(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년01월19일
(11) 등록번호 10-2626525
(24) 등록일자 2024년01월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/32 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 47/68 (2017.01) *A61P 35/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/32 (2013.01)
A61K 47/6803 (2023.08)
(21) 출원번호 10-2022-7032555(분할)
(22) 출원일자(국제) 2014년02월07일
심사청구일자 2022년10월19일
(85) 번역문제출일자 2022년09월20일
(65) 공개번호 10-2022-0133313
(43) 공개일자 2022년10월04일
(62) 원출원 특허 10-2021-7031652
원출원일자(국제) 2014년02월07일
심사청구일자 2021년10월01일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/015393
(87) 국제공개번호 WO 2014/124316
국제공개일자 2014년08월14일
(30) 우선권주장
61/762,563 2013년02월08일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2006034488 A2
WO2009092011 A1

(73) 특허권자
노파르티스 아게
스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
(72) 발명자
가이어스탄거, 베른하르드 후버트
미국 92121 캘리포니아주 샌 디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 게노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치파운데이션 (지엔에프) 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 게노믹스, 인크.
오우, 웨이지아
미국 92121 캘리포니아주 샌 디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 게노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치파운데이션 (지엔에프) 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 게노믹스, 인크.
우노, 테츠오
미국 92121 캘리포니아주 샌 디에고 존 제이 홉킨스 드라이브 10675 게노믹스 인스티튜트 오브 더 노바티스 리서치파운데이션 (지엔에프) 노바티스 인스티튜트 포 펑셔널 게노믹스, 인크.
(74) 대리인
양영준, 이상영

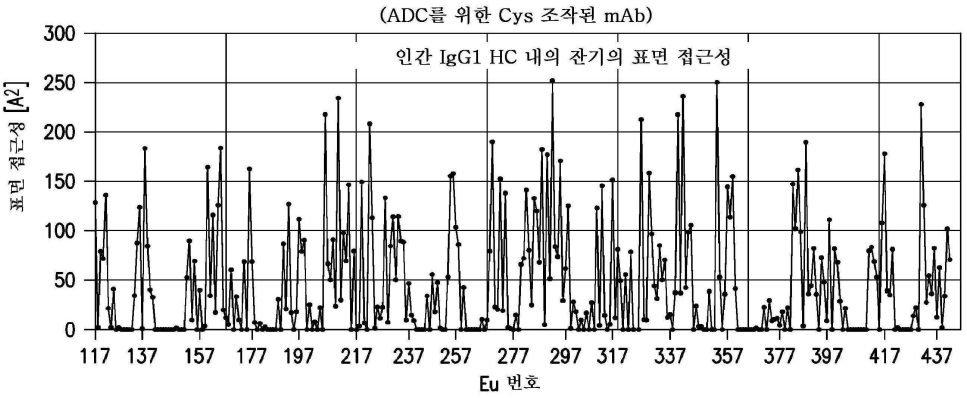
전체 청구항 수 : 총 14 항 심사관 : 이재정

(54) 발명의 명칭 **면역접합체의 제조를 위한 항체의 변형에 사용되는 특정 부위**

(57) 요 약

본 발명은 모 항체 또는 항체 단편의 불변 영역 내의 적어도 하나의 천연 아미노산을 시스테인으로 대체함으로써 항체 또는 항체 단편을 변형시키기 위한 특정 부위를 제공하며, 이는 페이로드 또는 링커-페이로드 조합을 위한 부착 부위로서 사용될 수 있다.

대 표 도



(52) CPC특허분류
A61K 47/6817 (2017.08)
A61K 47/6855 (2017.08)
A61K 47/6871 (2017.08)
A61P 35/00 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/73 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

변형된 IgG 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄 불변 영역 CH1, CH2 및 CH3 도메인, 및 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄 불변 영역의 아미노산 위치 152에서의 시스테인 치환을 포함하고, 상기 아미노산 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것이며, 약물 모이어티는 티올-말레이미드 연결, -S-CH_2-C(=O)- 연결, 디술피드 연결, 절단가능한 링커 또는 비-절단가능한 링커를 통해 상기 시스테인의 황을 통해 상기 변형된 항체 또는 항체 단편에 부착되고, 약물 모이어티는 탁산, DNA-알킬화제, 안트라시클린, 튜부리신, 두오카르마이신, 아우리스타틴 E, 아우리스타틴 F, 메이탄시노이드 또는 세포독성제이고, 약물 항체 비는 2인, 면역접합체.

청구항 2

변형된 IgG 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄 불변 영역 CH1, CH2 및 CH3 도메인, 및 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄 불변 영역의 아미노산 위치 152 및 375에서의 시스테인 치환의 조합을 포함하고, 상기 아미노산 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것이며, 약물 모이어티는 티올-말레이미드 연결, -S-CH_2-C(=O)- 연결, 디술피드 연결, 절단가능한 링커 또는 비-절단가능한 링커를 통해 상기 시스테인의 황을 통해 상기 변형된 항체 또는 항체 단편에 부착되고, 약물 모이어티는 탁산, DNA-알킬화제, 안트라시클린, 튜부리신, 두오카르마이신, 아우리스타틴 E, 아우리스타틴 F, 메이탄시노이드 또는 세포독성제이고, 약물 항체 비는 4인, 면역접합체.

청구항 3

변형된 IgG 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄 불변 영역 CH1, CH2 및 CH3 도메인, 및 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄 불변 영역의 아미노산 위치 152 및/또는 375에서의 하나 이상의 시스테인 치환을 포함하고, 상기 아미노산 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것이며, 약물 모이어티는 티올-말레이미드 연결, -S-CH_2-C(=O)- 연결, 디술피드 연결, 절단가능한 링커 또는 비-절단가능한 링커를 통해 상기 시스테인의 황을 통해 상기 변형된 항체 또는 항체 단편에 부착되고, 약물 모이어티는 탁산, DNA-알킬화제, 안트라시클린, 튜부리신, 두오카르마이신, 아우리스타틴 E, 아우리스타틴 F, 메이탄시노이드 또는 세포독성제이고, 약물 항체 비는 8인, 면역접합체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 모노클로날 항체인 면역접합체.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가 키메라 항체인 면역접합체.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체가

인간화 또는 완전 인간 항체, 또는

이중특이적 또는 다중특이적 항체인

면역접합체.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 종양의 세포 표면 마커 특징부에 특이적으로 결합하는 것인 면역접합체.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항의 면역접합체를 포함하는, 암을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 9

변형된 IgG 항체 또는 그의 항체 단편의 중쇄 불변 영역 CH1, CH2 및 CH3 도메인, 및 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄 불변 영역의 아미노산 위치 152 및 375에서의 시스테인 치환의 조합을 포함하며, 여기서 상기 아미노산 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 변형된 IgG 항체 또는 그의 항체 단편.

청구항 10

제9항에 있어서, 탁산, DNA-알킬화제, 안트라시클린, 튜부리신, 두오카르마이신, 아우리스타틴 E, 아우리스타틴 F, 메이탄시노이드 또는 세포독성제로부터 선택되는 약물 모이어티에 추가로 부착되며, 여기서 상기 약물 모이어티는 티올-말레이미드 연결, $-S-CH_2-C(=O)-$ 연결, 디술피드 연결, 절단가능한 링커 또는 비-절단가능한 링커를 통해 상기 시스테인의 황을 통해 상기 변형된 항체 또는 항체 단편에 부착되는 것인 변형된 IgG 항체 또는 항체 단편.

청구항 11

제9항에 있어서, 적어도 하나의 Pc1 또는 비천연 아미노산 치환 또는 S6 태그를 추가로 포함하는 변형된 IgG 항체 또는 항체 단편.

청구항 12

제9항 또는 제10항의 변형된 IgG 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산.

청구항 13

제12항의 핵산을 포함하는 숙주 세포.

청구항 14

제13항의 숙주 세포를 변형된 IgG 항체 또는 항체 단편의 발현에 적합한 조건 하에 인큐베이션하는 단계, 및 상기 변형된 IgG 항체 또는 항체 단편을 단리하는 단계를 포함하는, 변형된 IgG 항체 또는 항체 단편을 생산하는 방법.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

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

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 다양한 치료 용도를 위한 항체의 중요성으로 인해, 개선된 특성 또는 추가의 기능을 도입하기 위해 항체를 선택적으로 변형시키는 강건한 방법이 요구된다. 본 발명은 변형된 항체의 제조를 위해, 예컨대 항체-약물 접합체(ADC)의 제조에 사용하기 위해, 모이어티를 항체에 부착시키는데 사용되는 특정 부위를 제공한다. 선택적 접합 부위는 항체의 불변 영역 상에 위치하며, 이에 따라 다양한 항체에 유용하다.

배 경 기 술

[0002] 항체 변형 방법의 유용성은 널리 알려져 있으며, 다양한 "페이로드(payload)" 모이어티를 부착시키기 위한 다수의 항체 접합 방법이 개발되었다. 이러한 방법 중 다수는 페이로드를 부착시키는데 사용될 수 있는 항체 상의 특정 반응성 아미노산 잔기, 예컨대 리신 및 시스테인의 자연 발생에 의존한다. 그러나, 부착되는 페이로드의 위치 및 양이 이러한 반응성 아미노산의 수 및 위치에 따라 달라지기 때문에 천연 아미노산에 의존하는 것이 항상 바람직하지는 않다: 이러한 잔기가 너무 많거나 또는 너무 적으면 항체에 대한 페이로드의 부하를 효율적으로 조절하기 어려워진다. 또한, 반응성 아미노산의 배치는 완전한 접합을 달성하기 어렵게 하여, 접합 동안 불균질한 생성물을 발생시킬 수 있다. 예를 들어 제약 활성 성분의 불균질성은 전형적으로 대상체의 이종성 집단에 대한 약물 투여의 예측불가능성을 심화시키기 때문에 바람직하지 않다: 균질한 생성물을 투여하는 것이 훨씬 바람직하며, 불균질한 생성물을 완전히 특성화하고 그의 거동을 예측하는 것이 훨씬 더 어렵다. 예를 들어 세포독성 약물을 조작된 시스테인 잔기를 통해 항체에 부위-특이적으로 접합시키는 것은 개선된 치료 지수를 나타내는 균질한 면역접합체를 발생시킨다 (Junutula et al., (2008) Nat Biotechnol. 26(8):925-932)).

[0003] 항체는 시스테인과 같은 특정 잔기가 접합에 사용될 수 있는 특정 위치 내에 이러한 잔기가 부가되도록 조작되었으나 (Lyons et al., (1990) Protein Eng., 3:703-708), 이러한 특이적 치환의 유용성은 조작된 시스테인이 항체의 폴딩 및 적절한 분자내 디술피드 결합의 산화를 방해할 수도 있으므로 특정 항체에 따라 달라질 수 있다 (Voynov et al., (2010) Bioconjug. Chem. 21(2):385-392).

[0004] 포유동물 세포에서 발현된 항체 내의 조작된 시스테인이 그의 생합성 동안 글루타티온 (GSH) 및/또는 시스테인과의 디술피드 결합을 통해 변형되기 때문에 (Chen et al. (2009) mAbs 1:6, 563-571), 처음에 발현된 항체 약물 접합체 생성물 내의 변형된 시스테인(들)은 티올 반응성 시약에 반응하지 않는다. 조작된 시스테인(들)의 활성화는 접합 전에 GSH 및/또는 시스테인 부가물의 환원 (전형적으로 항체의 모든 쇄간 디술피드 결합을 환원시킴), 이어서 천연 쇄간 디술피드 결합의 재산화 및 재형성을 필요로 한다 (Junutula et al., (2008) Nat. Biotechnol. 26(8):925-32). 시스테인이 삽입된 위치 중 일부는 재산화의 과정을 방해하고, 이후에 바람직하지 않은 비-균질한 접합 생성물을 발생시킨다. 따라서, 도입된 시스테인이 티올 반응성 시약, 예컨대 말레이미드 또는 브로모-, 클로로- 또는 아이오도-아세트아미드 기와의 접합 전에 재산화 과정을 방해하지 않는 항체 상의 부위를 확인하는 것이 중요하다.

[0005] 시스테인 잔기와 브로모-아세트아미드, 아이오도-아세트아미드 또는 클로로-아세트아미드의 접합은 안정한 티오에테르 연결을 형성한다. (Alley et al., (2008) Bioconjug Chem. 19(3):759-65). 그러나, 그의 화학 반응은 말레이미드 접합 화학 반응보다 덜 효율적이다. 이러한 티올-말레이미드 연결을 형성하는 것이 시스테인에 페이로드 또는 링커를 부착시킬 때 사용되는 일반적이고 매우 효율적인 방법이기 때문에, 말레이미드 연결이 사용될 수 있는 항체 상의 시스테인 치환 부위를 확인하는 것이 요구된다. 보다 중요하게는, 부위-특이적으로 접합된 면역접합체가 개선된 치료 지수를 나타낼 수 있으며, 이에 따라 항체에 대한 페이로드의 접합을 효율적으로 형성할 수 있으며 높은 안정성을 갖는 접합체를 제공하는 항체 내의 시스테인 치환에 사용되는 특정의 특권적 부위를 확인하는 것이 여전히 요구된다. 본 발명은 접합 목적을 위해 개선된 항체 및 이러한 개선된 항체를 포함하는 면역접합체를 생성하는 이러한 특권적 시스테인 치환 부위를 제공한다.

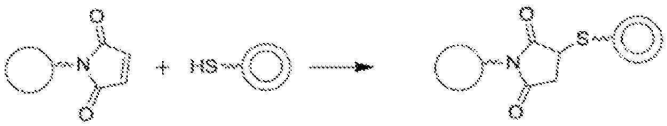
발명의 내용

[0006] 본 발명은 화학적 모이어티 (예를 들어, 페이로드/약물 모이어티)의 부착에 사용되는 Cys 잔기를 제공하여 우수한 효율 및 안정성을 갖는 면역접합체의 형성하기 위해 모 항체 또는 항체 단편 상의 천연 아미노산의 시스테인("Cys") 대체를 수행할 수 있는 항체 또는 항체 단편의 불변 영역 내의 특정 부위를 제공한다. 본 발명은 이러한 특정 부위 중 하나 이상에 하나 이상의 Cys 잔기를 갖는 조작된 항체 또는 항체 단편 뿐만 아니라 이러한 조작된 항체 또는 항체 단편으로부터 제조된 면역접합체를 추가로 제공한다.

[0007] 항체의 특정 위치에 Cys를 삽입하는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, WO 2011/005481 참조). 그러나, 본 발명은 모 항체 또는 항체 단편의 하나 이상의 천연 아미노산을 Cys로 대체하는 것이 하기 이점: 효율적인 면역접합을 촉진하는 우수한 반응성; Cys-말레이미드 접합 링커가 사용되는 경우에 페이로드가 손실되는 경향의 감소; 바람직하지 않은 디술피드 연결, 예컨대 항체 사이의 교차-연결 또는 비-천연 분자내 디술피드 결합이 형성되는 경향의 감소; 및 생성된 ADC의 낮은 소수성 중 하나 이상을 제공하는, 항체 또는 항체 단편의 불변 영역 내의 특정 부위를 개시한다.

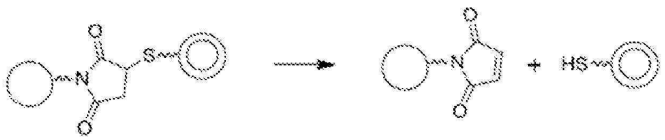
[0008] 모 항체 또는 항체 단편의 불변 영역 내의 천연 아미노산의 Cys 대체에 사용되는 특정의 특권적 부위는 바람직하지 않은 영향을 최소화하면서 효율적인 접합을 제공하도록 선택된다. 첫째, 변형에 사용되는 특정 부위는 선택된 위치 중 하나 이상에서의 모 항체 또는 항체 단편의 천연 아미노산을 Cys로 대체하는 것이 새로운 시스테인 상에 용이하게 접합되는 항체 또는 항체 단편을 제공하도록 선택된다. 특정 위치는 시스테인 잔기의 술프히드릴이 수용액에서 친전자체를 향해 반응성이 되도록 하기에 충분히 표면-접근가능하도록 선택된다. 모 항체 또는 항체 단편의 천연 아미노산의 Cys 대체에 적합한 부위의 확인은 결정 구조 데이터에 기초하여 천연 아미노산의 표면 노출을 분석하는 것을 포함한다. 본원에 기재된 부위는 충분히 접근가능하고 반응성이기 때문에, 자연-발생 시스테인 잔기를 변형시키기 위한 관련 기술분야에 널리 공지된 화학 반응을 통해 면역접합체를 형성하는데 사용될 수 있다. 따라서, 대체 Cys 잔기의 접합은 통상의 방법을 이용한다.

[0009] 선택된 변형 부위는 티올-말레이미드 모이어티가 접합에 사용되는 경우에 접합의 반전에 대해 낮은 경향을 나타낼 수 있다. 티올-말레이미드 접합 반응은 종종 고도로 선택적이고 매우 효율적이며, 단백질의 시스테인 잔기의 티올에 페이로드를 부착시키기 위해 사용되거나 또는 단백질 및 페이로드 사이의 연결 내의 임의의 부위에서 링커로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 말레이미드는 단백질 (예를 들어, 항체 또는 항체 단편)에 부착될 수 있고, 부착된 티올을 갖는 페이로드는 말레이미드에 부가되어 접합체를 형성할 수 있다.

[0010] 

[0011] 따라서, 이러한 접합 단계에서, 단백질 (예를 들어, 항체 또는 항체 단편)은 단일 원 또는 이중 원일 수 있고; 다른 것은 페이로드를 나타낼 것이다. 여기서 면역접합체 안정성 정보는 특히 말레이미드 기와의 반응에 의한 치환된 시스테인의 접합에 관한 것이다. 일부 실시양태에서, 티올은 단백질 (예를 들어, 항체 또는 항체 단편) 상의 시스테인으로부터의 것이며, 이에 따라 이중 원은 단백질을 나타내고, 단일 원은 페이로드를 나타낸다.

[0012] 티올-말레이미드 반응은 종종 접합체 제조에 사용되며, 하기 도시된 바와 같은 접합 단계의 반전은 페이로드의 손실 또는 다른 티올-함유 종과의 페이로드의 스크램블링을 발생시킬 수 있다.

[0013] 

[0014] 시스테인 치환을 위한 일부 부위는 다른 것보다 더 안정한 말레이미드 접합체를 제공한다고 보고되었으며, 이는 아마도 새로운 시스테인 주위의 항체 표면 상의 특정 지점에서의 국부 화학적 환경이 숙신이미드 고리의 가수분해를 촉진하여, 면역접합체 내의 티올-말레이미드 연결의 반전을 방지할 수 있었을 것이기 때문이다 (Shen et al. (2012), Nat. Biotechnol. 30(2):184-9). 이러한 기준을 만족시키기에 유리한 부위를 확인하는 것은 적합한 표면 노출을 갖는 다수의 천연 아미노산 대신 Cys를 삽입하는 것, 티올-말레이미드 연결을 함유하는 면역접합체를 제조하는 것, 및 접합체의 안정성이 불안정화 부위 주위의 국부 미세환경에 의해 감소되는 부위를 제거하기 위해 면역접합체의 안정성을 평가하는 것을 수반한다. 이 때문에, 대체 Cys 잔기에 링커 및 페이로드를 부착시키는데 이용될 수 있는 화학 반응은 상기 논의된 티올-말레이미드 접합체의 가역성과 연관된 안정성 문제에 의해 제한되지 않는다. 말레이미드 접합을 비롯하여, 시스테인에서 접합체를 형성하기 위한 다수의 방법이 이용될 수 있다. 본원에 기재된 시스테인 치환에 사용되는 부위는 가장 통상적인 접합 방법 중 하나를 이용할 때 항체 접합체 생성물의 안정성을 촉진하여, 이러한 부위를 항체 조작에 유리하도록 만드는데, 이는 변형된 항체가 널리-공지되어 있고 고도로 효율적인 말레이미드 접합 방법에 사용될 수 있기 때문이다. 이러한 기준에 기초한 부위의 선택은 표 22 및 실시예 9에 제시된 데이터에 의해 설명된다.

[0015] 선택된 부위는 균질한 접합체의 형성을 방해할 수 있는 바람직하지 않은 디술피드 형성이 최소화되도록 위치할 수 있다. 조작된 시스테인을 함유하는 항체 또는 항체 단편이 포유동물 세포에서 생산되는 경우에, Cys 잔기는 전형적으로 유리 Cys 아미노산에 또는 글루타티온에 디술피드로서 제시된다 (Chen et al., (2009) mAbs 16, 353-571). 티올 반응성 기와의 접합에 사용되는 Cys 잔기를 유리시키기 위해, 항체 또는 항체 단편은 환원될 필요가 있으며, 여기서 모든 디술피드 결합이 파괴된다. 이어서, 항체 또는 항체 단편은 항체 또는 항체 단편을 안정화시키는 천연 디술피드의 형성을 용이하게 하는 조건 하에 재산화된다. 재산화되면, 항체 또는 항체 단편의 표면 상에 많이 두드러지게 노출된 시스테인 잔기가 다른 항체 또는 항체 단편 상의 Cys와의 반응에 의해 디술피드를 형성할 수 있거나 ("항체간 디술피드"), 또는 바람직하지 않은 항체내 디술피드의 형성에 의해 디술피드를 형성할 수 있다. 본원에 기재된 특정 부위에 위치한 시스테인 잔기는 효율적인 접합에 이용가능하도록 적절하게 접근가능하지만, 다르게는 cys-변형된 항체를 발현시킬 때 전형적으로 요구되는 환원 / 재산화 절차 동안 발생할 항체간 및 항체내 디술피드 결합의 형성을 감소시키거나 또는 제거하기에 충분하도록 차폐되거나 또는 적절하게 위치하는 것으로 밝혀졌다. 유사하게, 재산화 후에 일부 부위가 단백질 내로 조작된 새로운 Cys 잔기의 위치로 인해 발생하게 되는 비-균질한 접합 생성물을 생성하는 것으로 밝혀졌으며, 본원에서 확인된 특정 부위는 이러한 불균질성이 최소화되는 곳이다.

