에서 CD3+ T 세포의 세포막 내에 위치된 폴리펩타이드 수용체를 포함한다. 이러한 막-결합 수용체는 그들이 투여 후 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드에 의해 접근되는 것을 위해 세포외로 노출될 수 있다.

[0072]

T 세포 표적이 세포의 표면 상에 국한될 수 있다는 것은 당업자에 의해 인식될 것이다. "세포의 표면 상에 국한된"은 T 세포 표적 중 하나 이상이 세포 표면의 외면 상에 존재하도록 T 세포 표적이 세포와 연결된다는 것을 의미한다. 예를 들어, T 세포 표적은 세포의 표면 상에 존재하는 하나 이상의 영역을 지니는 세포 원형질막 내로 삽입될 수 있다(즉, 막관통단백질로서 배향됨). 이는 세포에 의한 T 세포 표적의 발현 과정에서 일어날 수 있다. 따라서, 일 실시형태에서, "세포의 표면 상에 국한된"은 "세포의 표면 상에서 발현된"을 의미할 수 있다. 대안적으로, T 세포 표적은 세포 표면의 특정 영역 또는 영역들에 그들을 국한시키는 공유 및/또는 이온 상호작용을 지니는 세포 외부에 있을 수 있다.

[0073]

일 실시형태에서, 제1 T 세포 표적 및/또는 제2 T 세포 표적은 관문 분자일 수 있다. 예를 들어, 일 실시형태에서, 제1 T 세포 표적 및/또는 제2 T 세포 표적은 공동자극 또는 공동저해 분자이다.

[0074]

"공동자극"에 의해 본 발명자들은 T 세포 활성화를 촉진시킬 수 있는 공동-신호전달 분자를 포함한다. "공동-저해"에 의해 본 발명자들은 T 세포 활성화를 억제할 수 있는 공동-신호전달 분자를 포함한다.

[0075]

따라서, 일 실시형태에서, T 세포 표적 중 적어도 하나는 자극 관문 분자(예컨대, CD137, GITR, CD27, CD28, ICOS 및 OX40)일 수 있다. 유리하게는, 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 자극 관문 분자에서 작용제이다.

- [0076] 대안적으로 또는 추가적으로, T 세포 표적 중 적어도 하나는 저해 관문 분자(예컨대, CTLA-4, PD-1, Tim3, Lag3, Tigit 또는 VISTA)일 수 있다. 유리하게는, 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 저해 관문 분자에서 길 항체이다.
- [0077] 일 실시형태에서, T 세포 표적 중 적어도 하나는 TNFR(종양 괴사 인자 수용체) 슈퍼페밀리 구성원이다. TNFR 슈퍼페밀리 구성원에 의해, 본 발명자들은 세포외 시스테인-풍부 도메인을 통해 종양 괴사 인자(TNF)에 결합하는 능력을 특징으로 하는 사이토카인 수용체를 포함한다. TNFR의 예는 OX40 및 CD137을 포함한다.
- [0078] 일 실시형태에서, 제1 T 세포 표적 및/또는 제2 T 세포 표적은 OX40, CTLA-4, CD137, CD40 및 CD28로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다. 예를 들어, 제1 T 세포 표적 및/또는 제2 T 세포 표적은 OX40, CTLA-4 및 CD137로 이루어진 군으로부터 선택될 수 있다.
- [0079] 본 발명의 이중특이성 항체는 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC), 항체-의존적 세포의 죽세포 작용(ADCP), 보체-의존적 세포독성(CDC), 및/또는 세포자멸사를 유도할 수 있다는 것이 당업자에 의해 인식될 것이다.
- [0080] 추가 실시형태에서, 폴리펩타이드는 종양 면역을 유도할 수 있다. 이는, 예를 들어, IL-2 및 IFN γ 생성을 측정함으로써 T 세포 활성화 분석에서 시험관내에서 시험될 수 있다. 효과기 T 세포의 활성화는 종양 특이적 T 세포 반응이 생체내에서 달성을 수 있다는 것을 나타낼 것이다. 추가로, 생체내 모델, 예컨대 마우스 모델에서 항-종양 반응은 종양에 대한 성공적인 면역 반응이 달성을 수 있다는 것을 나타낼 것이다.
- [0081] 항체는 T 세포 표적을 발현시키는 세포의 활성을 조절할 수 있어, 상기 조절은 상기 세포 활성의 증가 또는 감소이다. 세포는 전형적으로 T 세포이다. 상기 항체는 CD4+ 또는 CD8+ 효과기 세포의 활성을 증가시킬 수 있거나, 또는 조절 T 세포(Treg)의 활성을 감소시킬 수 있다. 어느 경우에나, 항체의 순 효과는 효과기 T 세포, 특히 CD4+ 효과기 T 세포 활성의 증가일 수 있다. 효과기 T 세포 활성의 변화를 결정하기 위한 방법은 잘 공지되어 있으며, 예를 들어, 대조군의 존재 하에서 T 세포 IL-2 생성 및/또는 T 세포 증식 수준에 비해 항체의 존재 하에서 T 세포 IL-2 생성 수준의 증가 또는 T 세포 증식의 증가를 측정하는 단계를 포함한다. 세포 증식 및/또는 IL-2 생성에 대한 분석을 잘 공지되어 있으며, 실시예에 예시되어 있다.
- [0082] 예를 들어, ELISA, 웨스턴 블롯, RIA 및 유세포 분석을 포함하는 표적에 대한 리간드의 결합 능력을 평가하기 위한 표준 분석은 당업계에 잘 공지되어 있다. 폴리펩타이드의 결합 역학(예를 들어, 결합 친화도)은 또한 당업계에 공지된 표준 분석에 의해, 예컨대 표면 플라즈몬 공명 분석(SPR)에 의해 평가될 수 있다.
- [0083] 용어 "결합 활성" 및 "결합 친화도"는 표적에 결합되는 또는 결합되지 않는 폴리펩타이드 분자의 경향을 지칭하도록 의도된다. 결합 친화도는 폴리펩타이드 및 그의 표적에 대한 해리 상수(Kd)를 결정함으로써 정량화될 수 있다. 더 낮은 Kd는 표적에 대해 더 높은 친화도를 나타낸다. 유사하게, 표적에 대한 폴리펩타이드의 결합의 특이성은 폴리펩타이드 및 다른, 비표적 분자에 대한 해리 상수에 비해 표적에 대한 폴리펩타이드의 비교적 해리 상수(Kd)에 관해 정해질 수 있다.
- [0084] 해리상수의 값은 잘 공지된 방법에 의해 직접적으로 결정될 수 있고, 예를 들어, 문헌[Caceci *et al.* (Byte 9:340-362, 1984; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)]에 제시된 것과 같은 방법에 의해 복잡한 혼합물에 대해서 조차 계산될 수 있다. 예를 들어, Kd는 문헌[Wong & Lohman (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90, 5428-5432, 1993)]에 개시된 것과 같은 이중-필터 나이트로셀룰로스 필터 결합 분석을 이용하여 확립될 수 있다. 예를 들어, ELISA, 웨스턴 블롯, RIA, 및 유세포 분석을 포함하는 표적에 대한 항체와 같은 리간드의 결합 능력을 평가하기 위한 다른 분석은 당업계에 공지되어 있다. 항체의 결합 역학(예를 들어, 결합 친화도)은 또한 당업계에 공지된 표준 분석, 예컨대 비아코어(Biacore)(상표명) 시스템 분석에 의해 평가될 수 있다.
- [0085] 표적에 대한 항체의 결합이 표적, 예컨대 다른 항체의 다른, 공지된 리간드에 의한 표적의 결합에 비교될 수 있는 경쟁적 결합 분석이 수행될 수 있다. 50% 저해가 일어나는 농도는 Ki로서 알려져 있다. 이상적인 조건 하에서, Ki는 Kd와 동등하다. Ki 값은 결코 Kd 미만이 아닐 것이며, 따라서 Ki의 측정은 Kd에 대한 상한을 제공하도록 편리하게 치환될 수 있다.
- [0086] 결합 친화도의 대안의 측정은 EC50 또는 IC50을 포함한다. 이와 관련하여 EC50은 폴리펩타이드가 정량의 표적에 대한 그의 최대 결합의 50%를 달성하는 농도를 나타낸다. IC50은 폴리펩타이드가 정량의 표적에 대한 정량의 경쟁자의 최대 결합의 50%를 저해하는 농도를 나타낸다. 두 경우 모두에서, EC50 또는 IC50 중 더 낮은 수준은 표적에 대한 더 높은 친화도를 나타낸다. 표적에 대한 리간드의 EC50 및 IC50 값은 둘 다 잘 공지된 방법, 예를 들어 ELISA에 의해 결정될 수 있다. 폴리펩타이드의 EC50 및 IC50을 평가하기 위한 적합한 분석은 실시예에 제

시한다.

[0087] 본 발명의 폴리펩타이드는 다른 비표적 분자에 대한 결합에 대한 그의 친화도보다 적어도 2-배, 10-배, 50-배, 100-배 이상인 친화도로 그의 표적에 바람직하게 결합할 수 있다.

[0088] 본 발명의 폴리펩타이드는 임의의 적합한 수단에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 모두 또는 부분은 상기 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드를 포함하는 세포에 의해 융합 단백질로서 발현될 수 있다.

[0089] 대안적으로 부분 B1 및 B2는 별도로 생성될 수 있고, 이어서, 후속적으로 함께 결합될 수 있다. 결합은, 예를 들어 상기 약술한 화학적 접합 방법 및 링커를 이용하여 임의의 적합한 수단에 의해 달성될 수 있다. 부분 B1 및 B2의 별개의 생성은 임의의 적합한 수단에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어 선택적으로 별개의 세포에서 별개의 뉴클레오타이드로부터의 발현에 의해, 있는 그대로 이하에 더 상세하게 설명한다.

변이체

[0091] 이중특이성 폴리펩타이드 또는 이의 구성 결합 도메인(예컨대, OX40, CD137 및 CTLA-4 결합 도메인)은 본 명세서에 인용된 임의의 특정 아미노산 서열의 변이체 또는 단편을 포함할 수 있으며, 단, 폴리펩타이드 또는 결합 도메인은 그의 표적에 대한 결합을 보유한다. 일 실시형태에서, 항체 또는 항원 결합 단편의 변이체는 본 명세서에 인용된 서열의 CDR 서열을 보유할 수 있다. 예를 들어, 항-OX40 또는 항-CD137 항체는 표 B 및 H에 인용된 임의의 특정 아미노산 서열의 변이체 또는 단편을 포함할 수 있으며, 단, 항체는 그의 표적에 대한 결합을 보유한다. 이러한 변이체 또는 단편은 전형적으로 표 B 또는 H의 상기 서열의 CDR 서열을 보유할 수 있다. CTLA-4 결합 도메인은 표 C의 임의의 서열의 변이체를 포함할 수 있으며, 단, 결합 도메인은 그의 표적에 대한 결합을 보유한다.

[0092] 본 명세서에 인용된 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열 중 임의의 하나의 단편은 상기 아미노산 서열로부터의 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 12, 적어도 15, 적어도 18, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 연속적 아미노산을 포함할 수 있다.

[0093] 본 명세서에 인용된 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열 중 임의의 하나의 변이체는 상기 서열의 치환, 결실 또는 첨가일 수 있다. 변이체는 상기 서열로부터의 1, 2, 3, 4, 5, 10개까지, 20개까지, 30개 이상까지의 아미노산 치환 및/또는 결실을 포함할 수 있다. "결실" 변이체는 개개 아미노산의 결실, 아미노산의 작은 그룹, 예컨대 2, 3, 4 또는 5개 아미노산의 결실, 또는 더 큰 아미노산 영역의 결실, 예컨대 특정 아미노산 도메인의 결실 또는 다른 특징을 포함할 수 있다. "치환" 변이체는 바람직하게는 하나 이상의 아미노산의 동일한 수의 아미노산으로의 대체 및 보존적 아미노산 치환의 생성을 수반한다. 예를 들어, 아미노산은 유사한 특성을 갖는 대안의 아미노산, 예를 들어, 다른 염기성 아미노산, 다른 산성 아미노산, 다른 중성 아미노산, 다른 하전된 아미노산, 다른 친수성 아미노산, 다른 소수성 아미노산, 다른 극성 아미노산, 다른 방향족 아미노산 또는 다른 지방족 아미노산으로 치환될 수 있다. 적합한 치환체를 선택하기 위해 사용될 수 있는 20가지 주요 아미노산의 일부 특성은 다음과 같다:

Ala, A	지방족, 소수성, 중성	Met, M	소수성, 중성
Cys, C	극성, 소수성, 중성	Asn, N	극성, 친수성, 중성
Asp, D	극성, 친수성, 하전된 (-)	Pro, P	소수성, 중성
Glu, E	극성, 친수성, 하전된 (-)	Gln, Q	극성, 친수성, 중성
Phe, F	방향족, 소수성, 중성	Arg, R	극성, 친수성, 하전된 (+)
Gly, G	지방족, 중성	Ser, S	극성, 친수성, 중성
His, H	방향족, 극성, 친수성, 하전된 (+)	Thr, T	극성, 친수성, 중성
Ile, I	지방족, 소수성, 중성	Val, V	지방족, 소수성, 중성
Lys, K	극성, 친수성, 하전된 (+)	Trp, W	방향족, 소수성, 중성
Leu, L	지방족, 소수성, 중성	Tyr, Y	방향족, 극성, 소수성

[0094]

[0095] 본 명세서의 아미노산은 완전한 명칭, 3글자 암호 또는 한 글자 암호에 의해 언급될 수 있다.

[0096] 바람직한 "유도체" 또는 "변이체"는 천연 유래 아미노산 대신에 서열에서 나타나는 아미노산이 이의 구조적 유사체인 것을 포함한다. 서열에서 사용되는 아미노산은 또한 유도체화 또는 변형, 예를 들어, 표지될 수 있으며, 단, 항체의 기능은 상당히 유해하게 영향받지 않는다.

[0097] 상기 기재된 바와 같은 유도체 및 변이체는 항체의 합성 동안에 또는 생성 후 변형에 의해 또는 항체가 부위 지정 돌연변이유발, 무작위 돌연변이유발 또는 효소 절단 및/또는 혼란의 결찰의 공지된 기법을 이용하는 재조합

형태일 때 제조될 수 있다.

[0098] 바람직하게는, 변이체는 본 명세서에 개시된 서열에 나타낸 바와 같은 서열에 대해 60% 초과, 또는 70% 초과, 예를 들어, 75 또는 80%, 바람직하게는 85% 초과, 예를 들어, 90 또는 95% 초과의 아미노산 동일성을 갖는 아미노산 서열을 가진다. 이런 수준의 아미노산 동일성은 전장 폴리펩타이드의 크기에 따라 적절한 서열번호 서열의 전장을 가로질러 또는 서열의 부분에 걸쳐, 예컨대 20, 30, 50, 75, 100, 150, 200개 이상의 아미노산에 걸쳐 보일 수 있다.

[0099] 아미노산 서열과 관련하여, "서열 동일성"은 다음의 매개변수와 함께 ClustalW를 이용하여 평가할 때 언급된 값을 갖는 서열에 관한 것이다(Thompson *et al.*, 1994, *Nucleic Acids Res.* 22(22):4673-80; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨):

[0100] 쌍별 정렬 매개변수-방법: 정확한, 매트릭스: PAM, Gap 오픈 페널티: 10.00, 캡 익스텐션 페널티: 0.10;

[0101] 다중 정렬 매개변수-매트릭스: PAM, 캡 오픈 페널티: 10.00, 지연에 대한 동일성: 30, 페널티를 부과한 말단 캡: on, 캡 분리 거리: 0, 음의 매트릭스: no, 캡 익스텐션 페널티: 0.20, 잔기-특이적 캡 페널티: on, 친수성 캡 페널티: on, 친수성 잔기: GPSNDQEKR. 특정 잔기에서 서열 동일성은 단순히 유도체화된 동일한 잔기를 포함하는 것으로 의도된다.

폴리뉴클레오타이드, 벡터 및 세포

[0103] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리펩타이드의 모두 또는 부분을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 관한 것이다. 따라서, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 폴리펩타이드, 또는 B1의 모두 또는 부분 또는 B2의 모두 또는 부분을 암호화할 수 있다. 용어 "핵산 분자" 및 "폴리뉴클레오타이드"는 본 명세서에서 상호 호환적으로 사용되며, 데옥시리보뉴클레오타이드 또는 리보뉴클레오타이드 중 하나의 임의의 길이의 뉴클레오타이드의 중합체 형태를 지칭한다. 폴리뉴클레오타이드의 비제한적 예는 유전자, 유전자 단편, 전령 RNA(mRNA), cDNA, 재조합 폴리뉴클레오타이드, 플라스미드, 벡터, 임의의 서열의 단리된 DNA, 임의의 서열의 단리된 RNA, 핵산 프로브 및 프라이머를 포함한다. 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 단리된 또는 실질적으로 단리된 형태로 제공될 수 있다. 실질적으로 단리된은 실질적이지만, 전체는 아닌, 임의의 주변 배지로부터의 폴리펩타이드의 단리가 있을 수 있다는 것을 의미한다. 폴리뉴클레오타이드는 그들의 의도된 사용을 방해하지 않고 여전히 실질적으로 단리된으로서 고려되는 담체 또는 화석제와 혼합될 수 있다.

[0104] 선택된 폴리펩타이드를 "암호화하는" 핵산 서열은 적절한 조절 서열의 제어 하에 놓일 때 생체내에서 폴리펩타이드로 (DNA의 경우) 전사되고 (mRNA의 경우) 번역된 핵산 분자이다. 암호 서열의 경계는 5'(아미노) 말단에서 시작 코돈 및 3'(카복시) 말단에서 번역 중단 코돈에 의해 결정된다. 본 발명의 목적을 위해, 이러한 핵산 서열은 바이러스로부터의 cDNA, 원핵 또는 진행 mRNA, 바이러스 또는 원핵 DNA 또는 RNA로부터의 계놈 서열 및 심지어 합성 DNA 서열을 포함할 수 있지만, 이들로 제한되지 않는다. 전사 종결 서열은 암호 서열에 대해 3'에 위치될 수 있다.

[0105] 항체의 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열의 예를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 개시된 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나, 예를 들어 표 B 또는 H에 제시된 서열을 포함하거나 또는 이루어질 수 있다. 표 D, G 또는 H에 나타낸 폴리펩타이드를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 표 D, G 또는 H에 또한 나타낸 대응하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 또는 이루어질 수 있다(인트론 서열을 소문자로 나타낸다). CTLA-4 결합 도메인의 예를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 표 E에 나타낸 바와 같은 서열번호 25 내지 43 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이루어질 수 있다.

[0106] 적합한 폴리뉴클레오타이드 서열은 대안적으로 이들 특정 폴리뉴클레오타이드 서열 중 하나의 변이체일 수 있다. 예를 들어, 변이체는 임의의 상기 핵산 서열의 치환, 결실 또는 첨가 변이체일 수 있다. 변이체 폴리뉴클레오타이드는 서열 목록에서 주어진 서열로부터의 1, 2, 3, 4, 5, 10개까지, 20개까지, 30개까지, 40개까지, 50개까지, 75개 이상까지의 핵산 치환 및/또는 결실을 포함할 수 있다.

[0107] 적합한 변이체는 본 명세서에 개시된 핵산 서열 중 임의의 하나의 폴리뉴클레오타이드에 대해 적어도 70% 상동성, 바람직하게는 그에 대해 적어도 80 또는 90% 및 더 바람직하게는 적어도 95%, 97% 또는 99% 상동성일 수 있다. 바람직하게는, 이들 수준에서 상동성 및 동일성은 적어도 폴리뉴클레오타이드의 암호 영역에 대해 존재한다. 상동성을 측정하는 방법은 당업계에 잘 공지되어 있으며, 본 내용에서, 상동성은 핵산 동일성에 기반하여 계산된다는 것이 당업자에 의해 이해될 것이다. 이러한 상동성은 적어도 15개, 바람직하게는 적어도 30개, 예를 들어, 적어도 40, 60, 100, 200개 이상의 인접한 뉴클레오타이드의 영역에 걸쳐 존재할 수 있다. 이러한

상동성은 비변형 폴리뉴클레오타이드 서열의 전체 길이에 걸쳐 존재할 수 있다.

[0108] 폴리뉴클레오타이드 상동성 또는 동일성을 측정하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어 UWGCG 패키지는 상동성을 계산하기 위해 사용될 수 있는(예를 들어, 그의 디폴트 설정에 대해 사용되는) BESTFIT 프로그램을 제공한다(Devereux *et al*, 1984, *Nucleic Acids Research* 12:387-395; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨).

[0109] PILEUP 및 BLAST 알고리즘은 또한, 예를 들어 문헌[Altschul, 1993, *J Mol Evol* 36:290-300; Altschul *et al*, 1990, *J Mol Biol* 215:403-10, 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨]에 기재된 바와 같이 (전형적으로 그들의 디폴트 설정에 대해) 상동성 또는 라인업 서열을 계산하기 위해 사용된다.

[0110] BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국가생물공학센터(National Centre for Biotechnology Information)를 통해 공공연하게 이용 가능하다. 이 알고리즘은 데이터베이스 서열 내 동일 길이의 단어와 함께 정렬할 때 일부 양의 값 역치 스코어 T와 매칭되거나 또는 이를 충족시키는 질의 서열 내 길이 W의 짧은 단어를 확인함으로써 높은 스코어의 서열 쌍(HSP)을 처음으로 확인하는 것을 수반한다. T는 근처 단어 스코어 역치로서 지정된다(Altschul *et al*, 상기 참조). 이를 초기 근처 단어 히트는 그들을 포함하는 HSP를 찾기 위한 연구를 개시하기 위한 종자로서 작용한다. 단어 히트는 누적 정렬 스코어가 증가될 수 있는 한 각각의 서열을 따라서 방향 둘 다로 연장된다. 각각의 방향에서 단어 히트에 대한 연장은: 누적 정렬 스코어가 하나 이상의 음의-스코어링 잔기 정렬의 축적에 기인하여 0 이하로 진행될 때; 또는 서열 중 하나의 끝에 도달될 때에 중단된다. BLAST 알고리즘 매개변수 W, T 및 X는 정렬 민감성 및 속도를 결정한다. BLAST 프로그램은 디폴트로서 단어 길이(W) 11, BLOSUM62 스코어링 매트릭스(문헌[Henikoff & Henikoff, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915-10919]; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨) 정렬(B) 50, 예상치(E) 10, M=5, N=4, 및 가닥들 다의 비교를 사용한다.

[0111] BLAST 알고리즘은 두 서열 사이의 유사성의 통계학적 분석을 수행한다; 예를 들어, 문헌[Karlin & Altschul, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:5873-5787] 참조(이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨). BLAST 알고리즘에 의해 제공되는 유사성의 한 가지 측정은 두 뉴클레오타이드 또는 아미노산 서열이 우연히 생길 확률의 표시를 제공하는 가장 작은 합 획률(P(N))이다. 예를 들어, 제1 서열 대 제2 서열의 비교에서 가장 작은 합 획률이 약 1 미만, 바람직하게는 약 0.1 미만, 더 바람직하게는 약 0.01 미만, 및 가장 바람직하게는 약 0.001 미만이라면, 다른 서열과 유사한 것으로 고려된다.

[0112] 상동체는 3, 5, 10, 15, 20개 미만의 돌연변이만큼 적절한 폴리뉴클레오타이드 내 서열이 상이할 수 있다(이들 각각은 치환, 결실 또는 삽입일 수 있다). 이를 돌연변이는 상동체의 적어도 30, 예를 들어 적어도 40, 60 또는 100개 이상의 인접한 뉴클레오타이드의 영역에 걸쳐 측정될 수 있다.

[0113] 일 실시형태에서, 변이체 서열은 유전자 암호에서의 중복도(redundancy) 때문에 서열 목록에서 주어진 특정 서열로부터 변할 수 있다. DNA 암호는 4개의 1차 핵산 잔기(A, T, C 및 G)를 가지며, 유기체 유전자에서 암호화된 단백질의 아미노산을 나타내는 3글자 코돈의 "스펠링(spell)"을 위해 이들을 사용한다. DNA 문자에 따른 코돈의 선형 서열은 해당 유전자에 의해 암호화되는 단백질(들) 내 아미노산의 선형 서열로 번역된다. 암호는 20개의 천연 아미노산에 대해 61가지의 코돈 암호 및 "정지" 신호를 나타내는 3가지 코돈으로 고도로 축퇴된다. 따라서, 대부분의 아미노산은 하나 초과의 코돈에 의해 암호화되며 - 사실 몇몇은 4개 이상의 상이한 코돈에 의해 암호화된다. 따라서 본 발명의 변이체 폴리뉴클레오타이드는 본 발명의 다른 폴리뉴클레오타이드와 동일한 폴리펩타이드 서열을 암호화할 수 있지만, 동일한 아미노산을 암호화하는 상이한 코돈의 사용에 기인하여 상이한 핵산 서열을 가질 수 있다.

[0114] 따라서 본 발명의 폴리펩타이드는 암호화되고 그것을 발현시킬 수 있는 폴리뉴클레오타이드의 형태로부터 생성되거나 또는 그런 형태로 전달될 수 있다.

[0115] 본 발명의 폴리뉴클레오타이드는 문헌[Green & Sambrook (2012, Molecular Cloning - a laboratory manual, 4th edition; Cold Spring Harbor Press; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)]에서 예로서 기재된 바와 같이 당업계에 잘 공지된 방법에 따라 합성될 수 있다.

[0116] 본 발명의 핵산 분자는 삽입된 서열에 작동 가능하게 연결된 제어 서열을 포함하는 발현 카세트의 형태로 제공될 수 있고, 따라서 생체내에서 본 발명의 폴리펩타이드의 발현을 허용한다. 이를 발현 카세트는 결국 전형적으로 벡터(예를 들어, 플라스미드 또는 재조합 바이러스 벡터) 내에서 제공된다. 이러한 발현 카세트는 숙주 대상체에 직접 투여될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터는 숙주 대상체에게 투

여될 수 있다. 바람직하게는, 폴리뉴클레오타이드는 유전자 벡터를 이용하여 제조되고/되거나 투여된다. 적합한 벡터는 충분한 양의 유전자 정보를 운반할 수 있고, 본 발명의 폴리펩타이드의 발현을 허용하는 임의의 벡터일 수 있다.

[0117] 따라서 본 발명은 이러한 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 벡터를 포함한다. 이러한 발현 벡터는 분자 생물학 분야에서 일상적으로 구성되고, 본 발명의 웨პ타이드의 발현을 허용하기 위해, 예를 들어 플라스미드 DNA 및 적절한 개시제, 프로모터, 인핸서 및 기타 요소, 예를 들어 필요할 수 있는, 정확한 배향으로 위치될 수 있는 폴리아데닐화 신호의 사용을 수반할 수 있다. 다른 적합한 벡터는 당업자에게 분명할 것이다(문헌[Green & Sambrook] 참조, 상기 참조).

[0118] 본 발명은 또한 본 발명의 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 변형된 세포를 포함한다. 이러한 세포는 일시적인, 또는 바람직하게는 안정한 더 고등 진핵 세포주, 예컨대 포유류 세포 또는 곤충 세포, 하등 진핵 세포, 예컨대 효모 또는 원핵 세포, 예컨대 박테리아 세포를 포함한다. 본 발명의 폴리펩타이드를 암호화하는 벡터 또는 발현 카세트의 삽입에 의해 변형될 수 있는 세포의 특정 예는 포유류 HEK293T, CHO, HeLa, NSO 및 COS 세포를 포함한다. 바람직하게는, 선택된 세포주는 안정할 뿐만 아니라 폴리펩타이드의 성숙 글리코실화 및 세포 표면 발현을 허용하는 것일 것이다.

[0119] 본 발명의 이러한 세포주는 본 발명의 폴리펩타이드를 생성하기 위한 일상적인 방법을 이용하여 배양될 수 있거나, 또는 대상체에게 본 발명의 항체를 치료적으로 또는 예방적으로 전달하기 위해 사용될 수 있다. 대안적으로, 본 발명의 폴리펩타이드, 발현 카세트 또는 벡터는 생체밖에서 대상체로부터의 세포에 투여될 수 있고, 이어서, 대상체 신체로 복귀될 수 있다.

약제학적 제형, 치료적 용도 및 환자 그룹

[0121] 다른 양상에서, 본 발명은 본 발명의 분자, 예컨대 본 명세서에 기재된 항체, 이중특이성 폴리펩타이드, 폴리뉴클레오타이드, 벡터 및 세포를 포함하는 조성물을 제공한다. 예를 들어, 본 발명은 본 발명의 하나 이상의 분자, 예컨대 본 발명의 하나 이상의 항체 및/또는 이중특이성 폴리펩타이드, 및 적어도 하나의 약제학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0122] 본 명세서에 사용된 바와 같은 "약제학적으로 허용 가능한 담체"는 생리적으로 적합한 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 항박테리아제 및 항진균제, 등장제 및 흡수 지연제 등을 포함한다. 바람직하게는, 담체는 (예를 들어, 주사 또는 주입에 의한) 비경구, 예를 들어, 정맥내, 근육내 또는 피하 투여에 적합하다. 투여 경로에 따라서, 폴리펩타이드는 산, 및 폴리펩타이드를 비활성화 또는 변성시킬 수 있는 다른 천연 조건의 작용으로부터 폴리펩타이드를 보호하기 위해 물질에서 코팅될 수 있다.

[0123] 바람직한 약제학적으로 허용 가능한 담체는 수성 담체 또는 희석제를 포함한다. 본 발명의 조성물 중에서 사용될 수 있는 적합한 수성 담체의 예는 물, 완충수 및 식염수를 포함한다. 다른 담체의 예는 에탄올, 폴리올(예컨대, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜 등), 및 이들의 적합한 혼합물, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일, 및 주사용 유기 에스터, 예컨대 에틸 올레이트를 포함한다. 적절한 유동성은, 예를 들어 코팅 물질, 예컨대 레시틴의 사용에 의해, 분산물의 경우에 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 다수의 경우에 조성물 중에 등장제, 예를 들어 당, 폴리알코올, 예컨대 만니톨, 솔비톨 또는 염화나트륨을 포함하는 것이 바람직할 것이다.

[0124] 본 발명의 조성물은 또한 약제학적으로 허용 가능한 항산화제를 포함할 수 있다. 이를 조성물은 또한 보조제, 예컨대 보존제, 습윤제, 유화제 및 분산제를 함유할 수 있다. 미생물 존재의 방지는 멸균 절차(상기 참조)에 의해 그리고 다양한 항박테리아 및 항진균제, 예를 들어, 파라벤, 클로로뷰탄올, 페놀 솔브산 등의 포함에 의해 보장될 수 있다. 또한 등장제, 예컨대 당, 염화나트륨 등을 조성물 내로 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 추가로, 주사용 약제학적 형태의 장기간 흡수는 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴과 같은 흡수를 지연시키는 제제의 포함에 의해 달성될 수 있다.

[0125] 치료적 조성물은 전형적으로 제조 및 저장 조건 하에서 멸균이며 안정하여야 한다. 조성물은 용액, 마이크로에 멸균, 리포좀 또는 높은 약물 농도에 적합한 다른 규칙 구조로서 제형화될 수 있다.

[0126] 멸균 주사용 용액은 상기 열거한 성분 중 하나 또는 조합물과 함께 적절한 용매 중에서 필요한 양으로 활성제(예를 들어, 폴리펩타이드)를 혼입한 다음에, 필요하다면 멸균 미세여과에 의해 제조될 수 있다. 일반적으로, 분산물은 염기성 분산 매질 및 상기 열거한 것으로부터의 필요한 다른 성분을 함유하는 멸균 비히를 내로 활성제를 혼입함으로써 제조된다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우에, 바람직한 제조 방법은 활성제

의 분말 + 이의 이전의 멸균-여과된 용액으로부터의 임의의 추가적인 바람직한 성분을 수득하는 진공 건조 + 냉동 건조(동결건조)이다.

[0127] 특히 바람직한 조성물은 전신 투여를 위해 또는 국소 투여를 위해 제형화된다. 국소 투여는 종양 부위에 또는 종양 배출 림프절 내일 수 있다. 조성물은 바람직하게는 시간 기간에 걸쳐 지속 방출을 위해 제형화될 수 있다. 따라서, 조성물은 지속 방출을 용이하게 하는 기질 내에 또는 기질의 부분으로서 제공될 수 있다. 바람직한 지속 방출 기질은 몬타나이드 또는 γ -폴리글루탐산(PGA) 나노입자를 포함할 수 있다. 본 발명의 폴리펩타이드의 국소화된 방출은 선택적으로 지속된 시간 기간에 걸쳐, CTLA-4 길항제의 투여와 관련된 잠재적 자가면역 부작용을 감소시킬 것이다.

[0128] 본 발명의 조성물은 추가적인 활성 성분뿐만 아니라 본 발명의 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 상기 언급한 바와 같이, 본 발명의 조성물은 본 발명의 하나 이상의 폴리펩타이드를 포함할 수 있다. 그들은 또한 추가적인 치료제 또는 예방제를 포함할 수 있다.

[0129] 본 발명의 범주 내에 본 발명의 폴리펩타이드 또는 다른 조성물 및 사용을 위한 설명서를 포함하는 키트가 있다. 키트는 하나 이상의 추가적인 시약, 예컨대 상기 논의한 바와 같은 추가적인 치료제 또는 예방제를 추가로 함유할 수 있다.

[0130] 본 발명에 따른 폴리펩타이드는 치료 또는 예방에서 사용될 수 있다. 치료적 용도에서, 폴리펩타이드 또는 조성물은 병태 또는 그의 증상 중 하나 이상을 치료하거나, 완화시키거나 또는 부분적으로 저지하기에 충분한 양으로 이미 장애 또는 병태를 앓고 있는 대상체에게 투여된다. 이러한 치료적 치료는 질환 증상의 중증도 감소 또는 무증상 기간의 빈도 또는 지속기간의 증가를 초래할 수 있다. 이를 달성하기에 적합한 양은 "치료적 유효량"으로서 정의된다. 예방적 적용에서, 폴리펩타이드 또는 조성물은 증상의 진행을 예방하거나 또는 저지하는데 충분한 양으로 장애 또는 병태의 증상을 아직 나타내지 않은 대상체에게 투여된다. 이러한 양은 "예방적 유효량"으로서 정의된다. 대상체는 임의의 적합한 수단에 의해 질환 또는 병태가 발생할 위험 중에 있는 것으로 확인되었을 수 있다.

[0131] 특히, 본 발명의 항체 및 이중특이성 폴리펩타이드는 암의 치료 또는 예방에서 유용할 수 있다. 따라서, 본 발명은 암의 치료 또는 예방에서 사용하기 위한 본 발명의 항체 또는 이중특이성 폴리펩타이드를 제공한다. 본 발명은 또한 개체에게 본 발명의 폴리펩타이드를 투여하는 단계를 포함하는 암을 치료 또는 예방하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 암의 치료 또는 예방을 위한 의약의 제조에서 사용하기 위한 본 발명의 항체 또는 이중특이성 폴리펩타이드를 제공한다.

[0132] 암은 전립선암, 유방암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 폐암, 자궁경부암, 횡문근육종, 신경아세포종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 흑색종, 방광암, 위암, 두경부암, 간암, 피부암, 림프종 또는 교모세포종일 수 있다.

[0133] 본 발명의 항체 또는 이중특이성 폴리펩타이드, 또는 상기 항체 또는 상기 폴리펩타이드를 포함하는 조성물은 당업계에 공지된 다양한 방법 중 하나 이상을 이용하는 하나 이상의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 당업자에게 인식될 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 목적으로 하는 결과에 따라 다를 것이다. 전신 투여 또는 국소 투여가 바람직하다. 국소 투여는 종양 부위에서 또는 종양 배출 림프절 내로 일 수 있다. 본 발명의 폴리펩타이드 또는 조성물에 대한 바람직한 투여 방식은 정맥내, 근육내, 진피내, 복강내, 피하, 척추 또는, 예를 들어, 주사 또는 주입에 의하는 다른 비경구 투여 방식을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 어구 "비경구 투여"는 보통 주사에 의한, 장 이외의 투여 및 국소 투여 방식을 의미한다. 대안적으로, 본 발명의 폴리펩타이드 또는 조성물은 비경구 방식, 예컨대 국소, 상피 또는 점막 투여 방식을 통해 투여될 수 있다.

[0134] 본 발명의 항체 또는 폴리펩타이드의 적합한 투약량은 숙련된 의사에 의해 결정될 수 있다. 본 발명의 약제학적 조성물 중의 활성 성분의 실제 투약량 수준은 환자에 대한 독성 없이, 특정 환자, 조성물 및 투여 방식에 대한 목적으로 하는 치료적 반응을 달성하는 데 유효한 활성 성분의 양을 얻기 위해 변화될 수 있다. 선택된 투약량 수준은 사용되는 특정 폴리펩타이드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 폴리펩타이드의 배출 속도, 치료의 지속기간, 사용되는 특정 조성물과 조합하여 사용되는 기타 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료 중인 환자의 연령, 성별, 체중, 병태, 일반적 건강상태 및 이전의 의료 이력 및 의학 분야에서 잘 공지된 유사한 인자를 포함하는 다양한 약동학적 인자에 의존할 것이다.

[0135] 본 발명의 항체 또는 폴리펩타이드의 적합한 용량은 치료 중인 환자의, 예를 들어, 약 $0.1\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 $100\text{mg}/\text{kg}$ 체중의 범위에 있을 수 있다. 예를 들어, 적합한 투약량은 1일 당 약 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 내지 약 $10\text{mg}/\text{kg}$ 체중 또는 1일

당 약 10g/kg 내지 약 5mg/kg 체중일 수 있다.

[0136] 투약 요법은 최적의 목적으로 하는 반응(예를 들어, 치료적 반응)을 제공하도록 조절될 수 있다. 예를 들어, 단일 볼루스가 투여될 수 있으며, 몇몇 분할된 용량은 시간에 따라 투여될 수 있거나 또는 용량은 응급 치료 상황에 의해 나타나는 바와 비례해서 감소 또는 증가될 수 있다. 투여의 용이함 및 투약량의 균일함을 위해 투약 단위 형태에 비경구 조성물을 제형화하는 것이 특히 유리하다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 투약 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 일원화된 투약량으로서 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하고; 각각의 단위는 필요한 약제학적 담체와 함께 목적으로 하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 활성 화합물의 사전 결정된 양을 함유한다.

[0137] 항체 또는 폴리펩타이드는 단일 용량 또는 다회 용량으로 투여될 수 있다. 다회 용량은 동일 또는 상이한 경로를 통해 그리고 동일 또는 상이한 위치로 투여될 수 있다. 대안적으로, 항체 또는 폴리펩타이드는 상기 기재한 바와 같은 지속 방출 제형으로서 투여될 수 있으며, 이 경우에 더 빈번한 투여가 필요로 된다. 투약량 및 빈도는 환자에서의 폴리펩타이드의 반감기 및 요망되는 치료의 지속기간에 따라 다를 수 있다. 투약량 및 투여 빈도는 또한 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부에 따라 다를 수 있다. 예방적 용도에서, 상대적으로 낮은 투약량이 장기간의 시간에 걸쳐 상대적으로 빈번하지 않은 간격으로 투여될 수 있다. 치료적 용도에서, 예를 들어 환자가 질환 증상의 부분적 또는 완전한 개선을 나타낼 때까지 상대적으로 높은 투약량이 투여될 수 있다.

[0138] 2 이상의 제제의 병용 투여는 다수의 상이한 방법으로 달성될 수 있다. 일 실시형태에서, 항체 또는 폴리펩타이드 및 다른 제제는 단일 조성물 중에서 함께 투여될 수 있다. 다른 실시형태에서, 항체 또는 폴리펩타이드 및 다른 제제는 병용 요법의 부분으로서 별개의 조성물로 투여될 수 있다. 예를 들어, 조절제는 다른 제제 전에, 후에 또는 동시에 투여될 수 있다.

[0139] 본 발명의 항체, 폴리펩타이드 또는 조성물은 또한 제1 T 세포 표적과 제2 T 세포 표적을 발현시키는 세포 집단의 활성화를 증가시키는 방법에서 사용될 수 있고, 상기 방법은 본 발명의 상기 세포와 폴리펩타이드 사이의 상호작용을 허용하기에 적합한 조건 하에 상기 세포의 집단에 본 발명의 폴리펩타이드 또는 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 세포의 집단은 전형적으로 제1 T 세포 표적, 전형적으로 T 세포를 발현시키는 적어도 일부의 세포, 및 제2 T 세포 표적을 발현시키는 적어도 일부의 세포를 포함한다. 상기 방법은 전형적으로 생체밖에서 수행된다.

[0140] 예를 들어, 본 발명의 항체, 폴리펩타이드 또는 조성물은 또한 인간 OX40 및 인간 CTLA-4를 발현시키는 세포 집단의 활성화를 증가시키는 방법에서 사용될 수 있으며, 상기 방법은 상기 기재한 바와 같다.

[0141] 대안적으로, 본 발명의 항체, 폴리펩타이드 또는 조성물은 또한 인간 OX40 및 인간 CD137을 발현시키는 세포 집단의 활성화를 증가시키는 방법에서 사용될 수 있으며, 상기 방법은 상기 기재한 바와 같다.

[0142] 대안적으로, 본 발명의 항체, 폴리펩타이드 또는 조성물은 또한 인간 CTLA-4 및 인간 CD137을 발현시키는 세포 집단의 활성화를 증가시키는 방법에서 사용될 수 있으며, 상기 방법은 상기 기재한 바와 같다.

CD137에 대한 결합 도메인

[0144] 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 CD137에 특이적인 결합 도메인을 포함할 수 있다.

[0145] CD137에 특이적으로 결합하는 항체, 또는 이의 항원 결합 단편은 이하에 더 상세하게 설명하는 특정 바람직한 결합 특징 및 기능적 효과를 가진다. 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 바람직하게는 본 발명의 이중특이성 항체의 부분으로서 혼입될 때 이를 결합 특징 및 기능적 효과를 보유한다. 본 발명은 또한 상기 항체를 단리된 형태로, 즉, 본 발명의 이중특이성 항체와 독립적으로 항체 또는 이의 항원-결합 단편으로서 제공한다.

[0146] 항-CD137 항체는 바람직하게는 CD137에 특이적으로 결합하며, 즉, CD137에 결합하지만, 다른 분자에 결합하지 않거나 또는 낮은 친화도로 결합한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 CD137은 전형적으로 인간 CD137을 지칭한다. 인간 CD137의 서열은 서열번호 148(젠햄크(GenBank): AAH06196.1에 대응)에서 제시된다. 상기 항체는 다른 포유류로부터의 CD137, 예컨대 비-인간 영장류, 예를 들어 마카카 파시콜라리스(*Macaca fascicularis*)(사이노몰거스 원숭이)로부터의 CD137에 대해 일부 결합 친화도를 가질 수 있다. 상기 항체는 바람직하게는 뮤린 CD137에 결합하지 않고/않거나 다른 인간 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 예를 들어 인간 OX40 또는 CD40에 결합하지 않는다.

[0147] 상기 항체는 그의 천연 상태에서 CD137에 그리고 특히 세포의 표면 상에서 국소화된 CD137에 결합하는 능력을 가진다. 바람직하게는, 상기 항체는 CD137에 특이적으로 결합할 것이다. 즉, 본 발명의 항체는 바람직하게는 그

것이 다른 문자에 결합할 때보다 더 높은 결합 친화도로 CD137에 결합할 것이다.

[0148] "세포 표면 상에서 국소화된"은 앞서 나타낸 바와 같다.

[0149] 상기 항체는 CD137를 발현시키는 세포의 활성을 조절할 수 되, 상기 조절은 상기 세포 활성의 증가 또는 감소이다. 상기 세포는 전형적으로 T 세포이다. 상기 항체는 CD4+ 또는 CD8+ 효과기 세포의 활성을 증가시킬 수 있거나, 또는 조절 T 세포(T reg)의 활성을 감소시키거나, 또는 고갈시킬 수 있다. 어느 경우에나, 상기 항체의 순 효과는 효과기 T 세포, 특히 CD4+, CD8+ 또는 NK 효과기 T 세포 활성의 증가일 것이다. 효과기 T 세포 활성의 변화를 결정하기 위한 방법은 잘 공지되어 있으며, 앞서 기재한 바와 같다.

[0150] 상기 항체는 바람직하게는 시험관내에서 CD8+ T 세포 활성의 증가를 야기하되, 선택적으로 상기 활성의 증가는 T 세포에 의한 증식, IFN- γ 생성 및/또는 IL-2 생성의 증가이다. 증가는 바람직하게는 동일한 분석에서 측정되는 아이소타입 대조군 항체에 의해 야기되는 활성의 변화보다 적어도 2-배, 더 바람직하게는 적어도 10-배 및 훨씬 더 바람직하게는 적어도 25-배 더 높다.

[0151] 상기 항체는 바람직하게는 10×10^{-9} M 미만 또는 7×10^{-9} M 미만, 더 바람직하게는 4, 또는 2×10^{-9} M 미만, 가장 바람직하게는 1.2×10^{-9} M 미만인 Kd 값으로 인간 CD137에 결합한다.

[0152] 예를 들어, 상기 항체는 바람직하게는 뮤린 CD137 또는 임의의 다른 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 예컨대 OX40 또는 CD40에 결합하지 않는다. 따라서, 인간 CD137에 대한 항체에 대한 Kd는 다른, 비표적 분자, 예컨대 뮤린 CD137, 다른 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 또는 임의의 다른 비처리 물질 또는 환경에서 수반되는 물질에 대한 Kd 보다 2-배, 바람직하게는 5-배, 더 바람직하게는 10-배 더 적을 것이다. 더 바람직하게는, Kd는 50-배 더 적고, 훨씬 더 바람직하게는 100-배 더 적고, 더욱 더 바람직하게는 200-배 더 적을 것이다.

[0153] 이 해리상수의 값은 앞서 기재한 바와 같은 잘 공지된 방법에 의해 직접적으로 결정될 수 있다. 경쟁적 결합 분석은 또한 앞서 기재한 바와 같이 수행될 수 있다.

[0154] 본 발명의 항체는 바람직하게는 다른 비표적 분자에 대한 결합에 대한 친화도보다 적어도 2-배, 10-배, 50-배, 100-배 이상인 친화도로 그의 표적에 결합할 수 있다.

[0155] 따라서 요약하면, 항-CD137 항체는 바람직하게는 다음의 I 및 II의 기능적 특징 중 적어도 하나를 나타낸다:

[0156] I. 10×10^{-9} M 미만, 더 바람직하게는 1.2×10^{-9} M 미만인 Kd 값으로 인간 CD137에 결합; 및

[0157] II. 시험관내 CD8+ T 세포 활성의 증가를 야기할 수 되, 선택적으로 상기 활성의 증가는 상기 T 세포에 의한 증식, IFN- γ 생성 및/또는 IL-2 생성의 증가임. 증가는 동일한 분석에서 측정되는 아이소타입 대조군에 의해 야기되는 활성의 변화보다 바람직하게는 적어도 2-배, 더 바람직하게는 적어도 10-배 및 훨씬 더 바람직하게는 적어도 25-배 더 높다.

[0158] 항체는 CD137, 전형적으로 인간 CD137에 특이적이고, 표 I(1) 및 I(2)의 행의 임의의 대응하는 쌍의 예시적인 CDR 서열 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5 또는 모두 6가지를 포함할 수 있다.

[0159] 예를 들어, 항체는 표 I(1) 및 표 I(2)의 제1 행의 예시적인 CDR 서열(서열번호: 207, 212, 217, 80, 81, 222) 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5 또는 모두 6가지를 포함할 수 있다.

[0160] 대안적으로, 항체는 표 I(1) 및 I(2) 중 제2, 제3, 제4 또는 제5 행의 예시적인 CDR 서열 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5 또는 모두 6가지를 포함할 수 있다.

[0161] 바람직한 항-CD137 항체는 표 I(1)의 임의의 개개 행에 나타낸 바와 같은 적어도 중쇄 CDR3 및/또는 표 I(2)의 임의의 개개 행에 나타낸 바와 같은 경쇄 CDR3을 포함할 수 있다. 상기 항체는 표 I(1)의 개개 행에 나타낸 모두 3개의 중쇄 CDR 서열(즉, 주어진 "VH 수"의 모두 3개의 중쇄 CDR) 및/또는 표 I(2)의 개개 행에 나타낸 모두 3개의 경쇄 CDR 서열(즉, 주어진 "VL 수"의 모두 3개의 경쇄 CDR)을 포함할 수 있다.

[0162] 항-CD137 항체의 완전한 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열의 예를 표 H에 나타낸다. 각각의 아미노산 서열을 암호화하는 예시적인 핵산 서열을 또한 나타낸다. 서열번호 177 내지 196은 항-CD137 항체의 적절한 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 표 H의 상기 VH 및 VL의 넘버링은 표 I(1) 및 (2)로서 사용되는 넘버링 시스템에 대응한다. 따라서, 예를 들어, "1205, 경쇄 VL"에 대한 아미노산 서열은 표 I(2)에 나타낸 VL 번호 1205의 모두 3개의 CDR을 포함하는 완전한 VL 영역 서열의 예이며, "1204, 중쇄 VH"에 대한 아미노산 서열은 표

I(1)에 나타낸 VH 번호 1204의 모두 3개의 CDR을 포함하는 완전한 VH 영역 서열의 예이다.

[0163] 본 발명의 바람직한 항-CD137 항체는 특정 VH 번호의 모두 3개의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 특정 VL의 모두 3개의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 예를 들어: 항체는 VH 번호 1204의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1205의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1204/1205로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 H에 나타낸 바와 같은 1204 및 1205의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 179 및 177)을 포함할 수 있다.

[0164] 항체는 대안적으로 VH 번호 1214의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1215의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1214/1215로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 H에 나타낸 바와 같은 1214 및 1215의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 181 및 183)을 포함할 수 있다.

[0165] 항체는 대안적으로 VH 번호 1618의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1619의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1618/1619로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 H에 나타낸 바와 같은 1618 및 1619의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 185 및 187)을 포함할 수 있다.

[0166] 항체는 대안적으로 VH 번호 1620의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1621의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1620/1621로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 H에 나타낸 바와 같은 1620 및 1621의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 189 및 191)을 포함할 수 있다.

[0167] 항체는 대안적으로 VH 번호 1626의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1627의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1626/1627로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 H에 나타낸 바와 같은 1626 및 1627의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 193 및 195)을 포함할 수 있다.

[0168] 항-CD137 항체는 본 명세서에 기재된 임의의 특정 항-CD137 항체와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 바람직하게는, 이는 1204/1205, 1214/1215, 1618/1619, 1620/1621 및 1626/1627로 표기된 항체 중 임의의 하나와 동일한 에피토프에 결합한다.

CTLA-4에 대한 결합 도메인

[0169] 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 CTLA-4에 특이적인 결합 도메인을 포함할 수 있다.

[0170] CD86 및 CD80은 본 명세서에서 B7 단백질(각각 B7-2 및 B7-1)로서 지칭될 수 있다. 이들 단백질은 항원 제시 세포의 표면 상에서 발현되고, T 세포 수용체 CD28 및 CTLA-4와 상호작용한다. CD28에 대한 B7 분자의 결합은 T 세포 활성화를 촉진시키는 한편, CTLA-4에 대한 B7 분자의 결합은 T 세포의 활성화를 끈다(switch off). B7 단백질과 CD28 및/또는 CTLA-4 사이의 상호작용은 면역 활성화 및 조절에서 중요한 역할을 하는 공동자극 신호전달 경로를 구성한다. 따라서, B7 분자는 면역 저해를 분리시킴으로써 환자에서 면역을 향상시키기 위한 조작을 잘 받아들이는 경로의 부분이다.

[0171] CD86 단백질은 단량체이며, 두 세포의 면역글로불린 슈퍼페밀리 도메인으로 이루어진다. CD86의 수용체 결합 도메인은 전형적인 IgV-세트 구조를 갖는 반면, 막 근위 도메인은 C1-세트 유사 구조를 가진다. CD80 및 CD86의 구조는 그 자체로 또는 CTLA-4와의 복합체로 결정되었다. CD80 및 CD86 분자 상의 접촉 잔기는 가용성 세포외 도메인에 있으며, 대부분 베타-시트 내에 위치되고, (CDR-유사) 루프에는 위치되는 않는다.

[0172] 서열번호 3은 인간 야생형 CD86의 단량체 가용성 세포외 도메인의 아미노산 서열이다. 이 야생형 서열은 N 말단, 즉, 위치 24 및 25에서 알라닌 및 프롤린을 선택적으로 결여할 수 있다. 이들 아미노산은 각각 본 명세서에서 A24 및 P25로서 지칭될 수 있다.

[0173] 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드 결합 도메인으로서 CTLA-4에 특이적인 도메인인 "CTLA-4 결합 도메인"을 혼입할 수 있다. 이러한 결합 도메인의 적합한 예는 WO 2014/207063에 개시되어 있으며, 이의 내용은 참고로 포함된다. CTLA-4에 특이적인 결합 도메인은 또한 CD28에 결합할 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 CTLA-4는 전형적으로 인간 CTLA-4를 지칭하고, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 CD28은 전형적으로 인간 CD28을 지칭한다. 인간 CTLA-4 및 인간 CD28의 서열은 각각 서열번호: 1 및 2에서 제시한다. 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 다른 포유류, 예를 들어 영장류 또는 뮤린 CTLA-4 또는 CD28로부터 CTLA-4 또는 CD28에 대해 일부 결합 친화도를 가질 수 있다.

[0174] CTLA-4 결합 도메인은 그의 천연 상태에서 CTLA-4에 그리고 특히 세포 표면 상에 국소화된 CTLA-4에 결합하는 능력을 가진다.

- [0176] "세포 표면 상에 국소화된"은 상기 정의된 바와 같다.
- [0177] 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인 부분은 하기를 포함하거나 또는 이루어질 수 있다:
- [0178] (i) 서열번호 3의 아미노산 서열; 또는
- [0179] (ii) 야생형 인간 CD86보다 더 높은 친화도로 인간 CTLA-4에 결합한다면, 서열번호 3의 아미노산 서열과 비교할 때 적어도 하나의 아미노산이 변화되는 아미노산 서열.
- [0180] 다시 말해서, CTLA-4 결합 도메인은 (i) 인간 야생형 CD86의 단량체 가용성 세포외 도메인, 또는 (ii) 상기 폴리펩타이드 변이체가 야생형 인간 CD86보다 더 높은 친화도로 인간 CTLA-4에 결합한다면, 상기 가용성 세포외 도메인의 폴리펩타이드 변이체를 포함하거나 또는 이것으로 이루어진 인간 CTLA-4에 특이적인 폴리펩타이드 결합 도메인이다.
- [0181] 따라서, 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 인간 야생형 CD86과 동일한 표적 결합 특성을 가질 수 있거나, 또는 인간 야생형 CD86의 표적 결합 특성과 비교하여 상이한 표적 결합 특성을 가질 수 있다. 이러한 특성과 비교하는 목적을 위해, "인간 야생형 CD86"은 전형적으로 앞서 언급한 부문에 기재한 바와 같은 인간 야생형 CD86의 단량체 가용성 세포외 도메인을 지칭한다.
- [0182] 인간 야생형 CD86은 두 표적, 즉, CTLA-4 및 CD28에 특이적으로 결합한다. 따라서, 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 결합 특성은 각각의 이들 표적에 결합하는 폴리펩타이드 능력의 개개 측정으로서 표현될 수 있다. 예를 들어, 인간 야생형 CD86의 단량체 세포외 도메인의 폴리펩타이드 변이체는 바람직하게는 CTLA-4에 대한 야생형 인간 CD86의 결합 친화도보다 더 높은 결합 친화도로 CTLA-4에 결합한다. 이러한 폴리펩타이드는 선택적으로 또한 CD28에 대한 야생형 인간 CD86보다 더 낮은 결합 친화도로 CD28에 결합할 수 있다.
- [0183] 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 CTLA-4에 특이적인 폴리펩타이드 결합 도메인이다. 이는 바람직하게는 다른 분자에 결합하는 결합 친화도보다 더 높은 결합 친화도로 CTLA-4에 결합한다는 것을 의미한다. CTLA-4 결합 도메인은 바람직하게는 CTLA-4에 대한 야생형 인간 CD86의 친화도보다 동일 또는 더 높은 친화도로 CTLA-4에 결합한다.
- [0184] 바람직하게는, 인간 CTLA-4에 대한 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 Kd는 인간 CTLA-4에 대한 야생형 인간 CD86의 Kd보다 적어도 2-배, 적어도 2.5-배, 적어도 3-배, 적어도 3.5-배, 적어도 4-배, 적어도 4.5-배, 적어도 5-배, 적어도 5.5-배, 적어도 8-배 또는 적어도 10-배 더 적을 것이다. 가장 바람직하게는, 인간 CTLA-4에 대한 CTLA-4 결합 도메인의 Kd는 인간 CTLA-4에 대한 야생형 인간 CD86의 Kd보다 적어도 5-배 또는 적어도 10-배 더 적을 것이다. CTLA-4에 대한 폴리펩타이드의 Kd를 결정하기 위한 바람직한 방법은, 예를 들어, 비아코어(상표명) 시스템에 의한 SPR 분석이다. 폴리펩타이드의 SPR을 위한 적합한 프로토콜을 실시예에 제시한다.
- [0185] 바람직하게는, 인간 CTLA-4에 대한 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 EC50은 동일한 조건 하에서 인간 CTLA-4에 대한 야생형 인간 CD86의 EC50보다 적어도 1.5-배, 적어도 2-배, 적어도 3-배, 적어도 5-배, 적어도 10-배, 적어도 12-배, 적어도 14-배, 적어도 15-배, 적어도 17-배, 적어도 20-배, 적어도 25-배 또는 적어도 50-배 더 적을 것이다. 가장 바람직하게는, 인간 CTLA-4에 대한 CTLA-4 결합 도메인의 EC50은 동일한 조건 하에서 인간 CTLA-4에 대한 야생형 인간 CD86의 EC50보다 적어도 10-배 또는 적어도 25-배 더 적을 것이다. CTLA-4에 대한 폴리펩타이드의 EC50을 결정하기 위한 바람직한 방법은 ELISA를 통한다. 폴리펩타이드의 EC50의 평가에서 사용하기 위한 적합한 ELISA 분석은 본 실시예에 제시한다.
- [0186] 바람직하게는, 인간 CTLA-4에 대한 결합에 대해 야생형 인간 CD86과 경쟁할 때 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 IC50은 동일한 조건 하에서 야생형 인간 CD86의 IC50보다 적어도 2-배, 적어도 3-배, 적어도 4-배, 적어도 5-배, 적어도 10-배, 적어도 13-배, 적어도 15-배, 적어도 50-배, 적어도 100-배 또는 적어도 300-배 더 적을 것이다. 가장 바람직하게는, CTLA-4 결합 도메인의 IC50은 동일한 조건 하에서 야생형 인간 CD86의 IC50보다 적어도 10-배 또는 적어도 300-배 더 적을 것이다. 본 발명의 폴리펩타이드의 IC50을 결정하기 위한 바람직한 방법은 ELISA를 통한다. 폴리펩타이드의 IC50의 평가에서 사용하기 위한 적합한 ELISA 분석을 실시예에 제시한다.
- [0187] 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 또한 CD28에 특이적으로 결합할 수 있다. 즉, CTLA-4 결합 도메인은 CTLA-4를 제외하고, 그것이 다른 분자에 결합할 때보다 더 큰 결합 친화도로 CD28에 결합할 수 있다. CTLA-4 결합 도메인은 인간 CD28에 대한 야생형 인간 CD86의 친화도보다 더 낮은 친화도로 인간 CD28에 결합할

수 있다. 바람직하게는, 인간 CD28에 대한 CTLA-4 결합 도메인의 Kd는 인간 CD28에 대한 야생형 인간 CD86의 Kd 보다 적어도 2-배, 바람직하게는 적어도 5-배, 더 바람직하게는 적어도 10-배 더 높을 것이다.

[0188] 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 결합 특성은 또한 두 표적, 즉, CTLA-4 및 CD28에 결합하는 폴리펩타이드 능력의 상대적 측정으로서 표현될 수 있다. 즉, CTLA-4 결합 도메인의 결합 특성은 CTLA-4에 결합하는 폴리펩타이드의 능력의 상대적 측정 대 CD28에 결합하는 폴리펩타이드의 능력의 상대적 측정으로서 표현될 수 있다. 바람직하게는 CTLA-4 결합 도메인은 CD28에 비해 CTLA-4에 결합하는 인간 야생형 CD86의 대응하는 상대적 능력에 비교할 때, CD28에 비해 CTLA-4에 결합하는 증가된 상대적 능력을 가진다.

[0189] CTLA-4와 CD28 둘 다에 대한 폴리펩타이드의 결합 친화도가 동일한 매개변수(예를 들어, Kd, EC50)를 이용하여 평가할 때, 각각의 표적에 대한 폴리펩타이드의 상대적 결합 능력은 각각의 표적에 대한 매개변수의 값의 단순한 비로서 표현할 수 있다. 이 비는 폴리펩타이드의 결합 비 또는 결합 강도비로서 지칭될 수 있다. 결합 친화도(예를 들어, Kd, EC50)를 평가하기 위해 사용되는 다수의 매개변수에 대해, 더 낮은 값은 더 높은 친화도를 나타낸다. 이러한 경우에, CD28에 비해 CTLA-4에 대한 결합 친화도의 비는 바람직하게는 다음의 식에 따라 계산한 단일 수치적 값으로서 표현된다:

$$\text{결합비} = [\text{CD28에 대한 결합 친화도}] \div [\text{CTLA-4에 대한 결합 친화도}]$$

[0190] 대안적으로, 더 높은 값이 더 높은 친화도를 나타내는 매개변수를 이용하여 결합 친화도가 평가될 때, 상기 식의 역수가 바람직하다. 어느 경우에든, 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 바람직하게는 인간 야생형 CD86보다 더 높은 결합비를 가진다. 주어진 폴리펩타이드에 대한 결합비 대 다른 폴리펩타이드에 대한 결합비의 직접적인 비교는 전형적으로 폴리펩타이드 둘 다에 대한 결합 친화도를 평가하기 위해 그리고 결합비를 계산하기 위해 동일한 매개변수가 사용될 것이 필요하다는 것이 인식될 것이다.

[0191] 바람직하게는, 폴리펩타이드에 대한 결합비는 각각의 표적에 대한 폴리펩타이드의 Kd를 결정하고, 이어서 식 $[\text{CD28에 대한 Kd}] \div [\text{CTLA-4에 대한 Kd}]$ 에 따라 비를 계산함으로써 계산된다. 이 비는 폴리펩타이드의 Kd 결합 비로서 지칭될 수 있다. 표적에 대한 폴리펩타이드의 Kd를 결정하기 위한 바람직한 방법은 SPR 분석, 예를 들어, 비아코어(Biacore)(상표명) 시스템이다. 본 발명의 폴리펩타이드의 SPR 분석을 위한 적합한 프로토콜은 실시예에 제시된다. 본 발명에 따라 계산된 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 결합비는 동일한 방법에 따라 계산한 야생형 인간 CD86의 결합비보다 바람직하게는 적어도 2-배 또는 적어도 4-배 더 높다.

[0192] 대안적으로, 폴리펩타이드에 대한 결합비는 각각의 표적에 대한 폴리펩타이드의 EC50을 결정하고, 이어서 $[\text{CD28에 대한 EC50}] \div [\text{CTLA-4에 대한 EC50}]$ 에 따라 비를 계산함으로써 계산될 수 있다. 이 비는 폴리펩타이드의 EC50 결합비로서 지칭될 수 있다. 표적에 대한 폴리펩타이드의 EC50을 결정하기 위한 바람직한 방법은 ELISA를 통한다. 본 발명의 폴리펩타이드의 EC50의 평가에서 사용하기 위한 적합한 ELISA 분석은 실시예에 제시한다. 본 방법에 따라 계산한 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 결합비는 동일한 방법에 따라 계산한 야생형 인간 CD86의 결합비보다 적어도 2-배, 적어도 3-배, 적어도 4-배, 적어도 5-배, 적어도 6-배, 적어도 7-배, 적어도 8-배, 적어도 9-배 또는 적어도 10-배 더 높다.

[0193] 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 CTLA-4에 대한 결합에 대해 다른 폴리펩타이드와 교차 경쟁하는 능력을 가질 수 있다. 예를 들어, CTLA-4 결합 도메인은 CTLA-4에 대한 결합을 위해 서열번호 6 내지 24 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 갖는 폴리펩타이드와 교차 경쟁할 수 있다. 이러한 교차-경쟁 폴리펩타이드는 표준 결합 분석에서 동정될 수 있다. 예를 들어, SPR 분석(예를 들어, 비아코어(상표명) 시스템에 의함), ELISA 분석 또는 유세포분석을 사용하여 교차-경쟁을 입증할 수 있다.

[0194] [0195] 상기 기능적 특징에 추가로, 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 특정 바람직한 구조적 특징을 가진다. CTLA-4 결합 도메인은 (i) 인간 야생형 CD86의 단량체 가용성 세포외 도메인, 또는 (ii) 상기 폴리펩타이드 변이체가 야생형 인간 CD86보다 더 높은 친화도로 인간 CTLA-4에 결합한다면, 상기 가용성 세포외 도메인의 폴리펩타이드 변이체를 포함하거나 또는 이것으로 이루어진다.

[0196] 인간 야생형 CD86의 단량체 가용성 세포외 도메인의 폴리펩타이드 변이체는 인간 야생형 CD86의 서열로부터 유래된 아미노산 서열, 구체적으로는 선택적으로 A24 및 P25가 없는 인간 야생형 CD86의 가용성 세포외 도메인의 아미노산 서열(서열번호 3)을 포함하거나 또는 이루어진다. 특히, 적어도 하나의 아미노산이 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교할 때, 변이체는 아미노산 서열을 포함한다. "변화된"은 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비해 적어도 하나의 결실, 삽입 또는 치환된다는 것을 의미한다. "결실된"은 아미노산 서열이 하나의 아미노산만큼 단축되도록 서열번호 3의 아미노산 서열

(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 존재하는 적어도 하나의 아미노산이 제거된다는 것을 의미한다. "삽입된"은 아미노산 서열이 하나의 아미노산만큼 길어지도록 적어도 하나의 추가적인 아미노산이 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열) 새로 도입되는 것을 의미한다. "치환된"은 서열번호 3의 아미노산 서열 내 적어도 하나의 아미노산(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)이 대안의 아미노산으로 대체되는 것을 의미한다.

[0197] 전형적으로, 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교할 때, 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개의 아미노산이 변화된다. 전형적으로, 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교할 때, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 2 또는 1개 이하의 아미노산이 변화된다. 임의의 이들 하한은 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비해 변화의 허용되는 수에 대한 범위를 정하기 위해 임의의 이들 상한과 조합될 수 있다는 것이 인식될 것이다. 따라서, 예를 들어, 본 발명의 폴리펩타이드는 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비해 아미노산 변화의 허용되는 수가 2 내지 3, 2 내지 4, 2 내지 5, 2 내지 6, 2 내지 7, 2 내지 8, 2 내지 9, 2 내지 10, 3 내지 4, 3 내지 5, 3 내지 6 등의 범위에 있는 아미노산 서열을 포함할 수 있다.

[0198] 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교할 때, 적어도 2개의 아미노산이 변화되는 것이 특히 바람직하다. 바람직하게는, 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교하여 아미노산 변화의 허용되는 수는 2 내지 9, 2 내지 8 또는 2 내지 7의 범위에 있다.

[0199] 상기 제시한 수 및 범위는 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비해 결실, 삽입 또는 치환의 임의의 조합에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열), 또는 결실, 삽입 또는 치환의 임의의 혼합물에 비해 결실 단독, 삽입 단독 또는 치환 단독이 있을 수 있다. 바람직하게는 변이체는 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교하여 모든 변화가 치환인 아미노산 서열을 포함한다. 이는 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교하여 아미노산이 결실 또는 삽입된 서열이다. 바람직한 변이체의 아미노산 서열에서, 서열번호 3의 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교할 때, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개의 아미노산이 치환되며, 아미노산은 서열번호 3의 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비해 결실 또는 삽입되지 않는다.

[0200] 바람직하게는 서열번호 3의 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교한 변화는 FG 루프 영역(위치 114 내지 121) 및/또는 서열번호 3의 베타 시트 영역에서이다. 베타 시트 영역의 가닥은 서열번호 3에서 다음의 위치: A:27-31, B:36-37, C:54-58, C':64-69, C":72-74, D:86-88, E:95-97, F:107-113, G:122-133을 가진다.

[0201] 가장 바람직하게는, 서열번호 3의 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교한 변화는 32, 48, 49, 54, 74, 77, 79, 103, 107, 111, 118, 120, 121, 122, 125, 127 또는 134로부터 선택된 위치 중 하나 이상에 있다. 본 명세서의 아미노산 위치의 모든 넘버링은 N 말단으로부터 시작해서 서열번호 4에서의 아미노산 계수화에 기반한다. 따라서, 서열번호 3의 N 말단에서 제1 위치는 24로 넘버링된다(도 4의 개략적 다이어그램 참조).

[0202] 특히 바람직한 삽입은 위치 116과 117 사이에 삽입된 단일의 추가적인 아미노산 및/또는 위치 118과 119 사이에 삽입된 단일의 추가적인 아미노산을 포함한다. 삽입된 아미노산은 바람직하게는 타이로신(Y), 세린(S), 글리신(G), 류신(L) 또는 아스파르트산(D)이다.

[0203] 특히 바람직한 치환은 알기닌(R)인 위치 122에서이다. 본 발명의 폴리펩타이드는 바람직하게는 적어도 위치 122가 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교하여 치환된 아미노산 서열을 포함한다. 위치 122에서 가장 바람직한 치환은 알기닌(R)을 선호도의 순서로 랭크되는 라이신(K) 또는 아스파라긴(N)으로 대체하는 것이다. 이 치환은 R122K/N으로서 지칭될 수 있다.

[0204] 다른 바람직한 치환은 각각 류신(L), 아이소류신(I) 및 글루탐산(Q)인 위치 107, 121 및 125에서이다. 위치 122에서의 치환에 추가로, 본 발명의 폴리펩타이드는 바람직하게는 위치 107, 121 및 125에서의 아미노산 중 적어도 하나가 또한 서열번호 3의 아미노산 서열(또는 A24 및 P25가 없는 상기 서열)에 비교하여 치환되는 아미노산 서열을 포함한다. 본 발명의 폴리펩타이드의 아미노산 서열은 또한 위치 32, 48, 49, 54, 64, 74, 77, 79, 103, 111, 118, 120, 127 및 134 중 하나 이상에서 치환될 수 있다.

[0205] 위치 107에서 가장 바람직한 치환은 류신(L)을 선호도의 순서로 랭크되는 아이소류신(I), 페닐알라닌(F) 또는 아르기닌(R)으로 대체하는 것이다. 이 치환은 L107I/F/R로서 지칭될 수 있다. 본 명세서에 기재된 다른 치환에 대해 유사한 명명법이 사용된다. 위치 121에서 가장 바람직한 치환은 아이소류신(I)을 발린(V)으로 대체하는 것

이다. 이 치환은 I121V로서 지칭될 수 있다.

[0206] 위치 125에서 가장 바람직한 치환은 글루타민(Q)을 글루탐산(E)으로 대체하는 것이다. 이 치환은 Q125E로서 지칭될 수 있다.

[0207] 본 발명의 폴리펩타이드의 아미노산 서열에서 바람직할 수 있는 다른 치환은 F32I, Q48L, S49T, V54I, V64I, K74I/R, S77A, H79D/S/A, K103E, I111V, T118S, M120L, N127S/D 및 A134T를 포함한다.

[0208] 인간 야생형 CD86의 상기 가용성 세포외 도메인의 특히 바람직한 변이체는 표 C에 나타낸 바와 같은 서열번호 6 내지 24의 아미노산 서열 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이것으로 이루어진다.

[0209] 서열번호: 6 내지 14에 나타낸 아미노산 서열은 선택적으로 N-말단에서 추가적인 잔기 AP를 포함할 수 있다. 서열번호 15 내지 24에 나타낸 아미노산 서열은 선택적으로 N-말단에서 잔기 AP가 없을 수 있다. 어느 경우에나, 이를 잔기는 서열번호 3의 A24 및 P25에 대응한다.

[0210] 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 인간 야생형 CD86의 상기 가용성 세포외 도메인의 임의의 상기 기재한 변이체를 포함하거나 또는 이들로 이루어질 수 있다. 즉, 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인은 표 C에 나타낸 바와 같은 서열번호 6 내지 24 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어질 수 있다.

[0211] 결합 도메인은, 예를 들어 CTLA-4를 발현시키는 세포, 예컨대 T 세포에 투여될 때, CTLA-4로부터 신호전달을 조절할 수 있다. 바람직하게는 결합 도메인은 상기 신호전달을 감소시키고, 즉, 저해하거나 차단시키고, 이에 의해 상기 세포의 활성화를 증가시킨다. 시험 제제(예컨대, 결합 도메인)의 결과로서 CTLA-4 신호전달 및 세포 활성화의 변화는 임의의 적합한 방법에 의해 결정될 수 있다. 적합한 방법은 시험 제제의 존재 하에 또는 적합한 대조군의 존재 하에 있을 때, T 세포의 표면 상에서 발현된 CTLA-4를 통해 결합 및 신호전달하는 (예를 들어, Raji 세포 상에서의) 막 결합 CD86의 능력에 대한 분석을 포함한다. T 세포 IL-2 생성의 수준에 비해 시험 제제의 존재 하에서 그리고/또는 T 세포 증식 대조군의 존재 하에서 T 세포 증식에서 T 세포 IL-2 생성 또는 증가의 증가된 수준은 CTLA-4 및 증가된 세포 활성화를 통한 감소된 신호전달을 나타낸다. 이 유형의 전형적인 분석은 미국 특허 제20080233122호의 실시예 9에 개시한다.

OX40에 대한 결합 도메인

[0213] 본 발명의 이중특이성 결합 분자는 결합 도메인으로서(예를 들어, B1로서) 임의의 OX40 결합 도메인, 예를 들어 항-OX40 항체를 혼입할 수 있다.

[0214] OX40에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 이하에 더 상세하게 설명하는 특정의 바람직한 결합 특징 및 기능적 효과를 가진다. 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은, 바람직하게는 본 발명의 이중특이성 항체의 부분으로서 혼입될 때 이들 결합 특징 및 기능적 효과를 보유한다. 이 결합 도메인은 또한 본 발명의 이중특이성 분자와 독립적으로 제공될 수 있다.

[0215] 상기 항체는 바람직하게는 OX40에 특이적으로 결합되고, 즉, OX40에 결합하지만, 다른 분자에 결합하지 않거나, 또는 더 낮은 친화도로 결합한다. 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 용어 OX40은 전형적으로 인간 OX40을 지칭한다. 인간 OX40의 서열은 서열번호 51(젠향크 NP_003318.1에 대응)에 제시된다. 상기 항체는 다른 포유류로부터의 OX40, 예컨대 비-인간 영장류(예를 들어 마카카 파시콜라리스(사이노몰거스 원숭이), 마카카 폴라타 (*Macaca mulatta*))로부터의 OX40에 대해 일부 결합 친화도를 가질 수 있다. 상기 항체는 바람직하게는 뮤린 OX40에 결합하지 않고/않거나 다른 인간 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 예를 들어 인간 CD137 또는 CD40에 결합하지 않는다.

[0216] 상기 항체는 그의 천연 상태에서 OX40에 그리고 특히 세포 표면 상에서 국소화된 OX40에 결합하는 능력을 가진다. 바람직하게는, 항체는 OX40에 특이적으로 결합할 것이다. 즉, 본 발명의 항체는 바람직하게는 다른 분자에 결합하는 결합 친화도보다 더 큰 결합 친화도로 OX40에 결합할 것이다.

[0217] "세포 표면 상에서 국소화된"은 상기 정의한 바와 같다.

[0218] 상기 항체는 OX40를 발현시키는 세포의 활성을 조절할 수 되되, 상기 조절은 상기 정의한 바와 같은 상기 세포 활의 증가 또는 감소이다. 상기 세포는 전형적으로 T 세포이다. 상기 항체는 CD4+ 또는 CD8+ 효과기 세포 활성을 증가시킬 수 있거나, 또는 상기 기재한 바와 같이 조절 T 세포(T reg) 활성을 감소시킬 수 있다.

[0219] 어느 경우에나, 항체의 순 효과는 효과기 T 세포, 특히 CD4+ 효과기 T 세포 활성의 증가일 것이다. 효과기 T 세

포 활성 변화를 결정하기 위한 방법은 잘 공지되어 있으며, 상기 기재되어 있다.

[0220] 상기 항체는 바람직하게는 50×10^{-10} M 미만 또는 25×10^{-10} M 미만, 더 바람직하게는 10, 9, 8, 7 또는 6×10^{-10} M 미만, 가장 바람직하게는 5×10^{-10} M 미만인 Kd 값으로 인간 OX40에 결합한다.

[0221] 예를 들어, 항체는 바람직하게는 뮤린 OX40 또는 임의의 다른 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 예컨대 CD137 또는 CD40에 결합하지 않는다. 따라서, 전형적으로 인간 OX40에 대해 항체에 대한 Kd는 다른, 비표적 분자, 예컨대 뮤린 OX40, 다른 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 또는 환경에서 임의의 다른 비처리 물질 또는 수반하는 물질에 대해 2-배, 바람직하게는 5-배, 더 바람직하게는 10-배 미만의 Kd일 것이다. 더 바람직하게는, Kd는 50-배 미만, 훨씬 더 바람직하게는 100-배 미만, 및 더욱 더 바람직하게는 200-배 미만일 것이다.

[0222] 이 해리상수의 값은 상기 기재한 바와 같은 잘 공지된 방법에 의해 직접적으로 결정될 수 있다.

[0223] 본 발명의 항체는 바람직하게는 다른 비표적 분자에 대한 결합을 위한 그의 친화도보다 적어도 2-배, 10-배, 50-배, 100-배 이상인 친화도로 그의 표적에 결합할 수 있다.

[0224] 따라서 요약하면, 상기 항체는 바람직하게는 다음의 기능성 특징 중 적어도 하나를 나타낸다:

[0225] I. 10×10^{-10} M 미만인 K_d 값으로 인간 OX40에 결합;

[0226] II. 뮤린 OX40에 결합하지 않음;

[0227] III. 다른 인간 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 예를 들어 인간 CD137 또는 CD40에 결합하지 않음.

[0228] 상기 항체는 OX40, 전형적으로 인간 OX40에 특이적이고, 다음 중 임의의 1, 2, 3, 4, 5 또는 모두 6가지를 포함할 수 있다:

[0229] (a) 8개의 아미노산의 길이이고, 공통서열: "G, F, T, F, G/Y/S, G/Y/S, Y/S, Y/S/A"을 포함하는 중쇄 CDR1 서열;

[0230] (b) 8개의 아미노산의 길이이고, 공통서열: "I, G/Y/S/T, G/S/Y, S/Y, G/S/Y, G/S/Y, G/S/Y, T"를 포함하는 중쇄 CDR2 서열;

[0231] (c) 9 내지 17개의 아미노산의 길이이고, "A, R, G/Y/S/H, G/Y/F/V/D, G/Y/P/F, -/H/S, -/N/D/H, -/Y/G, -/Y, -/Y, -/W/A/V, -/A/Y, -/D/A/Y/G/H/N, Y/S/W/A/T, L/M/I/F, D, Y"의 공통서열을 포함하는 중쇄 CDR3 서열. 본 정의 내의 바람직한 중쇄 CDR3 서열은 0개의 아미노산의 길이인 CDR3 서열을 포함하고, 공통서열 "A, R, Y/H, D, Y, A/Y/G, S/W/A, M/L, D, Y"을 포함하거나, 또는 공통서열 "A, R, G/Y, V/F/Y, P, H, G/Y/H, Y, F/I, D, Y"을 포함하는 11개의 아미노산의 길이의 CDR3 서열을 포함한다;

[0232] (d) 서열: "Q, S, I, S, S, Y"로 이루어진 경쇄 CDR1 서열;

[0233] (e) 서열: "A, A, S"로 이루어진 경쇄 CDR2 서열;

[0234] (f) 8 내지 10개의 아미노산의 길이이고, 공통서열: "Q, Q, S/Y/G, -/Y/H/G, -/S/Y/G/D, S/Y/G/D, S/Y/G/T, P/L, Y/S/H/L/F, T"를 포함하는 경쇄 CDR3 서열. 본 정의 내의 경쇄 CDR3 서열의 바람직한 예는 서열 "Q, Q, S, Y, S, T, P, Y, T"로 이루어진다.

[0235] 항체는 적어도 (c)에 정의한 바와 같은 중쇄 CDR3 및/또는 (f)에 정의한 바와 같은 경쇄 CDR3를 포함할 수 있다. 상기 항체는 (a), (b) 및 (c)의 모두 3개의 중쇄 CDR 서열 및/또는 (d), (e) 및 (f)의 모두 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함할 수 있다.

[0236] 예시적인 CDR 서열은 표 A(1) 및 A(2), 서열번호: 52 내지 88에 인용된다.

[0237] 바람직한 항-OX40 항체는 적어도 표 A(1)의 임의의 개개 행에 정의한 바와 같은 중쇄 CDR3 및/또는 표 A(2)의 임의의 개개 행에 정의한 바와 같은 경쇄 CDR3를 포함할 수 있다. 상기 항체는 표 A(1)의 개개 행에 나타낸 모두 3개의 중쇄 CDR 서열(즉, 주어진 "VH 번호"의 모두 3개의 중쇄 CDR) 및/또는 표 A(2)의 개개 행에 나타낸 모두 3개의 경쇄 CDR 서열(즉, 주어진 "VL 수"의 모두 3개의 경쇄 CDR)을 포함할 수 있다.

[0238] 완전한 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열의 예를 표 B에 나타낸다. 각각의 아미노산 서열을 암호화하는 예시적인 핵산 서열을 또한 나타낸다. 표 B에서 상기 VH 및 VL 영역의 넘버링은 표 A(1) 및 (2)에서 사용되는 넘

버링 시스템에 대응한다. 따라서, 예를 들어, "1167, 경쇄 VL"에 대한 아미노산 서열은 표 A(2)에 나타낸 VL 번호 1167의 모두 3개의 CDR을 포함하는 완전한 VL 영역 서열의 예이고, "1166, 중쇄 VH"에 대한 아미노산 서열은 표 A(1)에 나타낸 VH 번호 1166의 모두 3개의 CDR을 포함하는 완전한 VH 영역 서열의 예이다.

- [0239] 본 발명의 바람직한 항-OX40 항체는 특정 VH 번호의 모두 3개의 CDR을 포함하는 VH 영역 및 특정 VL 번호의 모두 3개의 CDR을 포함하는 VL 영역을 포함한다. 예를 들어:
- [0240] - 항체는 VH 번호 1166의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1167의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1166/1167로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1166 및 1167의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 91 및 89)을 포함할 수 있다.
- [0241] - 항체는 VH 번호 1170의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1171의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1170/1171로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1170 및 1171의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 95 및 93)을 포함할 수 있다.
- [0242] - 항체는 VH 번호 1164의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1135의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1164/1135로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1164 및 1135의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 99 및 97)을 포함할 수 있다.
- [0243] - 항체는 VH 번호 1168의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1135의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1168/1135로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1168 및 1135의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 101 및 97)을 포함할 수 있다.
- [0244] - 항체는 VH 번호 1482의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1483의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1482/1483으로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1482 및 1483의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 105 및 103)을 포함할 수 있다.
- [0245] - 항체는 VH 번호 1490의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1135의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1490/1135으로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1490 및 1135의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 107 및 97)을 포함할 수 있다.
- [0246] - 항체는 VH 번호 1514의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1515의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1514/1515로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1514 및 1515의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 111 및 109)을 포함할 수 있다.
- [0247] - 항체는 VH 번호 1520의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1135의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1520/1135로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1520 및 1135의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 113 및 97)을 포함할 수 있다.
- [0248] - 항체는 VH 번호 1524의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1525의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1524/1525로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1524 및 1525의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 117 및 115)을 포함할 수 있다.
- [0249] - 항체는 VH 번호 1526의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1527의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1526/1527로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1526 및 1527의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 121 및 119)을 포함할 수 있다.
- [0250] - 항체는 VH 번호 1542의 모두 3개의 CDR 및 VL 번호 1135의 모두 3개의 CDR을 포함할 수 있다. 이러한 항체는 1542/1135로서 지칭될 수 있다. 이러한 항체는 바람직하게는 표 B에 나타낸 바와 같은 1542 및 1135의 대응하는 완전한 VH 및 VL 서열(서열번호: 123 및 97)을 포함할 수 있다.
- [0251] 항체가 인간 OX40에 결합하고 기능적 특징 I 내지 III 중 적어도 하나를 나타낸다면, 항체는 표 B에 열거한 임의의 특정 아미노산 서열의 변이체 또는 단편을 포함할 수 있다. 이러한 변이체 또는 단편은 전형적으로 표 B의 상기 서열의 CDR 서열을 보유할 수 있다.
- [0252] 표 B에 나타낸 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열 중 임의의 하나의 단편은 상기 아미노산 서열로부터 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 12, 적어도 15, 적어도 18, 적어도 20, 적어도 25, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 연속적 아미노산을 포함할 수 있다.

- [0253] 표 B에 나타낸 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열 중 임의의 하나의 변이체는 상기 정의한 바와 같은 상기 서열의 치환, 결실 또는 첨가 변이체일 수 있다.
- [0254] 항체는 본 명세서에 기재된 임의의 특정 항체와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 바람직하게는 이는 1166/1167, 1170/1171, 1164/1135, 1168/1135, 1482/ 1483, 1490/1135, 1514/1515, 1520/1135, 1524/1525, 1526/1527 및 1542/1135로 표기된 항체 중 임의의 하나와 동일한 에피토프에 결합한다.
- [0255] (완전한 중쇄를 형성하기 위해) 본 명세서에 개시된 임의의 VH 영역 서열, 예컨대 IgG1 중쇄 불변 영역 서열과 조합될 수 있는 예시적인 중쇄 불변 영역 아미노산 서열은 상기 기재되어 있다.
- [0256] (완전한 경쇄를 형성하기 위해) 본 명세서에 개시된 임의의 VL 영역 서열, 예컨대 카파쇄 불변 영역 서열과 조합될 수 있는 예시적인 경쇄 불변 영역 아미노산 서열은 상기 기재된다.
- [0257] 본 발명의 실시형태: CTLA-4 및 CD137에 특이적인 이중특이성 폴리펩타이드
- [0258] 본 발명의 제1 양상의 실시형태에서, 이중특이성 폴리펩타이드는 CD137 및 CTLA-4에 특이적인 결합 도메인을 가지며, 예를 들어 B1은 CD137에 특이적이고, B2는 CTLA-4에 특이적이다.
- [0259] 이를 결합 도메인은 상기 정의한 바와 같다.
- [0260] 실시형태 부분 B1의 이중특이성 폴리펩타이드 - CD137에 특이적인 결합 도메인
- [0261] CD137에 특이적인 결합 도메인은 상기 정의한 바와 같다.
- [0262] 실시형태 부분 B2의 이중특이성 폴리펩타이드 - CTLA-4에 특이적인 결합 도메인
- [0263] CTLA-4에 특이적인 결합 도메인은 상기 정의한 바와 같다.
- [0264] 실시형태의 이중특이성 폴리펩타이드
- [0265] 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 인간 CD137과 인간 CTLA-4 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있다. "CD137과 CTLA-4 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있는"은 각각의 상기 부분에 제공된 정의에 따라 항-CTLA-4 부분이 CTLA-4에 특이적으로 결합하고, 항-CD137 부분이 CD137에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다. 이중특이성 폴리펩타이드는 본 명세서에 기재한 바와 같은 임의의 CTLA-4 결합 도메인에 연결된 본 명세서에 기재한 바와 같은 임의의 CD137 결합 도메인을 포함할 수 있다. 바람직하게는 그들의 각각의 표적에 대해 상이한 부분의 결합 특징은 별개의 독립체로 존재할 때의 개개 부분에 대한 상기 특징과 비교할 때, 그들이 본 발명의 이중특이성 항체의 부분으로서 존재할 때에 변화되지 않거나 또는 실질적으로 변화되지 않는다.
- [0266] 전형적으로 이중특이성 분자는 단독으로 존재할 때 CTLA-4 결합 도메인의 CTLA-4에 대한 Kd 값과 바람직하게는 실질적으로 동일한 CTLA-4에 대한 Kd를 가질 것이다. 대안적으로, 이중특이성 분자가 단독으로 존재할 때 CTLA-4 결합 도메인의 CTLA-4에 대한 Kd에 비해 증가된 CTLA-4에 대한 Kd를 가진다면, 증가는 10배 이하, 바람직하게는 9배, 8배, 7배, 6배, 5배, 4배, 3배 또는 2배 이하이다. 추가로, 이중특이성 분자는 단독으로 존재할 때 CD137 결합 도메인의 C137에 대한 Kd 값과 바람직하게는 실질적으로 동일한 CD137에 대한 Kd 값을 독립적으로 가질 것이다. 대안적으로, 이중특이성 분자는 단독으로 존재할 때 항-CD137 항체의 CD137에 대한 Kd에 대해 증가된 CD137에 대한 Kd를 가진다면, 증가는 10배 이하, 바람직하게는 9배, 8배, 7배, 6배, 5배, 4배, 3배 또는 2배 이하만큼이다. 개개 결합 도메인에 대한 바람직한 Kd 값은 상기 기재한 바와 같다.
- [0267] CTLA-4 결합에서 임의의 배수 변화는 주어진 이중특이성 분자의 결합 특징을 설명하기 위한 CD137 결합의 임의의 열거된 배수 변화와 독립적으로 조합될 수 있다는 것이 인식될 것이다.
- [0268] 본 발명의 임의의 이중특이성 폴리펩타이드의 CD137 또는 CTLA-4에 대한 결합 특징은 임의의 적합한 분석에 의해 평가될 수 있다. 특히, 각각의 별개 부분에 대해 상기 제시한 분석은 또한 이중특이성 항체에 적용될 수 있거나 표적 둘 다에 대한 동시 결합을 평가하기 위한 조합 분석이 사용될 수 있다. 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드의 결합 특징을 평가하기 위한 적합한 분석은 또한 실시예에 제시한다.
- [0269] 실시형태의 이중특이성 폴리펩타이드는 CD137 또는 CTLA-4 단독의 개개 작용제보다, 또는 이러한 개개 작용제의 조합보다 더 큰 정도로 면역계의 세포 활성을 조절할 수 있다. 특히, 이중특이성 폴리펩타이드의 투여는 더 높은 수준의 T 세포 활성, 특히 효과기 T 세포 활성, 예를 들어 CD4+ 효과기 T 세포 활성을 생성한다. 효과기 T 세포 활성의 증가는 또한 개개 CD137 또는 CTLA-4 작용제 단독(또는 이들의 조합)의 투여로부터 초래되는 것보다 더 국소화되는데, CTLA-4와 CD137이 둘 다 고도로 발현되는 미세환경에서만 이중특이성 폴리펩타이드가 가장

큰 효과를 발휘하기 때문이다. 종양은 이러한 미세환경이다. CD137은 CD8 T 세포 상에서 고수준으로 발현되고, 따라서, 특히 그들을 활성화시킬 수 있다. CD8 T 세포는 효과적인 종양 반응의 주요 효과기 성분 중 하나이다.

[0270] 효과기 T 세포 활성의 증가는 CD137 경로의 활성화를 통해 또는 CTLA-4 저해 경로의 차단을 통해 효과기 T 세포의 자극으로부터 직접적으로 초래될 수 있거나, 또는 Treg의 고갈 또는 하향 조절로부터 간접적으로 초래됨으로써 그들의 면역억제 효과를 감소시킬 수 있다. Treg의 고갈/하향조절은 항체 의존적 세포의 식세포 작용(ADCP) 또는 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC) 메커니즘에 의해 매개될 수 있다. 전반적으로, 결과는 종양파괴성 활성의 즉시 생성을 위한 매우 강력하고, 국소화된 면역 활성화일 것이다.

[0271] CTLA-4 및 CD137의 세포 표면 발현 패턴은 부분적으로 중복되고, 따라서, 본 발명의 이중특이성 항체는 시스와 트랜스를 둘 다 표적화하도록 결합될 수 있다. 이는 동일한 세포 상에서 시스로 수용체 클러스터링 수준을 증가시킴으로써, 또는 트랜스로 두 세포 사이의 인공적인 면역학적 시냅스를 생성함으로써 Fc γ R-교차-연결 독립적 방식으로 CD137 및 CTLA-4를 통해 자극을 생성할 수 있는데, 이는 결국 세포 둘 다에서 향상된 수용체 클러스터링 및 증가된 신호전달을 야기할 수 있다. 전반적으로, 상기 결과는 종양파괴성 활성의 생성을 위한 매우 강력한, 종양 관련 면역 활성화일 것이다.

[0272] 면역계의 세포 상에서 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드 효과의 측정은 임의의 적합한 분석에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 효과기 T 세포의 증가된 활성은 이중특이성 폴리펩타이드의 개개 성분 B1 및 B2에 대해 상기 기재한 바와 같은 분석에 의해 측정될 수 있고, 대조군에 대해 이중특이성 폴리펩타이드의 존재 하에서 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에 의한 증식 또는 IL-2 생성의 측정을 포함한다. 대조군에 대한 증식 또는 IL-2 생성의 증가는 증가된 세포 활성화를 나타낸다. 이 유형의 전형적인 분석은 미국 특허 제20080233122호의 실시예 9에 개시되어 있다. 세포 증식 및/또는 IL-2 생성에 대한 분석은 잘 공지되어 있고, 또한 실시예에 예시되어 있다. 동일한 분석에서 평가할 때, 이중특이성 분자는 전형적으로 동일한 표적에 대한 단일특이성 제제 결합의 조합에 의해 유도되는 효과기 T 세포 활성의 증가보다 적어도 1.5배 더 높거나 또는 적어도 2배 더 높거나, 더 바람직하게는 3배 더 높거나, 가장 바람직하게는 5배 더 높은 효과기 T 세포 활성의 증가를 유도할 것이다.

[0273] 이중특이성 분자는 CD137과 CTLA-4가 고도로 발현되는 미세환경에 있을 때 면역계를 강력하게 활성화시킨다. 전형적으로, 이중특이성 분자는 CD4+ 또는 CD8+ 효과기 세포 활성을 증가시키거나, 또는 조절 T 세포(T reg)의 활성을 감소시킬 수 있다. 어느 경우에나, 항체의 순 효과는 효과기 T 세포, 특히 CD4+ 효과기 T 세포 활성의 증가일 것이다. 동일한 분석으로 평가할 때, 이중특이성 분자는 전형적으로 동일한 표적에 대한 단일특이성 제제 결합의 조합에 의해 유도되는 효과기 T 세포 활성의 증가보다 적어도 1.5배 더 높거나 또는 적어도 1.7배 더 높거나, 더 바람직하게는 4.5배 더 높거나, 가장 바람직하게는 7배 더 높은 효과기 T 세포 활성의 증가를 유도할 것이다.

[0274] 효과기 T 세포 활성 변화를 결정하기 위한 방법은 잘 공지되어 있고, 앞서 기재한 바와 같다. 세포 증식 및/또는 IL-2 생성을 위한 분석은 잘 공지되어 있고, 실시예에 예시되어 있다.

[0275] 예를 들어, 폴리펩타이드는 CTLA-4와 CD137 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있고, B1은 CD137에 특이적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편일 수 있으며; B2는 하기 i) 또는 ii)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 CTLA-4에 특이적인 폴리펩타이드 결합 도메인일 수 있다:

[0276] i) 서열번호 3의 아미노산 서열; 또는

[0277] ii) 상기 결합 도메인이 야생형 인간 CD86보다 더 높은 친화도로 인간 CTLA-4에 결합한다면, 서열번호 3의 아미노산 서열과 비교할 때 적어도 하나의 아미노산이 변화된 아미노산 서열.

[0278] 폴리펩타이드에 의해 특이적으로 결합된 CTLA-4는 영장류 또는 뮤린, 바람직하게는 인간, CTLA-4일 수 있고/있거나 폴리펩타이드에 의해 특이적으로 결합되는 CD137은 영장류, 바람직하게는 인간, CD137일 수 있다.

[0279] 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B1은 항체 또는 이의 항원-결합 단편인데, 이들은 전형적으로 적어도 하나의 중쇄(H) 및/또는 적어도 하나의 경쇄(L)를 포함한다. 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B2은 B1의 임의의 부분에 부착될 수 있지만, 바람직하게는 N 또는 C 말단 중 하나에서 전형적으로 상기 적어도 하나의 중쇄(H) 또는 적어도 하나의 경쇄(L)에 부착될 수 있다. 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B2는 직접적으로 또는 임의의 적합한 연결분자(링커)를 통해 간접적으로 이렇게 부착될 수 있다.

[0280] 부분 B1은 바람직하게는 적어도 하나의 중쇄(H) 및 적어도 하나의 경쇄(L)를 포함하고, 부분 B2는 바람직하게는 상기 중쇄(H) 또는 상기 경쇄(L) 중 하나의 N 또는 C 말단에 부착된다. B1의 예시적인 항체는 두 동일한 중쇄

(H) 및 두 동일한 경쇄(L)로 이루어진다. 이러한 항체는 전형적으로 2개의 아암으로서 배열되며, 이들 각각은 이형이량체로서 결합된 하나의 H 및 하나의 L을 가지고, 2개의 아암은 H 쇄 사이의 이황화결합에 의해 결합된다. 따라서, 항체는 효과적으로는 2개의 H-L 이형이량체로 형성된 동종이량체이다. 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B2는 이러한 항체의 H 쇄 둘 다에 또는 L 쇄 둘 다에 또는 하나의 H 쇄에만 또는 하나의 L 쇄에만 부착될 수 있다.

[0281] 따라서, 본 발명의 폴리펩타이드는 대안적으로 CTLA-4에 특이적인 적어도 하나의 폴리펩타이드 결합 도메인이 부착되고, 인간 야생형 CD86의 단량체 가용성 세포외 도메인 또는 이의 변이체를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 항-CD137 항체, 또는 이의 항원 결합 단편으로서 기재될 수 있다. B1 및 B2의 결합 도메인은 본 발명의 폴리펩타이드 내 유일한 결합 도메인일 수 있다.

[0282] 본 발명의 폴리펩타이드는 N방향에서 C으로 기재된 다음의 식 중 임의의 하나에 따라 배열된 폴리펩타이드를 포함할 수 있다:

[0283] (A) L-(X)_n-B2;

[0284] (B) B2-(X)_n-L;

[0285] (C) B2-(X)_n-H;

[0286] (D) H-(X)_n-B2;

[0287] 식 중, H는 항체의(즉, B1의) 중쇄이고, L은 항체의(즉, B1의) 경쇄이며, X는 링커이고, n은 0 또는 1이다. 링커(X)가 펩타이드인 경우, 이는 전형적으로 아미노산 서열 SGGGGSGGGS(서열번호 47), SGGGGSGGGGSAP(서열번호 48), NFSQP(서열번호 49), KRTVA(서열번호 50) 또는 (SG)_m이며, 여기서 m = 1 내지 7이다. 식 (A) 내지 (D)의 개략적 표현을 도 1에 나타낸다.

[0288] 본 발명은 또한 임의의 식 (A) 내지 (D)에 따라 배열된 폴리펩타이드로 이루어진 폴리펩타이드를 제공한다. 상기 폴리펩타이드는 단량체로서 제공될 수 있거나 또는 항체와 같은 다량체 단백질의 성분으로서 제공될 수 있다. 상기 폴리펩타이드는 단리될 수 있다. 이러한 폴리펩타이드의 아미노산 서열의 예는 표 H에 나타낸다. 각각의 아미노산 서열을 암호화하는 예시적인 핵산 서열을 또한 나타낸다. 예시적인 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열은 서열번호 197 내지 206에 열거된다.

[0289] 부분 B2는 임의의 적합한 수단에 의해 본 발명의 폴리펩타이드의 임의의 부분에, 또는 링커에 부착될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 다양한 부분은 화학적 접합에 의해, 예컨대 펩타이드 결합에 의해 결합될 수 있다. 따라서, 본 발명의 폴리펩타이드는 선택적으로 펩타이드 링커에 의해 결합되는 B1(또는 이의 성분 부분) 및 B2를 포함하는 융합 단백질을 포함하거나 또는 이루어질 수 있다. 이러한 융합 단백질에서, CD137-결합 도메인 또는 B1의 도메인 및 CTLA-4-결합 도메인 또는 B2의 도메인은 유일한 결합 도메인일 수 있다.

[0290] 폴리펩타이드에 분자를 접합시키기 위한 다른 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 카보다이이미드 접합(conjugation)(문헌[Bauminger & Wilchek, 1980, *Methods Enzymol.* 70:151-159] 참조; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)은 독소루비신을 포함하는 다양한 제제를 항체 또는 펩타이드에 접합시키기 위해 사용될 수 있다. 수용성 카보다이이미드, 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필) 카보다이이미드(EDC)는 결합 모이어티에 기능성 모이어티를 접합시키는 데 특히 유용하다. 추가 예로서, 접합은 과요오드산나트륨 산화 다음에 적절한 반응물의 환원적 알킬화에 의해, 또는 글루타르알데하이드 가교에 의해 달성될 수 있다. 그러나, 선택된 방법에 상관없이, 결정은 바람직하게는 본 발명의 폴리펩타이드의 부분으로서 존재할 때 부분 B1 및 B2가 그들의 표적 결합 특성을 보유하거나 또는 실질적으로 보유하도록 바람직하게 이루어져야 한다는 것이 인식된다.

[0291] 본 발명의 폴리펩타이드를 (직접적으로 또는 간접적으로) 다른 분자에 연결하기 위해 동일한 기법이 사용될 수 있다. 다른 분자는 치료제 또는 검출 가능한 표지일 수 있다. 적합한 치료제는 세포독성 모이어티 또는 약물을 포함한다.

[0292] 본 발명의 폴리펩타이드는 단리되거나 또는 실질적으로 단리된 형태로 제공될 수 있다. 실질적으로 단리된 임의의 주위 배지로부터 폴리펩타이드의 실질적이지만, 전체는 아닌 단리가 있을 수 있음을 의미한다. 폴리펩타이드는 그들의 의도된 사용을 방해하지 않고, 여전히 실질적으로 단리된으로서 여겨지는 담체 또는 희석제와 혼합될 수 있다.

[0293] 본 발명의 예시적인 폴리펩타이드는 표 H에 나타낸 아미노산 서열 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이들로 이

루어질 수 있다.

[0294] 항체의 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열의 예를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 서열번호 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194 또는 196으로서 표 H에 제시한 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이루어질 수 있다. 표 H에 나타낸 폴리펩타이드를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 또한 표 H에 나타낸 대응하는 뉴클레오타이드 서열(인트론 서열은 소문자로 나타냄)(예를 들어, 서열번호 197, 199, 201, 203 및 205)을 포함하거나 또는 이루어질 수 있다. 부분 B2의 예를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 표 E에 나타낸 바와 같은 서열번호: 25 내지 43 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이루어질 수 있다.

[0295] 본 발명의 실시형태: OX40 및 CTLA-4에 특이적인 이중특이성 폴리펩타이드

[0296] 본 발명의 제1 양상의 대안의 실시형태에서, 폴리펩타이드는 OX40 및 CTLA-4에 특이적인 결합 도메인을 가지고, 예를 들어 B1은 OX40에 특이적이고, B2는 CTLA-4에 특이적이다.

[0297] 이들 결합 도메인은 상기 정의한 바와 같다.

[0298] 실시형태 부분 B1의 이중특이성 폴리펩타이드 - OX40에 특이적인 항체

[0299] OX40에 특이적인 결합 도메인은 상기 정의한 바와 같다.

[0300] 실시형태 부분 B2의 이중특이성 폴리펩타이드 - CTLA-4에 특이적인 결합 도메인

[0301] 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B2는 상기 기재한 바와 같은 CTLA-4에 특이적인 폴리펩타이드 결합 도메인이다.

[0302] 실시형태의 이중특이성 폴리펩타이드

[0303] 실시형태의 이중특이성 폴리펩타이드는 OX40 또는 CTLA-4 단독의 개개 작용제보다, 또는 이러한 개개 작용제의 조합보다 더 큰 정도로 면역계의 세포 활성을 조절할 수 있다. 특히, 이중특이성 폴리펩타이드의 투여는 더 큰 수준의 효과기 T 세포 활성, 특히 CD4+ 효과기 T 세포 활성을 생성한다. 효과기 T 세포 활성의 증가는 또한 개개 OX40 또는 CTLA-4 작용제 단독(또는 이들의 조합물)의 투여로부터 초래되는 것보다 더 국소화되는데, 이중특이성 폴리펩타이드는 CTLA-4와 OX40이 둘 다 고도로 발현되는 미세환경에서만 가장 큰 효과를 발휘한다. 종양은 이러한 미세환경이다. 종양 침윤성 조절 T 세포(Treg)는 효과기 T 세포(CD4와 CD8 둘 다)보다 더 높게 고수준의 CTLA-4 및 OX40을 발현시킨다.

[0304] 효과기 T 세포 활성의 증가는 OX40 경로의 활성화를 통해 또는 CTLA-4 저해 경로의 차단을 통해 효과기 T 세포의 자극으로부터 직접적으로 초래될 수 있거나, 또는 Treg의 고갈 또는 하향 조절로부터 간접적으로 초래됨으로써, 그들의 면역억제 효과를 감소시킬 수 있다. Treg의 고갈/하향조절은 항체 의존적 세포의 식세포 작용(ADCP) 또는 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC) 메커니즘에 의해 매개될 수 있다. 효과기 T 세포에 비해 Treg에 대한 CTLA-4와 OX40 둘 다의 고발현은 단일특이성 항체에 비해 Treg의 상당히 더 높은 사멸을 유도할 수 있다. CTLA-4 및 OX40의 더 낮은 발현을 갖는 효과기 T 세포는 이 메커니즘에 의해 고갈되지 않을 것이다. 전반적인, 결과는 종양파괴성 활성의 즉시 생성을 위한 매우 강력한, 국소화된 면역 활성화일 것이다.

[0305] 면역계 세포에 대한 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드 효과의 측정은 임의의 적합한 분석에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 효과기 T 세포의 증가된 활성은 이중특이성 폴리펩타이드의 개개 성분 B1 및 B2에 대해 상기 기재한 바와 같은 분석에 의해 측정될 수 있고, 대조군에 대해 이중특이성 폴리펩타이드의 존재 하에 CD4+ 및/ 또는 CD8+ T 세포에 의한 증식 또는 IL-2 생성의 측정을 포함한다.

[0306] 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드는 인간 CTLA-4와 인간 OX40 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있고, 상기 정의한 바와 같은 B1 및 B2를 포함한다.

[0307] "CTLA-4와 OX40 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있는"은 부분 B1이 OX40에 특이적으로 결합하고, 부분 B2는 상기 각각의 부분에 제공된 정의에 따라 CTLA-4에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다. 바람직하게는 각각의 표적에 대한 부분 B1 및 B2의 결합 특징은 별개의 독립체로서 존재할 때의 부분 B1 및 B2에 대한 상기 특징에 비교할 때에, 그들이 본 발명의 폴리펩타이드의 부분으로서 존재할 때 변화되지 않거나 또는 실질적으로 변화되지 않는다.

[0308] 전형적으로 이는 이중특이성 문자가 단독으로 존재할 때 B1의 OX40에 대한 Kd 값과 바람직하게는 실질적으로 동일한 OX40에 대한 Kd를 가진다는 것을 의미한다. 대안적으로, 이중특이성 문자가, 단독으로 존재할 때의 B1의

OX40에 대한 Kd에 비해 증가된 OX40에 대한 Kd를 가진다면, 상기 증가는 10배, 바람직하게는 9배, 8배, 7배, 6배, 5배, 4배, 3배 또는 2배 이하만큼이다. 이중특이성 분자는 바람직하게는 50×10^{-10} M 미만, 더 바람직하게는 25×10^{-10} M 미만, 가장 바람직하게는 20×10^{-10} M 미만인 Kd 값으로 인간 OX40에 결합한다. 추가로, 이중특이성 분자가, 단독으로 존재할 때의 B2의 CTLA-4 대한 Kd와 바람직하게는 실질적으로 동일한 CTLA-4에 대한 Kd를 독립적으로 가질 것이다. 이중특이성 분자가, 단독으로 존재할 때의 B2의 CTLA-4 대한 Kd에 비해 증가된 CTLA-4에 대한 Kd를 가진다면, 상기 증가는 3배 이하, 바람직하게는 2배 이하만큼이다. 이중특이성 분자는 바람직하게는 60×10^{-9} M 미만, 더 바람직하게는 25×10^{-9} M 미만, 가장 바람직하게는 10×10^{-9} M 미만인 Kd 값으로 인간 CTLA-4에 결합한다.

[0309] 다시 말해서, 이중특이성 분자는 50×10^{-10} M, 25×10^{-10} M 또는 20×10^{-10} M 미만인 OX40에 대한 Kd를 가질 수 있고, 독립적으로 60×10^{-9} M 미만, 25×10^{-9} M, 또는 10×10^{-9} M 미만인 CTLA-4에 대한 Kd를 가진다. OX40에 대해 인용한 임의의 Kd 값은 주어진 이중특이성 분자의 결합 특징을 기재하기 위해 CTLA-4에 대해 인용된 임의의 Kd 값과 독립적으로 조합될 수 있다는 것이 인식될 것이다. 유사하게, OX40 결합에서 임의의 인용된 배수 변화는 주어진 이중특이성 분자의 결합 특징을 기재하기 위해 CTLA-4 결합의 임의의 인용된 배수 변화와 독립적으로 조합될 수 있다.

[0310] 부분으로서 존재할 때 부분 B1 및 B2의 결합 특징은 임의의 적합한 분석에 의해 평가될 수 있다. 특히, 각각 별개의 부분에 대해 상기 제시한 분석은 또한 그들이 본 발명의 폴리펩타이드의 부분으로서 존재할 때 B1 및 B2에 적용될 수 있다. 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드의 결합 특징을 평가하기 위한 적합한 분석은 또한 실시예에서 제시된다.

[0311] 이중특이성 분자는 OX40과 CTLA-4가 둘 다 고도로 발현된 미세환경에 있을 때 면역계를 강하게 활성화시킨다. 전형적으로, 이중특이성 분자는 CD4+ 또는 CD8+ 효과기 세포 활성을 증가시키거나, 또는 조절 T 세포(T reg)의 활성을 감소시킬 수 있다. 어느 경우에나, 항체의 순 효과는 효과기 T 세포, 특히 CD4+ 효과기 T 세포 활성의 증가일 것이다. 동일한 분석에서 평가할 때, 이중특이성 분자는 전형적으로 동일한 표적에 결합하는 단일특이성 체제의 조합에 의해 유도되는 효과기 T 세포 활성의 증가보다 적어도 1.5배 더 높거나 또는 적어도 1.7배 더 높거나, 더 바람직하게는 4.5배 더 높거나, 가장 바람직하게는 7배 더 높은 효과기 T 세포 활성을 증가를 유도할 것이다.

[0312] 효과기 T 세포 활성 변화를 결정하기 위한 방법은 잘 공지되어 있고, 앞서 기재한 바와 같다. 세포 증식 및/또는 IL-2 생성을 위한 분석은 잘 공지되어 있으며, 실시예에서 예시한다.

[0313] 예를 들어, 폴리펩타이드는 CTLA-4와 OX40 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있고, B1은 OX40에 특이적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편일 수 있으며; B2는 하기 i) 및 ii)를 포함하거나 또는 이들로 이루어진 CTLA-4에 특이적인 폴리펩타이드 결합 도메인일 수 있다:

i) 서열번호 3의 아미노산 서열; 또는

ii) 상기 결합 도메인이 야생형 인간 CD86보다 더 높은 친화도로 인간 CTLA-4에 결합한다면, 서열번호 3의 아미노산 서열과 비교할 때 적어도 하나의 아미노산이 변화된 아미노산 서열.

[0316] 폴리펩타이드에 의해 특이적으로 결합된 CTLA-4는 영장류 또는 뮤린, 바람직하게는 인간, CTLA-4일 수 있고/있거나, 폴리펩타이드에 의해 특이적으로 결합된 OX40은 영장류, 바람직하게는 인간, OX40일 수 있다.

[0317] 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B1은 전형적으로 적어도 하나의 중쇄(H) 및/또는 적어도 하나의 경쇄(L)를 포함하는 항체 또는 이의 항원-결합 단편이다. 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B2는 B1의 임의의 부분에 부착될 수 있지만, 바람직하게는 N 또는 C 말단 중 하나에서 전형적으로 상기 적어도 하나의 중쇄(H) 또는 적어도 하나의 경쇄(L)에 부착될 수 있다. 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B2는 직접적으로 또는 임의의 적합한 연결 분자(링커)를 통해 간접적으로 이렇게 부착될 수 있다.

[0318] 부분 B1은 바람직하게는 적어도 하나의 중쇄(H) 및 적어도 하나의 경쇄(L)를 포함하고, 부분 B2는 바람직하게는 상기 중쇄(H) 또는 상기 경쇄(L) 중 하나의 N 또는 C 말단에 부착된다. B1의 예시적인 항체는 두 동일한 중쇄(H) 및 두 동일한 경쇄(L)로 이루어진다. 이러한 항체는 전형적으로 2개의 아암으로서 배열되는데, 이를 각각은 이형이량체로서 결합된 1개의 H 및 1개의 L을 가지고, 2개의 아암은 H 쇄 사이의 이황화 결합에 의해 결합된다. 따라서, 항체는 2개의 H-L 이형이량체로 효과적으로 형성된다. 본 발명의 폴리펩타이드의 부분 B2는 H 쇄 둘 다

에 또는 이러한 항체의 L 쇄 둘 다에 또는 단지 하나의 H 쇄에 또는 단지 하나의 L 쇄에 부착될 수 있다.

[0319] 따라서 본 발명의 폴리펩타이드는 대안적으로 인간 야생형 CD86 또는 이의 변이체의 단량체 가용성 세포외 도메인을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 CTLA-4에 특이적인 적어도 하나의 폴리펩타이드 결합 도메인이 부착된 항-OX40 항체, 또는 이의 항원 결합 단편으로서 기재될 수 있다. B1 및 B2의 결합 도메인은 본 발명의 폴리펩타이드 내의 유일한 결합 도메인일 수 있다.

[0320] 본 발명의 폴리펩타이드는 N에서 C 방향으로 기재된 다음의 식 중 임의의 하나에 따라 배열된 폴리펩타이드를 포함할 수 있다:

[0321] (A) L-(X)_n-B2;

[0322] (B) B2-(X)_n-L;

[0323] (C) B2-(X)_n-H; 및

[0324] (D) H-(X)_n-B2;

[0325] 식 중, H는 항체의(즉, B1의) 중쇄이고, L은 항체의(즉, B1의) 경쇄이며, X는 링커이고, n은 0 또는 1이다. 링커(X)가 웨타이드인 경우, 이는 전형적으로 아미노산 서열 SGGGSGGGGS(서열번호 47), SGGGSGGGGSAP(서열번호 48), NFSQP(서열번호 49), KRTVA(서열번호 50) 또는 (SG)_m이며, 여기서 m = 1 내지 7이다. 식 (A) 내지 (D)의 개략적 표현을 도 1에 나타낸다.

[0326] 본 발명은 또한 임의의 식 (A) 내지 (D)에 따라 배열된 폴리펩타이드로 이루어진 폴리펩타이드를 제공한다. 상기 폴리펩타이드는 단량체로서 제공될 수 있거나 또는 항체와 같은 다행체 단백질의 성분으로서 제공될 수 있다. 상기 폴리펩타이드는 단리될 수 있다. 이러한 폴리펩타이드의 아미노산 서열의 예는 표 D에 나타낸다. 각각의 아미노산 서열을 암호화하는 예시적인 핵산 서열을 또한 나타낸다.

[0327] 부분 B2는 임의의 적합한 수단에 의해 본 발명의 폴리펩타이드의 임의의 부분에, 또는 링커에 부착될 수 있다. 예를 들어, 폴리펩타이드의 다양한 부분은 화학적 접합에 의해, 예컨대 웨타이드 결합에 의해 결합될 수 있다. 따라서, 본 발명의 폴리펩타이드는 선택적으로 웨타이드 링커에 의해 결합되는 B1(또는 이의 성분 부분) 및 B2를 포함하는 융합 단백질을 포함하거나 또는 이루어질 수 있다. 이러한 융합 단백질에서, OX40-결합 도메인 또는 B1의 도메인 및 CTLA-4-결합 도메인 또는 B2의 도메인은 유일한 결합 도메인일 수 있다.

[0328] 폴리펩타이드에 분자를 접합시키기 위한 다른 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 카보다이이미드 접합(문헌[Bauminger & Wilchek, 1980, *Methods Enzymol.* 70:151-159] 참조; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)은 독소루비신을 포함하는 다양한 제제를 항체 또는 웨타이드에 접합시키기 위해 사용될 수 있다. 수용성 카보다이이미드, 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필) 카보다이이미드(EDC)는 결합 모이어티에 기능성 모이어티를 접합시키는 데 특히 유용하다. 추가 예로서, 접합은 과요오드산나트륨 산화 다음에 적절한 반응물의 환원적 알킬화에 의해, 또는 글루타르알데하이드 가교에 의해 달성될 수 있다. 그러나, 선택된 방법에 상관없이, 결정은 바람직하게는 본 발명의 폴리펩타이드의 부분으로서 존재할 때 부분 B1 및 B2가 그들의 표적 결합 특성을 보유하거나 또는 실질적으로 보유하도록 바람직하게 이루어져야 한다는 것이 인식된다.

[0329] 본 발명의 폴리펩타이드를 (직접적으로 또는 간접적으로) 다른 분자에 연결하기 위해 동일한 기법이 사용될 수 있다. 다른 분자는 치료제 또는 검출 가능한 표지일 수 있다. 적합한 치료제는 세포독성 모이어티 또는 약물을 포함한다.

[0330] 본 발명의 폴리펩타이드는 단리되거나 또는 실질적으로 단리된 형태로 제공될 수 있다. 실질적으로 단리된 임의의 주위 배지로부터 폴리펩타이드의 실질적이지만, 전체는 아닌 단리가 있을 수 있음을 의미한다. 폴리펩타이드는 그들의 의도된 사용을 방해하지 않고, 여전히 실질적으로 단리된으로서 여겨지는 담체 또는 희석제와 혼합될 수 있다.

[0331] 본 발명의 예시적인 폴리펩타이드는 표 D에 나타낸 아미노산 서열 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이들로 이루어질 수 있다. 일 실시형태에서, 폴리펩타이드는 서열번호 125 내지 134의 그룹 내에서 선택된 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어지되, 선택적으로 상기 폴리펩타이드는 항체의 성분 부분으로서 제공된다.

[0332] 항체의 중쇄 또는 경쇄 아미노산 서열의 예를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 표 B에 제시된 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이루어질 수 있다. 표 D에 나타낸 폴리펩타이드를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 또한 표 D에 나타낸 대응하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나 또는 이루어질

수 있다(인트론 서열을 소문자로 나타냄). 부분 B2의 예를 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 표 E에 나타낸 바와 같은 서열번호: 25 내지 43 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이루어질 수 있다.

[0333] 본 발명의 실시형태: OX40 및 CD137에 대한 이중특이성 폴리펩타이드

본 발명의 제1 양상의 대안의 실시형태에서, 상기 폴리펩타이드는 OX40 및 CD137에 특이적인 결합 도메인을 가진다.

[0335] 이들 결합 도메인은 상기 기재한 바와 같다.

[0336] 실시형태의 이중특이성 폴리펩타이드 - OX40에 특이적인 결합 도메인

[0337] OX40에 특이적인 결합 도메인은 상기 정의한 바와 같다.

[0338] 실시형태의 이중특이성 폴리펩타이드 - CD137에 특이적인 결합 도메인

[0339] 앞서 기재한 기능적 및 구조적 특징을 갖는 CD137에 특이적인 결합 도메인은 상기 정의한 바와 같다.

[0340] 바람직하게는 항체는 표 H 및 I의 서열을 참고로 하여 앞서 나타낸 바와 같은 1204/1205이다. 항-CD137 항체는 본 명세서에 기재한 임의의 특정 항-CD137 항체와 동일한 에피토프에 결합할 수 있다. 바람직하게는 이는 1204/1205로 표기된 항체와 동일한 에피토프에 결합한다.

[0341] 실시형태의 이중특이성 폴리펩타이드

[0342] 본 발명의 이중특이성 항체는 인간 CD137과 인간 OX40 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있다. "CD137과 OX40 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있는"은 상기 각각의 부분에 대해 제공한 정의에 따라 항-OX40 부분이 OX40에 특이적으로 결합하고, 항-CD137 부분이 CD137에 특이적으로 결합한다는 것을 의미한다. 이중특이성 항체는 본 명세서에 기재한 바와 같은 임의의 항-OX40 항체에 연결된 본 명세서에 기재된 바와 같은 임의의 항-CD137 항체를 포함할 수 있다. 바람직하게는 각각의 표적에 대한 상이한 부분의 결합 특징은 별개의 독립체로 존재할 때의 개개 부분에 대한 상기 특징과 비교할 때, 그들이 본 발명의 이중특이성 항체의 부분으로서 존재할 때에 변화되지 않거나 또는 실질적으로 변화되지 않는다.

[0343] 전형적으로 이중특이성 분자는 단독으로 존재할 때 항-OX40 항체의 OX40에 대한 Kd 값과 바람직하게는 실질적으로 동일한 OX40에 대한 Kd를 가질 것이다. 대안적으로, 이중특이성 분자가 단독으로 존재할 때 항-OX40 항체의 OX40에 대한 Kd에 비해 증가된 OX40에 대한 Kd를 가진다면, 증가는 10배 이하, 바람직하게는 9배, 8배, 7배, 6배, 5배, 4배, 3배 또는 2배 이하이다. 추가로, 이중특이성 분자는 단독으로 존재할 때 CD137 결합 도메인의 C137에 대한 Kd 값과 바람직하게는 실질적으로 동일한 CD137에 대한 Kd 값을 독립적으로 가질 것이다. 대안적으로, 이중특이성 분자는 단독으로 존재할 때 항-CD137 항체의 CD137에 대한 Kd에 대해 증가된 CD137에 대한 Kd를 가진다면, 증가는 10배 이하, 바람직하게는 9배, 8배, 7배, 6배, 5배, 4배, 3배 또는 2배 이하만큼이다.

[0344] OX40 결합에서 임의의 배수 변화는 주어진 이중특이성 분자의 결합 특징을 설명하기 위한 CD137 결합의 임의의 열거된 배수 변화와 독립적으로 조합될 수 있다는 것이 인식될 것이다.

[0345] 본 발명의 임의의 이중특이성 항체의 CD137 또는 OX40에 대한 결합 특징은 임의의 적합한 분석에 의해 평가될 수 있다. 특히, 각각의 별개 부분에 대해 상기 제시한 분석은 또한 이중특이성 항체에 적용될 수 있거나 표적 둘 다에 대한 동시 결합을 평가하기 위한 조합 분석이 사용될 수 있다. 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드의 결합 특징을 평가하기 위한 적합한 분석은 또한 실시예에 제시한다.

[0346] 실시형태의 이중특이성 폴리펩타이드는 OX40 또는 CD137 단독의 개개 작용제보다, 또는 이러한 개개 작용제의 조합보다 더 큰 정도로 면역계의 세포 활성을 조절할 수 있다. 특히, 이중특이성 폴리펩타이드의 투여는 더 높은 수준의 T 세포 활성을 생성한다. 효과기 T 세포 활성의 증가는 또한 개개 OX40 또는 CD137 작용제 단독(또는 이들의 조합)의 투여로부터 초래되는 것보다 더 국소화되는데, CD137과 OX40이 둘 다 고도로 발현되는 미세환경에서만 이중특이성 폴리펩타이드가 가장 큰 효과를 발휘하기 때문이다. 종양은 이러한 미세환경이다.

[0347] OX40 및 CD137의 세포 표면 발현 패턴은 부분적으로 중복되며, 따라서, 본 발명의 이중특이성 항체는 시스와 트랜스를 둘 다 표적화하도록 결합할 수 있다. 이는 동일한 세포 상에서 시스로 수용체 클러스터링 수준을 증가시킴으로써, 또는 트랜스로 두 세포 사이의 인공적인 면역학적 시냅스를 생성함으로써 Fc γ R-가교 독립적 방식으로 CD137 및 OX40를 통한 자극을 초래할 수 있고, 이는 결국 세포 둘 다에서 향상된 수용체 클러스터링 및 증가된 신호전달을 야기할 수 있다. 전반적으로, 상기 결과는 종양과 과성 활성의 생성을 위한 매우 강력한, 종양 관

련 면역 활성화일 것이다.

- [0348] 면역계의 세포 상에서 본 발명의 이중특이성 항체의 효과 측정은 임의의 적합한 분석에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어, 효과기 T 세포의 증가된 활성은 이중특이성 항체의 단일특이성 성분에 대해 상기 기재한 바와 같은 분석에 의해 측정될 수 있고, 대조군에 대해 이중특이성 항체의 존재 하에서 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포에 의한 증식 또는 IL-2 생성의 측정을 포함한다. 대조군에 대한 증식 또는 IL-2 생성의 증가는 증가된 세포 활성화를 나타낸다. 이 유형의 전형적인 분석은 미국 특허 제20080233122호의 실시예 9에 개시되어 있다. 세포 증식 및/또는 IL-2 생성에 대한 분석은 잘 공지되어 있고, 또한 실시예에 예시되어 있다. 동일한 분석에서 평가할 때, 이중특이성 분자는 전형적으로 동일한 표적에 대한 단일특이성 제제 결합의 조합에 의해 유도되는 효과기 T 세포 활성의 증가보다 적어도 1.5배 더 높거나 또는 적어도 2배 더 높거나, 더 바람직하게는 3배 더 높거나, 가장 바람직하게는 5배 더 높은 효과기 T 세포 활성의 증가를 유도할 것이다.
- [0349] 본 발명은 서로 직접적으로 또는 간접적으로 결합된 OX40(항-OX40 항체) 및 CD137에 특이적으로 결합하는 항체(항-CD137 항체)에 특이적으로 결합하는 항체를 포함하는 이중특이성 항체를 제공한다. "간접적으로 결합된"은 다른 모이어티(링커)가 항-CD137 항체에 항-OX40 항체를 연결한다는 것을 의미한다. 예시적인 링커는 서열번호 47 내지 50, 또는 144 중 임의의 하나에 나타낸 바와 같은 아미노산 서열의 웨타이드를 포함한다. 서열 GGGGSGGGGGGGGS(서열번호 144)의 웨타이드가 특히 바람직하다.
- [0350] 항-OX40 항체는 임의의 적합한 수단에 의해 항-CD137 항체의 임의의 부분에, 또는 링커에 부착될 수 있다. 예를 들어, 폴리웨타이드의 다양한 부분은 화학적 접합에 의해, 예컨대 웨타이드 결합에 의해 결합될 수 있다. 따라서, 본 발명의 폴리웨타이드는 선택적으로 웨타이드 링커에 의해 결합되는 항-OX40 항체(또는 이의 항원 결합 단편) 및 항-CD137 항체(또는 이의 항원 결합 단편)를 포함하는 융합 단백질을 포함하거나 또는 이루어질 수 있다. 이러한 융합 단백질에서, CD137-결합 도메인 또는 도메인 및 OX40-결합 도메인 또는 도메인은 존재하는 유일한 결합 도메인일 수 있다.
- [0351] 폴리웨타이드에 분자를 접합시키기 위한 다른 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 카보다이이미드 접합(문헌[Bauminger & Wilchek, 1980, *Methods Enzymol.* 70:151-159] 참조; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨)은 독소루비신을 포함하는 다양한 제제를 항체 또는 웨타이드에 접합시키기 위해 사용될 수 있다. 수용성 카보다이이미드, 1-에틸-3-(3-다이메틸아미노프로필) 카보다이이미드(EDC)는 결합 모이어티에 기능성 모이어티를 접합시키는 데 특히 유용하다. 추가 예로서, 접합은 과요오드산나트륨 산화 다음에 적절한 반응물의 환원적 알킬화에 의해, 또는 글루타르알데하이드 가교에 의해 달성될 수 있다. 그러나, 선택된 방법에 상관없이, 결정은 바람직하게는 본 발명의 이중특이성 항체의 부분으로서 존재할 때 이중특이성 항체의 항-OX40 및 항-CD137 부분이 그들의 표적 결합 특성을 보유하거나 또는 실질적으로 보유하도록 바람직하게 이루어져야 한다는 것이 인식된다.
- [0352] 본 발명의 임의의 항체를 (직접적으로 또는 간접적으로) 다른 분자에 연결하기 위해 동일한 기법이 사용될 수 있다. 다른 분자는 치료제 또는 검출 가능한 표지일 수 있다. 적합한 치료제는 세포독성 모이어티 또는 약물을 포함한다.
- [0353] 본 발명의 이중특이성 항체는 임의의 적합한 형식으로 함께 배열된 항-OX40 항체(또는 이의 항원 결합 단편) 및 항-CD137 항체(또는 이의 항원 결합 단편)를 포함할 수 있다. 임의의 주어진 이중특이성 형식에서, 항-OX40 항체 및 항-CD137 항체는 각각 독립적으로 전체 항체 또는 이의 항원 결합 부분일 수 있다는 것이 인식될 것이다. 사용되는 특정 이중특이성 형식과 관계없이, 본 명세서에 기재된 이중특이성 항체는 전형적으로 OX40 결합 도메인(결합 도메인 1로서 지칭될 수 있음)의 조성물 및 CD137 결합 도메인(결합 도메인 2로서 지칭될 수 있음)의 조성물에 기반한 넘버링 계획에 의해 지칭될 수 있다. 따라서 넘버링 계획은 전형적으로 OX40 결합 도메인(결합 도메인 1)에 대해 형태 VH1/VL1 및 CD137 결합 도메인(결합 도메인 2)에 대해 VH2/VL2이며, VH1/VL1-VH2/VL2로서도 함께 기재된다. 따라서, 예를 들어, 1164/1135-1204/1205로서 지칭되는 이중특이성 항체는 VH 서열 1164 및 VL 서열 1135(즉, 1164/1135 = VH1/VL1)로 이루어진 적어도 하나의 OX40 결합 도메인, 및 VH 서열 1204 및 VL 서열 1205(즉, 1204/1205 = VH2/VL2)로 이루어진 적어도 하나의 CD137 결합 도메인을 포함한다. 이 넘버링 계획은 이중특이성 항체에 존재하는 결합 도메인의 총 수도 또는 이중특이성 항체 내 임의의 불변 영역의 존재 또는 부재도 반영하지 않는데, 이를 둘 다 사용되는 이중특이성 항체의 특정 형식에 의해 결정된다는 것이 인식될 것이다. 결합 도메인의 총 수 및 불변 영역의 존재 또는 부재는 당업계에 공지된 임의의 적합한 이중특이성 항체 형식에 따를 수 있다.
- [0354] 이중특이성 항체의 다수의 적합한 형식은 당업계에 공지되어 있으며, 본 발명의 이중특이성 항체는 임의의 이들

형식일 수 있다. 적합한 형식은 도 1 및 도 19에 기재된 것을 포함한다(또한 문헌[Kontermann & Brinkmann, 2015, *Drug Discov Today*. 838-847] 참조; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨).

[0355] 도 19에서, 불변 영역은 밝은 회색으로 나타내고; 가변 중쇄 영역 VH1은 검정색 및 흰색으로 표시한 바와 같으며; 가변 경쇄 영역 VL1은 채워진 흰색으로 나타내고; 가변 중쇄 영역 VH2는 채워진 검정색으로 나타내며; 가변 경쇄 영역 VL2는 대각선으로 흰색으로 나타낸다. 따라서, OX40 결합 도메인(결합 도메인 1로서 지칭)은 전형적으로 채워진 흰색 도메인과 표시한 검정색 및 흰색 도메인의 쌍으로서 나타내며; CD137 결합 도메인(결합 도메인 2로서 지칭)은 전형적으로 채워진 검정색 도메인과 대각선으로 흰색 도메인의 쌍으로서 나타낸다. 그러나, 나타낸 형식 모두에서, 결합 도메인 1 및 2가 전환될 수 있다는 것이 인식될 것이다. 즉, OX40 결합 도메인은 CD137 도메인에 대해 도 19에 나타낸 임의의 위치에서 생길 수 있고, 그 반대일 수도 있다.

[0356] 이중특이성 항체에 대한 바람직한 형식은 kih 또는 "놉-인-홀(knob-in-hole)" 배열인데, 이는 도 19의 제2행의 첫 번째에 나타낸다. 이 배열에서, 각각의 항체의 중쇄의 CH3 도메인은 항-OX40 항체로부터의 중쇄와 항-CD137 항체로부터의 중쇄 사이의 이형이량체화를 허용하도록 돌연변이된다. 각각의 중쇄는 그의 대응하는 경쇄와 결합하여 하나의 완전한 OX40 결합 도메인 및 하나의 완전한 CD137 결합 도메인을 형성한다. 변형은 정확한 경쇄와의 결합을 촉진시키기 위해 중쇄 CH1 영역에 대해 이루어질 수 있다. Kih 형식 이중특이성 항체는 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Ridgway et al. 1996; *Protein Eng* 9:617-621, 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨] 참조.

[0357] 본 발명의 이중특이성 항체에 대한 다른 바람직한 형식은 도 19의 제2 행에서 두 번째로 나타낸 scFv₂-Fc 형식이다. 이 배열에서, 각각의 표적에 특이적인 하나의 scFv는 불변 면역글로불린 도메인에 융합된다. 단일쇄는 중쇄의 Fc 영역에 융합될 수 있는데, 하나는 N-말단 끝에 특이적으로 융합되고, 다른 하나는 Fc 영역의 C-말단 끝에 특이적으로 융합된다(Park et al., 2000, *Mol Immunol* 37(18):1123-30; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨).

[0358] 본 발명의 이중특이성 항체에 대한 다른 바람직한 형식은 도 19의 제2 행에서 세 번째로 나타낸 BITE/scFv₂ 형식이다. 이 배열에서, 두 scFv(OX40에 특이적인 하나 및 CD137에 특이적인 다른 하나)는 링커와 함께 융합된다(Brischwein et al., 2007, *J Immunother* 30(8):798-807; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨). 링커는 도 19의 제4 행에 나타낸 바와 같은 scFv-HSA-scFv 이중특이성 항체를 생성하는 용해도 및 혈청 반감기, 예컨대 인간 혈청 알부민(HSA)을 증가시키는 단백질을 선택적으로 포함할 수 있다.

[0359] 본 발명의 이중특이성 항체에 대한 다른 바람직한 형식은 도 19의 제2 행에 나타낸 네 번째 형식인 이중 가변 도메인(DVD) 면역글로불린이다. 이 배열에서, 제2 가변 도메인(VL2)은 제1 가변 경쇄(VL1)에 융합되고, 제2 가변 중쇄(VH2)는 IgG 분자의 제1 가변 중쇄(VH1)에 융합된다. VH1 및 VL1은 결합 부위 1을 형성하고, VH2 및 VL2는 결합 부위 2를 형성하여, 따라서 이중특이성 항체를 생성한다(Wu, 2007, *Nat Biotechnol* 25(11):1290-7; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨).

[0360] 본 발명의 이중특이성 항체에 대한 다른 바람직한 형식은 VH1이 VL2에 융합되고, VH2가 짧은 웹타이드 링커에 의해 VL1에 융합되어 VH1/VL1 및 VH2/VL2 결합 부위를 형성하게 하는 이중 친화도 재표적화(Dual affinity retargeting: DART) 형식이다. 이 작제물은 결합 부위 사이의 이황화 브릿지의 형성에 의해 안정화될 수 있다. DART 형식은 IgG Fc 도메인에 융합되어, 1가 이중특이성 항체(DART-Fc) 또는 2가 이중특이성 항체(DART₂-Fc)를 생성할 수 있다(Moore et al., 2011, *Blood* 117(17):4542-51). DART, DART-Fc 및 DART₂-Fc 형식은 도 19의 제3 행에 나타낸다.

[0361] 본 발명의 이중특이성 항체에 대한 다른 바람직한 형식은 독 앤 락 기법(dock and lock technology: DNL)에 의해 생성된 이중특이성 항체이다. cAMP 의존적 단백질 키나제 A 및 A 키나제 앵커링 단백질(anchor protein)은 각각의 표적에 대한 항체, Fab 단편 또는 scFv에 융합됨으로써, 다가 이중특이성 항체, 예를 들어, DNL-Fab₃을 생성할 수 있다(Chang et al., 2007, *Clin Cancer Res* 13(18 Pt 2):5586s-5591s, 도 19의 제4 행에 나타냄; 이의 개시내용은 본 명세서에 참고로 포함됨).

[0362] 본 발명의 이중특이성 항체에 대한 특히 바람직한 형식은 scFv-IgG 형식이다. 이 형식의 4가지 상이한 가능한 배열은 도 19의 상부 행에 나타낸다. 도 19에 나타낸 바와 같이, scFv-IgG 형식에서, 항-OX40 항체는 전체 IgG 분자이고, 항-CD137 항체는 4개의 일반적인 위치(중쇄 불변 영역; 경쇄 불변 영역; 중쇄 가변 영역; 경쇄 가변 영역) 중 임의의 하나에서 항-OX40 항체에 연결된 scFv 항체이다. 각각의 경우에서, 역 배열이 또한 생각된다.

즉, 전체 IgG로서 항-CD137 항체 및 scFv로서 항-OX40 항체는 4개의 일반적 위치 중 임의의 하나에서 항-CD137 항체에 연결된다. scFv-IgG 형식에서, 전체 IgG 분자는 scFv에 직접 결합될 수 있거나 또는 링커를 통해 직접적으로 결합될 수 있다. 예시적인 링커는 서열번호 47 내지 50, 또는 144 중 임의의 하나에 나타낸 바와 같은 아미노산 서열의 펩타이드를 포함하며, 서열 GGGGSGGGGSGGGGS(서열번호 144)의 펩타이드가 특히 바람직하다.

[0363] 도 19(도면의 상부 좌측)에 나타낸 제1 scFv-IgG 배열에서, 이중특이성 항체는 중쇄 가변 서열 VH2(검정색으로 채움) 및 경쇄 가변 서열 VL2(대각선으로 흰색)로 이루어진 scFv 서열에 (선택적으로 링커를 통해) 연결된 중쇄 불변 서열(Hc; 회색으로 채움)에 연결된 중쇄 가변 서열 VH1(검정색 및 흰색으로 표시)을 포함하는 폴리펩타이드쇄의 두 복제물을 포함한다. 이 쇄는 VH1-Hc-VH2/VL2(N 말단 - C 말단 순서)로서 지칭될 수 있다. 이중특이성 항체는 VL1-Lc(N 말단 - C 말단 순서)로서 지칭될 수 있는 경쇄 불변 서열(Lc; 회색으로 채움)에 연결된 경쇄 가변 서열 VL1(흰색으로 채움)을 포함하는 더 작은 쇄의 두 복제물을 포함한다. 도 19에 나타낸 대안의 scFv-IgG 배열은 또한 유사한 방식으로 기재될 수 있는 각각의 두 상이한 쇄의 두 복제물을 포함한다. 따라서, 도 22의 상부 행에서 좌에서 우로 읽을 때, 제2 배열은 2개의 VH1-Hc 쇄 및 2개의 VL1-Lc-VH2/VL2 쇄를 포함한다. 제3 배열은 2개의 VH1/VH2-VH1-Hc 쇄 및 2개의 VL1-Lc 쇄를 포함한다. 제4 배열은 2개의 VH1-Hc 및 2개의 VH1/VH2-VL1-Lc 쇄를 포함한다.

[0364] 본 발명의 이중특이성 항체에 대한 가장 바람직한 scFv-IgG 형식은 도 19에 나타낸 제1 scFv-IgG 배열이다(도면의 상부 좌측). 이 scFv-IgG 배열로부터 VH1-Hc-VH2/VL2 유형의 폴리펩타이드 쇄에 대한 예시적인 아미노산 서열은 표 F에 나타내고, 실시예의 이중특이성 분자에서 사용한다. 각각의 경우에, 아미노산 서열에 대해 밑줄/볼드체 서열은 VH1이고, 이탈릭체 서열은 중쇄 불변 서열 Hc이며(전형적으로 서열에서 IgG1 불변 도메인을 나타내지만, 이는 본 명세서에 개시한 것과 같은 임의의 적합한 IgG 불변 도메인으로 대체될 수 있음), 밑줄친 서열은 선택적 링커이고, 볼드체 서열은 VH2이며, 볼드 이탈릭체 서열은 VL2이다. 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 대응하는 예시적 뉴클레오타이드 서열은 표 F에 나타낸다. 뉴클레오타이드 서열은 인트론을 포함한다. 이 scFv-IgG 배열로부터의 VL1-Lc형의 폴리펩타이드 쇄에 대한 예시적인 아미노산 서열을 표 G에 나타내고, 실시예의 이중특이성 분자에서 사용한다. 각각의 경우에, 아미노산 서열에 대해, 밑줄/볼드체 서열은 VL1이고, 이탈릭체 서열은 경쇄 불변 서열 Lc이다(전형적으로 카파이지만, 임의의 적합한 경쇄 불변 영역으로 대체될 수 있다). 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 대응하는 예시적인 뉴클레오타이드 서열은 또한 표 G에 나타낸다.

[0365] 본 발명은 단독으로 또는 바람직하게는 단일특이성 또는 이중특이성 항체의 부분으로서 표 F 및 G에 제시한 임의의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진 폴리펩타이드를 제공한다. 표 F 및 G에 나타낸 모든 서열에서, 중쇄 또는 경쇄 불변 영역에 대응하는 서열은 예시적이며, 임의의 다른 적합한 중쇄 또는 경쇄 불변 영역 서열로 대체될 수 있다. 바람직한 중쇄 및 경쇄 불변 영역 서열은 서열번호: 135, 136, 137, 138 및 139의 서열이다.

[0366] 본 발명의 이중특이성 또는 단일특이성 항체는 단리된 또는 실질적으로 단리된 형태로 제공될 수 있다. 실질적으로 단리된은 임의의 주변 배지로부터의 폴리펩타이드의 실질적이지만, 전체는 아닌 단리일 수 있음을 의미한다. 폴리펩타이드는 그들의 의도된 용도를 방해하지 않고 여전히 실질적으로 단리된으로서 여겨지는 담체 또는 희석제와 혼합될 수 있다.

[0367] 본 발명의 항체는 임의의 적합한 수단에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 항체의 모두 또는 일부는 상기 폴리펩타이드를 암호화하는 뉴클레오타이드를 포함하는 세포에 의해 융합 단백질로서 발현될 수 있다.

[0368] 대안적으로 개개의 부분은 별도로 생성될 수 있고, 이어서, 후속적으로 함께 결합될 수 있다. 임의의 적합한 수단에 의해, 예를 들어 화학적 접합 방법 및 상기 약술한 링커를 이용하여 결합이 달성될 수 있다. 개개 부분의 별개의 생성은 임의의 적합한 수단에 의해 달성될 수 있다. 예를 들어 선택적으로 별개의 세포에서 별개의 뉴클레오타이드로부터의 발현에 의해 있는 그대로 이하에 더 상세하게 설명한다.

[0369] 본 발명의 항체의 모두 또는 부분을 암호화하는 대표적인 폴리뉴클레오타이드는 표 B, F, G 및 H에 제시한 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나를 포함하거나 또는 이들로 이루어진다. 적합한 폴리뉴클레오타이드는 대안적으로 상기 정의한 바와 같은 임의의 이들 서열의 변이체일 수 있다.

본 발명의 추가적인 양상

[0371] 본 발명의 제2 양상은 상기 기재한 바와 같은 개체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 제1 양상에 따른 이중특이성 폴리펩타이드를 포함한다.

[0372] 본 발명의 제3 양상은 개체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법이며, 상기 방법은 개체에게 상기 기

재한 바와 같은 본 발명의 제1 또는 제2 양상에 따라 이중특이성 폴리펩타이드를 투여하는 단계를 포함한다.

[0373] 본 발명의 일 실시형태는 본 발명의 제2 양상에 따른 이중특이성 폴리펩타이드 또는 본 발명의 제3 양상에 따른 방법이되, 질환 또는 병태는 암이고, 선택적으로 개체는 인간이다.

[0374] 추가 실시형태에서, 상기 방법은 이중특이성 항체를 상기 기재한 바와 같이 전신으로 또는 국소로, 예컨대 종양 부위에서 또는 종양 배출 림프절 내로 투여하는 단계를 포함한다.

[0375] 암은 전립선암, 유방암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 폐암, 자궁경부암, 횡문근육종, 신경아세포종, 다발성 골 수종, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 흑색종, 방광암, 위암, 두경부암, 간암, 피부암, 림프종 또는 교모세포종 일 수 있다.

[0376] 본 발명의 제4 양상은 상기 기재한 바와 같이 본 발명의 제1 또는 제2 양상에 따른 이중특이성 폴리펩타이드의 적어도 하나의 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드이다.

[0377] 본 발명의 제5 양상은 본 발명의 제1 또는 제2 양상에 따른 이중특이성 폴리펩타이드 및 적어도 1종의 약제학적 으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 조성물이다.

[0378] 본 발명의 일 실시형태에서, 실시형태의 제1 또는 제2 양상에 따른 폴리펩타이드는 추가적인 치료 모이어티에 접합된다.

[0379] 본 발명의 제6 양상은 앞서 정의한 바와 같은 CD137에 특이적인 항체이다.

본 발명의 실시형태

[0381] 본 발명의 실시형태는 다음의 단락에 기재되어 있다:

[0382] 1. CTLA-4와 OX40 둘 다에 특이적으로 결합할 수 있는 폴리펩타이드로서, 상기 폴리펩타이드는 B1 및 B2를 포함하되,

[0383] B1은 OX40에 특이적인 항체 또는 이의 항원 결합 단편이고; 그리고

[0384] B2는 하기 i) 또는 ii)를 포함하거나 또는 이것으로 이루어진 CTLA-4에 특이적인 폴리펩타이드 결합 도메인인, 폴리펩타이드:

[0385] i) 서열번호 3의 아미노산 서열; 또는

[0386] ii) 야생형 인간 CD86보다 더 고친화도로 인간 CTLA-4에 결합된다면, 서열번호 3의 아미노산 서열과 비교할 때, 적어도 하나의 아미노산이 변화되는 아미노산 서열.

[0387] 2. 단락 1에 있어서, 상기 폴리펩타이드에 의해 특이적으로 결합된 CTLA-4는 영장류 또는 뮤린, 바람직하게는 인간, CTLA-4이고/거나 폴리펩타이드에 의해 특이적으로 결합된 상기 OX40은 영장류, 바람직하게는 인간, OX40인, 폴리펩타이드.

[0388] 3. 단락 1 또는 2에 있어서, B1은 적어도 하나의 중쇄(H) 및/또는 적어도 하나의 경쇄(L)를 포함하고, B2는 상기 적어도 하나의 중쇄(H) 또는 적어도 하나의 경쇄(L)에 부착되는, 폴리펩타이드.

[0389] 4. 단락 3에 있어서, B1이 적어도 하나의 중쇄(H) 및 적어도 하나의 경쇄(L)를 포함하고, B2는 상기 중쇄 또는 상기 경쇄 중 하나에 부착되거나; 또는

[0390] B1이 2개의 동일한 중쇄(H) 및 2개의 동일한 경쇄(L)를 포함하고, B2는 중쇄 둘 다에 또는 경쇄 둘 다에 부착된, 폴리펩타이드.

[0391] 5. 단락 1 내지 단락 4 중 어느 하나에 있어서, N에서 C 방향으로 기재된, 다음의 식 중 임의의 하나에 따라 배열된 폴리펩타이드 쇄를 포함하거나 또는 이것으로 이루어진, 폴리펩타이드:

[0392] (A) L-(X)_n-B2;

[0393] (B) B2-(X)_n-L;

[0394] (C) B2-(X)_n-H;

[0395] (D) H-(X)_n-B2;

- [0396] 식 중, X는 링커이고, n은 0 또는 1이다.
- [0397] 6. 단락 5에 있어서, X는 아미노산 서열 SGGGGSGGGS(서열번호 47), SGGGGSGGGSAP(서열번호 48), NFSQP(서열번호 49), KRTVA(서열번호 50) 또는 (SG)_m(m은 1 내지 7임)을 지니는 웹타이드인, 폴리웹타이드.
- [0398] 7. 단락 1 내지 단락 6 중 어느 하나에 있어서, 50×10^{-10} M, 25×10^{-10} M, 또는 20×10^{-10} M 미만의 Kd로 인간 CD40에 결합하고/하거나 60×10^{-9} M, 25×10^{-9} M, 또는 10×10^{-9} M 미만의 Kd 값으로 인간 CTLA-4에 결합하는, 폴리웹타이드.
- [0399] 8. 단락 1 내지 단락 7 중 어느 하나에 있어서, 효과기 T 세포, 바람직하게는 CD4+ 효과기 T 세포의 활성 증가를 유도하되, 선택적으로 상기 증가는 별개의 분자로서 상기 T 세포에 투여되는 B1 및 B2의 조합에 의해 유도되는 효과기 T 세포 활성의 증가보다 적어도 1.5배, 4.5배 또는 7배 더 높은, 폴리웹타이드.
- [0400] 9. 단락 8에 있어서, T 세포 활성의 상기 증가는 T 세포에 의한 증식 및/또는 IL-2 생성의 증가인, 폴리웹타이드.
- [0401] 10. 단락 1 내지 단락 9 중 어느 하나에 있어서, B2 (ii)의 상기 아미노산 서열 내 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 아미노산은 서열번호 3의 아미노산 서열과 비교할 때 치환되고; 선택적으로 서열번호 3의 아미노산 서열에 비해서 삽입 또는 결설이 없는, 폴리웹타이드.
- [0402] 11. 단락 10에 있어서, 상기 제1 결합 도메인의 상기 아미노산 서열 내 상기 아미노산 치환 중 적어도 하나는 위치 122에 되어, 선택적으로 상기 아미노산 서열은 또한 위치 107, 121 및 125 중 적어도 하나에서 치환되는, 폴리웹타이드.
- [0403] 12. 단락 1 내지 단락 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 B2의 아미노산 서열은 서열번호 8, 6, 7 및 9 내지 24 중 임의의 하나로부터 선택되는 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이들로 이루어진, 폴리웹타이드.
- [0404] 13. 단락 1 내지 단락 12 중 어느 하나에 있어서, B1은 B2와 독립적으로 존재할 때, 다음의 I 내지 III의 기능적 특징 중 적어도 하나를 나타내는, 폴리웹타이드:
- [0405] I. 10×10^{-10} M 미만, 더 바람직하게는 5×10^{-10} M 미만인 K_d 값으로 인간 OX40에 결합;
- [0406] II. 뮤린 OX40에 결합하지 않음; 및
- [0407] III. 다른 인간 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 예를 들어 인간 CD137 또는 CD40에 결합하지 않음.
- [0408] 14. 단락 1 내지 단락 13 중 어느 하나에 있어서, B1은 다음의 (a) 내지 (f):
- [0409] (a) 8개의 아미노산의 길이이며, 공통서열: "G, F, T, F, G/Y/S, G/Y/S, Y/S, Y/S/A"을 포함하는, 중쇄 CDR1 서열;
- [0410] (b) 8개의 아미노산의 길이이며, 공통서열: "I, G/Y/S/T, G/S/Y, S/Y, G/S/Y, G/S/Y, G/S/Y, T"를 포함하는, 중쇄 CDR2 서열;
- [0411] (c) 9 내지 17개의 아미노산의 길이이며, 공통서열: "A, R, G/Y/S/H, G/Y/F/V/D, G/Y/P/F, -/H/S, -/N/D/H, -/Y/G, -/Y, -/Y, -/W/A/V, -/A/Y, -/D/A/Y/G/H/N, Y/S/W/A/T, L/M/I/F, D, Y"을 포함하는, 중쇄 CDR3 서열
- [0412] (d) 서열: "Q, S, I, S, S, Y"로 이루어진 경쇄 CDR1 서열;
- [0413] (e) 서열: "A, A, S"로 이루어진 경쇄 CDR2 서열;
- [0414] (f) 8 내지 10개의 아미노산의 길이이고, 공통서열: "Q, Q, S/Y/G, -/Y/H/G, -/S/Y/G/D, S/Y/G/D, S/Y/G/T, P/L, Y/S/H/L/F, T"를 포함하는 경쇄 CDR3 서열
- [0415]로부터 독립적으로 선택되는 임의의 1, 2, 3, 4, 5 또는 모두 6가지 특징을 포함하되;
- [0416] (c)의 상기 중쇄 CDR3 서열은 공통서열 "A, R, Y/H, D, Y, A/Y/G, S/W/A, M/L, D, Y"을 포함하는 바람직하게는 10개의 아미노산의 길이인 서열이거나, 또는 공통서열 "A, R, G/Y, V/F/Y, P, H, G/Y/H, Y, F/I, D, Y"을 포함하는 길이가 11개의 아미노산의 CDR3 서열이고; 그리고
- [0417] (f)의 상기 경쇄 CDR3 서열은 바람직하게는 서열 "Q, Q, S, Y, S, T, P, Y, T"로 이루어진, 폴리웹타이드.