[0016] 약물 페이로드가 용매 상호작용으로부터 격리되고 부착이 약물 부착시에 항체의 소수성을 증가시킬 수 있는 부위에서 약물 페이로드를 접합시키는 것은, 단백질 약물의 소수성을 감소시키는 것이 응집 및 순환으로부터의 클리어런스를 감소시킬 수 있기 때문에 일반적으로 유익한 것으로 간주되므로 바람직하다. 최소의 소수성 변화를 발생시키는 부착 부위를 선택하는 것이 항체당 4, 6 또는 8개의 약물이 부착되는 경우에, 또는 특히 소수성 페이로드가 사용되는 경우에 특히 유익할 수 있다.

[0017] Cys 혼입에 사용되는 부위는 이러한 방법 및 본원의 실시예에 기재된 추가의 방법을 이용하여 평가되었으며, 이로부터 접합, 특히 ADC의 제조에 사용되는 부위로서, Cys를 도입하는 항체 또는 항체 단편의 조작을 위한 Cys 혼입에 바람직한 부위가 선택된다. 항체의 천연 아미노산을 Cys로 대체하는데 사용되는 특정 부위의 선택에 대한 추가의 상세내용이 본원에 제공된다.

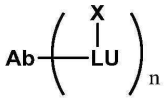
[0018] 시스테인 치환 부위는 항체 또는 항체 단편의 불변 영역에 위치하며, 본원에서 표준 넘버링 관례를 이용하여 확인된다. 그러나, 항체의 부분 또는 단편이 다수의 목적을 위해 무손상 전장 항체 대신 사용될 수 있으며, 또한 항체가 불변 영역의 기능에는 실질적으로 영향을 미치지 않을지라도 불변 영역 내의 부위의 넘버링에는 영향을 미치는 다양한 방식으로 변형될 수 있다는 것이 널리 공지되어 있다. 예를 들어, S6 태그 (짧은 펩티드)를 항체의 루프 영역에 삽입하는 것은 항체 내의 다수의 부위의 넘버링은 변화시킬지라도, 항체의 활성은 유지되도록 하는 것으로 밝혀졌다. 따라서, 본원에 기재된 바람직한 시스테인 치환 부위는 무손상 항체 넘버링에 기초한 표준 넘버링 시스템에 의해 확인되는 한편, 본 발명은 다른 변형, 예컨대 펩티드 태그 삽입을 함유하는 항체 단편 또는 항체 내의 상응하는 부위를 포함한다. 따라서, 이러한 단편 또는 변형된 항체 내의 상응하는 부위는

단편 또는 변형된 항체에서의 시스테인 치환에 바람직한 부위이고, 번호에 의한 시스테인 치환 부위의 언급은 전장 항체의 관련 부분의 기능을 유지하는 변형된 항체 또는 항체 단편 내의 상응하는 부위를 포함한다.

[0019] 항체 단편 또는 변형된 항체 내의 상응하는 부위는 항체 단편 또는 변형된 항체의 절편을 전장 항체와 정렬하여 본 발명의 바람직한 시스테인 치환 부위 중 하나에 매치되는 항체 단편 또는 변형된 항체 내의 부위를 확인함으로써 용이하게 확인될 수 있다. 정렬은 절편이 전장 항체의 정확한 부분에 매치되도록 하기에 충분히 긴 절편, 예컨대 적어도 20개 아미노산 잔기, 또는 적어도 50개 잔기, 또는 적어도 100개 잔기, 또는 적어도 150개 잔기의 절편을 기반으로 할 수 있다. 정렬은 또한 항체 단편 또는 변형된 항체로 조작될 수 있었던 다른 변형을 설명할 수 있으며, 이에 따라 정렬, 특히 보존적 치환에 사용되는 절편 내의 조작된 점 돌연변이로 인한 서열의 차이가 허용될 것이다. 따라서, 예를 들어 Fc 도메인은 항체로부터 절제될 수 있고, 넘버링 차이에도 불구하고 본원에 기재된 시스테인 치환 부위에 상응하는 아미노산 잔기를 함유할 것이다: 본 발명의 시스테인 치환 부위에 상응하는 Fc 도메인 내의 부위는 또한 Fc 도메인 내의 시스테인 치환에 유리한 부위일 것으로 예상될 것이며, 본 발명의 범위에 포함된다.

[0020] 한 실시양태에서, 본 발명은 하기 화학식 I의 면역접합체를 제공한다:

[0021] <화학식 I>

[0022] 

[0023] 여기서, Ab는 본원에 기재된 바람직한 시스테인 치환 부위 중 하나에 적어도 하나의 시스테인 잔기를 포함하는 항체 또는 항체 단편을 나타내고;

[0024] LU는 본원에 기재된 바와 같은 링커 유닛(Linker Unit)이고;

[0025] X는 페이로드 또는 약물 모이어티이고;

[0026] n은 1 내지 16의 정수이다.

[0027] 전형적으로, 화학식 I의 화합물에서, LU는 본원에 기재된 시스테인 치환 부위 중 하나에서 시스테인에 부착되고, X는 약물 모이어티, 예컨대 항암 약물이고, n은 Ab가 항체인 경우에 2-8이거나, 또는 n은 Ab가 항체 단편인 경우에 1-8일 수 있다.

[0028] 한 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄의 위치 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 360, 및 375로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체를 제공한다.

[0029] 한 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 면역접합체를 제공한다.

[0030] 한 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 143, 147, 159, 163, 및 168로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 카바트(Kabat) 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄인 면역접합체를 제공한다.

[0031] 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 위치에서 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 제공한다. 시스테인 치환에 사용되는 부위는 항체의 불변 영역 내에 있으며, 이에 따라 다양한 항체에 적용가능하고, 이러한 부위는 안정하고 균질한 접합체를 제공하도록 선택된다. 변형된 항체 또는 단편은 둘 이상의 시스테인 치환을 가질 수 있고, 이러한 치환은 본원에 기재된 바와 같은 다른 항체 변형 및 접합 방법과 조합하여 사용될 수 있다.

[0032] 한 실시양태에서, 본 발명은 상기 개시된 면역접합체를 포함하는 제약 조성물, 및 면역접합체의 사용 방법을 제공한다.

[0033] 한 실시양태에서, 본 발명은 본원에 기재된 부위에 적어도 하나의 시스테인 치환을 갖는 본원에 기재된 변형된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산을 제공한다. 본 발명은 이러한 핵산을 포함하는 숙주 세포, 및 본원에 기재된 항체 또는 단편을 발현 및 생성하기 위해 핵산 또는 숙주 세포를 사용하는 방법을 추가로 제공한다.

[0034] 한 실시양태에서, 본 발명은

[0035] (1) 적합한 표면 노출을 갖는 항체의 불변 영역 내의 아미노산을 확인하여 초기 후보 부위의 세트를 제공하는 단계;

[0036] (2) 각각의 초기 후보 부위에 대해, 해당 부위에서의 천연 아미노산이 시스테인에 의해 대체된 항체를 발현하는 단계;

[0037] (3) 각각의 발현된 항체에 대해, 발현된 단백질이 환원 및 재산화 후에 실질적으로 균질한지 여부를 결정하여 초기 후보 부위에 유리 시스테인을 갖는 기능적 항체를 제공하는 단계;

[0038] (4) 실질적으로 균질하고 기능적인 각각의 발현된 단백질에 대해, 초기 후보 부위의 시스테인을 말레이미드 모이어티와 접합시키고, 티올-말레이미드 연결이 그 부위에서 안정한지 여부를 결정하는 단계;

[0039] (5) 발현된 항체가 실질적으로 균질하고 기능적이지 않게 되는 부위, 및 티올-말레이미드 연결이 불안정화되는 부위를 초기 후보 부위의 세트로부터 제거하여, 시스테인 치환에 유리한 부위의 세트를 제공하는 단계

[0040] 를 포함하는, 시스테인에 의한 대체에 적합한 항체의 아미노산을 선택하여 접합에 우수한 부위를 제공하는 방법을 제공한다.

[0041] 임의적으로, 방법은 각각의 유리한 시스테인 치환 부위의 접합체에 대한 용융 온도를 결정하는 단계, 및 시스테인 치환 및 접합이 용융 온도를 천연 항체의 용융 온도와 5℃ 이상 차이가 나도록 하는 임의의 부위를 세트로부터 제거하는 단계를 추가로 포함한다.

[0042] 한 실시양태에서, 본 발명은 링커 유닛 (LU) 또는 링커 유닛-페이로드 조합 (-LU-X)을 항체 또는 항체 단편 내의 시스테인 잔기에 부착시키는 단계를 포함하며, 여기서 시스테인은 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄의 위치 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 360, 및 375, 및 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된 시스테인 치환 부위에 위치하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인, 면역접합체를 제조하는 방법을 제공한다.

[0043] 본 발명의 다른 측면 및 실시양태가 본원에 보다 상세하게 기재되어 있다.

[0044] 1. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄의 위치 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 334, 360, 375, 및 392로부터 선택된 부위에서 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0045] 2. 제1실시양태에 있어서, 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환이 위치 121, 124, 152, 258, 334, 360, 및 392로부터 선택되는 것인 면역접합체.

[0046] 3. 제1실시양태 또는 제2실시양태에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 서열 4, 5, 10, 17, 18, 29, 35, 42, 43, 48, 50, 54, 290, 291, 292, 293, 294, 및 295로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 것인 면역접합체.

[0047] 4. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된 부위에서 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 면역접합체.

[0048] 5. 제4실시양태에 있어서, 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환이 위치 145 또는 165로부터 선택되는 것인 면역접합체.

[0049] 6. 제4실시양태에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 서열 61, 62, 69, 71, 75, 76, 및 77로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 것인 면역접합체.

[0050] 7. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 그의 불변 영역

상에 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 143, 147, 159, 163, 및 168로부터 선택된 부위에서 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄인 면역접합체.

[0051] 8. 제7실시양태에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 서열 92, 94, 96, 97, 및 98로 이루어진 군으로부터 선택된 서열을 포함하는 것인 면역접합체.

[0052] 9. 제1실시양태 내지 제3실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 변형된 항체 또는 항체 단편이 그의 불변 영역 상에 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된 부위에서 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 추가로 포함하며, 여기서 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 면역접합체.

[0053] 10. 제1실시양태 내지 제3실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 변형된 항체 또는 항체 단편이 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 143, 147, 159, 163, 및 168로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 추가로 포함하며, 여기서 상기 경쇄 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 면역접합체.

[0054] 11. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 불변 영역 상에 위치 152 및 375에서, 또는 위치 327 및 375에서 2개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0055] 12. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 경쇄의 위치 107 및 중쇄의 위치 360을 포함하는 그의 불변 영역 상에 2개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하고, 상기 경쇄는 카파 쇄이고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0056] 13. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄의 위치 117, 119, 121, 124, 139, 152, 153, 155, 157, 164, 169, 171, 174, 189, 205, 207, 246, 258, 269, 274, 286, 288, 290, 292, 293, 320, 322, 326, 333, 334, 335, 337, 344, 355, 360, 375, 382, 390, 392, 398, 400 및 422로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0057] 14. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 107, 108, 109, 114, 129, 142, 143, 145, 152, 154, 156, 159, 161, 165, 168, 169, 170, 182, 183, 197, 199, 및 203으로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 면역접합체.

[0058] 15. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 143, 145, 147, 156, 159, 163, 및 168로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄인 면역접합체.

[0059] 16. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 2개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하고, 조합은 항체 중쇄의 위치 375 및 항체 경쇄의 위치 165, 또는 항체 중쇄의 위치 334 및 항체 경쇄의 위치 165에서의 치환을 포함하고, 상기 경쇄는 카파 쇄이고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0060] 17. 제11실시양태, 제12실시양태 및 제16실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 약물 항체 비가 약 4인 면역접합체.

[0061] 18. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 3개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하고, 조합은

[0062] a. 항체 중쇄의 위치 375 및 392 및 항체 경쇄의 위치 165,

[0063] b. 항체 중쇄의 위치 334 및 375 및 항체 경쇄의 위치 165, 및

[0064] c. 항체 중쇄의 위치 334 및 392 및 항체 경쇄의 위치 165

[0065] 로부터 선택된 치환을 포함하고, 상기 경쇄는 카파 쇄이고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0066] 19. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 3개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하고, 조합은

[0067] a. 항체 중쇄의 위치 152, 375 및 392,

[0068] b. 항체 중쇄의 위치 152, 334 및 375, 및

[0069] c. 항체 중쇄의 위치 152, 334 및 392

[0070] 로부터 선택된 치환을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0071] 20. 제18실시양태 또는 제19실시양태에 있어서, 약물 항체 비가 약 6인 면역접합체.

[0072] 21. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 4개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하고, 조합은 항체 중쇄의 위치 334, 375, 및 392 및 항체 경쇄의 위치 165, 또는 항체 중쇄의 위치 333, 375, 및 392 및 항체 경쇄의 위치 165에서의 치환을 포함하고, 상기 경쇄는 카파 쇄이고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0073] 22. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 그의 불변 영역 상에 4개 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환의 조합을 포함하고, 조합은 항체 중쇄의 위치 152, 334, 375, 및 392, 또는 항체 중쇄의 위치 152, 333, 375, 및 392에서의 치환을 포함하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 면역접합체.

[0074] 23. 제21실시양태 또는 제22실시양태에 있어서, 약물 항체 비가 약 8인 면역접합체.

[0075] 24. 제1실시양태 내지 제23실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 약물 모이어티를 추가로 포함하는 면역접합체.

[0076] 25. 제24실시양태에 있어서, 약물 모이어티가 상기 시스테인의 황 및 임의적인 링커를 통해 변형된 항체 또는 항체 단편에 부착되는 것인 면역접합체.

[0077] 26. 제25실시양태에 있어서, 상기 약물 모이어티가 절단가능한 또는 비-절단가능한 링커를 통해 상기 시스테인의 상기 황에 연결되는 것인 면역접합체.

[0078] 27. 제25실시양태에 있어서, 상기 약물 모이어티가 비-절단가능한 링커를 통해 상기 시스테인의 상기 황에 연결되는 것인 면역접합체.

[0079] 28. 제25실시양태에 있어서, 티올-말레이미드 연결을 포함하는 면역접합체.

[0080] 29. 제25실시양태에 있어서, -S-CH_2-C(=O)- 연결 또는 디술피드 연결을 포함하는 면역접합체.

[0081] 30. 제25실시양태 내지 제29실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 약물 모이어티가 세포독성제인 면역접합체.

[0082] 31. 제30실시양태에 있어서, 상기 약물 모이어티가 탁산, DNA-알킬화제 (예를 들어, CC-1065 유사체), 안트라시클린, 튜부리신 유사체, 두오카르마이신 유사체, 아우리스타틴 E, 아우리스타틴 F, 및 메이탄시노이드로 이루어진 군으로부터 선택되는 것인 면역접합체.

[0083] 32. 제1실시양태 내지 제31실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 항체가 모노클로날 항체인 면역접합체.

[0084] 33. 제1실시양태 내지 제31실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 항체가 키메라 항체인 면역접합체.

[0085] 34. 제31실시양태에 있어서, 상기 항체가 인간화 또는 완전 인간 항체인 면역접합체.

[0086] 35. 제31실시양태에 있어서, 상기 항체가 이중특이적 또는 다중특이적 항체인 면역접합체.

[0087] 36. 제1실시양태 내지 제32실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 상기 항체 또는 항체 단편이 종양의 세포 표면 마커 특징부에 특이적으로 결합하는 것인 면역접합체.

[0088] 37. 제1실시양태 내지 제36실시양태 중 어느 한 실시양태의 면역접합체를 포함하는 제약 조성물.

[0089] 38. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편의 중쇄의 위치 117, 119, 121, 124, 139, 152, 153, 155, 157, 164, 169, 171, 174, 189, 205, 207, 246, 258, 269, 274, 286, 288, 290, 292, 293, 320, 322, 326, 333, 334, 335, 337, 344, 355, 360, 375, 382, 390, 392, 398, 400, 및 422로부터 선택된 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 변형된 항체 또는 그의 항체 단편.

[0090] 39. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편의 경쇄의 위치 107, 108, 109, 114, 129, 142, 143, 145, 152, 154, 156, 159, 161, 165, 168, 169, 170, 182, 183, 197, 199, 및 203으로부터 선택된 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 변형된 항체 또는 그의 항체 단편.

[0091] 40. 변형된 항체 또는 그의 항체 단편의 경쇄의 위치 143, 145, 147, 156, 159, 163, 168로부터 선택된 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하며, 여기서 상기 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄인 변형된 항체 또는 그의 항체 단편.

[0092] 41. 제38실시양태에 있어서, 상기 치환이 중쇄의 위치 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 360, 및 375로부터 선택된, 적어도 하나의 시스테인이고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0093] 42. 제39실시양태에 있어서, 상기 치환이 2 내지 6개의 시스테인이고, 여기서 상기 시스테인은 중쇄의 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 360, 및 375로부터 선택된 위치에 있고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0094] 43. 제39실시양태에 있어서, 상기 치환이 경쇄의 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된, 적어도 하나의 시스테인이고, 여기서 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0095] 44. 제40실시양태에 있어서, 상기 치환이 2 내지 6개의 시스테인이고, 여기서 상기 시스테인은 경쇄의 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된 위치에 있고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0096] 45. 제40실시양태에 있어서, 상기 치환이 경쇄의 위치 143, 147, 159, 163, 및 168로부터 선택된, 적어도 하나의 시스테인이고, 상기 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄인 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0097] 46. 제40실시양태에 있어서, 상기 치환이 2 내지 6개의 시스테인이고, 여기서 상기 시스테인은 경쇄의 위치 143, 147, 159, 163, 및 168로부터 선택된 위치에 있고, 상기 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄인 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0098] 47. 제11실시양태, 제12실시양태, 제14실시양태 내지 제22실시양태, 및 제38실시양태 내지 제47실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 약물 모이어티에 추가로 부착되며, 여기서 상기 약물 모이어티는 상기 시스테인의 황 및 임의적인 링커를 통해 변형된 항체 또는 항체 단편에 부착되는 것인 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0099] 48. 제47실시양태에 있어서, 상기 약물 모이어티가 링커 유닛을 통해 상기 시스테인의 황에 부착되는 것인 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0100] 49. 제38실시양태 내지 제48실시양태 중 어느 한 실시양태에 있어서, 적어도 하나의 Pc1 또는 비천연 아미노산 치환 또는 효소-매개 접합을 위한 펩티드 태그 및/또는 그의 조합을 추가로 포함하는 변형된 항체 또는 항체 단편.

[0101] 50. 제38실시양태 내지 제49실시양태 중 어느 한 실시양태의 변형된 항체 또는 항체 단편을 코딩하는 핵산.

[0102] 51. 제50실시양태의 핵산을 포함하는 숙주 세포.

[0103] 52. 제49실시양태의 숙주 세포를 변형된 항체 또는 항체 단편의 발현에 적합한 조건 하에 인큐베이션하는 단계, 및 상기 항체 또는 항체 단편을 단리하는 단계를 포함하는, 변형된 항체 또는 항체 단편을 생산하는 방법.

[0104] 53. (1) 적합한 표면 노출을 갖는 항체의 불변 영역 내의 아미노산을 확인하여 초기 후보 부위의 세트를 제공하

는 단계;

[0105] (2) 각각의 초기 후보 부위에 대해, 해당 부위에서의 천연 아미노산이 시스테인에 의해 대체된 항체를 발현하는 단계;

[0106] (3) 각각의 발현된 항체에 대해, 발현된 단백질이 환원 및 재산화 후에 실질적으로 균질한지 여부를 결정하여 초기 후보 부위에서 유리 시스테인을 갖는 기능적 항체를 제공하는 단계;

[0107] (4) 실질적으로 균질하고 기능적인 각각의 발현된 단백질에 대해, 초기 후보 부위에서의 시스테인을 말레이미드 모이어티와 접합시키고, 티올-말레이미드 연결이 그 부위에서 불안정화되는지 여부를 결정하는 단계;

[0108] (5) 발현된 항체가 실질적으로 균질하고 기능적이지 않게 되는 부위, 및 티올-말레이미드 연결이 불안정화되는 부위를 초기 후보 부위의 세트로부터 제거하여, 시스테인 치환에 유리한 부위의 세트를 제공하는 단계

[0109] 를 포함하는, 시스테인에 의한 대체에 적합한 항체의 아미노산을 선택하여 접합에 적합한 부위를 제공하는 방법.

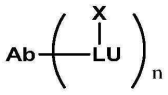
[0110] 54. 제53실시양태에 있어서, 각각의 유리한 시스테인 치환 부위의 접합체에 대한 용융 온도를 결정하는 단계, 및 시스테인 치환 및 접합이 용융 온도를 모 항체의 용융 온도와 5℃ 이상 차이가 나도록 하는 임의의 부위를 세트로부터 제거하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

[0111] 55. 제53실시양태 또는 제54실시양태에 있어서, 확인된 치환 부위 중 하나 이상에서 시스테인을 함유하는 항체 또는 항체 단편을 생산하는 것을 추가로 포함하는 방법.

[0112] 56. 링커 유닛 (LU) 또는 링커 유닛-페이로드 조합 (-LU-X)을 항체 또는 항체 단편 내의 시스테인 잔기에 부착시키는 단계를 포함하며, 여기서 시스테인은 상기 항체 또는 항체 단편의 중쇄의 위치 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 360, 및 375, 및 상기 항체 또는 항체 단편의 경쇄의 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된 시스테인 치환 부위에 위치하고, 상기 위치는 EU 시스템에 따라 넘버링되는 것인, 면역접합체를 생산하는 방법.

[0113] 57. 제56실시양태에 있어서, 면역접합체가 하기 화학식 I을 갖는 것인 방법.

[0114] <화학식 I>

[0115] 

[0116] 상기 식에서, Ab는 본원에 기재된 바람직한 시스테인 치환 부위 중 하나에 적어도 하나의 시스테인 잔기를 포함하는 항체 또는 항체 단편을 나타내고;

[0117] LU는 본원에 기재된 바와 같은 링커 유닛이고;

[0118] X는 페이로드 또는 약물 모이어티이고;

[0119] n은 1 내지 16의 정수이다.

[0120] 정의

[0121] 용어 "아미노산"은 정규, 합성, 및 비천연 아미노산 뿐만 아니라 정규 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 아미노산 유사체 및 아미노산 모방체를 지칭한다. 정규 아미노산은 유전자 코드에 의해 코딩된 단백질생성 아미노산이고, 알라닌, 아르기닌, 아스파라긴, 아스파르트산, 시스테인, 글루타민, 글루탐산, 글리신, 히스티딘, 이소류신, 류신, 리신, 메티오닌, 페닐알라닌, 프롤린 세린, 트레오닌, 트립토판, 티로신, 발린, 뿐만 아니라 셀레노시스테인, 피롤리신 및 그의 유사체 피롤린-카르복시-리신을 포함한다. 아미노산 유사체는 정규 아미노산과 동일한 기본 화학 구조, 즉 수소, 카르복실 기, 아미노 기 및 R 기에 결합된 α-탄소를 갖는 화합물, 예를 들어 시트룰린, 호모세린, 노르류신, 메티오닌 술폭시드, 메티오닌 메틸 술포늄을 지칭한다. 이러한 유사체는 변형된 R 기 (예를 들어, 노르류신) 또는 변형된 펩티드 백본을 갖지만, 정규 아미노산과 동일한 기본 화학 구조를 유지한다.

[0122] 아미노산 모방체는 아미노산의 일반 화학 구조와 상이한 구조를 갖지만, 정규 아미노산과 유사한 방식으로 기능하는 화학적 화합물을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "비천연 아미노산"은, 임의의 유기체로부터의 변형되지

않거나 변형된 유전자를 이용하여 임의의 유기체 (동일하든지 상이하든지에 관계없이) 생합성적으로 생성될 수 없는 아미노산 구조를 나타내도록 의도된다. 또한, 이러한 "비천연 아미노산"은 전형적으로 단백질로의 혼입을 위해 변형된 tRNA 및 변형된 tRNA 신테타제 (RS)를 필요로 한다. 이 tRNA/RS 쌍은 정규 아미노산보다 비천연 아미노산을 우선적으로 혼입시킨다. 이러한 직교 tRNA/RS 쌍은 슐츠(Schultz) 등이 개발한 선택 과정 (예를 들어, 문헌 [Liu et al., (2010) Annu. Rev. Biochem. 79:413-444] 참조) 또는 유사한 절차에 의해 생성된다. 용어 "비천연 아미노산"은 자연 발생 22번째 단백질생성 아미노산 피롤리신 (Pyl) 뿐만 아니라 그의 탈메틸화 유사체 피롤린-카르복시-리신 (Pcl)을 포함하지 않으며, 이는 단백질 내로의 두 잔기의 혼입이 변형되지 않은 자연 발생 피롤리실-tRNA/tRNA 신테타제 쌍에 의해 매개되고, Pyl 및 Pcl이 생합성적으로 생성되기 때문이다 (예를 들어, 문헌 [Ou et al., (2011) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 108:10437-10442; Cellitti et al., (2011) Nat. Chem. Biol. 27;7(8):528-30] 참조). 또한, 참조로 포함된 미국 가출원 61/76236을 참조한다 (Pcl로 치환될 수 있는 항체 경쇄 및 중쇄 내의 특정 아미노산 잔기를 기재함).

[0123] 본원에 사용된 용어 "항체"는 상응하는 항원에, 비-공유, 가역적, 및 특이적 방식으로 결합할 수 있는 이뮤노글로불린 패밀리의 폴리펩티드를 지칭한다. 예를 들어, 자연 발생 IgG 항체는 디술피드 결합에 의해 상호-연결된 적어도 2개의 중쇄 (H) (또한 "항체 중쇄"로 지칭됨) 및 2개의 경쇄 (L) (또한 "항체 경쇄"로 지칭됨)를 포함하는 사량체이다. 각각의 중쇄는 중쇄 가변 영역 (본원에서 V_H로 약칭됨) 및 중쇄 불변 영역으로 구성된다. 중쇄 불변 영역은 3개의 도메인, CH1, CH2 및 CH3으로 구성된다. 각각의 경쇄는 경쇄 가변 영역 (본원에서 V_L로 약칭됨) 및 경쇄 불변 영역으로 구성된다. 경쇄 불변 영역은 1개의 도메인, C_L로 구성된다. V_H 및 V_L 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 보다 보존된 영역이 산재되어 있는 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 초가변성 영역으로 추가로 세분될 수 있다. 각각의 V_H 및 V_L은 아미노-말단으로부터 카르복시-말단으로 하기 순서로 배열된 3개의 CDR 및 4개의 FR로 구성된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, 및 FR4. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역은 항원과 상호작용하는 결합 도메인을 함유한다. 항체의 불변 영역은 면역계의 다양한 세포 (예를 들어, 이펙터 세포) 및 고전적 보체 시스템의 제1 성분 (C1q)을 포함하는 숙주 조직 또는 인자에 대한 이뮤노글로불린의 결합을 매개할 수 있다.

[0124] 용어 "항체"는 모노클로날 항체, 인간 항체, 인간화 항체, 낙타류 항체, 키메라 항체, 및 항-이디오타입 (항-Id) 항체 (예를 들어, 본 발명의 항체에 대한 항-Id 항체 포함)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 항체는 임의의 이소형/부류 (예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 및 IgY), 또는 하위부류 (예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2)일 수 있다.

[0125] 경쇄 및 중쇄는 모두 구조적 및 기능적 상동성 영역으로 나눌 수 있다. 용어 "불변" 및 "가변"은 기능적으로 사용된다. 이와 관련하여, 경쇄 (V_L) 및 중쇄 (V_H) 부분 둘 다의 가변 도메인이 항원 인식 및 특이성을 결정하는 것으로 이해될 것이다. 이와 반대로, 경쇄의 불변 도메인 (C_L) 및 중쇄의 불변 도메인 (CH1, CH2 또는 CH3)은 중요한 생물학적 특성, 예컨대 분비, 태반 경유 이동성, Fc 수용체 결합, 보체 결합 등을 부여한다. 통상적으로, 불변 영역 도메인의 넘버링은 항체의 항원 결합 부위 또는 아미노-말단에서 더욱 멀어질수록 증가한다. N-말단은 가변 영역이고, C-말단에 불변 영역이 있고; CH3 및 C_L 도메인은 실제로 각각 중쇄 및 경쇄의 카르복시-말단 도메인을 이룬다.

[0126] 본원에 사용된 용어 "항체 단편"은 항체의 항원 결합 단편 또는 항체의 비-항원 결합 단편 (예를 들어, Fc)을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "항원 결합 단편"은 항원의 에피토프와 (예를 들어, 결합, 입체 장애, 안정화/불안정화, 공간 분포에 의해) 특이적으로 상호작용하는 능력을 유지하는 항체의 하나 이상의 부분을 지칭한다. 결합 단편의 예는 단일쇄 Fv (scFv), 디술피드-연결 Fv (sdFv), Fab 단편, F(ab') 단편, V_L, V_H, C_L 및 CH1 도메인으로 이루어진 1가 단편; 힌지 영역에서 디술피드 가교에 의해 연결된 2개의 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인 $F(ab)_2$ 단편; V_H 및 CH1 도메인으로 이루어진 Fd 단편; 항체의 단일 아암의 V_L 및 V_H 도메인으로 이루어진 Fv 단편; V_H 도메인으로 이루어진 dAb 단편 (Ward et al., Nature 341:544-546, 1989); 및 단리된 상보성 결정 영역 (CDR), 또는 항체의 다른 에피토프-결합 단편을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0127] 또한, Fv 단편의 2개의 도메인 V_L 및 V_H가 개별 유전자에 의해 코딩되더라도, 재조합 방법을 이용하여, 이들이 V_L 및 V_H 영역이 쌍을 이루어 1가 분자를 형성한 단일 단백질 쇄 (단일 쇄 Fv ("scFv")로 공지됨; 예를 들어, 문헌 [Bird et al., Science 242:423-426, 1988; 및 Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883,

1988] 참조)로 만들어지게 할 수 있는 합성 링커에 의해 이들이 연결될 수 있다. 이러한 단일 쇄 항체는 또한 용어 "항원 결합 단편" 내에 포괄함되도록 의도된다. 이들 항원 결합 단편은 관련 기술분야의 통상의 기술자에게 공지된 통상의 기술을 이용하여 얻고, 단편은 무손상 항체와 동일한 방식으로 유용성에 대해 스크리닝된다.

[0128] 항원 결합 단편은 또한 단일 도메인 항체, 맥시바디, 미니바디, 나노바디, 인트라바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, v-NAR 및 bis-scFv 내로 혼입될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hollinger and Hudson, Nature Biotechnology 23:1126-1136, 2005] 참조). 항원 결합 단편이 제III형 피브로넥틴 (Fn3)과 같은 폴리펩티드에 기초한 스캐폴드 내로 이식될 수 있다 (피브로넥틴 폴리펩티드 모노바디를 기재한 미국 특허 번호 6,703,199 참조).

[0129] 항원 결합 단편이 한 쌍의 탠덤 Fv 절편 (V_H-CH1-V_H-CH1)을 포함하는 단일 쇄 분자 내로 혼입될 수 있고, 이는 상보적 경쇄 폴리펩티드와 함께 한 쌍의 항원 결합 영역을 형성한다 (Zapata et al., Protein Eng. 8:1057-1062, 1995; 및 미국 특허 번호 5,641,870).

[0130] 본원에 사용된 용어 "모노클로날 항체" 또는 "모노클로날 항체 조성물"은 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖거나 또는 동일한 유전자 공급원으로부터 유래된 폴리펩티드 (항체 및 항체 단편 포함)를 지칭한다. 또한, 이 용어는 단일 분자 조성물의 항체 분자의 제제를 의미한다. 모노클로날 항체 조성물은 특정한 에피토프에 대해 단일 결합 특이성 및 친화도를 나타낸다.

[0131] 본원에 사용된 용어 "인간 항체"는 프레임워크 및 CDR 영역이 둘 다 인간 기원의 서열로부터 유래된 것인 가변 영역을 갖는 항체를 포함한다. 또한, 항체가 불변 영역을 함유하면, 불변 영역 또한 이러한 인간 서열, 예를 들어 인간 배선 서열, 또는 인간 배선 서열의 돌연변이된 형태, 또는 인간 프레임워크 서열 분석으로부터 유래된 컨센서스 프레임워크 서열을 함유하는 항체 (예를 들어, 문헌 [Knappik et al., J. Mol. Biol. 296:57-86, 2000]에 기재됨)로부터 유래된다.

[0132] 본 발명의 인간 항체는 인간 서열에 의해 코딩되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 시험관내 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이유발 또는 생체내 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이, 또는 안정성 또는 제조를 용이하게 하기 위한 보존적 치환)를 포함할 수 있다.

[0133] 본원에 사용된 용어 "인간화" 항체는 비-인간 항체의 반응성을 유지하면서 인간에서 덜 면역원성인 항체를 지칭한다. 이는, 예를 들어 비-인간 CDR 영역을 유지하고 항체의 나머지 부분을 그의 인간 대응부로 대체함으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984); Morrison and Oi, Adv. Immunol., 44:65-92 (1988); Verhoeyen et al., Science, 239:1534-1536 (1988); Padlan, Molec. Immun., 28:489-498 (1991); Padlan, Molec. Immun., 31(3):169-217 (1994)]을 참조한다.

[0134] 본원에 사용된 용어 "인식하다"는 에피토프가 선형인지 입체적인지와 관계없이, 자신의 에피토프를 확인하고 이와 상호작용하는 (예를 들어, 결합하는) 항체 또는 그의 항원 결합 단편을 지칭한다. 용어 "에피토프"는 본 발명의 항체 또는 항원 결합 단편이 특이적으로 결합하는 항원 상의 부위를 지칭한다. 에피토프는 단백질의 3차 폴딩에 의해 병렬된 불연속 아미노산 또는 인접 아미노산 둘 다로부터 형성될 수 있다. 인접 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 전형적으로, 변성 용매에 대한 노출시에 유지되는 반면, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로, 변성 용매로의 처리시에 손실된다. 에피토프에는 전형적으로, 적어도 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 또는 15개의 아미노산이 특유한 공간 입체형태로 포함된다. 에피토프의 공간 입체형태를 결정하는 방법은 관련 기술분야의 기술, 예를 들어 x-선 결정학 및 2-차원 핵 자기 공명을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G. E. Morris, Ed. (1996)] 참조).

[0135] 본원에 사용된 용어 "친화도"는 단일 항원 부위에서 항체와 항원 사이의 상호작용의 강도를 지칭한다. 각각의 항원 부위 내에서, 항체 "아암"의 가변 영역은 다수의 부위에서 항원과 약한 비-공유 결합력을 통해 상호작용하고; 상호작용이 더 많을수록 친화도가 더 강해진다.

[0136] 용어 "단리된 항체"는 항원 특이성이 상이한 다른 항체가 실질적으로 없는 항체를 지칭한다. 그러나, 하나의 항원에 특이적으로 결합하는 단리된 항체는 다른 항원에 대한 교차-반응성이 있을 수 있다. 또한, 단리된 항체는 다른 세포 물질 및/또는 화학물질을 실질적으로 함유하지 않을 수 있다.

[0137] 용어 "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산 및 핵산 서열 둘 다에 적용된다. 특정한 핵산 서열과 관련하여, 보존적으로 변형된 변이체는 동일하거나 또는 본질적으로 동일한 아미노산 서열을 코딩하는 핵산을 지칭하거나,

또는 핵산이 아미노산 서열을 코딩하지 않는 경우에는 본질적으로 동일한 서열을 지칭한다. 유전자 코드의 축중성 때문에, 다수의 기능적으로 동일한 핵산이 임의의 주어진 단백질을 코딩한다. 예를 들어, 코돈 GCA, GCC, GCG 및 GCU는 모두 아미노산 알라닌을 코딩한다. 따라서, 코돈에 의해 알라닌이 지정되는 모든 위치에서, 코돈은 코딩되는 폴리펩티드를 변경하지 않으면서, 기재된 상응하는 코돈 중 임의의 것으로 변경될 수 있다. 이러한 핵산 변이는 보존적으로 변형된 변이의 일종인 "침묵 변이"이다. 폴리펩티드를 코딩하는 본원의 모든 핵산 서열은 또한 핵산의 모든 가능한 침묵 변이를 기재한다. 통상의 기술자는 핵산 내의 각각의 코돈 (통상적으로 메티오닌에 대한 유일한 코돈인 AUG, 및 통상적으로 트립토판에 대한 유일한 코돈인 TGG 제외)이 기능적으로 동일한 분자를 생성하도록 변형될 수 있음을 인식할 것이다. 따라서, 폴리펩티드를 코딩하는 핵산의 각각의 침묵 변이는 각각의 기재된 서열에 내포된다.

[0138] 폴리펩티드 서열의 경우에, "보존적으로 변형된 변이체"는 아미노산을 화학적으로 유사한 아미노산으로 치환시키는, 폴리펩티드 서열에 대한 개별 치환, 결실 또는 부가를 포함한다. 기능적으로 유사한 아미노산을 제공하는 보존적 치환 표가 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 이러한 보존적으로 변형된 변이체는 본 발명의 다형성 변이체, 종간 상동체 및 대립유전자에 부가적인 것이고 이들을 배제하지 않는다. 하기 8개의 군은 서로에 대해 보존적 치환인 아미노산을 함유한다: 1) 알라닌 (A), 글리신 (G); 2) 아스파르트산 (D), 글루탐산 (E); 3) 아스파라긴 (N), 글루타민 (Q); 4) 아르기닌 (R), 리신 (K); 5) 이소류신 (I), 류신 (L), 메티오닌 (M), 발린 (V); 6) 페닐알라닌 (F), 티로신 (Y), 트립토판 (W); 7) 세린 (S), 트레오닌 (T); 및 8) 시스테인 (C), 메티오닌 (M) (예를 들어, 문헌 [Creighton, Proteins (1984)] 참조). 일부 실시양태에서, 용어 "보존적 서열 변형"은 아미노산 서열을 함유하는 항체의 결합 특성에 유의하게 영향을 미치거나 이를 변경시키지 않는 아미노산 변형을 지칭하는데 사용된다.

[0139] 본원에 사용된 용어 "최적화된"은 생산 세포 또는 생물, 일반적으로는 진핵 세포, 예를 들어 효모 세포, 피키아 (*Pichia*) 세포, 진균 세포, 트리코더마(*Trichoderma*) 세포, 차이니즈 햄스터 난소 세포 (CHO) 또는 인간 세포에서 선호되는 코돈을 사용하여 아미노산 서열을 코딩하도록 변경된 뉴클레오티드 서열을 지칭한다. 최적화된 뉴클레오티드 서열은, 또한 "모" 서열로도 공지되는 출발 뉴클레오티드 서열에 의해 본래 코딩되는 아미노산 서열을 완전하게 또는 가능한 한 많이 보유하도록 조작된다.

[0140] 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열의 문맥에서 용어 "동일한 퍼센트" 또는 "동일성 퍼센트"는 동일한 2개 이상의 서열 또는 하위서열을 지칭한다. 2개의 서열은, 하기 서열 비교 알고리즘 중 하나를 사용하거나 또는 수동 정렬 및 육안 검사에 의한 측정 시에 비교 윈도우 또는 지정된 영역에 걸쳐 최대한 상응하도록 비교 및 정렬했을 때, 2개의 서열이 동일한 아미노산 잔기 또는 뉴클레오티드의 명시된 백분율 (즉, 명시된 영역에 걸쳐, 또는 명시되지 않은 경우에는 전체 서열에 걸쳐 60% 동일성, 임의적으로는 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 또는 99% 동일성)을 갖는 경우에 "실질적으로 동일하다". 임의적으로, 동일성은 적어도 약 30개 뉴클레오티드 (또는 10개 아미노산) 길이의 영역에 걸쳐, 또는 보다 바람직하게는 100개 내지 500개 또는 1000개 또는 그 초과의 뉴클레오티드 (또는 20개, 50개, 200개 또는 그 초과의 아미노산) 길이에 걸쳐 존재한다.

[0141] 서열 비교를 위해, 전형적으로 하나의 서열이 시험 서열과 비교되는 참조 서열로서 역할을 한다. 서열 비교 알고리즘을 사용하는 경우에, 시험 및 참조 서열을 컴퓨터에 입력하고, 필요한 경우에는 하위서열 좌표를 지정하고, 서열 알고리즘 프로그램 파라미터를 지정한다. 디폴트 프로그램 파라미터를 사용할 수 있거나, 또는 대안적 파라미터를 지정할 수 있다. 이어서, 서열 비교 알고리즘은 프로그램 파라미터에 기초하여 참조 서열에 대한 시험 서열의 퍼센트 서열 동일성을 계산한다.

[0142] 본원에 사용된 "비교 윈도우"는 2개의 서열을 최적으로 정렬시킨 후에 서열을 인접 위치의 동일한 수의 참조 서열과 비교할 수 있는, 20 내지 600개, 통상적으로는 약 50 내지 약 200개, 보다 통상적으로는 약 100 내지 약 150개로 이루어진 군으로부터 선택된 인접 위치의 개수 중 어느 하나의 절편에 대한 언급을 포함한다. 비교를 위한 서열 정렬 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 비교를 위한 최적의 서열 정렬은, 예를 들어 문헌 [Smith and Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482c (1970)]의 국부 상동성 알고리즘, 문헌 [Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443 (1970)]의 상동성 정렬 알고리즘, 문헌 [Pearson and Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988)]의 유사성 검색 방법, 이러한 알고리즘들의 컴퓨터 실행 (위스콘신주 매디슨 사이언스 드라이브 575의 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group)의 위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지(Wisconsin Genetics Software Package)의 GAP, BESTFIT, FASTA, 및 TFASTA), 또는 수동 정렬 및 시각적 검사 (예를 들어, 문헌 [Brent et al., Current Protocols in Molecular Biology, 2003] 참조)에 의해 수행될 수 있다.