- [0418] 15. 단락 1 내지 단락 14 중 어느 하나에 있어서, B1은 표 A(1)에 나타낸 바와 같은 VH 서열의 모두 3개의 중쇄 CDR 서열 및/또는 표 A(2)에 나타낸 바와 같은 VL 서열의 모두 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함하거나, B1은 표 B에 나타낸 바와 같은 중쇄 VH 서열 및/또는 경쇄 VL 서열을 포함하는, 폴리펩타이드.
- [0419] 16. 단락 1 내지 단락 15 중 어느 하나에 있어서, B1은 공통서열 "A, R, G/Y, V/F/Y, P, H, G/Y/H, Y, F/I, D, Y"를 포함하는 11개의 아미노산의 길이인 중쇄 CDR3 서열; 및 서열번호 97의 경쇄 VL 서열(표 B에 나타낸 바와 같은 1135)을 포함하되, 선택적으로 서열번호 97의 경쇄 VL 서열은 서열번호 129의 더 긴 서열의 부분(표 D에 나타낸 바와 같은 1141)으로서 존재하는, 폴리펩타이드.
- [0420] 17. 단락 1 내지 단락 16 중 어느 하나에 있어서, B1은 인간 Fc 영역 또는 상기 영역의 변이체를 포함하되, 상기 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 영역, 바람직하게는 IgG1 또는 IgG4 영역인, 폴리펩타이드.
- [0421] 18. 단락 1 내지 단락 17 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 125 내지 134 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이루어지되, 상기 폴리펩타이드는 항체의 성분의 부분으로서 제공되는, 폴리펩타이드.
- [0422] 19. 단락 1 내지 단락 18 중 어느 하나에 있어서, 개체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 방법에서 사용하기 위한, 폴리펩타이드.
- [0423] 20. 개체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하는 방법으로서, 개체에게 단락 1 내지 단락 19 중 어느 하나에 따른 폴리펩타이드를 투여하는 단계를 포함하는, 방법.
- [0424] 21. 단락 19에 있어서, 또는 단락 20에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 암이되, 선택적으로 상기 개체는 인간인, 폴리펩타이드 또는 방법.
- [0425] 22. 단락 21에 있어서, 상기 방법은 폴리펩타이드를 전신으로 또는 국소로, 예컨대 종양 부위에서 또는 종양 배출 림프절 내로 투여하는 단계를 포함하는, 폴리펩타이드 또는 방법.
- [0426] 23. 단락 21 또는 22에 있어서, 상기 암은 전립선암, 유방암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 폐암, 자궁경부암, 횡문근육종, 신경아세포종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 림프구성 백혈병, 흑색종, 방광암, 위암, 두경부암, 간암, 피부암, 림프종 또는 교모세포종인, 폴리펩타이드 또는 방법.
- [0427] 24. 단락 1 내지 18 중 어느 하나에 따른 폴리펩타이드를 암호화하는 폴리펩타이드.
- [0428] 25. 추가적인 치료적 모이어티에 접합된 단락 1 내지 18 중 어느 하나에 따른 폴리펩타이드.
- [0429] 26. 단락 1 내지 18 중 어느 하나에 따른 폴리펩타이드 및 적어도 1종의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 조성물.
- [0430] 추가적인 별개의 실시형태가 다음의 단락에 기재된다:
- [0431] 1. 서로 직접적으로 또는 간접적으로 결합되는 OX40에 특이적으로 결합하는 항체(항-OX40 항체) 및 CD137에 특이적으로 결합하는 항체(항-CD137 항체)를 포함하는 이중특이성 항체.
- [0432] 2. 단락 1에 있어서, 특이적으로 결합되는 CD137은 영장류 또는 뮤린, 바람직하게는 인간 CD137이고/이거나 특이적으로 결합되는 OX40은 영장류, 바람직하게는 인간, OX40인, 이중특이성 항체.
- [0433] 3. 단락 1 또는 단락 2에 있어서, $50 \times 10^{-10} M$, $25 \times 10^{-10} M$, 또는 $20 \times 10^{-10} M$ 미만의 Kd로 인간 OX40에 결합하고/하거나 $10 \times 10^{-9} M$, $4 \times 10^{-9} M$, 또는 $1.2 \times 10^{-9} M$ 미만의 Kd 값으로 인간인간 CD137에 결합하는, 이중특이성 항체.
- [0434] 4. 단락 1 내지 단락 3 중 어느 하나에 있어서, 효과기 T 세포 활성의 증가를 유도하되, 선택적으로 상기 증가는 별개의 문자로서 T 세포에 투여되는 대응하는 단일특이성 항체의 조합에 의해 유도되는 효과기 T 세포 활성의 증가보다 적어도 1.5배, 2배, 3배 또는 5배 더 높은, 이중특이성 항체.
- [0435] 5. 단락 4에 있어서, 상기 T 세포 활성의 증가는 T 세포에 의한 증식 및/또는 IL-2 생성 및/또는 IFN-γ 생성의 증가이되, 선택적으로 T 세포는 CD4+ 또는 CD8+ T 세포인, 이중특이성 항체.
- [0436] 6. 단락 1 내지 단락 5 중 어느 하나에 있어서, 항-OX40 항체 및 항-CD137 항체는 아미노산 서열 GGGGSGGGSGGGS(서열번호 144), SGGGGSGGGS(서열번호 47), SGGGGSGGGSAP(서열번호 48), NFSQP(서열번호 49), KRTVA(서열번호 50) 또는 (SG)_m(m = 1 내지 7임)의 웹타이드인 링커를 통해 서로 간접적으로 결합되는, 이중특이성 항체.

- [0437] 7. 단락 1 내지 단락 6 중 어느 하나에 있어서, scFv-IgG 형식 이중특이성 항체인, 이중특이성 항체.
- [0438] 8. 단락 1 내지 단락 7 중 어느 하나에 있어서, 항-OX40 항체는 항-CD137 항체와 독립적으로 존재할 때 다음의 기능적 특징 중 적어도 하나를 나타내는, 이중특이성 항체:
- [0439] I. 10×10^{-10} M 미만, 더 바람직하게는 5×10^{-10} M 미만인 K_D 값으로 인간 OX40에 결합;
- [0440] II. 뮤린 OX40에 결합하지 않음; 및
- [0441] III. 다른 인간 TNFR 슈퍼페밀리 구성원, 예를 들어 인간 CD137 또는 CD40에 결합하지 않음.
- [0442] 9. 단락 1 내지 8 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-OX40 항체는 다음의 (a) 내지 (f):
- [0443] (a) 8개의 아미노산의 길이이며, 공통서열: "G, F, T, F, G/Y/S, G/Y/S, Y/S, Y/S/A"을 포함하는, 중쇄 CDR1 서열;
- [0444] (b) 8개의 아미노산의 길이이며, 공통서열: "I, G/Y/S/T, G/S/Y, S/Y, G/S/Y, G/S/Y, G/S/Y, T"를 포함하는, 중쇄 CDR2 서열;
- [0445] (c) 9 내지 17개의 아미노산의 길이이며, "A, R, G/Y/S/H, G/Y/F/V/D, G/Y/P/F, -/H/S, -/N/D/H, -/Y/G, -/Y, -/Y, -/W/A/V, -/A/Y, -/D/A/Y/G/H/N, Y/S/W/A/T, L/M/I/F, D, Y"의 공통서열을 포함하는, 중쇄 CDR3 서열,
- [0446] (d) 서열: "Q, S, I, S, S, Y"으로 이루어진 경쇄 CDR1 서열;
- [0447] (e) 서열: "A, A, S"로 이루어진 경쇄 CDR2 서열;
- [0448] (f) 8 내지 10개의 아미노산의 길이이며, 공통서열: "Q, Q, S/Y/G, -/Y/H/G, -/S/Y/G/D, S/Y/G/D, S/Y/G/T, P/L, Y/S/H/L/F, T"를 포함하는 경쇄 CDR3 서열
- [0449]로부터 독립적으로 선택되는 임의의 1, 2, 3, 4, 5 또는 모두 6가지의 특징을 포함하되,
- [0450] (c)의 상기 중쇄 CDR3 서열은 바람직하게는 공통서열 "A, R, Y/H, D, Y, A/Y/G, S/W/A, M/L, D, Y"을 포함하는 10개의 아미노산의 길이인 서열 또는 공통서열 "A, R, G/Y, V/F/Y, P, H, G/Y/H, Y, F/I, D, Y"를 포함하는 11개의 아미노산의 길이의 CDR3 서열이고; 그리고
- [0451] (f)의 상기 경쇄 CDR3 서열은 바람직하게는 서열 "Q, Q, S, Y, S, T, P, Y, T"로 이루어진, 이중특이성 항체.
- [0452] 10. 단락 1 내지 단락 9 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-OX40 항체는 표 A(1)에 나타낸 바와 같은 VH 서열의 모두 3개의 중쇄 CDR 서열 및/또는 표 A(2)에 나타낸 바와 같은 VL 서열의 모두 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함하거나, 또는 상기 항-OX40 항체는 표 B에 나타낸 바와 같은 중쇄 VH 서열 및/또는 경쇄 VL 서열을 포함하는, 이중특이성 항체.
- [0453] 11. 단락 1 내지 단락 10 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-OX40 항체는 공통서열 "A, R, G/Y, V/F/Y, P, H, G/Y/H, Y, F/I, D, Y"를 포함하는 11개의 아미노산의 길이의 중쇄 CDR3 서열; 및 서열번호 97의 경쇄 VL 서열(표 B에 나타낸 바와 같은 1135)를 포함하되, 선택적으로 상기 서열번호 97의 경쇄 VL 서열은 서열번호 129의 더 긴 서열의 부분(표 D에 나타낸 바와 같은 1141)으로서 존재하는, 이중특이성 항체.
- [0454] 12. 단락 1 내지 단락 11 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-OX40 항체는 항-CD137 항체와 독립적으로 존재할 때, OX40에 대한 결합에 대해 단락 8 내지 단락 11 중 임의의 하나에 나타낸 바와 같은 항-OX40 항체와 경쟁하는, 이중특이성 항체.
- [0455] 13. 단락 1 내지 단락 12 중 어느 하나에 있어서, 항-CD137 항체는 항-OX40 항체와 독립적으로 존재할 때 다음의 기능적 특징 중 적어도 하나를 나타내는, 이중특이성 항체:
- [0456] I. 2×10^{-9} M 미만, 더 바람직하게는 1.2×10^{-9} M 미만인 K_D 값으로 인간 CD137에 대한 결합; 및
- [0457] II. 시험관내 CD8+ T 세포 활성의 증가를 야기하는 능력으로서, 선택적으로 상기 활성의 증가는 상기 T 세포에 의한 증식 및/또는 IL-2 생성 및/또는 IFN-γ 생성의 증가인, 능력.
- [0458] 14. 단락 1 내지 단락 13 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-CD137 항체는 표 I(1)의 제1 행 나타낸 바와 같은 VH 서열의 모두 3개의 중쇄 CDR 서열 및/또는 표 I(2)의 제1 행에 나타낸 바와 같은 VL 서열의 모두 3개의 경쇄 CDR 서열을 포함하거나, 또는 상기 항-CD137 항체는 표 H, 서열번호 177 내지 180에 나타낸 바와 같은 중

쇄 VH 서열 및/또는 경쇄 VL 서열을 포함하는, 이중특이성 항체.

[0459] 15. 단락 1 내지 단락 14 중 어느 하나에 있어서, 항-OX40 항체와 독립적으로 존재할 때 항-CD137 항체는 단락 14에 나타낸 바와 같은 항-CD137 항체와 CD137에 대한 결합에 대해 경쟁하는, 이중특이성 항체.

[0460] 16. 단락 1 내지 단락 15 중 어느 하나에 있어서, 상기 항-OX40 및/또는 항-CD137 항체는 인간 Fc 영역 또는 상기 영역의 변이체를 포함하되, 상기 영역은 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 영역, 바람직하게는 IgG1 또는 IgG4 영역인, 이중특이성 항체.

[0461] 17. 단락 1 내지 단락 16 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161 또는 163 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 이중특이성 항체.

[0462] 18. 단락 1 내지 단락 17 중 어느 하나에 있어서, 서열번호 165, 167, 169, 171 또는 173 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하는, 이중특이성 항체.

[0463] 19. 단락 1 내지 단락 18 중 어느 하나에 있어서,

- 서열번호 165, 및 서열번호: 149, 153, 159 및 163 중 임의의 하나; 또는

[0465] - 서열번호 167 및 서열번호 151; 또는

[0466] - 서열번호 169 및 서열번호 155; 또는

[0467] - 서열번호 171 및 서열번호 157; 또는

[0468] - 서열번호 173 및 서열번호 161의 아미노산 서열을 포함하는, 이중특이성 항체.

[0469] 20. 개체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 방법에서 사용하기 위한 단락 1 내지 단락 19 중 어느 하나에 따른 이중특이성 폴리펩타이드.

[0470] 21. 개체에서 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 방법으로서, 개체에게 단락 1 내지 단락 20 중 어느 하나에 따른 이중특이성 폴리펩타이드를 투여하는 단계를 포함하는, 질환 또는 병태를 치료 또는 예방하기 위한 방법.

[0471] 22. 단락 20에 있어서, 또는 단락 21에 있어서, 상기 질환 또는 병태는 암이되, 선택적으로 상기 개체는 인간인, 이중특이성 항체 또는 방법.

[0472] 23. 단락 22에 있어서, 상기 방법은 상기 이중특이성 항체를 전신으로 또는 국소로, 예컨대 종양 부위에서 또는 종양 배출 램프절 내로 이중특이성 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 이중특이성 항체 또는 방법.

[0473] 24. 단락 22 또는 단락 23에 있어서, 상기 암은 전립선암, 유방암, 결장직장암, 췌장암, 난소암, 폐암, 자궁경부암, 횡문근육종, 신경아세포종, 다발성 골수종, 백혈병, 급성 램프구성 백혈병, 흑색종, 방광암, 위암, 두경부암, 간암, 피부암, 램프종 또는 교모세포종인, 이중특이성 항체 또는 방법.

[0474] 25. 단락 1 내지 20 중 어느 하나에 따른 이중특이성 항체의 적어도 하나의 폴리펩타이드 쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드.

[0475] 26. 단락 1 내지 20 중 어느 하나에 따른 이중특이성 항체 및 적어도 1종의 약제학적으로 허용 가능한 희석제 또는 담체를 포함하는 조성물.

[0476] 27. 단락 13 내지 15 중 어느 하나에 나타낸 바와 같은 CD137에 특이적인 항체.

도면의 간단한 설명

[0477] 본 발명의 특정 양상을 구현하는 바람직한, 비제한적 예를 다음의 도면을 참고로 하여 이제 기재할 것이다:

도 1은 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드에 대한 예시적인 배열 구조의 개략적 표현을 도시한 도면. 항-OX40 항체 가변 도메인을 검정색으로 채우고; 불변 도메인을 흰색으로 채운다. CTLA-A 결합 도메인을 대각선으로 음영 표시한다.

도 2는 ELISA 결합 분석에 의해 결정된 바와 같은 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 CTLA-4 결합 특성을 도시한 도면.

도 3은 ELISA 저해 분석에 의해 결정된 바와 같은 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인의 CTLA-4 결합

특성을 도시한 도면.

도 4는 본 명세서에 개시된 인간 야생형 CD86 아미노산 서열의 개략적 표현을 도시한 도면. (A)는 N-말단 신호 서열(서열번호 3)이 없는 인간 CD86의 단량체 가용성 세포와 도메인의 아미노산 서열이고; (B)는 N-말단 신호 서열(서열번호 4)을 포함하는, 인간 야생형 CD86의 단량체 세포와 및 막관통 도메인의 아미노산 서열이며; (C)은 인간 CD86의 전장 아미노산 서열(젠햄크 ABK41931.1; 서열번호 44)이다. A의 서열은 선택적으로 N 말단, 즉, 볼드체로 나타낸 위치 24 및 25에서 알라닌 및 프롤린을 결여할 수 있다. B 및 C의 신호 서열은 밑줄 표시한다. 아미노산 위치의 넘버링은 N 말단으로부터 출발해서 서열번호 4 및 44에 기반한다.

도 5는 본 발명의 폴리펩타이드의 CTLA-4 결합 도메인이 인간과 뮤린 CTLA-4 둘 다에 대해 유사한 규모의 결합 친화도를 가진다는 것을 보여주는 저해 ELISA의 결과를 도시하는 도면.

도 6은 표면 플라즈몬 공명에 의해 결정되는 바와 같은 예시적인 항-OX40 항체에 대한 해리 속도 상수 대 결합 속도 상수의 플롯을 도시한 도면.

도 7은 유세포분석에 의해 측정되는 CHO 세포에 대해 과발현된 인간 OX40에 대한 예시적인 항-OX40 항체 결합을 도시한 도면.

도 8은 상이한 예시적 항-OX40 항체와 함께 시험관내에서 인큐베이션시킬 때 T 세포에 의한 IL-2 생성 수준을 도시한 도면. y-축은 시험 항체에 의한 IL-2 생성의 최고 값/기준 항체의 최고 값의 비이다. 적어도 4명의 공여자로부터의 평균 및 SEM 값을 나타낸다.

도 9는 개개 표적 OX40 및 CTLA4에 대한 예시적인 이중특이성 분자의 결합을 위한 ELISA 분석 결과를 도시한 도면.

도 10은 OX40과 CTLA4 둘 다에 대한 예시적인 이중특이성 분자 결합의 표면 플라즈몬 공명 분석 결과를 도시한 도면. 상이한 이중특이성 항체는 센서 위로 통과하였다(시작은 I로 표시함). 표면의 균처 포화에서, 완충제를 적용하고(II), 후속적으로 CTLA-4(III)를 실선으로 표시한 제2 결합상을 생성하는 센서 표면 위로 통과시켰다. 3분 후에, 완충제(IV)를 적용하고 나서, 다음의 해리상은 CTLA-4와 OX40 Ab 둘 다의 해리를 반영한다. 대조군으로서, CTLA-4가 없는 완충제만을 첨가하였고, 점선으로 표시하였다.

도 11은 OX40와 CTLA-4 둘 다에 동시에 예시적인 이중특이성 분자의 결합을 나타내는 ELISA 분석 결과를 도시한 도면.

도 12는 적정 시리즈에서 상이한 예시적인 이중특이성 분자와 함께 시험관내에서 인큐베이션시킬 때 T 세포에 의한 IL-2 생성 수준을 도시한 도면: A) 1164/1141 및 1166/1141 B) 1168/1141 및 1170/1263 C) 1514/1581 및 1520/1141 D) 1526/1585 및 1542/1141 또는 각각의 표적에 대한 두 대응하는 단일특이성 항체의 조합물(아이소타입 IgG 항체에 결합된 단클론성 OX40 항체 또는 CTLA-4-결합 도메인: 1756/1757). CD3(UCHT1) 및 CTLA-4(오렌시아(Orencia))로 코팅한 U-형 비조직 배양 처리된 96-웰 플레이트에서 상기 분석을 수행하였다. 4명의 공여자 중의 평균을 제시한다.

도 13은 1.49nM로 상이한 예시적인 이중특이성 분자 또는 각각의 표적에 대한 대응하는 단일특이성 항체의 조합물(아이소타입 항체에 결합된 a-OX40 mAbs 또는 CTLA-4-도메인: 1756/1757)과 함께 시험관내에서 인큐베이션시킬 때 T 세포에 의한 IL-2 생성 수준을 도시한 도면. CTLA-4(오렌시아)와 함께 또는 이것 없이(+ 또는 -로 표시함) 항-CD3(UCHT1)로 코팅한 U-형 비조직 배양 처리된 96-웰 플레이트에서 분석을 수행하였다. 4명의 공여자 중의 평균 및 SD를 제시한다.

도 14는 유세포분석기에 의해 측정한 CHO 세포 상에서 과발현된 인간 및 사이노몰거스 원숭이 CD137에 대한 예시적인 항-CD137 항체 1204/1205의 결합을 도시한 도면.

도 15는 CD8 T 세포 작용제 분석에서의 기준 항체 111/112에 비해 예시적인 항-CD137 항체 1204/1205의 IFN γ 생성의 정규화된 자극 지수를 도시한 도면.

도 16은 하기 적정 시리즈에서 상이한 예시적인 이중특이성 분자와 함께 시험관내에서 인큐베이션시켰을 때 T 세포에 의한 IL-2 생성 수준을 도시한 도면: A) 1164/1135-1204/1205. B) 1166/1167-1204/1205, C) 1168/1135-1204/1205, D) 1170/1171-1204/1205, E) 1482/1483-1204/1205, F) 1520/1135-1204/1205, G) 1526/1527-1204/1205, H) 1542/1135-1204/1205; 또는 각각의 표적에 대한 두 대응하는 단일특이성 항체의 조합물. 아이소타입 대조군 1188/1187(IgG1)을 모든 실험에서 음성 대조군으로서 사용한다. 항-CD3 항체(UCHT1)로 코팅한 U-형

비조직 배양 처리 196-웰 플레이트에서 72시간 동안 세포를 배양시켰다. 2명의 공여자의 평균 IL-2 수준을 제시한다.

도 17은 각각의 표적에 대한 대응하는 단일특이성 항체(항-OX40 mAb 1164/1135 또는 mAb 항-CD137 1204/1205 또는 아이소타입 대조군 1188/1187(IgG1))에 비교하여, 예시적인 1nM에서 이중특이성 분자 1164/1135-1204/1205와 함께 시험관내에서 인큐베이션시켰을 때 말초 혈액 단핵구 세포에 의한 IL-2 생성 수준을 도시한 도면. 세포를 항-CD3 항체(UCHT1)로 코팅한 U-형 비조직 배양 처리된 96-웰 플레이트에서 48시간 동안 배양시켰다. 2명의 공여자의 평균 IL-2 수준을 제시한다.

도 18은 OX40과 CD137 둘 다에 대한 동시에 예시적인 이중특이성 분자의 결합을 나타내는 ELISA 분석 결과를 도시한 도면.

도 19는 본 발명의 이중특이성 항체에 대한 예시적인 형식 구조의 개략적 제시를 도시한 도면. 각각의 형식에서, 불변 영역은 밝은 회색으로 채워서 나타내고; 가변 중쇄 영역 VH1은 검정색과 흰색 체크무늬로 나타내며; 가변 경쇄 영역 VL1은 흰색으로 채워서 나타내고; 가변 중쇄 영역 VH2는 검정색으로 채워서 나타내며; 가변 경쇄 영역 VL2는 대각선으로 흰색으로서 나타낸다. OX40 결합 도메인(결합 도메인 1)은 전형적으로 채워진 흰색 도메인과 함께 검정색과 흰색 체크무늬 도메인의 쌍(VH1/VL1)으로서 나타내고; CD137 결합 도메인(결합 도메인 2)은 전형적으로 채워진 검정색 도메인 및 대각선 흰색 도메인의 쌍(VH2/VL2)으로서 나타낸다. 그러나, 나타낸 모든 형식에서, 결합 도메인 1 및 2는 전환될 수 있다는 것이 인식될 것이다. 즉, OX40 결합 도메인은 CD137 도메인에 대해 이 도면에서 나타낸 위치에서 일어나며, 그 반대일 수 있다. 더 나아가, 결합 도메인 2는 상이하나 가변 중쇄 및 경쇄 순서로, 즉, VH2/VL2 또는 VL2/VH2 순서로 일어날 수 있다.

도 20은 세포 상에서 발현되고 유세포 분석에 의해 측정한 인간 CD137 및 사이노몰거스 CD137에 대한 상이한 CD137 항체의 결합을 도시한 도면.

도 21은 인간/마우스 CD137 키메라의 개요를 도시한 도면(마우스 서열 = 검정색 선, 인간 서열 = 흰색 선).

도 22는 예로부터의 결과가 CD137L 결합을 차단하는 능력을 평가한 것임을 도시한 도면. 100% 결합은 차단 없음을 반영한다. 100% 이하의 신호는 결합의 차단을 반영한다(좌측에서 우측으로의 항체 농도 0.25, 2.5 및 25 μ g/ml).

도 23은 IFN γ 방출에 의해 측정한 바와 같은 CD8 T 세포를 자극하는 단일특이성 CD137 항체의 능력을 도시한 도면.

도 24는 이중 ELISA로부터의 결과를 도시한 도면. CD137을 ELISA 웰에 코팅하고 나서, 이중특이성 항체를 상이한 농도로 첨가하였다. 바이오틴일화된 CTLA-4를 이용하여 결합을 검출하였다.

도 25는 1.5nM CD137-CTLA4 이중특이성 항체로 자극한 인간 CD8 양성 T 세포 또는 CTLA-4 결합만을 지니는 아이소타입 대조군으로부터 측정된 상청액 중의 IFN γ 수준을 도시한 도면. 상기 분석을 CTLA-4와 함께 또는 이것 없이 CD3으로 코팅한 플레이트 상에서 수행하였다.

도 26은 CD137-CTLA4 이중특이성 항체로(상이한 농도에서) 자극한 인간 CD8 양성 T 세포 또는 CTLA-4 결합만 지니는 아이소타입 대조군으로부터 측정한 상청액 중의 IFN γ 수준의 완전 희석 곡선을 도시한 도면. 상기 분석을 CTLA-4와 함께 CD3으로 코팅한 플레이트 상에서 수행하였다.

도 27은 CTLA-4 및 OX40을 표적화하는 예시적인 이중특이성 항체에 의해 유도된 ADCC에 비교하여, 단독으로 및 조합하여 단일특이성 CTLA-4(CTLA-4 결합 부분, 즉, 도메인을 갖는 대조군 IgG) 및 OX40(1166/1167) 결합 분자에 의한 상이한 농도에서 ADCC의 유도를 도시한 도면.

도 28. CTLA-4와 OX40를 둘 다 발현시키는 CHO 세포를 1166/1261, 또는 2개의 단일특이성 결합체 1166/1167(OX40 특이적 단클론성 항체) 및 CTLA-4 결합 부분을 갖는 대조군 IgG(단일특이성 CTLA4 결합 IgG 융합 단백질)(200nM 내지 0,0034nM), 다음에 PE-접합된 항-인간 IgG의 농도를 감소시키면서 염색하였다. 유세포 분석을 이용하여 형광을 검출하였다. '대조군 IgG'는 음성 아이소타입 대조군이다.

도 29. HEK-CTLA4 및 CHO-OX40을 PKH26 및 PKH67로 각각 염색하고 나서, 1166/1261 또는 2개의 단일특이성 OX40 및 CTLA-4 결합 분자의 조합물(1166/1167 및 CTLA-4 결합 부분을 지니는 대조군 IgG)과 함께 인큐베이션시켰다. 유세포분석(대표적인 실험)을 이용하여 이중-양성/응집 세포의 백분율을 정량화하였다.

도 30. 상이한 시점에 측정한 다음에 투여한 이중특이성 OX40-CTLA-4 항체 1166/1261 및 단일특이성 OX40 항체

1166/1167의 혈장 수준. 두 상이한 ELISA 방법(OX40을 웰 상에서 코팅하고, 항-Fc를 사용하여 결합을 검출한 ELISA-1, 및 OX40을 웰 상에서 코팅하고, 검출을 위해 바이오텐일화된 CTLA-4를 사용한 ELISA-2)을 사용하였다.

도 31. HT-29 결장 암종 세포(4×10^6)를 제0일에 우측 뒷 옆구리/등쪽에 피하로 접종하였다. 인간 PBMC 세포 (7×10^6)를 동일한 날에 복강내로 투여하였다. 제6일, 제13일 및 제20일에 복강내 주사(667nmol/용량)에 의해 처리를 행하였다. N(마우스)=5/공여자, n(공여자=4)(HT29 반응자로부터 데이터를 모았다).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0478] 서열번호 1은 인간 CTLA-4의 아미노산 서열(젠햄크: AAD00698.1에 대응)이다.
- [0479] 서열번호 2는 인간 CD28의 아미노산 서열(젠햄크: AAA51944.1에 대응)이다.
- [0480] 서열번호 3은 N 말단으로부터의 23개 아미노산 신호 서열을 제외한 인간 야생형 CD86의 단량체 세포외 도메인의 아미노산 서열이다.
- [0481] 서열번호 4는 N-말단 신호 서열을 포함하는 인간 야생형 CD86의 단량체 세포외 및 막관통 도메인의 아미노산 서열이다(도 4 참조). 본 명세서의 아미노산 위치의 모든 넘버링은 N 말단으로부터 시작해서 서열번호 4의 위치에 기반한다. 따라서, 서열번호 3의 N 말단에서 알라닌을 24로 넘버링한다.
- [0482] 서열번호 5는 피치(Peach) 등(Journal of Biological Chemistry 1995, vol 270(36), 21181-21187)에 개시된 인간 CD86의 세포외 도메인의 돌연변이체 형태의 아미노산 서열이다. 야생형 서열의 위치 79에서 H는 서열번호 5의 서열에 대한 대응하는 위치에서 A로 치환된다. 이 변화는 본 명세서에서 H79A로서 지칭된다. 본 명세서에서 언급되는 다른 아미노산 치환에 대해 동일한 명명법을 사용한다. 위치의 넘버링은 상기 약술한 바와 같은 서열 번호 4에 기반한다.
- [0483] 서열번호: 6 내지 24는 본 발명의 특정 단백질의 아미노산 서열이다.
- [0484] 서열번호: 25 내지 43은 각각 서열번호 6 내지 24 각각의 아미노산 서열을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0485] 서열번호 44는 인간 CD86의 전장 아미노산 서열(젠햄크: ABK41931.1에 대응)이다.
- [0486] 서열번호 45는 뮤린 CTLA-4의 아미노산 서열(UniProtKB/Swiss-Prot: P09793.1에 대응)이다.
- [0487] 서열번호 46은 뮤린 CD28의 아미노산 서열(젠햄크: AAA37395.1에 대응)이다.
- [0488] 서열번호: 47 내지 50은 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드에서 사용될 수 있는 다양한 링커이다.
- [0489] 서열번호 51은 인간 OX40의 아미노산 서열(젠햄크에 대응: NP_003318.1)이다
- [0490] 서열번호: 52 내지 88은 본 명세서에 개시된 항-OX40 항체의 예시적인 CDR 서열이다.
- [0491] 서열번호: 89 내지 124는 본 명세서에 개시된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 예시적인 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0492] 서열번호: 125 내지 134는 본 명세서에 개시된 이중특이성 폴리펩타이드의 예시적인 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0493] 서열번호 135는 예시적인 중쇄 불변 영역 아미노산 서열이다.
- [0494] 서열번호 136은 예시적인 경쇄 불변 영역 아미노산 서열이다.
- [0495] 서열번호 137은 헌지 영역(위치 108) 내 Ser으로부터 Pro으로 그리고 CH3 영역(위치 315) 내 His으로부터 Arg으로의 돌연변이를 지니는 예시적인 변형된 인간 중쇄 IgG4 불변 영역 서열이다. 돌연변이는 감소된 혈청 반감기 및 IgG4의 코어 헌지의 안정화를 초래하여 IgG4를 더 안정하게 만들고, Fab 아암 교환을 방지한다.
- [0496] 서열번호 138은 예시적인 야생형 인간 중쇄 IgG4 불변 영역 서열이다. 이는 서열번호 137의 돌연변이가 없는 서열이다.
- [0497] 서열번호 139는 헌지 영역(위치 108) 내 Ser의 Pro으로의 단일 돌연변이를 지니는 예시적인 변형된 인간 중쇄 IgG4 불변 영역 서열이다. 돌연변이는 IgG4의 코어 헌지의 안정화를 초래하여 IgG4를 더 안정하게 만들고, Fab

아암 교환을 방지한다.

- [0498] 서열번호 140은 서열번호 137의 IgG4 불변 영역을 암호화하는 예시적인 cDNA 서열(즉, 인트론 결여)이다.
- [0499] 서열번호 141은 서열번호 137의 IgG4 불변 영역을 암호화하는 예시적인 게놈 DNA 서열(즉, 인트론 도입)이다.
- [0500] 서열번호 142는 서열번호 138의 IgG4 불변 영역을 암호화하는 예시적인 cDNA 서열(즉, 인트론 결여)이다.
- [0501] 서열번호 143은 서열번호 138의 IgG4 불변 영역을 암호화하는 예시적인 게놈 DNA 서열(즉, 인트론을 포함)이다.
- [0502] 서열번호 144는 본 발명의 이중특이성 폴리펩타이드에서 사용될 수 있는 링커이다.
- [0503] 서열번호: 145 및 146은 각각 서열번호 135의 IgG1 불변 영역을 암호화하는 예시적인 cDNA 및 게놈 DNA 서열이다.
- [0504] 서열번호: 147은 서열번호 136의 경쇄 카파 영역을 암호화하는 예시적인 DNA 서열이다.
- [0505] 서열번호 148은 인간 CD137의 아미노산 서열(젠햄크에 대응: AAH06196.1)이다.
- [0506] 서열번호: 149 내지 174는 본 명세서에 개시된 예시적인 이중특이성 항체의 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0507] 서열번호 175는 서열번호 139의 IgG4 영역을 암호화하는 예시적인 cDNA 서열(즉, 인트론 결여)이다.
- [0508] 서열번호 176은 서열번호 139의 IgG4 영역을 암호화하는 예시적인 게놈 DNA 서열(즉, 인트론 포함)이다.
- [0509] 서열번호: 177 내지 196은 본 명세서에 개시된 항-CD137 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 예시적인 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열이다.
- [0510] 서열번호: 197 내지 206은 본 발명의 예시적인 이중특이성 폴리펩타이드이다.
- [0511] 서열번호 207 내지 226은 CD137 결합 도메인에 대한 예시적인 CDR 서열(서열번호 80 및 81에서와 같음)에 대응한다
- [0512] 표(서열)

표 A(1) – 예시적인 중쇄 CDR 서열 (OX40 항체)

VH 번호	서열	H CDR1	서열	H CDR2	서열	H CDR3
1166	52	GFTFGYYY	60	ISGSGGST	69	ARYDYASMDY
1170		As 1166	61	IPGSGGST	70	ARYDYYWMDY
1164	53	GFTFYGSS	62	IYSSGGYT	71	ARGVPHGYFDY
1168	54	GFTFSGSS	63	ISYYGGYT	72	ARYFPHYYFDY
1482	55	GFTFSSYA	64	ISYYSGYT	73	ARGYGYLDY
1490		As 1482		As 1168	74	ARYYPHHYIDY
1514	56	GFTFGYYY	65	ISSYGSYT	75	ARSGYSNWANSFDY
1520		As 1482		As 1166	76	ARYYYSHGYYVYGTLDY
1524	57	GFTFGSYY	66	IGSYGGYT	77	ARHDYGAALDY
1526	58	GFTFSGYS	67	IGYSGYGT	78	ARYYFHDYAAYS LDY
1542	59	GFTFGSSS	68	IGYYSYSTS	79	ARGYPHHYFDY

표 A(2) – 예시적인 경쇄 CDR 서열 (OX40 항체)

VL 번호	서열	L CDR1	서열	L CDR2	서열	L CDR3
1167	80	QSISSY	81	AAS	82	QQYYWYGLST
1171		As 1167		As 1167	83	QQGHGSPHT
1135		As 1167		As 1167	84	QQSYSTPYT
1483		As 1167		As 1167	85	QQYGSLLT
1515		As 1167		As 1167	86	QQGDYTLFT
1525		As 1167		As 1167	87	QQYGPSGLFT
1527		As 1167		As 1167	88	QQYGSDSLTT

표 B - 예시적인 서열(OK40 항체)

서열 번호	쇄 번호	유형	서열
89	1167, 경쇄 VL	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYYWYGLSTF GQGTKEIK
90	1167, 경쇄 VL	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCAT CACTTGCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCATCACGTTCA GTGGCAGTGAAGCGGGACAGATTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTG CAACTTATTACTGTCAACAGTACTACTGGTAC GGTCTGTCCACTTTGCCAGGGGACCAAGC TGGAGATCAA
91	1166, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGY YMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARYDYASMDYWGQGTLTVSS
92	1166, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTGGTGG TTACTACATGCTTGGGTCCGCCAGGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTTAA GTGGTAGTGGTAGCACATACTATGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCGT GACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACGGCTGT ATATTATTGTGCGCGCTACGACTACGCTTCTA TGGACTATTGGGCCAGGGAACCCCTGGTCAC CGTCTCTCA
93	1171, 경쇄 VL	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQGHGSYPHTF GQGTKEIK
94	1171, 경쇄 VL	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCAT CACTTGCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCATCACGTTCA GTGGCAGTGAAGCGGGACAGATTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTG CAACTTATTACTGTCAACAGGGTCATGGTCT TACCCGCACACTTTGCCAGGGGACCAAGC TGGAGATCAA

[0514]

95	1170, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGY YMSWVRQAPGKGLEWVSYIPGSGGSTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARYDYYWMDYWGQGTLTVSS
96	1170, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTTGGTGG TTACTACATGTCCTGGTCCGCCAGGCTCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTACATACATGCAGAC CTGTTCTGGTGGTTCTACATACATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCGTG ACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCAGGACACGGCTGTAT ATTATTGTGCGCGCTACGACTACTGGATG GACTATTGGGCCAGGGAAACCCTGGTACCC GTCTCCTCA
97	1135, 경쇄 VL	aa	DIQMTQSPSSLASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFLTISQLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFG QGTKLEIK
98	1135, 경쇄 VL	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTACCAT CACTTGCCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCACGTTCA GTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTG CAACTTATTACTGCAACAGAGTTACAGTACC CCTTATACTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGG AGATCAAA
99	1164, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFYGS SMYWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGYTSYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARGVPHGYFDYWGQGTLTVSS
100	1164, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTTACGG TTCTCTATGTAATGGTCCGCCAGGCTCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTT ACTCTCTGGTGGTTACACATCTTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCGTG ACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCAGGACACGGCTGTAT ATTATTGTGCGCGCGGTGTTCTCATGGTTAC TTGACTATTGGGCCAGGGAAACCCTGGTACCC CCGTCTCCTCA
101	1168, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGS SMSWVRQAPGKGLEWVSSISYYGGYTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARYFPHYYFDYWGQGTLTVSS

[0515]

102	1168, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTAGTGG TTCTTCTATGTCTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATT CTTACTACGGTGGTTACACATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCCTG ACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCCGAGGACACGGCTGTAT ATTATTGTGCGCGTACTTCCCGATTACTAC TTTGAECTATTGGGGCCAGGGAACCTGGTCA CCGTCTCCTCA
103	1483, 경쇄 VL	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRSGSG SGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYGSLLTFGQ GTKLEIK
104	1483, 경쇄 VL	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTACCAT CACTTGCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTCA GTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTTACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTG CAACTTAACTACTGCAACAGTACGGTTCTG CTCACTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGA TCAAA
105	1482, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSYISYYSGYTYYADSV KGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RGYGYLDYWQQGTLVTVSS
106	1482, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTAGCAG CTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATT CTTACTACTGGTACACATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCCCTG ACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCCGAGGACACGGCTGTAT ATTATTGTGCGCGCGGTTACGGTTACTTGG CTATTGGGGCCAGGGAACCTGGTACCGTC TCCTCA
107	1490, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSGISYYGGYTYYADSV VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARYYPHYIDYWQQGTLVTVSS

[0516]

108	1490, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTAGCAG CTATGCCATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTT CTTACTACGGTGGTTACACATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGGTTACCACATCTCCGTG ACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCCGAGGGACACGGCTGTAT ATTATTGTGCGCGCTACTACCCGCATCATTAC ATTGACTATTGGGCCAGGGAACCTGGTCA CCGTCTCCTCA
109	1515, 경쇄 VL	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRSGSG SGTDFLTISLQPEDFATYYCQQGDYTLFTFG QGKLEIK
110	1515, 경쇄 VL	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCAT CACTTGCCGGCAAGTCAGGACATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTCAAAGTGGGGTCCCACGTTCA GTGGCAGTGAAAGCGGGACAGATTTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTG CAACTTAACTACTGTCAACAGGGTATTACACT CTGTTCACTTTGGCCAGGGACCAAGCTGG AGATCAAA
111	1514, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPQGGSLRLSCAASGFTFGYY YMSWVRQAPGKGLEWVSGISSYGSYTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARSGYSNWANSFDYWGQGLTVSS
112	1514, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTGGTTA CTACTACATGCTTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTT CTCTTACGGTAGTTACACATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGGTTACCACATCTCCGTG ACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCCGAGGGACACGGCTGTAT ATTATTGTGCGCGCTCTGGTTACTCTAACTGG GCTAACTCTTTGACTATTGGGCCAGGGAA CCCTGGTCACCGTCTCCTCA
113	1520, 중쇄 VII	aa	EVQLLESGGGLVQPQGGSLRLSCAASGFTFSSY AMSWVRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARYYYSHGYYYVGTLDYWGQGLTVSS

[0517]

114	1520, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTAGCAG CTATGCCATGAGCTGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGCTATT GTGGTAGTGGTAGCACACTATGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGTTCACCATCTCCCGT GACAATTCCAAGAACACGCTGTATGCAAAT GAACAGCCTGCGTGCGAGGACACGGCTGT ATATTATTGTGCGCGCTACTACTACTCTCATG GTTACTACGTTACGGTACCTGGACTATTGG GCCAGGGAACCTGGTACCGTCTCCCTCA
115	1525, 경쇄 VL	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYGPSGLFTF GQGTKLEIK
116	1525, 경쇄 VL	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACC CGC GT CACCAT CACTTGC CGGG CAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGC AAGTGGGGTCCCATCACGTTCA GTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTG CAACTTATTACTGTCAACAGTACGGTCCGTCT GGCTGTTCACTTTGCCAGGGACCAAGC TGGAGATCAA
117	1524, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSY YMGWVRQAPGKGLEWVSSIGSYYGYTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARHDYGALDYWGQGTLVTVSS
118	1524, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTGGTTC TTACTACATGGTTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGCTGGAGTGGGTCTCATCTATTG GTTCTTA CTACGGTACACATACTATGCAGAC TCCGTGAAGGGCCGTTACCATCTCCCGTG ACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCGAGGACACGGCTGTAT ATTATTGTGCGCGCCATGACTACGGTCTTT GGACTATTGGGGCCAGGGAACCTGGTCAC CGTCTCCTCA
119	1527, 경쇄 VL	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYGPSDSLTF GQGTKLEIK

[0518]

120	1527, 경쇄 VL	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCAT CACTTGCCTGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTGCAAAGTGGGGTCCATCACGTTCA GTGGCAGTGAAGCGGGACAGATTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTG CAACTTATTACTGTCAACAGTACGGTCTGAT TCTCTGCTCACCTTGCCAGGGACCAAGC TGGAGATCAA
121	1526, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY SMYWVRQAPGKGLEWVSGIGYSGYGTYYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARYYFHDYAYSLDYWGQGTLVTVSS
122	1526, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTTCTGG TTACTCTATGTACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGTTCTCAGGTATT GGTTACTCTGGTTACGGTACATACTATGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGGTTACCCATCTCCGT GACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGCGTGCGAGGGACACGGCTGT ATATTATTGTGCGCGCTACTACTTCCATGACT ACGCTGCTTACTCTTGACTATTGGGGCCA GGGAACCTGGTCACCGTCTCCTCA
123	1542, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSS SMYWVRQAPGKGLEWVSGIGYSYSTYADS VKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARGYPHYFDYWGQGTLVTVSS
124	1542, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGC TTGGTACAGCCTGGGGGTCCTGCGCCTCT CCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTTGGTT TTCTTCTATGTACTGGGTCCGCCAGGCTCCA GGGAAGGGGCTGGAGTGTTCTCAGGTATT GGTTACTACTCTTACTCTACATCTTATGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGGTTACCCATCTCCGT GACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGCGTGCGAGGGACACGGCTGT ATATTATTGTGCGCGCGGTTACCCGATCATT ACTTGACTATTGGGGCCAGGGAACCTGGT CACCGTCTCCTCA

표 C - 인간 CD86 도메인의 예시적인 변이체

서열 번호.	표기	서열
6	900	LKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVYL GKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCVIHHK KPSGLVKIHEMNSELSVLA
7	901	LKIQAYFNETADLPCQFANSQNLTLSSELVVFWDQENLVNEVYL GKEKFDSVHSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCVIHHK PTGMIKIHEMNSELSVLA
8	904	LKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELIVFWWDQENLVNEVYL KERFDAVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK SGMVKIHQMDSVLA
9	906	LKIQAYINETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVYL KERFDVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGFYQCIHHK PTGMIKIHEMNSELSVLA
10	907	LKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVYL GKEKFDSVHSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHK PTGMIKIHEMNSELSVLA
11	908	LKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVYL GKEKFDSVHSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK PTGMVKIHEMNSELSVLA
12	910	LKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVYL GKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK PTGMVKIHEMNSELSVLA
13	915	LKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLILNEVYL KEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGFYQCIHHK SGLIKIHQMDSVLA
14	938	LKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLILNEVYL KEKFDSVHSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK PTGMVKIHEMNSELSVLA
15	1038	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVY LGKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK KPTGMVKIHEMNSELSVLA
16	1039	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVY LGKEKFDSVSSSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK KPSGMVKIHEMNSELSVLA
17	1040	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVY LGKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGRYQCIHH KKPTGMINIHQMNSVLA
18	1041	APLKIQAYLNEDADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVY LGKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK KPTGLVKIHEMNSELSVLA
19	1042	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVY LGKEIFDSVSSSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK PSGMVKIHEMNSELSVLA
20	1043	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVY LGKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK KPTGMIKIHEMNSELSVLA
21	1044	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNLTLSSELVVFWDQENLVNEVY LGKEKFDSVSSSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK KPTGMIKIHEMSSELSVLA

22	1045	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNLTLSSELVVFWDQENLVNEVY LGKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGLYQCIHHK KPTGLVKIHEMNSELSVLA
23	1046	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVY YLGKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIEDKGFIYQCIHH KKPSGMVKIHEMNSELSVLA
24	1047	APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQLSELVVFWDQENLVNEVY LGKEKFDSVDSKYMGRTSFDSDSWTLRLHNLQIKDKGIYQCIHHK KPTGLVKIHEMNSELSVLA

[0520]

[0521]

표 D - OX40 및 CTLA-4에 대한 예시적인 폴리펩타이드

서열 번호.	표기	유형	서열
125	1261 = 1167 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밀줄) 및 CD86 돌연변이체 1040)	aa	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFLTISLQPEDFATYYCQQYYWYGLSTF GQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSTTLSKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGECSGGGGSGGGGSAPL KIQAYFNETADLPCQFANSQNLSLSELVVFWQD QENLVNLNEVYLGKERFDSDVDSKYMGRTSFDSD SWTRLHNLQIKDKGRYQCIIHHKKPTGMINIHQ MNSELSVLA</p> <p>경쇄는 바람직하게는 1166 VH 서열을 포함하는 중쇄와 조립된다</p> <p>따라서, 완전한 분자는 1166/1261로 표기될 수 있다</p>
126	1261 = 1267 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 및 CD86 돌연변이체 1040)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCAT CACTTGCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAAACCAAGGGAA AGCCCCCTAACGCTCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCACGTTCA GTGGCAGTGBAAGCGGGACAGATTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTG CAACTTATTACTGTCAACAGTACTACTGGTAC GGTCTGTCCACTTTGCCAGGGGACCCAAGC TGGAGATCAAACgtgagtctacgctagcaagcttgatatc gaattctaaactctgagggggtcgatgacgtggccatcttgct aaagcatgagttactgcaaggctagaaaagcatgaaagccct cagaatggctgcaaaagactccaaacaatattagaactttt aaggaataggggaaagacttaggaagaaaactcaaaaatcaaga tttaaatacgcttcgtgtctctgtataattatctggataagcatg ctgtttctgtctgtccataactgcggctgtgatattccgcaaaacaaca caccctaaaggcagaactttacttaaaacaccatctgtttgttctt tccctcgGAACGTGGCTGCACCATCTGTCTTCA TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT GGAACTCGCCTCTGTTGTGCGCTGCTGAATA ACTTCTATCCCAAGAGAGGCCAAAGTACAGTG GAAGGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACAC AAAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA CAGGGGAGAGTGTAGCGGAGGAGGAGGAAG CGGAGGAGGAGGAAGCGCCCCCTCAAAAT CCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTA

[0522]

			CCGTGTCAGTTGCCAATTGCAGAACATCTGA GCCTGAGCGAACTGGTGGTTCTGGCAGGA TCAGGAGAACCTGGTCTGAACGAAGTCTAT CTGGGCAAAGAGCGGTTGACAGCGTGGAC AGCAAGTATAATGGGCCGACCAGCTTGATA GCGACAGCTGGACCCTGCGTCTGCACAATCT GCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCAACTGC ATTATCCACCATAGAACGGGACGGGTATGA TTAATATTACCAATGAACCTCGAGTTGTCT GTCCTGGCG
127	1263= 1171 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밑줄) 및 CD86 돌연변이체 1040)	aa	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQQHGHSYPHTF GQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASV VCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVT EQDSKDSTYSLSSTLTLKADYEKHKVYACEVT HQGLSSPVTKSFNRGECSGGGGSGGGGSAPL KIQAYFNETADLPCQFANSQNLSLSELVVFWQD QENLVLNEVYLGKERFDSDVDSKYMGRTSFSD SWTLRLHNLQIKDKGRYQCIIHHKKPTGMINIHQ MNSELSVLA</p> <p>경쇄는 바람직하게는 1170 VH 서열을 포함하는 중쇄와 조립된다</p> <p>따라서, 완전한 분자는 1170/1263 으로 표기될 수 있다.</p>
128	1263= 1171 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 및 CD86 돌연변이체 1040)	nt	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCC TGAGCGCATCTGAGGAGACCGCGTCACCAT CACTTGGCGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCCTAACGCTCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCACATCACGTTCA GTGGCAGTGBAAGCGGGACAGATTTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACACTGAAGATTTG CAACTTATTACTGTCACACAGGGTCATGGTTCT TACCCGCACACTTTGGCCAGGGGACCAAGC TGGAGATCAACGtgagtcgtacgcttagcaagctgatatc gaattcttaactctgagggggtcgatgacgtggccattcttgcc aaagcattgagttactgcaaggcagaagcatgcaaaaggcc cagaatggctgcaaaagagctccaacaaaacaattttagaactttatt aaggaaataggggaaagcttaggaagaaactcaaacatcaaga ttttaaaatacgccttggctcctgtataattatcggataagcatg ctgtttctgtctgtccctaacatgcccgtgattatccgcaaaacaaca caccaccaaggcagaactttacttaaacaccatcctgttgcctt tccctcagGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCA TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT GGAACTGCCTCTGTTGTGCGCTGCTGAATA ACTTCTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG GAAGGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAAC TCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCA</p>

[0523]

			AGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCC GACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAACAC AAAGTCTACGCCCGCGAAGTCACCCATCAGG GCCTGAGCTGCCCGTCACAAAGAGCTTCAA CAGGGGAGAGGTAGCCGGAGGAGGAGGAAG CGGAGGAGGAGGAAGCGCCCCCTCAAAAT CCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTA CCGTGTAGTTGCCATTGCAGAATCTGA GCCTGAGCGAACTGGTTCTGAACGAAGTCTAT TCAGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTAT CTGGGCAAAGAGCGGGTCGACAGCGTGGAC AGCAAGTATAATGGGCCGACCAAGCTTGATA GCGACAGCTGGACCCTGCGTCTGCACAATCT GCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACAGTGC ATTATCCACCATAGAACCGACGGGTATGA TTAATATTACCAAAATGAACCTCGAGTTGTCT GTCCTGGCG
129	1141= 1135 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밑줄) 및 CD86 돌연변이체 1040)	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFG QGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGECECSGGGSGGGGSAPLKI QAYFNETADLPCQFANSQNLSSLSELVVFQWDQ ENLVNNEVYLGKERFDSVDSKYMGRTSFDSDS WTLLRLHNLQIKDKGRYQCIIHHKKPTGMINIHQM NSELSVLA 경쇄는 바람직하게는 1164, 1168, 1520, 또는 1542 VH 서열을 포함하는 중쇄와 조립된다 따라서, 완전한 분자는 1164/1141, 1168/1141, 1520/1141 또는 1542/1141로 표기될 수 있다.

[0524]

130	1141= 1135 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 및 CD86 돌연변이체 1040)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCC TGAGCGCATCTGTAGGGAGACCGCGTCACCAT CACTTGCAGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTCAAAGTGGGGTCCCACAGCTTCA GTGGCAGTGBAAGCGGGACAGATTCACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTG CAACTTATTACTGTCAACAGAGTTACAGTACC CCTTATACTTTGCCAGGGGACCAAGCTGG AGATCAAACgtgagtctacgttagcaagctgatcgatt ctaaactctgagggggcgtcgatgacgtggccattcttgccaaag cattgagttactgcagggcagaaaagcatgcaagccctcaga atggctgcaaagagctccaacaaaacaatttataagg aataggggaaagcttaggaagaaaactcaaaacatcaagatttaa atacgcttcgtgtccitgtctataattatctggataagcatgttgtt tctgtgtccatacatgcctgttattatccgcaaaacaacc caaggcagaacttgtacttaaacaccatctgtttcttc agGAACCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCT TCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGG AACTGCCTCTGTTGTGCCTGCTGAATAACT TCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAA GGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAECTCC CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAACACAA AGTCTACGCTCGGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA GGGGAGAGTGTAGCGGAGGAGGAGGAAGCG GAGGAGGAGGAAGCGCCCCCTCAAAATCC AAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTACC GTGTCAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGC CTGAGCGAACTGGTGGTTCTGGCAGGATC AGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTATCT GGGCAAAGAGCGGTTCGACAGCGTGGACAG CAAGTATGGGCCGACCAAGCTTGTAGC GACAGCTGGACCCCTGCGTCTGCACAATCTGC AAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCACTGCATT ATCCACCATAAGAAGCCGACGGGTATGATTA ATATTACACCAATGAACCTCGAGTTGTCTGTC CTGGCG
131	1581= 1515 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밀줄) 및 CD86 돌연변이체 1040	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLN WYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSG SGTDFTLTISSTLQPEDFATYYCQQGDYTLFTFG QGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVV CLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE QDSKDSTYSLSSSTLTSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGECSGGGGSGGGGSAPLKI QAYFNETADLPCQFANSQNLSELVVFWQDQ ENLVNEVYLGKERFDSDSKYMGRTSFDS WTLLRLHNLQIKDKGRYQCIIHHKKPTGMINIHQM NSELSVLA

[0525]

			경쇄는 바람직하게는 1514 VH 서열을 포함하는 중쇄와 조립된다 따라서, 완전한 분자는 1514/1581로 표기될 수 있다.
132	1581= 1515 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 및 CD86 돌연변이체 1040)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCC TGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCAT CACTTGCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGC TATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAA AGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGGTCCCACAGTTCACTCT GTGGCAGTGBAAGCAGGGACAGATTTCAGTCT CACCATCAGCAGTCTGAACACTGAAGATTTG CAACTTATTACTGTCAACAGGGTATTACACT CTGTTCACTTTGCCAGGGGACCAAGCTGG AGATCAAACgtgagtcgtacgcgtcaagcttgatatacgaaatt ctaaactctgagggggtcggtgactgtggccattttccctaaag cattggatctactgcaagggtcagaaaaagcatgcaaagccctcaga atggctgcaaaagactccaacaaaacaatttagaactttaagg aatagggggaagcttagaagaaactcaaaacatcaagatttaaa atacgtcttgcgtctccctgtctataatttatctggataagcatgtt tctgtctgtccctaaacatgccctgtgttatccgcaaacaacacacc caaggccagaacttgttacttaaacccatccgtttgttccct agGAACGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCT TCCCGCCCATCTGATGAGCAGTTGAATCTGG AACTGCCTGTGTTGTGCCTGCTGAATAACT TCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAA GGTGGATAACGCCCTCAATGGGTAACCTCC CAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAG GACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAA AGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGC CTGAGCTGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACA GGGGAGAGTGTAGCGGAGGAGGAGGAAGCG GAGGAGGAGGAAGCGCCCCCTAAAATCC AAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTAC GTGTCAGTTGCCATTGCGAGAATCTGAGC CTGAGCGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTATCT GGGCAAAGAGCGGTTCGACAGCGTGGACAG CAAGTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGC GACAGCTGGACCCCTGCGTCTGCACAATCTGC AAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCAAGTGCATT ATCCACCATAAGAAGCCGACGGGTATGATTA ATATTACCAAAATGAACCTCGAGTTGTCTGTC CTGGCG

[0526]

[0527]

AGCAAGTATATGGGCCGACCACTTGATA
GCGACAGCTGGACCTGCGTCTGCACAATCT
GCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCAAGTGC
ATTATCACCATAAGGAAGCCGACGGGTATGA
TTAATATTACCAAAATGAACTCCGAGTTGTCT
GTCCTGGCG

[0528]

표 E- B2 예시적인 폴리뉴클레오파이드 암호화 B2 - **CTLA-4**

서 열 번 호		
25	900	CTCAAAATCCAAGCGTACTTCACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAACGAACTGGCTGAGCGAAGTCTA GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTA TCTGGGCAAAGAGAACCTGGCTGAGCGAAGTCTA GGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTATCTACCAAGTGCCTGATC CACCATAGGAGCCGACGGGTATGATTAAGATTACGAGATGAA ACTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
26	901	CTCAAAATCCAAGCGTACTTCACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAACGAACTGGCTGAGCGAAGTCTA GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTA TCTGGGCAAAGAGAACCTGGCTGAGCGAAGTCTA GGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTATCTACCAAGTGCCTGATC CACCATAGGAGCCGACGGGTATGATTAAGATTACGAGATGAA CTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
27	904	CTCAAAATCCAAGCGTACTTCACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAACGAACTGGCTGAGCGAAGTCTA GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTA CTGGGCAAAGAGCGGTTGACGCCGTGGACAGCAAGTATATGG GCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTATCTACCAAGTGCATTATCC ACCATAAGGAGCCGACGGGTATGGTGAAGATTACCAAAATGGA CTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
28	906	CTCAAAATCCAAGCGTACATCAACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAACGAACTGGCTGAGCGAAGTCTA GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTA TCTGGGCAAAGAGCGGTTGACAGCGTGGACAGCAAGTATATGG GGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTATCTACCAAGTGCATTATC CACCATAGGAGCCGACGGGTATGGTGAAGATTACGAGATGAA ACTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
29	907	CTCAAAATCCAAGCGTACTTCACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAACGAACTGGCTGAGCGAAGTCTA GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTA TCTGGGCAAAGAGAACCTGGCTGAGCGAAGTCTA GGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTCTGTACCAAGTGCATTATC CACCATAGGAGCCGACGGGTATGATTAAGATTACGAGATGAA CTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG

[0529]

30	908	CTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAATCAAAGCCTGAGCGAACTGGTG GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTA TCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGCATAGCAAGTATATG GGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTATCTACCAAGTGCATTATC CACCATAGAACGCGACGGGTATGGTGAAGATTACGAGATGA ACTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
31	910	CTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAATCAAAGCCTGAGCGAACTGGTG GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACGAAGTCTA TCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGCATAGCAAGTATATG GGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTATCTACCAAGTGCATTATC CACCATAGAACGCGACGGGTATGGTGAAGATTACGAGATGA ACTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
32	915	CTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAATCAAAGCCTGAGCGAACTGGTG GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGATCCTGAACGAAGTCTA TCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGCATAGCAAGTATATG GGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTTCTACCAAGTGCATTATC CACCATAGAACGCGACGGGTCTGATTAAGATTACCAAATGGA CTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
33	938	CTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTACCGTG TCAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAACTGGTG GTTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGATCCTGAACGAAGTCTA TCTGGGCAAAGAGCGGTTGCAGCGTGCATAGCAAGTATATG GGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTCTGTACCAAGTGCATTATC CACCATAGAACGCGACGGGTATGGTGAAGATTACGAGATGA ACTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
34	1038	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGCAGCAA GTATATGGGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTATCTACCAAGT CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGGTGAAGATTCAC GAGATGAACTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG
35	1039	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGCAGCAA GTATATGGGCCGCACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTATCTACCAAGT CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGGTGAAGATTACC AAATGGACTCCGAGTTGTCTGTCCCTGGCG

[0530]

36	1040	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGGACAGCAA GTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGTG CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGATTAATATTACC AAATGAACCTCGAGTTGTCTGCTGGCG
37	1041	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACCTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGGACAGCAA GTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGTG CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGATTAAGATTCAC GAGATGAACCTCGAGTTGTCTGCTGGCG
38	1042	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGGACAGCAA GTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGTG CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGATTAAGATTCAC AAATGGACTCCGAGTTGTCTGCTGGCG
39	1043	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGGACAGCAA GTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGTG CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGATTAAGATTCAC AGATGAACCTCGAGTTGTCTGCTGGCG
40	1044	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGTAGCAA GTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGTG CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGATTAAGATTCAC AGATGAGCTCCGAGTTGTCTGCTGGCG
41	1045	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGGACAGCAA GTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGTG CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGATTAAGATTCAC GAGATGAACCTCGAGTTGTCTGCTGGCG

42	1046	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCAAAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGGACAGCAA GTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGTG CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGATTAAGATTCAC AAATGGACTCCGAGTTGTCTGCTGGCG
43	1047	GCCCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTT ACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGAGCGAA CTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCTGGTTCTGAACG AAGTCTATCTGGGCAAAGAGAAATTGACAGCGTGGACAGCAA GTATATGGGCCGACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTG CGTCTGCACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGTG CATTATCCACCATAGAACGCGACGGGTATGATTAAGATTCAC GAGATGAACCTCGAGTTGTCTGCTGGCG

[0531]

[0532]

표 F – 예시적인 서열

서 열 번 호.	표기	서열
149	VH1: 1164 (볼드체 밑줄) IgG1 불변 도메인(이탈릭체) 링커 (밑줄) VH2: 1204(볼드체) VL2: 1205(볼드체, 이탈릭체)의 융합	EVQLLESGGGLVQPGGLRLSCAASGFTFYGSSMYWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGYTSYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARGVPHYFDYWGQGT LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPNAVQSSGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTPETCVVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGSEEVQLLESGGGLVQPGGLRSLSCAASGFTFSSYYMGWVRQAPGKGLEWVSGISY YGYTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYDYNYYYAYFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLASASVGDRVITCRA SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSVPHYPFTFG QGTKLEIKR 이 서열은 전형적으로 카파 서열(서열번호 136)에 융합된 VL1 1135 (서열번호 97)를 포함하는 경쇄 서열과 함께 발현되어 1164/1135-1204/1205 이중특이성 항체를 조립된다.

[0533]

150	서열번호 149 를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGGGGGTCCTGCGCCTCTCCTGTGCAG CCAGCGGATTACACCTTTACGGTTCTTCTATGTACTG GGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGG GTCTCAGGTATTTACTCTTCTGGTGGTTACACATCTT ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCC GTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGCGTGCCGAGGACACGGCTGTATATTATT GTGCGCGCGGTGTTCTCATGGTTACTTGACTATT GGGGCCAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGGT GAGTTaaCgtacgctagcaacgtttctgggcaggccaggcgtacatt ggcttggggcaggggaggggtaaggtaaggtagggcagggtggccaggcag gtgcacacccaatgcccattggccagacactggacgctgaacctcgccg acagttaaaacccaggggcctctgcgccttgggccaggctgtccaca ccgcggcacatggcaccacccatcttcagCCTCCACCAAGGGC CCATCGGTCTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCCTGGT CAAGGACTACTTCCCCAACCGGTGACGGTGTGCGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCAGGGCTGCAACACC TCCCCGGCTGTCCCTACAGTCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCAGCAGCTT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAA GCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGgttag aggccagcacaggagggagggagggagggtagctgtggaaaggcaggctacgc ctgcctggacgcacccatccggctatgcacgcggcaggcaggcaaggca ggcccccgtctgccttcacccggaggccctgccccccactcatgc ggagagggtcttgcgtttcccccaggctctggcaggcacaggcttaggt ccccctaacccaggccctgcacacaaaggccaggtagctggctcagac gccaagagccatatccggaggacccctgccccctgacctaagccaccc aaggccaaactccactccctcagctggacacccatctccctccagattcc agtaactccaaatctctctgcAGCCCCAATCTTGACAA AACTCACACATGCCAACCGTGCCTCAGgtaaaggccaggcca ggccctcgccctccaggctcaaggccgggacagggtcccttagatgc ccaggacaggcccccaggccgggtgcacacgtccacccatcttc agCACCTGAACACTCTGGGGGGACCGTCAGTCTCCT CTTCCCCCCTAAACCCAAAGGACACCCCTCATGATCTC CCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGACG TGAGCCACGAAGACCCAGGTCAAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAAGGACT GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCAA CAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGgtggggaccctggggtagccatggaca gaggccggctggcccccacccctgcctgagatgaccgttaccaact ctgtccctacaggGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACA CCCTGCCCTCATCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAAGCTGACCTGCGCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCG TGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTCCTCTACAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG AACGTCTCTCATGCTCGTGTGATGCATGAGGCTCTG CACAAACCAACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT
-----	--------------------------------------	--

[0534]

		CCGGGTAAAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAG GAAGCAGGAGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGCTC GAGAGCGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGT CCCTGCGCCTCTCCTGTGCAGCCAGCGGATTACAC TTTCTTACTACATGGGTTGGGTCCGCCAGGCTC CAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGGT TCTTAACGGTTACACAGGTATGCAGACTCCGT AAGGGCCGGTTCACCATCTCCGTGACAATCCAAG AACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGC GAGGACACGGCTGTATATTATTGTGCGCGCCTAC TACGACTACAACACTACTACGCTTACTTGACTATT GGGGCCAGGGAAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGT GGAGGGCGGTTCAAGGCCGGAGGTGGATCCGGGGT GCGGATCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT CCCTGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTACCATCA CTTGCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAC TCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGG TCCCACATCACGTTCACTGGCAGTGGAAAGCAGGGACA GATTTCACTCTACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAA GATTTGCAACTTACTGTCAACAGTCTGTTCCGC ACTACCCGTTCACTTTGCCAGGGACCAAGCTGG AGATCAAACGC
151	VH1: 1166 (볼드체 밑줄) IgG1 불변 도메인(이탈릭체) 링커 (밑줄) VL2: 1204(볼드체) VL2: 1205 (볼드체, 이탈릭체)의 응합	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGYYMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNLTYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDYASMDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV <i>KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSLS</i> <i>SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD</i> <i>KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTEV</i> <i>TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTPKREEQ</i> <i>YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE</i> <i>KTISKAKGQQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG</i> <i>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSK</i> <i>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP</i> <i>GKGGGGSGGGGGGGGS</i> EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSSYYMGWVRQAPGKLEWVSGIGSY <i>YGYTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT</i> AVYYCARAYDYNYYYAYFDYWGQGTLVTVSSGGGG SGGGGSGGGGS <i>DIQMTQSPSSLASAVGDRVITCRA</i> <i>SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF</i> <i>SGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSVPHYPFTFG</i> QGTKLEIKR 이 서열은 전형적으로 카파 서열(서열번호 136)에 포함된 VL1 1167 (서열번호 89)를 포함하는 경쇄 서열과 함께 발현되어 1166/1167-1204/1205 이중특이성 항체를 조립된다.

[0535]

152	서열번호 151 을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGCCTGGT ACAGCCTGGGGGTCCTGCGCCTCTCCTGTGCAG CCAGCGGATTCACCTTGGTGGTTACTACATGTCTT GGGTCGCCAGGCTCAGGGAAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTAGCACATA CTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTCAACCCTC CCGTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATGCAAAT GAACAGCCTGCGTGCAGGACACGGCTGTATATT TTGTGCGCGCTACGACTACGCTTATGGACTATTG GGGCCAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTG AGTTaaCgtacgctagcaagcttctggggcaggccgtacccctgg cttggggcagggggctaaggtaggcaggcaggtaggcagg cacacccaatgcccattgcggcagactggacggctgaacctcgccgaca gttaagaaccggggcttcgcgcctggcccgactgtccccacccg cggtcacatggcaccacccatcttcgcagCCTCACCAAGGGCCA TCGGTCTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACC TCTGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTCCCCGAACC GG TGACGGTGTGGA ACTCAGGCCCTGACCGAGCAGGGCTGCACACCTC CCGGCTGCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCAGCAGCTGGG CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGgtgagggc cagcacaggggagggtgtctgtggaaaggcaggctagcgcctc ctggacgcacccatcccgcatgtcagccccagtcaggcagcaaggcagg ccgtctgccttcacccggaggccctgtccgcacactcatgcagg agggtctctggctttcccccaggctgtggcaggcacaggctagg aaccaggccctgcacacaaaggggcagggtgtggctc agacccatctccgaggacccctgacctaagccacccaaagg ccaaactctccactccctcagctggacacccatctcc actcccaatctctctgcagAGCCAAATCTTGACAAAAC TCACACATGCCAACCGTGCCCAGgtaaaggccagg ccgcctccaggctcaaggcgggacaggccatgc gacaggccccagccgggtgtcgcacactccatcttc CCTGAACTCCTGGGGGACCGTCAGTCTCCCTTC CCCCCAAACCCAAGGACACCCCATGATCTCCGG ACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGAG CCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCAATGCCAAGACAAAGC CGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG GTCAGCGTCTCACCCTGCACAGGACTGGCT GAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCAAACAA AGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAA AGCCAAAGgtgggacccgtgggtcgaggccacatgg ccggctggccaccctgtccctgagactgacccctgt ctacagGGCAGCCCCGAGAACCAAGGAGCAG GCCCCCATCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTATCCCA GCGACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAG CCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGT GGACTCCGACGGCTCCTCTCCTACAGCAAGCT CACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACG TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCAACTACACGCAGAAGAGCCTCCCTGTCTCCGG
-----	--------------------------------------	--

[0536]

		GTAAAGGAGGGAGGAAGCGGAGGGAGGAAG CGGAGGAGGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGCTGAGA GCGGGGGAGGCTGGTACAGCCTGGGGGTC GCGCCTCTCTGTGCAGCCAGCGATTACCTTT TTCTTAACATGGGTTGGGTCTCAGGTATTGGTCTTA CTACGGTTACACAGGTTATGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCGTGACAATTCAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTCCGAGGA CACGGCTGTATATTATTGTGCGCGCCTACTACGA CTACAACACTACTACGCTTACTTGACTATTGGGC CAGGGAACCTGGTCACCGTCTCAGGTGGAGG CGGTTCAAGGGAGGGATCCGGCGGTGGGGAT CGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGA GCGCATCTGAGGAGACC CGT CACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGT ATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTCCCAT CACGTTCACTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCA CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTG CAACTTATTACTGTCAACAGTCTGTTCCGACTACCC GTTCACTTTGCCAGGGACCAAGCTGGAGATCAA ACGC
153	VH1: 1168 (볼드체 밑줄) IgG1 불변 도메인(이탈릭체) 링커 (밑줄) VH2: 1204(볼드체)의 응합	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGSSMSW VRQAPGKGLEWVSSISYYGGYTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYFPFYFYFDYWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV <i>KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLS</i> <i>SVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD</i> <i>KTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRPEV</i> <i>TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ</i> <i>YNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE</i> <i>KTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG</i> <i>FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPPVLDSDGSFFLYSK</i> <i>LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP</i> <i>GKGGGGSGGGGGGGGS</i> EVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSSYYMGWVRQAPGKLEWVGIGSY <i>YGYTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT</i> AVYYCARAYYDNYYYYAYFDYWGQQGLTVSSGGGG <i>SGGGGSGGGGS</i> DIQMTQSPSSLSAVGDRVITICRA <i>SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLIYAASSLQSGVPSRF</i> <i>SGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSVPHYPFTFG</i> QGTKLEIKR 이 서열은 전형적으로 카파 서열(서열번호 136)에 응합된 VL1 1135(서열번호 97)를 포함하는 경쇄 서열과 함께 발현되어 1168/1135-1204/1205 이중특이성 항체를 조립된다.

[0537]

154	서열번호 153 을 암호화하는 뉴클레오파이드 서열	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGGGGGTCCTGCGCCTCTCCTGTGCAG CCAGCGGATTACACCTTAGTGGTTCTCTATGTCTTG GGTCCGCCAGGCTCAAGGAAGGGGCTGGAGTGG GTCTCATCTATTTCTTACTACCGTGGTTACACATACT ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCC GTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGAAATGA ACAGCCTGCGTGCCGAGGACACGGCTGTATATTATT GTGCGCGCTACTTCCCCTGCACTACTACTTTGACTATTG GGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTG AGTTaaCgtacgctagcaagcttctggggcaggccgtaccctgg ctttggggcaggagggggtaaggcgaggcagggtggccagg cacacccatggccatgagccagacactggacgctgaacctcg gtaagaacccaggggctctgcgcccctggccaggctgtcccc cggtcacatggcaccaccctcttgtag CTCACCAAGGGCCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACC TCTGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCAGAACCGGTGACGGTGTGG ACTCAGGCGCCCTGACCAGCAGGGCTGCACACCTTC CCGGCTGCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGG CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGtgagaggc cagcacaggagggagggtgtctggagccaggctcaggc ctggacgcatccggctatgcagccccagtcaggc ccgtctggcttccacccggctctggccctactcatg agggtcttctggctttcccccaggctctggc aaccctggccctgcacacaaaaggggcagggt agggctggccctgcacacaaaaggggcagggt agggctggccctgcacacaaaaggggcagggt aagggccatccggaggaccctggccctg ccaaactctccatccctcagctgg actccaaatctctctgtag AGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCAACCGTGCCCAGtaagccaggccagg cccccctcaggctcaaggccggacaggcccttag gacaggcccccaggccctgctg GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGC CGCAGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGT GTCAGCGTCTCACCGTCTGCACCCAGGACTGGCT GAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCAAACAA AGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCAA AGCCAAAGtgtggaccctggggc ccggctggccaccctctgg ctacagGGCAGCCCCGAGAAC GCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAG CCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGT GGACTCCGACGGCTCTTCTTCTACAGCAAGCT CACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAAC TCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCAACTACACGCAGAACAGCCTCCCTGTCTCCGG
-----	--------------------------------------	--

[0538]

		GTAAAGGAGGAGGAAGCGGGAGGAGGAAG CGGAGGAGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTCGAGA GCGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTC GCGCTCTCCGTGCAGCCAGCGGATTCA TTCTTAACATGGGTTGGGTCTCAGGTATTGGT GAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGGT CTACGGTTACACAGGTTATGCAGACTCCGT GAAGGG CCGGTTACCATCTCCGTGACAATT CAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAG CCTCGTGCCGAGGA CACGGCTGTATATT ATTGTGCGCGCTTACAGA CTACAACTACT ACCGCTTACTTGTACTATTGGG CAGGGAACCTGGTCACCGTCTCAGGTGGAGG CGGTTCAAGCGGGAGGTGGATCCGGCGGTGG CGGACATCCAGATGACCCAGTCTCAT GCGCATCTGAGGAGACCGCGTACCCAT GGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATT AAATTGGT ATCAGCAGAAACCAGGGAAAG GCCCTAAGCTCCTGA TCTATGCTGC ATCCAGTTGCAAAGTGGG CACGTTTCAGTGGCAGTGGAAAG CAGGAGACAGATT CTCTCACCATCAGCAGTGC AAACCTGAAGAGATT CAACTTATTACTGTCA ACAGTCTG TCCGCACTACCC GTTCACTTTGCCAGGG ACCAAGCTGGAGATCAA ACGC
155	VH1: 1170 (볼드체 밑줄) IgG1 불변 도메인(이탈릭체) 링커 (밑줄) VH2: 1204(볼드체) VL2: 1205 (볼드체, 이탈릭체)의 융합	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGGYYMSW VRQAPGKGLEWVSYIPGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYDYYWMDYWG QGTLVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPALQSSGLYSL SVTVPSSSLGTQTYICVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCD KTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSK LTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GKGGGGSGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSL RLSCAASGFTFSSYYMGWVRQAPGKGLEWVSGIGSY YGYTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCARAYDYNYYYAYFDYWGQGTIVTVSSGGGG SGGGGSGGGGS DIQMTQSPSSLASAVGDRVITCRA SQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRF SGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSVPHYPFTFG QGTKLEIKR 이 서열은 전형적으로 카파 서열(서열번호 136)에 융합된 VL1 1171 (서열번호 93)을 포함하는 경쇄 서열과 함께 발현되어 1170/1171-1204/1205 이중특이성 항체를 조립된다.