[0143] 서열 동일성 및 서열 유사성 퍼센트를 결정하는데 적합한 알고리즘의 두가지 예는 각각 문헌 [Altschul et al., Nuc. Acids Res. 25:3389-3402, 1977; 및 Altschul et al., J. Mol. Biol. 215:403-410, 1990]에 기재된 BLAST 및 BLAST 2.0 알고리즘이다. BLAST 분석을 수행하기 위한 소프트웨어는 미국 국립 생물 정보 센터 (National Center for Biotechnology Information)를 통해 공개적으로 입수가능하다. 이러한 알고리즘은 먼저 데이터베이스 서열 내 동일한 길이의 워드와 정렬했을 때 어떠한 양의 값의 역치 점수 T에 매칭되거나 이를 충족시키는, 질의 서열 내의 길이 W의 짧은 워드를 확인함으로써 높은 점수의 서열 쌍 (HSP)을 확인하는 것을 수반한다. T는 이웃 워드 점수 역치를 지칭한다 (Altschul et al., 상기 문헌). 이들 초기 이웃 워드 히트는 이것을 함유하는 보다 긴 HSP를 찾는 검색을 개시하기 위한 시드로서 작용한다. 워드 히트는 누적 정렬 점수가 증가될 수 있는 한, 각각의 서열을 따라 양쪽 방향으로 연장된다. 누적 점수는 뉴클레오티드 서열에 대해 파라미터 M (매치 잔기의 쌍에 대한 보상 점수, 항상 > 0) 및 N (미스매치 잔기에 대한 패널티 점수, 항상 < 0)을 사용하여 계산한다. 아미노산 서열의 경우에는 점수화 매트릭스를 사용하여 누적 점수를 계산한다. 누적 정렬 점수가 그의 최대 달성 값으로부터 X의 양만큼 하락하거나; 하나 이상의 음으로 점수화된 잔기 정렬의 축적으로 인해 누적 점수가 0 이하로 떨어지거나; 또는 어느 한쪽의 서열의 말단에 도달한 경우에, 각 방향으로의 워드 히트의 연장이 중단된다. BLAST 알고리즘 파라미터 W, T 및 X는 정렬의 감도 및 속도를 결정한다. BLASTN 프로그램 (뉴클레오티드 서열의 경우)은 디폴트로서 워드 길이 (W) 11, 기대값 (E) 10, M=5, N=-4 및 양쪽 가닥의 비교를 사용한다. 아미노산 서열의 경우, BLASTP 프로그램은 디폴트로서 워드 길이 3, 및 예상값 (E) 10, 및 BLOSUM62 점수화 매트릭스 (문헌 [Henikoff and Henikoff, (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915] 참조) 정렬 (B) 50, 기대값 (E) 10, M=5, N=-4, 및 양쪽 가닥의 비교를 사용한다.

[0144] BLAST 알고리즘은 또한 2개의 서열 사이의 유사성에 대한 통계적 분석을 수행한다 (예를 들어, 문헌 [Karlin and Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787, 1993] 참조). BLAST 알고리즘에 의해 제공되는 유사성의 한 척도는 2개의 뉴클레오티드 또는 아미노산 서열 사이의 매치가 우연히 발생할 확률의 지표를 제공하는 최소 합계 확률 (P(N))이다. 예를 들어, 핵산은 참조 핵산에 대한 시험 핵산의 비교에서 최소 합계 확률이 약 0.2 미만, 보다 바람직하게는 약 0.01 미만, 가장 바람직하게는 약 0.001 미만인 경우에 참조 서열과 유사한 것으로 간주된다.

[0145] PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12 및 갭 페널티 4를 사용하여 ALIGN 프로그램 (버전 2.0) 내로 혼입된 문헌 [E. Meyers and W. Miller, Comput. Appl. Biosci. 4:11-17, 1988]의 알고리즘을 사용하여 2개의 아미노산 서열 사이의 동일성 퍼센트가 또한 결정될 수 있다. 또한, 블라섬(Blossom) 62 매트릭스 또는 PAM250 매트릭스, 및 갭 가중치 16, 14, 12, 10, 8, 6, 또는 4 및 길이 가중치 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6을 사용하여, GCG 소프트웨어 패키지 (www.gcg.com에서 이용가능함) 내의 GAP 프로그램 내로 혼입된 문헌 [Needleman and Wunsch, J. Mol. Biol. 48:444-453, 1970]의 알고리즘을 사용하여 2개의 아미노산 서열 간의 동일성 퍼센트가 결정될 수 있다.

[0146] 상기 나타낸 서열 동일성의 백분율 이외에, 2개의 핵산 서열 또는 폴리펩티드가 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는, 제1 핵산에 의해 코딩된 폴리펩티드가 하기 기재된 바와 같이 제2 핵산에 의해 코딩된 폴리펩티드에 대해 생성된 항체와 면역학적으로 교차 반응성이라는 것이다. 따라서, 폴리펩티드는 전형적으로, 예를 들어 2개의 펩티드가 보존적 치환에 의해서만 상이한 경우에 제2 폴리펩티드와 실질적으로 동일하다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는, 2개의 분자 또는 그의 상보체가 하기 기재된 바와 같이 엄격한 조건하에 서로 혼성화된다는 것이다. 2개의 핵산 서열이 실질적으로 동일하다는 또 다른 지표는 동일한 프라이머를 사용하여 서열을 증폭시킬 수 있다는 것이다.

[0147] 용어 "핵산"은 본원에서 용어 "폴리뉴클레오티드"와 교환가능하게 사용되고, 단일- 또는 이중-가닥 형태의 데옥시리보뉴클레오티드 또는 리보뉴클레오티드 및 그의 중합체를 지칭한다. 상기 용어는 합성, 자연 발생 및 비-자연 발생이고, 참조 핵산과 유사한 결합 특성을 갖고, 참조 뉴클레오티드와 유사한 방식으로 대사되는, 공지된 뉴클레오티드 유사체 또는 변형된 백본 잔기 또는 연결부를 함유하는 핵산을 포괄한다. 이러한 유사체의 예는 비제한적으로, 포스포로티오에이트, 포스포르아미데이트, 메틸 포스포네이트, 키랄-메틸 포스포네이트, 2-O-메틸 리보뉴클레오티드, 펩티드-핵산 (PNA)을 포함한다.

[0148] 달리 나타내지 않는 한, 특정한 핵산 서열은 또한 명시적으로 나타낸 서열 뿐만 아니라 그의 무음 변이체 (예를 들어, 축중성 코돈 치환) 및 상보적 서열을 함축적으로 포괄한다. 구체적으로, 하기에서 상술되는 바와 같이, 하나 이상의 선택된 (또는 모든) 코돈의 제3 위치가 혼합-염기 및/또는 데옥시이노신 잔기로 치환된 서열을 생성시킴으로써 축중성 코돈 치환이 달성될 수 있다 (Batzer et al., (1991) Nucleic Acid Res. 19:5081; Ohtsuka et al., (1985) J. Biol. Chem. 260:2605-2608; 및 Rossolini et al., (1994) Mol. Cell. Probes

8:91-98).

[0149] 핵산의 문맥에서의 용어 "작동가능하게 연결된"은 2개 이상의 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, DNA) 절편 간의 기능적인 관계를 지칭한다. 전형적으로, 이것은 전사되는 서열에 대한 전사 조절 서열의 기능적 관계를 지칭한다. 예를 들어, 프로모터 또는 인핸서 서열이 적절한 숙주 세포 또는 다른 발현 시스템 내에서 코딩 서열의 전사를 자극하거나 조절하는 경우에, 이것은 코딩 서열에 작동가능하게 연결되어 있다. 일반적으로, 전사되는 서열에 작동가능하게 연결된 프로모터 전사 조절 서열은 전사되는 서열에 물리적으로 인접하며, 즉 이들은 시스-작용성이다. 그러나, 일부 전사 조절 서열, 예컨대 인핸서는 전사를 증진시키는 코딩 서열에 물리적으로 인접하거나 근접하여 위치할 필요가 없다.

[0150] 용어 "폴리펩티드" 또는 "단백질"은 아미노산 잔기의 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 교환가능하게 사용된다. 이 용어는 정규 아미노산 중합체 뿐만 아니라 비-정규 아미노산 중합체에도 적용된다. 달리 나타내지 않는 한, 특정한 폴리펩티드 서열은 또한 그의 보존적으로 변형된 변이체도 함축적으로 포괄한다.

[0151] 본원에 사용된 용어 "면역접합체" 또는 "항체 접합체"는 항체 또는 그의 항체 단편과 또 다른 작용제, 예컨대 화학요법제, 독소, 면역요법제, 영상화 프로브, 분광학적 프로브 등의 연결을 지칭한다. 연결은 하나의 또는 다중 공유 결합, 또는 비-공유 상호작용을 통할 수 있고, 킬레이트화를 포함할 수 있다. 다양한 링커 (이들 중 다수가 관련 기술분야에 공지되어 있음)가 면역접합체를 형성하기 위해 사용될 수 있다. 추가로, 면역접합체는 면역접합체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드로부터 발현될 수 있는 융합 단백질 형태로 제공될 수 있다. 본원에 사용된 "융합 단백질"은 본래 개별 단백질 (펩티드 및 폴리펩티드 포함)을 코딩하는 2개 이상의 유전자 또는 유전자 단편의 연결을 통해 생성된 단백질을 지칭한다. 융합 단백질은 N- 또는 C-말단에서 연결시키거나, 또는 유전자 또는 유전자 단편을 파트너 단백질 중 하나의 허용되는 영역에 삽입하여 생성될 수 있다. 융합 유전자의 번역은 각각의 본래 단백질로부터 유래된 기능적 특성을 갖는 단일 단백질을 생성한다.

[0152] 용어 "대상체"는 인간 및 비-인간 동물을 포함한다. 비-인간 동물은 모든 척추동물, 예를 들어 포유동물 및 비-포유동물, 예컨대 비-인간 영장류, 양, 개, 소, 닭, 양서류 및 파충류를 포함한다. 언급되는 경우를 제외하고, 용어 "환자" 또는 "대상체"는 본원에서 교환가능하게 사용된다.

[0153] 본원에 사용된 용어 "세포독소", 또는 "세포독성제"는 세포의 성장 및 증식에 해롭고, 세포 또는 악성종양을 감소시키거나 억제하거나 또는 파괴하는 작용을 할 수 있는 임의의 작용제를 지칭한다.

[0154] 본원에 사용된 용어 "항암제"는 세포독성제, 화학요법제, 방사선요법 및 방사선요법제, 표적화 항암제, 및 면역요법제를 포함하지만 이에 제한되지 않는, 암과 같은 세포 증식성 장애를 치료하는데 사용될 수 있는 임의의 작용제를 지칭한다.

[0155] 용어 "약물 모이어티" 또는 "페이로드"는 교환가능하게 사용되고, 본 발명의 항체 또는 항체 단편에 접합된 화학적 모이어티를 지칭하며, 항체 또는 항체 단편에 부착시키기에 유용한 임의의 모이어티를 포함할 수 있다. 예를 들어, 약물 모이어티 또는 페이로드는 항암제, 항염증제, 항진균제, 항박테리아제, 항기생충제, 항바이러스 작용제, 마취제일 수 있다. 특정 실시양태에서, 약물 모이어티는 V-ATPase 억제제, HSP90 억제제, IAP 억제제, mTor 억제제, 미세관 안정화제, 미세관 불안정화제, 아우리스타틴, 돌라스타틴, 메이탄시노이드, MetAP (메티오닌 아미노펩티다제), 단백질 CRM1의 핵 유출의 억제제, DPPIV 억제제, 미토콘드리아에서의 포스포릴 전달 반응의 억제제, 단백질 합성 억제제, 키나제 억제제, CDK2 억제제, CDK9 억제제, 프로테아솜 억제제, 키네신 억제제, HDAC 억제제, DNA 손상 작용제, DNA 알킬화제, DNA 삽입제, DNA 작은 홈 결합제 및 DHFR 억제제로부터 선택된다. 적합한 예는 아우리스타틴, 예컨대 MMAE 및 MMAF; 칼리케아미신, 예컨대 감마-칼리케아미신; 및 메이탄시노이드, 예컨대 DM1 및 DM4를 포함한다. 이들 각각을 본 발명의 항체 및 방법과 상용성인 링커에 부착시키는 방법은 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Singh et al., (2009) Therapeutic Antibodies: Methods and Protocols, vol. 525, 445-457]을 참조한다. 또한, 페이로드는 생물물리학적 프로브, 형광단, 스핀 표지, 적외선 프로브, 친화도 프로브, 킬레이트화제, 분광학적 프로브, 방사성 프로브, 지질 분자, 폴리에틸렌 글리콜, 중합체, 스핀 표지, DNA, RNA, 단백질, 펩티드, 표면, 항체, 항체 단편, 나노입자, 양자점, 리포솜, PLGA 입자, 또는 사카라이드 또는 폴리사카라이드, 반응성 관능기, 또는 접합체를 또 다른 모이어티에 연결시킬 수 있는 결합제, 표면 등일 수 있다.

[0156] 용어 "약물 항체 비" (또한 "DAR"로서 지칭됨)는 면역접합체의 항체에 연결된 페이로드 또는 약물 모이어티의 수를 지칭한다. 예를 들어, 2의 비의 약물 항체는 면역접합체의 샘플에서 평균 2개의 약물 모이어티가 각각의 항체에 결합되었다는 것을 의미한다. 일부 개별 면역접합체는 2의 약물 항체 비를 갖는 샘플에서 연결된 약물

모이어티를 전혀 갖지 않거나 또는 오직 1개만 가질 것이며; 다른 면역접합체는 그 샘플에서 개별 항체 상에 2, 3, 4개, 또는 심지어는 그 초과의 모이어티를 가질 것이다. 그러나, 샘플에서의 평균은 2일 것이다. 면역접합체의 약물 항체 비를 측정하기 위한 관련 기술분야에 공지된 다양한 방법이 존재한다.

[0157] 본 발명의 한 실시양태에서, 면역접합체의 샘플에서의 DAR은 "균질"할 수 있다. "균질한 접합 샘플"은 DAR의 좁은 분포를 갖는 샘플이다. 예시적 실시양태로서, 2의 DAR을 갖는 균질한 접합 샘플은, 그 샘플 내에 접합되지 않은 항체를 함유할 수 있고, 일부 항체는 약 2의 DAR에서 접합된 2개 초과의 모이어티를 갖는다. "대부분의 샘플"은 샘플 내의 항체의 적어도 70% 초과, 또는 적어도 80% 초과 또는 적어도 90% 초과가 2개의 모이어티에 접합될 것임을 의미한다.

[0158] 예시적 실시양태로서, 4의 DAR을 갖는 균질한 접합 샘플은 그 샘플 내에 약 4의 DAR에서 접합된 4개 초과 또는 미만의 모이어티를 갖는 항체를 함유할 수 있다. "대부분의 샘플"은 샘플 내의 항체의 적어도 70% 초과, 또는 적어도 80% 초과 또는 적어도 90% 초과가 4개의 모이어티에 접합될 것임을 의미한다.

[0159] 예시적 실시양태로서, 6의 DAR을 갖는 균질한 접합 샘플은 그 샘플 내에 약 6의 DAR에서 접합된 6개 초과 또는 미만의 모이어티를 갖는 항체를 함유할 수 있다. "대부분의 샘플"은 샘플 내의 항체의 적어도 70% 초과, 또는 적어도 80% 초과 또는 적어도 90% 초과가 6개의 모이어티에 접합될 것임을 의미한다.

[0160] 예시적 실시양태로서, 8의 DAR을 갖는 균질한 접합 샘플은 그 샘플 내에 일부 항체가 약 4의 DAR에서 접합된 8개 초과 또는 미만의 모이어티를 갖는 항체를 함유할 수 있다. "대부분의 샘플"은 샘플 내의 항체의 적어도 70% 초과, 또는 적어도 80% 초과 또는 적어도 90% 초과가 8개의 모이어티에 접합될 것임을 의미한다.

[0161] "약 2의 약물 항체 비"를 갖는 면역접합체는 그의 약물 항체 비가 약 1.6-2.4개 모이어티/항체, 1.8-2.3개 모이어티/항체, 또는 1.9-2.1개 모이어티/항체 범위일 수 있는 면역접합체의 샘플을 지칭한다.

[0162] "약 4의 약물 항체 비"를 갖는 면역접합체는 그의 약물 항체 비가 약 3.6-4.4개 모이어티/항체, 3.8-4.3개 모이어티/항체, 또는 3.9-4.1개 모이어티/항체 범위일 수 있는 면역접합체의 샘플을 지칭한다.

[0163] "약 6의 약물 항체 비"를 갖는 면역접합체는 그의 약물 항체 비가 약 5.6-6.4개 모이어티/항체, 5.8-6.3개 모이어티/항체, 또는 5.9-6.1개 모이어티/항체 범위일 수 있는 면역접합체의 샘플을 지칭한다.

[0164] "약 8의 약물 항체 비"를 갖는 면역접합체는 그의 약물 항체 비가 약 7.6-8.4개 모이어티/항체, 7.8-8.3개 모이어티/항체, 또는 7.9-8.1개 모이어티/항체 범위일 수 있는 면역접합체의 샘플을 지칭한다.

[0165] "종양"은 신생물성 세포 성장 및 증식 (악성이든 또는 양성이든지에 관계없이), 및 모든 전암성 및 암성 세포 및 조직을 지칭한다.

[0166] 용어 "항종양 활성"은 종양 세포 증식, 생존력, 또는 전이성 활성의 비율의 감소를 의미한다. 항-종양 활성을 나타내는 가능한 방식은 요법 동안 발생하는 비정상 세포의 성장 속도의 하락 또는 종양 크기 안정성 또는 감소를 나타내는 것이다. 이러한 활성은 이종이식편 모델, 동종이식편 모델, MMTV 모델, 및 항종양 활성을 조사하기 위한 관련 기술분야에 공지된 다른 모델을 포함하나 이에 제한되지는 않는, 승인된 시험관내 또는 생체내 종양 모델을 사용하여 평가될 수 있다.

[0167] 용어 "악성종양"은 비-양성 종양 또는 암을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "암"은 탈조절되거나 비제어된 세포 성장을 특징으로 하는 악성종양을 포함한다. 예시적인 암은 암종, 육종, 백혈병 및 림프종을 포함한다.

[0168] 용어 "암"은 원발성 악성 종양 (예를 들어, 그 세포가 대상체의 본래 종양의 부위 이외의 다른 신체 내의 부위로 이동하지 않은 종양) 및 속발성 악성 종양 (예를 들어, 전이, 즉 종양 세포가 본래 종양의 부위와 상이한 속발성 부위로 이동함으로써 발생하는 종양)을 포함한다.

[0169] 본원에 사용된 용어 "광학 이성질체" 또는 "입체이성질체"는 제시된 본 발명의 화합물에 대해 존재할 수 있는 다양한 입체 이성질체 배위 중 임의의 것을 지칭하고, 기하 이성질체를 포함한다. 치환기는 탄소 원자의 키랄 중심에 부착될 수 있는 것으로 이해된다. 용어 "키랄"은 그의 거울상 파트너 상에 비-중첩가능한 특성을 갖는 분자를 지칭하며, 반면 용어 "비키랄"은 그의 거울상 파트너 상에 중첩가능한 분자를 지칭한다. 따라서, 본 발명은 화합물의 거울상이성질체, 부분입체이성질체 또는 라세미체를 포함한다. "거울상이성질체"는 서로 비-중첩가능한 거울상인 한 쌍의 입체이성질체이다. 한 쌍의 거울상이성질체의 1:1 혼합물은 "라세미" 혼합물이다. 상기 용어는 적절한 경우에 라세미 혼합물을 지정하는데 사용된다. "부분입체이성질체"는 적어도 2개의 비대칭 원자를 갖지만 서로 거울상이 아닌 입체이성질체이다. 절대 입체화학은 칸-인골드-프렐로그(Cahn-Ingold-

Prelog) R-S 시스템에 따라 특정된다. 화합물이 순수한 거울상이성질체인 경우에, 각 키랄 탄소에서의 입체화학은 *R* 또는 *S*에 의해 명시될 수 있다. 절대 배위가 알려지지 않은 분해된 화합물은, 이들이 나트륨 D 선의 파장에서 평면 편광을 회전시키는 방향 (우선성 또는 좌선성)에 따라 (+) 또는 (-)로 지정될 수 있다. 본원에 기재된 특정 화합물은 1개 이상의 비대칭 중심 또는 축을 함유하고, 따라서 거울상이성질체, 부분입체이성질체, 및 절대 입체화학의 관점에서 *(R)*- 또는 *(S)*-로서 정의될 수 있는 다른 입체이성질체 형태를 생성할 수 있다.

[0170] 출발 물질 및 절차의 선택에 따라, 화합물은 비대칭 탄소 원자의 개수에 따라, 가능한 이성질체 중 하나의 형태로 또는 그의 혼합물로서, 예를 들어 순수한 광학 이성질체로서, 또는 이성질체 혼합물, 예컨대 라세미체 및 부분입체이성질체 혼합물로서 존재할 수 있다. 본 발명은 라세미 혼합물, 부분입체이성질체 혼합물 및 광학적으로 순수한 형태를 포함하는 모든 이러한 가능한 이성질체를 포함하는 것으로 의도된다. 광학 활성 *(R)*- 및 *(S)*-이성질체는 키랄 합성단위체 또는 키랄 시약을 사용하여 제조될 수 있거나, 또는 통상의 기술을 사용하여 분할될 수 있다. 화합물이 이중 결합을 함유하는 경우에, 치환기는 E 또는 Z 배위일 수 있다. 화합물이 이치환된 시클로알킬을 함유하는 경우에, 시클로알킬 치환기는 시스- 또는 트랜스-배위를 가질 수 있다. 모든 호변이성질체 형태가 또한 포함되도록 의도된다.

[0171] 본원에 사용된 용어 "염" 또는 "염들"은 본 발명의 화합물의 산 부가염 또는 염기 부가염을 지칭한다. "염"은 특히 "제약상 허용되는 염"을 포함한다. 용어 "제약상 허용되는 염"은, 본 발명의 화합물의 생물학적 유효성 및 특성을 보유하고 전형적으로 생물학적으로 또는 달리 바람직하지 않은 것이 아닌 염을 지칭한다. 많은 경우에, 본 발명의 화합물은 아미노 및/또는 카르복실 기 또는 그와 유사한 기의 존재에 의해 산 및/또는 염기 염을 형성할 수 있다.

[0172] 제약상 허용되는 산 부가염은 무기 산 및 유기 산, 예를 들어 아세테이트, 아스파르테이트, 벤조에이트, 베실레이트, 브로마이드/히드로브로마이드, 비카르보네이트/카르보네이트, 비술페이트/술페이트, 캄포르술포네이트, 클로라이드/히드로클로라이드, 클로로테오필리네이트, 시트레이트, 에탄디술포네이트, 푸마레이트, 글루셉테이트, 글루코네이트, 글루쿠로네이트, 히푸레이트, 히드로아이오다이드/아이오다이드, 이세티오네이트, 락테이트, 락토비오네이트, 라우릴술페이트, 말레이트, 말레에이트, 말로네이트, 만델레이트, 메실레이트, 메틸술페이트, 나프토에이트, 나프실레이트, 니코티네이트, 니트레이트, 옥타데카노에이트, 올레에이트, 옥살레이트, 팔미테이트, 파모에이트, 포스페이트/수소 포스페이트/디히드로겐 포스페이트, 폴리갈락투로네이트, 프로피오네이트, 스테아레이트, 숙시네이트, 술포살리실레이트, 타르트레이트, 토실레이트와 트리플루오로아세테이트 염을 사용하여 형성될 수 있다.

[0173] 염이 유도될 수 있는 무기 산은, 예를 들어 염산, 브로민화수소산, 황산, 질산, 인산 등을 포함한다.

[0174] 염이 유도될 수 있는 유기 산은, 예를 들어 아세트산, 프로피온산, 글리콜산, 옥살산, 말레산, 말론산, 숙신산, 푸마르산, 타르타르산, 시트르산, 벤조산, 만델산, 메탄술폰산, 에탄술폰산, 톨루엔술폰산, 술포살리실산 등을 포함한다. 제약상 허용되는 염기 부가염은 무기 및 유기 염기를 사용하여 형성될 수 있다.

[0175] 염이 유도될 수 있는 무기 염기는, 예를 들어 암모늄 염 및 주기율표의 I 내지 XII족으로부터의 금속을 포함한다. 특정 실시양태에서, 염은 나트륨, 칼륨, 암모늄, 칼슘, 마그네슘, 철, 은, 아연, 및 구리로부터 유도되고; 특히 적합한 염은 암모늄, 칼륨, 나트륨, 칼슘 및 마그네슘 염을 포함한다.

[0176] 염이 유도될 수 있는 유기 염기는, 예를 들어 1급, 2급, 및 3급 아민, 자연 발생의 치환된 아민을 포함하는 치환된 아민, 시클릭 아민, 염기성 이온 교환 수지 등을 포함한다. 특정 유기 아민은 이소프로필아민, 벤자틴, 콜리네이트, 디에탄올아민, 디에틸아민, 리신, 메글루민, 피페라진 및 트로메타민을 포함한다.

[0177] 본 발명의 제약상 허용되는 염은 통상의 화학적 방법에 의해 염기성 또는 산성 모이어티로부터 합성될 수 있다. 일반적으로, 이러한 염은 이들 화합물의 유리 산 형태를 화학량론적 양의 적절한 염기 (예컨대, Na, Ca, Mg, 또는 K 히드록시드, 카르보네이트, 비카르보네이트 등)와 반응시키거나, 또는 이들 화합물의 유리 염기 형태를 화학량론적 양의 적절한 산과 반응시킴으로써 제조될 수 있다. 이러한 반응은 전형적으로 물 중에서 또는 유기 용매 중에서, 또는 상기 둘의 혼합물 중에서 수행된다. 일반적으로, 실행가능한 경우에 비-수성 매질, 예컨대 에테르, 에틸 아세테이트, 에탄올, 이소프로판올 또는 아세토니트릴의 사용이 바람직하다. 추가의 적합한 염의 목록은, 예를 들어 문헌 ["Remington's Pharmaceutical Sciences", 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985); 및 "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002)]에서 찾아볼 수 있다.

[0178] 본원에 주어진 임의의 화학식은 또한 화합물의 비표지된 형태뿐만 아니라 동위원소 표지된 형태를 나타내는 것

으로 의도된다. 동위원소 표지된 화합물은 1개 이상의 원자가 선택된 원자 질량 또는 질량수를 갖는 원자에 의해 대체되는 것을 제외하고는 본원에 제시된 화학식에 의해 도시된 구조를 갖는다. 본 발명의 화합물 내로 혼입될 수 있는 동위원소의 예는 수소, 탄소, 질소, 산소, 인, 플루오린 및 염소의 동위원소, 예컨대 각각 ^{2}H, ^{3}H, ^{11}C, ^{13}C, ^{14}C, ^{15}N, ^{18}F, ^{31}P, ^{32}P, ^{35}S, ^{36}Cl, ^{125}I를 포함한다. 본 발명은 본원에 정의된 바와 같은 다양한 동위원소 표지된 화합물, 예를 들어 그 내부에 방사성 동위원소, 예컨대 ^{3}H 및 ^{14}C가 존재하는 화합물 또는 그 내부에 비-방사성 동위원소, 예컨대 ^{2}H 및 ^{13}C가 존재하는 화합물을 포함한다. 이러한 동위원소 표지된 화합물은 대사 연구 (^{14}C 사용), 반응 동역학 연구 (예를 들어, ^{2}H 또는 ^{3}H 사용), 검출 또는 영상화 기술, 예컨대 양전자 방출 단층촬영 (PET) 또는 단일-광자 방출 컴퓨터 단층촬영 (SPECT) (약물 또는 기질 조직 분포 검정 포함), 또는 환자의 방사성 치료에 유용하다. 특히, ^{18}F 또는 표지된 화합물은 PET 또는 SPECT 연구에 특히 바람직할 수 있다. 동위원소-표지된 화학식 I의 화합물은 일반적으로 기존에 사용된 비-표지된 시약 대신에 적절한 동위원소-표지된 시약을 사용하여, 통상의 기술자에게 공지된 통상의 기술에 의해 또는 첨부된 실시예 및 제조예에 기재된 것과 유사한 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0179] 추가로, 보다 무거운 동위원소, 특히 중수소 (즉, ^{2}H 또는 D)로의 치환은 보다 큰 대사 안정성, 예를 들어 증가된 생체내 반감기 또는 감소된 투여량 요건 또는 치료 지수에서의 개선으로부터 생성되는 특정 치료 이점을 제공할 수 있다. 이러한 문맥에서, 중수소는 화학식 I의 화합물의 치환기로서 간주되는 것으로 이해된다. 이러한 보다 무거운 동위원소, 구체적으로 중수소의 농도는, 동위원소 농축 계수에 의해 정의될 수 있다. 본원에 사용된 용어 "동위원소 농축 계수"는 특정된 동위원소의 동위원소 존재비와 천연 존재비 사이의 비율을 의미한다. 본 발명의 화합물 내 치환기가 표시된 중수소인 경우에, 이러한 화합물은 각각의 지정된 중수소 원자에 대해 적어도 3500 (각각의 지정된 중수소 원자에서 52.5% 중수소 혼입), 적어도 4000 (60% 중수소 혼입), 적어도 4500 (67.5% 중수소 혼입), 적어도 5000 (75% 중수소 혼입), 적어도 5500 (82.5% 중수소 혼입), 적어도 6000 (90% 중수소 혼입), 적어도 6333.3 (95% 중수소 혼입), 적어도 6466.7 (97% 중수소 혼입), 적어도 6600 (99% 중수소 혼입) 또는 적어도 6633.3 (99.5% 중수소 혼입)의 동위원소 농축 계수를 갖는다.

[0180] 본원에 사용된 용어 "제약상 허용되는 담체"는 통상의 기술자에게 공지된 바와 같은 임의의 및 모든 용매, 분산 매질, 코팅, 계면활성제, 항산화제, 보존제 (예를 들어, 항박테리아제, 항진균제), 등장화제, 흡수 지연제, 염, 보존제, 약물 안정화제, 결합제, 부형제, 붕해제, 윤활제, 감미제, 향미제, 염료 등 및 그의 조합을 포함한다 (예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289-1329] 참조). 임의의 통상의 담체가 활성 성분과 비상용성인 경우를 제외하고는, 치료 또는 제약 조성물에서의 그의 사용이 고려된다.

[0181] 본 발명의 화합물의 용어 "치료 유효량"은 대상체의 생물학적 또는 의학적 반응, 예를 들어 효소 또는 단백질 활성의 감소 또는 억제, 또는 증상의 개선, 상태의 완화, 질환 진행의 둔화 또는 지연, 또는 질환의 예방 등을 도출할 본 발명의 화합물의 양을 지칭한다. 한 비제한적 실시양태에서, 용어 "치료 유효량"은, 대상체에게 투여시에 상태, 또는 장애 또는 질환을 적어도 부분적으로 완화, 억제, 예방 및/또는 개선시키거나, 또는 표적화된 효소 또는 수용체의 활성을 적어도 부분적으로 억제하는데 효과적인 본 발명의 화합물의 양을 지칭한다.

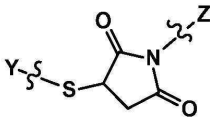
[0182] 본원에 사용된 용어 "억제하다", "억제" 또는 "억제하는"은 주어진 상태, 증상, 또는 장애, 또는 질환의 감소 또는 저해, 또는 생물학적 활성 또는 과정의 기저 활성에서의 유의한 감소를 지칭한다.

[0183] 본원에 사용된 용어인, 임의의 질환 또는 장애에 대한 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는, 한 실시양태에서 임의의 질환 또는 장애를 개선 (즉, 질환 또는 그의 임상 증상 중 적어도 하나의 발생을 완화 또는 정지 또는 감소시킴)하는 것을 지칭한다. 또 다른 실시양태에서 "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 환자에 의해 식별 가능하지 않을 수 있는 것들을 포함하는 하나 이상의 물리적 파라미터를 완화 또는 개선하는 것들을 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질환 또는 장애를 물리적으로 (예를 들어, 식별 가능한 증상의 안정화), 생리학적으로 (예를 들어, 물리적 파라미터의 안정화) 중 하나, 또는 둘 다 조절하는 것을 지칭한다. 또 다른 실시양태에서, "치료하다", "치료하는" 또는 "치료"는 질환 또는 장애의 발병 또는 발달 또는 진행을 예방 또는 지연시키는 것을 지칭한다.

[0184] 본원에 사용된 바와 같이, 대상체가 치료로부터 생물학적으로, 의학적으로 또는 삶의 질에 있어서 유익할 경우에, 이러한 대상체는 이러한 치료를 "필요로 한다".

[0185] 본원에 사용된 바와 같이, 본 발명의 문맥에서 (특히, 청구범위의 문맥에서) 사용된 단수 용어 및 유사한 용어들은, 본원에 달리 나타내거나 또는 문맥상 명백히 모순되지 않는 한, 단수형 및 복수형 둘 다를 포괄하는 것으로 해석되어야 한다.

[0186] 본원에 사용된 용어 "티올-말레이미드"는 하기 화학식을 갖는, 티올의 말레이미드와의 반응에 의해 형성된 기를 설명한다:

[0187] 

[0188] 여기서, Y 및 Z는 티올-말레이미드 연결을 통해 연결되는 기이고, 이는 링커 유닛일 수 있으며, 항체 또는 페이로드에 부착될 수 있다. 일부 경우에, Y는 본 발명에 따라 조작된 항체이고, 화학식에 제시된 황 원자는 본원에 기재된 치환 부위 중 하나에서의 시스테인으로부터의 것이고; Z는 페이로드에 연결된 링커 유닛을 나타낸다.

[0189] 본원에 사용된 "링커 유닛" (LU)은 2개의 모이어티, 예컨대 항체 및 페이로드 사이의 공유 화학적 연결을 지칭한다. 각각의 LU는 하나 이상의, 본원에서 L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6으로 기재된 성분으로 구성될 수 있다. 링커 유닛은 연결된 모이어티 사이에 적합한 공간을 제공하도록, 또는 특정 물리화학적 특성을 제공하도록, 또는 특정 조건 하에 링커 유닛의 절단을 허용하도록 선택될 수 있다.

[0190] 본원에 사용된 "절단가능한"은 2개의 모이어티를 공유 연결에 의해 연결시키지만, 생리학적 조건 하에 모이어티 사이의 공유 연결을 절단하기 위해 분해되는 링커 또는 링커 유닛 (LU)을 지칭한다. 절단은 효소적 또는 비-효소적일 수 있으나, 일반적으로는 항체를 분해하지 않고 항체로부터 페이로드를 방출한다.

[0191] 본원에 사용된 "비-절단가능한"은 생리학적 조건 하에 잘 절단되지 않는 링커 또는 링커 유닛 (LU)을 지칭한다. 링커는 생리학적으로 변형될 수 있지만, 항체가 실질적으로 분해될 때까지, 즉 항체 분해가 생체내에서 링커의 절단을 능가할 때까지 페이로드가 항체에 연결되어 있도록 한다.

[0192] 본원에 사용된 "시클로옥틴"은 탄소-탄소 삼중 결합 (아세틸렌)을 함유하는 8-원 고리를 지칭한다. 고리는 임의적으로 1 또는 2개의 페닐 고리에 융합되고, 이는 1-4개의 C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시, 할로, 히드록실, COOH, $COOL_1$, $-C(O)NH-L_1$, $O-L_1$, 또는 유사한 기로 치환될 수 있고, 고리원으로서 N, O 또는 S를 함유할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 시클로옥틴은 C_8 탄화수소 고리, 특히 삼중 결합은 제외하고 포화된 단리된 고리일 수 있고, F 또는 히드록시로 치환될 수 있으며, -O-, -C(O), C(O)NH, 또는 C(O)O를 통해 링커 또는 LU에 연결될 수 있다.

[0193] 본원에 사용된 "시클로옥텐"은 1개 이상의 이중 결합, 특히 트랜스-이중 결합을 함유하는 8-원 고리를 지칭한다. 고리는 임의적으로 1 또는 2개의 페닐 고리에 융합되고, 이는 1-4개의 C_{1-4} 알킬, C_{1-4} 알콕시, 할로, 히드록실, COOH, $COOL_1$, $-C(O)NH-L_1$, $O-L_1$, 또는 유사한 기로 치환될 수 있고, 고리원으로서 N, O 또는 S를 함유할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 시클로옥텐은 트랜스 이중 결합은 제외하고 포화된 단리된 C_8 탄화수소 고리일 수 있고, 임의적으로 F 또는 히드록시로 치환되며, -O-, -C(O), C(O)NH, 또는 C(O)O를 통해 링커 또는 LU에 연결될 수 있다.

[0194] 본원에 기재된 모든 방법은, 본원에 달리 나타내거나 또는 문맥상 명백히 모순되지 않는 한, 임의의 적합한 순서로 수행될 수 있다. 본원에 제공된 임의의 및 모든 예, 또는 예시적인 어구 (예를 들어, "예컨대")의 사용은 본 발명을 보다 잘 예시하기 위해 의도된 것이고, 달리 청구된 본 발명의 범위에 대한 제한을 제시하는 것은 아니다.

도면의 간단한 설명

[0195] 도 1. 인간 IgG1 중쇄 (a) 및 카파 경쇄 (b) 내의 아미노산 잔기의 표면 접근성 플롯. 표면 접근성은 서페이스 레이서(Surface Race) 5.0을 이용하여 계산하였고, 옹스트롬 제곱 [$Å^2$]으로 표현된다.

도 2. 카파 경쇄를 갖는 인간 IgG1의 구조 내의 선택된 92개 TAG 돌연변이의 위치. TAG 돌연변이를 위해 선택된 잔기는 2개의 중쇄 중 오직 1개 위에 및 2개의 카파 경쇄 중 1개에서 흑색으로 도시된다 (1HZH.pdb). 구조

는 PyMOL, 오픈-소스 분자 모델링 패키지 (PyMOL 분자 그래픽 시스템(The PyMOL Molecular Graphics System), 버전 1.5.0. 슈레딩거. LLC(Schroedinger. LLC))를 이용하여 도시된다.

도 3. 트라스투주맙 및 항체 14090의 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열 정렬. 트라스투주맙 항체 및 항체 14090에서 Cys로 돌연변이된 잔기는 밑줄표시된다. 중쇄 내의 아미노산 잔기는 Eu 넘버링 시스템에 의해 넘버링된다 (Edelman et al., 1969).

도 4. 트라스투주맙, 인간 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4의 불변 영역의 아미노산 서열 정렬.

도 5. 인간 카파 및 람다 경쇄의 불변 영역의 아미노산 서열 정렬. a. 트라스투주맙의 카파 경쇄 및 항체 14090의 람다 경쇄에서 Cys로 돌연변이된 잔기는 밑줄표시된다. b. Cys 돌연변이를 위해 선택된 잔기는 인간 람다 경쇄의 PyMOL 구조 모델에서 도시된다 (단백질 구조 데이터뱅크 엔트리 3G6D.pdb).

도 6. 비-환원 SDS-PAGE에 의한 트라스투주맙 Cys 항체의 분석.

도 7. 트라스투주맙 LC-S156C 돌연변이체 항체 (파선) 및 야생형 트라스투주맙 (실선)의 크기 배제 크로마토그래피.

도 8. 역상 고압 액체 크로마토그래피 (RP-HPLC)에 의한 야생형 트라스투주맙 (a) 및 트라스투주맙 LC-E158C 돌연변이체 항체 (b)의 분석.

도 9. 단백질 A 정제 후의 트라스투주맙 LC-R108C 돌연변이체 항체의 MS 분석 (인택트(intact) MS).

도 10. MC-MMAF의 구조.

도 11. RP-HPLC에 의한 트라스투주맙 Cys 항체의 MC-MMAF와의 접합 혼합물의 분석. 접합 혼합물의 RP-HPLC 트레이스는 파선으로 도시된다. 변형되지 않은 항체의 RP-HPLC 트레이스는 실선으로 도시된다. a. LC-R108C-MMAF, b. HC-360C-MMAF, c. LC-S156C-MMAF, 및 d. HC-S275C-MMAF ADC.

도 12. RP-HPLC에 의한 트라스투주맙 Cys 항체의 MC-MMAF와의 접합 혼합물의 분석. 접합 혼합물의 RP-HPLC 트레이스는 파선으로 도시된다. 변형되지 않은 항체의 RP-HPLC 트레이스는 실선으로 도시된다. a. HC-S134C-MMAF, 및 b. HC-S136C-MMAF ADC.

도 13. 분석 크기-배제 크로마토그래피 (AnSEC)에 의한 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 분석. 트라스투주맙 HC-K290C-MMAF ADC (짧은 파선), 트라스투주맙 LC-R142C-MMAF ADC (파선), 및 트라스투주맙 LC-L154C-MMAF ADC (점선)를 변형되지 않은 야생형 트라스투주맙 (실선)과 비교한다.

도 14. 변형되지 않은 야생형 트라스투주맙 및 트라스투주맙 HC-T335C-MMAF, 트라스투주맙 HC-S337C-MMAF 및 트라스투주맙 HC-K360C-MMAF ADC의 열 용융 곡선.

도 15. a. HCC1954, b. MDA-MB231 클론 16 및 c. MDA-MB231 클론 40 세포를 사용한 트라스투주맙 LC-S159C-MMAF에 대한 세포 증식 검정.

도 16. MDA-MB231 클론 16 세포 증식 검정에서의 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 IC_{50}.

도 17. a. CMK11-5 및 b. Jurkat 세포를 사용한 항체 14090 HC-S375C-MMAF ADC에 대한 세포 증식 검정.

도 18. 유의한 약물 손실을 나타내지 않는 트라스투주맙 LC-Cys-MMAF ADC의 약동학 연구. a. 야생형의 접합되지 않은 트라스투주맙, b. LC-K107C-MMAF, c. LC-R108C-MMAF, d. LC-L154C-MMAF, 및 e. LC-S159C-MMAF ADC.

도 19. 유의한 약물 손실을 나타내지 않는 트라스투주맙 HC-Cys-MMAF ADC의 약동학 연구. a. HC-K121C-MMAD, b. HC-L174C-MMAF, c. HC-E258C-MMAF, 및 d. HC-R292C-MMAF ADC.

도 20. 유의한 약물 손실을 나타내는 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 약동학 연구. a. LC-T129C-MMAF, b. LC-E143C-MMAF, c. HC-K246C-MMAF, 및 d. HC-R344C-MMAF ADC.

도 21. 빠른 생체내 클리어런스를 나타내는 2개의 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 약동학 연구. a. HC-T335C-MMAF 및 b. HC-S337C-MMAF ADC.

도 22. MDA-MB231 클론 16 이종이식편 마우스 모델에서의 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 생체내 효능 연구.

도 23: 소수성 상호작용 크로마토그래피에 의해 측정된 바와 같은 트라스투주맙 Pc1 MMAF DAR 2 ADC의 체류 시간. ABA-MMAF는 지시된 HC 또는 LC 잔기에 대해 치환된 Pc1 잔기에서 부착된다. a) HC 접합된 ADC. b) LC

접합된 ADC. 접합되지 않은 야생형 항체의 체류 시간이 표시된다 (WT).