[0539]

156	서열번호 155 를 암호화하는 뉴클레오파이드 서열	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGGGTCCTGCGCCTCTCCTGTGCAG CCAGCGGATTACACCTTGGTGGTTACTACATGTCTT GGGTCCGCCAGGCTCAGGGAAAGGGCTGGAGTG GGTCTCATACATTCTGGTCTGGTGGTTACATAC TATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTCAACCATCTCC CGTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCAGGACACGGCTGTATTATT TGTGCGCCTACGACTACTACTGGATGGACTATTGG GCCAGGGACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGA GTTaaCgtacgctagacttctggcaggccaggcctgacccggct ttgggcagggggggctaaggtagggcagggtggccaggcagggtc acacccaatgccccatggccggacactggacggtaaccctggccggacag ttaagaaccccggggcttcgcggccggcaggctgtcccacccgc ggtcacatggcaccacccatcttgcaagCCTCACCAAGGGCCA TCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACC TCTGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAA GGACTACTTCCCAGAACCGGTGACGGTGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGGGTGACACCCCTC CCGGCTGCTTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTC AGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCAGCAGCTTGGG CACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGgtgagggc cagcacaggggagggtgtctggaaaggcaggctagcgcctgc ctggacgcattccggctatgcagccccagttcaggcagcaaggcaggc ccgtctgccttcacccggaggctgtccggccactcatgtcaggag agggtcttcggctttcccgaggctgtggcaggcagggctagggtggccct aaccaggccctgcacacaaaggggcagggtgtggctcagacctgcca agagccatatccggaggaccctgcctgtacctaagcccacccaaagg ccaaactctccatccctcagctggacacccatcttcctccagattcagta actcccaatcttcctgtcagAGCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCCTGCCCCAGtaaggccaggcc cgccctccaggctcaaggccggacaggtagccctcatccagg gacaggccaggccgggtctgacacgtccacctcatcttcctcagCA CCTGAACCTGGGGGACCGTCAGTCTTCCCTTC CCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCCGG ACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACCGTGA CCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAAGC CGCAGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTG GTCAGCGTCCCTCACCGTCTGCACCCAGGACTGGCT GAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCAAACAA AGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAACCCTCTCCAA AGCCAAGGtgggaccctgtgggtgcggaggccacatggacagagg ccggctggcccaccctgtccctgagagtgaccgctgtaccaacccatgtcc ctacagGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCT GCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGG TCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCA GCGACATGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAG CCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGT GGACTCCGACGGCTCTTCTCCTACAGCAAGCT CACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAAACG TCTTCTCATGCTCGTGTGATGCATGAGGCTCTGCACA ACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCGTCTCCGG
-----	--------------------------------------	--

[0540]

		GTAAAGGAGGAGGAGGAAGCGGGAGGAGGAGGAAG CGGAGGAGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGCTCGAGA GCGGGGGAGGCTTGTACAGCCTGGGGGTC GCGCCTCTCCTGTGCAGCCAGCGGATTCA TTCTTACTACATGGGTTGGGTCTCAGGTATTGGTT CTACGGTTACACAGGTTATGCAGACTCCGTGAAGGG CCGGTTCACCATCTCCGTGACAATTCAAAGAACAC GCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCCAGGA CACGGCTGTATATTATTGTGCAGCGCTTACTACGA CTACAACTACTACCGCTTACTTTGACTATTGGGGC CAGGGAACCCCTGGTCAACCGTCTCCTCAGGTGGAGG CGGTTCAAGCGGAGGTGGATCCGGCGGTGGCGGAT CGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGA GCGCATCTGTAGGAGACCAGCGTCAACATCACTGCC GGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGT ATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGCTCCTGA TCTATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTCCC CACGTTTCAGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCA CTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTG CAACTTATTACTGTCAACAGTCTGTTCCGCACTACCC GTTCACTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA ACGC
157	VH1: 1482 (볼드체 밑줄) IgG1 불변 도메인(이탈릭체) 링커 (밑줄) VH2: 1204(볼드체) VL2: 1205 (볼드체, 이탈릭체)의 융합	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQAPGKGLEWVSYISYYSGYTYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLYQMNSLRAEDTAVYYCARGYGYLDYWGQGTLVSSASTKGPSVFLAPSSKSTS GGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN HKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCV VDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHN A KTKPREEQY N STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKGGGGGGGGGGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLR LS CAASGFTFSSYYM G W VRQAPGKGLEWVSGIGSYY GYTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTA VYYCARAYYD NY Y Y AYFDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGGGSDIQMTQSPSSLASVGDRV TITCRAS QSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFS GSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQSVPHYPFTFG QG T KLEIKR

이 서열은 전형적으로 카파 서열(서열번호 136)에
융합된 VL1 1483 (서열번호 103)을 포함하는 경쇄
서열과 함께 발현되어 1482/1483-
1204/1205 이중특이성 항체를 조립된다.

[0541]

158	서열번호 157 을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGGAGGCCTTGGT ACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGCCTCTCCTGTGCAG CCAGCGGATTCACCTTAGCAGCTATGCCATGAGCT GGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCATACATTCTTACTACTCTGGTTACACATAC TATGCAGACTCCGTGAAGGGCGGTTACCATCTCC CGTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATG AACAGCCTGCGTGCAGGACACGGCTGTATATTAT TGTGCGCGGGTTACGGTTACTGGACTATTGGGC CAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGTGAGTTa aCgtacgctagaagcttctggggcaggccaggctgaccctggcttggg gcaggggaggggctaagggtgaggcagggtggcccaaggccagggtcacac ccaatggccatgagcccagacactggacgctgaacctcgccggacagttaa gaacccaggggcttcgcgccttggcccaagctgtcccacacccggcgc acatggcaccacccctcttgagCCTCCACCAAGGGCCCACATCG GTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGCACCTCT GGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGG ACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTGTTGGA CAGGGCCCTGACCAGCGGTGACACCTTCCC GCTGCTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGC AGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAGCTTGGCAC CCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGGCCAG CAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGgtgagaggccagc acaggggagggggggtgtctgctggaagccaggctcaggcaggcaaggcaggccccgtc cgcatcccccatacgcccccaggctcaggcaggcaaggcaggccccgtc tgcccttcacccggaggccctcgccggcccaactcatgctcaggaggg tcttcggctttcccaaggctctggcaggcacaggcttaggtgcccctaacc caggccctgcacacaaggggcagggtctgggctcagaccctgccaagag ccatcccgaggaccctgcctgaccctaaggccacccaaaggccaa actctccactccctcagctggacaccctctcctccagatccagtaactcc caatcttcctctgcagAGCCCAAATCTTGACAAAACCTCAC ACATGCCAACCGTGCCAGtaaggccaggccaggctcgccct ccagctcaaggggggacagggtgccttagagtagcgcacccagg gcccaggccgggtctgacacgtccacccatcttcctcagCACCTG AACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTCCTCTTCCCC CAAACCCAAGGACACCTCATGATCTCCGGACCC CTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGGCCAC GAAGACCTGAGGTCAAGTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGATAATGCCAAGACAAAGCCGCG GGAGGGAGCACTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCA GCGTCCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGAAGGCTCCAACAAAGCC CTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC AAAGgtgggacccgtggggtgccaggccacatggacagaggccgc cggccaccctctccctgagagtaccgcgttaccaaccctgtccctacag GGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCCCTGCC CCATCCCAGGGATGAGCTGACCAAGAACCCAGGTCA CCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTATCCCAGCGA CATGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGG AGAACAAACTACAAGACCAAGCCTCCGTGCTGGACT CCGACGGCTCTTCTTCTACAGCAAGCTACCG TGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGAACGTCTTC TCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCTCCGGGTAAA
-----	--------------------------------------	---

[0542]

		GGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGGGAG GAGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGCTCGAGAGCGG GGGAGGCTGGTACAGCCTGGGGTCCCTGCGCC TCTCCTGTGCAGCCAGCGGATTCACCTTTCTCTTA CTACATGGGTTGGGTCTCAGGTATTGGTTCTACTACG GTTACACAGGTTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGT TCACCATCTCCCGTGACAATTCAAAGAACACGCTGT ATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGCGAGGACACG GCTGTATATTATTGTGCGCGCTTACTACGACTACA ACTACTACTACGCTTACTTGACTATTGGGCCAGG GAACCCCTGGTCACCGCTCCTCAGGTGGAGGCCGGT TCAGGGGAGGTGGATCCGGCGGTGGCGGATCGG ACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTTGGCGGG CAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCA GCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTA TGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTCCCCATCAG TTTCAGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTTACTCT CACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGAGTTTGAAC TTATTACTGTCAACAGTCTGTTCCGCACTACCCGTT ACTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGC
159	VH1: 1520 (볼드체 밑줄) IgG1 불변 도메인(이탈릭체) 링커 (밑줄) VH2: 1204(볼드체) VL2: 1205 (볼드체, 이탈릭체)의 융합	EVQLLESGGGLVQPGGSRLSCAASGFTFSSYAMSW VRQAPGKGLEWVSAISGSGGSTYYADSVKGRFTISRD NSKNLTYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYSHGYVVYG TLDYWGGQTLTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGT AALGCLVKDYYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALVQS SGLYSLSVVTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDLM /ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESENQGPENNYKTPPVLDSDG SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK SLSLSPGKGCGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLV QPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMGWVVRQAPGKLEW VSGIGSYYGYTGYADSVKGRFTISRDN SKNLTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARAYYDNYYYYAYFDYWGQGT VSSGGGGSGGGSGGGSDIQM TQSPSSLSASVGD RVTITCRASSQSISSYLNWYQQKPGKAPKLIYAASSLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSV PHYPFTFGQQGTKEIKR 이 서열은 전형적으로 카파 서열(서열번호 136)에 융합된 VL1 1135 (서열번호 97)을 포함하는 경쇠 서열과 함께 발현되어 1520/1135- 1204/1205 이중특이성 항체를 조립된다.

[0543]

160	서열번호 159 를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGGGGGTCCCTGCGCCTCTCCTGTGCAG CCAGCGGATTCACCTTAGCAGCTATGCCATGAGCT GGGTCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCAGCTATTAGTGGTAGTGGTGGTACCAACATA CTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTC CCGTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAAT GAACAGCCTGCGTGCCGAGGACACGGCTGTATATTA TTGTGCGCGCTACTACTACTCTCATGGTTACTACGTT TACGGTACTTGGACTATTGGGGCAGGGAAACCCTG GTCACCGTCTCCTCAGGTGAGTTaaCgtacgctagcaagctt tcggggcaggccaggccctgaccctggcttggggcaggggggggctaa gtgaggcgaggcgccaggccagggtgcacacccatgccccatgagccca gacactggacgctgaacctcgccgacagttaaaagaaacccaggggccctgc gcccggcccaagctgtcccacccgcggtcacatggcaccacccctcttgc cagCCTCCACCAAGGGCCCACGGGTCTTCCCCCTGG CACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGCACAGCG GCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGA ACCGGTGACGGTGTGGAACTCAGGCGCCCTGA CCAGCGGGTGCACACCTTCCGGCTGTCTTACAG TCCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACC GTGCCCTCAGCAGCTGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTG GACAAGAAAGTTGtgagaggccagcacaggagggaggggtgc tgctggaaaggcaggctcagcgcctctggacgcattccggctatgcagc cccagtccaggcagcaaggcaggccggctgccttcacccggaggc ctctggccggcccaactcatgtcgtcaggaggggtcttcggctttccgg ctctggccaggcacaaggcttaggtgcggctaaccaggccctgcacacaaa ggggcagggtctggctcagactgccaagagccatatccggagggacc tgccctgactaagccacccaaaggccaaactctccactccctcagc ggacacccctctcccccagattccagtaactccaaatctctctgcagAG CCCAAATTTGTGACAAAACATCACACATGCCACCG TGCCCAAGGtaaggccaggccaggccctgcgcctcagctcaaggccgg cagggtcccttaggtgcgtcgtcaggagggacaggccggctgc gacactccacccatcttcctcagCACCTGAACCTGGGG GGACCGTCAGTCTTCCCTTCCCCCAAAACCCAAG GACACCCCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACACA TGCCTGGTGGTGGACGTGAGGCCACGAAGACCCCTGA GGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCATAATGCCAAGACAAAGCCGGGGAGGAGCAG TACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCGTCCTCACC GTCCTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTA CAAGTGCAGGTCTCAAACAAAGCCCTCCAGCCCC CATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGtgggaccc tggggtgcgagggccacatggacagaggccggctggcccaacctctgg ctgagagtgaccgctgtaccaacctgtccctacagGGCAGCCCC AGAACCCACAGGTGTACCCCTGCCCTCATCCGGG ATGAGCTGACCAAGAACCCAGGTCAAGCCTGACCTGCC TGGTCAAAGGTTCTATCCCAGCGACATGCCGTGG AGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTAC AAGACCAAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTC CTTCTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAG CAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCATGCTCCG TGATGCATGAGGTCTGCACAACCAACTACACCGCAGA
-----	--------------------------------------	--

[0544]

		AGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGAAAGGAGGAGGA GGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGA GCGAGGTGCAGCTGCTGAGAGCGGGGGAGGCTT GGTACAGCCTGGGGGTCCTGCCTCTCTGT CAGCCAGCGGATTCACTTTCTTACTACATGGG TTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGT GGGTCTCAGGTATTGGTCTTACTACGGTTACACAG GTTATGCAGACTCGTGAAGGGCCGGTACCATCT CCCGTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAA TGAACAGCCTGCGTGCAGGACACGGCTGTATATT ATTGTGCGCGCGTTACTACGACTACAACACTACTA CGCTTACTTTGACTATTGGGCCAGGGAAACCTGGT CACCGTCTCCTCAGGTGGAGGCCTCAGGCGGAG GTGGATCCGGCGGTGGCGATCGACATCCAGATG ACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGCGCATCTGTAGGA GACCGCGTACCATCATCTGCCGGCAAGTCAGAG CATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGAAACCA GGGAAAGCCCCTAACGCTCCTGATCTGCTGCATCC AGTTTGCAAAGTGGGTCACGTTCACTCTACCATCAGC AGTGGAAAGCGGGACAGATTTCACCATCAGC AGTCTGCAACCTGAAGATTTCACCATCAGC AACAGTCTGTTCCGCACTACCGTTACTTTGGCC AGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGC
161	VH1: 1526 (볼드체 밑줄) IgG1 불변 도메인(이탈릭체) 링커 (밑줄) VH2: 1204(볼드체) VL2: 1205 (볼드체, 이탈릭체)의 융합	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYSMYW VRQAPGKGLEWVSGIGYSGYGTYYADSVKGRTFISRD NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYYFHDYAYSL DYWGGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPALVQSSG LYSLSSVVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVE PKSCDKTHTCPCCPAPELLGGPSVFLPPKPKDLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNAKTKP REEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAWEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF FYLSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL SLSPGKGGGGSGGGGGSEVQLLESGGGLVQP GGSLRLSCAASGFTFSSYYMGWVVRQAPGKGLEWVS GIGSYYGYTGYADSVKGRTFISRDN SKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARAYYDYNYYYAYFDYWGQGTIVTVS SGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPSSL SASVGDRV TITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLLIYAASSLQSG VPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSVPH YPFTFGQGTKEIKR 이 서열은 전형적으로 카파 서열(서열번호 136)에 융합된 VL1 1527(서열번호 119)을 포함하는 경색 서열과 함께 발현되어 1526/1527- 1204/1205 이중특이성 항체를 조립된다.

[0545]

[0546]

		CTGCACAAACCACACTACACGCAGAAGAGGCCTCTCCCTG TCTCGGGTAAAGGAGGAGGAAGCGGGAGGAGG AGGAAGCGGGAGGAGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTG CTCGAGAGCGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGG GGTCCCTGCGCCTCTCTGTGCAGCCAGCGGATT ACCTTTCTTACTACATGGGTTGGGTCCGCCAG GCTCCAGGGAAAGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTAT TGGTTCTTACTACGGTTACACAGGTTATGCAGACTCC GTGAAGGGCCGGTACCATCTCCGTGACAATTCC AAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGT GCCGAGGACACGGCTGTATATTATTGTGCGCGCCT TACTACGACTACAACACTACTACGCTTACTTTGACT ATTGGGGCCAGGGAACCCCTGGTACCGTCTCTCA GGTGGAGGCAGGTTCAAGGCGGAGGTGGATCCGGCG GTGGCGGATCGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCAT CCTCCCTGAGCGCATCTGTAGGAGACCGCGTCACC ATCACTTGCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTAT TTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAAGGGAAAGCCCCT AAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTGCAAAGT GGGGTCCCACATCACGTTTCAGTGGCAGTGGAAAGCGG GACAGATTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACC TGAAGATTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTCTGTT CCGCACTACCCGTTACTTGGCCAGGGGACCAAG CTGGAGATCAAACGC
163	VH1: 1542 (볼드체 밑줄) IgG1 불변 도메인(이탈릭체) 링커 (밑줄) VH2: 1204(볼드체) VL2: 1205 (볼드체, 이탈릭체)의 융합	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFGSSSMYWVRQAPGKGLEWVSGIGYYSYSTSYADSVKGRFTISRDNSKNLQLQMNSLRAEDTAVYYCARGYPHYFDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGGGGSGGGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTSSYYMGWVRQAPGKGLEWVSGIGSYYGYTGYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYYDYNYYYAYFDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGGSGGGSDIQMTQSPSSLASAVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSVPHYPFTFGQGTKLEIKR 이 서열은 전형적으로 카파 서열(서열번호 136)에 융합된 VL1 1135(서열번호 97)를 포함하는 경쇄 서열과 함께 발현되어 1542/1135- 1204/1205 이중특이성 항체를 조립된다.

[0547]

164	서열번호 163 을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGCTTGGT ACAGCCTGGGGGGTCCTGCGCCTCTCCTGTGCAG CCAGCGGATTACACCTTGGTTCTTCTATGTACTG GGTCCCGCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGG GTCTCAGGTATTGGTTACTACTCTTACTCATCTT ATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCACATCCC GTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGA ACAGCCTGCGTGCGGAGGACACGGCTGTATATTATT GTGCGCGCGGTTACCCGCATCATTACTTTGACTATT GGGGCCAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCCTCAGGT GAGTTaaCgtacgctagcaagcttctggggcaggccagg ggctttggggcaggagggggcttaagggtggggcaggccagg gtgcacacccaatgcccattggcccatggacactggacgctgaacctcgcc acagttaaaacccaggggcccttcgcgcctggccagctctgtccaca ccgcggcacatggcaccaccccttcgtcagCCTCCACCAAGGGC CCATCGGTCTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAGC ACCTCTGGGGCACAGCGGCCCTGGCTGCTGGT CAAGGACTACTTCCCCAACCGGTGACGGTGTGCGT GGAACTCAGGCGCCCTGACCAAGCGGGCTGCAACACC TTCCCGGCTGTCCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCC CTCAGCAGCGTGCGTGAACCGTGCCCTCAGCAGCTT GGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAA GCCCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGgttag aggccaggcacagggagggagggtagtgcgtggaaaggccaggctacgc ctgcctggacccatccggctatcggccatgcggcccccactcatgc ggcccccgtctgccttcacccggaggccctgcggcccccactcatgc ggagagggtcttcggctttcccgaggcttcggcaggccacaggcttaggt ccccctaaccaggccctgcacacaaaggggcagggtgcggctcagacct gccaagaggcatatccggaggacccctgcggccatgcataagccaccc aaggccaaactccactccctcagctcgacaccccttcctccagattcc agtaactccaaacttcctctcgacAGCCCAAATCTTGACAA AACTCACACATGCCAACCGTGCCCAAGgtaaaggccaggcc ggcctcgccctccaggctcaaggccgggacagggtgccttagactgc ccaggacaggcccccaggccgggtctgcacacgtccacccatcttc agCACCTGAACTCTGGGGGACCGTCAGTCTCCT CTTCCCCCCTAAACCCAAGGACACCCCATGATCTC CCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACG TGAGCCACGAAGACCCGTAGGTCAAGTTCAACTGGT ACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACA AAGCCGGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCG TGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCTGCACCAAGGACT GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCAA CAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTC CAAAGCCAAAGgtggggaccctggggtagggccatggaca gaggccggctggcccacccctgcggctgagagtggccatggaca ctgtccctacaggGCAGCCCCGAGAACCCACAGGTGTACA CCCTGCCCTCATCCGGGATGAGCTGACCAAGAAC CAGGTCAAGCTGACCTGGCTGGTCAAAGGCTTCTAT CCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGAGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCCTCCCG TGCTGGACTCCGACGGCTCTTCTTCTACAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG AACGTCTCTCATGCTCGTGTGATGCATGAGGCTCTG CACAAACCAACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT
-----	--------------------------------------	---

[0548]

		<pre> CCGGGTAAAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAG GAAGCAGGAGGAGGAAGCGAGGTGCAGCTGCTC GAGAGCGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGT CCCTGCGCCTCTCCTGTGCAGCCAGCGGATTACCT TTCTTACTACATGGGTTGGGTCTCAGGTATTGGT CAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGGT TCTTACTACGGTTACACAGGTTATGCAGACTCCGTG AAGGGCCGGTTCACCATCTCCGTGACAATTCAAG AACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGCGTGC GAGGACACGGCTGTATTATTGTGCGCGCCTAC TACGACTACAACTAACGCTTACTTGACTATT GGGGCCAGGAAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCAGGT GGAGGCGGGTTAGGGAGGTGGATCCGGCGGTG CGGGATGGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCT CCCTGAGCGCATCTGAGGAGACCGCGTACCATCA CTTGCCGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAA ATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAAGC TCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGG TCCCATCAGTTCAGTGGCAGTGGAAAGCGGGACA GATTTCACTTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAA GATTTGCAACTTATTACTGTCACAGTCTGTTCCGC ACTACCCGTTACTTTGCCAGGGACCAAGCTGG AGATCAAACGC </pre>
--	--	---

[0549]

표 G - 예시적인 서열

서 열 번 호.	표기	서열
165	VL1: 1135 (볼드체 밑줄) 카파 불변 도메인(이탈릭체) 의 융합 (즉, 서열번호 97 및 136의 융합)	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSTDFTLI SSLQPEDFATYYCQQSYSTPYTFGQGTKLEIKRTVA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKV DNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</p> <p>서열번호 149, 153, 159 또는 163 중 임의의 하나와 조립되어 1164/1135-1204/1205, 1168/1135-1204/1205, 1520/1135-1204/1205 또는 1542/1135-1204/1205 이중특이성 항체를 형성할 수 있다.</p>
166	서열번호 165 를 암호화하는 뉴클레오파이드	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGC GCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATC AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAACGCTCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTCCCATCAC GTTTCACTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTTCACTC TCACCATCAGCAGTGTCAAACCTGAAGATTTCCAA CTTAACTACTGTCACAGAGTTACAGTACCCCTTAC TTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACgtgagt cgtagctactggatcatcgaaattctaaactctgagggggtcgatgac gtggccattttgcctaagcattgttactcaaggtcagaaaagcatgc aaagccctcagaatggctcaagagctccaacaaaacaatttagaactt attaaggaaatagggggaaagcttagaaagaaaaactcaaaaacatcaagattttaa atacgcttcgttgcatttcgttgcattatcgatggataagcatgtttctgt tccctaaacatggccctgtgattatcgcaaaacaccccaaggcagaact ttgttacttaaacaccatctgtttgttcttcgtGAACGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCAGCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACTGCCTCTGTTGTGCGCTGCT GAATAACTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG GAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCA GGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA CCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAA GCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCCGTCACAAA GAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

[0550]

167	VL1: 1167 (볼드체 밑줄) 카파 불변 도메인(이탈릭체) 의 융합 (즉, 서열번호 89 및 136의 융합)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQYWWYGLSTFGQGTLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열번호 151 과 조립되어 1166/1167-1204/1205 이중특이성 항체를 형성할 수 있다.
168	서열번호 167 을 암호화하는 뉴클레오타이드	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGC GCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATC AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCACATCAC GTTTCAGTGGCAGTGGAAAGCAGGACAGATTTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGAA CTTATTACTGTCAACAGTACTACTGGTACGGTCTGTC CACTTTGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACG TGAGTCgtacgctagcaagcttgcataatcgaaattctaaactctgggggtc ggatgacgtggccattttgcataaaggcatgtttactcaaggctcagaaaa agcatgcaaaggcccctcagaatggctcagaaaggactccaacaaaattta gaactttataaggaataggggaaagacttaggaagaaaactcaaaacatcaa gattttaaatacgcttcgtgttgcataattatcgataaaggcatgtgttt tctgtctgtccctaatacgccctgtgattatccgcacaaacacacccagg cagaactttttacttaaacaccatccgtttgccttccctcagGAACCTGT GGCTGCACCATCTGCTTCATCTTCCCAGCATCTGA TGAGCAGTTGAAATCTGAACTGCTCTGTTGTGTG CCTGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGT ACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA GCAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCCT GCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
169	VL1: 1171 (볼드체 밑줄) 카파 불변 도메인(이탈릭체) 의 융합 (즉, 서열번호 93 및 136의 융합)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQGHGSYPHTFGQGTLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열번호 155 와 조립되어 1170/1171-1204/1205 이중특이성 항체를 형성할 수 있다
170	서열번호 169 를 암호화하는 뉴클레오타이드	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGC GCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATC AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCT

		ATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAC GTTTCAGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAA CTTATTACTGTCAACAGGGCATGGTCTTACCGCA CACTTTGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACG TGAGTCgtacgctagcaagcttgatatacgaaactctgagggggc ggatgacgtggccattttgcctaaagcatggatgttactcaaggtcagaaa agcatcaaaagccctcagaatggctcaagagactcaacaaaacaattta gaactttataaggataggggaagcttagaaagaaactcaaaacatcaa gattttaaatacgccttcgtgtctccgtctataattatctggataagcatgctgtt tctgtctgtccctaactcgccctgtgattatccgcacaaacacacccaacggg cagaacttgttacttaaacaccatccctgtttgtcttcctcagGAACCTGT GGCTGCACCATCTGTCTCATCTTCCCAGCCACTCTGA TGAGCAGTTGAAACTTGTGAACTGCTCTGTTGTG CCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGT ACAGTGGAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTA CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCT GCGAAGTCACCCATCAGGGCTGAGCTCGCCCGTC ACAAAGAGCTCAACAGGGGAGAGTGT
171	VL1: 1483 (볼드체 밑줄) 카파 불변 도메인(이탈릭체) 의 융합 (즉, 서열번호 103 및 136의 융합)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQ QKPGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSQGTDFTLT SSLQPEDFATYYCQQYGSLLTFGQGTKEIKRTVAAP SVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVD NALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열번호 157 과 조립되어 1482/1483-1204/1205 이중특이성 항체를 형성할 수 있다
172	서열번호 171 을 암호화하는 뉴클레오타이드	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGC GCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCACACTTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATC AGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCCTAACGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAC GTTTCAGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAA CTTATTACTGTCAACAGTACGGTTCTGCTCACTT TGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTGAGT Cgtacgctagcaagcttgatatacgaaactctgaggggcggatga cgatggccattttgcctaaagcatggatgttactcaaggtcagaaaagcatg caaagccctcagaatggctcaagagactccaaacaaaacaatttagaactt atataaggataggggaagcttagaaagaaactcaaaacatcaagatttaa atacgccttcgtgtccgtctataattatctggataagcatgctttctgtctg tccctaaacatgcctgtgattatccgcacaaacacacccaagggcagaact ttgtacttaaacaccatccgtttgtcttcctcagGAACCTGTGGCTG CACCATCTGTCTTCATCTTCCCAGCCATCTGATGAGCA GTTGAAATCTGGAACACTGCCTCTGTTGTGCGCTGCT GAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTG GAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACCTCCA

		GGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCA CCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAA GCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCCCTGCGAA GTCACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAA GAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT
173	VL1: 1527 (볼드체 밑줄) 카파 불변 도메인(이탈릭체) 의 융합 (즉, 서열번호 119 및 136의 융합)	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQSISYLNWYQ QKPGKAPKLIIYAASSLQSGVPSRFSGSGLTDFTLT1 SSLQPEDFATYYCQQYGSDSLTFGQGTKLEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC 서열번호 161 과 조립되어 1526/1527-1204/1205 이중특이성 항체를 형성할 수 있다
174	서열번호 173 을 암호화하는 뉴클레오타이드	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGC GCATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGG GCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATC AGCAGAAACCAGGGAAAGCCTAAGCTCCTGATCT ATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGCGGGACAGATTCAC GTTTCAGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGAGATTTGCAA CTTATTACTGTCAACAGTACGGTTCTGATTCTGCT CACTTTGGCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACG TGAGTCgtacgcttagcaagcttgatatcgaaattcaaactctgagggggtc ggatgacgtggccattttgcctaaagcatgtgagttactgcaaggtcagaaa agcatgcaaaaggccctcagaatggctgcaagagactccaacaaaacaattt gaactttaaaggatagggggaaagcttaggaagaaactcaaaacatcaa gattttaaatacgtcttggctccctgtctataattatctggataagcatgtgttt tctgtctgcctcaacatgcctgtgattatccgcaaaacaacaccccaagg cagaacttgtacttaaacaccatctgtttgccttcctcagGAACCTGT GGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCC GCCATCTGA TGAGCAGTTGAAATCTGAACTGCCTCTGTTGTG CCTGCTGAATAACTCTATCCCAGAGAGGGCCAAGT ACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAA CTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGG ACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA GCAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTACGCC GCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCCCGTC ACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT

[0553]

표 H-CD137 및 CTLA-4에 대한 예시적인 CD137 결합 도메인 및 이중특이성폴리펩타이드

서열 번호	쇄 번호	유형	서열
177	1205, 경쇄 VL	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSRGSGSDFTLTISLQ PEDFATYYCQQSVPHYPFTFGQGTKLEIK
178	1205, 경쇄 VL	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGGAGACCGCGTCACCATCACTTGCCGGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGC AGAAACCCAGGGAAAGCCCCCTAACGCTCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTCCCACATCACGTTTC AGTGGCAGTGGAAAGCAGGGACAGATTCACTTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTGCAACTTATTAC TGTCAACAGTCTGTTCCGCACTACCCGTTACTTTGG CCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA
179	1204, 중쇄 VH	aa	EVQLLESGGGLVQPQGGSLRLSCAASGFTFSSYYMGWV RQAPGKGLEWVSGIGSYYGYTGYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARAYDYNYYYAYFDYW GQGTLVTVSS
180	1204, 중쇄 VH	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGGGGGTCCCTGCGCCTCTCTGTGCAGCC AGCGGATTACCTTTCTTACTACATGGGTTGGGT CCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTGGTTCTACTACGGTTACACAGGTTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTTCAACATCTCCGTGACAA TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTG CGTGCCGAGGACACGGCTGTATATTATTGTGCGCGC CTTACTACGACTACAACACTACTACGCTTACTTGAC TATTGGGCCAGGGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA
181	1214 (VH)	aa	EVQLLESGGGLVQPQGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSSIGSGGGYTGYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGHPFDYWGQGT LVTVSS
182	1214 (VH)	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGGGGGTCCCTGCGCCTCTCTGTGCAGCC AGCGGATTACCTTTAGCAGCTATGCCATGAGCTGGG TCCGCCAGGCTCCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCT CATCTATTGGTTCTGGTGGTTACACAGGTTATGCA GAECTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCGTGACA ATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCT GCGTGCCGAGGACACGGCTGTATATTATTGTGCGCGC GTTGGTCATCCGTTGACTATTGGGCCAGGGAACCC TGGTCACCGTCTCCTCA
183	1215 (VL)	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSRGSGSDFTLTISLQ PEDFATYYCQQDAYPHTFGQGTKLEIK

[0554]

184	1215 (VL)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGAAAGCCCCTAAGCTCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCACGTTTC AGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGAGATTGCAACTTATTAC TGTCAACAGGACGCTTACCCGACACTTTGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAA
185	1618 (VH)	aa	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGSMYWV RQAPGKGLEWVSSISSGSGSTYYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSSYYGSYYSIDYWQ GTLVTVSS
186	1618 (VH)	nt	GAGGTGCAGCTTGGAGAGCGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGGGGGTCCCTGCGCCTCTCCTGTGCAGCC AGCGGATTACCCCTTCTACGGTTCTATGTA CTGGGTCCGCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTC ATCTATTCTCTGGTTCTGGTTCTACATACTATGCAGA CTCCGTGAAGGGCCGGTACCCATCTCCCGTGACAAT TCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGC GTGCCGAGGACACGGCTGTATATTATTGTGCGCCTC TTCTTACTACGGTTCTACTACTCTATTGACTATTGGG GCCAGGGAAACCTGGTCACCGTCTCCTCA
187	1619 (VL)	aa	DIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQQYDNLPTFGQQGTLEIK
188	1619 (VL)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGAAAGCCCCTAAGCTCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCACGTTTC AGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGAGATTGCAACTTATTAC TGTCAACAGTACTACGACAACCTGCCACTTTGCC AGGGGACCAAGCTGGAGATCAAA
189	1620 (VH)	aa	EVQLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSYGYMYWV RQAPGKGLEWVSGISSSGSYTYADSVKGRFTISRDN KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSGVGPYFDYWQGQTL VSS
190	1620 (VH)	nt	GAGGTGCAGCTTGGAGAGCGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGGGGGTCCCTGCGCCTCTCCTGTGCAGCC AGCGGATTACCCCTTCTGGTTACTACATGTA CTGGGTCCGCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTC AGGTATTCTCTGGTTCTACACATACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGCCGGTACCCATCTCCCGTGACAAT TTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTG CGTGGCGAGGACACGGCTGTATATTATTGTGCGCCT CTGTTGGTCCGTACTTTGACTATTGGGCCAGGGAAC CCTGGTACCGTCTCCTCA
191	1621 (VL)	aa	DIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQQGVGPYTFGQQGTLEIK

[0555]

192	1621 (VL)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCACACGTTTC AGTGGCAGTGAAAGCGGGACAGATTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAACTTATTAC TGTCAACAGGGTGTGGTCCGTACACTTTGGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAA
193	1626 (VH)	aa	EVQLLESGGGLVQPQGSRLSCAASGFTFGGYSMYWV RQAPGKGLEWVSSIGGYYSTYYADSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSYYGSIDYWGQGTLV TVSS
194	1626 (VH)	nt	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGCTTGGTA CAGCCTGGGGGGTCCCTGCGCCTCTCTGTGCAGCC AGCGGATTACCCCTTGGTGGTTACTCTATGTACTGGGT CCGCCAGGCTCAGGGAAAGGGGCTGGAGTGGGTCTC ATCTATTGGTGGTTACTACTACTCTACATACTATGCAG ACTCCGTGAAGGGGCCGGTCAACCATCTCCCGTGACAA TTCCAAGAACACGGCTGTATCGAAATGAACAGCCTG CGTGGCGAGGACACGGCTGTATATTATTGTGCGCGCT CTTACTACGGTTCTATTGACTATTGGGCCAGGGAAC CCTGGTCACCGTCTCCCTA
195	1627 (VL)	aa	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLIYAASSLQSGVPQRSGSGSDFTLTISLQ PEDFATYYCQQGTYGPPLTFQGTKLEIK
196	1627 (VL)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCACACGTTTC AGTGGCAGTGAAAGCGGGACAGATTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAACTTATTAC TGTCAACAGGGTACTGGTACCGGTCGCTCACTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA GACATCCAGATGACCCAGTCTCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCACACGTTTC AGTGGCAGTGAAAGCGGGACAGATTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAACTTATTAC TGTCAACAGTCTGTTCCGCACTACCCGTTACTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA GAGCTGtatatcgaaactctaaactgaggggtcgatgacgtggccatttt tgcctaaagcatgagttactcaaggtcagaaaagcatgcaaaggccctcg aatggctgcaaagagactccaacaaaacaatttagaactttataaggaatagg ggaaagcttaggaagaaactccaaaacatcaagatttaataacgcttcgttgc cttgctataattatctggataagcatgctgtttctgttgtccctaacatgccc attatccgcaaacaacacacccaaggcagaactttacttaacaccatcc tgttgtcttccttcagGAACCTGTGGCTGCACCATCTGTTCA TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC GCCTCTGTTGTGCCTGCTGAATAACTCTATCCAG
197	1761 = 1205 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 및 CD86 돌연변이체 1040(인트론 서열을 포함)을 지님)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCACACGTTTC AGTGGCAGTGAAAGCGGGACAGATTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTGCAACTTATTAC TGTCAACAGTCTGTTCCGCACTACCCGTTACTTTG GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAA GAGCTGtatatcgaaactctaaactgaggggtcgatgacgtggccatttt tgcctaaagcatgagttactcaaggtcagaaaagcatgcaaaggccctcg aatggctgcaaagagactccaacaaaacaatttagaactttataaggaatagg ggaaagcttaggaagaaactccaaaacatcaagatttaataacgcttcgttgc cttgctataattatctggataagcatgctgtttctgttgtccctaacatgccc attatccgcaaacaacacacccaaggcagaactttacttaacaccatcc tgttgtcttccttcagGAACCTGTGGCTGCACCATCTGTTCA TCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAC GCCTCTGTTGTGCCTGCTGAATAACTCTATCCAG

[0557]

			CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAACACAAAGTCTA CGCCTGCGAAGTCACCCATAGGGCCTGAGCTGCC CGTCACAAAGAGCTCAACAGGGGAGAGTGTAGCGG AGGAGGAGGAAGCAGGGAGGAGGAAGCGCCCCCCC TCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAAATGCAAGACTTA CCGTGTCAAGTGCATTGCAGAATCTGAGCCTGA GCGAAGTGGTGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCT GGTTCTGAACGAAGTCTATCTGGCAAAGAGCGGTC GACAGCGTGGACAGCAAGTATATGGGCCGACCAGC TTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCCTGCACAATC TGCAAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCAAGTGCATTATC CACCATATAAGAACGGGACGGGTATGATTAATATTACCA AATGAACACTCGAGTTGTCTGCTGGCG
200	1763 = 1215 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밑줄) 및 CD86 돌연변이체 1040 을 지님)	aa	<p>DIQMTQSPSSLSAVGDRVTITCRASQSISYYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQ PEDFATYYCQQDAYPHTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLKA DYEHKKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECSGGGGSG <u>GGGSAPLKIQAYFNETADLPCQFANSQNLSLSELVVFHQ</u> DQENLVNLEVYLGKERFDSDSKYMGRTSFDSWTLR LHNQIKDKGRYQCIHHKKPTGMINIHQMNSELSVLA</p> <p>경쇄는 바람직하게는 1214 VH 서열을 포함하는 중쇄와 조립된다</p> <p>따라서, 완전한 분자는 1214/1763 으로 표기될 수 있다</p>
201	1765 = 1619 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 및 CD86 돌연변이체 1040 을 지님)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTTGCCGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGC AGAAACACAGGGAAAGCCCCTAAGCTCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGGTCCCACACGTTTC AGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGAGTTTGCAACTTATTAC TGTCAACAGTACTACGACAACCTGCCCCACTTTGGCC AGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGTgagtgtacgtacg aagcttgatatcgaaattcaactctgagggggtcggtacgtggccattttg cctaaagcatgttgcggatctgcacggtcagaaaagcatgcaaaagccctcagaa tggctgcaaaagagctccaacaaaacaatttagaacttttaaggaatagggg gaagcttaggaactcaaaacatcaagatttaaatcgctctggctcctt gctataattatctgggataaagcatgtctgtctgtccatccatgtat tatccgcaaaacaacacacacccaaaggccagaacttgtacttaaacaccatctg ttgccttcctcagGAACGTGGCTGCACCATCTGTCTTCAT CTTCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGAACT GCCTCTGTTGTGCGCTGCTGAATAACTCTATCCAG AGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTC CAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAG GACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACC CTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAG TCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTC GCCCGTCACAAAGAGCTCAACAGGGGAGAGTGTAG CGGAGGAGGAGGAAGCGGGAGGAGGAAGCGCCC

			CCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGA CTTACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGC CTGAGCGAAGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGA ACCTGGTTCTGAACGAAGTCTATCTGGCAAAGAGCG GTTCGACAGCGTGGACAGCAAGTATATGGGCCGAC CAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCTGCGTCTGCAC AATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCAAGTGA TTATCCACCATAAGAAGCCGACGGGTATGATTAATATT CACCAAATGAACCTCCGAGTTGCTGTCTGGCG
202	1765 = 1619 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밑줄) 및 CD86 돌연변이체 1040 을 지님)	aa	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVITICRASQSISYYLNWYQQK PGKAPKLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTSSLQ PEDFATYYCQQYYDNLPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLKA DYEHKHVKYACEVTHQGLSSPVTKSFRGECSGGGGSG GGGSAPLKIQAYFNETADLPCQFANSQNLSLSELVVFWQ DQENLVNLNEVYLGKERFDSDVDSKYMGRTSFDSWTLR LHNLQIKDKGRYQCIIHHKKPTGMINIHQMNSELVLA</p> <p>경쇄는 바람직하게는 1618 VH 서열을 포함하는 중쇄와 조립된다</p> <p>따라서, 완전한 분자는 1618/1765로 표기될 수 있다</p>
203	1767 = 1621 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 및 CD86 돌연변이체 1040 을 지님)	nt	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCACACTTGCCGGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGC AGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGCTCTGTATATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTCCCCTCACGTTTC AGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACTCTACCCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTGCAACTTATTAC TGTCAACAGGGTGTGGTCCGTACACTTTGCCAGG GGACCAAGCTGGAGATCAAACGTgagtcgtacgtacaact tgatcatcaattctaaactctgaggggtcggtacgtggccattttgcctaa agcatttagttaactcgaaggcagaaaagcatgcaaagccctcagaatggct gcaaaaggcgtccaacaaaacaatttagaacttataaggaaataggggaaag cttaggaagaaactcaaacatcaagatttaataacgctctggctccatgattatcc aattatcggtaaagcatgtgtttctgtgtccctaacatccctgtgattatcc gcaaaacaacacacccaaggcagaacttggacttaaacacccatccgttgct tcttcctctcgGAACCTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTT CCCGCCATCTGTATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTGCC TCTGTTGTGCTGCTGTAATAACTTCTATCCCAGAGA GGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCAA TCAGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAGAACACAAAGCTA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGCTA CGCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAGCTGCC CGTCACAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAGCGG AGGAGGAGGAAGCGGGAGGAGGAGGAAGCGCCCCCCC TCAAAATCCAAGCGTACTTCAACGAAACTGCAGACTTA CCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAATCTGAGCCTGA GCGAACTGGTGGTTCTGGCAGGATCAGGAGAACCT

			GGTTCTGAACGAAGTCTATCTGGGAAAGAGGCCGTT GACAGCGTGGACAGCAAGTATATGGGCCGACCAGC TTTGATAGCGACAGCTGGACCTGCGCTGCACAATC TGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCGATGCAATTAC CACCATAAGAAGGCCGACGGGTATGATTAATTACCCA AATGAACTCCGAGTTGTCGCTGGCG
204	1767 = 1621 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밑줄) 및 CD86 돌연변이체 1040 을 지님)	aa	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLIIYAASSLQSGVPSRFSQSGSGTDFTLTISQL PEDFATYYCQQGVGPYTFQGQTKLEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTSLLSKA DYEKHKVYACEVTTHQGLSSPVTKSFNRGECSGGGGSG <u>GGGSAPLKIQAYFN</u>ETADLPCQFANSQNLSLSELVVFWQ DQEVLNLYNEVYLGKERFDSDVSKYMGRTSFDSDSWTLR LHNLQIKDKGRYQCIIHHKPTGMINIHQMNSELSVLA</p> <p>경쇄는 바람직하게는 1620 VH 서열을 포함하는 중쇄와 조립된다</p> <p>따라서, 완전한 분자는 1620/1767로 표기될 수 있다</p>
205	1769= 1627 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밑줄) 및 CD86 돌연변이체 1040 을 지님)	nt	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGCG CATCTGTAGGAGACCGCGTCACCATCACTTGCAGGGC AAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGC AGAAAACCAGGGAAAGCCCCTAACGCTCCTGATCTATGC TGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTTCCATCACGTTTC AGTGGCAGTGGAAAGCAGGACAGATTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGGATTTGCAACTTATTAC TGTCAACAGGGTACTGGTTACGGTCCGCTCACHTTG GCCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAACAGTgagctgtacgc tagcaagcttgatatcgaaactctgggggtcgatgacgtggcatt cttgcctaaagcattgaggttactcgaaaggctgaaaaaggcatgcaaaaggccct agaatggctgcaagagctccaacaaaacaattagaactttaagaata ggggggagcttaggaagaaactccaaaacatcaagatttaaaatcacgttcgttgtt ctccctgtctataattatcggtataacgatgtttctgtgtccctaaatcgcc gtgattatccgcaaaacacacccaaaaggcggagacttggacttaaacacca tcctgtttcttccctcagGAACCTGTGGCTGACCATCTGTCTT CATCTTCCCAGCCATCTGATGAGCAGTTGAATCTGGA ACTGCCTGTGTTGCTGCTGCTGAATAACTTATCC CAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGGATAACGC CCTCCAATCGGGTAACCTCCAGGAGAGTGTACAGAG CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCTCAGCAGC ACCCCTGAGCCTGAGCAGAACGACTACGAGAAACACA AAGTCTACGCCCTGCGAAGTCACCCATCAGGGCCTGAG CTCGCCCGTCAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGT AGCGGAGGAGGAGGAAGCGGAGGAGGAGGAAGCGC CCCCCTCAAAATCCAAGCGTACTTCACGAAACTGCA GACTTACCGTGTCAAGTTGCCAATTGCGAGAACATCTGA GCCTGAGCAGAACGTTGAGTCTATGGGCAAGAG GAACCTGGTTCTGAGCAGTCTATGGGCAAGAG CGGTTGAGCAGCGTGGACAGCAAGTATATGGGCCG ACCAGCTTGATAGCGACAGCTGGACCCCTGCGTCTGC</p>

[0560]

			ACAATCTGCAAATCAAAGATAAGGGTAGGTACCACTG CATTATCCACCATAAGAAGCCGACGGGTATGATTAATA TTCACCAAATGAACCTCGAGTTGTCGTCCTGGCG
206	1769= 1627 경쇄 VL(불변 카파서열, 링커 (밀줄) 및 CD86 돌연변이체 1040 을 지님)	aa	<p>DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQK PGKAPKLIIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISQLQ PEDFTAYYCQQGTGYGPLTFGQGTKLEIK RTVAAPSVFIPPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDTSTYSLSTLTLASKA DYEKHKVYACEVTHQGLLSPVTKSFSNRGECSGGGGSG <u>GGGSAPLKIQAYFNETADLPCQFANSQNLSLSELVVFWQ</u> DQENLVLNEVYLGKERFDVSDSKYMGRTSFDSDWTLR LHNLQIKDKGRYQCIIHHKKPTGMINIHQMNSELSVLA</p> <p>경쇄는 바람직하게는 1626 VH 서열을 포함하는 중쇄와 조립된다</p> <p>따라서, 완전한 분자는 1626/1769로 표기될 수 있다</p>

[0561]

표 I(1) - 예시적인 CD137 CDR 서열

항체	CDRH1	CDRH2	CDRH3
1204/1205	GFTFSSYY (서열번호 207)	IGSYYGYT (서열번호 212)	ARAYYDYNYYYAYFDY (서열번호 217)
1214/1215	GFTFSSYA (서열번호 208)	IGSGGGYT (서열번호 213)	ARVGHPFDY (서열번호 218)
1618/1619	GFTFSYGS (서열번호 209)	ISSGSGST (서열번호 214)	ARSSYYGSYYSIDY (서열번호 219)
1620/1621	GFTFSGYY (서열번호 210)	ISSSGSYT (서열번호 215)	ARSVGPYFDY (서열번호 220)
1626/1627	GFTFGGYS (서열번호 211)	IGGYYYST (서열번호 216)	ARSYYGSIDY (서열번호 221)

[0562]

표 I(2) - 예시적인 CD137 CDR 서열

항체	CDRL1	CDRL2	CDRL3
1204/1205	QSISSY (서열번호 80)	AAS (서열번호 81)	QQSVPHYPFT (서열번호 222)
1214/1215	QSISSY (서열번호 80)	AAS (서열번호 81)	QQDAYPHT (서열번호 223)
1618/1619	QSISSY (서열번호 80)	AAS (서열번호 81)	QQYYDNLPT (서열번호 224)
1620/1621	QSISSY (서열번호 80)	AAS (서열번호 81))	QQGVGPYT (서열번호 225)
1626/1627	QSISSY (서열번호 80)	AAS (서열번호 81))	QQGTGYGPLT (서열번호 226)

[0563]

[0564]

기타 서열

서열번호 1(인간 CTLA-4)

MHVAQPAVVLASSRGIASFVCEYASPGKATEVRVTVLRQADSVTEVCAATYMMGNELTFLDDSI
 CTGTSSGNQVNLTIQGLRAMDTGLYICKVELMYPPPYLGIGNGTQIYVIAKEKKPSYNRGLCEN
 APNRARM

서열번호 2(인간 CD28)

MLRLLLALNLFPSIQVTGNKILVKQS PMLVAYDNAVNLSCYSYNLFSREFRASLHKGLDSAVEV
 CVVYGNYSQQLQVYSKTGFNCDGKLGNE SVTFYLQNLVNVNQTDIYFCKIEV MYPPPYLDNEKSNG
 TIIHVKGKHLCPSPLFPGPSKPFWVLVVGGVLACYSLLVTVAFIIFWVRSKRSRLLHS DYMNM
 PRRPGPTRKH YQPYAPP RDFAAYRS

서열번호 3

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWQDQENLV LNEVYLGKEKFDSVHS K YMGR SF
 DSDSWTLRLHN LQIKDKG LYQCI IHHKKPTGMIRI HQMN SELSVLA

서열번호 4

MDPQCTMGLSNILFVMAFLLSGAAPLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWQDQENLV L
 NEVYLGKEKFDSVHS K YMGR TSFDSDSWTLRLHN LQIKDKG LYQCI IHHKKPTGMIRI HQMN SEL
 SVLANFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIHGYPEPKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTE
 LYDV SISLSVSFPDVTNSMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPP DHIP

서열번호 5

APLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWQDQENLV LNEVYLGKEKFDSVASK YMGR SF
 DSDSWTLRLHN LQIKDKG LYQCI IHHKKPTGMIRI HQMN SELSVLA

서열번호 44(인간 CD86)

MDPQCTMGLSNILFVMAFLLSGAAPLKIQAYFNETADLPCQFANSQNQSLSELVVFWQDQENLV L
 NEVYLGKEKFDSVHS K YMGR TSFDSDSWTLRLHN LQIKDKG LYQCI IHHKKPTGMIRI HQMN SEL
 SVLANFSQPEIVPISNITENVYINLTCSIHGYPEPKMSVLLRTKNSTIEYDGIMQKSQDNVTE
 LYDV SISLSVSFPDVTNSMTIFCILETDKTRLLSSPFSIELEDPQPPP DHIPWITAVLPTVIICV
 MVFC LILWKWKKKKRPRNSYKCGTN MERE ESEQT KKRE KIH PERSDEAQ RVFKSSKTSSCDKS
 DT CF

[0565]

서열번호 45 (유린 CTLA-4)

MACLGLRRYKAQLQLPSRTWPFVALLTLFIPVFSEAIQVTQPSVVLASSHGVASFPCEYSPSHNTDEVRVTVLRQTNDQMTEVCATTFTEKNTVGFLDYPFCSGTFNESRVNLTIQGLRAVDTGLYLCKVELMYPPPYFVGGMGNGTQIYVIDPEPCPDSDFLLWILVAVSLGLFFYSFLVSAVSLSKMLKKRPLTTGVYVKMPPTEPECEKQFQPYFIPIN

서열번호 46 (유린 CD28)

MTLRLFLALNFFSVQVTENKILVKQSPLLVVDSNEVSLSCRYSYNLLAKEFRASLYKGVNNSDVEVCVGNGNFTYQPQFRSNAEFNCDCGDFDNETVTFRWLWNHVNHTDIYFCKIEFMYPYYLDNERSNGTIIHIKEKHLCHTQSSPKLFWALVVVAGVLFCYGLLTVALCVIWTNSRRNRLLQVTMMNTPRRPGLTRKPYQPYAPARDFAAYRP

서열번호 51 (인간 OX40)

MCGARRLGRGPCAALLLGLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCRSQNTVCRPCPGFYNDVSSKPKCPCWTNCNRSGSERKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQACKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPPATQPQETQGPPARPI TVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEPGGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI

서열번호 140

gcttccacca agggcccatc cgtctcccc ctggcgccct gctccaggag caccccgag
agcacagccg ccctgggctg cctggtaag gactactcc ccgaaccgg gacggtgtcg
tggactctag cgcgcctgac cagcggcgtg cacacccctcc cggtgtcct acagtcc
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg cacgaagacc
tacacctgca acgttagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtc
aaatatggtc ccccatgccc accttgccca gcacctgagt tcctgggggg accatc
ttcctgttcc ccccaaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcac
tgctgtgtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac
cgtgtgtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag
tgaaggctc ccaacaaagg cctccctgccc tccatcgaga aaaccatc caaagccaaa
ggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag
aaccaggctca gcctgacccctg cctggtaaa gccttctacc ccagcgcacat cgcctggag
tggagagca atggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccgt gctggactcc
gacggctc tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcagggtg gcaggagggg
aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accgctacac acagaagagc
ctctccctgt ctctggtaa a

[0566]

서열번호 141

agctttctgg ggcaggccgg gcctgacttt ggctgggggc agggaggggg ctaaggtgac
 gcaggtggcg ccagccaggt gcacacccaa tgcccatgag cccagacact ggaccctgca
 tggaccatcg cgatagaca agaaccgagg ggctctgctc ccctggccc agctctgtcc
 cacaccgccc tcacatggca ccacctctt tgcagcttcc accaagggcc catccgtctt
 cccctggcg ccctgctcca ggagcacctc cgagagcaca gccgcctgg gctgcctggt
 caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtgaaac tcagggccc tgaccagccg
 cgtgcacacc ttccggctg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtgg
 gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccaa gacctacacc tgcaacgttag atcacaagcc
 cagcaacacc aaggtgacaa agagagttgg tgagaggcca gcacagggag ggagggtgtc
 tgctgaaagc caggctcage cctcctgcct ggacgcaccc cggctgtgca gccccagccc
 agggcagcaa ggcacatcccc atctgtctcc tcacccggag gcctctgacc accccactca
 tgctcaggaa gagggtcttc tggatttttc caccaggctc cccgcaccac aggctggatg
 cccctacccc aggccctgctg catacaggc aggtgctgctc ctcagacctg ccaagagcca
 tatccggag gaccctgccc ctgacctaag cccaccccaa aggccaaact ctccactccc
 tcagctcaga caccttctt cctccagat ctgagtaact cccaatcttc tctctgcaga
 gtccaaatat ggtcccccatt gcccacctt cccaggtaa ccaacccagg cctcgccctc
 cagctcaagg cgggacaggt gcccstagagt agcctgcattc cagggacagg ccccaagccg
 gtgctgacgc atccacctcc atctttctt cagcacctga gttcctgggg ggaccatcag
 ttttcctgtt ccccccaaaa cccaaaggaca ctctcatgat ctccggacc cctgaggtca
 cgtgcgtggt ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac tggtagtgg
 atggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagttc aacagcacgt
 accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca
 atgcaaggt ctccaacaaa ggcctccgt cctccatgca gaaaaccatc tccaaagcca
 aagggtggac ccacgggtg cgagggccac acggacagag gccagctcg cccaccctct
 gcccctggag tgaccgtgt gccaacctt gtcctacag ggcagccccc agagccacag
 gtgtacaccc tgccccatc ccaggaggag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc
 ctggtaaaag gcttctaccc cagcgcacatc gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg
 gagaacaact acaagaccac gcctccgtg ctggactccg acggctcctt ctccctctac
 acaggctaa ccgtggacaa gagcaggtgg caggagggga atgtttctc atgctccgtg
 atgcattgagg ctctgcacaa ccgtctacaca cagaagagcc tctccctgtc tctgggtaaa
 ttagtgtccag ggcggcaag ccccgctcc cccggctctc ggggtcgccg gaggatgctt
 ggcacgtacc ccgtctacat acttcccagg cacccagcat ggaaataaag cacccaccac
 tgccctgggc ccctgtgaga ctgtgatggt tctttccacg ggtcaggccg agtctgaggc
 ctgagtgaca tgagggaggc agagcgggtc ccactgtccc cacactgg

[0567]

서열번호 142

gcttccacca agggccatc cgtctttccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag
 agcacagccg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggttcg
 tggactctag gcgcctgac cagcggcgtg cacacattcc cggctgtcct acagtccctca
 ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc
 tacacctgca acgttagatca caagcccaga aacaccaagg tggacaagag agttgatcc
 aaatatggtc ccccatgccc atcatgccc gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc
 ttctgttcc ccccaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcact
 tgctgggtgg tggacgttag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac cagactggc tgaacggcaa ggagtacaag
 tgcaaggctc ccaacaaagg cctccctcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
 gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag
 aaccaggta cgcgtaccc cctggtaaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag
 tggagagca atggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccctg gctggactcc
 gacggctct tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggta gcaggagggg
 aatgtttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagac
 ctctccctgt ctctggtaa a

서열번호 143

agctttctgg ggcaggccgg gcctgacttt ggctgggggc agggaggggg ctaaggtgac
 gcaggtggcg ccagccaggt gcacacccaa tgcccatgag cccagacact ggaccctgca
 tggaccatcg cggatagaca agaaccgagg ggcctctgcg ccctggggcc agctctgtcc
 cacacccgccc tcacatggca ccaccccttc tgcagcttcc accaaggggcc catccgtctt
 cccctggcg ccctgctcca ggagcaccc cggagcaca gcccgcctgg gctgcctgg
 caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggAAC tcaggcgccc tgaccagccg
 cgtgcacacc ttcccggtcg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtgg
 gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccaa gacctacacc tgcaacgttag atcacaagcc
 cagcaacacc aagggtggaca agagagttgg tgagaggcca gcacaggag ggaggggtg
 tgctggaaagc caggctcagc cctccctgcct ggacgcaccc cggctgtgca gccccagccc
 agggcagccaa ggcacccccc atctgtctcc tcacccggag gcctctgacc accccactca
 tgctcaggga gagggtcttc tggattttc caccaggctc cggcaccac aggctggatg
 cccctacccc agggccctgctc catacaggcc aggtgctgca ctcagaccc ccaagagcc
 tatccggag gaccctgccc ctgacctaag cccacccaa aggccaaact ctccactccc
 tcagctcaga cacccctctc cctccctcagat ctgagtaact cccaatcttc tctctgcaga
 gtccaaatat ggtccccat gcccacatcg cccaggtaag ccaacccagg cctcgcctc
 cagctcaagg cgggacaggt gccctagagt agcctgcac cagggacagg cccagccgg

gtgctgacgc atccacctcc atctcttcct cagcacctga gttcctgggg ggaccatcg
 tcttcctgtt ccccccaaaa cccaaggaca ctctcatgat ctcccggacc cctgaggtca
 cgtgcgttgt ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac tggtacgtgg
 atggcgtgaa ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagttc aacagcacgt
 accgtgttgt cagcgtcctc accegtctgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca
 agtgcacaggat ctccaacaaa ggccctccgt cctccatcgaa gaaaaccatc tccaaagcca
 aaggtggac ccacgggtg cgagggccac acggacagag gccagctcg cccaccctct
 gcccctggag tgaccgtgt gccaacctct gtccttacag ggcagccccg agagccacag
 gtgtacaccc tgccccccatc ccaggaggag atgaccaaga accaggtca gctgacctgc
 ctggtaaaag gcttctaccc cagcgcacatc gccgtggagt gggagagcaa tggcagccg
 gagaacaact acaagaccac gcctccctg ctggactccg acggctcctt cttcccttac
 agcaggctaa ccgtggacaa gagcaggtgg caggagggga atgtcttctc atgctccgtg
 atgcacatgagg ctctgcacaa ccactacaca cagaagagcc tctccctgtc tctggtaaa
 tgagtgccag ggccggcaag ccccccgtcc ccgggctctc ggggtcgccg gaggatgctt
 ggcacgtacc ccgtctacat acttcccagg cacccagcat gaaaaataaag cacccaccac
 tgcctgggc ccctgtgaga ctgtgatggt tcttccacg ggtcaggccg agtctgaggc
 ctgagtgaca tgagggagac agagccggc ccactgtccc cacactgg

서열번호 145

gcctccacca agggcccatc ggtcttcccc ctggcacccct cctccaagag cacctctggg
 ggcacagccg ccctgggtgt cctggtaag gactacttcc ccgaaccgggt gacgggtgtcg
 tggactctcg ggcgcctgac cagcggcgtg cacacccctcc cggctgtcct acagtcctca
 ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccttcca gcagcttggg cacccagacc
 tacatctgca acgtgaatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc
 aaatcttgtg acaaaaactca cacatgcccc ccgtgcccag cacctgaact cctgggggaa
 ccgtcagtct tccttctccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccct
 gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtcaa gttcaactgg
 taegtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcggggagga gcagtacaac
 agcacgtacc gtgtggtcag cgtcctcacc gtccctgcacc aggactggct gaatggcaag
 gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcccaagccc ccatcgagaa aaccatctcc
 aaagccaaag ggcagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgcccccattc ccgggatgag
 ctgaccaaga accaggtca gctgacctgc ctggtaaaag gcttctatcc cagcgacatc
 gccgtggagt gggagagcaa tggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctccctg
 ctggactccg acggctcctt cttcccttac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg
 cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg
 cagaagagcc tctccctgtc tccggtaaa

서열번호 146

gcctccacca agggccatc ggtctttccc ctggcacccct cctccaagag cacctctggg
 ggcacagcg ccctgggctg cctggtcaag gactacttcc ccgaaccggg gacgggtgcg
 tggactctag gcgccctgac cagcggcggtg cacaccttcc cggctgtcct acagtccctca
 ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacccagacc
 tacatctgca acgtgaatca caagcccgac aacaccaagg tggacaagaa agttggtag
 aggccagcac agggaggggag ggtgtctgct ggaagccagg ctcagcgctc ctgcctggac
 gcatcccgcc tatgcagccc cagtcacaggc cagcaaggca ggccccgtct gcctcttac
 ccggaggccct ctgccccccc cactcatgct cagggagagg gtcttctggc tttttcccc
 ggctctggc aggcacaggc taggtcccc taacccaggc cctgcacaca aaggggcagg
 tgctggcctc agacctgcca agagccatat ccgggaggac cctgccccctg acctaagccc
 accccaaagg ccaaactctc cactccctca gctcgacac cttctctcct cccagattcc
 agtaactccc aatcttctct ctgcagagcc caaatcttgt gacaaaactc acacatgccc
 accgtgcccc ggtaaaggccag cccaggccctc gcccctccagc tcaaggcggg acaggtgccc
 tagagtagcc tgcatccagg gacaggcccc agccgggtgc tgacacgtcc acctccatct
 cttccctcage acctgaactc ctggggggac cgtaactt ccttttttttttcccaaaaaccc
 aggacaccct catgatctcc cggaccctcg aggtcacatg cgtgggtgg gacgtgagcc
 acgaagaccc tgaggtcaag ttcaacttggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca
 agacaaagcc gcgggaggag cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg
 tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc
 tcccaaaaaacc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggaccctg ggggtgcgag
 ggcacatgg acagaggccg gtcggccca ccctctgccc tgagagtgac cgctgtacca
 acctctgtcc ctacaggcca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccg
 gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc
 gacatcgccg tggagtgaaa gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct
 cccgtgctgg actccgacgg ctccctcttc ctctacagca agctcaccgt ggacaagagc
 aggtggcagc aggggaacgt ctctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac
 tacacgcaga agagcctctc cctgtctccg gttaaa

서열번호 147

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtcttcata ttcccgccat ctgatgagca gttgaaatct
 ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag
 tggagggtgg ataacgcctt ccaatcggtt aactcccagg agagtgtcac agagcaggac
 agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag
 aaacacaaag tctacgcctg cgaagtcacc catcaggccc tgagctcgcc cgtaaaaaag
 agttcaaca ggggagagtg t

서열번호 148 (인간 CD137, 아미노산 서열 : >gi|571321|gb|AAA53133.1| 4-
1BB [호모 사피엔스])

MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDIC
RQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCPTGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKR
GICRPWTNCSDLGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISFLALT
STALLFLLFFLTLRFSVVKRGKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEggcel

서열번호 175

gcttccacca agggcccatc cgtttcccc ctggcgccct gctccaggag caccccgag
agcacagccg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccggg gacggtgtcg
tggaaactcag gcgcctgac cagcggcgtg cacaccccttcc cggtgtcct acagtccctca
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccttcca gcagcttggg cacgaagacc
tacacctgca acgttagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc
aaatatggtc cccatgccc accttgccca gcacctgagt tcctggggg accatccatgc
ttcctgttcc cccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacf
tgcgtgggg tggacgtgag ccaggaagac cccgagggtcc agttcaactg gtacgtggat
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac
cgtgtggtca gcgtccctcac cgtcctgac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag
tgcaagggtct ccaacaaagg cctcccttcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa
ggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag
aaccaggtaa gcctgacctg cctggtaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag
tggagagca atggcagcc ggagaaaaac tacaagacca cgcctccgt gctggactcc
gacggcttcc tcttcctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggta gcaaggaggg
aatgtttctt catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc
ctctccctgt ctctggtaa a

서열번호 176

agctttctgg ggcaggccgg gcctgacttt ggctggggc agggaggggg ctaaggtgac
gcagggggcg ccagccaggt gcacacccaa tgcccatgag cccagacact ggaccctgca
tgaccatcg cggatagaca agaaccgagg ggcctctgca ccctggggcc agctctgtcc
cacaccgccc tcacatggca ccacccctctc tgcagcttcc accaaggccc catccgtctt
ccccctggcg ccctgctcca ggagcaccc cggagcaca gcccctgg gctgcctgg
caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggAAC tcaggcgccc tgaccagccg
cgtgcacacc ttcccggtg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtgg
gaccgtgccc tccagcagct tggcacgaa gacctacacc tgcaacgtag atcacaagcc
cagcaacacc aagggtggaca agagagttgg tgagaggcca gcacaggag ggagggtgtc

[0571]

tgcttggaaagc caggctcagc cctcctgcct ggacgcaccc cggctgtgca gccccagccc
 agggcagcaa ggcattttcc atctgtctcc tcacccggag gcctctgacc accccactca
 tgctcaggga gagggttttc tggattttc caccaggctc cccgcaccac aggctggatg
 cccctacccc aggcctgctc catacaggc aggtgctgctc ctcagacctg ccaagagcca
 tatccggag gaccctgccc ctgacctaag cccacccaa aggccaaact ctccactccc
 tcagctcaga cacccatctt cctccatgt ctgagtaact cccaatcttc tctctgcaga
 gtccaaatat ggtcccccattt gcccacccctt cccaggttaag ccaacccagg cctcgccctc
 cagctcaagg cgggacaggt gcccataactt cccacccaaagg ccaggttcaac tggtagtgg
 gtgctgacgc atccaccccttcc atctcttccctt cagcacctga gttcctgggg ggaccatcat
 tcttcctgtt ccccccaaaa cccaaggaca ctctcatgtat ccccccggacc cctgaggtca
 cgtgcgtgg ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac tggtagtgg
 atggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagtcc aacagcacgt
 accgtgtgg ggtgcgtcc accgtcctgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca
 atgcaaggt ctccaaacaaa ggcctccgtt cccatcgaa gaaaaccatc tccaaagcca
 aaggtggac ccacggggtg cgaggccac acggacagag gccagctcg cccacccctt
 gcccggag tgaccgtgt gccaaccttctt gtccttacag ggcagccccc agagccacag
 gtgtacaccc ttcccccattt ccaggaggag atgaccaaga accaggttag cctgacccct
 ctggtaaaag gtttcttaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tggcagccg
 gagaacaactt acaagaccac gcctccctgt ctggactccg acggctccctt cttcccttac
 agcaggctaa ccgtggacaa gagcaggtgg caggagggaa atgtttcttctt atgctccgt
 atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca cagaagagcc ttccttgc tctggtaaa
 tgagtggccag ggccggcaag ccccccgttcc ccgggtcttc ggggtcgccg gaggatgctt
 ggcacgtacc ccgtctacat acttccagg caccaggcat gggaaataaag cacccaccac
 tgccttggc ccctgtgaga ctgtatgg tctttccacg ggtcaggccg agtctgaggc
 ctgagtgaca tgagggagggc agagcgggtc ccactgtcccc cacactgg

[0572]

실시예

[0573]

본 발명은 추가 제한으로서 다음의 실시예에 의해 추가로 예시되는데, 이는 추가적인 제한으로서 해석되어서는 안 된다. 본 출원 전체적으로 인용된 모든 도면 및 모든 참고문헌, 특히 및 공개된 특허 출원의 내용은 본 명세서에 참고로 명확하게 포함된다.

[0574]

실시예 1 - CTLA-4 결합 도메인

[0575]

WO 2014/207063(실시예 참조)에 기재한 바와 같이 CTLA-4 결합 도메인 폴리펩타이드를 선택하고 발현시키고 나서, 이하에 기재한 바와 같이 ELISA 및 표면 플라즈몬 공명 중 적어도 하나에 의한 CTLA-4에 대한 결합에 대해 분석하였다.

[0576]

결합 ELISA

[0577]

4°C에서 밤새 인큐베이션함으로써 96-웰 편평 바닥 고 결합 플레이트(그라이너(Greiner), #655074)를 CTLA4-Fc(피츠제럴드(Fitzgerald), #30R-CD152) 또는 CD28-Fc(R&D 시스템즈(R&D systems), 342-CD) 중 하나로 코팅하였다. 플레이트를 세척하고(세척 완충제: PBS+0.05% 트윈 20(PBST) 메디카고(Medicago), #09-9410-100), 이어서, PBST+3% BSA(머렉(Merck), #1.12018.0100) 중에서 차단시켰다. 플레이트를 다시 세척하고 나서, 샘플 또는 대조군(200 내지 0,001 μ g/ml로 1/5로 연속회석시킴)을 웰에 첨가하였다. 1시간 동안 실온에서 샘플을 인큐베이션시키고, 이어서 세척하였다. 검출 항체, 염소-항-인간 IgG Fc γ-HRP(잭슨(Jackson), #109-035-098)을 첨가하고 나서, 후속적으로 수퍼시그널 피코(SuperSignal Pico) 화학발광 기질(씨모 사이언티픽(Thermo Scientific), #37069)을 이용하여 플레이트를 연구하고, 엔비전(Envision) 판독기(퍼킨 엘머(Perkin Elmer))를 이용하여 검출하였다. CTLA4와 CD28 둘 다에 대해 EC50 값을 계산하였다. 결합비(EC50 결합비 = [CD28에 대한 EC50] ÷ [CTLA-4에 대한 EC50])를 각각의 폴리펩타이드에 대해 계산하고 나서, 표 1.1에 나타낸다.

[0578]

표면 플라즈몬 공명

[0580] CTLA4-Fc(파츠제럴드, #30R-CD152) 또는 CD28-Fc(R&D 시스템즈, 342-CD) 중 하나를 통상적인 아민 결합을 이용하여 비아코어(상표명) 센서 칩(CM5)에 고정시켰다. CD86 돌연변이체 분자 및 대조군(1/2 100 내지 1.5nM로 연속 희석)을 $30\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 유속으로 HBS-P(GE, BR-1003-68)에서 결합에 대해 분석하였다. 3분 동안 결합시키고, 10분 동안 해리시켰다. 30분 동안 5mM NaOH를 이용하여 2회 재생성을 수행하였다. BIA평가 4.1 소프트웨어를 이용하여 역학적 매개변수 및 친화도 상수를 계산하였다(표 1.3).

[0581] 저해 ELISA

[0582] 96-웰 편평 바닥 플레이트 고 결합 플레이트(그라이너, #655074)를 밤새 4°C에서 인큐베이션시킴으로써 야생형 CD86-Fc(R&D 시스템즈, #7625-B2)로 코팅하였다. 플레이트를 (세척 완충제: PBS+0.05% 트윈 20(PBST) 메디카고, #09-9410-100)로 세척하고, 이어서, PBST+3% BSA(머렉(Merck), #1.12018.0100) 중에서 차단시켰다. 샘플(CD86 돌연변이체 또는 야생형 단백질; 30000 내지 0.3ng/mL로 1/4 연속희석시킴)을 실온에서 1시간 동안 바이오틴일화된-CTLA4(파츠제럴드, #30R-CD152)와 함께 인큐베이션시키고 나서, 이어서, 혼합물을 ELISA 플레이트에서 차단시킨 웰에 첨가하였다. 스트렙타비딘-HRP(파어스(Pierce), #21126)으로 검출을 수행하고 나서, 플레이트를 후속적으로 수퍼시그널 피코(SuperSignal Pico) 화학발광 기질(써모 사이언티필, #37069)을 이용하여 플레이트를 연구하고, 엔비전 판독기(퍼킨 엘머)를 이용하여 검출하였다. 결과를 도 2에 나타낸다. IC₅₀ 값을 계산하고 나서, 이하의 표에 나타낸다. 시험한 모든 분자는 야생형과 H79A 둘 다보다 더 양호한 IC₅₀ 값을 나타내었고, 최고의 돌연변이체 CD86 분자의 IC는 야생형에 비해 100배 이상으로 개선되었다. 예시적인 분자 900, 901, 904, 906, 907, 908, 910, 915 및 938에 대한 결과를 표 1.1에 나타낸다. Kd 결합비 = [CD28에 대한 Kd] \div [CTLA-4에 대한 Kd]. 예시적인 분자 900, 901, 904, 906, 907, 908, 910, 915 및 938에 대한 전체 아미노산 서열을 각각 서열번호 6 내지 14로서 제공한다.

표 1.1

샘플	야생형에 비해 돌연변이된 위치 및 아미노산 변화 (도 4에서와 같이 넘버링한 위치)	EC ₅₀ 결합비	Kd 결합비
900	H79D,L107I,I111V,T118S, M120L, I121V, R122K, Q125E	3.5	ND*
901	Q48L,S49T,L107I,I111V,R122K,Q125E,A134T	17.2	2.7
904	V54I,K74R,S77A,H79D,L107I,T118S,I121V,R122K, N127D	12.2	6.8
906	F32I,Q48L,K74R, H79D,L107F, M120L,I121V,R122K,Q125E	16.2	0.8
907	R122K,Q125E	30.5	5.6
908	L107I,I121V,R122K,Q125E	6.2	4.7
910	H79D,L107I,I121V,R122K,Q125E	7.7	5.1
915	V64I,H79D,L107F,T118S,M120L,R122K,N127D	9.9	1.9
938	V64I,L107I,I121V,R122K	2.0	5.5
	야생형	3.4	1.6

* 비아코어(상표명) 분석에서도 또는 결합 ELISA에서도 검출 가능한 결합은 보이지 않았다

[0583]

[0584] 예시적인 분자 1038, 1039, 1040, 1041, 1042, 1043, 1044, 1045, 1046 및 1047에 대한 결과를 표 1.2 및 표 1.3에서, 그리고 도 2 및 도 3에서 나타낸다. 예시적인 분자 1038, 1039, 1040, 1041, 1042, 1043, 1044, 1045, 1046 및 1047에 대한 전체 아미노산 서열을 각각 서열번호: 15 내지 24로서 제공한다.

표 1.2

샘플	EC50	샘플	IC50
1038	0.14	-	-
1039	0.039	-	-
1040	0.0076	1040	0.049
1041	0.087	1041	3.1
1042	0.29	1042	4.3
1043	0.035	1043	4.0
1044	0.029	1044	1.4
1045	0.047	1045	2.6
1046	0.019	1046	1.1
1047	0.037	1047	0.98
야생형	0.51	야생형	15
선행기술	0.81	H79A	25
		음성	
음성 대조군	활성 없음	대조군	활성 없음

[0585]

표 1.3

샘플	돌연변이된 위치 및 아미노산 변화 (도 4에서 넘버링한 위치)	ka (1/Ms)	kd (1/s)	K _D (nM)
1038	Q48L, H79D, L107I, I121V, R122K, Q125E	1.0e6	0.012	12
1039	Q48L, H79S, L107I, T118S, I121V, R122K, N127D	1.0e6	8.5e-3	8
1040	Q48L, K74R, H79D, L107R, R122N	1.0e6	3.2e-3	3
1041	F32L, Q48L, H79D, L107I, M120L, I121V, R122K, 125E	7.0e5	8.4e-3	12
1042	Q48L, K74I, H79S, L107I, T118S, I121V, R122K, N127D	4.4e5	0.011	25
1043	Q48L, H79D, L107I, R122K, Q125E	1.1e6	0.011	10
1044	Q48L, S49T, H79S, L107I, R122K, Q125E, N127S	1.1e6	9.4e-3	8
1045	Q48L, S49T, H79D, M120L, I121V, R122K, Q125E	9.4e5	8.3e-3	9
1046	H79D, K103E, L107I, T118S, I121V, R122K, N127D	1.4e6	8.0e-3	6
1047	Q48L, H79D, L107I, M120L, I121V, R122K, Q125E	8.5e5	8.4e-3	10
야생형		4.6e5	0.023	50
H79A		3.4e5	0.022	63

[0586]

[0587] 실시예 2 - 클론 1040으로부터의 예시적인 폴리펩타이드의 뮤린 CTLA-4에 대한 교차반응성

[0588] 저해 ELISA 결합 분석을 이용하여 예시적인 돌연변이체 CD86 분자 1040의 뮤린 및 인간 CTLA-4에 대한 상대적 친화도를 연구하였다. 이들 실험에서 사용한 1040 분자를 이중특이성 분자의 부분으로서 항-CD40 항체에 접합시켰다. CD86 분자의 CTLA-4 결합 특성은 이 접합에 의해 영향받지 않는다(데이터 미제시).