도 24. 카파 경쇄를 갖는 인간 IgG1의 구조 내의 선택된 페이로드 부위의 위치. 선택된 잔기는 2개의 중쇄 중 오직 1개 위에 및 2개의 카파 경쇄 중 1개에서 도시된다 (1HZH.pdb). 구조의 3가지 회전이 PyMOL, 오픈-소스 분자 모델링 패키지 (PyMOL 분자 그래픽 시스템, 버전 1.5.0. 슈레딩거, LLC)를 이용하여 도시된다.

도 25. 2, 3 또는 4개의 Cys 돌연변이를 갖는 항체로 제조된 DAR 4, 6 및 8을 갖는 트라스투주맙 및 항체 14090 Cys-MMAF ADC의 약동학 연구. DAR 4 트라스투주맙 ADC: HC-E258C-LC-S159C-MMAF (a), HC-S375C-LC-S159C-MMAF (b), HC-E258C-LC-E165C-MMAF (c), HC-S375C-LC-E165C-MMAF (d), HC-E152C-LC-R142C-MMAF (e), HC-P171C-LC-R142C-MMAF, 및 HC-E152C-LC-S159C-MMAF (g); DAR 4 항체 14090 ADC: HC-S375C-LC-A143C-MMAF (h), HC-K360C-LC-V159C-MMAF (i), 및 HC-S375C-LC-V159C-MMAF (j); k. DAR 6 트라스투주맙 ADC HC-K334C-S375C-LC-E165C-MMAF 및 HC-K334C-K392C-LC-E165C-MMAF; l. DAR 8 트라스투주맙 ADC HC-K334C-K360C-S375C-LC-E165C-MMAF, HC-K334C-K360C-K392C-LC-E165C-MMAF 및 HC-K334C-S375C-K392C-LC-E165C-MMAF. 항체 14090은 마우스 교차-반응성이고, 이에 따라 임의의 마우스 항원에 결합하지 않은 트라스투주맙 ADC보다 더 빠르게 클리어링된다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

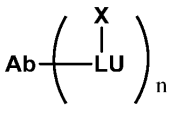
[0196] 본 발명은 특정 위치에서의 모 항체 또는 항체 단편의 하나 이상의 아미노산을 시스테인 아미노산 ("Cys")으로 대체하여, 항체 또는 항체 단편을 부위-특이적으로 표지하는 방법을 제공하며, 이와 같이 조작된 항체 또는 항체 단편은 다양한 작용제 (예를 들어, 세포독성제)에 접합될 수 있다. 본 발명은 또한 본원에 기재된 방법을 이용하여 생산된 면역접합체를 제공한다.

[0197] 모 항체 또는 항체 단편을 시스테인으로 조작하는 경우에, 디술피드 연결을 통해 조작된 시스테인 부위(들)에 부착된 시스테인 또는 글루타티온 (GSH)을 갖는 변형된 항체 또는 항체 단편을 우선 발현 배지로부터 회수한다 (Chen et al., (2009) mAbs 16, 353-571). 이어서, 부착된 시스테인 또는 GSH를 환원 단계에서 제거하며, 이 단계는 또한 모 항체 또는 항체 단편의 모든 천연 쇄간 디술피드 결합을 환원시킨다. 두번째 단계에서 이들 디술피드 결합은 접합이 일어나기 전에 재산화된다. 본 개시내용은 시스테인이 특정 부위에서 조작되는 경우, 재산화 단계가 잘 진행되지 않는다는 것을 보여주며, 이는 아마도 부정확한 디술피드 결합의 형성 때문일 것이다. 따라서, 본 발명은 각각 항체 중쇄 불변 영역 및 항체 경쇄 불변 영역 상의 특유한 부위 세트를 제공하며, 여기서 본원에 기재된 바와 같은 Cys 치환은 재산화 과정을 잘 수행하며 또한 안정하고 우수한 거동의 면역접합체를 생산하는 변형된 항체 또는 항체 단편을 생산한다.

[0198] 본 발명에 따른 부위-특이적 항체 표지는 다양한 화학적으로 접근가능한 표지 시약, 예컨대 항암제, 형광단, 펩티드, 당, 세제, 폴리에틸렌 글리콜, 면역 강화제, 방사성-영상화 프로브, 전구약물, 및 다른 분자를 사용하여 달성될 수 있다.

[0199] 따라서, 본 발명은 영상화 시약 뿐만 아니라 암 요법 및 다른 적응증에 사용하기 위한 규정된 약물-대-항체 비를 갖는 균질한 면역접합체를 제조하는 방법을 제공한다. 본 발명은 또한 이와 같이 제조된 면역접합체 뿐만 아니라 이러한 면역접합체를 포함하는 제약 조성물을 제공한다. 본 발명의 방법은 관련 기술분야에 공지된 다른 접합 방법과 조합되어 사용될 수 있다.

[0200] 하기 열거된 실시양태는 본 발명의 특정 측면 및 변형을 나타낸다.

[0201] 

[0202] 여기서, Ab는 본원에 기재된 바람직한 시스테인 치환 부위 중 하나에 적어도 하나의 시스테인을 포함하는 항체 또는 항체 단편을 나타내고;

[0203] LU는 본원에 기재된 바와 같은 링커 유닛이고;

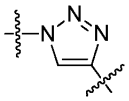
[0204] X는 페이로드 또는 약물 모이어티이고;

[0205] n은 1 내지 16의 정수이다. 이러한 실시양태에서, n은 바람직하게는 약 2, 약 4, 약 6, 또는 약 8이다. LU는 전형적으로 화학식 $-L_1-L_2-L_3-L_4-L_5-L_6-$의 기이고, 여기서 L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6은 독립적으로 $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 및

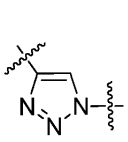
$-X^2-$로부터 선택되고; 여기서

[0206] A_1은 $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_n-$, $-(O(CH_2)_n)_m-$, $-(O(C(R^4)_2)_n)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m-$, $-((C(R^4)_2)_nO)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-((C(R^4)_2)_nO)_mC(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)-$, $-NHC(=O)(CH_2)_n-$, $-NHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nS-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_nS-$, $-S(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-S(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_nNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)-$, $-(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_n(O(C(R^4)_2)_n)_mNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nNH((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_nNH((C(R^4)_2)_nO)_m(C(R^4)_2)_n-$, $-(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, 또는 $-(O(C(R^4)_2)_n)_mNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$이고;

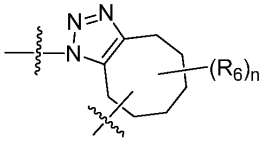
[0207] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8,



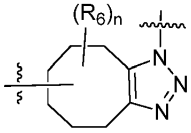
,



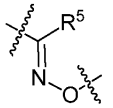
,



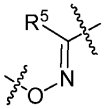
,



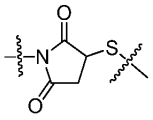
,



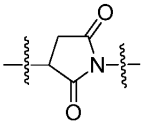
,



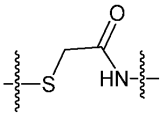
,



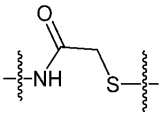
,



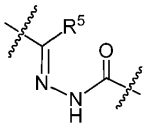
,



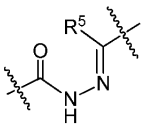
,



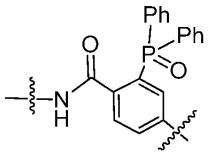
,



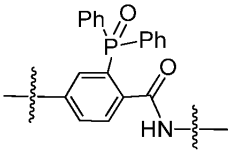
,



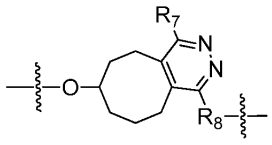
,



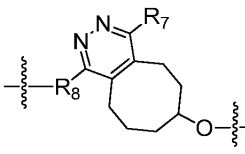
,



,



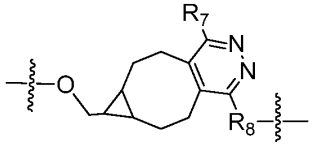
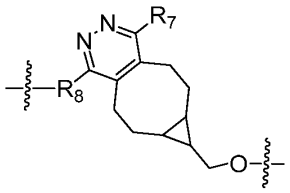
,

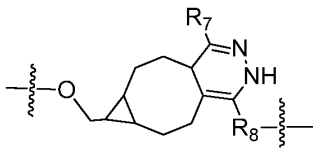
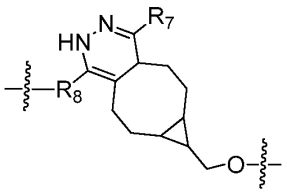


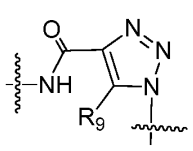
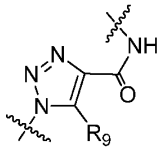
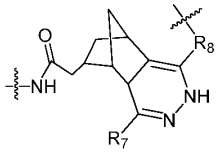
,

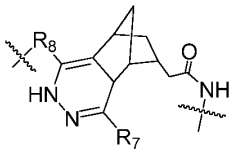
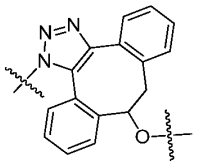
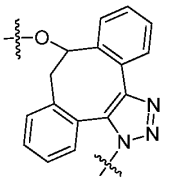
[0208]

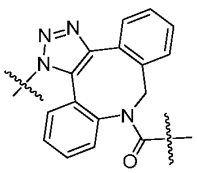
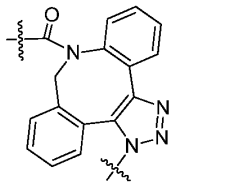
- 28 -

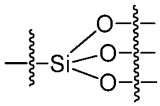


,
,



,




,
,
,




,
,
,



,
, -S-, -Si(OH)$_2$O-,



[0209] ,

[0210] -CHR^4(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -CHR^4(CH$_2$)$_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH- 및 -NHC(=O)-로부터 선택되고;

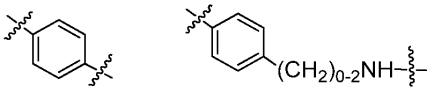
[0211] 각각의 R^{4}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, -C(=O)OH 및 -OH로부터 선택되고,

[0212] 각각의 R^{5}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

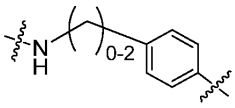
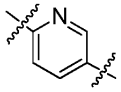
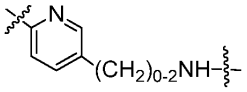
[0213] 각각의 R^{6}은 독립적으로 H, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

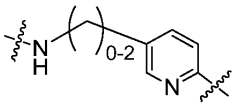
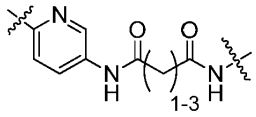
[0214] R^{7}은 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

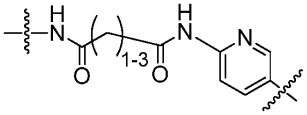
[0215] R^{8}은 독립적으로


,

,


,

,

,


,

, 및



[0216] 로부터 선택되고,

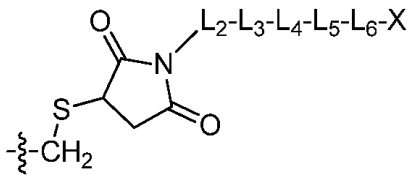
[0217] R^9는 독립적으로 H 및 C_{1-6}할로알킬로부터 선택되고;

[0218] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

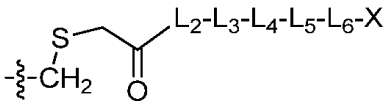
[0219] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택된다.

[0220] 이러한 실시양태의 일부에서, 면역접합체는 하기 화학식 IIA 또는 IIB의 기를 포함한다.

[0221] <화학식 IIA>

[0222] 

[0223] <화학식 IIB>

[0224] 

[0225] 여기서, 황 원자는 변형된 항체 또는 항체 단편 내의 시스테인 잔기의 황이고, 본원에서 확인된 치환 부위 중 하나에 위치한다.

[0226] 임의의 상기 실시양태에서, 시스테인 치환 부위는 서열 내의 부위의 위치가 전장 항체의 변형 또는 말단절단에 의해 달라질지라도 위치 번호에 의해 확인된 부위 중 하나에 상응하는 위치일 수 있다. 상응하는 부위는 항체 또는 단편을 전장 항체와 정렬시켜 용이하게 확인할 수 있다.

[0227] **1. 부위-특이적 시스테인 조작된 항체**

[0228] 부위-특이적 표지

[0229] 본 발명의 항체 (예를 들어, 하나 이상의 비-정규 아미노산을 임의적으로 함유하는, 모 항체)는, 문헌 [Kabat et al., (1991) Fifth Edition. NIH Publication No. 91-3242]에 제시된 바와 같은 카바트 넘버링 시스템에 따라 넘버링되는 람다 경쇄를 제외하고, 문헌 [Edelman et al., (1969) Proc. Natl. Acad. USA 63:78-85]에 제시된 바와 같은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된다. 인간 IgG1 불변 영역이 본원 전반에 걸쳐 대표적으로 사용

된다. 그러나, 본 발명이 인간 IgG1로 제한되지는 않는다; 상응하는 아미노산 위치는 서열 정렬에 의해 용이하게 추론될 수 있다. 예를 들어, 도 4는 인간 IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 중쇄 불변 영역의 서열 정렬을 보여주며, 이에 따라 IgG1 불변 영역에서 확인된 Cys 조작 부위가 도 4에 제시된 바와 같이 IgG2, IgG3 및 IgG4에서도 용이하게 확인될 수 있다. 경쇄 불변 영역의 경우, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4가 동일하다. 하기 표 1은 시스테인에 의해 대체될 수 있는 항체의 중쇄의 불변 영역 내의 아미노산 위치를 열거한다. 표 2는 시스테인에 의해 대체될 수 있는 항체의 카파 경쇄의 불변 영역 내의 아미노산 위치를 열거한다. 표 3은 시스테인에 의해 대체될 수 있는 항체의 람다 경쇄의 불변 영역 내의 아미노산 위치를 열거한다.

[0230] [표 1] 인간 IgG1의 중쇄 불변 영역에서 확인된 시스테인 치환 부위 (부위는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링됨).

[0231]

EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 HC Cys	서열
117	SER	128.0	HC-S117C	2
119	SER	79.1	HC-S119C	3
121	LYS	135.9	HC-K121C	4
124	SER	40.2	HC-S124C	5
132	SER	34.4	HC-S132C	6

EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 HC Cys	서열
134	SER	123.3	HC-S134C	7
136	SER	182.9	HC-S136C	8
139	THR	32.9	HC-T139C	9
152	GLU	52.1	HC-E152C	10
153	PRO	89.1	HC-P153C	11
155	THR	69.0	HC-T155C	12
157	SER	39.0	HC-S157C	13
164	THR	125.4	HC-T164C	14
165	SER	183.2	HC-S165C	15
169	THR	60.0	HC-T169C	16
171	PRO	33.3	HC-P171C	17
174	LEU	68.1	HC-L174C	18
176	SER	161.9	HC-S176C	19
177	SER	68.1	HC-S177C	20
189	PRO	86.4	HC-P189C	21
191	SER	126.8	HC-S191C	22
195	THR	111.3	HC-T195C	23
197	THR	89.8	HC-T197C	24
205	LYS	217.1	HC-K205C	25
207	SER	50.0	HC-S207C	26
212	ASP	97.0	HC-D212C	27
246	LYS	55.1	HC-K246C	28
258	GLU	42.1	HC-E258C	29
269	GLU	189.2	HC-E269C	30
274	LYS	137.8	HC-K274C	31
286	ASN	119.4	HC-N286C	32
288	LYS	181.8	HC-K288C	33
290	LYS	177.0	HC-K290C	34
292	ARG	251.5	HC-R292C	35
293	GLU	83.3	HC-E293C	36
294	GLN	73.5	HC-E294C	37
320	LYS	55.0	HC-K320C	38
322	LYS	78.3	HC-K322C	39
326	LYS	212.7	HC-K326C	40
330	ALA	96.3	HC-A330C	41
333	GLU	84.7	HC-E333C	42
334	LYS	49.6	HC-K334C	43
335	THR	70.1	HC-T335C	44
337	SER	15.1	HC-S337C	45
344	ARG	98.2	HC-R344C	46
355	ARG	249.4	HC-R355C	47

[0232]

EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 HC Cys	서열
360	LYS	113.9	HC-K360C	48
362	GLN	40.8	HC-Q362C	49
375	SER	28.9	HC-S375C	50
382	GLU	21.8	HC-E382C	51
389	ASN	189.5	HC-N389C	52
390	ASN	36.4	HC-N390C	53
392	LYS	81.8	HC-K392C	54
393	THR	35.8	HC-T393C	55
398	LEU	110.9	HC-L398C	56
400	SER	81.3	HC-S400C	57
413	ASP	79.6	HC-D413C	58
415	SER	69.0	HC-S415C	59
422	VAL	80.8	HC-V422C	60

[0233]

[0234] [표 2] 인간 IgG1의 카파 경쇄 불변 영역에서 확인된 시스테인 치환 부위 (부위는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링됨).

EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 LC Cys	서열
107	LYS	90	LC-K107C	61
108	ARG	49	LC-R108C	62
109	THR	148	LC-T109C	63
112	ALA	50	LC-A112C	64
114	SER	39	LC-S114C	65
122	ASP	90	LC-D122C	66
123	GLU	51	LC-E123C	67
129	THR	41	LC-T129C	68
142	ARG	55	LC-R142C	69
143	GLU	117	LC-E143C	70
145	LYS	160	LC-K145C	71
152	ASN	157	LC-N152C	72
154	LEU	117	LC-L154C	73
156	SER	122	LC-S156C	74
159	SER	22	LC-S159C	75
161	GLU	66	LC-E161C	76
165	GLU	74	LC-E165C	77
168	SER	170	LC-S168C	78
169	LYS	241	LC-K169C	79
170	ASP	48	LC-D170C	80
182	SER	59	LC-S182C	81

[0235]

EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 LC Cys	서열
183	LYS	131	LC-K183C	82
188	LYS	201	LC-K188C	83
190	LYS	167	LC-K190C	84
191	VAL	58	LC-V191C	85
197	THR	38	LC-T197C	86
199	GLN	127	LC-Q199C	87
203	SER	110	LC-S203C	88
206	THR	70	LC-T206C	89

[0236]

[0237] [표 3] 인간 IgG1의 람다 경쇄 상에서 확인된 시스테인 치환 부위.

카바트 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 LC Cys	서열
143	ALA	82	LC-A143C	92
145	THR	106	LC-T145C	93
147	ALA	14	LC-A147C	94
156	LYS	233	LC-K156C	95
159	VAL	28	LC-V159C	96
163	THR	157	LC-T163C	97
168	SER	166	LC-S168C	98

[0238]

[0239] IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4 항체의 불변 영역의 높은 서열 상동성으로 인해, 본 발명의 발견은 임의의 특정 항체 또는 항체 단편으로 제한되지 않는다.

[0240] 한 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 표 1에서 확인된 위치로부터 선택된 그의 중쇄 불변 영역 상에 하나 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 아미노산의 치환을 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다. 구체적 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 334, 360, 375, 및 392로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다. 예를 들어, 본 발명의 면역접합체는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 121 및 124, 121 및 152, 121 및 171, 121 및 174, 121 및 258, 121 및 292, 121 및 333, 121 및 334, 121 및 360, 121 및 375, 121 및 392, 124 및 152, 124 및 171, 124 및 174, 124 및 258, 124 및 292, 124 및 333, 124 및 334, 124 및 360, 124 및 375, 124 및 392,152 및 171, 152 및 174, 152 및 258, 152 및 292, 152 및 333, 152 및 334, 152 및 360, 152 및 375, 152 및 392, 171 및 174, 171 및 258, 171 및 292, 171 및 333, 171 및 360, 171 및 375, 174 및 258, 174 및 292, 174 및 333, 174 및 334, 174 및 360, 174 및 375, 174 및 392, 258 및 292, 258 및 333, 258 및 334, 258 및 360, 258 및 375, 258 및 392, 292 및 333, 292 및 334, 292 및 360, 292 및 375, 292 및 392, 333 및 334, 333 및 360, 333 및 375, 333 및 392; 334 및 360, 334 및 375, 334 및 392, 360 및 375, 360 및 392, 또는 375 및 392로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 2개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함한다.