[0589]

요약하면, 96-웰 편평 바닥 플레이트 고결합 플레이트(그라이너 #655074)를 밤새 4°C에서 인큐베이션한 인간

CTLA-4(피츠제럴드)로 코팅하였다. 플레이트를 세척하고(세척 완충제: PBS+0.05% 트윈 20 (PBST) 메디카고 #09-9410-100), 이어서, PBST+3% BSA(머렉, #1.12018.0100) 중에서 차단시켰다.

[0590] 샘플(예시적인 CD86 돌연변이체)을 상이한 농도(연속 희석 1/4 30000 내지 0.3ng/ml)에서 가용성 바이오틴일화된 인간 CTLA4(피츠제럴드 #30R-CD152) 또는 가용성 뮤린 CTLA-4(R&D 시스템즈)를 이용하여 1시간 동안 실온에서 사전인큐베이션시켰다.

[0591] 이어서, 혼합물을 ELISA 플레이트에서 차단 웰에 첨가하였다. 스트렙타비딘-HRP(피어스, #21126)를 이용하여 검출을 수행하고 나서, 후속적으로 수퍼시그널 피코 화학발광 기질(써모 사이언티필, #37069)을 이용하여 플레이트를 연구하고, 엔비전 판독기(페킨 엘머)를 이용하여 검출하였다. 결과를 도 5에 나타낸다. 뮤린 및 인간 CTLA-4에 의해 관찰된 저해 곡선은 CTLA-4의 두 형태에 대한 예시적인 CD86 돌연변이체 (1040)의 결합 친화도가 유사한 규모를 가진다는 것을 입증한다. 실시예 1에서 시험한 다른 클론은 또한 뮤린 CTLA-4에 결합하는 것으로 발견되었다(데이터 미제시).

실시예 3 - OX40 항체의 특성규명

[0593] 예시적인 OX40 항체의 특징을 이하의 표 3.1에서 요약한다.

표 3.1

항체	CDR H3 길이 (IMGT)	ELISA 반응 양 (1g)	T-세포 작용체	마카카 물리타 OX40 결합	huOX40 결합 (CHO)	FACS 소수성 지수	등전점	해리상수 Kd(M)	상수 ka	결합 속도 (1/Ms)	상수 kd	결합 속도 (1/s)
1166/1167	10	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.392	9.11	3.22E-10	9.01E+04	2.90E-05		
1170/1171	10	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.415	9.11	2.50E-10	1.45E+06	3.63E-04		
1164/1135	11	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.398	9.21	3.08E-10	2.51E+05	7.73E-05		
1168/1135	11	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.404	9.19	3.27E-10	5.18E+05	1.69E-04		
1482/1483	9	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.381	9.19	7.53E-10	7.76E+05	5.84E-04		
1490/1135	11	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.407	9.18	3.07E-10	3.87E+06	1.19E-03		
1514/1515	14	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.399	9.11	6.40E-10	2.57E+05	1.64E-04		
1520/1135	17	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.394	9.18	5.55E-10	6.20E+05	3.44E-04		
1524/1525	10	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.391	9.11	8.11E-10	1.71E+06	1.39E-03		
1526/1527	15	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.388	8.99	4.30E-10	4.35E+05	1.87E-04		
1542/1135	11	< 1 nM	있음	있음	있음	- 0.411	9.2	4.63E-10	2.16E+05	1.00E-04		

[0594]

[0595] 이들 연구에서 단지 비교 목적을 위한 기준 항체로서 사용하기 위해 두 항-OX40 항체를 합성하였다. 그들을 본명세서에서 각각 "72" 또는 "72/76", 및 "74" 또는 "74/78"로서 표기한다.

[0596] 표면 플라즈몬 공명에 의한 역학 상수의 측정

[0597] 통상적인 아민 결합을 이용하여 인간 OX40(R&D 시스템즈, #3358_OX)를 비아코어(상표명) 센서 칩(CM5) 상에 고정시켰다. 시험한 항체 및 대조군(1/3 또는 1/2 100 내지 2nM로 연속희석)을 30μl/ml의 유속으로 HBS-P(GE, #BR-1003-68)에서 결합에 대해 분석하였다. 3분 동안 결합시키고, 20분 동안 해리시켰다. 50mM NaOH를 이용하여 60분 동안 2회 재생성을 수행하였다. 대세(drifting) 기준을 이용하는 1:1 랑그무어(Langmuir) 모델을 이용하여 역학 매개변수 및 친화도 상수를 계산하였다. 시험한 항체는 전반적으로 온 및 오프 속도를 달리하여 서브나노 몰 내지 나노몰 범위에 있었다(도 6 및 표 3.1). 대부분의 항체는 친화도가 5nM 미만이었다. BIAevaluation 4.1 소프트웨어를 이용하여 역학적 매개변수 및 친화도 상수를 계산하였다.

[0598] ELISA에 의한 인간 및 뮤린 OX40에 대한, 그리고 CD137 및 CD40에 대한 결합의 ELISA에 의한 측정

- [0599] ELISA 플레이트를 인간 OX40(R&D 시스템, 3388-OX), CD40(안셀(Ancell)), 또는 CD137(R&D 시스템즈)로 0.1 또는 $0.5\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 코팅하였다. ELISA 플레이트를 PBST로 세척하고, 이어서, PBST+2% BSA로 1시간 동안 실온에서 차단시키고, 이어서, PBST로 다시 세척하였다. ELISA 플레이트에 1시간 동안 실온에서 연속 흐석으로 항체를 첨가하고 나서, 이어서, PBST로 세척하였다. 염소 항 인간 카파 경쇄 HRP를 이용하여 결합을 검출하고 나서, 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 수퍼시그널 피코 루미네센트를 기질로서 사용하고, 플루오스타 옵티마(Fluostar Optima)를 이용하여 발광을 측정하였다.
- [0600] 모든 시험 OX40 항체를 인간 OX40에 결합시키고, 1nM 이하의 EC50 값을 나타내었다. 상기 항체는 뮤린 OX40에 또는 시험한 다른 TNFR 수퍼 패밀리 구성원에 결합하지 않았다(데이터 미제시).
- [0601] CHO 세포 상에서 과발현된 인간 OX40에 대한 결합의 측정
- [0602] 인간 OX40의 세포외 부분을 hCD40의 막관통 및 세포내 부분에 융합시키고, pcDNA3.0으로 클로닝시켰다. 후속적으로 벡터를 CHO 세포로 안정하게 형질감염시켰다. 30분 동안 4°C에서 상업적 OX40 항체(huOX40, BD 바이오사이언시스(BD Biosciences))와 함께 인큐베이션시킴으로써 OX40의 발현을 확인하고, 30분 동안 4°C에서 a-huIgG-PE(잭슨 이뮤노리서치(Jackson Immunoresearch))를 이용하여 검출하였다. 분석을 위해, 형질감염 세포를 30분 동안 4°C에서 시험 항체 및 대조군과 함께 인큐베이션시키고, 이어서, 30분 동안 4°C에서 a-huIgG-PE(잭슨 이뮤노리서치)로 검출하였다. FACS 버스(FACS Verse)(BD 바이오사이언시스)를 이용하는 유세포분석에 의해 세포를 분석하였다.
- [0603] 용량 의존적 방식으로 CHO 세포 상에서 과발현시킨 hOX40에 결합된 모든 클론(도 7).
- [0604] **실시예 4 - OX40 항체의 서열 분석**
- [0605] 중쇄와 경쇄 가변 영역 둘 다의 CDR 서열을 각각의 항체에 대해 분석하였다. 표 4.1은 VH CDR3 서열에 대해 수행한 바와 같은 분석을 예시한다. 표 4.1의 위치는 IMGT 넘버링 시스템에 따라 나타낸다. 다음의 패턴을 확인하였다.
- [0606] VH 영역은 모두 하기를 포함한다:
- [0607] (a) 8개의 아미노산의 길이이고, 공통서열: "G, F, T, F, G/Y/S, G/Y/S, Y/S, Y/S/A"를 포함하는 중쇄 CDR1 서열;
- [0608] (b) 8개의 아미노산의 길이이고, 공통서열: "I, G/Y/S/T, G/S/Y, S/Y, G/S/Y, G/S/Y, G/S/Y, T"를 포함하는 중쇄 CDR2 서열; 및
- [0609] (c) 9 내지 17개의 아미노산의 길이이고, "A, R, G/Y/S/H, G/Y/F/V/D, G/Y/P/F, -/H/S, -/N/D/H, -/Y/G, -/Y, -/Y, -/W/A/V, -/A/Y, -/D/A/Y/G/H/N, Y/S/W/A/T, L/M/I/F, D, Y"의 공통서열을 포함하는 중쇄 CDR3 서열.
- [0610] VL 영역은 모두 하기를 포함한다:
- [0611] (a) 서열: "Q, S, I, S, S, Y"로 이루어진 경쇄 CDR1 서열;
- [0612] (b) 서열: "A, A, S"로 이루어진 경쇄 CDR2 서열;
- [0613] (c) 8 내지 10개의 아미노산의 길이이고, 공통서열: "Q, Q, S/Y/G, -/Y/H/G, -/S/Y/G/D, S/Y/G/D, S/Y/G/T, P/L, Y/S/H/L/F, T"를 포함하는 경쇄 CDR3 서열.
- [0614] 중쇄 CDR3에 대한 공통서열 내에서, 2개의 서브패밀리를 확인하였다. 제1 서브패밀리 내 각각의 항체는 공통서열 "A, R, Y/H, D, Y, A/Y/G, S/W/A, M/L, D, Y"를 포함하는 10개의 아미노산 길이의 VH CDR3 서열을 포함한다. 이 패밀리 내의 항체는 패밀리 Z로서 지칭되고, 표 4.1에서와 같이 확인된다. 제2 서브 패밀리 내 각각의 항체는 공통서열 "A, R, G/Y, V/F/Y, P, H, G/Y/H, Y, F/I, D, Y"를 포함하는 길이 11개의 아미노산의 VH CDR3 서열을 포함한다. 이 패밀리 내의 항체는 패밀리 P로서 지칭되고, 표 4.1에서와 같이 확인된다. 패밀리 Z 또는 P의 항체가 바람직하다. 패밀리 P 내에서 VH 서열을 갖는 항체는 전형적으로 또한 "Q, Q, S, Y, S, T, P, Y, T"의 CDR3 서열, "Q,S,I,S,S,Y"의 CDR1 서열 및 "A,A,S"의 CDR2 서열을 갖는 VL 서열을 포함한다. 따라서, 이들 3개의 CDR 서열을 포함하는 VL 영역을 갖는 항체가 바람직하다.

표 4.1

VH	105	106	107	108	109	110	111	111.1	111.2	112.2	112.1	112	113	114	115	116	117	CDRH3 길이	페밀리
1482	A	R	G	Y	G								Y	L	D	Y	9		
1166	A	R	Y	D	Y								A	S	M	D	Y	10	Z
1170	A	R	Y	D	Y								Y	W	M	D	Y	10	Z
1524	A	R	H	D	Y								G	A	L	D	Y	10	Z
1164	A	R	G	V	P	H							G	Y	F	D	Y	11	P
1168	A	R	Y	F	P	H							Y	Y	F	D	Y	11	P
1490	A	R	Y	Y	P	H							H	Y	I	D	Y	11	P
1542	A	R	G	Y	P	H							H	Y	F	D	Y	11	P
1514	A	R	S	G	Y	S	N						W	A	N	S	F	D	Y
1526	A	R	Y	Y	F	H	D	Y					A	A	Y	S	L	D	Y
1520	A	R	Y	Y	Y	S	H	G	Y	Y	V	Y	G	T	L	D	Y	17	

[0615]

실시예 5 - OX40 항체의 도메인 맵핑

[0617]

OX40의 세포외 부분은 4개의 도메인으로 이루어지는데, 이를 각각은 2개의 모듈로 다시 분할될 수 있다. 표준 실험 기법을 이용하여 OX40 인간/마우스 키메라의 유전자를 합성하였다. 인간 OX40의 도메인 또는 모듈을 대응하는 마우스 OX40으로 교환함으로써 상이한 키메라를 설계하였다. 인간 및 마우스 서열의 평가 및 인간 OX40의 3D 연구에 기반하여 키메라를 설계하였다. 합성한 유전자에 프로젝트 특정 ID 번호를 부여하였다(표 5.1 참조). 작제물을 pcDNA3.1 벡터(인비트로젠(Invitrogen))내로 클로닝하였다.

[0618]

마우스/인간 키메라를 프리스타일(FreeStyle) 293-F 세포(인비트로젠) 내로 일시적으로 형질감염시키고 나서, 프리스타일 293 발현 배지(인비트로젠) 37°C, 8% CO₂, 135rpm에서 48시간 동안 인큐베이션시켰다. 형질감염 세포를 인간 OX40 항체, 인간 OX40L(hOX40L, RnD 시스템즈), 마우스 OX40L(mOX40L, RnD 시스템즈) 및 대조군과 함께 30분 동안 4°C에서 인큐베이션시키고, 이어서, a-huIgG-PE(잭슨 이뮤노리서치)를 이용하여 30분 동안 4°C에서 검출하였다. FACS Verse(BD 바이오사이언시스)를 이용하여 세포를 분석하였다. 상이한 키메라 작제물에 대한 결합을 아이소타입 대조군의 결합에 비교한 상대적(평균 형광 강도) MFI로서 계산하였다. 결과를 표 5.2에 나타낸다.

[0619]

시험한 인간 OX40 항체 중 어떤 것도 뮤린 OX40에 결합하지 않았다. 따라서, 주어진 항체가 특정 키메라에 결합하지 않는다면, 이는 항체가 해당 키메라 내 뮤린 도메인으로 대체된 도메인 중 하나에 대해 특이적이라는 것을 나타낸다.

표 5.1

키메라 작제물의 동일성

ID 작제물	키메라 DNA 작제물의 암호 영역 설명
1544	마우스 도메인 1A, 1B 및 2A를 지니는 인간 OX40(aa 30-81)
1545	마우스 도메인 1B, 2A 및 2B를 지니는 인간 OX40(aa 43-107)
1546	마우스 도메인 2A, 2B 및 모듈 3을 지니는 인간 OX40(aa 66-126)
1547	마우스 도메인 2B, 모듈 3 및 도메인 4A를 지니는 인간 OX40(aa 83-141)
1548	마우스 모듈 3 및 도메인 4A 및 4B를 지니는 인간 OX40(aa 108-167)
1549	마우스 도메인 1A 및 4B 및 주석이 없는 세포외 영역을 지니는 인간 OX40(aa 30-65 및 aa 127-214)
84	전장 OX40 서열을 함유하는 작제물
57	빈 벡터(음성 대조군)

[0620]

[0621] 적어도 4가지 별개의 결합 패턴을 확인하였다.

[0622] 패턴 A:

[0623] 항체 1170/1171, 1524/1525, 및 1526/1527은 유사한 결합 패턴을 나타내고, 결합에 대해 동일한 도메인 내 잔기에 의존한다. 결합에 중요한 아미노산 잔기는 도메인 2 내의 모듈 B 내에 그리고 도메인 2의 모듈 A 내에 위치할 가능성이 있다. CDRH3 패밀리 "Z"를 지니는 대부분의 항체는 패턴 A(1166/1167은 제외함)에 따라 결합하는데, 이는 이 유형의 CDRH3을 지니는 항체가 이 에피토프에 결합하는 성향을 갖게 한다는 것을 나타낸다.

[0624] 패턴 B:

[0625] 항체 1168/1135, 1542/1135, 1520/1135, 1490/1135, 1482/1483 및 1164/1135는 유사한 결합 패턴을 나타내고, 결합을 위해 도메인 3 내에 위치된 잔기 상에 주로 의존한다. CDRH3 패밀리 "P"를 지니는 모든 항체는 이 패턴으로 결합하는데, 이는 CDRH3 서열의 유사성이 통상적인 결합 에피토프를 나타낸다는 것을 입증한다.

[0626] 패턴 C:

[0627] 항체 1166/1167은 독특한 결합 패턴을 가지며, 결합을 위해 도메인 2에서 모듈 A 및 모듈 B 내에 위치된 잔기에 의존할 가능성이 있다. 그러나, 모듈 둘 다 결합을 없애기 위해 동시에 교환되어야 하는데, 이는 구조적으로 복잡한 에피토프를 시사한다.

[0628] 패턴 D:

[0629] 항체 1514/1515는 독특한 결합 프로파일을 나타내고, 결합을 위해 도메인 2 내 모듈 B에 위치된 아미노산에 대부분 의존할 가능성이 있다.

[0630]

기준 항체 72는 패턴 B에 따라 결합한다. 인간 OX40 리간드의 결합 패턴은 패턴 C와 유사하다.

표 5.2

도메인 맵핑 실험으로부터의 결과

OX40 항체 작제물	Antibody	1490/1135	1170/1171	1524/1525	1526/1527	1482/1483	1514/1515	1164/1135	1168/1135	1520/1135	1542/1135	1166/1167	다클론성 항체
1544		4.2	2.0	1.5	1.1	8.4	11.6	14.0	13.2	9.4	7.1	14.2	50.9
1545		28.9	1.0	0.9	1.3	44.4	1.2	37.3	46.6	32.6	40.2	1.0	58.6
1546		1.0	0.8	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.8	30.0
1547		1.1	2.3	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0	1.0	0.9	1.0	15.2	43.9
1548		1.1	20.3	15.4	12.7	1.1	17.2	1.0	1.0	1.1	1.2	15.8	31.7
1549		5.9	12.1	11.2	8.5	8.7	10.6	14.1	15.1	8.5	13.0	11.3	26.3
84		14.2	33.4	31.4	21.4	24.9	25.9	27.5	29.6	25.4	29.4	27.6	53.2
57		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0	0.9	1.0	1.1	1.0	1.2

[0631]

실시예 6 - 마카카 물라타(*Macaca mulatta*)와의 교차 반응성

[0632]

마카카 물라타로부터의 OX40의 세포외 부분을 hCD40의 막관통 및 세포내 부분에 융합시키고 나서, pcDNA3.0 내로 클로닝시켰다. 후속적으로 백터를 HEK 세포(macOX40-HEK) 내로 안정하게 형질감염시켰다.

[0633]

30분 동안 4°C에서 상업적 OX40 항체(huOX40, BD 바이오사이언시스)와 함께 인큐베이션시킴으로써 OX40의 발현을 확인하였고, 이어서, 30분 동안 4°C에서 a-huIgG-PE(잭슨 이뮤노리서치)로 검출하였다. 분석을 위해, 형질감염 세포를 시험 항체 및 대조군과 함께 30분 동안 4°C에서 인큐베이션시키고, 이어서, 30분 동안 4°C에서 a-huIgG-PE(잭슨 이뮤노리서치)로 검출하였다. FACS Verse(BD 바이오사이언시스)를 이용하는 유세포분석에 의해 세포를 분석하였다.

[0634]

이하의 표 6.1에 나타내는 바와 같이, 시험 항체는 인간 OX40에 대해 달성된 것과 비슷한 EC50 값으로 마카카 물라타 OX40에 결합하는데, 마카카 물라타는 독성 연구에서 사용하기에 적합하다는 것을 시사한다.

[0635]

마카카 물라타는 마카카 파시콜라리스(사이노몰거스 원숭이)와 유전적으로 매우 유사한데, 이는 사이노몰거스 원숭이가 또한 독성 연구에 적합한 종일 가능성을 매우 크게 만든다.

표 6.1

인간 및 원숭이 OX40에 대한 결합(95% 신뢰구간)

OX40 항체	마카카 물라타 OX40에 대한 결합, EC50(μg/ml)	인간 OX40에 대한 결합, EC50(μg/ml)
1166/1167	0.1595 내지 0.2425	0.1415 내지 0.2834
1168/1135	0.09054 내지 0.1939	0.06360 내지 0.1308
1482/1483	0.15665 내지 0.3120	0.08196 내지 0.1822
1520/1135	0.1632 내지 0.3587	0.09247 내지 0.2749
1526/1527	0.2921 내지 0.5888	0.1715 내지 0.4292
1542/1135	0.7221 내지 1.414	0.3223 내지 0.5525

[0636]

실시예 7 - 인간 T 세포 분석에서의 작용적 활성

[0637]

헬액은행(룬드 유니버시티 병원(Lund University Hospital))으로부터 얻은 백혈구 필터로부터의 PBMC로부터의

밀테니사(Miltenyi)로부터의 음성 T 세포 선택 키트에 의해 인간 T 세포를 얻었다. 96 웰 배양 플레이트(코닝 코스터(Corning Costar) U-형 플레이트(#3799)의 표면에 OX40 항체를 코팅하고 나서, $3\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 고정 항-CD3 항체(UCHT1)와 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 가용성 항-CD28 항체(CD28.2)의 조합물과 함께 배양시켰다. 항-CD3를 밤새 4°C 에서 사전 코팅시켰다. 다음 날에, PBS를 이용하여 1회 세척 후에, OX40 항체를 37°C 에서 1 내지 2시간 동안 코팅시켰다. 37°C , $5\% \text{CO}_2$ 에서 수분 챔버 내에서 72시간 인큐베이션시킨 후에, 상청액 중의 IL-2 수준을 측정하였다.

[0640] IL-2를 생성하기 위해 인간 T 세포를 자극하는 항체의 능력을 기준 항체 74와 비교하였고, 상대적 활성을 도 8에 나타낸다. 대다수의 항체는 기준 항체와 비슷한 T 세포 활성화 수준을 제공하였다. 다수의 항체는 더 고수준의 T 세포 활성화를 제공하였다.

이중특이성 분자

[0642] 다음의 예에서, 시험한 이중특이성 분자를 번호, 예를 들어, 1164/1141로 지칭한다. 이는 분자가 표 B 및 표 D에 나타낸 각각의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열을 포함한다는 것을 의미한다. 예를 들어, 1164/1141은 표 B에 나타낸 중쇄 VH 영역 서열 1164(서열번호 99), 및 표 D에 나타낸 이중특이성 쇄 번호 1141(서열번호 129)을 포함한다. 서열번호 135의 IgG1 중쇄 불변 영역 서열에 (단일 인접 폴리펩타이드 쇄의 부분으로서) 연결된 주어진 분자의 특정 VH 영역 서열이 전형적으로 제공된다. 이 서열은 표 B의 특정 VH 영역 서열의 C 말단 끝에 전형적으로 존재한다.

실시예 8 - 단일 표적에 대한 결합에 대한 예시적인 이중특이성 분자의 친화도

[0644] 표면 플라즈몬 공명에 의한 역학 상수의 측정

[0645] 통상적인 아민 결합을 이용하여 비아코어(상표명) 센서 칩(CM5)에 인간 OX40(R&D 시스템즈, #3358_OX)를 고정시켰다. 시험 항체 및 대조군(1/3 또는 1/2 100 내지 2nM로 연속 희석)을 $30\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 유속으로 HBS-P(GE, #BR-1003-68)에서 결합에 대해 분석하였다. 3분 동안 결합시키고, 20분 동안 해리시켰다. 50mM NaOH를 이용하여 30초 동안 2회 재생성을 수행하였다. 대세 기준을 이용하는 1:1 랑그비어 모델을 이용하여 역학 매개변수 및 친화도 상수를 계산하였다. 시험한 항체는 온 및 오프 속도를 달리하여 대응하는 단량체 항체보다 OX40에 대해 일반적으로 더 낮은 친화도를 지니지만, 여전히 나노몰 범위에 있었다(표 8.1).

표 8.1

BsAb	ka ($1/\text{Ms}$)	kd ($1/\text{s}$)	KD (nM)
1164/1141	8.87E+04	1.72E-04	1.94
1168/1141	2.84E+05	3.05E-04	1.07
1166/1261	7.04E+04	1.12E-04	1.59
1170/1263	5.18E+05	6.39E-04	1.23

[0646]

[0647] ELISA에 의한 측정

[0648] ELISA 플레이트를 각각 0.4 또는 $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 인간 CTLA-4(BMS, 오렌시아) 또는 인간 OX40(R&D 시스템즈, 3388-OX)로 코팅하였다. ELISA 플레이트를 PBST로 세척하고, 이어서, PBST+2% BSA를 이용하여 1시간 동안 실온에서 차단하고, 이어서, PBST로 다시 세척하였다. 이중특이성 분자를 연속 희석으로 플레이트에 첨가하고 나서, 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. ELISA 플레이트를 세척하고 나서, 1시간 동안 실온에서 염소 항 인간 카파 경쇄 HRP를 이용하여 결합을 검출하였다. 수퍼시그널 피코 루미네센트를 기질로서 사용하고, 플루오스타 옵티마를 이용하여 발광을 측정하였다.

[0649] 표적과 EC50 둘 다에 결합된 모든 시험한 이중특이성 분자는 단일특이성 항체로서 그들의 친화도에 기반하여 예상한 범위에 있다(도 9).

실시예 9 - 예시적인 이중특이성 분자의 표적 둘 다에 대한 이중 결합

[0651] 표면 플라즈몬 공명에 의한 측정

[0652] 통상적인 아민 결합을 이용하여 비아코어(상표명) 센서 칩(CM5)에 인간 OX40(R&D 시스템즈, #3358_OX)를 고정시켰다. 시험한 이중특이성 분자($0.5\mu\text{M}$ 또는 $0.25\mu\text{M}$) 및 대조군을 $30\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 유속으로 칩에 대해 실행하였다. 3분 동안 결합시키고, 3분 동안 해리시켰다. 이어서, CTLA4-Fc(BMS, 오렌시아)를 주입하고 나서, 3분 동안 결합

시키고, 3분 동안 해리시켰다. 대조군으로서 블랭크 PBS를 CTLA4 대신 주입하였다.

[0653] 모든 시험 이중특이성 분자는 도 10에 나타낸 바와 같이 동시에 표적 둘 다에 결합되었다.

ELISA에 의한 측정

[0655] ELISA 플레이트를 4°C에서 밤새 OX40-Fc(R&D 시스템즈, #3358_OX)(0.4 μ g/ml)로 코팅하였다. ELISA 플레이트를 PBST로 세척하고, 이어서, PBST+2% BSA로 1시간 동안 실온에서 차단시키고, 이어서, PBST로 다시 세척하였다. 이중특이성 분자를 플레이트에 희석하여 첨가하고 나서, 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. ELISA 플레이트를 세척하고 나서, 바이오틴일화된 CTLA-4(1 μ g/ml)를 첨가하고, 실온에서 플레이트 상에서 인큐베이션시켰다. 플레이트를 세척하고 나서, 결합의 검출을 위해 HRP-표지 스트렙타비딘을 사용하였다. 수퍼시그널 피코 륨미네센트를 기질로서 사용하고, 플루오스타 옵티마를 이용하여 발광을 측정하였다.

[0656] 모든 시험한 이중특이성 분자에 대해 표적 둘 다에 대한 결합을 확인하였다. 도 11에 나타낸 바와 같이, 시험한 이중특이성 분자는 0.015 μ g/ml에 대응하는 농도 0.1nM에서 검출할 수 있었다. 분석에서 상대적 값은 표면 플라즈몬 공명에 의해 측정한 친화도에 잘 대응한다.

실시예 10 - 인간 CD4 T 세포 분석에서 예시적인 이중특이성 분자의 작용제 활성

[0658] 혈액은행(룬드 유니버시티 병원)으로부터 얻은 백혈구 필터로부터의 PBMC의 음성 CD4 T 세포 선택(밀테니(Miltenyi), 인간 CD4+ T 세포 단리 키트 130-096-533)에 의해 인간 CD4 T 세포를 단리시켰다. CTLA-4(오렌시아, 2.5 μ g/ml) 및 항-CD3(UCHT-1, 1 μ g/ml)을 밤새 4°C에서 96-웰 배양 플레이트(비조직 배양 처리, U-형 96웰 플레이트(Nunc, VWR #738-0147))의 표면에 코팅하였다. CTLA-4와 CD3 둘 다로 코팅함으로써, 상기 분석은 CTLA-4가 과발현됨에 따른 종양 미세환경의 실험 모델을 제공한다. CTLA-4는 대조군으로서 일부 웰로부터 생략하였다.

[0659] 시험될 이중특이성 분자를 웰에 연속희석으로 가용성으로 첨가하였고, 동일한 물 농도에서 대조군과 비교하였다. 시험한 각각의 이중특이성 분자에 대해 두 상이한 대조군을 사용하였다. 제1 대조군은 1756/1757로 표기한 이중특이성 분자이다(1040 CTLA4 결합 영역에 융합된 아이소타입 대조군 항체 = CTLA4에 결합하지만, OX40에는 결합하지 않음). 두 번째 대조군은 이중특이성 1756/1757 대조군과 단일특이성 OX40 항체의 혼합물인데, 이는 시험한 이중특이성 분자에 대응한다. 37°C, 5% CO2에서 수분 챔버 내 72시간의 인큐ベ이션 후에, IL-2 수준을 상청액 중에서 측정하였다.

[0660] 도 12에 나타낸 바와 같이, CTLA-4로 코팅한 플레이트에서 배양시켰을 때, 인간 T 세포 활성화 증가(IL-2 생성 증가에 의해 측정)를 유도하는 이중특이성 분자의 용량-의존적 효과가 있다. 대조군은 그렇지 않다. 도 13은 CTLA-4의 존재 또는 부재 하에 이중특이성 항체 및 대조군(1.5nM)에 대해 고정된 농도에서 수행할 때 동일한 분석 결과를 나타낸다. CTLA-4의 부재하에서 T 세포 활성화의 증가는 보이지 않는다. 단일특이성 분자의 대응하는 조합물에 비해 각각의 이중특이성 분자에 의해 유도되는 IL-2 수준의 배수 변화를 표 10.1에 나타낸다. 각각의 이중특이성 분자 또는 대조군에 대해 생성된 IL-2(pg/ml)의 평균 값은 표 10.2에 나타낸다.

[0661] 이 분석은 CTLA-4이 과발현됨에 따른 종양 미세환경의 실험 모델을 나타내기 때문에, 결과는 시험된 이중특이성 분자가 이러한 미세환경에서 단일특이성 항체보다 더 큰 효과를 가질 것으로 예상될 수 있다는 것을 시사한다.

표 10.1

1.5nM에서 단일특이성 분자의 대응하는 조합물에 비교하여
이중특이성 분자에 의해 유도된 IL-2 수준의 배수 변화

1164/1141	1166/1261	1168/1141	1170/1141	1514/1581	1520/1141
7.6	7.8	7.2	4.7	5.5	1.7

[0662]

표 10.2.

1.5nM 이중특이성 항체 또는 대조군에서 유도된 평균 IL-2 수준 (pg/ml)

	1164/1141	1166/1261	1164/1135+ 1756/1757	1166/1167+ 1756/1757	1168/1141	1170/1141	1168/1135+ 1756/1757	1170/1171+ 1756/1757	1514/1581	1520/1141
평균	5024	4292	665	550	2681	2575	371	552	5109	1303
SD	1058	1333	273	456	954	992	162	285	2600	812
	1514/1515+ 1756/1757	1520/1135+ 1756/1757	1526/1585	1542/1141	1526/1527+ 1756/1757	1542/1543+ 1756/1757	1756/1757			
평균	927	774	3200	2671	746	697	1047			
SD	653	451	1350	1016	346	418	601			

[0663]

실시예 11 - 예시적인 이중특이성 분자의 안정성

[0664]

시차 주사 열량측정법(DSF)에 의해 항체의 융점을 분석하였다. PBS 중의 항체 샘플을 1000-배로 희석시킨 시프로 오렌지(SYPRO Orange)와 혼합하였다. 실시간 PCR 기기에서 25 내지 95°C 사이의 열 주사를 수행하였고, 각각의 정도를 측정하였다. 비교를 위해 기준 항체 250/251를 사용하고 나서, 기준에 대한 융점 T_m (ΔT_m)의 차이를 결정하였다. 기준에 비해 1.1°C 더 큰 T_m 차이를 통계적으로 유의한 것으로 고려한다. 표 11.1에 나타낸 바와 같이, 모든 시험한 이중특이성 분자는 65°C 이상의 값으로 양호한 열안정성을 나타내었다.

표 11.1

항체	융점 (°C)
1168/1141	65.6
1164/1141	65.5
1160/1259	68.5
1166/1261	67.8
1170/1263	66.4
1514/1581	65.3
1520/1141	65.0
1526/1585	67.6
1542/1141	66.3

[0665]

실시예 12 - CD137 항체의 특성규명

[0666]

예시적인 CD137 항체(1204/1205로서 지칭)의 일반적인 화학적 특성을 일상적인 분석에 의해 결정하고, 표 12.1에 나타낸다.

표 12.1

항체	pI	순천하(산화 조건에서)		소수성(GRAVY 지수) 전체 mAb	소수성(GRAVY 지수) IMGT 에 따른 CDR	용점(C°) Tm1
		pH 5.5	pH 7.4			
1204/1205	9.05	32.9	7.4	-0.401	-0.465	68

[0669]

표면 플라즈몬 공명에 의한 역학 상수의 측정

[0670]

통상적인 아민 결합을 이용하여 인간 CD137(R&D 시스템즈)을 비아코어(상표명) 센서 칩(CM5)에 고정시켰다. 30 $\mu\text{l}/\text{ml}$ 의 유속으로 HBS-P(GE, #BR-1003-68)에서 결합을 위해 시험한 항체 및 대조군(1/2 10-0.63nM로 연속희석)을 분석하였다. 5분 동안 결합시키고, 15분 동안 해리시켰다. 10mM 글리신, pH 1.7을 이용하여 30초 동안 2회 재생성을 수행하였다. 1:1 량그루이 모델을 이용하여 역학 매개변수 및 친화도 상수를 계산하였다. 대표적인 예로서, 1204/1205 항-CD137 항체는 낮은 나노몰 범위에서 친화도를 가진다. 표 12.2 참조.

표 12.2

해리 상수 K_D (M)	1.1E-09
결합 속도 상수 k_a (1/Ms)	2.5E+05
해리 속도 상수 k_d (1/s)	2.8E-04

[0671]

인간 CD137에 대한 결합의 ELISA에 의한 측정

[0672]

재조합 인간 CD137에 대한 CD137 mAb의 결합을 샌드위치 ELISA에 의해 결정하였다. 간략하게, ELISA 플레이트(그라이너 # 655074)를 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서, 또는 대안적으로 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 4°C에서 밤새 또는 37°C에서 1시간 동안 재조합 인간 CD137-Fc(R&D # 838-4B)로 코팅하였다. 플레이트를 PBS + 0.05% 트윈 20(PBST)으로 3회 세척하고 나서, PBST+1% BSA로 차단하였다. 시험할 CD137 항체를 단계 회석 시리즈에 첨가하고 나서, PBST를 이용하는 세척 전에 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. HRP-접합된 염소-항-인간 카파 경쇄(AbD 세로텍 # STAR127P)를 이용하여 결합을 검출하고 나서, 플루오스타 옵티마(Fluostar Optima)를 이용하여 측정한 수퍼시그널 피코 ELISA 피코 화학발광 기질(피어스(Pierce) # 37069)을 이용하여 연구하였다. 다양한 mAb의 EC50 값을 2 내지 6회 별개의 실험에서 결정하였다.

[0673]

대표적인 예로서, 1204/1205 항-CD137 항체는 이 방법에 의해 평가할 때 대략 0.3nM의 EC50 값을 가진다. 표 12.3 참조.

표 12.3.

클론명	평균 (nM)	SD	n
1204/1205	0.34	0.058	6

n = 별개의 실험 및 동일한 실험에서의 상이한 항체 배취를 포함하는,
데이터 포인트의 수

[0674]

CHO 세포 상에서 과발현된 인간 또는 사이노몰거스 CD137에 대한 결합의 측정

[0675]

인간 또는 사이노몰거스 CD137의 세포외 부분을 hCD40의 막관통 및 세포내 부분에 융합하고 나서, pcDNA3.0 내로 클로닝하였다. 후속적으로 백터를 CHO 세포 내로 안정하게 형질감염시켰다. 4°C에서 30분 동안 상업적 CD137 항체(huCD137-PE, BD 바이오사이언시스 # 555956)와 함께 인큐베이션함으로써 CD137의 발현을 확인하였다.

[0676]

분석을 위해, 형질감염 세포를 적어도 1시간 동안 4°C에서 시험 항체 및 대조군과 함께 인큐베이션시켜 결합을 포획시켰다. 항체 내재화를 최소화하기 위해, 0.05% 아자이드나트륨을 인큐베이션 완충제 중에서 사용하고 나서, 얼음 상에서 모든 작업을 수행하였다. 항-hIgG-PE 항체(109-115-098, 잭슨 이뮤노리서치 래버리토리즈)를 이용하여 검출을 달성하고 나서, 30분 동안 4°C에서 인큐베이션시켰다. 염색 직후에, 파라폼알데하이드 용액(10x 농도 BD 셀фикс(BD CellFIX), BD 바이오사이언시스 # 340181)를 이용하여 세포를 고정시켰다. FACSVerse(BD 바이오사이언시스)를 이용하는 유세포분석에 의해 세포를 분석하였다. 각각의 샘플에 대한 중위 형광 강도(median fluorescence intensity: MFI)를 결정하고 나서, 그래프 패드 프리즘을 이용하여 용량 반응 데이터를 분석하였다. 그래프 패드 MFI에서 MFI 데이터를 적합화시키기 위해, 데이터를 각각의 항체에 대해 정

규화시켰고, 여기서 0%는 가장 낮은 값으로서 나타내고, 100%는 각각의 항체에 대한 용량 적정에서 가장 높은 값이었다.

[0680] 인간 및 사이노몰거스 원숭이 CD137에 대한 결합을 예시적인 항체 1204/1205에 대한 2회의 별개의 실험에서 확인하였다. 사이노몰거스 원숭이와 인간 CD137 사이에 결합 친화도는 매우 유사하였다(도 14, 표 12.4)

표 12.4

정규화된 데이터의 2회 실험의 평균으로서 결정한 EC50에 대한 95% 신뢰구간.

클론 명칭	인간 CD137에 대한 결합, EC50 ($\mu\text{g/mL}$)	사이노 CD137에 대한 결합, EC50 ($\mu\text{g/mL}$)
1204/1205	0.23 - 0.39	0.11 - 0.16

[0681]

[0682] 인간 T 세포 분석에서 CD137 항체의 작용제 활성

[0683] 1차 인간 CD8⁺ T 세포에 기반한 T 세포 분석에서 CD137 mAb의 작용제 활성을 평가하였다. 간략하게, 제조업자의 프로토콜에 따라 CD8⁺ T 세포를 MACS 분리(밀테니 # 130-096-495)에 의해 인간 말초 혈액 단핵 세포로부터 분리시켰다. 96-웰 마이크로타이터 플레이트(눈크씨모 싸이언티픽(NuncThermo Scientific) #268200)에서 세포를 인큐베이션시키고 나서, 항-CD3 mAb(클론 OKT3, 애피메트릭스 이바이오사이언스(Affymetrix eBioscience) # 16-0037)로 사전 코팅하고, 시험할 CD137 mAb의 농도를 적정하였다. 72 또는 96시간 인큐베이션 후에, 배양 배지를 채취하고 나서, IFN-γ 수준을 ELISA(BD #555142)에 의해 결정하였다. 각각의 클론을 다수 공여자에서 분석하고 나서, 기준 CD137 mAb 111/112 및 아이소타입 대조군(62/63)과 비교하였다.

[0684]

[0684] 큰 공여자 내 분산에 기인하여, 자극 지수(SI, 아이소타입 대조군에 비교한 mAb에 의한 유도 배수)를 각각의 샘플에 대해 결정하고 나서, 기준 항체 111/112에 대한 자극 지수에 대해 정규화시켰다.

[0685]

[0685] 예시적인 1204/1205 항체는 기준 항체 111/112와 비교하여 비슷한 또는 더 양호한 T 세포의 활성화를 유도하였다. 8명의 공여자의 평균 정규화된 SI ± SD를 도 15에 제시한다. 표 12.5는 CD137 자극에 의해 유도한 절대 IFN-γ 수준을 나타낸다.

표 12.5

다양한 mAb에 의해 유도된 IFN-γ 생성 수준

Ab 클론명	평균 IFN-γ (pg/ml)	Min IFN-γ (pg/ml)	Max IFN-γ (pg/ml)	반복 한 실험의 수
62/63	2502	337	8526	13
111/112	42268	2256	136802	12
1204/1205	64430	13062	153136	8

[0686]

[0687] 서열 정보

[0688] VH CDR1 = GFTFSSYY(서열번호 207)

[0689] VH CDR2 = IGSYYGYT(서열번호 212)

[0690] VH CDR3 = ARAYYDYNYYYAYFDY(서열번호 217)

[0691] VL CDR1 = QSISSY(서열번호 80)

[0692] VL CDR 2 = AAS(서열번호 81)

[0693]

VL CDR3 = QQSVPHYPFT(서열번호 222)

표 12.6

1205, 경쇄 VL aa 서열	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPKL LIYAASSLQSGVPSRFSGSQGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQSV PHYPFTFGQGTKEIK (서열번호 177)
1205, 경쇄 VL nt 서열	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGAGCGCATCTG TAGGAGACCGCGTCACCATCACTGCCGGCAAGTCAGAGCAT TAGCAGCTATTAAATTGGTATCAGCAGAACAGGGAAAGCCC CTAAGCTCCTGATCTATGCTGCATCCAGTTGCAAAGTGGGTC CCATCACGTTCAGTGGCAGTGGAAAGCGGGACAGATTCACTC TCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTGCAAATTACT GTCAACAGTCTGTTCCGCACTACCCGTTCACTTTGGCCAGGG GACCAAGCTGGAGATCAA (서열번호 178)
1204, 중쇄 VH aa 서열	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYYMGWVRQAPGKG LEWVSGIGSYYGYTGYADSVKGRFTISRDNSKNLQLQMNSLRAE DTAVYYCARAYDYNYYYAYFDYWQGTLVTVSS (서열번호 179)
1204, 중쇄 VH nt 서열	GAGGTGCAGCTGTTGGAGAGCGGGGGAGGCTTGGTACAGCCT GGGGGGTCCCTGCGCCTCTCCTGTGCAGCCAGCGGGATTCAACC TTTCTTCTTACTACATGGGTTGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAA GGGGCTGGAGTGGGTCTCAGGTATTGGTTCTTACTACGGTTAC ACAGGTTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCTCCC GTGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTG CGTGCCGAGGACACGGCTGTATATTGTGCGCGCGCTTACT ACGACTACAACACTACTACGCTTACTTTGACTATTGGGCCAG GGAACCCCTGGTCACCGTCTCCTCA (서열번호 180)

[0694]

실시예 13 - CD137 항체의 도메인 맵핑

[0695]

CD137의 세포외 부분은 4개의 도메인으로 이루어지는데, 이는 추가로 2개의 모듈로 다시 분할될 수 있다. 표준 실험 기법을 이용하여 CD137 인간/마우스 키메라의 유전자를 합성하였다. 인간 CD137의 도메인 또는 모듈을 대응하는 마우스 CD137로 교환함으로써 상이한 키메라를 설계하였다. 인간 및 마우스 서열의 평가 및 인간 CD137의 3D 연구에 기반하여 키메라를 설계하였다. 합성 유전자에 프로젝트 특정 ID 번호를 부여하였다(표 13.1 참조). 작제물을 pcDNA3.1 벡터(인비트로젠) 내로 클로닝시키고 나서, 일시적으로 프리스타일 293-F 세포(인비트로젠) 내로 형질감염시켰다. 형질감염 세포를 CD137 항체 및 대조군 항체와 함께 인큐베이션시킨 후에, 검출을 위해 항-인간 IgG-PE(잭슨 이뮤노리서치)와 함께 인큐베이션시키고, FACS Verse(BD 바이오사이언시스)를 이용하여 분석하였다. 상이한 키메라 작제물에 대한 결합을 아이소타입 대조군의 결합에 비교하여 상대적 MFI로서 계산한 다음, 전장 인간 CD137 작제물에 대해 정규화시켜 개개 항체 사이의 친화도 차이 효과를 최소화하였다.

[0697]

상이한 작제물에 대한 예시적인 항체 1204/1205의 결합 결과를 표 13.2에 나타낸다. 이를 결과에 의해 나타낸 바와 같이, 항체 1204/1205는 주로 도메인 2에 의존한다. 추가로, 작제물 1555에 대해 일부 결합 손실이 또한 보이는데, 마찬가지로 도메인 1의 영향을 나타낸다.

표 13.1.

도메인 맵핑에 대해 사용한 CD137 작제물

서열	설명
1550 (1407)	마우스 도메인 1, 2A 및 2B를 지니는 인간 CD137(aa 24-86)
1551 (1408)	마우스 도메인 2A, 2B 및 3A를 지니는 인간 CD137(aa 47-96)
1552 (1409)	마우스 도메인 2B, 3A 및 3B를 지니는 인간 CD137 (aa 64-118)
1553 (1410)	마우스 도메인 3A, 3B 및 4A를 지니는 인간 CD137(aa 87-133)
1554 (1411)	마우스 도메인 3B, 4A 및 4B를 지니는 인간 CD137 (aa 97-159)
1555 (1412)	마우스 도메인 1 및 4B 및 알려지지 않은 기능의 영역을 지니는 인간 CD137 (aa 24-46 및 aa 139-186)
1030	전장 인간 CD137

[0698]

[0699] (여기서, 팔호의 번호는 동일한 CD137 작제물을 식별하지만, 도면에서 사용한 대안의 클론 넘버링 시스템에 대응한다)

[0700]

표 13.2

[0701] 유세포 분석에 의해 측정된 상이한 CD137 작제물에 대한 항체 1204/1205의 결합. 전장 인간 CD137에 대해 정규화한 mAb 샘플/아이소타입 대조군에 대한 중위 형광 강도(MFI).

표 13.2

유세포 분석에 의해 측정된 상이한 CD137 작제물에 대한 항체 1204/1205의 결합. 전장 인간 CD137에 대해 정규화한 mAb 샘플/아이소타입 대조군에 대한 중위 형광 강도(MFI).

서열	상대적 결합
1550	0.07
1551	0.11
1552	0.13
1553	0.85
1554	0.73
1555	0.28
1030	1

[0702]

이중특이성 항체

실시예 14 - 시험관내 예시적인 이중특이성 분자의 작용제 활성

[0705]

음성 선택(Pan T 세포 단리 키트, 인간, 밀테니, 130-096-535)를 이용하여 피콜(Ficoll) 분리 PBMC(룬드 유니버시티 병원의 혈액은행으로부터의 백혈구 필터로부터 얻음)로부터 인간 CD3 양성 T 세포를 정제하였다. PBS 중에서 희석시킨 50 μ l의 항-CD3(클론: UCHT-1, BD, 농도: 1 μ g/ml)을 밤새 4°C에서 비조직 배양 처리한, U-형 96-웰 플레이트(Nunc, VWR #738-0147)의 표면에 코팅시켰다. 이중특이성 항-OX40/항-CD137 폴리펩타이드를 웰에 연속희석으로 첨가하고 나서, 대조군과 동일한 몰 농도에서 비교하였다. 시험한 각각의 이중특이성 분자에 대해 두 상이한 대조군을 사용하였다. 첫 번째 대조군은 GFP에 특이적인 아이소타입 대조군 항체이다(1188-1187로 표기). 두 번째 대조군은 시험한 이중특이성에 대응하는 단일특이성 OX40 및 CD137 항체의 혼합물이다. 37°C, 5%

CO₂에서 수분 챔버에서 72시간의 인큐베이션 후에, 상청액에서 IL-2 수준을 측정하였다.

[0706] 도 16A 내지 H에 나타낸 바와 같이, 항-CD3로 코팅한 플레이트에서 배양시켰을 때, 인간 T 세포 활성화의 증가 (IL-2 생성의 증가에 의해 측정)를 유도하는 이중특이성 분자의 용량-의존적 효과가 있다. 대조군은 그렇지 않다. 도 17은 예시적인 이중특이성 항체 1164/1135-1204/1205 및 대조군에 대해 고정된 농도(1nM)에서 수행될 때 유사한 분석 결과를 나타낸다. 이 분석에서, 피콜 밀도 분리를 이용하여 (룬드 유니버시티 병원의) 혈액은행으로부터 얻은 백혈구 농도로부터 인간 PBMC를 얻었다. PBS 중에서 희석시킨 50μl의 항-CD3(클론: UCHT-1, BD, 농도: 1μg/ml)를 4°C에서 밤새 비-조직 배양 처리된, U-형 96-웰 플레이트(눈크, VWR #738-0147)의 표면에 코팅하였다. 이중특이성 항-OX40/항-CD137 항체 1164/1135-1204/1205를 PBMC와 함께 웰에 가용성으로 첨가하고 나서, 아이소타입 대조군 1188-1187 또는 그의 대응하는 단일특이성 OX40 및 CD137 항체와 동일한 물 농도(1nM)에서 비교하였다. 37°C, 5% CO₂에서 수분 챔버 내에서 48시간의 인큐베이션 후에, 상청액 중에서 IL-2 수준을 측정하였다. 이중특이성 항체는 상이한 세포의 혼합된 집단(PBMC)에서 조차 대조군보다 상당히 더 높은 T 세포 활성화를 유도한다.

[0707] 이 분석은 OX40과 CD137이 둘 다 상대적으로 과발현되는 종양 미세환경의 실험 모델을 나타내기 때문에, 결과는 시험한 이중특이성 분자가 이러한 미세환경에서 단일특이성 항체보다 더 큰 효과를 가질 것으로 예상될 수 있다 는 것을 시사한다.

실시예 15 - 예시적인 이중특이성 분자의 표적 둘 다에 대한 이중 결합

ELISA에 의한 측정

[0710] OX40-Fc(R&D 시스템즈, #3388_OX)(0.4μg/ml, 50μl/웰)로 밤새 4°C에서 ELISA 플레이트를 코팅하였다. ELISA 플레이트를 PBST로 세척하고, 이어서, PBST+2% BSA로 1시간 동안 실온에서 차단시켰다. PBST로 3회 세척한 후에, 이중특이성 항체 및 대조군을 50nM 내지 6.4 x 10⁻⁴nM의 상이한 농도에서 첨가하고 나서, 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. ELISA 플레이트를 세척하고 나서, 바이오틴일화된 CD137-Fc를 (1μg/ml에서) 첨가하고, 플레이트 상에서 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 플레이트를 PBST로 3회 세척하고 나서, 결합의 검출을 위해 HRP-표지된 스트렙타비딘을 사용하였다(실온에서 1시간 인큐베이션). 플레이트를 PBST로 6회 세척하고, 이어서, 수퍼시그널 피코 루미네센트를 기질로서 사용하고, 제조업자의 프로토콜에 따라 플루오스타 옵티마를 이용하여 발광을 측정하였다.

[0711] 도 18에 나타낸 바와 같이 모든 시험한 이중특이성 분자에 대해 표적 둘 다에 대한 결합을 확인하였다. 각각의 이중특이성 항체는 8 x 10⁻²nM에서 검출 가능하였다. 또한 이중특이성 항체는 분석을 뒤집었을 때(CD137 코팅 및 검출을 위해 가용성 바이오틴일화된 OX40를 이용) 표적 둘 다에 결합한다(데이터 미제시).

실시예 16 - 앤리게이터 골드(*Alligator GOLD*)(상표명) 라이브러리로부터 CD137 항체의 선별 및 시험한 클론의 검토

[0713] 인간 항체(scFv) 라이브러리인 앤리게이터 골드를 이용하여 파지 디스플레이 선택을 수행하였다. 비드 또는 판표면 상에 코팅되거나 또는 CD137-형질감염 세포 표면 상에 발현된 가용성 형태로 재조합 CD137에 대한 선택을 수행하였다. CTLA4-Fc 및 무관한 His-태그 단백질을 선택에서 과량으로 포함한 비표적으로서 사용하였다. 각각의 선택 라운드 전에, 비특이적 결합제를 제거하기 위해 바이오틴일화된 베리글로빈(beriglobin), CTLA4-Fc, 비드 또는 CD137 음성 세포에 대해 파지 저장액을 사전선택하였다.

[0714] 파지 선택으로부터 특정 결합제를 확인하기 위해, 재조합 표적(CD137-Fc) 또는 비표적(CTLA4-Fc) 단백질 중 하나로 코팅한 ELISA를 이용하는 파지 형식에서 대략 4500개의 개개 클론을 선별한 다음, 일부 클론에 대한 가용성 scFv로서 확인하였다. CD137에 대한 특정 결합을 나타내는 클론을 서열분석하고 나서, 추가 특성규명을 위해 IgG로서 독특하나 클론을 생성하였다.

[0715] 작용제 특성을 갖는 5가지 인간 CD137 항체를 특성규명하고 나서, 본 명세서에 기재하였다(표 16.1에서 요약). 시험 항체는 기능성 T 세포 분석에서 임상적으로 활성인 기준 항체와 비슷하다. 에피토프 도메인 맵핑 연구에 기반하여 4가지 상이한 분류의 항체를 동정하였다. CD137 차단과 비차단 항체를 둘 다 얻었다.

표 16.1

CD137 항체의 요약

항체	T 세포 작용제	사이노몰거스 CD137 교차 반응	표적 특이성	EC50 세포 결합(CHO 형질경엽체) ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	k_a ($1/\text{s}$)	k_d (M)	CD137L 차단	도메인 결합
1204/ 1205	있음	있음	OK	0.23 - 0.39	3E+05	3E-04	1E-09	있음 2
1214/ 1215	있음	있음	OK	0.89 - 1.28	5E+04	3E-05	7E-10	없음 ND
1618/ 1619	있음	있음	OK	0.11 - 0.19	1E+06	1E-04	1E-10	없음 1
1620/ 1621	있음	있음	OK	0.20 - 0.42	4E+05	5E-04	1E-09	있음 3B- 4A
1626/ 1627	있음	있음	OK	0.38 - 0.67	2E+05	3E-04	1E-09	없음 ND

[0716]

실시례 17 - CD137 항체의 특성규명 - ELISA에 의해 측정한 인간 CD137에 대한 결합

[0718]

재조합 인간 CD137에 대한 CD137 항체의 결합을 샌드위치 ELISA에 의해 결정하였다. 간략하게, 재조합 인간 CD137-Fc(R&D # 838-4B)로 코팅한 ELISA 플레이트(그라이너 # 655074)를 연구할 다양한 CD137 항체의 연속 회석물과 함께 인큐베이션 시켰다. HRP-접합된 염소-항-인간 카파 경쇄(AbD 세로텍(AbD Serotec) # STAR127P)를 이용하여 CD137 항체를 검출하고 나서, 수퍼시그널 ELISA 피코 화학발광 기질(피어스 # 37069)을 이용하여 연구하였다. 다회의 별개의 실험에서 다양한 항체의 EC50 값을 결정하였다.

[0719]

1811/1812 및 1813/1814로 표기하는 두 상이한 기준 항체를 이 연구에서 사용하였다.

[0720]

기준 항체 1811/1812은 CD137의 도메인 1에 결합하고, 리간드를 차단하지 않는 CD137 작용제이다. 이는 고친화도 및 특이성으로 그의 표적에 결합한다. 이 서열을 갖는 항체를 임상 시험에서 평가하였다.

[0721]

기준 항체 1813/1814는 CD137 상의 도메인 3 내지 4에 결합하는 항체이다. 이는 고친화도 및 특이성으로 그의 표적에 결합한다. 이 서열을 갖는 항체를 임상 시험에서 평가하였다.

[0722]

대다수의 항체는 기준 항체와 유사한 범위, 즉, 하위 nM 또는 낮은 nM에서의 EC50 값을 나타낸다. 데이터를 표 17.1에 요약한다.

표 17.1

인간 CD137에 대한 ELISA에 의해 결정한

알리게이터-골드-유래 CD137 항체의 EC50 값(nM).

클론 명칭	평균	SD	n
1811/1812	0.75	0.137	8
1813/1814	0.33	0.069	5
1204/1205	0.34	0.058	6
1214/1215	0.98	0.124	6
1618/1619	0.35	0.018	4
1620/1621	0.38	0.137	2
1626/1627	0.22	0.057	2

n = 데이터 지점의 수.

[0723]

실시례 18 - CD137 항체의 특성규명 - 유세포 분석에 의해 측정한 인간 및 사이노몰거스 CD137에 대한 결합

[0725] 인간 CD137, 사이노몰거스 CD137 또는 빈 벡터로 형질감염시킨 CHO 세포의 유세포분석을 이용하여 인간 및 사이오몰거스(마카카 파시큘라리스) CD137에 대한 결합 및 EC50을 결정하였다. 인간 또는 사이노몰거스 CD137의 세포외 부분을 인간 CD40의 막관통 및 세포내 부분에 융합시키고 나서, pcDNA3.0 내로 클로닝시켰다. 후속적으로 벡터를 CHO 세포 내로 안정하게 형질감염시켰다. 30분 동안 4°C에서 CD137 항체(인간 CD137-PE, BD 바이오사이언시스 # 555956)를 이용하는 유세포분석에 의해 CD137의 발현을 확인하였다. CD137-형질감염 및 빈 벡터-형질감염 세포를 적어도 1시간 동안 4°C에서 CD137 항체와 함께 인큐베이션시켜 결합을 포화시켰다. 항체 내재화를 최소화하기 위해, 인큐베이션 완충제 중에 0.05% 아자이드 나트륨을 사용하고 나서, 모든 작업을 얼음 상에서 수행하였다. PE-접합된 항-hIgG 항체(109-115-098, 잭슨 이뮤노리서치 래버토리즈)를 이용하여 CD137 항체를 검출하고 나서, 30분 동안 4°C에서 인큐베이션시켰다. 염색 직후에, 파라폼알데하이드 용액(10x 농도 BD 셀픽스, BD 바이오사이언시스 # 340181)을 이용하여 세포를 고정시켰다. FACSVerse(BD 바이오사이언시스)를 이용하는 유세포분석에 의해 세포를 분석하였다. 각각의 샘플에 대한 중위 형광 강도(MFI)를 결정하고 나서, 그래프 패드 프리즘을 이용하여 용량 반응 데이터를 분석하였다.

[0726] MFI 데이터를 각각의 항체에 대해 정규화시켰고, 여기서 0%는 가장 낮은 값으로서 나타내고, 100%는 각각의 항체에 대한 용량 적정에서 가장 높은 값이었다. 두 실험으로부터의 데이터에 기반하여 그래프-패드 프리즘을 이용하여 EC50 및 95% 신뢰구간을 계산하였다(비선형 회귀(곡선 적합화), 제약을 0 내지 100으로 설정).

[0727] 두 별개의 실험에서 CHO-huCD137, CHO-cyCD137 및 CHO-pcDNA에 대한 결합을 확인하였다(도 20). 모든 CD137 항체는 두 기준 항체 1181/1812 및 1813/1814와 비슷한 EC50을 지니는 인간 CD137에 상대적으로 잘 결합한다. 모두에 결합하지 않는 기준 항체 1811/1812 및 약하게 결합하고 완전한 포화에 도달되지 않는 클론 1620/1621을 제외하고, 시험한 모든 CD137 항체는 사이노몰거스 CD137에 잘 결합한다. 결합 패턴은 또한 자극된 1차 사이노몰거스 PBL 상에서 확인되었다.

[0728] 분석간 및 분석내 분산을 포함시키기 위해 EC50 결정을 시험한 각각의 CD137 항체에 대해 95% 신뢰구간으로서 제시한다(표 18.1)

표 18.1

정규화된 데이터의 2회 실험으로부터의 평균으로서 결정한 각각의 CD137 항체의 EC50에 대한 95% 신뢰구간.

클론 명칭	인간 CD137에 대한 결합, EC50 ($\mu\text{g/mL}$)	사이노 CD137에 대한 결합, EC50 ($\mu\text{g/mL}$)	비, 사이노:인간
1204/1205	0.23 - 0.39	0.11 - 0.16	0.43
1214/1215	0.89 - 1.28	0.41 - 0.80	0.54
1618/1619	0.11 - 0.19	0.086 - 0.15	0.77
1620/1621	0.20 - 0.42	3 - 5*	14*
1626/1627	0.38 - 0.67	0.16 - 0.27	0.41

[0729]

실시예 19 - CD137 항체의 특성규명- 비아코어에 의해 측정한 친화도

[0730] 통상적인 아민 결합을 이용하여 인간 CD137(R&D 시스템즈)을 비아코어(상표명) 센서칩(CM5)에 고정시켰다. 시험 항체 및 대조군(1/2 10 내지 0.63nM로 연속 희석시킴)을 $30\mu\text{l}/\text{mL}$ 의 유속에서 HBS-P(GE, #BR-1003-68)에서 결합에 대해 분석하였다. 5분 동안 결합시키고, 15분 동안 해리시켰다. 30초 동안 10mM 글리신 pH 1.7를 이용하여 2회 재생성을 수행하였다. 1:1 량그루어 모델을 이용하여 역학 매개변수 및 친화도 상수를 계산하였다.

[0731]

결과 및 결론

[0732] 침 표면 상에서 코팅한 CD137 위로 유동시킨 2가 항체를 이용하여 측정한 항체의 친화도는 나노몰 내지 서브나노몰 범위였다(표 19.1).

표 19.1

표면 플라즈몬 공명에 의해 측정한 역학적 매개변수

샘플	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
1204	2.54E+05	2.80E-04	1.10E-09
1214	4.54E+04	3.17E-05	6.99E-10
1618	1.02E+06	1.10E-04	1.07E-10
1620	3.92E+05	5.19E-04	1.32E-09
1626	2.32E+05	2.94E-04	1.27E-09

[0734]

실시예 20 - CD137 항체의 특성규명 - CD137 항체의 표적 특이성

비표적 단백질과 교차반응하는 잠재적 성향을 검출하기 위해 다른 TNFR 슈퍼페밀리 구성원(CD40 및 OX40)에 대한 CD137 항체의 비특이적 결합의 결정을 평가하였다.

[0737]

PBS 중에서 1시간 동안 37°C에서 또는 밤새 4°C에서 최종 농도 0.5 μ g/ml로 희석시킨 재조합 인간 OX40(R&D # 1493-CD), CD40-Fc(안셀 # 504-820) 또는 CD137(R&D # 838-4B)의 50 μ l/웰로 ELISA 플레이트(그라이너 # 655074)를 코팅시켰다. PBS+0.05% TWEEN20(PBST)로 플레이트를 세척하고 나서, PBST+1% 소 혈청 알부민(BSA)으로 차단시켰다. PBST+1% BSA 중에서 10 내지 0.01 μ g/ml로 연속적 1/10 희석으로서 항체 샘플을 제조하고 나서, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션시킨 다음, 겨자무파산화효소-접합된 항-인간 카파 경쇄 항체(AbD 세로텍 # STAR127P)를 이용하여 검출하고, 수퍼시그널 ELISA 피코 화학발광 기질(피어스 씨모사이언티픽 #37069)을 이용하여 연구하였다.

[0738]

결과 및 결론표 20.1

OX40 및 CD40에 대한 CD137 항체 비특이적 결합의 요약

pAb	OX40 및 CD40에 대한 결합
1204/1205	없음
1214/1215	없음
1618/1619	없음
1620/1621	없음
1626/1627	없음

[0739]

CD137 항체의 OX40 또는 CD40에 대한 결합은 검출되지 않았다. 항체의 개요를 분석하고, 두 실험으로부터의 결과를 표 20.1에 나타낸다.

[0740]

추가로, 다수 혈액 공여자로부터의 1차 PBL에 대한 결합을 시험하였다. PBL에 대한 결합은 기준 항체와 유사하였다. 비표적 단백질에 대한 적절한 비특이적 결합은 검출되지 않았다.

[0742]

실시예 21 - CD137 항체의 특성규명 - CD137에 대한 항체 결합의 도메인 맵핑

[0743]

형질감염 세포 표면 상에서 발현된 인간/마우스 CD137 키메라 패널에 결합하는 각각의 항체의 능력을 유세포분석에 의해 분석하였다.

[0744]

인간 CD137의 도메인 또는 모듈을 대응하는 마우스 도메인으로 교환함으로써 키메라를 설계하였다(도 21). CD137 인간/마우스 키메라의 유전자를 합성하였고(젠크립트(GenScript)), 작제물을 pcDNA3.1 벡터(인비트로젠) 내로 클로닝하고 나서, 프리스타일 293-F 세포(인비트로젠) 내로 일시적으로 형질감염시켰다. 형질감염 세포를 CD137 항체 및 대조군 항체와 함께 인큐ベ이션시킨 다음, 검출 동안 항-인간 IgG-PE(잭슨 이뮤노리서치)와 함께 인큐베이션시키고, FACS Verse(BD 바이오사이언시스)로 분석하였다. 상이한 키메라 작제물에 대한 결합을 아이소타입 대조군의 결합에 비교하여 상대적 MFI로서 계산한 다음, 전장 인간 CD137 작제물에 정규화시켜 개개 항체 사이의 친화도 차이의 효과를 최소화하였다.

[0745]

결과 및 결론

- [0746] 이하에 기재하는 바와 같이 6가지 결합 패턴을 관찰할 수 있다. 데이터를 표 21.1에 요약한다.
- [0747] 패턴 A
- [0748] 항체 1618/1619은 도메인 1에 의존한다.
- [0749] 패턴 B
- [0750] 항체 1204/1205는 주로 도메인 2에 의존한다. 추가로, 작제물 1555에 대해 결합의 일부 상실이 또한 보이는데, 이는 도메인 1의 영향도 나타낸다.
- [0751] 패턴 C
- [0752] 항체 1620/1621은 도메인 3B 내지 4A에 주로 의존하는 것으로 나타난다. 그러나, 결합의 상실은 모든 작제물에 대해 보이는데, 이는 이 패턴을 패턴 D와 상당히 유사하게 만든다.
- [0753] 패턴 D
- [0754] 항체 1214/1215 및 1626/1627에 대해, 특정 CD137 도메인에 대한 분명한 의존도는 입증할 수 없었다. 대신에, 이들 항체는 모든 키메라에 대한 광대한 결합 상실을 나타내었다.

표 21.1

CD137 항체의 도메인 맵핑. 표는 상이한 CD137 작제물에 대한 상대적 결합을 나타내는데, 이때 인간 CD137 서열의 부분은 뮤런 CD137 서열로 교환된다. 항체 샘플/아이소타입 대조군에 대한 중위 형광 강도(MFI)를 전장 인간 CD137에 대해 정규화시켰다.

그룹	A	B	C	D
도메인	1	2	3B-4A	불명확
클론	1618/ 1619	1204/ 1205		1626/ 1627 1214/ 1215
				실험 1 실험 2
1550 (1407)	0.11	0.07		0.17 0.10 0.06 0.14
1551 (1408)	0.67	0.11		0.33 0.11 0.07 0.15
1552 (1409)	1.20	0.13		0.18 0.11 0.32 0.13
1553 (1410)	1.24	0.85		0.17 0.14 0.41 0.15
1554 (1411)	1.01	0.73		0.17 0.12 0.26 0.15
1555 (1412)	0.12	0.28		0.32 0.29 0.30 0.45
1030*	1	1		1 1 1 1

*전장 CD137

(여기서 괄호는 동일한 CD137 작제물을 식별하지만, 도면에서 사용되는 대안의 클론
넘버링 시스템에 대응한다)

[0755] 실시예 22 - CD137 항체의 특성규명 - CD137 리간드 차단

- [0756] 목적은 CD137 항체가 CD137 리간드(CD137L) 결합을 차단하는지의 여부를 결정하는 것이다.

- [0757] 이전의 도메인 맵핑 실험에서, CD137 항체를 CD137 항원의 유사한 서브도메인에 대한 그들의 결합에 기반하여 상이한 그룹으로 나누었다. CD137 항체가 리간드 결합 영역에 가까운 에피토프에 결합한다면, 항원에 대한 결합은 리간드 결합의 부분적 또는 전체적 차단을 야기할 수 있다. CD137 리간드 결합 에피토프에 가까운 결합은 CD137 리간드 결합 에피토프의 입체 장애 또는 입체배좌 변화에 기인하여 리간드 결합에 영향을 미칠 수 있다.

리간드 차단 특성의 평가를 위해 고정된 농도의 CD137L에 대해 모든 CD137 항체를 적정하였다.

[0759] 리간드 경쟁을 위해 인간 CD137로 형질감염시킨 CHO-세포를 사용하였다. 인간 CD137의 세포외 부분을 hCD40의 막관통 및 세포내 부분에 융합시키고, pcDNA3.0 내로 클로닝시켰다. 후속적으로 벡터를 CHO 세포 내로 안정하게 형질감염시켰다. CD137을 표적화하는 상업적 항체를 이용하는 염색에 의해 CD137의 발현을 확인하였다.

[0760] CHO-huCD137을 CD137 단클론성 항체와 함께 사전인큐베이션시키고 나서, EC50의 농도에서 CD137 리간드의 첨가 전에 1시간 동안 +4°C에서 사전결정한 포화 농도(25, 2.5 및 0.25 μ g/ml)로부터 하향 적정하였다. 다른 30분 동안 +4°C에서 공동인큐베이션 후에, 세포를 세척하고 나서, 항-FLAG-APC(세포 신호전달 기법)을 이용하여 결합된 CD137 리간드를 검출하였다. 분석 전에, 세포를 파라폼알데하이드(10x 농축물 BD 셀프스, BD 바이오사이언시스)로 고정시켰다. FACSverse를 이용하여 분석을 수행하고 나서, 플로조(FlowJo) 소프트웨어를 이용하여 MFI(중위 형광 강도)를 계산하였다.

결과 및 결론

[0761] CD137L 차단 실험을 2회 수행하였다. 시험한 모든 CD137 mAb가 CD137 리간드 결합을 차단하지 않는다는 결론을 내릴 수 있다(표 22.1, 도 22). 그룹 B 및 C(1204 및 1620)에 속하고, 도메인 2B 내지 4A에 결합하는 CD137 mAb는 CD137L을 차단하였다. 항체 1814는 CD137L을 차단하는 것으로 보고되었지만, 그러나, 이는 본 발명자들의 CD137L 차단 분석에서 확인할 수 없었다. 도메인 1에 결합된 그룹 A에 속하는 1812 및 1618은 CD137 리간드를 차단하지 않지만, 대신에 CD137L 결합을 상승적으로 증가시켰다. 항체 1626 및 1214는 수행한 두 실험에서 CD137L을 차단하지 않았다.

표 22.1

CD137 항체의 최대 CD137 리간드 경쟁(2 회 실험의 평균)

그룹(도메인 맵핑)	CD137 mAb	CD137L, max 저해
A	1618/1619	-22%
B	1204/1205	50%
C	1620/1621	56%
D	1626/1627	18%
D	1214/1215	11%

[0763]

실시예 23 - CD137 항체의 특성규명 - 경쟁 ELISA

[0764] 각각의 CD137 항체를 서로 경쟁시킴으로써, 그들의 차단 패턴에 기반하여 유사한 에피토프에 대한 항체 결합을 결정할 수 있다. 코팅된 CD137-Fc에 결합할 때 바이오틴일화된 CD137 항체를 비-바이오틴일화된 CD137 항체와 함께 공동 인큐베이션시킴으로써 경쟁 ELISA를 수행한다. 경쟁은 바이오틴일화된 CD137 항체로부터의 신호 상실로서 정의한다. 낮은 경쟁 값은 항체 사이의 경쟁 없음 또는 항체의 결합 역학에 기인할 수 있었다. 하나의 항체의 결합은 또한 다른 CD137 항체의 결합에 영향을 미치는 항원의 결합일 때 입체 장애 또는 입체배좌적 변화를 야기할 수 있었다.

[0765] CD137 항체는 바이오틴일화되었고(EZ-연결 NHS-LC-바이오틴, 써모피셔), CD137-Fc에 대한 무손상 결합 특성은 바이오틴일화와 비-바이오틴일화된 항-CD137 mAb 사이의 EC50을 비교함으로써 ELISA에 의해 입증하였다. 비-바이오틴일화된 항-CD137(항-CD137)를 0.5시간 동안 결정된 EC50보다 30배 더 높은 농도에서 CD137-Fc에 대해 사전 인큐베이션시켰다. 세척 없이, 항-CD137-바이오를 첨가하고 나서, 다른 1시간 동안 공동인큐베이션시켰다. 스트렙타비딘-HRP(파이어스)를 이용하여 항-CD137-바이오의 결합을 검출하였다. 항체의 최대 경쟁(그 자신과 경쟁)에 의해 다른 항체에 대해 측정된 결합을 나눔으로써 경쟁을 상대적 수로서 계산하였다. 얻어진 상대적 값을 최대 차단 능력에 대해 정규화시켰다(표 23.1).

표 23.1

2회의 실험으로부터의 CD137 항체 경쟁 ELISA의 요약
값을 CD137-바이오와의 경쟁%로서 제시한다

그룹 경쟁 ELISA	X	Y					
		(도메인 맵핑)		A	B	C	D
1812- 바이오	1618/1619	1204/1205	1620/1621	1626/1627	1214/1215		
1814- 바이오	100	5	4	0	4		
1214- 바이오	21	74	61	57	99		
1618- 바이오	6	92	80	77	99		
1620- 바이오	88	3	10	16	9		
1626- 바이오	7	93	82	79	100		
1204- 바이오	24	100	97	100	99		
	28	88	66	66	97		

[0767]

결과 및 결론

[0769]

경쟁 ELISA를 2회 수행하였다. 실험 둘 다에서, CD137 mAb 중 몇몇은 그 자체와 완전히 경쟁하지 않았다. 각각의 항체에 대한 상대적 경쟁 값을 정규화할 때, 경쟁 패턴이 나타났다(표 23.1). 도메인 맵핑 그룹 A에 속하는 항체 1812 및 1618은 경쟁 ELISA에서 독특한 패턴을 나타내었다(그룹 X). 분석한 다른 CD137 항체는 유사한 차단 패턴을 가졌다(그룹 Y). 그룹 U 내의 적은 분산이 애피토프 결합에서 실제 차이를 반영한다는 것을 제외할 수는 없지만, 결합 역학의 차이는 그룹 Y의 항체 중의 결합 패턴에서 일부 약간의 분산을 설명할 수 있다.

[0770]

실시예 24 - CD137 항체의 특성규명 - CD137 항체의 시험관내 효능

[0771]

본 목적은 작용제 활성을 갖는 CD137 항체를 동정하는 것이다.

[0772]

1차 인간 CD8⁺ T 세포에 기반하여 CD137 항체의 작용제 활성을 평가하였다. 간략하게, CD8⁺ T 세포를 제조업자의 프로토콜에 따라 MACS 분리(밀테니 # 130-096-495)에 의해 인간 말초 혈액 단핵 세포로부터 분리시켰다. 세포를 96-웰 마이크로타이터 플레이트(눈크써모 사이언티픽 #268200)에서 인큐베이션시키고 나서, 항-CD3 항체(클론 OKT3, 애피메트릭스 이바이오사이언스 # 16-0037)로 사전 코팅하고, 시험될 CD137 항체의 농도를 적정하였다. 72 또는 96시간 인큐베이션 후에, 배양 배지를 채취하고 나서, ELISA(BD #555142)에 의해 IFN-γ 수준을 결정하였다.

[0773]

각각의 클론을 적어도 6명의 공여자에서 분석하고 나서, 기준 CD137 항체 1811/1812 및 음성 대조군 항체와 비교하였다.

[0774]

큰 공여자 내 분산에 기인하여, 자극 지수(SI, 음성 대조군에 비교한 항체에 의한 유도 배수)를 각각의 샘플에 대해 결정하고 나서, 기준 항체 1811/1812에 대한 자극 지수에 대해 정규화시켰다.

[0775]

결과 및 결론

[0776]

기준 1811/1812과 비슷한 효능을 지니는 몇몇 클론을 확인하였다(도 23 참조).

[0777]

표 24.1은 CD137 자극에 의해 유도되는 절대 IFN-γ 수준을 나타낸다. 그러나, 모든 항체는 모든 공여자에서 적

접 대면하여 분석하지 않았고, 정규화된 SI는 효능의 비교에 더 적절하다. IgG1 형식에서 항체를 평가하였고, 효능에 영향을 미칠 수 있는 웰 표면에 코팅된 항체를 이용하여 효능을 측정하였다.

표 24.1
다양한 항체에 의해 유도된 IFN- γ 생성 수준

클론명	평균 (pg/ml)	IFN- γ	Min IFN- γ (pg/ml)	Max IFN- γ (pg/ml)	n
Ctrl IgG	2502	337	8526	13	
1204/1205	64430	13062	153136	8	
1214/1215	51836	8208	122163	8	
1618/1619	33604	7380	111196	8	
1620/1621	52448	7727	123127	8	
1626/1627	15097	4159	32163	6	

[0778]

이중특이성 항체

실시예 25 - CD137 및 CTLA4를 표적화하는 이중특이성 항체 - 이중 ELISA에서 표적 둘 다에 대한 결합

목적: ELISA를 이용하여 표적 둘 다에 결합하는 이중특이성 항체의 능력을 평가하고 확인하는 것.

물질 및 방법

밤새 4°C에서 ELISA 플레이트를 rhCD137-Fc(rh4-1BB, 0.5 μ g/ml)로 코팅하였다. 이중특이성 항체를 회석물에 첨가하고 나서, 바이오틴일화된 CTLA-4(1 μ g/ml)의 첨가 다음에, HRP-표지 스트렙타비딘(0.167 μ g/ml)의 첨가에 의해 검출하였다. 수퍼시그널 피코 륨미네센트를 기질로서 사용하고 나서, 플루오스타 옵티마를 이용하여 발광을 측정하였다.

결과

이중특이성 항체를 대략 0.1nM에서 검출할 수 있었고, 이 분석에서 대략 0.5 내지 1nM의 EC50 값을 나타내었다 (도 24 참조). 결과는 이중특이성 CD137-CTLA-4 항체가 표적 둘 다에 동시에 결합할 수 있다는 것을 나타낸다.

실시예 26 - CD137 및 CTLA4를 표적화하는 이중특이성 항체 - CTLA-4를 발현시키는 세포에 관한 활성화 능력

목적

CTLA-4를 발현시키는 세포에 관해 면역 세포를 활성화시키는 능력을 결정하는 것. 목적은 CTLA-4가 존재할 때 더 높은 활성화(효능 및 효력)을 달성하는 것이다.

물질 및 방법

혈액은행(룬드 유니버시티 병원)으로부터 얻은 백혈구 필터로부터의 PBMC의 음성 선택(밀테니, 인간 CD8+ T 세포 단리 키트, 130-096-495)을 이용하여 인간 CD8 양성 T 세포를 얻었다. CTLA-4(오렌시아, 2.5 μ g/ml) 및 항-CD3(OKT-3, 3 μ g/ml)을 밤새 4°C에서 96 웰 U-형 배양 플레이트(눈크, VWR, #738-0147, 처리한 비조직 배양물)의 표면에 코팅시켰다. 이중특이성 항체 및 대조군을 웰에 첨가하였다. 37°C, 5% CO₂에서 수분 챔버 내 96시간의 인큐베이션 후에 상청액 중의 IFN γ 수준을 측정하였다.

결과

결과(도 25, 도 26)는 이중특이성 항체가 CTLA-4로 코팅한 플레이트 상에서 배양시켰을 때에만 T 세포를 활성화 시킨다는 것을 나타낸다. 시험관내 분석은 CTLA-4가 상대적으로 과발현되는 종양 미세환경에서 상황의 실험 모델을 나타낸다. 따라서, 상기 결과는 이중특이성 항체가 고수준의 CTLA-4를 갖는 환경에서, 예를 들어, 종양에서 증가된 효과를 가진다는 것을 나타낸다.

실시예 27 - CTLA4 및 OX40을 표적화하는 예시적인 이중특이성 항체에 의한 ADCC 유도에서의 상승작용(단독 또는 조합된 단일특이성 항체의 효과와 비교)

물질 및 방법

[0795] 항체-의존적 세포-매개 세포독성(ADCC)의 평가

[0796] 반딧불이 루시퍼라제(프로메가 코포레이션(Promega Corporation))의 발현을 유도하는 Fc γ RIIIa 수용체(V158 변이체) 및 NFAT 반응 요소를 안정하게 발현시키도록 조작된 Jurkat 세포를 ADCC의 평가에서 효과기 세포로서 사용하였다. 항체를 96웰 불투명 발광 플레이트 내 웰에서 2회 중복하여 적정하고 나서, OX40과 CTLA4를 둘 다 발현시키는 효과기 세포 및 표적 세포를 5:1의 비로 첨가하였다. 37°C, 95% O₂ 습윤 인큐베이터에서 6시간 인큐ベ이션 후에, 루시퍼라제 분석 기질(프로메가 코포레이션)을 (블랭크 차감을 위해) 배지 대조군 웰을 포함하는 모든 웰에 첨가하고 나서, 플루오스타 옵티마 마이크로플레이트 판독기(BMG 랩테크(BMG LabTech)) 상에서 발광을 검출하였다. 배수-유도 ADCC를 다음과 같이 계산하였다: (표적 용해 - 블랭크)/(자발적 용해 - 블랭크). 프리즘 6.0(미국 캘리포니아주 라호야에 소재한 그래프팩트)를 이용하여 log(작용제) 대 반응(3개 매개변수) 곡선 적합도에 기반하여 최대 값을 계산하였다.

[0797] 항체

[0798] • "1166/1167" = 단일특이성 OX40 항체

[0799] • "CTLA-4 결합 부분을 갖는 대조군 IgG" = IgG 단백질에 융합된 단일특이성 CTLA4 결합 도메인

[0800] • "1166/1261" = OX40 및 CTLA4를 표적화하는 예시적인 이중특이성 항체(상기 기재한 단일특이성 결합체와 동일한 OX40 및 CTLA-4 결합 부분을 함유).

[0801] • "Ctrl IgG" = 음성 아이소타입 대조군

[0802] 결과

[0803] 예시적인 이중특이성 항체 1166/1261은 ADCC의 우수한 유도를 나타낸다

[0804] 도 27에 나타낸 바와 같이, ADCC의 검출 가능한 수준은 모든 시험 성분에 의해 유도되었다. 음성 아이소타입 대조군은 임의의 ADCC를 유도하지 않는다(데이터 미제시). 가장 현저하게는, 이중특이성 1166/1261 항체는 대조군에 비해 대략 123-배 ADCC를 유도하였다. 단일특이성 OX40 항체(1166/1167)는 대략 29-배를 유도하였고, 단일특이성 CTLA-4 결합 도메인(62/376)은 대략 10-배 ADCC를 유도한 반면, 두 단일특이성 성분의 혼합물(1166/1167 + 62/376)은 대략 31-배 ADCC를 유도하였다.

[0805] 따라서 OX40 및 CTLA-4에 대한 이중특이성 문자 결합에 의해 얻은 예상치 못한 그리고 현저한 상승효과가 있다.

[0806] 실시예 28 - OX40 및 CTLA4를 표적화하는 이중특이성 항체 - OX40과 CTLA4를 둘 다 발현시키는 세포에 대한 특이적 결합

[0807] 배경

[0808] 본 연구의 목적은 유세포 분석을 이용하여 OX40과 CTLA4를 둘 다 발현시키는 세포에 대한 1166/1261 및 대응하는 단일특이성 결합 독립체의 결합 효능 및 EC50을 결정하는 것이다. 이중특이성 항체는 OX40과 CTLA4 둘 다에 동시에 결합하도록 설계된다. 이 목적을 위해, 본 발명자들은 본 발명자들의 표적의 안정한 발현에 의해 형질감염된 CHO 세포를 사용하였다. CHO P4 세포는 OX40과 CTLA4 둘 다의 높은 발현 수준을 가진다.

[0809] 방법 및 결과

[0810] OX40과 CTLA4를 FACS(Beckton Dickinson)에 의해 둘 다 발현시키는 이중 형질감염 CHO 세포를 표적 둘 다(CHO P4로 나타냄)의 고수준을 발현시키는 세포 풀 내로 처음부터 분류하였다. 제네티신 및 제오신의 선택 압력 하에서 세포를 배양시킴으로써 표적 발현을 안정하게 유지하였다. 비형질감염 CHO 야생형 세포를 대조군으로서 사용하였다.

[0811] 1166/1261(OX40 및 CTLA4를 표적화하는 예시적인 이중특이성 항체), 또는 2개의 단일특이성 결합체 1166/1167(OX40 특이적 단클론성 항체) 및 CTLA-4 결합 부분을 갖는 대조군 IgG(단일특이성 CTLA4 결합 IgG 융합 단백질)(200nM 내지 0.0034nM), 다음에 PE-접합된 항-인간 IgG의 농도를 감소시키면서 세포를 염색하였다. FACSSverse 기기를 이용하여 형광을 검출하였고, FlowJo 소프트웨어를 이용하여 획득물을 분석하였다. 각각의 염색에 대해 중위 형광 강도(MFI)를 결정하였다.

[0812] CHO P4에 대한 결합 효능 곡선을 도 28에 제시한다(3회 중 1회의 대표적인 실험). 1166/1261은 1166/1167 또는

CTLA-4 결합 독립체를 갖는 대조군 IgG보다 더 양호한 OX40 및 CTLA4의 높은 발현에 의해 세포에 결합한다. 이는 두 표적에 동시에 결합할 수 있는 1166/1261의 추가적인 효과일 가능성이 있다.

[0813] 실시예 29 - OX40 및 CTLA4를 표적화하는 이중특이성 항체- 유세포분석에 의해 측정한 OX40 및 CTLA4를 발현시키는 세포의 이중 결합

목적

[0815] 유세포분석을 이용하여 응집 세포 수를 측정함으로써 세포 상에서 과발현된 OX40과 CTLA4 둘 다에 대한 1166/1261에 의한 동시 결합을 측정한다.

물질 및 방법

[0817] 각각 형광 염료 PKH-67(녹색 형광 염료) PKH-26(적색 형광 염료)(시그마-알드리치)을 이용하여 CHO-OX40 세포 및 HEK-CTLA4 세포를 세포내로 염색하였다. 균일하게 염색한 세포 집단을 확인한 후에, 세포를 혼합하고 나서, 1166/1261(OX40 및 CTLA4를 표적화하는 예시적인 이중특이성 항체) 또는 두 단클론성 항체 1166/1167의 조합물(단일특이성 항-OX40 항체) 및 CTLA4-결합 도메인을 포함하는 대조군 IgG와 함께 인큐베이션시켰다. 염색한 후에, 세포를 즉시 고정시키고 나서, FACS-verse(BD biosciences)를 이용하여 응집된, 이중-양성 세포의 수를 정량화하였다. 그래프 패드 프리즘 v6를 이용하여 데이터 분석 및 비선형 회귀를 수행하였다.

결과 및 결론

[0819] 예시적인 이중특이성 항체 1166/1261은 농도가 증가함에 따라 응집된 세포 수가 증가된다(도 29)(2번 중 1회의 대표적인 실험).

[0820] 실시예 30 - OX40 및 CTLA4를 표적화하는 이중특이성 항체 - 마우스에서의 약동학

물질 및 방법

항체

- 1166/1261(OX40 및 CTLA4를 표적화하는 예시적인 이중특이성 항체)
- 1166/1167(OX40를 표적화하는 단일특이성 대조군 항체)

생체내 연구

[0826] 타코닉 덴마크(Taconic's Denmark)로부터의 암컷 C57BL/6(7 내지 8주령) 마우스를 실험에서 사용하였다. 모든 실험을 말뫼/룬드(Malmö/Lund) 유통 위원회의 승인에 의해 행하였다.

[0827] 마우스에 100 μ g의 각각의 항체로 복강내로 주사하고 나서, 0시간, 1시간, 4시간, 8시간, 24시간, 72시간 후에 및 1주 후에 복재정맥을 통해 또는 대정맥을 통해 말단에서 혈액을 뽑아내었다. 각각의 시점 동안 3마리 마우스를 사용하였다. 혈액을 2500rpm에서 30분 동안 교반시키고 나서, 추가 분석 동안 -80°C로 냉동시켰다.

혈장 내 1166/1261 및 1166/1167 수준의 결정을 위한 분석

[0829] 두 상이한 분석을 수행하였다. 단일 표적 ELISA(ELISA1) 및 이중 ELISA (ELISA2). 간략하게 분석은 다음의 단계들로 이루어진다. 백색 고-결합 편평 바닥, LIA 플레이트(그赖이너 바이오-원(Bio-One), 오스트리아에 소재)를 0.8 μ g/ml 인간OX40-Fc(미국 미네소타주에 소재한 RnD 시스템즈)로 밤새 코팅하였다. 세척 완충제(0.05% 트윈20(PBST)으로 보충한 인산염 완충 식염수, 스웨덴에 소재한 메디카고)로 세척한 후에, 웰을 주위 온도(ART)에서 1시간 동안 진탕시키면서 2% 소 혈청 알부민(BSA)(독일에 소재한 머렉)과 함께 PBST를 이용하여 웰을 차단시키고, 다시 세척한 후에, 교정 곡선 샘플(1166/1261, 농도 6 내지 0.0012 μ g/ml)과 함께 분석 완충제(PBST + 0.5% BSA) 중에서 1:200 및 1:5000으로 희석시킨 혈장 샘플을 첨가하였다. 1시간 동안 진탕시키면서 ART에서 인큐ベ이션시키고, 후속적으로 세척한 후에, 이중 ELISA에 대한 제조업자의 설명서에 따라 1 μ g/ml에서 단일 표적 ELISA에 대해 인간 항-카파-항체 겨자무과산화효소 접합된(HRP)(영국에 소재한 AbD 세로텍(Serotec)) 또는 바이오틴일화된 인간 CTLA-4-Fc(오렌시아), 다음에 스트렙타비딘-HRP(씨모 피셔 사이언티픽, 미국 미네소타주에 소재)으로 이루어진 2차 시약을 첨가하였다. HRP 기질 수퍼시그널 피코 륨미네센스(씨모 피셔 사이언티픽)을 이용하여 신호를 얻었다. 플루로스타 옵티마(독일에 소재한 MBG 랩테크(MBG Labtech))를 이용하여 진탕시키면서 암실에서 10분 인큐베이션한 후에 발광 측정을 수집하였다. 그래프패드 프리즘 프로그램을 이용함으로써 데이터를

분석하였다.

[0830] 결과

1166/1261 및 1166/1167과 함께 주입한 후에 상이한 시점에 수집한 샘플을 각각 1166/1261 및 1166/1167의 혈장 수준의 결정을 위해 단일 표적 ELISA 단독 또는 단일 표적과 이중 ELISA에 의해 분석하였다. 결과는 혈장 중의 1166/1261 및 1166/1167의 수준이 복막 주사 후 대략 처음 4시간에 증가되고, 이어서 감소되었다는 것을 나타낸다(도 30 상부 패널). 1166/1261과 1166/1167 둘 다의 검출 가능한 수준은 1주 후에 혈장 중에 존재한다(도 30 중간 및 하부 패널).

[0832] 혈장 중의 1166/1261 수준은 단클론성 항체 1166/1167에 대해 얻은 수준과 유사한데, 이는 1166/1261이 동등한 단일특이성 항-OX40 항체와 비슷한 양호한 생체내 반감기를 나타낸다는 것을 나타낸다.

[0833] 참고문헌

[0834] Hemerle T., Wulhfard S., Neri D., (2012) A critical evaluation of the tumor-targeting properties of bispecific antibodies based on quantitative biodistribution data. Protein Engineering and Design, 25, pp 851-854.

실시예 31 - OX40 및 CTLA4를 표적화하는 이중특이성 항체 - HT-29 결장 암 모델에서 생체내 항종양 효과

[0836] 요약

[0837] hPBMC 인간화된 면역결핍 마우스 및 HT-29 결장암종의 피하 종양 모델을 이용하여 1166/1261(OX40 및 CTLA4를 표적화하는 예시적인 이중특이성 항체)의 항-종양 효과를 연구하였다.

[0838] 1166-1261은 통계적으로 유의한 종양 용적 저해를 입증하였다.

[0839] 물질 및 방법

[0840] 타코닉 덴마크로부터의 암컷 SCID-베이지 마우스(6 내지 9주령)를 실험에서 사용하였다. 모든 실험을 말뢰/룬드 윤리 위원회의 승인에 의해 행하였다.

[0841] ATCC로부터 HT-29 결장암을 얻었고, ATCC 권고에 따라 배양시켰다. 대수기에 성장하는 HT-29 세포주를 피하로 주사하였다(제0일(D0)에 100 내지 200 μ l 중의 4x10⁶개 세포). 백혈구 농축물로부터 단리시킨 인간 PBMC(200 μ l 중의 7x10⁶개)를 동일한 날에 복강내로 주사하였다. 복강내 처리(667pmol)를 제6일, 제13일 및 제20일에 행하였다.

[0842] 룬드 유니버시티 병원으로부터 백혈구 농축물을 얻었다.

[0843] 캘리퍼를 이용하여 폭, 길이 및 높이로 종양을 측정하였고, 이의 종양 용적을 계산하였다($w/2 \times l/2 \times h/2 \times \pi \times (4/3)$). 마우스의 상처 또는 영향받은 건강 상태에서 종양이 2cm³에 도달되기 전에 동물을 없앴다.

[0844] 그래프패드 프리즘 프로그램을 이용하여 맨-휘트니 검정(Mann-Whitney test)에 의해 데이터를 분석하였다. 반응 공여자는 기준 항체 1874에 대해 반응한 해당 공여자로 고려하였다. 지수적 종양 성장 기간 동안 최소 10% 평균 종양 저해가 반응으로서 고려되었다.

[0845] 결과

[0846] 반응 공여자(2회의 별개의 실험으로부터의 4명의 공여자)와 융합한 마우스로부터의 풀링 데이터는 비하를 군(ZZ)에 비해 1166/1261 항체($p= 0.0469$ 내지 $p=0.0074$, 맨-휘트니 비모수, 양측)로 처리할 때 종양 성장 저해 형태에서 12일 내지 16일에 통계적으로 유의한 항-종양 효과를 입증하였다. 종양 용적 저해의 백분율은 10 내지 21일에 1166/1261에 의해 22 내지 36% 범위에 있었다(도 31 및 표 31.1 참조).

[0847] 결론에서, HT-29 결장 암종의 hPBMC 인간화된 면역결핍 마우스 및 피하 종양 모델을 이용하여 1166/1261의 항-종양 효과를 연구하였다. 1166/1261은 통계적으로 유의한 종양 용적 저해를 입증하였다.

표 31.1

통계학적 분석 및 종양 저해 백분율

종양 접종 후 일수	비히클에 비교한 종양 성장 저해 (종양 용적) (%)	p-값 (맨-휘트니 양측)
D10	22.8	0.1298
D12	35.4	0.0315
D14	35.9	0.0074
D16	31.5	0.0469
D19	30.8	0.1059
D21	22.1	0.1067

[0848]

실시예 32 - OX40 및 CTLA4를 표적화하는 이중특이성 항체 - Raji 림프종 모델에서 생체내 항종양 효과

[0850] 요약

[0851] Raji B-세포 림프종의 hPBMC 인간화된 면역결핍 마우스 및 피하 종양 모델을 이용하여 1166/1261(OX40 및 CTLA4를 표적화하는 예시적인 이중특이성 항체)의 항종양 효과를 연구하였다.

[0852] 1166/1261은 통계적으로 유의한 종양 용적 저해를 입증하였다.

[0853] 물질 및 방법

[0854] 타코닉 덴마크로부터의 암컷 SCID-베이지 마우스(6 내지 9주령)를 실험에서 사용하였다. 모든 실험을 말뢰/룬드 윤리 위원회의 승인에 의해 행하였다.

[0855] ATCC로부터 Raji B-세포 림프종을 얻었고, ATCC 권고에 따라 배양시켰다. 대수기에 성장하는 피하로 Raji 세포 주를(10×10^6 개 세포) 인간 PBMC($200\mu\text{l}$ 중에서 10×10^6 개)와 함께 주사하고 나서, 연중으로부터 분리시켰다. 제0 일, 제7일 및 제14일에 복강내 처리(667pmol)를 행하였다.

[0856] 카말 유니버시티 병원(Kalmar University Hospital)으로부터 연중을 얻었다.

[0857] 캘리퍼를 이용하여 폭, 길이 및 높이로 종양을 측정하였고, 이의 종양 용적을 계산하였다($w/2 \times l/2 \times h/2 \times \pi \times (4/3)$). 마우스의 상처 또는 영향받은 건강 상태에서 종양이 2cm^3 에 도달되기 전에 동물을 없앴다.

[0858] 그래프패드 프리즘 프로그램을 이용하여 맨-휘트니 검정에 의해 데이터를 분석하였다. 반응 공여자는 기준 항체 1874에 대해 반응한 해당 공여자로 고려하였다. 지수적 종양 성장 기간 동안 최소 10% 평균 종양 저해가 반응으로서 고려되었다.

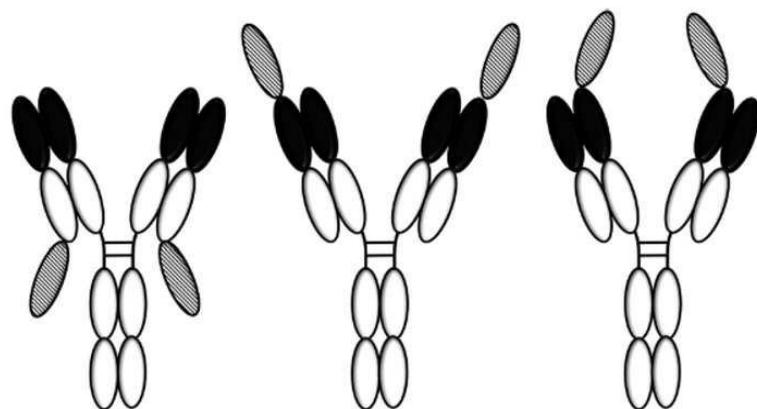
[0859] 결과 및 결론[0860] 반응 공여자가 있는 실험군으로부터 데이터를 모으고, 이중특이성 1166/1261 항체는 비히클에 비해 제14일 및 제21일에 통계적으로 유의한 항-종양 효과를 입증하였다($p= 0.0068$ 및 $p=0.0288$, 맨-휘트니, 양측)(표 32.1).

표 32.1

통계학적 분석 및 종양 저해 백분율

종양 접종 후 일수	비히클 처리 동물에서의 종양 용적	1166/1261로 처리한 동물에서의 종양 용적	비히클에 비교한 종양 성장 저해(종양 용적) (%)	p-값(맨-휘트니 양측)
D10	14.2	13.8	6.1	0.6842
D12	35.7	21.5	39.9	0.0603
D14	61.8	33.6	45.7	0.0068
D17	105.3	76.0	27.8	0.3527
D19	205.1	133.3	35	0.0524
D21	314.8	187.0	40.6	0.0288
D24	467.5	299.9	37.2	0.054
D26	529.7	360.1	32	0.063

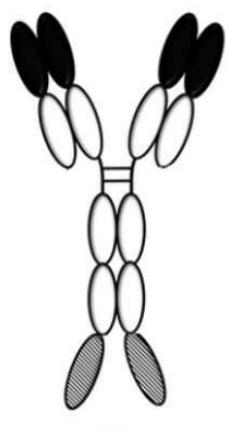
[0861]

도면**도면1**

A

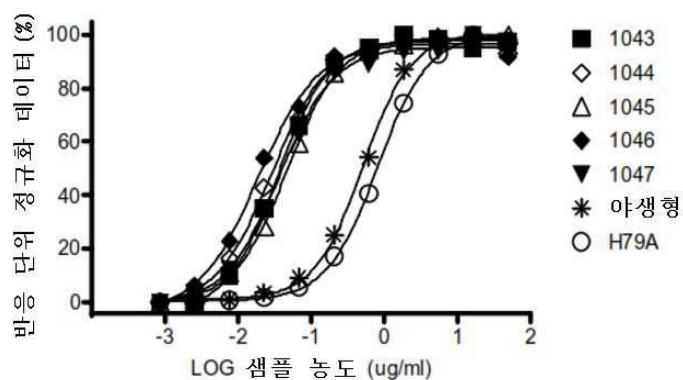
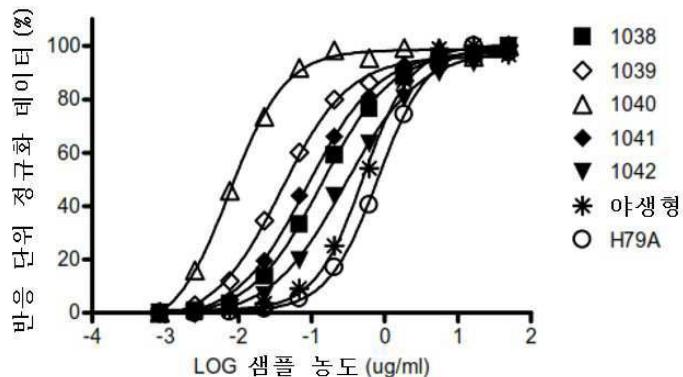
B

C

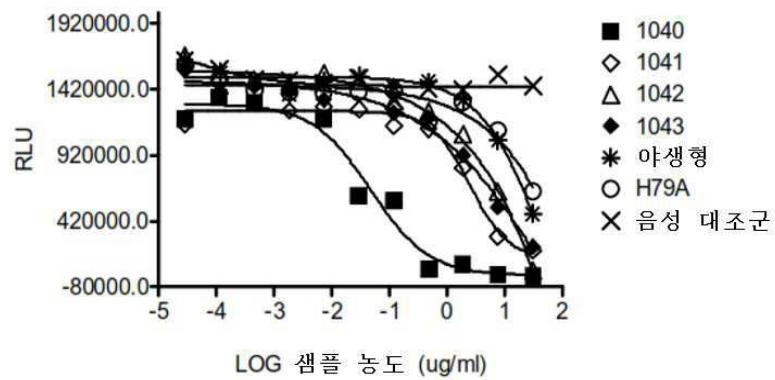
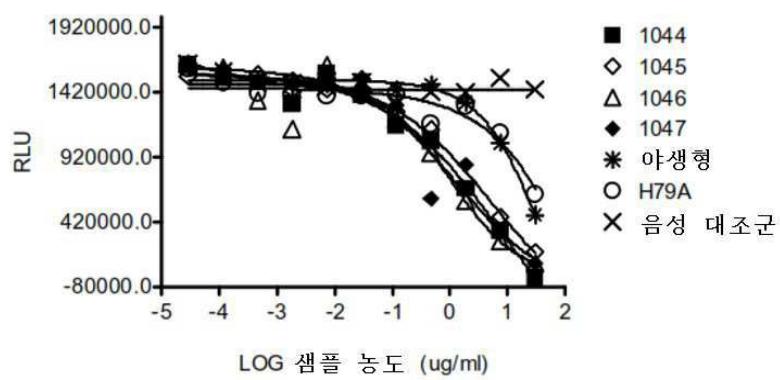


D

도면2



도면3



도면4**A 서열번호 3**

24
|
APLKIQA YFNETADLPC QFANSQNQSL SELVVFWQDQ 60
ENLVNLNEVYL GKEKFDSVHS KYMGRTSFDS DSWTLRLHNL QIKDKGLYQC IIHHKKPTGM 120
IRIHQMNSSEL SVLA 134

B 서열번호 4

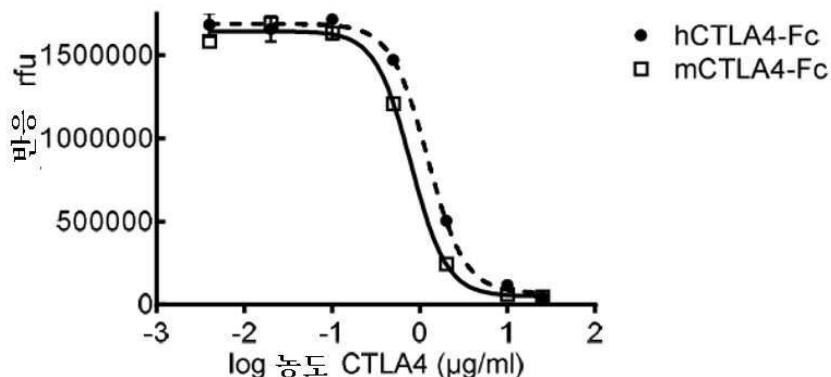
MDPQCTMGLS NILFVMAFLLL SGAAPLKIQA YFNETADLPC QFANSQNQSL SELVVFWQDQ 60
ENLVNLNEVYL GKEKFDSVHS KYMGRTSFDS DSWTLRLHNL QIKDKGLYQC IIHHKKPTGM 120
IRIHQMNSSEL SVLANFSQPE IVPISNITEN VYINLTCSI HGYPEPKMS VLLRTKNSTI 180
EYDGIMQKSQ DNVTELYDVS ISLSVSFPDV TSNMTIFCIL ETDKTRLSS PFSIELEDPQ 240
PPPDHIP 247

C 서열번호 44

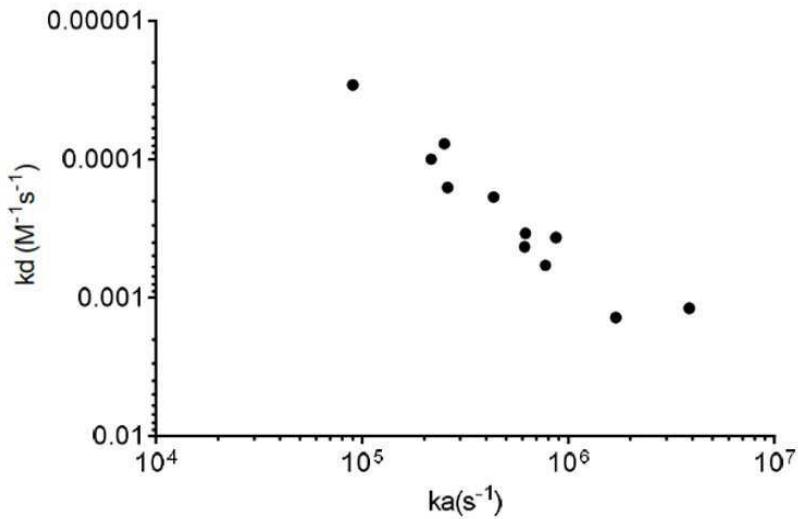
MDPQCTMGLS NILFVMAFLLL SGAAPLKIQA YFNETADLPC QFANSQNQSL SELVVFWQDQ 60
ENLVNLNEVYL GKEKFDSVHS KYMGRTSFDS DSWTLRLHNL QIKDKGLYQC IIHHKKPTGM 120
IRIHQMNSSEL SVLANFSQPE IVPISNITEN VYINLTCSI HGYPEPKMS VLLRTKNSTI 180
EYDGIMQKSQ DNVTELYDVS ISLSVSFPDV TSNMTIFCIL ETDKTRLSS PFSIELEDPQ 240
PPPDHIPWIT AVLPTVIICV MVFCLILWKW KKKKRPRNSY KCGTNNTMERE ESEQTKKREK 300
IHIPERSDEA QRVFKSSKTS SCDKSDTCF

도면5

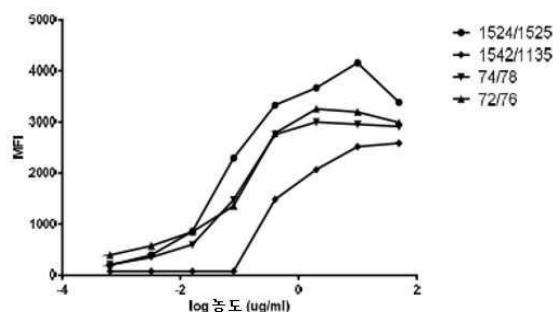
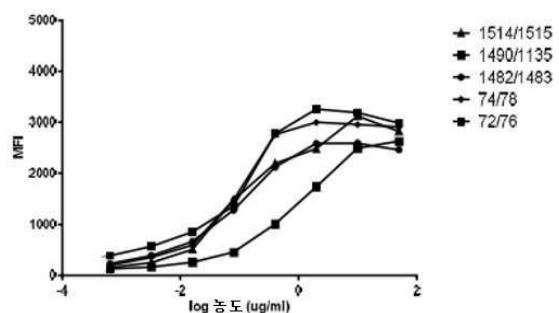
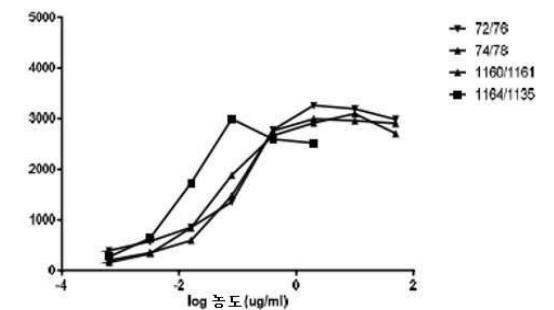
저해 마우스 및 인간 CTLA4



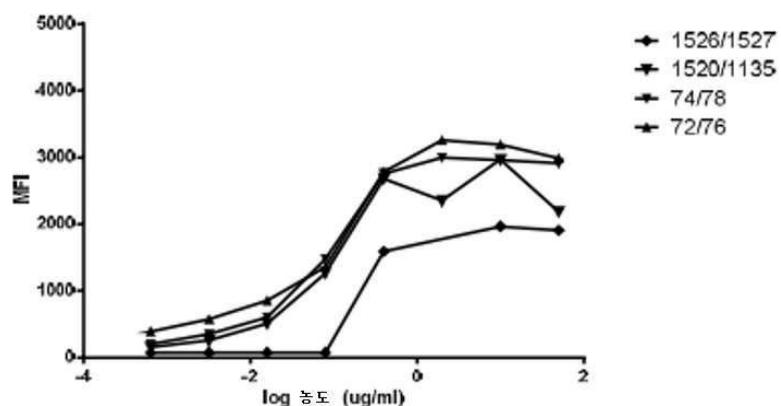
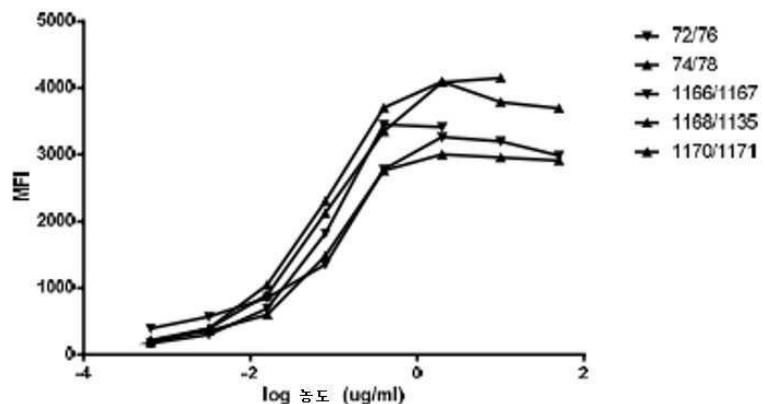
도면6



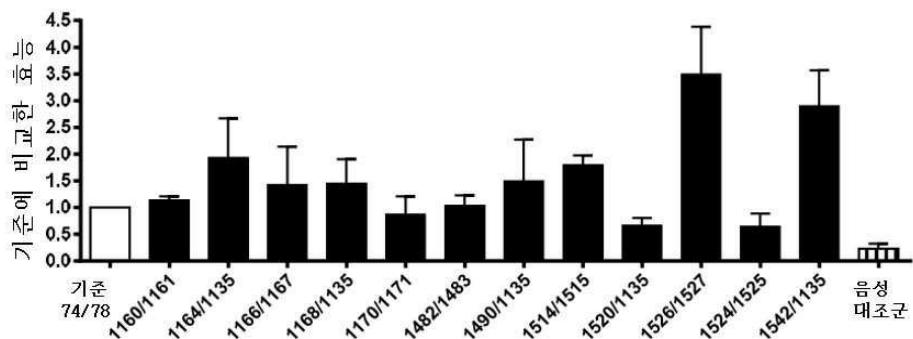
도면7a



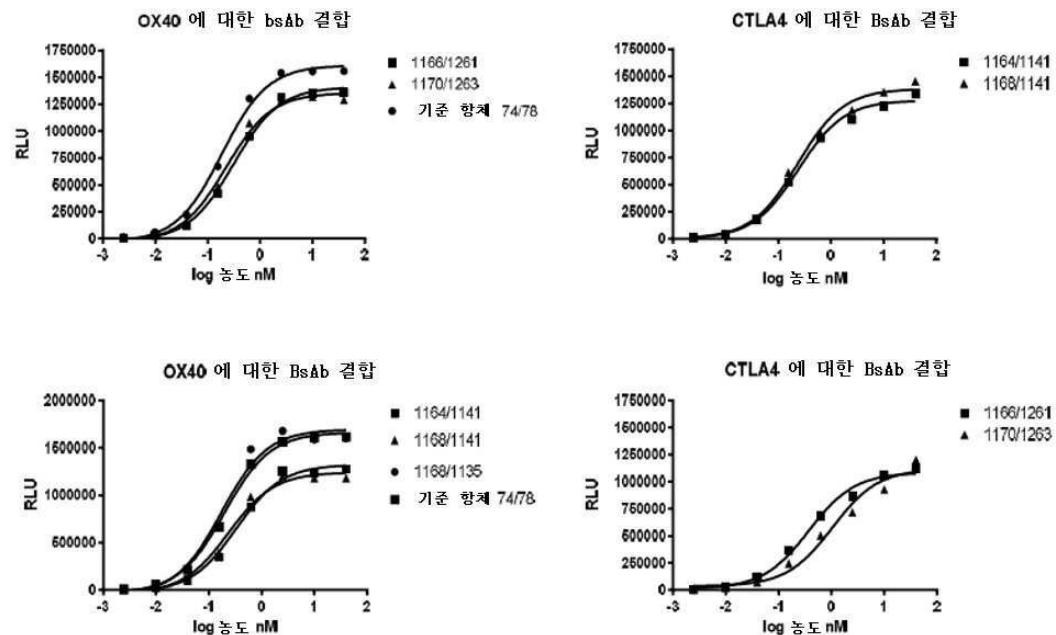
도면7b



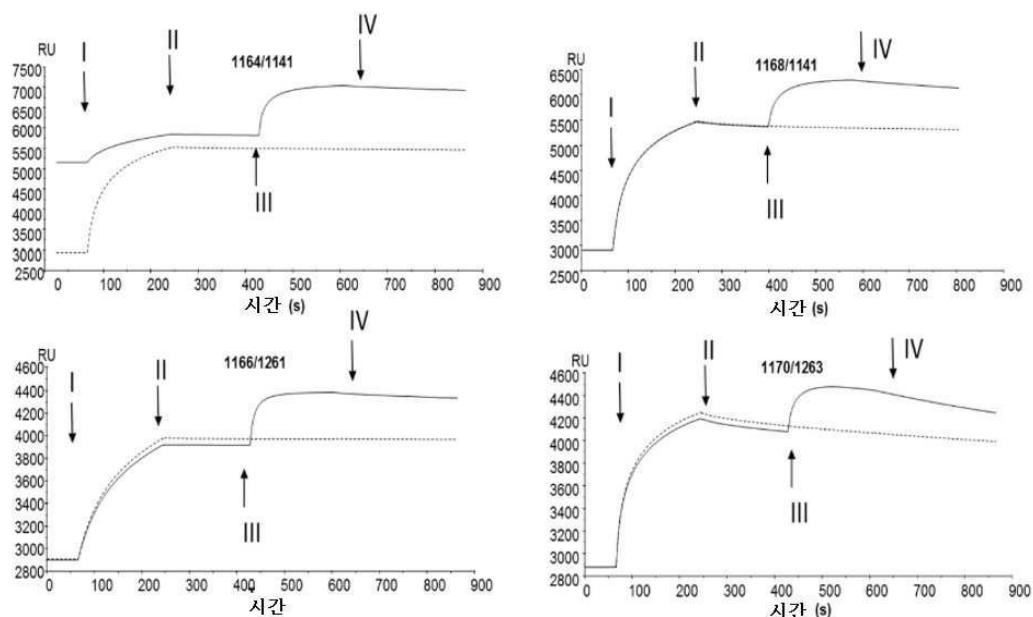
도면8



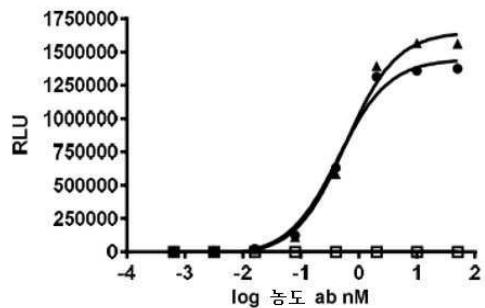
도면9



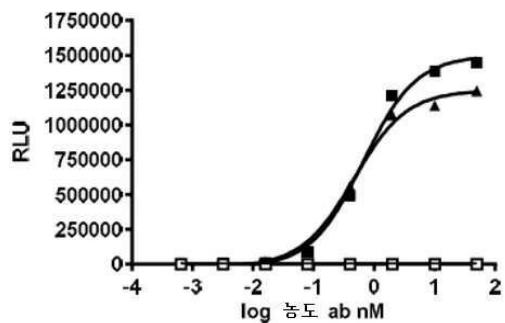
도면10



도면11

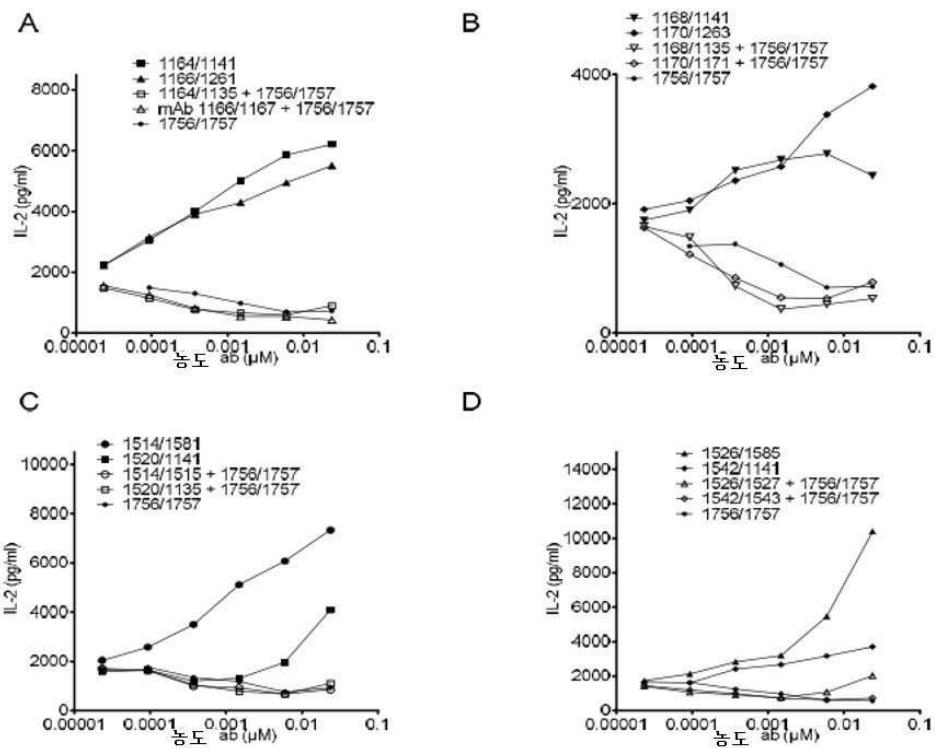


▲ 1164/1141
● 1168/1141
□ 음성 대조군 1

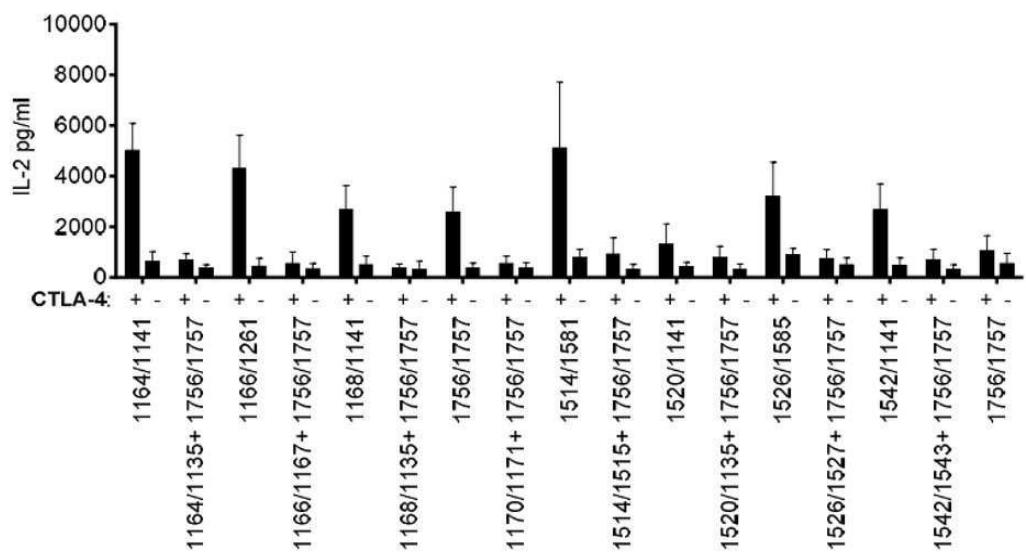


■ 1166/1261
▲ 1170/1263
□ 음성 대조군

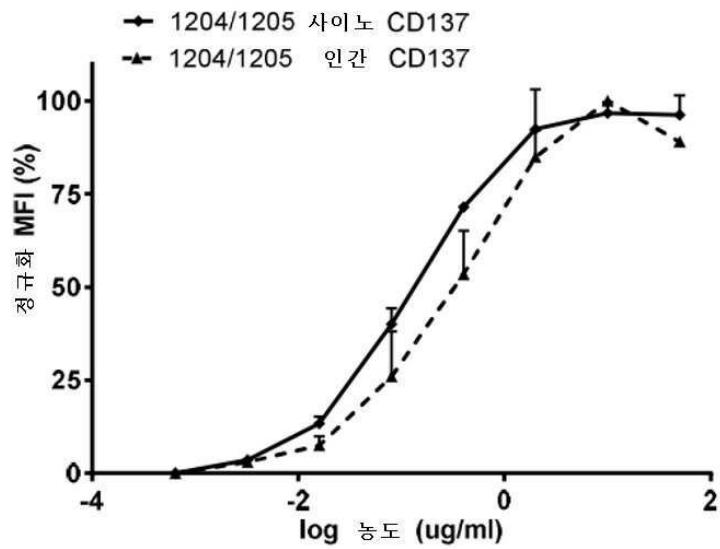
도면12



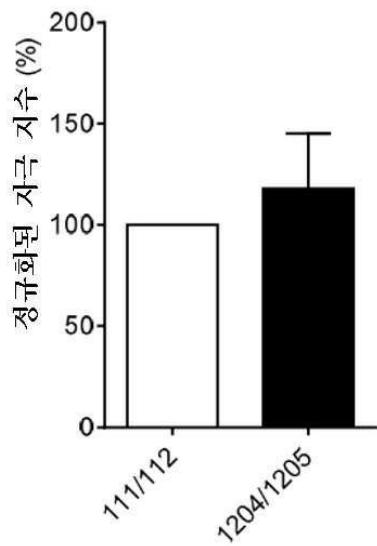
도면13



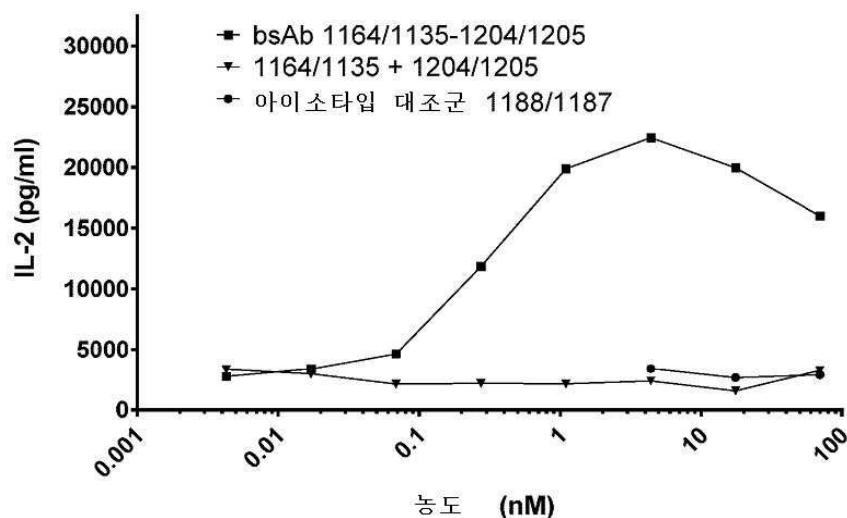
도면14



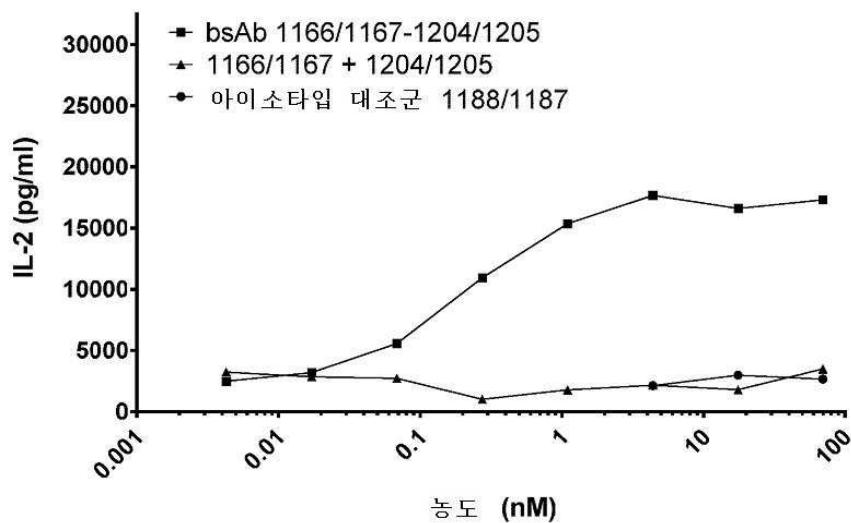
도면15



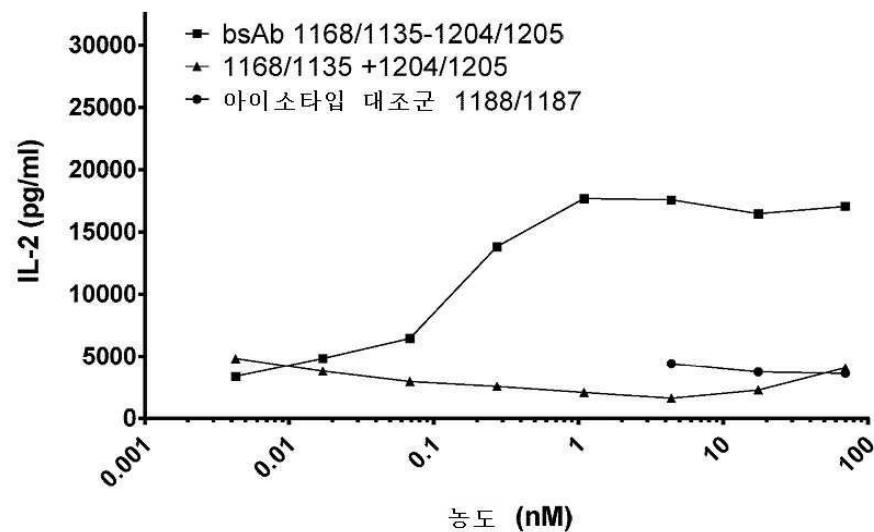
도면 16a



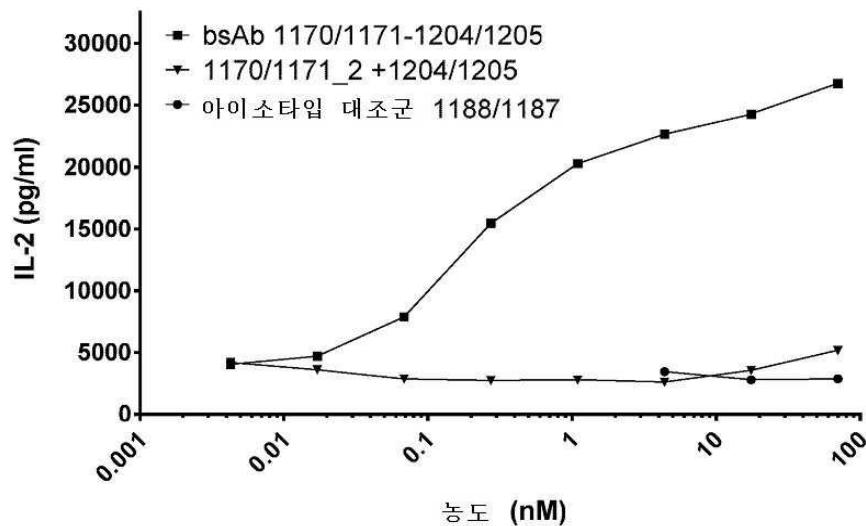
도면 16b



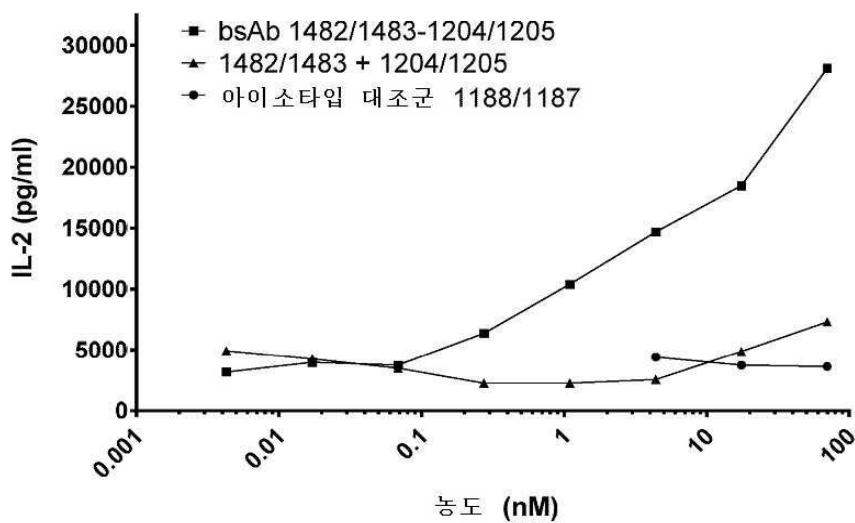
도면 16c



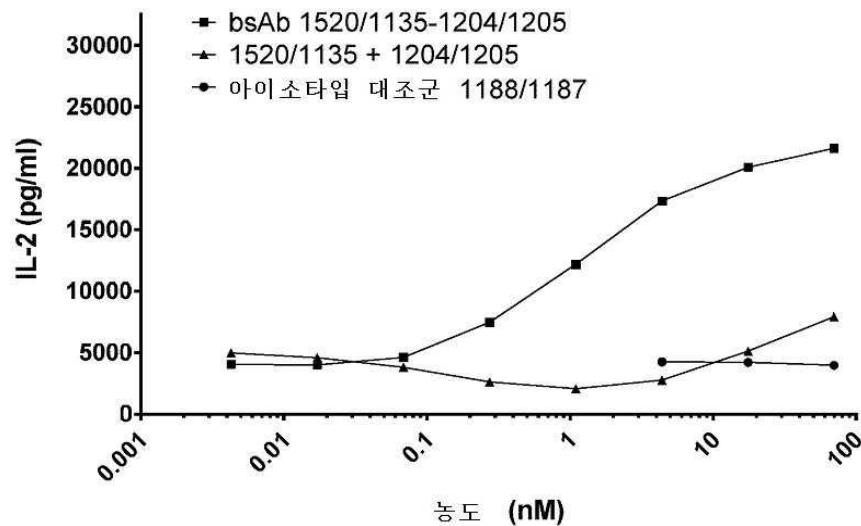
도면16d



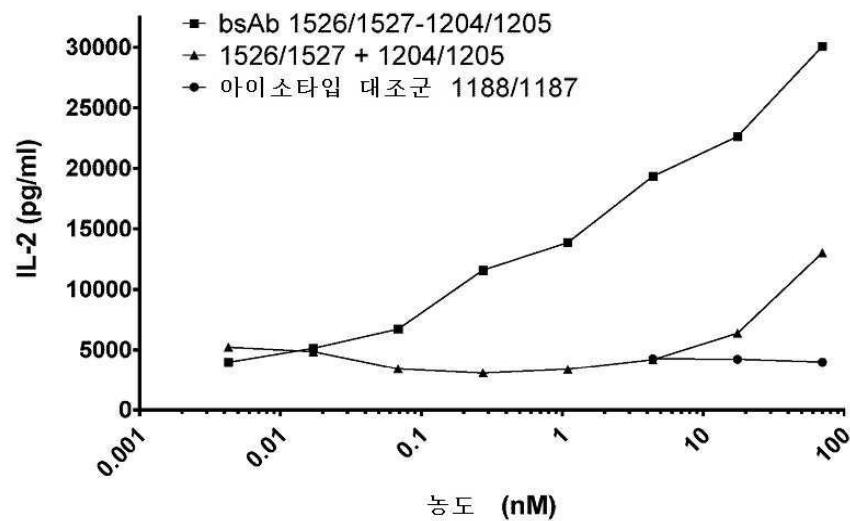
도면16e



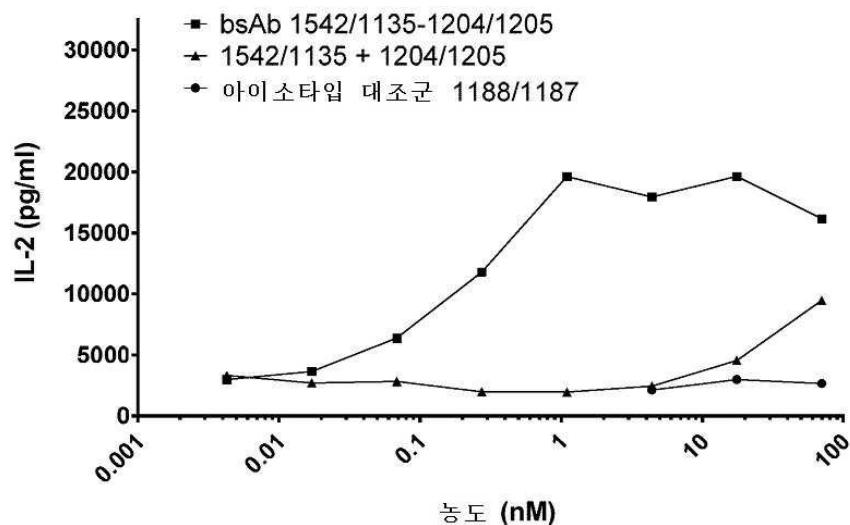
도면16f



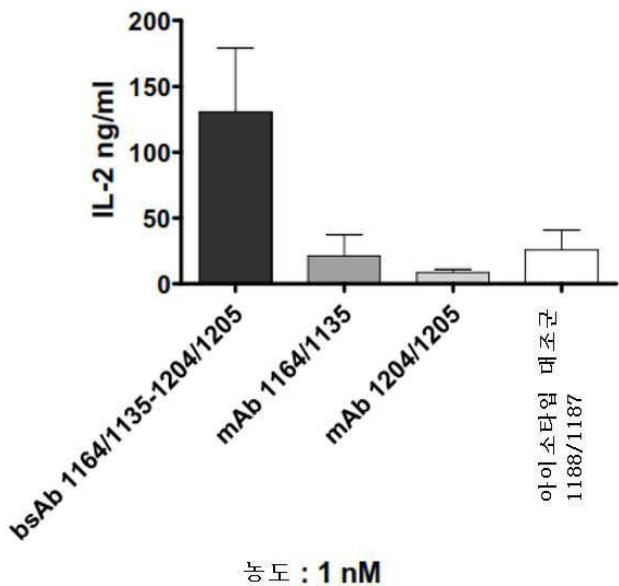
도면16g



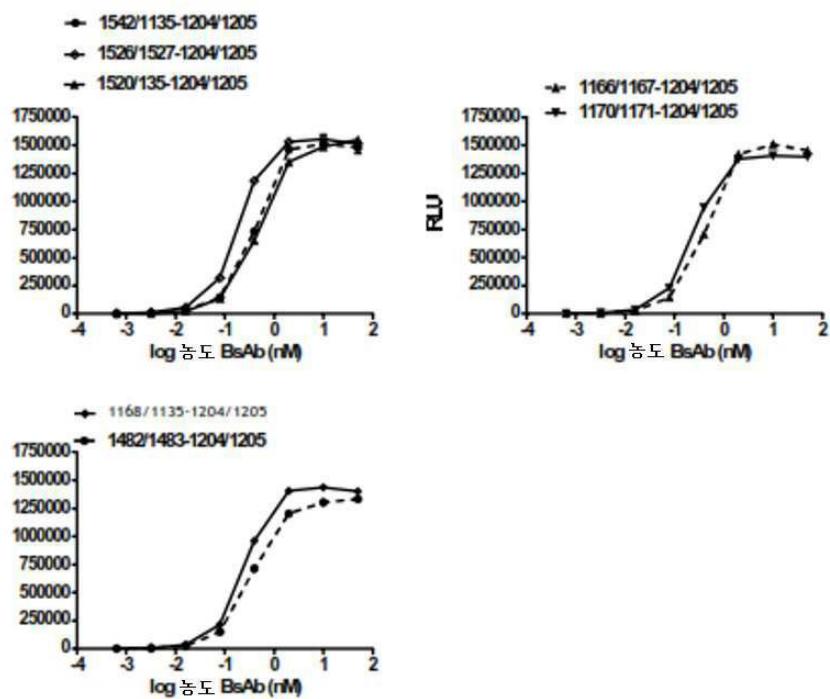
도면16h



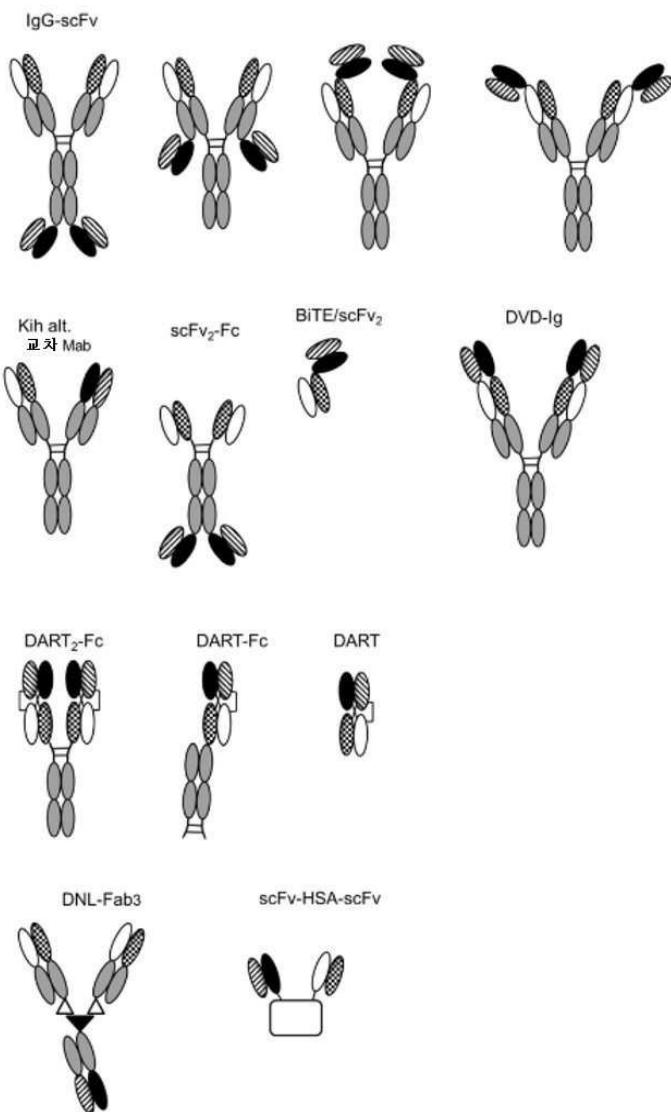
도면17



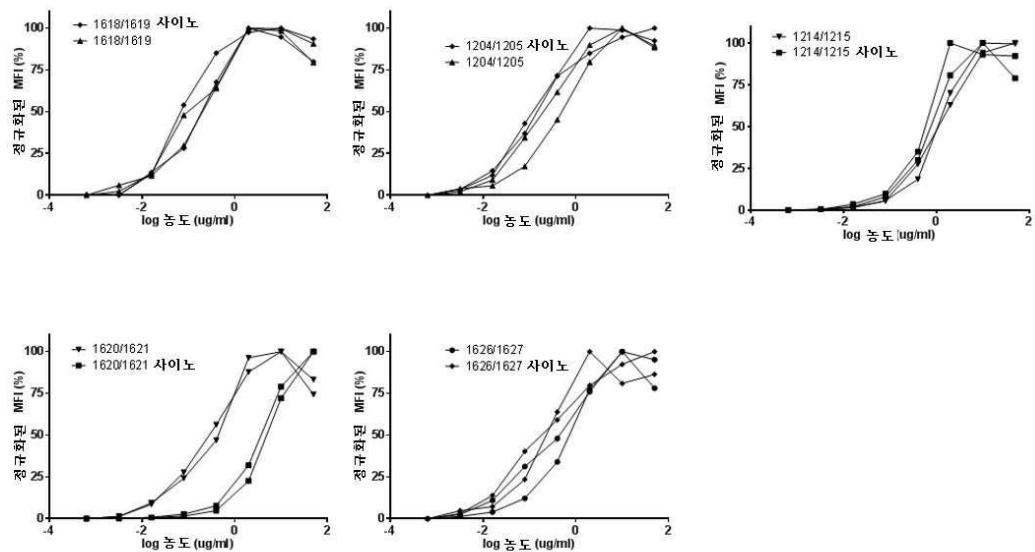
도면18



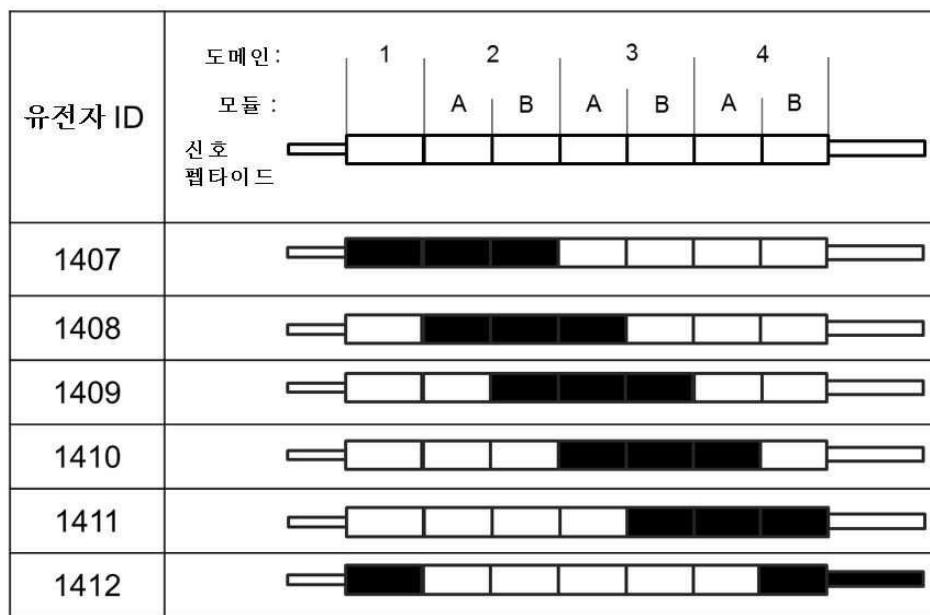
도면19



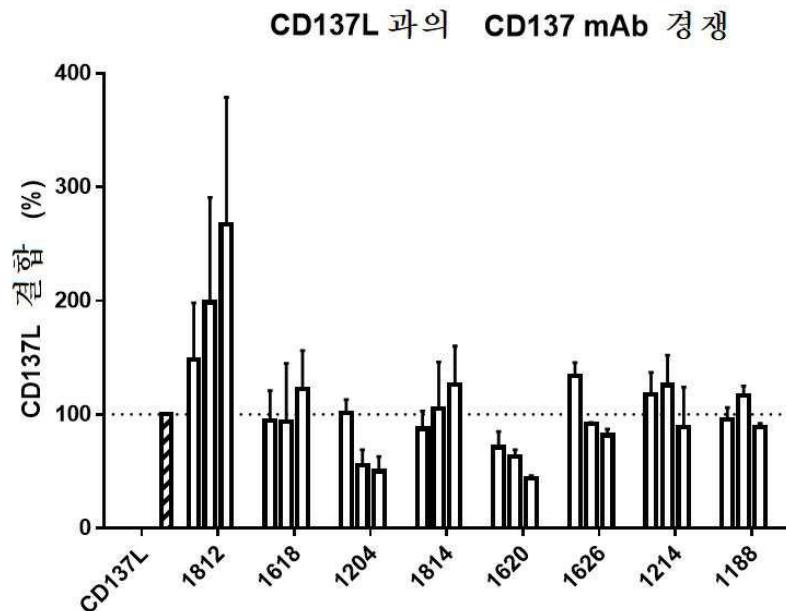
도면20



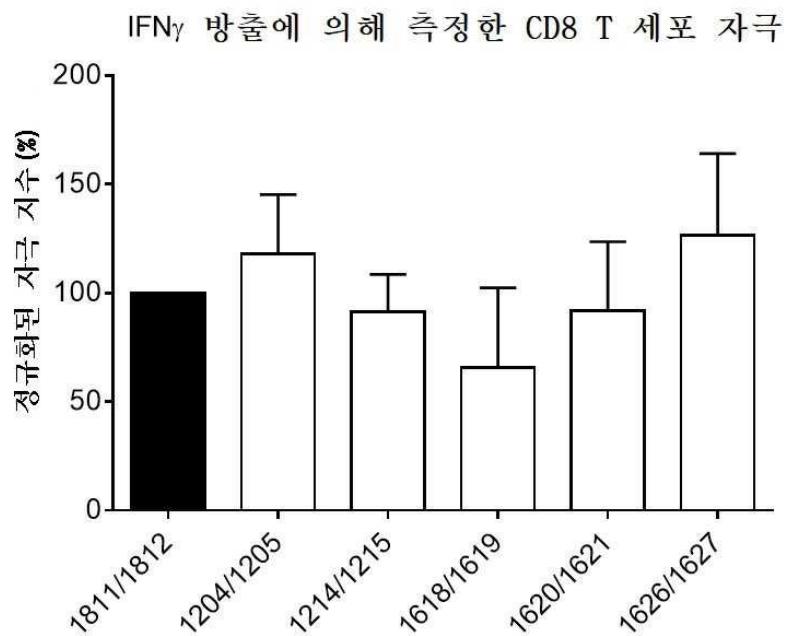
도면21



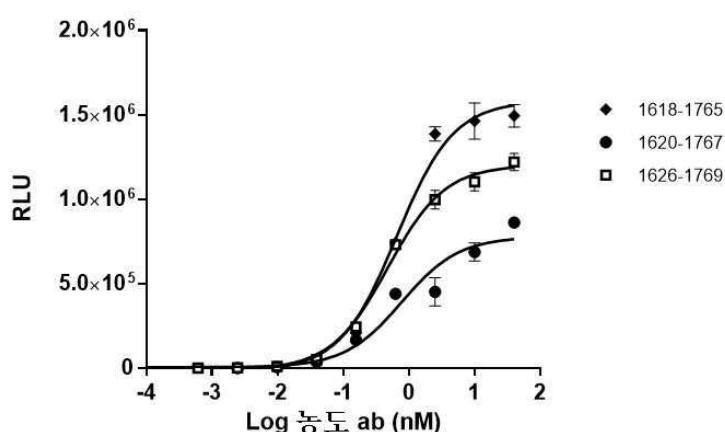
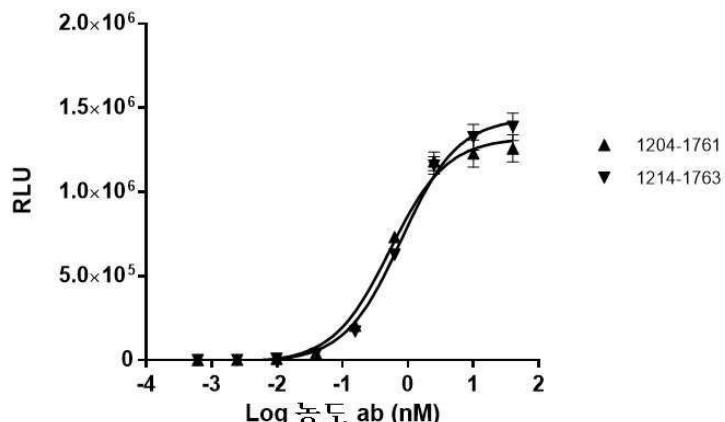
도면22