[0241] 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 121, 124 및 152; 121, 124 및 171; 121, 124 및 174; 121, 124 및 258; 121, 124 및 292; 121, 124 및 333; 121, 124 및 334; 121, 124 및 360; 121, 124 및 375; 121, 124 및 392; 121, 152 및 171; 121, 152 및 174; 121, 152 및 258; 121, 152 및 292; 121, 152 및 333; 121, 152 및 334; 121, 152 및 360; 121, 152 및 375; 121, 152 및 392; 121, 171 및 174; 121, 171 및 258; 121, 171 및 292; 121, 171 및 333; 121, 171 및 334; 121, 171 및 360; 121, 171 및 375; 121, 171 및 392; 121, 174 및 258, 121, 174 및 292; 121, 174 및 333; 121, 174 및 334; 121, 174 및 360; 121, 174 및 375; 121, 174 및 392; 121, 258 및 292; 121, 258 및 333; 121, 258 및 334; 121, 258 및 360; 121, 258 및 375; 121, 258 및 392; 121, 292 및 333; 121, 292 및 334; 121, 292 및 360; 121, 292 및 375; 121, 292 및 392; 121, 333 및 334; 121, 333 및 360; 121, 333 및 375; 121, 333 및 392; 121, 334 및 360; 121, 334 및 375; 121, 334 및 392; 121, 360 및 375; 121, 360 및 392; 121, 375 및 392; 124, 152 및 171; 124, 152 및 174; 124, 152 및 258; 124, 152 및 292; 124, 152 및 333; 124, 152 및 334; 124, 152 및 360; 124, 152 및 375; 124, 152 및 392; 124, 171 및 174; 124, 171 및 258; 124, 171 및 292; 124, 171 및 333; 124, 171 및 334; 124, 171 및 360; 124, 171 및 375; 124, 171 및 392; 124, 174 및 258; 124, 174 및 292; 124, 174 및 333; 124, 174 및 334; 124, 174 및 360; 124, 174 및 375; 124, 174 및 392; 124, 258 및 292; 124, 258 및 333; 124, 258 및 334; 124, 258 및 360; 124, 258 및 375; 124, 258 및 392; 124, 292 및 333; 124, 292 및 334; 124, 292 및 360; 124, 292 및 375; 124, 292 및 392; 124, 333 및 360; 124, 333 및 334; 124, 333 및 375; 124, 333 및 392; 124, 334 및 360; 124, 334 및 375; 124, 334 및 392; 124, 360 및 375; 124, 360 및 392; 124, 375 및 392; 152, 171 및 174; 152, 171 및 258; 152, 171 및 292; 152, 171 및 333; 152, 171 및 334; 152, 171 및 360; 152, 171 및 375; 152, 171 및 392; 152, 174 및 258; 152, 174 및 292; 152, 174 및 333; 152, 174 및 334; 152, 174 및 360; 152, 174 및 375; 152, 174 및 392; 152, 258 및 292; 152,

258 및 333; 152, 258 및 334; 152, 258 및 360; 152, 258 및 375; 152, 258 및 392; 152, 292 및 333; 152, 292 및 334; 152, 292 및 360; 152, 292 및 375; 152, 292 및 392; 152, 333 및 334; 152, 333 및 360; 152, 333 및 375; 152, 333 및 392; 152, 334 및 360; 152, 334 및 375; 152, 334 및 392; 152, 360 및 375; 152, 360 및 392; 152, 375 및 392; 171, 174 및 258; 171, 174 및 292; 171, 174 및 333; 171, 174 및 334; 171, 174 및 360; 171, 174 및 375; 171, 174 및 392; 171, 258 및 292; 171, 258 및 292; 171, 258 및 333; 171, 258 및 334; 171, 258 및 360; 171, 258 및 375; 171, 258 및 392; 171, 292 및 333; 171, 292 및 334; 171, 292 및 360; 171, 292 및 375; 171, 292 및 392; 171, 333 및 334; 171, 333 및 360; 171, 333 및 375; 171, 333 및 392; 171, 334 및 360; 171, 334 및 392; 171, 360 및 375; 171, 360 및 392; 171, 375 및 392; 174, 258 및 292; 174, 258 및 333; 174, 258 및 334; 174, 258 및 360; 174, 258 및 375; 174, 258 및 392; 174, 292 및 333; 174, 292 및 334; 174, 292 및 360; 174, 292 및 375; 174, 292 및 392; 174, 333 및 334; 174, 333 및 360; 174, 333 및 375; 174, 333 및 392; 174, 334 및 360; 174, 334 및 375; 174, 334 및 392; 174, 360 및 375; 174, 360 및 392; 174, 375 및 392; 258, 292 및 333; 258, 292 및 334; 258, 292 및 360; 258, 292 및 375; 258, 292 및 392; 258, 333 및 360; 258, 333 및 375; 258, 333 및 392; 258, 334 및 360; 258, 334 및 375; 258, 334 및 392; 258, 360 및 375; 258, 360 및 392; 258, 375 및 392; 292, 333 및 334; 292, 333 및 360; 292, 333 및 375; 292, 333 및 392; 292, 334 및 360; 292, 334 및 375; 292, 334 및 392; 292, 360 및 375; 292, 360 및 392; 292, 375 및 392; 333, 334 및 360; 333, 334 및 375; 333, 334 및 392; 333, 360 및 375, 333, 360 및 392; 333, 375 및 392; 334, 360 및 375; 334, 360 및 392; 또는 360, 375 및 392로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 3개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함한다.

[0242] 한 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 152, 333, 375 및 392; 또는 152, 334, 375 및 392로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 4개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함한다.

[0243] 구체적 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 서열 2, 3, 9, 11, 12, 13, 14, 16, 21, 25, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 38, 39, 40, 43, 44, 45, 46, 47, 51, 53, 54, 56, 57, 또는 60을 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다. 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 서열 6, 7, 8, 15, 19, 20, 22, 23, 24, 27, 36, 37, 41, 49, 52, 55, 58, 또는 59를 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다.

[0244] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 표 2에서 확인된 위치로부터 선택된 그의 경쇄 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 치환을 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다. 구체적 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 경쇄의 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 면역접합체를 제공한다. 예를 들어, 본 발명의 면역접합체는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 경쇄의 위치 107 및 108; 107 및 142; 107 및 145; 107 및 159; 107 및 161; 107 및 165; 108 및 142; 108 및 145; 108 및 159; 108 및 161; 108 및 165; 142 및 145; 142 및 159; 142 및 161; 142 및 165; 145 및 159; 145 및 161; 145 및 165; 159 및 161; 159 및 165; 161 및 165로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 2개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 여기서 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 경쇄의 위치 107, 108 및 142; 107, 108 및 145; 107, 108 및 159; 107, 108 및 161; 107, 108 및 165; 107, 142 및 145; 107, 142 및 159; 107, 142 및 161; 107, 142 및 165; 107, 145 및 159; 107, 145 및 161; 107, 145 및 165; 107, 159 및 161; 107, 159 및 165; 107, 161 및 165; 108, 142 및 145; 108, 142 및 159; 108, 142 및 161; 108, 142 및 165; 108, 145 및 159; 108, 145 및 161; 108, 145 및 165; 108, 159 및 161; 108, 159 및 165; 108, 161 및 165; 142, 145 및 159; 142, 145 및 161; 142, 145 및 165; 142, 159 및 161; 142, 159 및 165; 142, 161 및 165; 145, 159 및 161; 145, 159 및 165; 145, 161 및 165; 또는 159, 161 및 165로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 3개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄이다.

[0245] 구체적 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 서열 63, 65, 68, 70, 72, 73, 74, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 86, 87, 또는

88을 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다. 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 서열 64, 66, 67, 84, 85, 또는 89, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 70, 72, 73, 74, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 또는 89를 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다.

[0246] 또 다른 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 표 3에서 확인된 위치로부터 선택된 그의 경쇄 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 치환을 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다. 구체적 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 경쇄의 위치 143, 147, 159, 163, 및 168로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 경쇄 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄인 면역접합체를 제공한다. 예를 들어, 본 발명의 면역접합체는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 경쇄의 위치 143 및 147; 143 및 159; 143 및 163; 143 및 168; 147 및 159; 147 및 163; 147 및 168; 159 및 163; 159 및 168; 또는 163 및 168로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 2개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 경쇄 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄이다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 경쇄의 위치 143, 147 및 159; 143, 147 및 163; 143, 147 및 168; 143, 159 및 163; 143, 159 및 168; 143, 163 및 168; 147, 159 및 163; 147, 159 및 168; 147, 163 및 168; 또는 159, 163 및 168로부터 선택된 그의 불변 영역 상에 3개의 아미노산의 시스테인으로의 치환을 포함하고, 상기 경쇄 위치는 카바트 시스템에 따라 넘버링되고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄이다.

[0247] 한 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 서열 92, 94, 96, 97 또는 98을 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다. 또 다른 구체적 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 서열 93 또는 95를 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다.

[0248] 한 실시양태에서, 면역접합체는 약 2 또는 약 4의 DAR을 가질 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 표 1에서 확인된 위치로부터 선택된 그의 중쇄 불변 영역 상에 하나 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 아미노산의 Cys 치환, 및 표 2 또는 표 3에서 확인된 위치로부터 선택된 그의 경쇄 불변 영역 상에 하나 이상 (예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개)의 아미노산의 Cys 치환을 포함하는 것인 면역접합체를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 위치 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 334, 360, 375 및 392로부터 선택된 그의 중쇄 불변 영역에 하나 이상의 아미노산의 Cys 치환; 및 위치 107, 108, 142, 145, 159, 161, 및 165로부터 선택된 그의 경쇄 불변 영역에 하나 이상의 아미노산의 Cys 치환을 포함하고, 상기 경쇄는 인간 카파 경쇄인 면역접합체를 제공한다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치

165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 107 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 108 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 142 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 145 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 161 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 375 및 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환을 포함한다. 한 실시양태에서 본 발명에 따른 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄

의 위치 334 및 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환을 포함할 수 있다. 또 다른 예에서, 본 발명에 따른 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 334 및 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 이러한 조합의 면역접합체는 약 4 또는 약 6의 DAR을 가질 수 있다.

[0249] 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 334, 위치 375 및 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명에 따른 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 333, 위치 375 및 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 카파 경쇄의 위치 165 상의 Cys 치환을 포함할 수 있다. 한 실시양태에서, 이러한 조합은 약 4, 6, 또는 8의 DAR을 가질 수 있다.

[0250] 한 실시양태에서, 본 발명은 변형된 항체 또는 그의 항체 단편, 및 약물 모이어티를 포함하며, 여기서 상기 변형된 항체 또는 항체 단편은 위치 121, 124, 152, 171, 174, 258, 292, 333, 334 360, 375 및 392로부터 선택된 그의 중쇄 불변 영역에 하나 이상의 아미노산의 Cys 치환 및 위치 143, 147, 159, 163, 및 168로부터 선택된 그의 경쇄 불변 영역에 하나 이상의 아미노산의 Cys 치환을 포함하고, 상기 경쇄는 인간 람다 경쇄인 면역접합체를 제공한다. 예를 들어, 본 발명에 따른 변형된 항체 또는 항체 단편은 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 121 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 124 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 152 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 171 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 174 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 258 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 292 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 333 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 334 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360

상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 360 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 375 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 143 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 147 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 159 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 163 상의 Cys 치환; 또는 중쇄의 위치 392 상의 Cys 치환, 및 인간 람다 경쇄의 위치 168 상의 Cys 치환을 포함할 수 있다.

[0251] 본 발명의 한 실시양태에서, 본원에 기재된 아미노산 치환은 티올 기를 포함하는 시스테인이다. 본 발명의 일부 측면에서, 티올 기는 화학적 접합에 활용되고, 링커 유닛 (LU) 및/또는 약물 모이어티에 부착된다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 V-ATPase 억제제, HSP90 억제제, IAP 억제제, mTor 억제제, 미세관 안정화제, 미세관 불안정화제, 아우리스타틴, 돌라스타틴, 메이탄시노이드, MetAP (메티오닌 아미노펩티다제), 단백질 CRM1의 핵 유출의 억제제, DPPIV 억제제, 프로테아솜 억제제, 미토콘드리아 내의 포스포릴 전달 반응의 억제제, 단백질 합성 억제제, 키나제 억제제, CDK2 억제제, CDK9 억제제, 키네신 억제제, HDAC 억제제, DNA 손상 작용제, DNA 알킬화제, DNA 삽입제, DNA 작은 홈 결합제, 및 DHFR 억제제로 이루어진 군으로부터 선택된 약물 모이어티를 포함한다. 일부 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 항암제인 약물 모이어티를 포함한다. 본 발명의 변형된 항체 또는 항체 단편은 관련 기술분야에 공지된 임의의 포맷, 예컨대 모노클로날, 키메라, 인간화, 완전 인간, 이중특이적, 또는 다중특이적 항체 또는 그의 항체 단편일 수 있다.

[0252] 본 발명에 따르면, 변형된 항체 중쇄 및/또는 경쇄 (또는 그의 항체 단편)는 그의 불변 영역에 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8개, 또는 그 초과의 시스테인 치환을 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 변형된 항체 또는 항체 단편은 그의 불변 영역에 2, 4, 6, 8개, 또는 그 초과의 시스테인 치환을 함유한다. 일부 실시양태에서, 변형된 항체, 그의 항체 단편 또는 면역접합체는 2 또는 4개의 Cys 치환을 포함한다.

[0253] 한 실시양태에서, 모 항체 (시스테인 치환이 없는 항체)는 IgG, IgM, IgE, 또는 IgA 항체이다. 구체적 실시양태에서, 모 항체는 IgG1 항체이다. 또 다른 구체적 실시양태에서, 모 항체는 IgG2, IgG3, 또는 IgG4 항체이다.

[0254] 본 발명은 또한 표 1에서 확인된 위치로부터 선택된 그의 중쇄 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 치환을 포함하는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 제공한다. 일부 실시양태에서, 본 발명은 표 2 또는 표 3에서 확인된 위치로부터 선택된 그의 경쇄 불변 영역 상에 하나 이상의 아미노산의 치환을 포함하는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 제공한다.

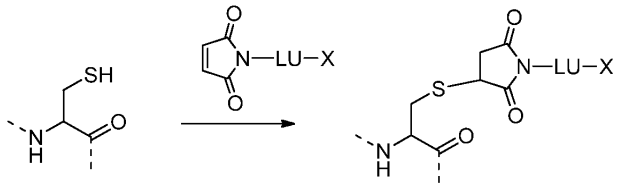
[0255] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 변형된 항체 또는 항체 단편은 리신, 히스티딘, 티로신, 포르밀-글리신, 피롤리신, 피롤린-카르복시-리신, 비천연 아미노산, 및 효소-매개 접합을 위한 단백질 태그 (예를 들어, S6 태그)를 통한 화학선택적 접합을 포함하나 이에 제한되지는 않는 관련 기술분야에 공지된 다른 접합 방법과 조합하여 본 발명의 방법을 이용하여 표지된다.

[0256] **2. 접합 화학**

[0257] 본원에 제공된 접합된 항체 또는 그의 항체 단편은 부위-특이적 표지 방법에 의해 상기 기재된 바와 같은 항체 또는 그의 항체 단편에 혼입된 적어도 하나의 시스테인 잔기의 번역후 변형에 의해 생산된다. 접합된 항체 또는 항체 단편은 단백질에서 자연적으로 발생하는 시스테인 잔기에 대한 관심 페이로드의 접합에 이용되는 관련 기술분야에 공지된 방법, 및 천연 단백질 서열의 또 다른 아미노산에 대해 치환된 추가의 시스테인 잔기를 함유하도록 조작된 단백질에의 접합에 대해 기재된 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0258] 특정 실시양태에서 본원에 제공된 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 하기 반응식 Ia에서와 같이 혼입된 시스테인 (cys)이 말레이미드 유도체에 접합되는 공지된 방법을 이용하여 접합된다. 이러한 유형의 접합을 거친 본 발명의 변형된 항체는 티올-말레이미드 연결을 함유한다.

[0259] [반응식 Ia] 티올-말레이미드 부가물 형성을 통한 접합.



[0260]

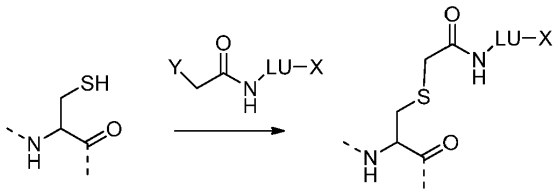
[0261] 여기서,

[0262] LU는 링커 유닛 (LU)이고,

[0263] X는 페이로드 또는 약물 모이어티이다.

[0264] 다른 실시양태에서, 변형된 항체 또는 항체 단편에 혼입된 Cys는 하기 반응식 Ib에 제시된 바와 같이 알파-할로 카르보닐 화합물, 예컨대 클로로-, 브로모- 또는 아이오도-아세트아미드와의 반응에 의해 접합된다. 할로겐 이외의 다른 이탈기, 예컨대 토실레이트, 트리플레이트 및 다른 알킬 또는 아릴 술포네이트가 이탈기 Y로 사용될 수 있는 것으로 이해된다. 반응식 Ib는 Cys 티올의 알파-할로 아세트아미드와의 반응을 도시하고 있으며, 방법은 화학식 Y-CHR-C(=O)- (여기서, R은 H 또는 C_{1-4} 알킬이고, Y는 이탈기 (전형적으로 Cl, Br, 또는 I, 및 임의적으로 알킬술포네이트 또는 아릴술포네이트)임)의 기를 사용하는 혼입된 Cys의 황의 임의의 알킬화를 포함하고; 이는 아미드로 제한되지 않는다.

[0265] [반응식 Ib] 알파-할로 카르보닐 화합물과의 반응을 통한 접합.



[0266]

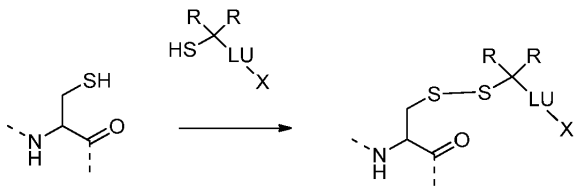
[0267] Y는 이탈기 (Cl, Br, I, OTs, OTf 등)이고,

[0268] LU는 링커 유닛이고,

[0269] X는 페이로드 또는 약물 모이어티이다.

[0270] 대안적으로, 변형된 항체 또는 항체 단편에 혼입된 Cys는 하기 반응식 Ic에 도시된 바와 같이 외부 티올 및 혼입된 시스테인 잔기의 황 원자 사이의 디술피드 결합의 형성을 유도하는 조건 하에 외부 티올과의 반응에 의해 접합될 수 있다. 이러한 예에서, R은 H일 수 있으나; 하나 또는 둘 다의 R 기가 알킬 기, 예를 들어 메틸을 나타내는 화합물이 디술피드의 안정성을 증가시키는 것으로 밝혀졌다.

[0271] [반응식 Ic] 디술피드 형성을 통한 접합.



[0272]

[0273] 각각의 R은 독립적으로 H 또는 C_{1-4} 알킬이고,

[0274] LU는 링커 유닛이고,

[0275] X는 페이로드 또는 약물 모이어티이다.

[0276] 단지 예로서, 이러한 번역후 변형은 상기 반응식 (Ia)-(Ic)에서 설명되며, 여기서 출발 구조는 본원에서 확인된 특정 부위 중 하나에서 항체의 경쇄 또는 중쇄로 혼입된 시스테인을 나타낸다. 각각의 이러한 접합 방법을 수

행하는 방법이 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 항체는 그의 경쇄, 또는 그의 중쇄, 또는 경쇄 및 중쇄 둘 다에서 이러한 방법에 의해 변형될 수 있다. 항체는 전형적으로 2개의 경쇄 및 2개의 중쇄를 함유하므로, 각각의 경쇄 또는 각각의 중쇄가 단일 혼입된 시스테인을 함유하도록 변형된 항체는 일반적으로 2개의 접합 부위를 함유할 것이다.

[0277] 접합시에, 본 발명의 변형된 항체는 전형적으로 1-12개, 빈번하게는 2-8개, 바람직하게는 2, 4 또는 6개의 -LU-X (링커 유닛-페이로드) 모이어티를 함유한다. 일부 실시양태에서, 항체 경쇄 또는 중쇄는 Cys 치환을 위해 본원에서 확인된 특정 부위 중 2개 부위에 2개의 새로운 Cys 잔기가 혼입되도록 (또는 대안적으로 1개의 Cys가 경쇄에 혼입되고 1개는 중쇄에 혼입되도록) 변형되며, 이에 따라 사량체 항체는 궁극적으로 4개의 접합 부위를 함유한다. 유사하게, 항체는 경쇄 또는 중쇄 또는 그의 조합에서 본원에서 확인된 특정 부위에서의 그의 천연 아미노산 중 3 또는 4개의 Cys로의 대체에 의해 변형될 수 있고, 이에 따라 사량체 항체 내에 6 또는 8개의 접합 부위가 생성된다.

[0278] 이들 접합체에서 X는 페이로드를 나타내고, 이는 항체에 부착시키는데 유용한 임의의 화학적 모이어티일 수 있다. 일부 실시양태에서, X는 세포독소, 항암제, 항염증제, 항진균제, 항박테리아제, 항기생충제, 항바이러스 작용제, 면역 강화제, 및 마취제 또는 임의의 다른 치료제, 또는 생물학적 활성 모이어티 또는 약물 모이어티로부터 선택된 약물 모이어티이다. 다른 실시양태에서, X는 표지, 예컨대 생물물리학적 프로브, 형광단, 친화도 프로브, 분광 프로브, 방사성 프로브, 스핀 표지 또는 양자점이다. 다른 실시양태에서, X는 항체의 물리화학적 특성을 변경시키는 화학적 모이어티, 예컨대 지질 분자, 폴리에틸렌 글리콜, 중합체, 폴리사카라이드, 리포솜 또는 킬레이트화제이다. 다른 실시양태에서, X는 기능적 또는 검출가능한 생체분자, 예컨대 핵산, 리보핵산, 단백질, 펩티드 (예를 들어, 효소 또는 수용체), 당 또는 폴리사카라이드, 항체 또는 항체 단편이다. 다른 실시양태에서, X는 앵커링 모이어티, 예컨대 나노입자, PLGA 입자, 또는 표면, 또는 접합체를 또 다른 모이어티에 특이적으로 결합시키기 위한 임의의 결합 모이어티, 예컨대, 히스티딘 태그, 폴리-G, 비오틴, 아비딘, 스트렙타비딘 등이다. 다른 실시양태에서, X는 항체 접합체를 또 다른 화학적 모이어티, 예컨대 약물 모이어티, 표지, 또 다른 항체, 또 다른 화학적 모이어티, 또는 표면에 부착시키는데 사용될 수 있는 반응성 관능기이다.