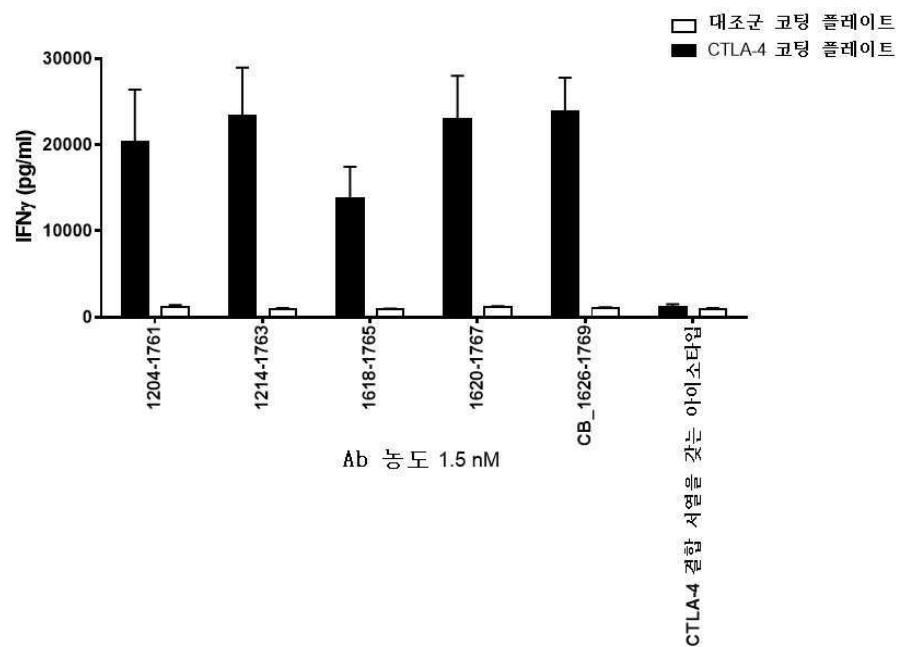
도면23



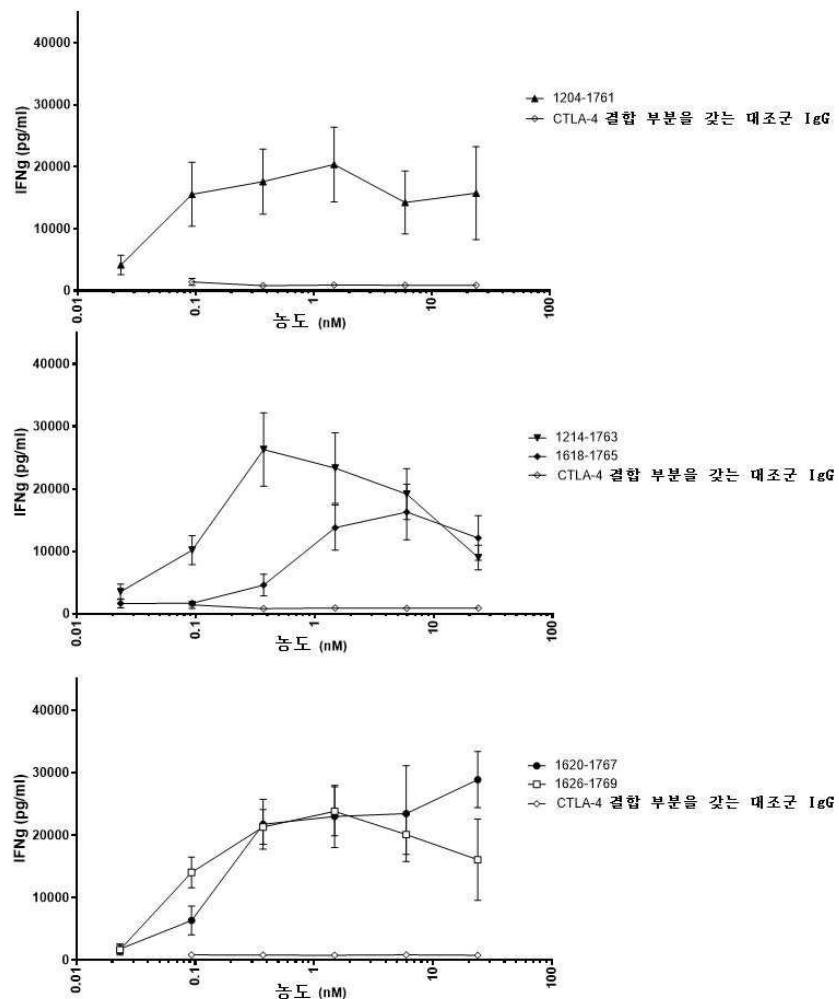
도면24



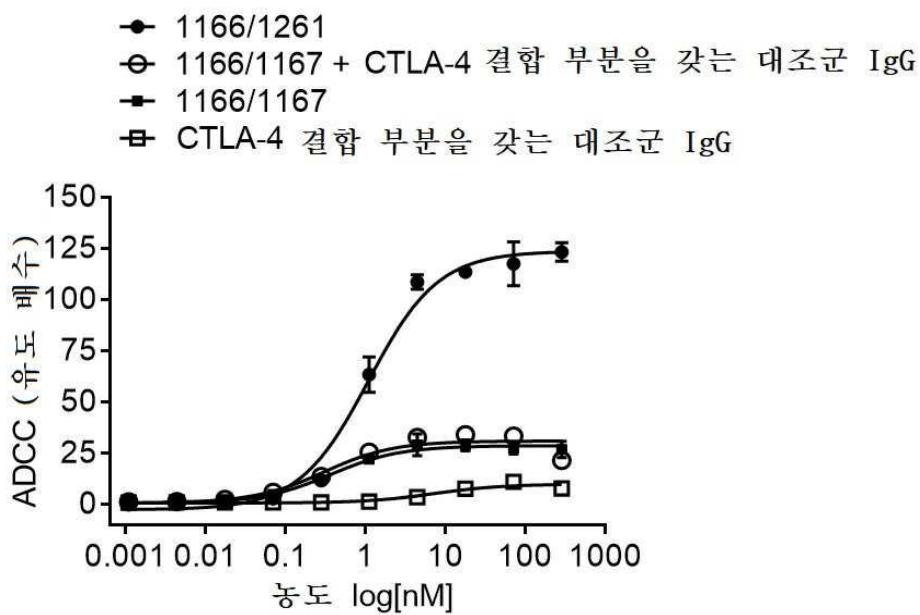
도면25



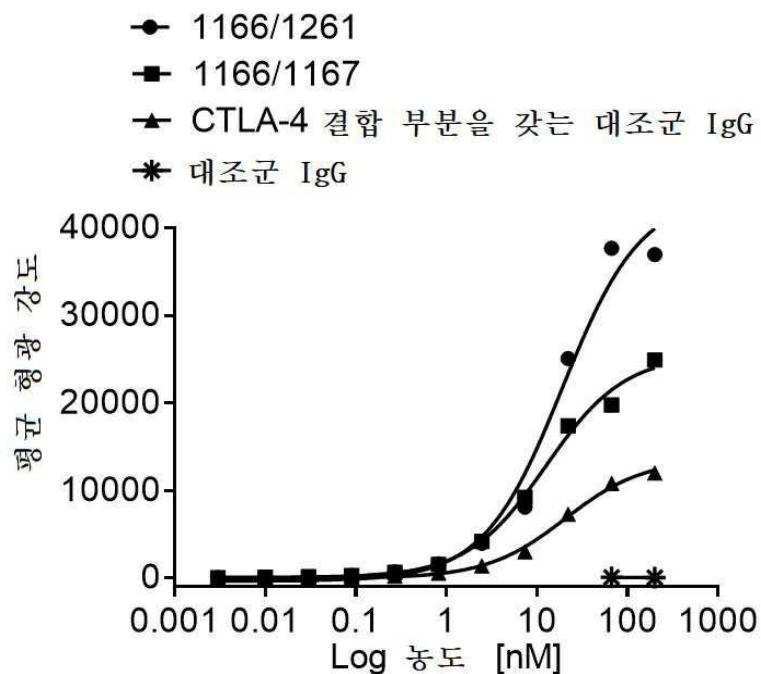
도면26



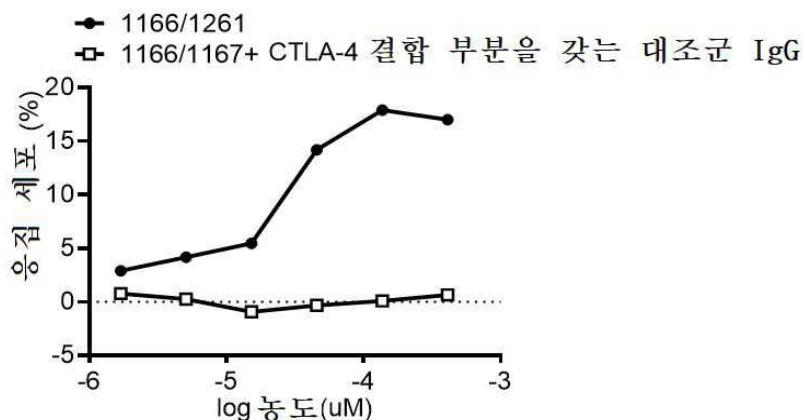
도면27



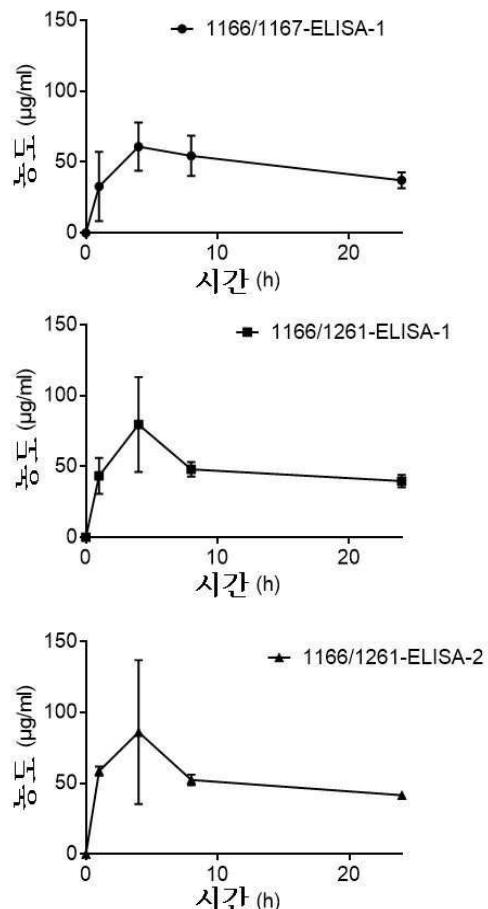
도면28



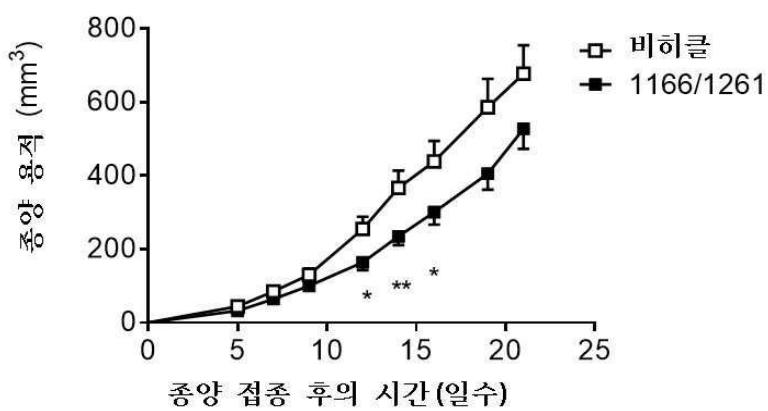
도면29



도면30



도면31



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Alligator Bioscience AB

<120> NOVEL POLYPEPTIDES

<130> WO/2016/185016

<140> PCT/EP2016/061420

<141> 2016-05-20

<150> GB1605450.4

<151> 2016-03-31

<150> GB1514994.1

<151> 2015-08-24

<150> GB1508729.9

<151> 2015-05-21

<160> 226

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 137

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> CTLA-4

<400> 1

Met His Val Ala Gln Pro Ala Val Val Leu Ala Ser Ser Arg Gly Ile

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Ala Thr Tyr Met Met Gly Asn Glu Leu Thr Phe Leu Asp Asp Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Leu Arg Ala Met Asp Thr Gly Leu Tyr Ile Cys Lys Val Glu Leu

85 90 95

Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Tyr Leu Gly Ile Gly Asn Gly Thr Gln Ile

100 105 110

Tyr Val Ile Ala Lys Glu Lys Lys Pro Ser Tyr Asn Arg Gly Leu Cys

115 120 125

Glu Asn Ala Pro Asn Arg Ala Arg Met

130 135

<210> 2

<211> 220

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<220>

<223> CD28

<400> 2

Met Leu Arg Leu Leu Ala Leu Asn Leu Phe Pro Ser Ile Gln Val

1 5 10 15

Thr Gly Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Met Leu Val Ala Tyr

20 25 30

Asp Asn Ala Val Asn Leu Ser Cys Lys Tyr Ser Tyr Asn Leu Phe Ser

35 40 45

Arg Glu Phe Arg Ala Ser Leu His Lys Gly Leu Asp Ser Ala Val Glu

50 55 60

Val Cys Val Val Tyr Gly Asn Tyr Ser Gln Gln Leu Gln Val Tyr Ser

65 70 75 80

Lys Thr Gly Phe Asn Cys Asp Gly Lys Leu Gly Asn Glu Ser Val Thr

85 90 95

Phe Tyr Leu Gln Asn Leu Tyr Val Asn Gln Thr Asp Ile Tyr Phe Cys

100 105 110

Lys Ile Glu Val Met Tyr Pro Pro Tyr Leu Asp Asn Glu Lys Ser

115 120 125

Asn Gly Thr Ile Ile His Val Lys Gly Lys His Leu Cys Pro Ser Pro

130 135 140

Leu Phe Pro Gly Pro Ser Lys Pro Phe Trp Val Leu Val Val Val Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Phe Trp Val Arg Ser Lys Arg Ser Arg Leu Leu His Ser Asp Tyr Met

180 185 190

Asn Met Thr Pro Arg Arg Pro Gly Pro Thr Arg Lys His Tyr Gln Pro

195 200 205

Tyr Ala Pro Pro Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Ser

210 215 220

<210> 3

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly

85 90 95

Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105 110

<210> 4

<211> 247

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Asp Pro Gln Cys Thr Met Gly Leu Ser Asn Ile Leu Phe Val Met

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val

50 55 60

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser

65 70 75 80

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg

85 90 95

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile

100 105 110

His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser

115 120 125

Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile

130 135 140

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

145 150 155 160

His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys

165 170 175

Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp Gly Ile Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn

180 185 190

Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro

195 200 205

Asp Val Thr Ser Asn Met Thr Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys

210 215 220

Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln

225 230 235 240

Pro Pro Pro Asp His Ile Pro

245

<210> 5

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

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

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly

85 90 95

Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105 110

<210> 6

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 900

<400> 6

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln

1 5 10 15

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp

20 25 30

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu

35 40 45

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

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

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

<210> 7

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 901

<400> 7

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Thr Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp

20	25	30
----	----	----

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu

35	40	45
----	----	----

Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp

50	55	60
----	----	----

Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys

65	70	75	80
----	----	----	----

Gly Ile Tyr Gln Cys Val Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile

85	90	95
----	----	----

Lys Ile His Glu Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Thr

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

<210>

8

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 904

<400> 8

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln

1 5 10 15

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Ser Leu Ser Glu Leu Ile Val Phe Trp

20 25 30

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys

65 70 75 80

Gly Ile Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Ser Gly Met Val

85 90 95

Lys Ile His Gln Met Asp Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105

<210> 9

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number number 906

<400> 9

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Ile Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln

1 5 10 15

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp

20 25 30

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys
 65 70 75 80

Gly Phe Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly Leu Val
 85 90 95

Lys Ile His Glu Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105

<210> 10

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 907

<400> 10

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln
 1 5 10 15

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp
 20 25 30

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu
 35 40 45

Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp

50 55 60

Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys
 65 70 75 80

Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile
 85 90 95

Lys Ile His Glu Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105

<210> 11

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 908

<400> 11

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln

1 5 10 15

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp

20 25 30

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu

35 40 45

Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp

50 55 60

Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys

65 70 75 80

Gly Ile Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Val

85 90 95

Lys Ile His Glu Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105

<210> 12

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 910

<400> 12

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln

1 5 10 15

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp

20 25 30

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys

65 70 75 80

Gly Ile Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Val

85 90 95

Lys Ile His Glu Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105

<210> 13

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 915

<400> 13

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln

1 5 10 15

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp

20 25 30

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Ile Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu

35 40 45

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

50 55 60

Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys

65 70 75 80

Gly Phe Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Ser Gly Leu Ile

85 90 95

Lys Ile His Gln Met Asp Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105

<210> 14

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 938

<400> 14

Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro Cys Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp

20	25	30
----	----	----

Gln Asp Gln Glu Asn Leu Ile Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu

35	40	45
----	----	----

Lys Phe Asp Ser Val His Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp

50	55	60
----	----	----

Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys

65	70	75	80
----	----	----	----

Gly Ile Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Val

85	90	95
----	----	----

Lys Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

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

<210> 15

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1038

<400> 15

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1	5	10	15
---	---	----	----

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20	25	30
----	----	----

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35	40	45
----	----	----

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50	55	60
----	----	----

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65	70	75	80
----	----	----	----

Asp Lys Gly Ile Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly

85 90 95

Met Val Lys Ile His Glu Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105 110

<210> 16

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1039

<400> 16

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val Ser Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Ile Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Ser Gly

85 90 95

Met Val Lys Ile His Gln Met Asp Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105 110

<210> 17

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1040

<400> 17

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro
 1 5 10 15
 Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val Val
 20 25 30
 Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly
 35 40 45
 Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser
 50 55 60
 Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys
 65 70 75 80
 Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly
 85 90 95
 Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala
 100 105 110
 <210> 18
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Sequence of clone number 1041
 <400> 18
 Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Leu Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro
 1 5 10 15
 Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val Val
 20 25 30
 Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly
 35 40 45
 Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

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

85 90 95

Leu Val Lys Ile His Glu Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105 110

<210> 19

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1042

<400> 19

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

Lys Glu Ile Phe Asp Ser Val Ser Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Ile Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Ser Gly

85 90 95

Met Val Lys Ile His Gln Met Asp Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105 110

<210> 20

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1043

<400> 20

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

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

50	55	60													
Phe	Asp	Ser	Asp	Ser	Trp	Thr	Leu	Arg	Leu	His	Asn	Leu	Gln	Ile	Lys
65		70			75			80							
Asp	Lys	Gly	Ile	Tyr	Gln	Cys	Ile	Ile	His	His	Lys	Lys	Pro	Thr	Gly
			85			90			95						
Met	Ile	Lys	Ile	His	Glu	Met	Asn	Ser	Glu	Leu	Ser	Val	Leu	Ala	
			100			105			110						
<210>	21														
<211>	111														
<212>	PRT														
<213>	Artificial Sequence														

<220>
<223> Sequence of clone number 1044
<400> 21
Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro
1 5 10 15
Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Thr Leu Ser Glu Leu Val Val
20 25 30
Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly
35 40 45
Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val Ser Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50	55	60													
Phe	Asp	Ser	Asp	Ser	Trp	Thr	Leu	Arg	Leu	His	Asn	Leu	Gln	Ile	Lys
65		70			75			80							
Asp	Lys	Gly	Ile	Tyr	Gln	Cys	Ile	Ile	His	His	Lys	Lys	Pro	Thr	Gly
			85			90			95						

Met Ile Lys Ile His Glu Met Ser Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105 110

<210> 22

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1045

<400> 22

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Thr Leu Ser Glu Leu Val Val

20 25 30

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

35 40 45

Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

50 55 60

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

65 70 75 80

Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly

85 90 95

Leu Val Lys Ile His Glu Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

100 105 110

<210> 23

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1046

<400> 23

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Gln Ser Leu Ser Glu Leu Val Val
 20 25 30
 Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly
 35 40 45
 Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

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

<210> 24

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1047

<400> 24

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro
 1 5 10 15

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val Val
 20 25 30
 Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly
 35 40 45
 Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

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

100 105 110

<210> 25

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 900

<400> 25

ctcaaaatcc aagcgtaactt caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaattcg	60
cagaatcaaa gcctgagcga actggtggtt ttctggcagg atcaggagaa cctggttctg	120
aacgaagtct atctggcaa agagaaattc gacagcgtgg acagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaa at caaagataag	240
ggtatctacc agtgcgtgat ccaccataag aagccgagcg gtctggtaa gattcacgag	300
atgaactccg agttgtctgt cctggcg	327

<210> 26

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 901

<400> 26

ctcaaaatcc aagcgtaactt caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaattcg	60
cagaatctga ccctgagcga actggtggtt ttctggcagg atcaggagaa cctggttctg	120
aacgaagtct atctggcaa agagaaattc gacagcgtgc atagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaa at caaagataag	240
ggtatctacc agtgcgtgat ccaccataag aagccgacgg gtatgattaa gattcacgag	300
atgaactccg agttgtctgt cctgacc	327

<210> 27

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 904

<400> 27

ctcaaaatcc aagcgtactt caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaaattcg	60
cagaatcaa gcctgagcga actgatcggt ttctggcagg atcaggagaa cctggttctg	120
aacgaagtct atctggcaa agagcggttc gacgcgtgg acagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaaattaa caaagataag	240
ggtatctacc agtgcattat ccaccataag aagccgacgcgtt gatggtaaa gattcaccaa	300
atggactccg agttgtctgt cctggcg	327

<210> 28

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 906

<400> 28

ctcaaaatcc aagcgtacat caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaaattcg	60
cagaatctga gcctgagcga actgggtggtt ttctggcagg atcaggagaa cctggttctg	120
aacgaagtct atctggcaa agagcggttc gacgcgtgg acagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaaattaa caaagataag	240
ggttctacc agtgcattat ccaccataag aagccgacgg gtatggtaaa gattcacgag	300
atgaactccg agttgtctgt cctggcg	327

<210> 29

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 907

<400> 29

ctcaaaatcc aagcgtactt caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaaattcg	60
cagaatcaa gcctgagcga actgggtggtt ttctggcagg atcaggagaa cctggttctg	120
aacgaagtct atctggcaa agagaaattc gacgcgtgc atagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaaattaa caaagataag	240
ggtctgtacc agtgcattat ccaccataag aagccgacgg gtatgattaa gattcacgag	300

atgaactccg agttgtctgt cctggcg 327

<210> 30

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 908

<400> 30

ctcaaaatcc aagcgtactt caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaattcg	60
cagaatcaaa gcctgagcga actggtggtt ttctggcagg atcaggagaa cctggttctg	120
aacgaagtct atctggcaa agagaaattc gacagcgtgc atagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaaataa caaagataag	240
gttatctacc agtgcattat ccaccataag aagccgacgg gtatggtaa gattcacgag	300
atgaactccg agttgtctgt cctggcg	327

<210> 31

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 910

<400> 31

ctcaaaatcc aagcgtactt caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaattcg	60
cagaatcaaa gcctgagcga actggtggtt ttctggcagg atcaggagaa cctggttctg	120
aacgaagtct atctggcaa agagaaattc gacagcgtgg acagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaaataa caaagataag	240
gttatctacc agtgcattat ccaccataag aagccgacgg gtatggtaa gattcacgag	300
atgaactccg agttgtctgt cctggcg	327

<210> 32

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence for clone number 915

<400> 32

ctcaaaatcc aagcgtactt caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaaattcg	60
cagaatcaaa gcctgagcga actggtggtt ttctggcagg atcaggagaa cctgatcccg	120
aacgaagtct atctggcaa agagaaattc gacagcgtgg acagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaaatt caaagataag	240
ggtttctacc agtgcattat ccaccataag aagccgagcg gtctgattaa gattcaccaa	300
atggactccg agttgtctgt cctggcg	327

<210> 33

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 938

<400> 33

ctcaaaatcc aagcgtactt caacgaaact gcagacttac cgtgtcagtt tgccaaattcg	60
cagaatctga gcctgagcga actggtggtt ttctggcagg atcaggagaa cctgatcccg	120
aacgaagtct atctggcaa agagcggttc gacagcgtgc atagcaagta tatggccgc	180
accagcttg atagcgacag ctggaccctg cgtctgcaca atctgcaaatt caaagataag	240
ggtctgtacc agtgcattat ccaccataag aagccgagcg gtatggtaa gattcacgag	300
atgaactccg agttgtctgt cctggcg	327

<210> 34

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1038

<400> 34

ccccccctca aaatccaagc gtacttcaac gaaactgcag acttaccgtg tcagttgcc	60
aattcgcaga atctgagcct gagcgaactg gtggtttct ggcaggatca ggagaacctg	120
gttctgaacg aagtctatct gggcaaagag aaattcgaca gcgtggacag caagtatatg	180
ggccgcacca gctttgatag cgacagctgg accctgcgtc tgcacaatct gcaaataaa	240
gataagggtta tctaccagtg cattatccac cataagaagc cgacgggtat ggtgaagatt	300

cacgagatga actccgagtt gtctgtcctg gcg 333

<210> 35

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1039

<400> 35

ccccccctca aaatccaagg	gtacttcaac gaaactgcag	attaccgtg tcagttgcc	60
aattcgcaga atctgagcct	gagcgaactg gtggtttct	ggcaggatca ggagaacctg	120
gttctgaacg aagtctatct	ggccaaagag aaattcgaca	gcgtgagtag caagtatatg	180
ggccgcacca gcttgatag	cgacagctgg accctgcgtc	tgcacaatct gcaaataaaa	240
gataaggta tctaccagtg	cattatccac cataagaagc	cgagcgttat ggtgaagatt	300
caccaaatgg actccgagtt	gtctgtcctg gcg		333

<210> 36

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1040

<400> 36

ccccccctca aaatccaagg	gtacttcaac gaaactgcag	attaccgtg tcagttgcc	60
aattcgcaga atctgagcct	gagcgaactg gtggtttct	ggcaggatca ggagaacctg	120
gttctgaacg aagtctatct	ggccaaagag cggttcgaca	gcgtggacag caagtatatg	180
ggccgcacca gcttgatag	cgacagctgg accctgcgtc	tgcacaatct gcaaataaaa	240
gataaggta ggtaccagtg	cattatccac cataagaagc	cgacgggtat gattaatatt	300
caccaaatgg actccgagtt	gtctgtcctg gcg		333

<210> 37

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1041

<400> 37

gccccctca	aaatccaagc	gtaccta	ac gaaactgcag	acttaccgt	tcagttgc	60	
aattcgaga	atctgagc	cct gagcga	actg gtgg	tttct	ggcaggatca	ggagaac	120
gttctgaac	g aagtctat	ct gggcaa	agag aaattc	gaca	gcgtgg	acag caagtat	180
ggccgcac	ca gcttgat	tag cgacag	ctgg accc	tgcgtc	tgcacaat	ct gcaa	240
gataaggta	tctacc	agtg cattat	ccac cataaga	agc cgacgg	gtct ggt	aaagatt	300
cacgagat	ga actcc	gagtt ctgc	tgcg				333

<210> 38

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1042

<400> 38

gccccctca	aaatccaagc	gtacttca	ac gaaactgcag	acttaccgt	tcagttgc	60	
aattcgaga	atctgagc	cct gagcga	actg gtgg	tttct	ggcaggatca	ggagaac	120
gttctgaac	g aagtctat	ct gggcaa	agag atttc	gaca gcgtg	agtag caagtat	atg	180
ggccgcac	ca gcttgat	tag tgacag	ctgg accc	tgcgtc	tgcacaat	ct gcaa	240
gataaggta	tctacc	agtg cattat	ccac cataaga	agc cgacgg	gtct ggt	aaagatt	300
caccaa	atgg actcc	gagtt ctgc	tgcg				333

<210> 39

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1043

<400> 39

gccccctca	aaatccaagc	gtacttca	ac gaaactgcag	acttaccgt	tcagttgc	60	
aattcgaga	atctgagc	cct gagcga	actg gtgg	tttct	ggcaggatca	ggagaac	120
gttctgaac	g aagtctat	ct gggcaa	agag aaattc	gaca gcgtg	gat	ag caagtat	180
ggccgcac	ca gcttgat	tag cgacag	ctgg accc	tgcgtc	tgcacaat	ct gcaa	240
gataaggta	tctacc	agtg cattat	ccac cataaga	agc cgacgg	gtct ggt	aaagatt	300

cacgagatga actccgagtt gtctgtcctg gcg 333

<210> 40

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1044

<400> 40

ccccccctca aaatccaagg	gtacttcaac gaaactgcag	attaccgtg tcagttgcc	60
aattcgcaga atctgaccct	gagcgaactg gtggtttct	ggcaggatca ggagaacctg	120
gttctgaacg aagtctatct	ggcaaagag aaattcgaca	gcgtgtctag caagtatatg	180
ggccgcacca gcttgatag	cgacagctgg accctgcgtc	tgcacaatct gcaaataaaa	240
gataaggta tctaccagtg	cattatccac cataagaagc	cgacgggtat gattaagatt	300
cacgagatga gctccgagtt	gtctgtcctg gcg		333

<210> 41

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1045

<400> 41

ccccccctca aaatccaagg	gtacttcaac gaaactgcag	attaccgtg tcagttgcc	60
aattcgcaga atctgaccct	gagcgaactg gtggtttct	ggcaggatca ggagaacctg	120
gttctgaacg aagtctatct	ggcaaagag aaattcgaca	gcgtggacag caagtatatg	180
ggccgcacca gcttgatag	cgacagctgg accctgcgtc	tgcacaatct gcaaataaaa	240
gataagggtc tgtaccagtg	cattatccac cataagaagc	cgacgggtct ggtgaagatt	300
cacgagatga actccgagtt	gtctgtcctg gcg		333

<210> 42

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1046

<400> 42

gccccctca	aaatccaagc	gtacttcaac	gaaactgcag	acttaccgtg	tcagttgcc	60
aattcgcaga	atcaaaggct	gagcgaactg	gtggtttct	ggcaggatca	ggagaacctg	120
gttctgaacg	aagtctatct	ggccaaagag	aaattcgaca	gcgtggacag	caagtatatg	180
ggccgcacca	gcttgatag	cgacagctgg	accctgcgtc	tgcacaatct	gcaaatcgaa	240
gataaggta	tctaccagtg	cattatccac	cataagaagc	cgagcggtat	ggtgaagatt	300
caccaaatgg	actccgagtt	gtctgtcctg	gcg			333

<210> 43

<211> 333

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Sequence of clone number 1047

<400> 43

gccccctca	aaatccaagc	gtacttcaac	gaaactgcag	acttaccgtg	tcagttgcc	60
aattcgcaga	atctgagcct	gagcgaactg	gtggtttct	ggcaggatca	ggagaacctg	120
gttctgaacg	aagtctatct	ggccaaagag	aaattcgaca	gcgtggacag	caagtatatg	180
ggccgcacca	gcttgatag	cgacagctgg	accctgcgtc	tgcacaatct	gcaaatcaa	240
gataaggta	tctaccagtg	cattatccac	cataagaagc	cgacgggtct	ggtgaagatt	300
cacgagatga	actccgagtt	gtctgtcctg	gcg			333

<210> 44

<211> 329

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 44

Met Asp Pro Gln Cys Thr Met Gly Leu Ser Asn Ile Leu Phe Val Met

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Leu Ser Glu Leu Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val

50 55 60

Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly Lys Glu Lys Phe Asp Ser Val His Ser

65 70 75 80

Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg

85 90 95

Leu His Asn Leu Gln Ile Lys Asp Lys Gly Leu Tyr Gln Cys Ile Ile

100 105 110

His His Lys Lys Pro Thr Gly Met Ile Arg Ile His Gln Met Asn Ser

115 120 125

Glu Leu Ser Val Leu Ala Asn Phe Ser Gln Pro Glu Ile Val Pro Ile

130 135 140

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

145 150 155 160

His Gly Tyr Pro Glu Pro Lys Lys Met Ser Val Leu Leu Arg Thr Lys

165 170 175

Asn Ser Thr Ile Glu Tyr Asp Gly Ile Met Gln Lys Ser Gln Asp Asn

180 185 190

Val Thr Glu Leu Tyr Asp Val Ser Ile Ser Leu Ser Val Ser Phe Pro

195 200 205

Asp Val Thr Ser Asn Met Thr Ile Phe Cys Ile Leu Glu Thr Asp Lys

210 215 220

Thr Arg Leu Leu Ser Ser Pro Phe Ser Ile Glu Leu Glu Asp Pro Gln

225 230 235 240

Pro Pro Pro Asp His Ile Pro Trp Ile Thr Ala Val Leu Pro Thr Val

245 250 255

Ile Ile Cys Val Met Val Phe Cys Leu Ile Leu Trp Lys Trp Lys Lys

260 265 270

Lys Lys Arg Pro Arg Asn Ser Tyr Lys Cys Gly Thr Asn Thr Met Glu

275 280 285

Arg Glu Glu Ser Glu Gln Thr Lys Lys Arg Glu Lys Ile His Ile Pro

290	295	300
Glu Arg Ser Asp Glu Ala Gln Arg Val Phe Lys Ser Ser Lys Thr Ser		
305	310	315
Ser Cys Asp Lys Ser Asp Thr Cys Phe		
325		
<210> 45		
<211> 223		
<212> PRT		
<213> Mus musculus		
<400> 45		
Met Ala Cys Leu Gly Leu Arg Arg Tyr Lys Ala Gln Leu Gln Leu Pro		
1	5	10
Ser Arg Thr Trp Pro Phe Val Ala Leu Leu Thr Leu Leu Phe Ile Pro		
20	25	30
Val Phe Ser Glu Ala Ile Gln Val Thr Gln Pro Ser Val Val Leu Ala		
35	40	45
Ser Ser His Gly Val Ala Ser Phe Pro Cys Glu Tyr Ser Pro Ser His		
50	55	60
Asn Thr Asp Glu Val Arg Val Thr Val Leu Arg Gln Thr Asn Asp Gln		
65	70	75
Met Thr Glu Val Cys Ala Thr Thr Phe Thr Glu Lys Asn Thr Val Gly		
85	90	95
Phe Leu Asp Tyr Pro Phe Cys Ser Gly Thr Phe Asn Glu Ser Arg Val		
100	105	110
Asn Leu Thr Ile Gln Gly Leu Arg Ala Val Asp Thr Gly Leu Tyr Leu		
115	120	125
Cys Lys Val Glu Leu Met Tyr Pro Pro Pro Tyr Phe Val Gly Met Gly		
130	135	140
Asn Gly Thr Gln Ile Tyr Val Ile Asp Pro Glu Pro Cys Pro Asp Ser		
145	150	155
Asp Phe Leu Leu Trp Ile Leu Val Ala Val Ser Leu Gly Leu Phe Phe		

165	170	175
Tyr Ser Phe Leu Val Ser Ala Val Ser Leu Ser Lys Met Leu Lys Lys		
180	185	190
Arg Ser Pro Leu Thr Thr Gly Val Tyr Val Lys Met Pro Pro Thr Glu		
195	200	205
Pro Glu Cys Glu Lys Gln Phe Gln Pro Tyr Phe Ile Pro Ile Asn		
210	215	220
<210> 46		
<211> 218		
<212> PRT		
<213> Mus musculus		

<400> 46		
Met Thr Leu Arg Leu Leu Phe Leu Ala Leu Asn Phe Phe Ser Val Gln		
1	5	10
Val Thr Glu Asn Lys Ile Leu Val Lys Gln Ser Pro Leu Leu Val Val		
20	25	30
Asp Ser Asn Glu Val Ser Leu Ser Cys Arg Tyr Ser Tyr Asn Leu Leu		
35	40	45
Ala Lys Glu Phe Arg Ala Ser Leu Tyr Lys Gly Val Asn Ser Asp Val		
50	55	60

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

Ser Asn Gly Thr Ile Ile His Ile Lys Glu Lys His Leu Cys His Thr		
130	135	140
Gln Ser Ser Pro Lys Leu Phe Trp Ala Leu Val Val Val Ala Gly Val		
145	150	155
160		

Leu Phe Cys Tyr Gly Leu Leu Val Thr Val Ala Leu Cys Val Ile Trp
 165 170 175
 Thr Asn Ser Arg Arg Asn Arg Leu Leu Gln Val Thr Thr Met Asn Met
 180 185 190

Thr Pro Arg Arg Pro Gly Leu Thr Arg Lys Pro Tyr Gln Pro Tyr Ala
 195 200 205
 Pro Ala Arg Asp Phe Ala Ala Tyr Arg Pro
 210 215

<210> 47

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence

<400> 47

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 48

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence

<

400> 48

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ala Pro

1 5 10

<210> 49

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence

<400> 49

Asn Phe Ser Gln Pro

1 5

<210> 50

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence

<400> 50

Lys Arg Thr Val Ala

1 5

<210> 51

<211> 277

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 51

Met Cys Val Gly Ala Arg Arg Leu Gly Arg Gly Pro Cys Ala Ala Leu

1 5 10 15

Leu Leu Leu Gly Leu Gly Leu Ser Thr Val Thr Gly Leu His Cys Val

20 25 30

Gly Asp Thr Tyr Pro Ser Asn Asp Arg Cys Cys His Glu Cys Arg Pro

35 40 45

Gly Asn Gly Met Val Ser Arg Cys Ser Arg Ser Gln Asn Thr Val Cys

50 55 60

Arg Pro Cys Gly Pro Gly Phe Tyr Asn Asp Val Val Ser Ser Lys Pro

65 70 75 80

Cys Lys Pro Cys Thr Trp Cys Asn Leu Arg Ser Gly Ser Glu Arg Lys

85 90 95

Gln Leu Cys Thr Ala Thr Gln Asp Thr Val Cys Arg Cys Arg Ala Gly

100 105 110

Thr Gln Pro Leu Asp Ser Tyr Lys Pro Gly Val Asp Cys Ala Pro Cys

115 120 125

Pro Pro Gly His Phe Ser Pro Gly Asp Asn Gln Ala Cys Lys Pro Trp

130	135	140
Thr Asn Cys Thr Leu Ala Gly Lys His Thr Leu Gln Pro Ala Ser Asn		
145	150	155
Ser Ser Asp Ala Ile Cys Glu Asp Arg Asp Pro Pro Ala Thr Gln Pro		
165	170	175
Gln Glu Thr Gln Gly Pro Pro Ala Arg Pro Ile Thr Val Gln Pro Thr		
180	185	190
Glu Ala Trp Pro Arg Thr Ser Gln Gly Pro Ser Thr Arg Pro Val Glu		
195	200	205
Val Pro Gly Gly Arg Ala Val Ala Ala Ile Leu Gly Leu Gly Leu Val		
210	215	220
Leu Gly Leu Leu Gly Pro Leu Ala Ile Leu Leu Ala Leu Tyr Leu Leu		
225	230	235
Arg Arg Asp Gln Arg Leu Pro Pro Asp Ala His Lys Pro Pro Gly Gly		
245	250	255
Gly Ser Phe Arg Thr Pro Ile Gln Glu Glu Gln Ala Asp Ala His Ser		

260	265	270
-----	-----	-----

Thr Leu Ala Lys Ile

275

<210> 52

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 52

Gly Phe Thr Phe Gly Gly Tyr Tyr

1	5
---	---

<210> 53

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 53

Gly Phe Thr Phe Tyr Gly Ser Ser

1 5

<210> 54

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 54

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Ser Ser

1 5

<210> 55

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 55

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 56

Gly Phe Thr Phe Gly Tyr Tyr Tyr

1 5

<210> 57

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 57

Gly Phe Thr Phe Gly Ser Tyr Tyr

1 5

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 58

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Ser

1 5

<210> 59

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 59

Gly Phe Thr Phe Gly Ser Ser Ser

1 5

<210> 60

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 60

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 61

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Ile Pro Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 62

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 62

Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Tyr Thr

1 5

<210> 63

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 63

Ile Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr Thr

1 5

<210> 64

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 64

Ile Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr Thr

1 5

<210> 65

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 65

Ile Ser Ser Tyr Gly Ser Tyr Thr

1 5

<210> 66

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 66

Ile Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr

1 5

<210> 67

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 67

Ile Gly Tyr Ser Gly Tyr Gly Thr

1 5

<210> 68

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 68

Ile Gly Tyr Tyr Ser Tyr Ser Thr Ser

1 5

<210> 69

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 69

Ala Arg Tyr Asp Tyr Ala Ser Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 70

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 70

Ala Arg Tyr Asp Tyr Tyr Trp Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 71

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 71

Ala Arg Gly Val Pro His Gly Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 72

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 72

Ala Arg Tyr Phe Pro His Tyr Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 73

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 73

Ala Arg Gly Tyr Gly Tyr Leu Asp Tyr

1 5

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 74

Ala Arg Tyr Tyr Pro His His Tyr Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 75

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 75

Ala Arg Ser Gly Tyr Ser Asn Trp Ala Asn Ser Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 76

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 76

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

1 5 10 15

Tyr

<210> 77

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 77

Ala Arg His Asp Tyr Gly Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 78

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 78

Ala Arg Tyr Tyr Phe His Asp Tyr Ala Ala Tyr Ser Leu Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 79

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 79

Ala Arg Gly Tyr Pro His His Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 80

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 80

Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

1 5

<210> 81

<211> 3

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 81

Ala Ala Ser

1

<210> 82

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 82

Gln Gln Tyr Tyr Trp Tyr Gly Leu Ser Thr

1 5 10

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 83

Gln Gln Gly His Gly Ser Tyr Pro His Thr

1 5 10

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 84

Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 85

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 85

Gln Gln Tyr Gly Ser Leu Leu Thr

1 5

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 86

Gln Gln Gly Asp Tyr Thr Leu Phe Thr

1 5

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 87

Gln Gln Tyr Gly Pro Ser Gly Leu Phe Thr

1 5 10

<210> 88

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 88

Gln Gln Tyr Gly Ser Asp Ser Leu Leu Thr

1 5 10

<210> 89

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 89

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 Tyr Tyr Trp Tyr Gly Leu

85 90 95

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

100 105

<210> 90

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 90

gacatccaga tgaccaggc tccatccctcc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtcacc	60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatcaa attggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagg tgcaaagtgg ggtcccatca	180
cgttcagtg gcagtggaag cgggacagat ttcaactcta ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag tactactggt acggctgtc cactttggc	300

caggggacca agctggagat caaa	324
----------------------------	-----

<210> 91

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 91

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Gly Tyr

20 25 30

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 92

<211> 351

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 92

gagggtgcagc tgggtggagag cggggggaggc ttgggtacagc ctggggggtc cctgcgcctc	60
tcctgtgcag ccagcgatt caccttttgtt ggttactaca tgtcttggtt ccgccaggct	120
ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggtt gtgggtgttag cacatactat	180
gcagactccg tgaagggcccgttaccatc tccctgtaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acacgcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgctacgac	300
tacgcttcta tggactattt gggccaggga accctggta ccgtctccctca	351

<210> 93

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 93

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 Gly His Gly Ser Tyr Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 94

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 94

gacatccaga tgaccagtc tccatctcc ctgagcgtat ctgttaggaga ccgcgtcacc 60

atcaacttgcc gggcaagtca gagcatttgc agctattaa attggatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctct gatctatgtt gcatccagg ttgcaaatgg ggtcccatca 180

cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaacttca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttgc caacttata ctgtcaacag ggtcatggtt cttaccgcac cactttggc 300

caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 95

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 95

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 Gly Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Pro 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 Arg Tyr Asp Tyr Tyr Trp Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 96

<211> 351

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 96

gaggtgcgc tggtagag cgggggaggc ttggtagac ctgggggtc cctgcgcctc 60

tcctgtgcag ccagcgatt caccttggt ggtaactaca tgtctgggt ccgcaggct 120

ccagggaaagg ggctggatg ggtctcatac attcctggtt ctggtggtc tacatactat 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccctgaca attccaagaa cacgtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgcgtac 300

tactactgga tggactattg gggccaggga accctggta cctgtccctc a 351

<210> 97

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 97

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 Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 98

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 98

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gagcatttagc agctattaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagg tgcaaagtgg ggtccatca 180

cgttcagtg gcagtggaag cgggacagat ttcaactca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagatttg caacttatta ctgtcaacag agttacagta cccctatac ttttggccag 300
 gggaccaagc tggagatcaa a 321

<210> 99

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 99

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	Tyr	Gly	Ser
20	25		30												

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

35	40	45
----	----	----

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

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

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

85	90	95
----	----	----

Ala Arg Gly Val Pro His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

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

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 100

<211> 354

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 100

gaggtgcagc tgggggaggc ttggcacgc ctgggggtc cctgcgcctc 60
 tcctgtcagc ccacggatt cacctttac ggttctcta tgtactgggt ccgccaggct 120
 ccagggagg ggctggagtg ggtctcaggat atttacttt ctggtggtt cacatttat 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccctgaca attccaagaa cacgcgttat 240

ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgccgtgtt 300

cctcatggtt acttgacta ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 101

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 101

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 Gly Ser

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

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

Leu Val Thr Val Ser Ser

115	120	125
-----	-----	-----

<210> 102

<211> 354

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 102

gaggtgcagc tgggggaggc ttggtagc cttgggggtc cctgcgcctc 60
 tcctgtcgac ccacggatt cacctttagt ggttttcta tgtttgggt ccgcaggct 120
 ccagggagg ggctggagt ggtctcatct atttctact acggtggtt cacatactat 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccctgaca attccaagaa cacgcgttat 240
 ctgcaaatga acagcctgctgcccaggac acggctgtat attattgtgc gcgctacttc 300

ccgcattact acttgacta ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 103

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 103

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 Tyr Gly Ser Leu Leu Thr

85	90	95
----	----	----

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

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

<210> 104

<211> 318

<212>

DNA

<213> Homo sapiens

<400> 104

gacatccaga tgaccaggc tccatcctcc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gaggcatttc agctatcaa attggatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagtcct gatctatgtc gcatccagg tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 cgttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaactca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagatttg caacttatta ctgtcaacag tacggttctc tgctcacttt tggccagggg 300
 accaagtgg agatcaa 318

<210> 105

<211>

116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 105

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Tyr Ile Ser Tyr Tyr Ser Gly Tyr 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 Arg Gly Tyr Gly Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 106

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 106

gaggtgcagc tggggggggc ttggtagc ctggggggtc cctgcgcctc 60
 tcctgtgcag ccagcgatt caccttagc agctatgcc a tgagctgggt ccggccaggct 120

ccagggagg ggctggagt ggtctcatac atttctact actctggta cacatactat	180
gcagactcg tgaagggccg gttcaccatc tcccgtaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgca tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgcggttac	300
gttacttgg acitattgggg ccagggAAC ctggcaccc ttcctca	348

<210> 107

<211> 118

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 107

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Ile Ser Tyr Tyr Gly Gly Tyr 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 Arg Tyr Tyr Pro His His Tyr Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 108

<211> 354

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 108

gaggtgcagc tggggggggc ttggtagc ctggggggtc cctgcgcctc	60
tcctgtgcag ccagcggatt caccttagc agctatgcca tgagctgggt ccgcggct	120

ccagggagg ggctggagt ggtctcagg atttctact acggtggtt cacatactat 180
 gcagactcg tgaagggccg gttcaccatc tcccgtagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgctactac 300
 ccgcatcatt acattgacta ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 109

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 109

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 Gly Asp Tyr Thr Leu Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 110

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 110

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctattaa attggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatgg caacttata ctgtcaacag ggtgattaca ctctgtcac tttggccag 300
 gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 111

<211> 121

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 111

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 Gly Tyr Tyr

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

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

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115	120
-----	-----

<210> 112

<211> 363

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 112

gagggtcagc tggggggggc ttggtagc cttgggggtc cctgcgcctc 60

tcctgtgcag ccagcgatt caccttttgt tactactaca tgtctgggt ccgccaggct 120

ccagggagg ggctggagg tggtctcaggat atttcttctt acggtagtta cacatactat 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgcctggt 300
 tactctaact gggctaactc ttttactat tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360
 tca 363
 <210> 113
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 113

Glu	Val	Gln	Leu	Leu	Glu	Ser	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly
1														
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															
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
	85			90										95	
Ala	Arg	Tyr	Tyr	Tyr	Ser	His	Gly	Tyr	Tyr	Val	Tyr	Gly	Thr	Leu	Asp
	100			105										110	
Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser				
	115			120											

<210> 114

<

<211> 372

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 114

gaggtgcagc	tgttgagag	cggggaggc	ttggtagc	ctgggggtc	cctgcgcctc	60
tcctgtgcag	ccagcggatt	cacctttagc	agctatgcc	tgagctgggt	ccgcccaggct	120
ccagggaaagg	ggctggagtg	ggctcagct	attagtggt	gtggtggt	cacatactat	180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tcccgtaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatacg acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgcctactac	300
tactctcatg gttaactacgt ttacggtaact ttggactatt gggccaggg aaccctggtc	360
accgtctcct ca	372

<210> 115

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 115

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 Tyr Gly Pro Ser Gly Leu

85 90 95

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

100 105

<210> 116

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 116

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctattaa attggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180
cgtttagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240

gaagatttg caacttatta ctgtcaacag tacggccgt ctggctgtt cactttggc 300
 caggggacca agctggagat caaa 324
 <210> 117
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 117
 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	Gly	Ser	Tyr

20	25	30													
Tyr	Met	Gly	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
35	40	45													
Ser	Ser	Ile	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Gly	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	Arg	His	Asp	Tyr	Gly	Ala	Leu	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu
100	105	110													
Val	Thr	Val	Ser	Ser											
115															

<210> 118
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 118
 gaggtgcagc tgggggaggc ttggcacgc ctgggggtc cctgcgcctc 60

tcctgtgcag ccagcgatt caccttttgt tcttactaca tgggtgggt ccgccaggct 120
 ccagggagg ggctggagtg ggtctcatct attggttctt actacggta cacatactat 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc ggcgcac 300
 tacggtgctt tggactattg gggccaggga accctggtca ccgtctcctc a 351
 <210> 119
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 119
 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 Tyr Gly Ser Asp Ser Leu
 85 90 95
 Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
 100 105
 <210> 120
 <211> 324
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 120
 gacatccaga tgaccaggc tccatcctcc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtcacc 60
 atcacttgcc gggcaagtca gaggcatttc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

 gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtc gcatccagg tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttgc caacttatta ctgtcaacag tacggttctg attctctgct cactttggc 300
 caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 121

<211> 122

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 121

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Tyr Gly 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 Arg Tyr Tyr Phe His Asp Tyr Ala Ala Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 122

<211> 366

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 122

gaggtgcagc tttggagag cggggaggc ttggtagc ctgggggtc cctgcgcctc 60

tcctgtcag ccagcgatt cacctttct ggtaactcta tgtactgggt ccgccaggct 120

ccagggagg ggctggagt ggtctcaggat attggttact ctggttacgg tacatactat 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgctg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgcgtactac 300

ttccatgact acgtcgctta ctcttggac tattggggcc aggaaaccct ggtcaccgtc 360

tcctca		366
<210> 123		
<211> 118		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 123		
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Ser Ser		
20 25 30		
Ser Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Gly Ile Gly Tyr Tyr Ser Tyr Ser Thr Ser 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
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85 90 95		
Ala Arg Gly Tyr Pro His His Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr		
100	105	110
Leu Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 124		
<211> 354		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 124		
gagggtgcagc tggggggggc ttgggtacagc ctgggggggtc cctgcgcctc	60	
tcctgtgcag ccagcgatt cacctttggt tcttcttcta tgtactgggt ccgccaggct	120	
ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcaggt attgggtact actcttactc tacatcttat	180	
gcagactccg tgaaggggccg gttcaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgctgtat	240	
ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgcggtac	300	

ccgcatcatt acttgacta ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 125

<211> 337

<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 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 Tyr Tyr Trp Tyr Gly Leu

85	90	95
----	----	----

Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

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

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115	120	125
-----	-----	-----

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130	135	140
-----	-----	-----

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195	200	205
-----	-----	-----

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

210 215 220

Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp

225 230 235 240

Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu

245 250 255

Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr

260 265 270

Leu Gly Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg

275 280 285

Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln

290 295 300

Ile Lys Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro

305 310 315 320

Thr Gly Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu

325 330 335

Ala

<210> 126

<211> 1376

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 126

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60

atcaacttgc gggcaagtca gagcatttagc agctattta attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgt gcatccagg tgcaaagtgg ggtcccatca 180

cgtttcagtgc gcatgttgaag cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttgc caacttatta ctgtcaacag tactactggt acggctgtc cactttggc 300

caggggacca agctggagat caaacgttag tcgtacgcta gcaagcttga tatcgaattc 360

taaactctga gggggctggta tgacgtggcc attctttgcc taaagcattg agtttactgc 420

aaggctcagaa aagcatgcaa agccctcaga atggctgcaa agagctccaa caaaacaatt 480

tagaactta ttaaggaata ggggaagct aggaagaaac tcaaaacatc aagattttaa	540
atacgcttct tggctccctt gctataatta tctggataa gcatgctgtt ttctgtctgt	600
ccctaacatg ccctgtgatt atccgcaaac aacacaccca agggcagaac tttttactt	660
aacaccatc ctgttgctt ctttccttag gaactgtggc tgacccatct gtcttcaict	720
tccgcacatc tcatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgggtgtgc ctgctgaata	780
acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgcctc caatcggta	840
actcccagga gagtgcaca gaggcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca	900

ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtccacc	960
atcagggcct gagtcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt agcggaggag	1020
gaggaagcgg aggaggagga agcgcccccc tcaaaatcca agcgtacttc aacgaaactg	1080
cagacttacc gtgtcagttt gccaattcgc agaatctgag cctgagcgaa ctggtggttt	1140
tctggcagga tcaggagaac ctggttctga acgaagtcta tctggcaaa gagcggttcg	1200
acagcgtgga cagcaagttt atggccgca ccagcttga tagcgacagc tggaccctgc	1260
gtctgcacaa tctgcaaattc aaagataagg gtaggtacca gtgcattatc caccataaga	1320

agccgacggg tatgattaat attcacaaa tgaactccga gttgtctgtc ctggcg 1376

<210> 127

<211> 337

<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 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 Gly His Gly Ser Tyr Pro

85	90	95
----	----	----

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

 Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser
 115 120 125
 Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu
 130 135 140
 Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser
 145 150 155 160
 Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu
 165 170 175

 Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val
 180 185 190
 Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 210 215 220
 Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp
 225 230 235 240

 Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu
 245 250 255
 Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr
 260 265 270
 Leu Gly Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg
 275 280 285
 Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln
 290 295 300

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

<210> 128

<211> 1376

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 128

gacatccaga tgaccaggc tccatccctcc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtcacc	60
atcaacttgcc gggcaagtca gaggcattagc agctattaa attggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagg ttgcaaagtgg ggtccccatca	180

cgtttcagtg gcagtggaa cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag ggtcatggtt cttaccgcacactttggc	300
caggggacca agctggagat caaacgtgag tcgtacgcta gcaagcttga tatcgaattc	360
taaactctga ggggttcgga tgacgtggcc attcttgcc taaagcattt agtttactgc	420
aaggctcagaa aagcatgcaa agccctcaga atggctgcaa agagctccaa caaaacaatt	480
tagaacttta ttaaggaata gggggaaagct aggaagaaaac tcaaaacatc aagattttaa	540
atacgcttct tggctccctt gctataatta tctggataa gcatgctgtt ttctgtctgt	600

ccctaacatg ccctgtgatt atccgcaaac aacacaccca agggcagaac tttttactt	660
aaacaccatc ctgtttgctt ctttcctcag gaactgtggc tgaccatct gtcttcatct	720
tcccgccatc tcatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc ttttgtgtgc ctgctgaata	780
acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgcctc caatcggta	840
actcccagga gagtgcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca	900
ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaagt ctacgcctgc gaagtacccc	960
atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt agcggaggag	1020

gaggaagcgg aggaggagga agcgcccccc tcaaaatcca agcgtacttc aacgaaactg	1080
cagacttacc gtgtcagttt gccaaattcgc agaatctgag cctgagcgaa ctgggggttt	1140
tctggcagga tcaggagaac ctggttctga acgaagtcta tctggcaaa gagcggttcg	1200
acagcgtgga cagcaagtat atggccgca ccagttga tagcgcacagc tggaccctgc	1260
gtctgcacaa tctgcaaattc aaagataagg gtaggtacca gtgcattatc caccataaga	1320
agccgacggg taigattaat attcaccaaa tgaactccga gttgtctgtc ctggcg	1376

<210> 129

<211> 336

<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 Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly

210 215 220

Ser Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu

225 230 235 240

Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val

245 250 255

Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu

260 265 270

Gly Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr

275 280 285

Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile

290 295 300

Lys Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr

305 310 315 320

Gly Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

325 330 335

<210> 130

<211> 1373

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 130

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc	60
atcaacttgcc gggcaagtca gaggatttgc agctatttaa attggtatca gcagaaaacca	120
gggaaagccc ctaagctct gatctatgtc gcatccagg ttgaaagtgg ggtcccatca	180
cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaacttca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttgc caacttatta ctgtcaacag agttacagta cccttatac ttttggccag	300

gggaccaagc tggagatcaa acgtgagtcg tacgctagca agcttgatata cgaattctaa	360
actctgaggg ggtcgatga cgtggccatt ctttgcctaa agcatttgat ttactgcaag	420
gtcagaaaag catgcaaagc cctcagaatg gctgcaaaga gctccaacaa aacaatttag	480
aacttttata aggaataggg ggaagctagg aagaaactca aaacatcaag atttaaata	540
cgcttcttgg ttccttgct ataattatct gggataagca tgctgtttc tgtctgtccc	600
taacatgccc tttgattatc cgcaaacaac acacccaagg gcagaacttt gttacttaaa	660
caccatcctg tttgtttctt tcctcaggaa ctgtggctgc accatctgat ttcatcttcc	720

cgccatctga tgagcagttt aaatctggaa ctgccttgtt tgtgtgcctg ctgaataact	780
---	-----

tctatccag agaggccaaa gtacagtgg aagggtggataa cgcctccaa tcggtaact	840
cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc	900
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgccctgcga gtcacccatc	960
agggcctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgtgc ggaggaggag	1020
gaagcggagg aggaggaagc gcgcctca aaatccaagc gtacttcaac gaaactgcag	1080
acttaccgtc tcagttgcc aattcgaga atctgagcct gagcgaactg gtggtttct	1140

ggcaggatca ggagaacctg gttctgaac aagtctatct gggcaaaagag cggttcgaca	1200
gcgtggacag caagtatatg ggccgcacca gctttgatag cgacagctgg accctgcgtc	1260
tgcacaatct gcaaataaaa gataaggta ggtaccagt cattatccac cataagaagc	1320
cgacgggtat gattaatatt caccaaatga actccgagtt gtctgtcctg gcg	1373

<210> 131

<211> 336

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 131

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 Gly Asp Tyr Thr Leu Phe

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

130	135	140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
165	170	175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
180	185	190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
195	200	205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
210	215	220
Ser Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu		
225	230	235
Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val		
245	250	255
Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu		
260	265	270
Gly Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr		
275	280	285
Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile		
290	295	300
Lys Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr		
305	310	315
Gly Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala		
325	330	335
<210> 132		
<211> 1373		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 132		
gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60		

atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagg tgcaaagtgg ggtcccatca	180
cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagaittttcaacttatta ctgtcaacag ggtgattaca ctctgtcac ttttggccag	300
gggaccaagc tggagatcaa acgtgagtcg tacgctagca agcttgatata cgaattctaa	360
actctgaggg ggtcgatga cgtggccatt cttgcctaa agcattgagt ttactgcaag	420

gtcagaaaag catgcaaagc cctcagaatg gctgcaaaga gctccaacaa aacaatttag	480
aacttttatta aggaataggg ggaagctagg aagaaactca aaacatcaag atttaaata	540
cgcttcttgg tciccttgct ataattatct gggataagca tgtgttttc tgtctgtccc	600
taacatgccccc tgtgattatc cgcaaacaac acacccaagg gcagaacttt gttacttaaa	660
caccatcctg ttgtttctt tcctcaggaa ctgtggctgc accatctgtc ttcatcttcc	720
cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact	780
tctatcccag agaggccaaa gtacagtggaa aggtggataa cgcctccaa tcggtaact	840

cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc	900
tgacgctgag caaaggcagac tacgagaaac acaaagtcta cgccctgcgaa gtcacccatc	960
agggcctgag ctgcggcgtc acaaaggagct tcaacagggg agagtgttagc ggaggaggag	1020
gaagcggagg aggaggaagc gccccctca aaatccaagc gtacttcaac gaaactgcag	1080
acttaccgtg tcagttgcc aattcgcaga atctgagcct gagcgaactg gtggtttct	1140
ggcaggatca ggagaacctg gttctgaacg aagtctatct gggcaaaagag cggttcgaca	1200
gcgtggacag caagtatatg ggccgcacca gcttgatag cgacagctgg accctgcgtc	1260

tgcacaatct gcaaataaaa gataaggta ggtaccagtg cattatccac cataagaagc	1320
cgacgggtat gattaatatt caccaaatga actccgagtt gtctgtcctg gcg	1373

<210> 133

<211> 337

<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 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 Tyr Gly Ser Asp Ser Leu

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

210 215 220

Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp

225 230 235 240

Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu

245 250 255

Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr

260 265 270

Leu Gly Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg

275

280

285

Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln

290

295

300

Ile Lys Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro

305 310 315 320

Thr Gly Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu

325

330

335

Ala

<210> 134

<211> 1376

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 134

gacatccaga tgaccaggc tccatctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc	60
atcaacttgcc gggcaagtca gagcatttgc agctattaa attggatca gcagaaacca	120

gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagg ttgcaaaatgg ggtcccatca	180
cgtttcagtg gcagtggaa cgggacagat ttcaacttca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttgc caacttata ctgtcaacag tacggttctg attctctgtc cactttggc	300
caggggacca agctggagat caaacgttag tcgtacgcta gcaagcttga tatcgaattc	360
ttaaacttgc ggggttcgga tgacgtggcc attcttgcc taaagcatttgc agtttactgc	420
aaggctcagaa aagcatgca aagccctcaga atggctgca aagactccaa caaaacaatt	480
tagaacttta ttaaggaata ggggaagct aggaagaaac tcaaaacatc aagatttaa	540

atacgttct tggtctcctt gctataatta tctggataa gcatgctgtt ttctgtctgt	600
ccctaacatg ccctgtgatt atccgaaac aacacaccca agggcagaac ttttttactt	660
aaacaccatc ctgtttgtt ctccctcag gaactgtggc tgcaccatct gtcttcatct	720
tcccgccatc tggatggcag ttgaaatctg gaactgcctc tgggtgtgc ctgctgaaa	780
acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgga taacgcctc caatcggta	840
actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca	900
ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtccccc	960

atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt agcggaggag	1020
---	------

gaggaagcgg	aggaggagga	agcgcccccc	tcaaaatcca	agcgtacttc	aacgaaactg	1080
cagacttacc	gtgtcagttt	gccaaattcgc	agaatctgag	cctgagcgaa	ctggtggttt	1140
tctggcagga	tcaggagaac	ctggttctga	acgaagtcta	tctggcaaa	gagcggttcg	1200
acagcgtgga	cagcaagttat	atggccgca	ccagcttga	tagcgacagc	tggaccctgc	1260
gtctgcacaa	tctgcaaatac	aaagataagg	gttagtacca	gtgcattatc	caccataaga	1320
agccgacggg	tatgattaat	attcaccaaa	tgaactccga	gttgtctgtc	ctggcg	1376

<210> 135

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 135

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr

65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys

100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp

145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu

165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu		
225	230	235
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
290	295	300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
305	310	315
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
325	330	
<210> 136		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<400> 136		
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
1	5	10
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
20	25	30
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		

35	40	45
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
50	55	60
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu		
65	70	75
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser		
85	90	95
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
100	105	

<210> 137

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

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

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

115	120	125
Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val		
130	135	140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 145 150 155 160
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 165 170 175
 Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

 180 185 190
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 195 200 205
 Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 210 215 220
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 290 295 300
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser

 305 310 315 320
 Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 325
 <210> 138
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 138
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

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

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 139

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg

1 5 10 15

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

20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

35 40 45

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

50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr

65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys

85 90 95

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys

115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val

130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp

145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe

165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp

180 185 190

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu

195 200 205

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 140

<211> 981

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 140

gcttccacca agggccatc cgtttcccc ctggcgccct gtcaggag caccccgag 60

agcacagccg ccctggctg cctggtaag gactacttcc ccgaaccgt gacggtgtcg 120

tggaactcag gcgcctgac cagcggcgtg cacacccccc cgctgtcct acagtccca	180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagctggg cacgaagacc	240
tacacctgca acgttagatca caagcccagg aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	300
aaatatgttc ccccatgccc accctgccc gcacctgagt tcctggggg accatcagtc	360
ttccgttcc cccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	420
tgcgtggtgg tggacgttag ccaggaagac cccgaggatcc agttcaactg gtacgtggat	480
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	540
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	600
tgcaaggctt ccaacaaagg cttcccgicc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaa	660
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	720
aaccaggta gcctgacccg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	780
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccgt gctggactcc	840
gacggcttctt cttccctcta cagcaggta accgtggaca agagcaggta gcaggagggg	900
aatgtttctt catgtccgt gatgtcatgag gctctgcaca accgctacac acagaagagc	960
ctctccctgt ctctggtaa a	981
<210> 141	
<211> 2028	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 141	
agctttctgg ggcaggccgg gcctgacttt ggctggggc agggaggggg ctaaggtgac	60
gcaggtggcg ccagccaggt gcacacccaa tgcccatgag cccagacact ggacctgca	120
tggaccatcg cggatagaca agaaccgagg ggcctctgct ccctggccc agctctgtcc	180
cacaccgcgg tcacatggca ccacctctt tgcagttcc accaaggccc catccgttt	240
ccccctggcg ccctgctcca ggagcaccc cggagcaca gcccctgg gctgcctgg	300
caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaaac tcaggcgccc tgaccagcg	360
cgtgcacacc ttcccgctg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtgg	420
gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc tgcaacgtag atcacaagcc	480
cagcaacacc aagggtggaca agagagttgg tgagaggcca gcacaggag ggagggtgtc	540
tgctggaagc caggctcagc ctcctgcct ggacgcaccc cggctgtcga gccccagccc	600
aggcagcaa ggcacatgcccc atctgtctcc tcacccggag gcctctgacc accccactca	660

tgctcaggga gagggtcttc tggattttc caccaggctc ccggcaccac aggctggatg	720
cccttacccc aggcctgctgcatacaggc aggtgctgctcagacactg ccaagagcca	780
tatccggag gaccctgccc ctgacctaag cccacccaa aggccaaact ctccactccc	840
tcagctcaga caccttctct cctccagat ctgagtaact ccaatcttc tctctgcaga	900
gtccaaatat ggtccccat gcccaccttgc cccaggttaag ccaaccagg cctgccctc	960
cagctcaagg cgggacaggt gccctagagt agcctgcatac cagggacagg cccagccgg	1020
gtgctgacgc atccacacttcc atctttctt cagcacctga gttcctgggg ggaccatcag	1080
tcttcctgtt cccccaataaa cccaaggaca ctctcatgtat ctcggacc cctgaggta	1140
cgtgcgttgt ggtggacgtg agccaggaag accccgagggt ccagttcaac tggtacgtgg	1200
atggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggga ggagcagttc aacagcacgt	1260
accgtgttgtt cagcgctctc accgtcctgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca	1320
agtgcaggtt ctccaacaaa ggcctccgtt cctccatcga gaaaaccatc tccaaagcca	1380
aagggtggac ccacgggggtg cgagggccac acggacagag gccagctgg cccacccct	1440
gccctggag tgaccgtgtt gccaacctctt gtcctacag ggcagccccc agagccacag	1500
gtgtacaccc tgccccatcc caggaggag atgaccaaga accaggtagt cctgacctgc	1560
ctggtaaaag gtttctaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tggcagccg	1620
gagaacaact acaagaccac gcctccgtg ctggactccg acggctcctt cttctctac	1680
agcaggctaa ccgtggacaa gaggcgggtgg caggagggaa atgtcttctc atgctccgtg	1740
atgcgtgagg ctctgcacaa ccgctacaca cagaagagcc tctccctgtc tctggtaaa	1800
tgagtgcaccc ggcggcaag ccccgctcc cgggctc ggggtcgcc gaggatgctt	1860
ggcacgtacc ccgtctacat acttcccagg cacccagcat ggaataaag caccacccac	1920
tgccctggc ccctgtgaga ctgtgatggt tctttccacg ggtcaggccg agtctgaggc	1980
ctgagtgaca tgagggaggc agagcgggtc ccactgtccc cacactgg	2028
<210> 142	
<211> 981	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 142	
gcttccacca agggccatc cgtttcccc ctggccctt gtcaggagcaccccgag	60
agcacagccg ccctggctg cctggtaag gactacttcc cgaaccgggt gacgggtcg	120
tggaactcag gcccctgac cagcggcgtg cacaccccttcc cggctgtctt acagtcctca	180

ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg cacgaagacc	240
tacacctgca actagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	300
aaatatggtc ccccatgccca atcatgccca gcacctgagt tcctggggg accatcagtc	360
ttccctgttcc ccccaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacf	420
tgcgtggtgg tggacgttag ccaggaagac cccgaggatcc agttcaactg gtacgtggat	480
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac	540
cgtgtggta cgctcctcac cgctctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	600
tgcaaggctt ccaacaaagg cctcccgatcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa	660
ggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcggccat cccaggagga gatgaccaag	720
aaccaggta gcctgacctg cctggtaaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag	780
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccgt gctggactcc	840
gacggctct ttttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg	900
aatgtttct catgctccgt gatgcatgat gctctgcaca accactacac acagaagagc	960
ctctccctgt ctctggtaaa a	981
<210> 143	
<211> 2028	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 143	
agcttctgg ggcaggccgg gcctgacttt ggctggggc agggaggggg ctaaggtgac	60
gcaggtggcg ccagccaggt gcacacccaa tgcccatgag cccagacact ggaccctgca	120
tggaccatcg cggatagaca agaaccgagg ggcctctgca ccctggccc agctctgtcc	180
cacaccgcgg tcacatggca ccacctctt tgcagcttcc accaaggggcc catccgttt	240
ccccctggcg ccctgctcca ggagcaccc cgagagcaca gcccctgg gctgcctgg	300
caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaaac tcaggccccc tgaccagcgg	360
cgtcacacc ttcccgctg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtgg	420
gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc tgcaacgtag atcacaagcc	480
cagcaacacc aaggtggaca agagagttgg tgagaggcca gcacaggagg ggagggtgtc	540
tgctggaaac caggctcagc cctcctgcct ggacgcaccc cggctgtgca gccccagccc	600
agggcagcaa ggcacccccc atctgtctcc tcacccggag gcctctgacc accccactca	660
tgctcaggaa gagggcttcc tggattttc caccaggctc cggcaccac aggctggatg	720

ccctacccc aggcctgcg catacagggc aggtgctgct ctcagacctg ccaagagcca	780
tatccggag gaccctgcc ctgacctaag cccacccaa aggccaaact ctccactccc	840

ttagctcaga cacccctct cctccagat ctgagtaact cccaatctt tctctgcaga	900
gtccaaatat ggtccccat gcccatcatg cccaggttaag ccaaccagg cctgcgcctc	960
cagctcaagg cgggacagg gccctagagt agcctgcata cagggacagg cccagccgg	1020
gtgctgacgc atccacctcc atctttctt cagcacctga gttctgggg ggaccatcag	1080
tcttcctgtt cccccaaaa cccaaggaca ctctcatgtat ctccggacc cctgaggta	1140
cgtgcgttgt ggtggacgtg agccaggaag accccgaggt ccagttcaac tggtacgtgg	1200
atggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa agccgcggg ggagcagttt aacagcacgt	1260

accgtgttgt cagcgtcctc accgtcctgc accaggactg gctgaacggc aaggagtaca	1320
agtgcaggt ctccaacaaa ggcctccgt cctccatcga gaaaaccatc tccaaagcca	1380
aagggtggac ccacgggtg cgagggccac acggacagag gccagctcg cccacccct	1440
gccctggag tgaccgctgt gccaaccttct gtccctacag ggcagcccc agagccacag	1500
gtgtacaccc tgcccccata ccaggaggag atgaccaaga accaggtcag cctgacctgc	1560
ctggtcaaag gttctaccc cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tggcagccg	1620
gagaacaact acaagaccac gcctccgtg ctggactccg acggctcctt cttccttac	1680

agcaggctaa ccgtggacaa gagcaggagg caggaggga atgtcttctc atgctccgt	1740
atgcattgagg ctctgcacaa ccactacaca cagaagagcc tctccctgtc tctggtaaa	1800
tgagtgcaccc ggcggcaag ccccgctcc cgggtctc ggggtcgcc gaggatgctt	1860
ggcacgtacc ccgtctacat acttcccagg cacccagcat ggaataaaag caccaccac	1920
tgcctgggc ccctgtgaga ctgtgatgg tctttccacg ggtcaggccg agtctgaggc	1980
ctgagtgaca tgagggaggc agagcgggtc ccactgtccc cacactgg	2028

<210> 144

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Linker sequence

<400> 144

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

1

5

10

15

<210> 145

<211> 990

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 145

gcctccacca agggccatc ggtttcccc ctggcacct cctccaagag cacctctggg	60
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc cgaaccgggt gacggtgtcg	120
tggaacttag ggcctgtac cagcggcgtg cacacccccc cggtgttct acagtctca	180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg caccctggacc	240

tacatctgca acgtgaatca caagcccagg aacaccaagg tggacaagaa agttgagccc	300
aaatcttggta acaaaaactca cacatgccca ccgtgcccagg cacctgaact cctggggggaa	360
ccgtcagtct tcctttcccc cccaaaaccc aaggacaccc tcatgatctc ccggaccctt	420
gagggtcacat gcgtgggtgtt ggacgtgagc cacgaagacc ctgaggtaa gttcaactgg	480
tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc cgcgggagga gcagtacaac	540
agcacgttacc gtgtggtagc cgtcttcacc gtctgcacc aggactggct gaatggcaag	600
gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctccctggacc ccatcgagaa aaccatctcc	660

aaaggccaaag ggcagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgcccccattt ccggatgag	720
ctgaccaaga accaggttag cctgacctgc ctggtaaag gcttctatcc cagcgacatc	780
gccgtggagt gggagagcaa tggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctccctg	840
ctggactccg acggctcctt cttctctac agcaagctca cctggacaa gagcaggtag	900
cagcagggga acgtttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacacg	960
cagaagagcc tctccctgtc tccggtaaa	990

<210> 146

<211> 1596

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 146

gcctccacca agggccatc ggtttcccc ctggcacct cctccaagag cacctctggg	60
ggcacagcgg ccctgggctg cctggtaag gactacttcc cgaaccgggt gacggtgtcg	120
tggaacttag ggcctgtac cagcggcgtg cacacccccc cggtgttct acagtctca	180
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg caccctggacc	240
tacatctgca acgtgaatca caagcccagg aacaccaagg tggacaagaa agttggtag	300

aggccagcac agggagggag ggtgtctgct ggaagccagg ctacgcgctc ctgcctggac 360
gcatccggc tatgcagccc cagtccaggg cagcaaggca ggccccgtct gcctttcac 420

ccggaggcct ctgccccccc cactcatgtc cagggagagg gtctctggc ttttccccca 480
ggctctggc aggcacaggc tagtgtcccc taaccaggc cctgcacaca aagggcagg 540
tgctgggctc agacctgcca agacctat ccggaggac cctgccccctg acctaagccc 600
accccaaagg ccaaactctc cactccctca gctcgacac ctctctctt cccagattcc 660
agtaactccc aatcttctct ctgcagagcc caaatcttgt gacaaaactc acacatgccc 720
accgtgccca ggtaaagccag cccaggcctc gccctccagc tcaaggcggg acaggtgccc 780
tagagtagcc tgcatccagg gacaggcccc agccgggtgc tgacacgtcc acctccatct 840

cttcctcagc acctgaactc ctgggggac cgtcagtctt cctttcccc ccaaaccacca 900
aggacaccct catgatctcc cggaccctg aggtcacatg cgtgggtgt gacgtgagcc 960
acgaagaccc tgaggtcaag tcaacttgtt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca 1020
agacaaaagcc gcgggaggag cagtaacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg 1080
tcctgcacca ggactggctg aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc 1140
tcccagecccc catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggaccctg ggggtgcgag 1200
ggccacatgg acagaggccg gtcggccca ccctgtcccc tgagagtgac cgctgtacca 1260

acctctgtcc ctacagggca gccccgagaa ccacagggtt acaccctgcc cccatccgg 1320
gatgagctga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1380
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct 1440
cccggtctgg actccgacgg ctcccttcttc ctctacagca agtcaccgt ggacaagagc 1500
aggtggcagc aggggaacgt ttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1560
tacacgcaga agacgccttc cctgtctccg gtaaa 1596

<210> 147

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 147

cgaactgtgg ctgcaccatc tgtttcatc ttccggccat ctgtatggca gttgaaatct 60
ggaactgcct ctgttgtgtg cctgctgaat aacttctatc ccagagaggc caaagtacag 120
tggaaagggtgg ataacgcctt ccaatcggtt aactccagg agagtgtcac agagcaggac 180
agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc accctgacgc tgagcaaagc agactacgag 240

aaacacaag tctacgcctg cgaagtcacc catcaggccc tgagctgcc cgtcacaaag 300
 agcttcaaca ggggagatg t 321
 <210> 148
 <211> 255
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 148
 Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu
 1 5 10 15
 Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro
 20 25 30
 Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys
 35 40 45
 Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile
 50 55 60

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

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

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

<210> 149

<211> 710

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 149

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Tyr Gly Ser
 20 25 30
 Ser Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Gly Ile Tyr Ser Ser Gly Gly Tyr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val

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

115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

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

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

405 410 415

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

420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Arg Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp

565 570 575

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

580 585 590

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser

595 600 605

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

610 615 620

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys

625 630 635 640

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

645	650	655
Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
660	665	670
Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr		
675	680	685
Cys Gln Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr		
690	695	700
Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
705	710	
<210> 150		
<211> 2965		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 150		
gagggtgcagc tgggggagag cgggggaggc ttgggtacagc ctggggggtc cctgcgcctc 60		
tcctgtgcag ccagcgatt cacctttac ggttcttcta tgtactgggt ccgccaggct 120		
ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcaggt atttactttt ctgggtgtta cacattttat 180		
gcagactccg tgaagggcccgttaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgctgtat 240		
ctgcaaataatga acagcctgcgtccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgcgggttt 300		
cctcatgggtt actttgacta ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcaggttag 360		
ttaacgtacg ctagcaagct ttctggggca ggccaggcct gaccttggct ttggggcagg 420		
gagggggctta aggtgaggca ggtggcgcca gccagggtgca caccaatgc ccatgagccc 480		
agacacttggc cgctgaacct cgccggacagt taagaaccca gggccctctg cgccctggc 540		
ccagctctgt cccacaccgc ggtcacatgg caccacctctt ctgcagcct ccaccaagggtt 600		
ccccatcggtt ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctggggca cagcggccct 660		
gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accgggtgacg gtgtcggttgc actcaggcgc 720		
cctgaccaggc ggcgtgcaca cttcccgcc tgcctacag tcctcaggac tctactccct 780		
cagcagcgtg gtgaccgtgc cttccagcag cttggcacc cagacctaca tctgcaacgt 840		
gaatcacaag cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagggtt ggtgagaggc cagcacaggg 900		
aggagggtt tctgtggaa gccaggctca ggcgtctgc ctggacgcat cccggctatg 960		
cagccccagt ccagggcagc aaggcaggcc cggctgcctt ctccacccgg aggccctgc 1020		
ccgccccact catgctcagg gagagggtct tctggctttt tcccccaggct ctgggcaggc 1080		

acaggctagg tgccccta ac ccaggccctg cacacaagg ggcaggtgct gggctcagac	1140
ctgccaagag ccatatccgg gaggaccctg cccctgacct aagcccaccc caaaggccaa	1200
actctccact ccctcagctc ggacaccttc tctccctcca gattccagta actcccaatc	1260
ttctctctgc agagccaaa tcttgtaca aaactcacac atgcccaccc tgcccaggt	1320
agccagccca ggcctcgccc tccagctaa ggcgggacag gtgccttaga gtgcctgca	1380
tccagggaca gccccagcc gggtgctgac acgtccaccc ccatcttcc tcagcacct	1440
gaactcctgg ggggaccggtc agtctccctc ttcccccaa aacccaagga caccctcatg	1500
atctcccgga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtgacg tgagccacga agaccctgag	1560
gtcaagtta actggtaacgt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgg	1620
gaggagcgt acaacagcac gtaccgtgt gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac	1680
tggctgaatg gcaaggagta caagtgcag gtctccaaca aagccctccc agccccatc	1740
gagaaaaacca tctccaaagc caaaggtggg acccggtggg tgcgagggcc acatggacag	1800
aggccggctc gccccaccct ctgcctcgt agtgaccgct gtaccaaccc ctgtccctac	1860
agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tcccggtatg agctgaccaa	1920
gaaccagggtc agcctgaccc gcctggtaa aggcttat cccagcgaca tcgcgtgga	1980
gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc	2040
cgcacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac aagagcagggt ggcagcagg	2100
gaacgtcttc tcatgctcg tcatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag	2160
cctctccctg tctccggta aaggaggagg aggaagcgga ggaggaggaa gcggaggagg	2220
aggaagcgag gtgcagctgc tcgagagcgg gggaggctt gtacagcgtg ggggtccct	2280
gcgcctctcc tgtcagcca gcggattcac cttttttt tactacatgg gttgggtccg	2340
ccagggctcca gggaaaggggc tggagtgggt ctcaggtatt ggttcttact acggttacac	2400
aggttatgca gactccgtga agggccgggtt caccatctcc cgtgacaatt ccaagaacac	2460
gctgtatctg caaatgaaca gcctgcgtgc cgaggacacg gctgtatatt attgtgcgcg	2520
cgcttactac gactacaact actactacgc ttacttgcac tattggggcc agggAACCT	2580
ggtcacccgtc tcctcaggtg gaggccgttc aggccggagggt ggatccggcg gtggcggatc	2640
ggacatccag atgacccagt ctccatcctc cctgagcgcata tctgttaggat accgcgtcac	2700
catcaactgc cggcaagtc agagcattag cagcttta aattggatc agcagaaacc	2760
aggaaaagcc cctaagctcc tgatctatgc tgcatccagt ttgcaaagt gggtcccatc	2820

acgtttcagt ggcagtggaa gcgggacaga tttcaacttc accatcagca gtctgcaacc 2880
 tgaagattt gcaacttatt actgtcaaca gtctgttccg cactaccgt tcactttgg 2940
 ccaggggacc aagctggaga tcaaa 2965

<210> 151

<211> 709

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 151

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 Gly Gly Tyr

20 25 30

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205
 Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
 210 215 220

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

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
 305 310 315 320
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
 325 330 335
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
 340 345 350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
 355 360 365
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
 370 375 380
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
 385 390 395 400
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg
 405 410 415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
 420 425 430
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly

435 440 445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

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

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly

565 570 575

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly

580 585 590

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

595 600 605

Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

660 665 670

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

675 680 685

Gln Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys

690 695 700

Leu Glu Ile Lys Arg

705

<210> 152

<211> 2962

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 152

gagggtgcagc ttttgagag cgggggagcc ttggtagacgc ctgggggtc cctgcgcctc	60
tcctgtgcag ccagcgatt caccttggt ggtaactaca tgtcttgggt ccgcaggct	120

ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacatactat	180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctgctg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc ggcgtacgac	300
tacgttctta tggactattt gggccaggaa accctggta cggctccctc aggtgagtt	360
acgtacgcta gcaagcttgc tggggcagggc caggcctgac ctggctttg gggcaggag	420
ggggctaagg tgaggcaggt ggcgccagcc aggtgcacac ccaatgccc tgagccccaga	480
cactggacgc tgaacctcgc ggacagttaa gaacccagg gcctctgctc cctggccca	540

gctctgtccc acaccgcgt cacatggcac cacctcttt gcagcccca ccaaggccc	600
atcggtttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctt gggggcacag cggccctgg	660
ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggt tcgtgaaact caggcgcct	720
gaccagccgc gtgcacacct tcccgctgt cctacagtcc tcaggactct actccctcag	780
cagcgtggtg accgtccct ccagcagtt gggcacccag acctacatct gcaacgtcaa	840
tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagtgggt gagaggccag cacagggagg	900
gagggtgtct gctggaagcc aggctcageg ctccctgcctg gacgcattccc ggctatgcag	960

ccccagtcca gggcagcaag gcaggccccg tctgccttt cacccggagg cctctgcgg	1020
ccccactcat gctcagggag agggcttctt ggcttttcc ccaggctctg ggcaggcaca	1080
ggcttaggtgc ccctaaccctt ggcctgcac acaaaggggc aggtgctggg ctcagacgt	1140
ccaagagcca tatccggag gaccctgccc ctgacctaag cccacccaa aggccaaact	1200
ctccactccc tcagctcgga cacctctt cctccagat tccagtaact cccaatctt	1260
tctctgcaga gcccaaattt tggacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccaggtaagc	1320

cagcccaggc ctcgcccctcc agctcaaggc gggacaggtg ccctagagta gcctgcattcc 1380

aggcacaggc cccagccggg tgctgacacg tccaccccca tctttccctc agcacctgaa 1440
 ctccctgggg gaccgtcagt cttcccttc cccccaaaac ccaaggacac cctcatgatc 1500
 tcccgaccc ctgaggtcac atgcgtggtg gtggacgtga gccacgaaga ccctgaggtc 1560
 aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 1620
 gagcagtaca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg 1680
 ctgaatggca aggagtacaa gtgcaaggc tccaaacaag ccctcccagc ccccatcgag 1740
 aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cgtgggtgc gagggccaca tggacagagg 1800

ccggctcgcc ccaccctctg ccctgagagt gaccgctgta ccaacctctg tccctacagg 1860
 gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gccccatcc cgggatgagc tgaccaagaa 1920
 ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaaagg cttctatccc agcgcacatcg ccgtggagt 1980
 ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctccgtgc tggactccga 2040
 cggctccctc ttccctaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcagggaa 2100
 cgtcttctca tgctccgtga tgcataggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct 2160
 ctccctgtct ccggtaaaag gaggaggagg aagcggagga ggaggaagcg gaggaggagg 2220

aagcgaggtg cagctgctcg agagcggggg aggctggta cagcctgggg ggtccctgc 2280
 cctctccigt gcagccagcg gattcacct ttcttcttac tacatgggtt gggccca 2340
 ggctccaggg aaggggctgg agtgggtctc aggtatttgt tcttactacg gttacacagg 2400
 ttatgcagac tccgtgaagg gccggcac catctccgt gacaattcca agaacacgct 2460
 gtatctgcaa atgaacagcc tgcgtgccga ggacacggct gtatattatt gtgcgcgc 2520
 ttactacgac tacaactact actacgctta ctttgactat tggggccagg gaaccctgg 2580
 cacctctcc tcaggtggag gcggttcagg cggaggtgga tccggcggtg gcggatcgga 2640

catccagatg acccagtctc catcctccct gagcgcacatc gtaggagacc gcgtcaccat 2700
 cactgcccc gcaagtcaaga gcattagcag ctattaaat tggtatcage agaaaccagg 2760
 gaaagcccc aagctcctga tctatgctgc atccagttt caaagtgggg tcccatcagc 2820
 tttcgtggc agtggaaagcg ggacagattt cactctcacc atcagcagtc tgcaacctga 2880
 agatttgca acttattact gtcaacagtc tggccgcac taccggcata ctttggcca 2940
 ggggaccaag ctggagatca aa 2962

<210> 153

<211> 710

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 153

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 Gly Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165 170 175

Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

180 185 190

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser

195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr

210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Pro Ser

225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg			
245	250	255	
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro			
260	265	270	
Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala			
275	280	285	
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val			
290	295	300	
Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr			
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr			
325	330	335	
Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu			
340	345	350	
Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys			
355	360	365	
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser			
370	375	380	
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp			
385	390	395	400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser			
405	410	415	
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala			
420	425	430	
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys			
435	440	445	
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu			
450	455	460	
Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser			
465	470	475	480

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

485 490 495

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

500 505 510

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

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Arg Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp

565 570 575

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly

580 585 590

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser

595 600 605

Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys

610 615 620

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys

625 630 635 640

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

645 650 655

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe

660 665 670

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

675 680 685

Cys Gln Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr

690 695 700

Lys Leu Glu Ile Lys Arg

705 710

<210> 154

<211> 2965

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 154

gaggtgcagc tggtagagcg gggggaggc ttggtagacgc ctgggggtc cctgcgcctc	60
tcctgtcag ccagcggatt caccttagt ggttttcta tgtttgggt ccgcaggct	120
ccagggagg ggctggatg ggtctcatct atttctact acggtggtta cacatactat	180
gcagactccg tgaaggccg gttaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgtgtat	240
ctgcaaatga acagcctgctg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc ggcgtacttc	300
ccgattact acttgacta ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcaggtgag	360
ttaacgtacg cttagcaagct ttctgggca ggccaggcct gaccttgct ttggggcagg	420
gagggggcta aggtgaggca ggtggcgcca gccagggtgca caccaatgc ccatgagccc	480
agacactgga cgctgaacct cgccggacagt taagaaccca gggccctctg cgccctggc	540
ccagcttgtt cccacaccgc ggtcacatgg caccacctct ctgcagcct ccaccaaggg	600
ccatcggtc ttccccctgg caccctctc caagagcacc tctggggca cagccggcct	660
gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcggtga actcaggcgc	720
cctgaccaggc ggcgtgcaca cttcccgcc tgcctacag tcctcaggac tctactccct	780
cagcagcgtg gtgaccgtgc cttccagcag cttggcacc cagacctaca tctgcaacgt	840
gaatcacaag cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagtt ggtagaggc cagcacaggg	900
aggagggtgt ctgtgtggaa gccaggctca gcgcctctgc ctggacgc catccgctatg	960
cagccccagt ccagggcagc aaggcaggcc ccgtctgcctt cttcacccgg aggccctgc	1020
ccgccccact catgctcagg gagagggtct tctggcttt tcccaggct ctggcaggc	1080
acaggctagg tgccctaacc ccaggccctg cacacaaagg ggcagggtct gggctcagac	1140
ctgccaagag ccatatccgg gaggaccctg cccctgaccc aagcccaccc caaaggccaa	1200
actctccact ccctcagctc ggacacccctc tctccctcca gattccagta actcccaatc	1260
ttctctctgc agagccaaa tcttgcata aaactcacac atgcccaccc tgcccgatgt	1320
agccagccca ggcctcgccc tccagctaa ggccggacag gtgcctaga gtgcctgca	1380
tccagggaca ggcggccagcc gggtgctgac acgtccaccc ccatctcttc ctcagcacct	1440
gaactccctgg ggggaccgtc agtctccctc ttccccccaa aacccaagga caccctcatg	1500
atctcccgga cccctgaggc cacatgcgtg gtggtgacg tgagccacga agaccctgag	1560
gtcaagttca actggtagtgc ggacggcggt gagggtgcata atgccaagac aaagcccgccg	1620

gaggagcgt acaacagcac gtaccgtgt gtcagcgcc tcaccgtcct gcaccaggac	1680
tggctgaatg gcaaggagta caagtgcaga gtctccaaca aagccctccc agccccatc	1740
gagaaaacca tctccaaagc caaagggtgg acccggtggg tgcgagggcc acatggacag	1800
aggccggctc gcccacccct ctgccttagt agtgaccgt gtaccaacct ctgtccctac	1860
agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tccggatg agctgaccaa	1920
gaaccaggtc agcctgaccc gcctggtaa aggctctat cccagcgaca tcgcccgtgga	1980
gtgggagagc aatgggcagc cgagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc	2040

cgacggctcc ttcttcctct acagcaagct caccgtggac aagagcaggt ggcagcaggg	2100
gaacgtttc tcatgctccg ttagtgcata ggctctgcac aaccactaca cgcagaagag	2160
cctctccctg tctccggta aaggaggagg aggaagcgga ggaggaggaa gcggaggagg	2220
aggaagcgag gtgcagctgc tcgagagcgg gggaggctg gtacagctg ggggtccct	2280
gcccctctcc tgtgcagcca gcggattcac cttttttct tactacatgg gttgggtccg	2340
ccagcgtcca gggaaagggc tggagtgggt ctcaggtatt gttcttact acggttacac	2400
aggttatgca gactccgtga agggccggtt caccatctcc cgtgacaatt ccaagaacac	2460

gctgtatctg caaatgaaca gcctgcgtgc cgaggacacg gctgtatatt attgtgcgcg	2520
cgcttactac gactacaact actactacgc ttactttgac tattggggcc agggAACCT	2580
ggtcaccgtc tcctcaggtg gaggcggtc aggccggatgt ggatccggcg gtggcgatc	2640
ggacatccag atgacccagt ctccatcctc cctgagcgcata tctgttaggac acccggtcac	2700
catcaactgc cggcaagtc agagcattag cagctattta aattggtatac agcagaaacc	2760
aggaaagcc cctaagctcc tgatctatgc tgcatccagt ttgcaaagtgggtccatc	2820
acgtttcagt ggcagtggaa gcggacaga tttcaacttc accatcagca gtctgcaacc	2880

tgaagattt gcaacttatt actgtcaaca gtctgttccg cactaccgt tcactttgg	2940
ccaggggacc aagctggaga tcaaa	2965

<210> 155

<211> 709

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 155

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Pro 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 Arg Tyr Asp Tyr Tyr Trp Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His

210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val

225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr

245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu

260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys

275

280

285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser

290

295

300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys

305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile

325

330

335

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

340

345

350

Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu

355

360

365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn

370

375

380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405

410

415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu

420

425

430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly

435

440

445

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val

450

455

460

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

465 470 475 480

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

485

490

495

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

500

505

510

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

515

520

525

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 530 535 540
 Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg

 545 550 555 560
 Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
 565 570 575
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 580 585 590
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro
 595 600 605
 Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg

 610 615 620
 Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro
 625 630 635 640
 Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser
 645 650 655
 Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 660 665 670
 Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys

 675 680 685
 Gln Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
 690 695 700
 Leu Glu Ile Lys Arg
 705
 <210> 156
 <211> 2962
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 156

gagggtgcagc	tgttggagag	cgggggaggc	ttggcacgc	ctgggggtc	cctgcgcctc	60
tcctgtgcag	ccagcggatt	caccttggt	ggttactaca	tgtctgggt	ccgccaggct	120

ccagggagg ggctggagt ggtctcatac attcctggtt ctggtggtt tacatactat	180
gcagactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgtaca attccaagaa cacgctgtat	240
ctgcaaatga acagcctcg tgcgcaggac acggctgtat attattgtgc ggcgtacgac	300
tactactgga tggactattg gggccaggga accctggta cgcgtccctc aggtgagtta	360
acgtacgcta gcaagcttc tggggcaggc caggcgtac ctggcttt gggcaggag	420
ggggctaagg tgaggcaggt ggcgcagcc aggtgcacac ccaatgccc tgagcccaga	480
cactggacgc tgaacctcg ggcacagttaa gaacccagg gcctctgcgc cctggccca	540
gctctgtccc acaccgcgt cacatggcac cacctcttt gcagcctcca ccaagggccc	600
atcggcttc cccctggcac cctcctccaa gagcacctt gggggcacag cggccctggg	660
ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacgggt tcgtgaaact caggcgcct	720
gaccagcggc gtgcacacct tcccggtgt cctacagtcc tcaggactt actccctag	780
cagcgtggtg accgtgcctt ccagcagttt gggcacccag acctacatct gcaacgtaa	840
tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gaaagtggt gagaggccag cacagggagg	900
gagggtgtct gctgaaagcc aggctcagcg ctccctgcgt gacgcatttt ggctatgcag	960
ccccagttcca gggcagcaag gcaggcccg tctgcctttt caccggagg cctctgcctt	1020
ccccactcat gctcagggag agggtcttcc ggcttttcc ccaggctctg ggcaggcaca	1080
ggctagggtc ccctaaccctt ggccctgcac acaaaggggc aggtgctggg ctcagaccc	1140
ccaagagcca tatccggag gaccctgccc ctgacctaag cccacccaa aggccaaact	1200
ctccactccc tcagctcgga cacttctct cctccagat tccagtaact cccaatctt	1260
tctctgcaga gcccaaattt tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccaggtaagc	1320
cagcccagggc ctgccttcc agctcaaggc gggacagggtt ccctagagta gcctgcattt	1380
agggacaggc cccagccggg tgctgacacg tccacccatcca tctttcttc agcacctgaa	1440
ctccctgggg gaccgtcagt ctcccttcc ccccaaaac ccaaggacac cctcatgtat	1500
tcccgaccc ctgaggtcac atgcgtgggt gtggacgtga gecacgaaga ccctgagggtc	1560
aagttcaact ggtacgtgga cggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag	1620
gagcagtaca acagcacgtt ccgtgtggtc agcgtccatca ccgtccgtca ccaggactgg	1680
ctgaatggca aggatgacaa gtgcaagggtc tccacacaaag ccctccatgc cccatcgag	1740
aaaaccatct ccaaaggccaa aggtggacc cgtgggggtc gagggccaca tggacagagg	1800
ccggctcgcc ccaccctctg ccctgagagt gaccgtgtt ccaacccttg tccctacagg	1860

gcagccccga gaaccacagg tgtacacctt gccccatcc cgggatgagc tgaccaagaa 1920
 ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaaagg cttctatccc agcgacatcg ccgtggagt 1980
 ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctccgtgc tggactccga 2040
 cggctccitc ttcccttaca gcaagctcac cgtggacaag agcaggtggc agcagggaa 2100
 cgtttctca tgctccgtga tgcattggc tctgcacaac cactacacgc agaagagcct 2160
 ctccctgtct ccgggtaaag gaggaggagg aagcggagga ggaggaagcg gaggaggagg 2220
 aagcgaggtg cagctgctcg agagcggggg aggcttgta cagcctgggg ggtccctgcg 2280

ccttcctgt gcagccagcg gattcacctt ttcttcttac tacatgggtt gggccgcca 2340
 ggctccaggg aagggcgtgg agtgggttc aggtatttgtt tcttactacg gttacacagg 2400
 ttatgcagac tccgtgaagg gccgggtcac catctccgt gacaattcca agaacacgct 2460
 gtatctgcaa atgaacagcc tgcgtgccga ggacacggct gtatattattt gtgcgcgcgc 2520
 ttactacgac tacaactact actacgctta ctttgactat tggggccagg gaaccctgg 2580
 cacggctcc tcaggtggag gcgggtcagg cggaggtgga tccggcggtg gggatcgga 2640
 catccagatg acccagtctc catcctccct gagcgcacatct gtaggagacc gcgtcaccat 2700

cacttgcgg gcaagtca gatcatttttttataat tggtatcagc agaaaccagg 2760
 gaaagccctt aagtcctga tctatgtgc atccagtttgc caaagtgggg tcccatcagc 2820
 tttcagtggc agtggaaagcg ggacagattt cacttcaccatcagc tgcacactga 2880
 agattttgcacttattactt gtcaacagtc tggccgcac taccgggtca ctttggcca 2940
 ggggaccaag ctggagatca aa 2962

<210> 157

<211> 708

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 157

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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								45							
Ser	Tyr	Ile	Ser	Tyr	Tyr	Ser	Gly	Tyr	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 Arg Gly Tyr Gly Tyr Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala

115 120 125

Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu

130 135 140

Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly

145 150 155 160

Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser

165 170 175

Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Leu

180 185 190

Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr

195 200 205

Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

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

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

Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln

565 570 575

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

580 585 590

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

595 600 605

Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu

690 695 700

Glu Ile Lys Arg

705

<210> 158

<211> 2959

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 158

gaggtgcgc	tgtggagag	cgggggaggc	ttggcacgc	ctgggggtc	cctgcgcctc	60
tcctgtcag	ccagcgatt	cacctttagc	agctatgcc	tgagctgggt	ccgcccaggct	120
ccagggagg	ggctggagt	ggtctcatac	atttctact	actctggta	cacatactat	180
gcagactcc	tgaaggccg	gttaccatc	tcccgtaca	attccaagaa	cacgctgtat	240
ctgcaaatga	acagcctgcg	tgccgaggac	acggctgtat	attattgtgc	gchggttac	300
ggttacttgg	actattgggg	ccagggacc	ctggtcaccg	tctcctcagg	tgagttaacg	360

tacgctagca agtttctgg ggcaggccag gcctgacctt ggctttgggg cagggagggg	420
gctaaggta ggcagggtgc gccagccagg tgcacaccca atgcccata gcccagacac	480
tggacgctga acctcgccga cagttaaagaa cccagggcc tctgcgccct gggcccagct	540
ctgtccccaca ccgcggcac acatggcaccac ctctcttgca gcctccacca agggcccatc	600
ggtcttcccc ctggcacccct cctccaagag cacctctggg ggcacagcgg ccctgggctg	660
cctggtaag gactacttcc cgcgaaccgtt gacggtgtcg tggaacttag ggcgcctgac	720
cagcggcgtg cacaccccttcc cggctgtctt acagtctca ggactctact ccctcagcag	780
cgtggtggacc gtgcctcca gcagcttggg cacccagacc tacatctgca acgtgaatca	840
caagcccaagc aacaccaagg tggacaagaa agtttgttagg aggccagcac agggaggag	900
ggtgtctgctt ggaagccagg ctcagcgctc ctgcctggac gcatcccgcc tatgcagccc	960
cagttccaggc cagcaaggca gggccgtct gcctttcac ccggaggcct ctgcccggcc	1020
cactcatgctt cagggagagg gtcttctggc tttttccca ggctctggc aggcacagggc	1080
taggtgcctt taaccaggc cctgcacaca aaggggcagg tgctggctc agacactgcca	1140
agagccatat ccggaggac cctgccttgc acctaagccc accccaaagg ccaaactctc	1200
cactccctca gctcggacac cttctctctt cccagattcc agtaactccc aatttctct	1260
ctgcagagcc caaatcttgc gacaaaactc acacatgccc accgtgccc ggttaagccag	1320
cccgaggcctc gccctccagc tcaaggcggg acaggtgccc tagagttagcc tgcatccagg	1380
gacaggcccc agccgggtgc tgacacgtcc acctccatct ctgcctcagc acctgaactc	1440
ctggggggac cgtcagtctt cctttttttt caaaaaccctt aggacaccctt catgatctcc	1500
cggaaccctt aggtcacatg cgtgggtgtg gacgtgagcc acgaagaccc tgaggtaag	1560
ttcaacttgtt acgtggacgg cgtggagggtt cataatgcca agacaaagcc gcggaggag	1620
cagttacaaca gcacgttaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tcctgcacca ggactggctg	1680
aatggcaagg agtacaagtgtt caaggtctcc aacaaagccc tcccgcccc catcgagaaa	1740
accatctcca aagccaaagg tgggaccgtt ggggtgcgg ggcacatgg acagaggccg	1800
gctcggccca ccctctgccc tgagagtgtacca cgctgtacca acctctgtcc ctacaggca	1860
gccccgagaa ccacaggtgtt acaccctgccc cccatccgg gatgagctga ccaagaacca	1920
ggtcagccttgc acctgcctgg tcaaaggctt ctatccagc gacatcgccg tggagtggaa	1980
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcctt cccgtgtgg actccgacgg	2040
ctccttcttc ctctacagca agtcaccgtt ggacaagagc aggtggcagc agggaaacgt	2100
cttctcatgc tccgtgtatgc atgaggctctt gcacaaccac tacacgcaga aggccttc	2160
cctgtctccg ggttaaaggag gaggagggaa cggaggagga ggaagcggag gaggaggaag	2220

cgaggtgcag ctgctcgaga gcgggggagg cttggcacag cctgggggt ccctgcgcct	2280
tcctgtca gccagcggat tcaccttac ttctactac atgggttggg tccggcaggc	2340
tccagggaaag gggctggagt gggctcagg tattggttct tactacggtt acacaggtta	2400
tgcagactcc gtgaagggcc gggtcaccat ctccgtac aattccaaga acacgctgt	2460

tctgcaaatg aacagcctgc gtgccgagga cacggctgttattatgtgcgcgcgtta	2520
ctacgactac aactactact acgcttactt tgactattgg ggccaggaa ccctggcac	2580
cgtctccca ggtggaggcg gttcaggcgg aggtggatcc ggcggtggcg gatggacat	2640
ccagatgacc cagtctccat cttcccttag cgcatctgttggagaccgcgtcaccatcac	2700
ttgcggca agtcagagca ttagcagcta tttaattgg tatcagcaga aaccaggaa	2760
agccctaag ctccgtatct atgctgcata cagttgcaa agtgggtcc catcacgtt	2820
cagttggcagt ggaagcggga cagatttacatc tctcaccatc agcagtcgttgc aacctgaaga	2880

ttttgcaact tattactgtc aacagtctgt tccgcactac ccgttcaactt tgcccagg	2940
--	------

gaccaagctg gagatcaa	2959
---------------------	------

<210> 159

<211> 716

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 159

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 Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

100	105	110
Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys		
115	120	125
Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly		
130	135	140
Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro		
145	150	155
Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr		
165	170	175
Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val		
180	185	190
Val Thr Val Pro Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn		
195	200	205
Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro		
210	215	220
Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
225	230	235
Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Asp		
245	250	255
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
260	265	270
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
275	280	285
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
290	295	300
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
305	310	315
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
325	330	335
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
340	345	350

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn

355 360 365

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile

370 375 380

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr

385 390 395 400

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

405 410 415

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys

420 425 430

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

435 440 445

Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

450 455 460

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

465 470 475 480

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

485 490 495

Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys

500 505 510

Gly Leu Glu Trp Val Ser Gly Ile Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly

515 520 525

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

530 535 540

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

545 550 555 560

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Tyr

565 570 575

Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

580 585 590

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser Asp

595 600 605

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

610 615 620

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

625 630 635 640

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

645 650 655

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

660 665 670

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

675 680 685

Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe

690 695 700

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

705 710 715

<210> 160

<211> 2983

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 160

gaggtgcagc tttggagag cggggaggc ttggtagc ctgggggtc cctgcgcctc 60

tcctgtcag ccagcgatt cacctttagc agctatgcca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaaagg ggctggagt ggtctcagct attagtgta gtgggttag cacatactat 180

gcagactccg tgaaggccg gttaccatc tccctgaca attccaagaa cacgtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgctg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgtactac 300

tactctcatg gttactacgt ttacggta ttggactatt gggccagg aaccctggtc 360

accgtctcct caggtgagtt aacgtacgtt agcaagctt ctggggcagg ccaggctga 420

ccttggcttt gggcaggga ggggctaag gtgaggcagg tggcccccagc caggtgcaca 480

ccaaatgccc atgagccag acactggacg ctgaacctcg cggacagttt agaacccagg 540

ggcctctgctg ccctggcccc agctctgtcc cacaccggcgg tcacatggca ccacctct 600

tgcagcctcc accaagggcc catcggtttt cccctggca ccctcctcca agagcacctc 660

tggggcaca gcggccctgg gtcgcctgg caaggactac ttccccgaac cggtgacggt	720
gtcggtggaa tcaggcgccc tgaccagcg cgtcacacc ttcccgctg tcctacatgc	780
ctcaggactc tactcccta gcagcgtggt gaccgtccc tccagcagct tggcaccca	840
gacctacatc tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtgacca agaaagtgg	900
tgagaggcca gcacagggag ggagggtgtc tgctggaagc caggctcagc gctccctgcct	960
ggacgcattcc cggttatgca gccccagtcc agggcagcaa ggcaggcccc gtctgcctct	1020
tcacccggag gcctctgccc gccccactca tgctcaggaa gagggtcttc tggcttttc	1080
cccaggctct gggcaggcac aggcttaggtg cccctaacc accggccctgca cacaaagggg	1140
cagggtgtgg gctcagacct gccaagagcc atatccggaa ggaccctgcc cctgaccaa	1200
gccccccccca aaggccaaac tctccactcc ctcaagtcgg acaccttctc tcctcccaga	1260
ttccagtaac tcccaatctt ctctctgeag agcccaaatac ttgtgacaaa actcacat	1320
gcccaccgtg cccaggtaaag ccagcccagg cctcgccctc cagctcaagg cgggacaggt	1380
gcccttagagt agcctgcata cagggacagg cccagccgg gtgtgacac gtccacccctcc	1440
atctcttcct cagcacctga actcctgggg ggaccgttag tttccctttt ccccccaaaa	1500
cccaaggaca ccctcatgtat ctccggacc cctgaggtaa catgcgtggt ggtggacgtg	1560
agccacgaag accctgaggt caagttcaac tggtagtgg acggcgtgg agtgcataat	1620
gccaagacaa agcccgggaa ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtccctc	1680
accgtccctgc accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaaacaaa	1740
gcccctccag ccccatcgaa gaaaaccatc tccaaagccaa aaggtggac ccgtgggtg	1800
cgagggccac atggacagag gccggctcgccc accctcttgcctgagag tgaccgtgt	1860
accaacccctt gtccttacag ggcagccccc agaaccacag gtgtacaccc tgccccatc	1920
ccgggatgag ctgaccaaga accaggttag cctgaccctgc ctggtaaaag gcttctatcc	1980
cagcgacatc gccgtggagt gggagagcaa tggcagccg gagaacaact acaagaccac	2040
gcctccctgt ctggactccg acggctcctt ctccctctac agcaagctca ccgtggacaa	2100
gagcaggtgg cagcagggaa acgtttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa	2160
ccactacacg cagaagagcc tctccctgtc tccggtaaa ggaggaggag gaagcggagg	2220
aggaggaagc ggaggaggag gaagcgaggt gcagctgctc gagagcgggg gaggcttggt	2280
acagccctggg gggccctgc gcctctccctg tgccggcagg ggattcacct tttttttta	2340
ctacatgggt tgggtccgccc aggctccagg gaaggggctg gatgggtct caggtattgg	2400
ttcttactac gtttacacag gttatgcaga ctccgtgaag ggccgggtca ccattcccg	2460
tgacaattcc aagaacacgc tgtatctgca aatgaacagc ctgcgtgccg aggacacggc	2520

tgtatattat tgtgcgcgcttactacga ctacaactac tactacgctt actttgacta 2580
 ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcagggtgga ggcggttcag gcggagggtgg 2640

atccggcggt ggcggatcg acatccagat gacccagttt ccattccccc tgagcgcata 2700
 tgttaggagac cgccgtcacca tcaacttgccg ggcaagttagc agcattagca gctatataaa 2760
 ttggtatcag cagaaccagg gaaagcccc taagctctg atctatgctg catccagttt 2820
 gcaaagtggg gtcccatcac gtttcagtgg cagtggaaagc gggacagattt tcactctcac 2880
 catcagcagt ctgcaacctg aagatttgc aacttattac tgtcaacagt ctgttccgca 2940
 ctacccgttc actttggcc agggaccaa gctggagatc aaa 2983

<210> 161

<211> 714

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 161

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Gly Ile Gly Tyr Ser Gly Tyr Gly 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 Arg Tyr Tyr Phe His Asp Tyr Ala Ala Tyr Ser Leu Asp Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

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

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

 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320

 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380

 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385	390	395	400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr			
405	410	415	
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val			
420	425	430	
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu			
435	440	445	
Ser Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly			
450	455	460	
Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln			
465	470	475	480
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe			
485	490	495	
Ser Ser Tyr Tyr Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu			
500	505	510	
Glu Trp Val Ser Gly Ile Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly Tyr Ala			
515	520	525	
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn			
530	535	540	
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val			
545	550	555	560
Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Ala Tyr			
565	570	575	
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly			
580	585	590	
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln			
595	600	605	
Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val			
610	615	620	
Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp			
625	630	635	640

Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala
 645 650 655
 Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser
 660 665 670
 Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe
 675 680 685
 Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe Thr Phe
 690 695 700

Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

705 710

<210> 162

<211> 2977

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 162

gaggtgcagc tttggagag cgggggaggc ttggtagcgc ctgggggtc cctgcgcctc	60
tcctgtcagccacggatt cacctttct ggtaactcta tgtactgggt ccgccaggct	120
ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcaggt attggtaact ctggtagcgg tacatactat	180
gcagactccg tgaaggcccg gttcaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgtgtat	240
ctgcaaatga acagcctgctgcc tgccgaggac acggctgtat attattgtgc ggcgtactac	300

ttccatgact acgtgcgttta ctctttggac tattggggcc agggAACCTT ggtcacccgtc	360
tcctcagggtg agttaacgta cgcttagcaag ctttctgggg caggccaggc ctgacacctgg	420
cattggggca gggagggggc taaggtgagg caggtggcgc cagccagggtg cacacccat	480
gccccatgagc ccagacactg gacgctgaaac ctgcggacaca gttaagaacc cagggcctc	540
tgcgcctgg gcccagctt gtcccacacc gcggtcacat ggcaccaccc ctcttcacgc	600
ctccaccaag gccccatcggttccctt ggcaccctcc tccaagagca cctctgggg	660
cacagcggcc ctgggctgccc tggtaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtcggt	720

gaactcaggc gccctgacca gccccgtgca cacccccc gctgtcctac agtccctagg	780
actctactcc ctcagcagcg tggtagccgt gcccctccagc agcttggca cccagaccta	840
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttggtagag	900
gccagcacag ggagggagggttgtctgg aagccaggct cagcgctct gcctggacgc	960
atcccggtca tgcagccccca gtccaggcga gcaaggcagg ccccgctcgc ctcttcaccc	1020

ggaggcctct gcccggcca ctcatgctca gggagaggtt cttctggctt tttccccagg	1080
ctctggcag gcacaggcta ggtgcccta acccaggccc tgcacacaaa gggcaggtg	1140
ctgggctcag acctgccaag agccatatcc gggaggaccc tgccctgac ctaagccac	1200
cccaaaggcc aaactctcca ctccctcago tcggacacct tctctctcc cagattccag	1260
taactccaa tcttctctc gcagagccca aatcttgta caaaactcac acatgcccac	1320
cgtgcccagg taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcggac aggtgccata	1380
gagtagcctg catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctc	1440
tcctcagcac ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tttcccccc aaaacccaag	1500
gacaccctca tgatctcccg gacccttag gtcacatgctc tggtggtgaa cgtgagccac	1560
gaagaccctg aggtcaagtt caactggtagt gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag	1620
acaaaagccgc gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggcagcgt cctcaccgtc	1680
ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag tacaagtgc aggtctccaa caaagccctc	1740
ccagccccca tcgagaaaac catctccaa gccaaagggtg ggaccgtgg ggtgcgaggg	1800
ccacatggac agaggccggc tcggccacc ctctgcctg agagtgaccg ctgtaccaac	1860
ctctgtccct acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catccggga	1920
tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga	1980
catcgccgtg gagtgggaga gcaatggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc	2040
cgtgtggac tccgacggct ctttcttct ctacagcaag ctaccgtgg acaagagcag	2100
gtggcagcag gggAACgtct tctcatgtc cgtgtatcat gaggctctgc acaaccacta	2160
cacgcagaag agccctccc tgtctccggg taaaggagga ggaggaagcg gaggaggagg	2220
aagcggagga ggaggaagcg aggtgcagct gctcgagac gggggaggct tggtagcc	2280
tgggggtcc ctgcgcctc cctgtgcagc cagcggattc acctttctt cttactacat	2340
gggttgggtc cggcaggctc cagggaaagg gctggagtggtc tgctcaggta ttggtttta	2400
ctacggttac acaggttatg cagactccgt gaaggccgg ttcaccatct cccgtgacaa	2460
ttccaaagaac acgtgtatc tgcaaatgaa cagcctgcgt gccgaggaca cggctgtata	2520
ttattgtgctc cgccgttact acgactacaa ctactactac gttactttg actattgggg	2580
ccagggaaacc ctggtcaccc tctccctcagg tggaggcggt tcaggcggag gtggatccgg	2640
cgggtggcgga tcggacatcc agatgacca gtctccatcc tccctgagcg catctgtagg	2700
agaccgcgtc accatcaactt gccgggcaag tcagagcatt agcagctatt taaattggta	2760

tcagcagaaaa ccaggaaag cccctaagct cctgatctat gctgcatcca gtttcaaag 2820

tgggtccca tcacgttca gtggcagtgg aagcgggaca gattcactc tcaccatcag 2880

cagctcgaa cctgaagatt ttgcaactta ttactgtcaa cagtctgttc cgcaactaccc 2940

gttcacttt gcccaggggaa ccaagctgga gatcaa 2977

<210> 163

<211> 710

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 163

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Ser Ser

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

Ala Arg Gly Tyr Pro His His Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

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

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115	120	125
-----	-----	-----

Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly

130	135	140
-----	-----	-----

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln

165	170	175
-----	-----	-----

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

Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205

Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

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

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270

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

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Glu Tyr
 305 310 315 320

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

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

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

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

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

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

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

420	425	430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu		
450	455	460
Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ser		
465	470	475
480		
Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr		
485	490	495
Met Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser		
500	505	510
Gly Ile Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly Tyr Ala Asp Ser Val Lys		
515	520	525
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu		
530	535	540
Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala		
545	550	555
Arg Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp		
565	570	575
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
580	585	590
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser		
595	600	605
Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys		
610	615	620
Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys		
625	630	635
640		
Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln		
645	650	655
Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe		
660	665	670

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
 675 680 685
 Cys Gln Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr
 690 695 700
 Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 705 710
 <210> 164
 <211> 2965
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 164

gaggtgcagc tttggagag cgggggaggc ttgtacagc ctgggggtc cctgcgcctc	60
tcctgtcag ccagcgatt caccttggt tcttctcta tgtactgggt ccgccaggct	120
ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcaggt attggttact actcttactc tacatcttat	180
gcagactccg tgaaggccg gttaccatc tccctgtaca attccaagaa cacgcgttat	240
ctgcaaatacga acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc ggcgggttac	300
ccgcatatt actttgacta ttggggccag ggaaccctgg tcaccgtctc ctcaggttag	360
ttaacgtacg ctatcaagct ttctgggca ggccaggcct gaccttggct ttggggcagg	420
gagggggcta aggtgaggca ggtggcgcca gccagggtgca caccaatgc ccatgagccc	480
agacactgga cgctgaacct cgccggacagt taagaaccca gggcccttg cgcctggc	540
ccagctctgt cccacaccgc ggtcacatgg caccacctct ctgcagcct ccaccaagg	600
cccatcggtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc tctggggca cagccgcct	660
gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg gtgtcgtgaa actcaggcgc	720
cctgaccaggc ggcgtgcaca cttcccgcc tgcctacag tcctcaggac tctactccct	780
cagcagctg gtgaccgtgc cttccagcag cttggcacc cagacctaca tctgcaacgt	840
gaatcacaag cccagcaaca ccaagggtgga caagaaagtt ggtgagaggc cagcacaggg	900
agggagggtg tctgctggaa gccaggctca ggcgtcctgc ctggacgc catccgtatg	960
cagccccagt ccagggcagc aaggcaggcc ccgtctgcct ttacccgg aggccctgc	1020
ccgccccact catgctcagg gagagggtct tctggcttt tccctaggct ctggcaggc	1080
acaggctagg tgccctaac ccagccctg cacacaagg ggcagggtct gggctcagac	1140
ctgccaagag ccatatccgg gaggaccctg cccctgacat aagcccaccc caaaggccaa	1200
actctccact ccctcagctc ggacacccctc tctccctcca gattccagta actcccaatc	1260

ttctctctgc agagccaaa tcttgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccaggta	1320
agccagcca ggcctgccc tccagctaa ggcgggacag gtgcctaga gtgcctgca	1380
tccagggaca gccccagcc gggtgctgac acgtccacct ccatcttcc tcagcacct	1440
gaactcctgg ggggaccggtc agtcttcctc ttcccccaa aacccaagga caccctatg	1500
atctcccgga cccctgaggat cacatgcgtg gtgggtggacg tgagccacga agaccctgag	1560
gtcaagtta actggtagt ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgccc	1620
gaggaggact acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtct gcaccaggac	1680
tggctgaatg gcaaggagta caagtgcag gtctccaaca aagccctccc agcccccattc	1740
gagaaaaacca tctccaaagc caaagggtgg acccggtggg tgcgagggcc acatggacag	1800
aggccggctc gccccaccct ctgcctgag agtgaccgct gtaccaacct ctgtccctac	1860
agggcagccc cgagaaccac aggtgtacac cctgccccca tccgggatg agctgaccaa	1920
gaaccaggatc agcctgaccc gcctggtaa aggctctat cccagcgaca tcgcccgtgga	1980
gtgggagagc aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc	2040
cgacggctcc ttcttcctt acagcaagct caccgtggac aagagcaggat ggcagcagg	2100
gaacgtttc tcatgctccg tcatgcatga ggctctgcac aaccactaca cgccagaagag	2160
ccttccttg tctccggta aaggaggagg aggaagcgaa ggaggaggaa gcccggagg	2220
aggaagcgag gtgcagctgc tcgagagcgg gggaggcttg gtacaggcttg ggggtccct	2280
gcgcctctcc tgtgcagcca gcggattcac ctttcttct tactacatgg gttgggtccg	2340
ccaggctcca gggaaaggcc tggagtgggt ctcaaggattt ggttcttact acggttacac	2400
aggttatgca gactccgtga agggccggtt caccatctcc cgtgacaatt ccaagaacac	2460
gctgtatctg caaatgaaca gcctgcgtgc cgaggacacg gctgtatatt attgtgcgcg	2520
cgcttactac gactacaact actactacgc ttacttgac tattggggcc agggaaacct	2580
ggtcaccgtc tcctcagggtg gaggcgggtc aggccggagggt ggatccggcg gtggcggatc	2640
ggacatccag atgaccaggat ctccatctc cctgagcgca tctgttaggat acccggtcac	2700
catcaattgc cggcaagtc agagcattag cagctattta aattggatc agcagaaacc	2760
agggaaagcc cctaagctcc tcatctatgc tgcatccagg ttgcaaagtgggtcccatc	2820
acgtttcagt ggcagttggaa gcgggacaga tttcactctc accatcagca gtctgcaacc	2880
tgaagatttt gcaacttattt actgtcaaca gtctgttccg cactaccgt tcactttgg	2940
ccaggggacc aagctggaga tcaaa	2965
<210> 165	
<211> 214	

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 165

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 Tyr

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 166

<211> 1007

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 166

gacatccaga tgaccaggc tccatccccc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtacc	60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctattaa attggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagg ttgaaagtgg ggtcccatca	180
cgtttagtg gcagtggaa cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct	240

gaagatttt caacttatta ctgtcaacag agttacagta ccccttatac ttttggccag	300
gggaccaagc tggagatcaa acgtgagtc tacgttagca agtttgatata cgaattctaa	360
actctgaggg ggtcgatga cgtggccatt ctttgcctaa agcattgagt ttactgcaag	420
gtcagaaaag catgcaaagc cctcagaatg gctgcaaaga gctccaacaa aacaatttag	480
aactttatta aggaataggg ggaagctagg aagaaactca aaacatcaag atttaaata	540
cgcttcttgg ttccttgct ataattatct gggataagca tgctgtttc tgtctgtccc	600
taacatgccc tgtgattatc cgcaaacaac acacccaagg gcagaacttt gttacttaaa	660

caccatcctg tttgcttctt tcctcaggaa ctgtggctgc accatctgtc ttcatcttcc	720
cgccatctga tgaggcattt aatctggaa ctgcctctgt tgggtgcctg ctgaataact	780
tctatcccag agaggccaaa gtacagtggaa aggtggataa cgcctccaa tcggtaact	840
cccgaggagat tgcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc	900
tgcgttgatgaa caaaggcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa gtcacccatc	960
aggccctgag ctgcggcgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt	1007

<210> 167

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 167

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 Tyr Tyr Trp Tyr Gly Leu

85 90 95

Ser Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 168

<211> 1010

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 168

gacatccaga tgaccaggc tccatctcc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtacc	60
atcacttgcc gggcaagtca gagcattagc agctattaa attggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca	180

cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagagtttg caacttatta ctgtcaacag tactactggt acggctgtc cactttggc 300
 caggggacca agctggagat caaacgtgag tcgtacgcta gcaagcttga tatcgattc
 taaaactctga ggggtcgga tgacgtggcc attcttgcc taaagcattg agtttactgc 420
 aaggtcagaa aagcatgcaa agccctcaga atggctgcaa agagctccaa caaaacaatt
 tagaacttta ttaaggaata ggggaaagct aggaagaaac tcaaaacatc aagattttaa 480
 atacgcttct tggctccctt gctataatta tctggataa gcatgctgtt ttctgtctgt 540
 ccctaacatg ccctgtgatt atccgcaaac aacacaccca agggcagaac tttgttactt 660

aaacaccatc ctgttgctt cttcctcag gaactgtggc tgccatct gtcttcatct 720
 tccccccatc tggatggcag ttgaaatctg gaactgcctc tgggtgtgc ctgctgaata
 acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgga taacgcctc caatcggtt 840
 actcccagga gagtgtcaca gaggcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca
 ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtaccc 960
 atcagggcct gagtcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 1010

<210> 169

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 169

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 Gly His Gly Ser Tyr Pro

85	90	95
----	----	----

His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 170

<211> 1010

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 170

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60

atcacttgcc gggcaagtca gagcatttagc agctattta attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgt gcatccagg ttcaaagtgg ggtccatca 180

cgtttagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttcaacttatta ctgtcaacag ggtcatggtt cttacccgca cactttggc 300

caggggacca agctggagat caaacgtgag tcgtacgcta gcaagcttga tatcgaattc 360

taaactctga ggggtcgga tgacgtggcc attcttgcc taaagcattg agtttactgc 420

aaggctcagaa aagcatgcaa agccctcaga atggctgcaa agagctccaa caaaacaatt 480

tagaacttta ttaaggaata ggggaaagct aggaagaaac tcaaaacatc aagatttaa 540

atacgcttct tggctccctt gctataatta tctggataa gcatgctgtt ttctgtctgt 600

cccttaacatg ccctgtgatt atccgcaaac aacacaccca agggcagaac tttgttactt 660

aaacaccatc ctgttgctt ctttcctcag gaactgtggc tgcaccatct gtcttcatct 720
 tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgggtgtgc ctgctgaata 780
 acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgga taacgcctc caatcggta 840
 actcccagga gagtgtcaca gaggcggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca 900
 ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaagt ctacgcctgc gaagtccaccc 960
 atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 1010

<210> 171

<211> 213

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 171

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 Tyr Gly Ser Leu Leu Thr

85	90	95
----	----	----

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

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

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

115	120	125
-----	-----	-----

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

130	135	140
-----	-----	-----

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145	150	155	160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser			
165	170	175	
Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala			
180	185	190	
Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe			
195	200	205	
Asn Arg Gly Glu Cys			
210			
<210> 172			
<211> 1004			
<212> DNA			
<213> Homo sapiens			
<400> 172			
gacatccaga tgaccaggc tccatctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc	60		
atcaacttgcc gggcaagtca gagcatttgc agctattta attggatca gcagaaacca	120		
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtt gcatccagg ttgaaatgtt ggtccatca	180		
cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240		
gaagatttt caacttatta ctgtcaacag tacggttctc tgctcaactt tggccagggg	300		
accaagctgg agatcaaacg ttagtcgtac gctagcaagc ttgatatcga attctaaact	360		
ctgaggggggt cgatgacgt ggccattttt tgcctaaagc attgagttt ctgcaaggc	420		
agaaaaagcat gcaaagccct cagaatggct gcaaagagct ccaacaaaac aatttagaac	480		
tttattaaagg aataggggaa agcttaggaag aaactcaaaa catcaagatt ttaatacgc	540		
ttcttgttct ctttgctata attatctggg ataagcatgc tgtttctgt ctgtccctaa	600		
catgccctgt gattatccgc aaacaacaca cccaaggca gaactttgtt acttaaacac	660		
catcctgttt gcttcttcc tcaggaactg tggctgcacc atctgtcttc atcttccgc	720		
catctgtatga gcagttgaaa tctggaaactg cctctgttgt gtgcctgctg aataacttct	780		
atccccagaga ggc当地agta cagttggaaagg tggataacgc cctccaaatcg ggtactccc	840		
aggagaggtt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc agcacccctga	900		
cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc acccatcagg	960		
gcctgagctc gccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgt	1004		
<210> 173			

<211> 215

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 173

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 Tyr Gly Ser Asp Ser Leu

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210	215	
<210> 174		
<211> 1010		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 174		
gacatccaga tgaccaggc tccatccctcc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtcacc	60	
atcaacttgcc gggcaagtca gaggcatttc agctatttaa attggatca gcagaaacca	120	
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagg ttgcaaagtgg ggtcccatca	180	
cgttccatgt gcagtggaa cgggacagat ttcaacttc caatcagcag tctgcaacct	240	
gaagattttcaacttattt ctgtcaacag tacgggttctg attctctgt cactttggc	300	
caggggacca agctggagat caaacgtgag tcgtacgcta gcaagcttga tatcgaattc	360	
taaactctga ggggttcgga tgacgtggcc attctttgcc taaagcattt agtttactgc	420	
aaggctcagaa aagcatgcaa agccctcaga atggctgcaa agagctccaa caaaacaatt	480	
tagaacttta ttaaggaata gggggaaagct aggaagaaaac tcaaaacatc aagatttaa	540	
atacgcttct tggtctcctt gctataatta tctggataa gcatgctgtt ttctgtctgt	600	
ccctaacatg ccctgtgatt atccgcaaac aacacacca agggcagaac tttttactt	660	
aaacaccatc ctgtttgctt ctttcctcag gaactgtggc tgaccatct gtcttcatct	720	
tcccgccatc tggatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgggtgtgc ctgctgaata	780	
acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgga taacgcctc caatcggta	840	
actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca	900	
ccctgacgct gagcaagca gactacgaga aacacaagt ctacgcctgc gaagtacccc	960	
atcagggcct gagctcgcccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagaggtt	1010	
<210> 175		
<211> 981		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<400> 175		
gcttccacca agggccatc cgtttcccc ctggcgccct gctccaggag caccccgag	60	
agcacagccg ccctggctg cctggtaag gactacttc ccgaaccgggt gacgggtgtcg	120	
tggaactcag ggcgcctgac cagcggcggtg cacaccttc cggctgtcct acagtccatca	180	
ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgcctcca gcagcttggg cacgaagacc	240	

tacacctgca acgtagatca caagcccagg aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc	300
aaatatggtc ccccatgccca accttgccca gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc	360
ttccctgttcc ccccaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg	420
tgcggttgttgg tggacgtgag ccaggaagac cccgagggtcc agttcaactg gtacgtggat	480
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcggggagg agcagttcaa cagcacgtac	540
cgtgtggta ggtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag	600
tgcaaggctt ccaacaaagg cctccgtcc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaa	660
gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgccccat cccaggagga gatgaccaag	720
aaccaggta gcttgacctg cttgtcaaa ggcttctacc ccagcgcacat cgccgtggag	780
tggagagca atggcgagcc ggagaacaac tacaagacca cgctccgt gctggactcc	840
gacggctct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg	900
aatgtttct catgtccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc	960
ctctccctgt ctctggtaa a	981
<210> 176	
<211> 2028	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 176	
agcttctgg ggcaggccgg gcctgacttt ggctggggc agggaggggg ctaaggtgac	60
gcaggtggcg ccagccagggt gcacacccaa tgcccatgag cccagacact ggaccctgca	120
tggaccatcg cggatagaca agaaccgagg ggcctctgctgccc agctctgtcc	180
cacaccgcgg tcacatggca ccacctctt tgcagcttcc accaaggccc catccgttt	240
ccccctggcg ccctgctcca ggagcaccccg cggagcaca gcccctgg gctccctgg	300
caaggactac ttccccgaac cgggtgacggt gtcgtggaaac tcaggccccc tgaccagcgg	360
cgtgcacacc ttcccggtcg tcctacagtc ctcaggactc tactccctca gcagcgtgg	420
gaccgtgccc tccagcagct tgggcacgaa gacctacacc tgcaacgttag atcacaagcc	480
cagcaacacc aaggtggaca agagagttgg tgagaggcca gcacagggag ggagggtgtc	540
tgctggaagc caggctcagc cctcctgcct ggacgcaccc cggctgtgca gccccagccc	600
aggcagcaa ggcattcccc atctgtctcc tcacccggag gcctctgacc accccactca	660
tgctcaggga gagggtcttc tggatttttc caccaggctc cggcaccac aggtggatg	720
cccttacccc aggcctgctgca catacaggcc aggtgctgctg ctcagacactg ccaagagcca	780

tatccgggag gaccctgcc	ctgacctaag cccacccaa	aggccaaact ctccactccc	840
tcagctcaga caccttct	cctcccatat ctgagtaact	ccaaatctc tctctgcaga	900
gtccaaatat ggtccccat	gcccaccttg cccaggtaa	ccaacccagg cctcgccctc	960
cagctcaagg cgggacaggt	gccctagagt agcctgtatc	cagggacagg cccagccgg	1020

gtgctgacgc atccacctcc	atctttctc cagcacctga	gttcctgggg ggaccatcag	1080
tcttcgtt cccccaaaa	cccaaggaca ctctcatgtat	ctccggacc cctgaggta	1140
cgtgcgttgt ggtggacgtg	agccaggaag accccgaggt	ccagttcaac tggtacgtgg	1200
atggcgtgga ggtgcataat	gccaagacaa agccgcggga	ggagcagtta aacagcacgt	1260
accgttgtgt cagcgtcctc	accgtcctgc accaggactg	gctgaacggc aaggagtaca	1320
agtgcaggt ctccaacaaa	ggcctccgt cctccatcga	gaaaaccatc tccaaagcca	1380
aagggtggac ccacggggtg	cgagggccac acggacagag	gccagtcgg cccacccct	1440

gcccgtggag tgaccgctgt	gccaacctct gtccctacag	ggcagccccc agagccacag	1500
gtgtacaccc tgccccatc	ccaggaggag atgaccaaga	accaggtcag cctgacctgc	1560
ctggtaaag gcttctaccc	cagcgacatc gccgtggagt	gggagagcaa tggcagccg	1620
gagaacaact acaagaccac	gcctccgtg ctggactccg	acggctcctt cttccctac	1680
agcaggctaa ccgtggacaa	gagcaggtgg caggagggga	atgtcttctc atgctccgtg	1740
atgcatgagg ctctgcacaa	ccactacaca cagaagagcc	tctccctgtc tctggtaaa	1800
tgagtgccag gccggcaag	ccccgcgtcc	ccggctctc ggggtcgcbc gaggatgct	1860

ggcacgtacc ccgtctacat	acttcccagg cacccagcat	gaaataaag caccacac	1920
tgcctggc ccctgtgaga	ctgtgatggt tcttccacg	ggtcaggccg agtctgaggc	1980
ctgagtgaca tgagggaggc	agagcgggtc ccactgtccc	cacactgg	2028

<210> 177

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1205, light chain VL

<400> 177

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

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

<210> 178

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1205, light chain VL

<400> 178

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc	60
atcacttgcc gggcaagtca gagcatttagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctctt gatctatgct gcatccagg ttgaaagtgg ggtcccatca	180
cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct	240

gaagattttgc caacttatta ctgtcaacag tctgtccgc actaccgtt cactttggc	300
caggggacca agctggagat caaa	324

<210> 179

<211> 123

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1204, heavy chain VH

<400> 179

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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

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

35 40 45

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

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 180

<211> 369

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1204, heavy chain VH

<400> 180

gaggtgcagc tgggggagggc ttggcacgc ctggggggtc cctgcgcctc 60

tcctgtgcag ccagcgatt cacctttct tcttactaca tgggttggtt ccgccaggct 120

ccagggagg ggcgtggagtg ggtctcaggt attgggtt actacgttta cacaggttat 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tcccgtaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgca tgccgaggac acggctgtat attattgtgc ggcgcctac 300

tacgactaca actactacta cgcttacttt gactattggg gccagggAAC cctggcacc 360

gtctccctca 369

<210> 181

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1214 (VH)

<400> 181

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Ser Ile Gly Ser Gly Gly Tyr Thr Gly 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 Val Gly His Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 182

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1214 (VH)

<400> 182

gaggtgcagc tttggagag cggggaggc ttggtagc ctgggggtc cctgcgcctc 60

tcctgtcag ccagcgatt cacctttagc agctatgcc a gactgggt ccgcaggct 120

ccagggagg ggctggagt ggtctcatct attggttctg gtggtggtt cacaggttat 180

gcagactcc tgaaggccg gttcaccatc tccctgaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaa atga acagcctgctg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc ggcgttggt 300

catccgtttg actattgggg ccaggaaacc ctggtcaccg tctcctca 348

<210> 183

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1215 (VL)

<400> 183

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 Asp Ala Tyr Pro His Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 184

<211> 318

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1215 (VL)

<400> 184

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60

atcaacttgcc gggcaagtca gaggcattagc agctattaa attggtatca gcagaaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgtc gcatccagg ttgcaaagtgg ggtcccatca 180

cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttg caacttatta ctgtcaacag gacgcttacc cgcacactt tggccagggg 300
 accaagctgg agatcaa 318
 <210> 185
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> 1618 (VH)
 <400> 185
 Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Tyr Gly
 20 25 30
 Ser Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Ser Ser Gly Ser 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 Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Ser Tyr Tyr Ser Ile Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120
 <210> 186
 <211> 363
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens
 <220>
 <223> 1618 (VH)
 <400> 186
 gaggtgcagc tgttgagag cgggggaggc ttggtagc ctgggggtc cctgcgcctc 60

tcctgtgcag ccagcggatt cacctttct tacggttcta tgtactgggt ccgccaggct 120

ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcatct atttcttcg gttctggttc tacatactat 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tcccgacata attccaagaa cacgtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgac tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgctttct 300

tactacggtt cttaactc tattgactat tggggccagg gaaccctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 187

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1619 (VL)

<400> 187

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 Tyr Tyr Asp Asn Leu Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 188

<211> 321

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1619 (VL)

<400> 188

gacatccaga tgaccaggc tccatctcc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtcacc	60
atcacttgtcc gggcaagtca gagcattagc agctatcaa attgttatca gcagaaacca	120

gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagg ttgcaaaatgg ggtcccatca	180
cgtttcagtgc gcaatggaaag cgggacagat ttcaatctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttgc caacttata ctgtcaacag tactacgaca acctgcccac ttttggccag	300
gggaccaagc tggagatcaa a	321

<210> 189

<211> 117

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1620 (VH)

<400> 189

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser 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 Gly Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 190

<211> 351

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1620 (VH)

<400> 190

gaggtgcagc tggggagag cggggaggc ttggtagcgc ctgggggtc cctgcgcctc	60
tcctgtcag ccagcgatt cactttct ggtaactaca tgtactgggt ccgcaggct	120

ccagggagg ggcggaggc ggtctcaggc attttttttt ctggtttttta cacatactat	180
gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccctgaca attccaagaa cacgtgtat	240
ctgcaaatga acaggctcgc tgccgaggac acggctgtat attattgtgc ggcctgttt	300
ggtccgtact ttgactattt gggccaggga accctggta ccgtctcctc a	351

<210> 191

<211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1621 (VL)

<400> 191

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 Gly Val Gly Pro Tyr Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100	105	
<210> 192		
<211> 318		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<220>		
<223> 1621 (VL)		
<400> 192		
gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc		60
atcaacttgcc gggcaagtca gaggatttagc agctatttaa attggatca gcagaaacca		120
gggaaagccc ctaagctct gatctatgtc gcatccagg tt tgcaaagtgg ggtcccatca		180
cgttttagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct		240
gaagattttg caacttatta ctgtcaacag ggtgtggc cgtacacttt tggccagggg		300
accaagctgg agatcaaa		318
<210> 193		
<211> 117		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<220>		
<223> 1626 (VH)		
<400> 193		
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Gly Tyr		
20	25	30
Ser Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
35	40	45
Ser Ser Ile Gly Gly Tyr Tyr 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
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		

85	90	95
Ala Arg Ser Tyr Tyr Gly Ser Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu		
100	105	110
Val Thr Val Ser Ser		
115		
<210> 194		
<211> 351		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<220>		
<223> 1626 (VH)		
<400> 194		
gaggtgcagc tggggggaggc ttggcacgc ctggggggtc cctgcgcctc 60		
tcctgtgcag ccagcgatt caccttttgtt ggtaactcta tgtactgggt ccgccaggct 120		
ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcatct attggtggtt actactactc tacatata 180		
gcagactccg tgaaggcccg gttcaccatc tcccgtgaca attccaagaa cacgctgtat 240		
ctgcaaatga acagcctgcg tgccgaggac acggctgtat attattgtgc gcgcctttac 300		
tacggttcta ttgactattg gggccaggga accctggtca ccgtctccctc a 351		
<210> 195		
<211> 108		
<212> PRT		
<213> Homo sapiens		
<220>		
<223> 1627 (VL)		
<400> 195		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
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 Gly Thr Gly Tyr Gly Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 196

<211> 324

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> 1627 (VL)

<400> 196

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60

atcaacttgcc gggcaagtca gaggatttagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagg ttgcaaagtgg ggtcccatca 180

cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttgc caacttatta ctgtcaacag ggtactgggt acggccgct cactttggc 300

caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 197

<211> 1376

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1761 = 1205 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker

and CD86 mutant 1040 inclusive intron sequence

<400> 197

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc 60

atcaacttgcc gggcaagtca gaggatttagc agctatttaa attggtatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagg ttgcaaagtgg ggtcccatca 180

cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagattttgc caacttatta ctgtcaacag tctgtccgc actaccgtt cactttggc 300

caggggacca agctggagat caaacgttag tcgtacgcta gcaagcttga tatcgaattc	360
taaactctga gggggtcgga tgacgtggcc attcttgcc taaagcattg agtttactgc	420
aaggtcagaa aagcatgcaa agccctcaga atggctgcaa agagctccaa caaaacaatt	480
tagaacttta ttaaggaata ggggaaagct aggaagaaac tcaaaaacatc aagatittaa	540

atacgcttct tggtctcctt gctataatta tctggataaa gcatgctgtt ttctgtctgt	600
ccctaacatg ccctgtgatt atccgcaaac aacacaccca agggcagaac tttgttactt	660
aaacaccatc ctgttgctt cttcctcag gaactgtggc tgccccatct gtcttcatct	720
tcccgccatc tggatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tggatgtgtgc ctgctgaata	780
acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgaa taacgcctc caatcggta	840
actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca	900
ccctgacgct gagcaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtccacc	960

atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt agcggaggag	1020
gaggaagcgg aggaggagga agcgccccc tcaaaatcca aegtgtacttc aacgaaactg	1080
cagacttacc gtgtcagttt gccaattcgc agaatctgag cctgagcgaa ctgggggttt	1140
tctggcagga tcaggagaac ctgggtctga acgaagtcta tctggcaaa gagcggttcg	1200
acagcgtgga cagcaagtat atggccgca ccagcttga tagcgacagc tggaccctgc	1260
gtctgcacaa tctgcaaattc aaagataagg gtaggtacca gtgcattatc caccataaga	1320
agccgacggg tatgattaat attcacaaaa tgaactccga gttgtctgtc ctggcg	1376

<210> 198

<211> 337

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1761 =1205 light chain VL, with constant kappa sequence, linker
and CD86 mutant 1040

<400> 198

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 Val Pro His Tyr Pro

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

210 215 220

Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp

225 230 235 240

Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu

245 250 255

Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr

260 265 270

Leu Gly Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg

275 280 285

Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln

290	295	300
Ile Lys Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro		
305	310	315
Thr Gly Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu		
325	330	335
Ala		

<210> 199

<211> 1370

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1763 = 1215 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker
and CD86 mutant 1040

<400> 199

gacatccaga tgaccaggc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc	60
atcaacttgcc gggcaagtca gaggcatttgc agctatttaa attggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgt gcattccagg ttcaaagtgg ggtcccatca	180
cgttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaacttca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttgc caacttatta ctgtcaacag gacgcttacc cgcacacttt tggccagggg	300
accaagctgg agatcaaacg tgagtctac gctagcaagc ttgatatcga attctaaact	360
ctgagggggtt cggatgacgt ggccattttt tgcctaaagc attgagttt ctgcaaggc	420

agaaaaagcat gcaaaggccct cagaatggct gcaaagagct ccaacaaaac aatttagaac	480
tttattaaagg aataggggaa agcttaggaag aaactcaaaa catcaagatt ttaaatacgc	540
ttcttggctt ctttgtata attatctggg ataagcatgc tggtttctgt ctgtccctaa	600
catgccctgt gattatccgc aaacaacaca cccaaaggca gaactttgtt acttaaacac	660
catcctgttt gttttttcc tcaggaactg tggctgcacc atctgtttc atctccgc	720
catctgtatgtt gcaatgtaaa tctggaaactg cctctgttgt gtgcctgtt aataacttct	780
atccccagaga gccaaagta cagtgaaagg tggataacgc cttccaaatcg ggtaactccc	840

aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc agcaccctga	900
---	-----

cgctgagcaa	agcagactac	gagaaacaca	aagtctacgc	ctgcgaagtc	accatcagg	960
gcctgagctc	gccgtcaca	aagagttca	acaggggaga	gttagcgga	ggaggaggaa	1020
gcggaggagg	aggaagcgcc	cccctaaaa	tccaagcgta	cttcaacgaa	actgcagact	1080
taccgtgtca	gttgtccat	tcgcagaatc	tgagctgag	cgaactggtg	gtttctggc	1140
aggatcagga	gaacctggtt	ctgaacgaag	tctatctgg	caaagagcgg	ttcgacagcg	1200
tggacagcaa	gtatatggc	cgcaccagct	ttgatagcga	cagctggacc	ctgcgtcgc	1260

acaatctgca aatcaaagat aaggtaggt accagtcat tatccaccat aagaagccga 1320

cgggtatgtat taatattcac caaatgaact ccgagttgtc tgtcctggcg 1370

<210> 200

<211> 335

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1763 = 1215 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker
and CD86 mutant 1040

<400> 200

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 Asp Ala Tyr Pro His Thr

85	90	95
----	----	----

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro

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

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

115	120	125
-----	-----	-----

Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys

130 135 140

Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145 150 155 160

Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser

165 170 175

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

180 185 190

Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe

195 200 205

Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Ser

210 215 220

Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu Pro

225 230 235 240

Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val Val

245 250 255

Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu Gly

260 265 270

Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr Ser

275 280 285

Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile Lys

290 295 300

Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr Gly

305 310 315 320

Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala

325 330 335

<210> 201

<211> 1373

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1765 = 1619 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker
and CD86 mutant 1040

<400> 201

gacatccaga tgacctcgtc tccatccctcc ctgagcgcat ctgttaggaga ccgcgtcacc	60
atcaacttggcc gggcaagtca gagcatttagc agctatttaa attggtatca gcagaaaccca	120
gggaaaggccc ctaagctcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtccccatca	180
cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttg caacttattta ctgtcaacag tactacgaca acctgcccac ttttggccag	300
gggaccaagc tggagatcaa acgtgagtgc tacgctagca agcttgatat cgaattctaa	360

actctgagggg ggtcgatgcgtggccatt cttgcctaa agcattgagt ttactgcaag	420
gtcagaaaaag catgcaaagc cctcagaatg gctgcaaaga gctccaacaa aacaatttag	480
aactttatta aggaataggg ggaagctagg aagaaaactca aaacatcaag attttaata	540
cgccttgg ttccttgct ataattatct gggataagca tgctgtttc tgtctgtccc	600
taacatgccc tgtgattatc cgcaaaacaac acacccaagg gcagaacttt gttacttaaa	660
caccatcctg tttgtttctt tcctcaggaa ctgtggctgc accatctgtc ttcatcttcc	720
cgccatctga tgagcagttt aaatctggaa ctgcctctgt ttttgtgcctg ctgaaataact	780

tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgcctccaa tcggtaact	840
cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcaccc	900
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgccctgcgaa gtcacccatc	960
agggcctgag ctgcggcgta acaaagagct tcaacagggg agagtgttagc ggaggaggag	1020
gaagcggagg aggaggaagc gcccccctca aaatccaagc gtacttcaac gaaaactgcag	1080
acttaccgtg tcagttgcc aattcgcaga atctgagcct gagcgaactg gtggtttct	1140
ggcaggatca ggagaacctg gttctgaacg aagtctatct gggcaaagag cggttcgaca	1200

```
gcgtggacag caagtatatg ggccgcacca gcttgatag cgacagctgg accctgcgtc 1260  
tgtcacaatct gcaaataaa gataaggta ggtaccagtg cattatccac cataagaagc 1320  
cgacgggtat gattaatatt caccaaata gactccgagtt gtctgtctg gcg 1373
```

<210> 202

<211> 336

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1765 = 1619 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker

and CD86 mutant 1040

<400> 202

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 Tyr Tyr Asp Asn Leu Pro

85	90	95
----	----	----

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

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

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115	120	125
-----	-----	-----

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

130	135	140
-----	-----	-----

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145	150	155	160
-----	-----	-----	-----

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165	170	175
-----	-----	-----

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

180	185	190
-----	-----	-----

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195	200	205
-----	-----	-----

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

210	215	220
-----	-----	-----

Ser Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp Leu

225	230	235	240
Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu Val			
245	250	255	
Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr Leu			
260	265	270	

Gly Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg Thr			
275	280	285	
Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln Ile			
290	295	300	
Lys Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro Thr			
305	310	315	320
Gly Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu Ala			
325	330	335	

<210> 203

<211> 1370

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1767 = 1621 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker
and CD86 mutant 1040

<400> 203

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtacc	60
atcacttgcc gggcaagtca gagcatttagc agctattaa attggtatca gcagaaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctatgt gcatccagg ttcaaagtgg ggtccatca	180
cgttcatgt gcagtggaaag cggcacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttcaacttatta ctgtcaacag ggtgttggc cgtacactt tggccagggg	300

accaagctgg agatcaaacg tgagtctac gctagcaagc ttgatatcga attctaaact	360
ctgaggggtt cgatgacgt ggccatttt tgcctaaagc attgagttt ctgcaaggtc	420
agaaaaagcat gcaaaggccct cagaatggct gcaaagagct ccaacaaaac aatttagaac	480
tttattaaagg aataggggaa agcttaggaag aaactcaaaa catcaagatt ttaaatacgc	540
ttcttggtct cttgtata attatctggg ataagcatgc tgtttctgt ctgtccctaa	600
catgccctgt gattatccgc aaacaacaca cccaaaggca gaactttgtt acttaaacac	660

catcctgttt gcttcttcc tcaggaactg tggctgcacc atctgtcttc atcttcccgc 720

catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg aataacttct 780

atcccaagaga gcccaaagta cagtggagg tggataacgc cctccaatcg ggtaactccc 840

aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc agcaccctga 900

cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc acccatcagg 960

gcctgagctc gccgtcaca aagagttca acaggggaga gttagcggg ggaggaggaa 1020

gcggaggagg aggaagcgcc cccctaaaa tccaagcgta cttcaacgaa actgcagact 1080

taccgtgtca gtttgccaat tcgcagaatc tgagcctgag cgaactgggt gtttctggc 1140

aggatcagga gaacctgggtt ctgaacgaag tctatctggg caaagagcgg ttgcacagcg 1200

tggacagcaa gtatatgggc cgaccaggct ttgatagcga cagctggacc ctgcgtctgc 1260

acaatctgca aatcaaagat aaggtaggtt accagtgcattatccaccat aagaagccga 1320

cgggtatgtatgtatattcac caaatgaact ccgagttgtc tgtcctggcg 1370

<210> 204

<211> 335

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1767 = 1621 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker

and CD86 mutant 1040

<400> 204

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 Gly Val Gly Pro Tyr Thr

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

<210> 205

<211> 1376

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1769= 1627 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker

and CD86 mutant 1040

<400> 205

gacatccaga tgaccaggc tccatcctcc ctgagcgcat ctgtaggaga ccgcgtcacc	60
atcaacttgcc gggcaagtca gaggatttgc agctatttaa attggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctct gatctatgt gcatccagg ttgcaaagtgg ggtcccatca	180
cgtttcagtg gcagtggaaag cgggacagat ttcaactctca ccatcagcag tctgcaacct	240

gaagattttgc caacttatta ctgtcaacag ggtactgggt acggtcgct cactttggc	300
caggggacca agctggagat caaacgtgag tcgtacgcta gcaagcttga tatcgaattc	360
taaactctga gggggtcgga tgacgtggcc attctttgcc taaagcatttgc agtttactgc	420
aaggtcagaa aagcatgcaa agccctcaga atggctgcaa agagctccaa caaaacaatt	480
tagaacttta ttaaggaata gggggaaagct aggaagaaac tcaaaacatc aagatttaa	540
atacgcttct tggctccctt gctataatta tctggataa gcatgctgtt ttctgtctgt	600
ccctaacaatgc ccctgtgatt atccgcaaac aacacaccca agggcagaac tttgttactt	660

aaacaccatc ctgtttgctt ctccctcag gaactgtggc tgcaccatct gtcttcatct	720
tcccgccatc tcatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgggtgtgc ctgctgaata	780
acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtgga taacgcctc caatcggta	840
actcccagga gagtgcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc ctcagcagca	900
ccctgacgct gagcaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc gaagtcccc	960
atcagggcct gagtcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt agcggaggag	1020
gaggaagcgg aggaggagga agcgcccccc tcaaaatcca agcgtacttc aacgaaactg	1080

cagacttacc gtgtcagttt gccaattcgc agaatctgag cctgaggcga ctggtggttt	1140
tctggcagga tcaggagaac ctggttctga acgaagtcta tctggcaaa gagcggttcg	1200
acagcgtgga cagcaagtat atggccgca ccagtttga tagcgcacagc tggaccctgc	1260
gtctgcacaa tctgcaaatc aaagataagg gtaggtacca gtgcatttac caccataaga	1320
agccgacggg tatgattaat attcacaaa tgaactccga gttgtctgtc ctggcg	1376

<210> 206

<211> 337

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> 1769 = 1627 Light chain VL, with constant kappa sequence, linker

and CD86 mutant 1040

<400> 206

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 Gly Thr Gly Tyr Gly Pro

85 90 95

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

100 105 110

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

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

180 185 190

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys
 195 200 205
 Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 210 215 220
 Gly Ser Ala Pro Leu Lys Ile Gln Ala Tyr Phe Asn Glu Thr Ala Asp
 225 230 235 240
 Leu Pro Cys Gln Phe Ala Asn Ser Gln Asn Leu Ser Leu Ser Glu Leu
 245 250 255
 Val Val Phe Trp Gln Asp Gln Glu Asn Leu Val Leu Asn Glu Val Tyr
 260 265 270
 Leu Gly Lys Glu Arg Phe Asp Ser Val Asp Ser Lys Tyr Met Gly Arg
 275 280 285
 Thr Ser Phe Asp Ser Asp Ser Trp Thr Leu Arg Leu His Asn Leu Gln
 290 295 300
 Ile Lys Asp Lys Gly Arg Tyr Gln Cys Ile Ile His His Lys Lys Pro
 305 310 315 320
 Thr Gly Met Ile Asn Ile His Gln Met Asn Ser Glu Leu Ser Val Leu
 325 330 335
 Ala

<210> 207
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 207
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Tyr
1 5
<210> 208
<211> 8
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 208
Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 209

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 209

Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Gly Ser

1 5

<210> 210

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 210

Gly Phe Thr Phe Ser Gly Tyr Tyr

1 5

<210> 211

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 211

Gly Phe Thr Phe Gly Gly Tyr Ser

1 5

<210> 212

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 212

Ile Gly Ser Tyr Tyr Gly Tyr Thr

1 5

<210> 213

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 213

Ile Gly Ser Gly Gly Gly Tyr Thr

1 5

<210> 214

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 214

Ile Ser Ser Gly Ser Gly Ser Thr

1 5

<210> 215

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 215

Ile Ser Ser Ser Gly Ser Tyr Thr

1 5

<210> 216

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 216

Ile Gly Gly Tyr Tyr Tyr Ser Thr

1 5

<210> 217

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 217

Ala Arg Ala Tyr Tyr Asp Tyr Asn Tyr Tyr Tyr Ala Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 218

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 218

Ala Arg Val Gly His Pro Phe Asp Tyr

1 5

<210> 219

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 219

Ala Arg Ser Ser Tyr Tyr Gly Ser Tyr Tyr Ser Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 220

Ala Arg Ser Val Gly Pro Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 221

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 221

Ala Arg Ser Tyr Tyr Gly Ser Ile Asp Tyr

1 5 10

<210> 222

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 222

Gln Gln Ser Val Pro His Tyr Pro Phe Thr

1 5 10

<210> 223

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 223

Gln Gln Asp Ala Tyr Pro His Thr

1 5

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 224

Gln Gln Tyr Tyr Asp Asn Leu Pro Thr

1 5

<210> 225

<211> 8

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 225

Gln Gln Gly Val Gly Pro Tyr Thr

1 5

<210> 226

<211> 10

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 226

Gln Gln Gly Thr Gly Tyr Gly Pro Leu Thr

1 5 10