[0279] 링커 유닛 (LU)은 티올-반응성 기 (예를 들어, 말레이미드, 알파-할로 카르보닐, 비닐 카르보닐 (예를 들어, 아크릴레이트 또는 아크릴아미드), 비닐 술폰, 비닐피리딘 또는 티올)를 페이로드에 공유 부착시키데 적합한 임의의 화학적 모이어티일 수 있다. 다수의 적합한 LU가 관련 기술분야에 공지되어 있다. 예를 들어, LU는 본원에서 L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6으로 지칭되는, 1, 2, 3, 4, 5, 6개 또는 6개 초과의 링커로 이루어질 수 있다. 특정 실시양태에서 LU는 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커, 광-절단가능한 링커 또는 그의 임의의 조합으로부터 선택된 링커를 포함하고, LU는 임의적으로 자기-희생적 스페이서를 함유한다.

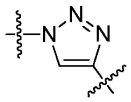
[0280] 일부 실시양태에서, LU는 화학식 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$ 또는 $-L_1-L_2-L_3-L_4-L_5-L_6-$의 기이다. LU에서 사용하기 위한 연결기 L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6은 알킬렌 기 $-(CH_2)_n-$ (여기서, n은 1-20, 전형적으로 1-10 또는 1-6임), 에틸렌 글리콜 유닛 $(-CH_2CH_2O-)_n$ (여기서, n은 1-20, 전형적으로 1-10 또는 1-6임), 아미드 -C(=O)-NH- 또는 -NH-C(=O)-, 에스테르 -C(=O)-O- 또는 -O-C(=O)-, 2개의 이용가능한 부착점을 갖는 고리, 예컨대 2가 페닐, C_{3-8} 시클로알킬 또는 C_{4-8} 헤테로시클릴 기, 아미노산 -NH-CHR*-C=O- 또는 -C(=O)-CHR*-NH- (여기서, R*은 공지된 아미노산 (빈번하게는, 정규 아미노산 중 하나, 그러나 또한 예를 들어 노르발린, 노르류신, 호모세린, 호모시스테인, 페닐글리신, 시트룰린, 및 다른 명명된 알파-아미노산을 포함함)의 측쇄임), 공지된 아미노산의 폴리펩티드 (예를 들어, 디펩티드, 트리펩티드, 테트라펩티드 등), 티올-말레이미드 연결 (-SH를 말레이미드에 첨가하여 생성됨), $-S-CR_2-$ 및 다른 티올 에테르, 예컨대 $-S-CR_2-C(=O)-$ 또는 $-C(=O)-CR_2-S-$ (여기서, R은 반응식 Ic에서 상기 정의된 바와 같음), $-CH_2-C(=O)-$, 및 디술피드 (-S-S-), 뿐만 아니라 이들 중 임의의 것과 하기 기재된 다른 링커, 예를 들어 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커, 광-절단가능한 링커 또는 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커의 조합을 포함한다.

[0281] 일부 실시양태에서 LU가 $-L_1-L_2-L_3-L_4-L_5-L_6-$인 경우에, L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6은 $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 및 $-X^2-$로부터 선택될 수 있으며; 여기서

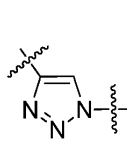
[0282] A_1은 $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_n-$, $-(O(CH_2)_n)_m-$, $-(O(C(R^4)_2)_n)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m-$,

$-(((C(R^4)_2)_nO)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(((C(R^4)_2)_nO)_mC(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)-$, $-NHC(=O)(CH_2)_n-$, $-NHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nS-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_nS-$, $-S(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-S(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_nNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)-$, $-(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_n(O(C(R^4)_2)_n)_mNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nNH((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_nNH((C(R^4)_2)_nO)_m(C(R^4)_2)_n-$, $-(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, 또는 $-(O(C(R^4)_2)_n)_mNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$이고;

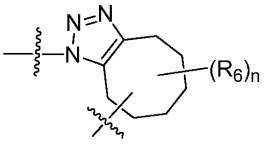
[0283] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8,



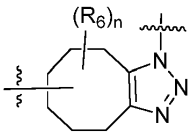
,



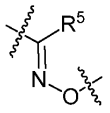
,



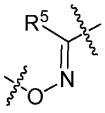
,



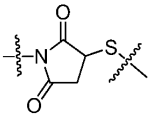
,



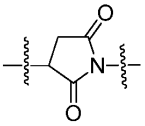
,



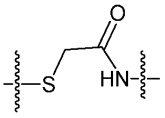
,



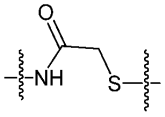
,



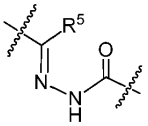
,



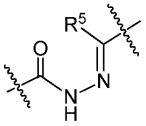
,



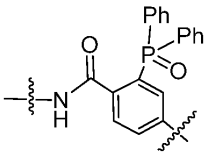
,



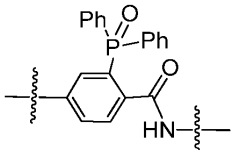
,



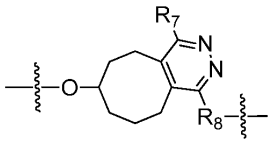
,



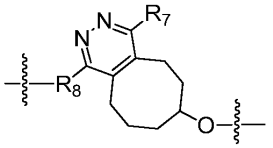
,



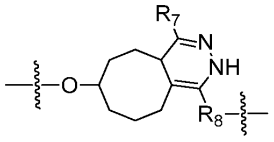
,



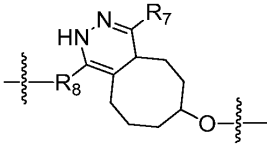
,



,

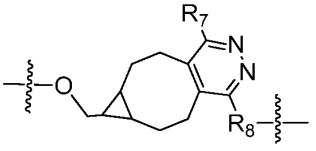
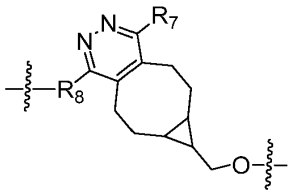


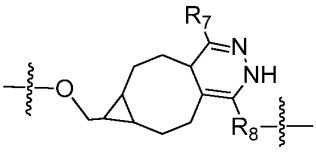
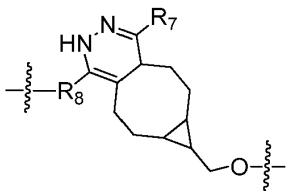
,

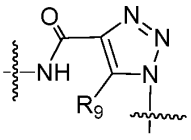
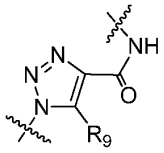
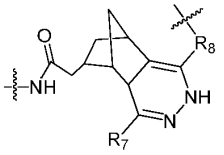


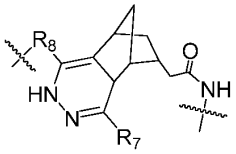
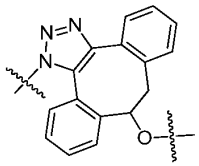
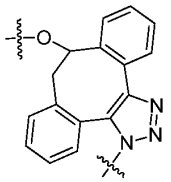
,

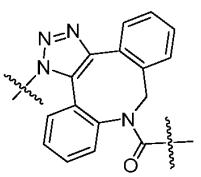
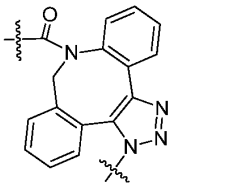
[0284] ,

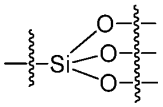


,
,



,




,
,
,




,
,
,



,
, -S-, -Si(OH)$_2$O-,



[0285] ,

[0286] -CHR^4(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -CHR^4(CH$_2$)$_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH- 및 -NHC(=O)-로부터 선택되고;

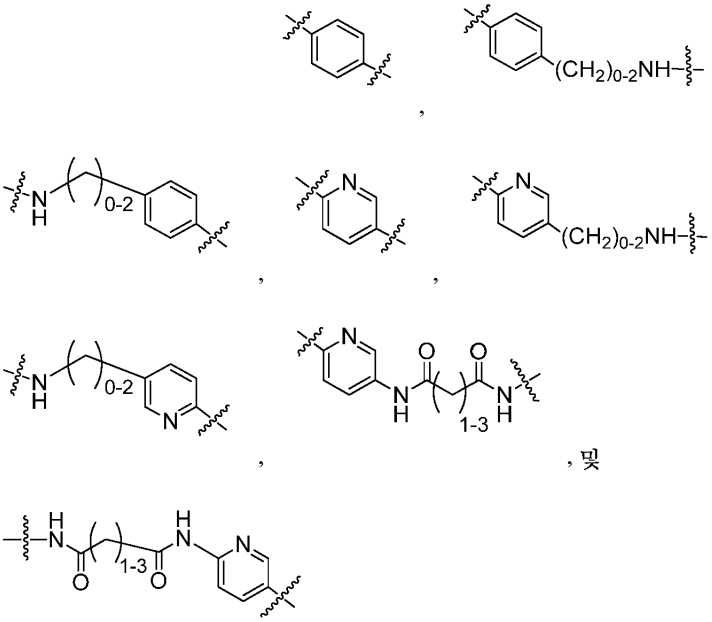
[0287] 각각의 R^{4}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, -C(=O)OH 및 -OH로부터 선택되고,

[0288] 각각의 R^{5}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

[0289] 각각의 R^{6}은 독립적으로 H, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

[0290] R^{7}은 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

[0291] R^{8}은 독립적으로



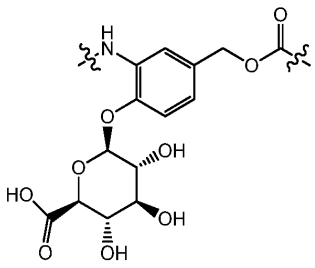
[0292] 로부터 선택되고,

[0293] R^9는 독립적으로 H 및 C_{1-6}할로알킬로부터 선택되고;

[0294] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0295] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택된다.

[0296] 일부 실시양태에서, L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6 중 적어도 하나는 안정한, 또는 비-절단가능한, 링커이다. 일부 실시양태에서, L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6 중 적어도 하나는 절단가능한 링커이며, 이는 화학적으로 절단가능하거나 (히드라존, 디술피드) 또는 효소적으로 절단가능할 수 있다. 일부 실시양태에서, 효소적으로 절단가능한 링커는 펩티다제에 의해 용이하게 절단되는 것이다: 2개의 공지된 아미노산의 디펩티드인 Val-Cit 링커 (발린-시트룰린)가 하나의 이러한 링커이다. 다른 실시양태에서, 효소적으로 절단가능한 링커는 글루쿠로니다제의 활성에 의해 촉발되는 것이다:

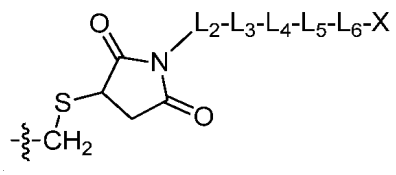


[0297]

[0298] 는 이러한 링커의 예이며, 또한 글루쿠로니다제가 글리코시드 연결을 절단하면 생리학적 조건 하에 자발적으로 떨어지는 자기-희생적 스페이서를 포함한다.

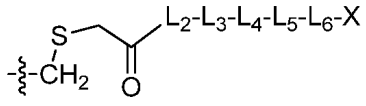
[0299] 일부 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 하기 화학식 IIA 또는 IIB의 변형된 시스테인 잔기를 포함한다:

[0300] <화학식 IIA>



[0301]

[0302] <화학식 IIB>

[0303] 

[0304] 상기 식에서, $-CH_2-S-$는 본원에 기재된 선택된 Cys 치환 부위 중 하나에서 혼입된 Cys의 측쇄를 나타내고, L_2 - L_6 및 X는 각각 연결기 및 페이로드 (본원에 추가로 기재됨)를 나타낸다. IIA의 일부 실시양태에서, L_2는 결합이다. IIB의 일부 실시양태에서, L_2는 NH 또는 O이다. IIA 및 IIB 둘 다의 일부 실시양태에서, L_3은 $(CH_2)_{1-10}$ 및 $(CH_2CH_2O)_{1-6}$으로부터 선택된다. L_4, L_5 및 L_6은 본원에 기재된 것으로부터 선택된 추가의 임의적인 링커이다. 특정 실시양태에서, L_6은 카르보닐 (C=O) 또는 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커일 수 있다.

[0305] 특정 실시양태에서 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

[0306] L_1은 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고;

[0307] L_2는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고;

[0308] L_3은 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고,

[0309] L_4는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커, 광-절단가능한 링커 또는 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커이다.

[0310] 특정 실시양태에서 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

[0311] L_1은 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고;

[0312] L_2는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고;

[0313] L_3은 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고,

[0314] L_4는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커, 광-절단가능한 링커 또는 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커이다.

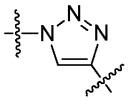
[0315] LU의 실시양태의 일부에서 L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6 중 적어도 하나는 절단가능한 링커이고, LU는 절단가능한 것으로 간주된다. 유사하게, LU의 실시양태의 일부에서 L_1, L_2, L_3, L_4, L_5 및 L_6 중 적어도 하나는 비-절단가능한 링커이다. 이러한 특정 실시양태에서, LU의 각각의 링커는 비-절단가능하고, LU는 비-절단가능한 것으로 간주된다.

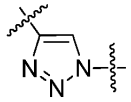
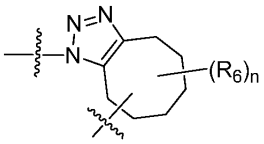
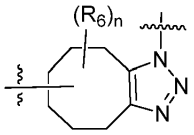
[0316] LU가 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$인 상기 실시양태의 일부에서, L_1, L_2, L_3 및 L_4 중 적어도 하나는 $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 및 $-X^2-$로부터 선택된 링커이며; 여기서

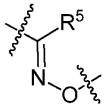
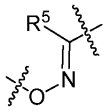
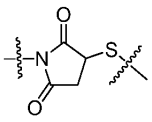
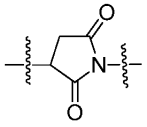
[0317] A_1은 $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_n-$, $-(O(CH_2)_n)_m-$, $-(O(C(R^4)_2)_n)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m-$, $-((C(R^4)_2)_nO)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(((C(R^4)_2)_nO)_mC(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)-$, $-NHC(=O)(CH_2)_n-$, $-NHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nS-$,

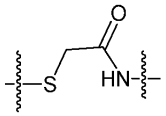
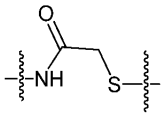
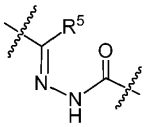
-C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$S-, -S(CH_2)$_n$C(=O)NH-, -S(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)NH-, -C(=O)NH(CH_2)$_n$NHC(=O)(CH_2)$_n$-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -C(=O)(CH_2)$_n$-, -C(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH_2)$_n$C(=O)-, -(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)-, -(CH_2)$_n$(O(CH_2)$_n$)$_m$NHC(=O)(CH_2)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH_2)$_n$NHC(=O)(CH_2)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH_2)$_n$NH((CH_2)$_n$O)$_m$(CH_2)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NH((C(R^4)$_2$)$_n$O)$_m$(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(O(CH_2)$_n$)$_m$NHC(=O)(CH_2)$_n$-, 또는 -(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-이고;

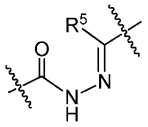
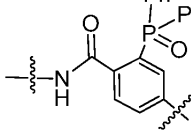
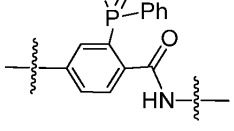
[0318] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8,

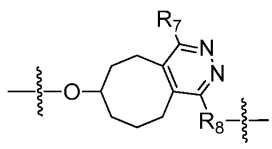
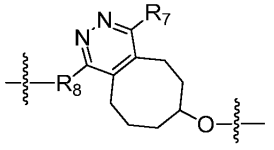

,

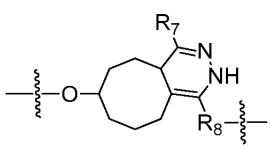
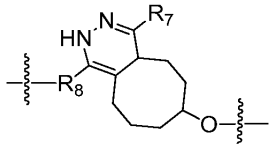

,

,

,


,

,

,

,

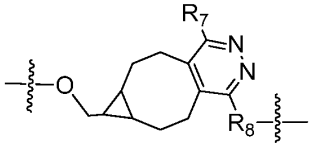
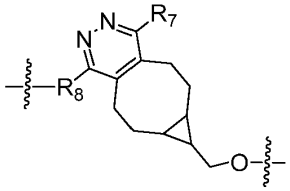

,

,

,

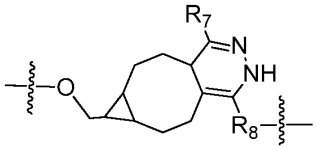
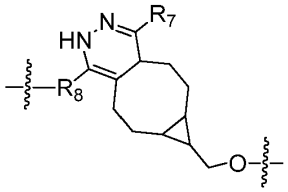

,

,

,

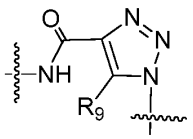
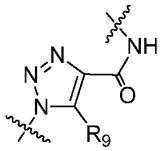
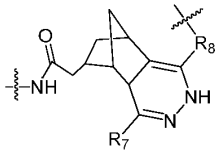

,

,

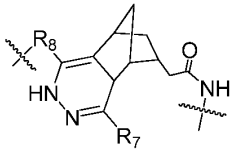
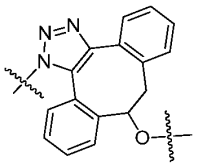
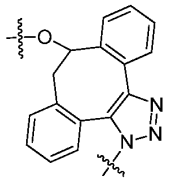

,

,

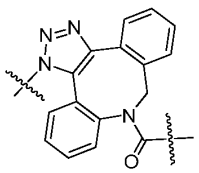
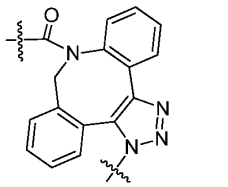
[0319] ,

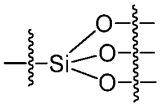


,
,



,




,
,
,




,
,
,



,
, -S-, -Si(OH)$_2$O-,



[0320] ,

[0321] -CHR^4(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -CHR^4(CH$_2$)$_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH- 및 -NHC(=O)-로부터 선택되고;

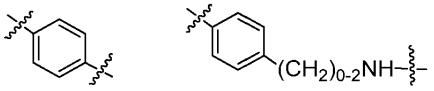
[0322] 각각의 R^{4}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, -C(=O)OH 및 -OH로부터 선택되고,

[0323] 각각의 R^{5}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

[0324] 각각의 R^{6}은 독립적으로 H, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

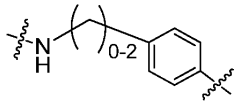
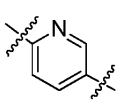
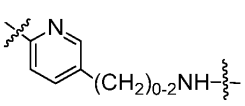
[0325] R^{7}은 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

[0326] R^{8}은 독립적으로



,

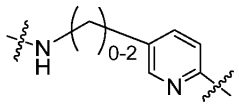
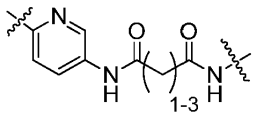
,

,

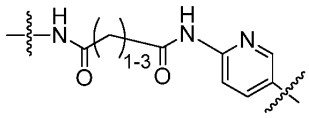
,

,

,

, 및



[0327] 로부터 선택되고;

[0328] R^9는 독립적으로 H 및 C_{1-6}할로알킬로부터 선택되고;

[0329] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0330] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택된다.

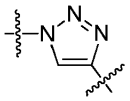
[0331] 이러한 실시양태에서, LU의 다른 링커는 독립적으로 결합, $-A^1-$, $-A_1X^2-$, $-X^2-$, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커, 광-절단가능한 링커 및 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커로부터 선택된다.

[0332] 특정 실시양태에서 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

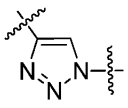
[0333] L_1은 결합, $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 또는 $-X^2-$이고; 여기서

[0334] A_1은 $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_n-$, $-O(CH_2)_n)_m-$, $-(O(C(R^4)_2)_n)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m-$, $-((C(R^4)_2)_nO)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(((C(R^4)_2)_nO)_mC(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)-$, $-NHC(=O)(CH_2)_n-$, $-NHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nS-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_nS-$, $-S(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-S(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_nNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)-$, $-(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_n(O(C(R^4)_2)_n)_mNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nNH((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_nNH((C(R^4)_2)_nO)_m(C(R^4)_2)_n-$, $-(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, 또는 $-(O(C(R^4)_2)_n)_mNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$이고;

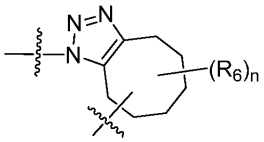
[0335] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8,



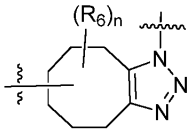
,



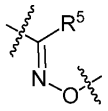
,



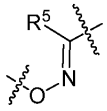
,



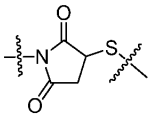
,



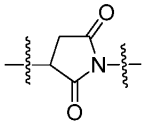
,



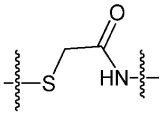
,



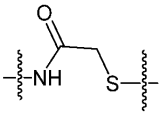
,



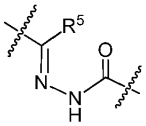
,



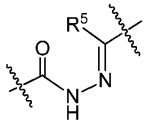
,



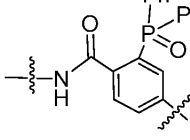
,



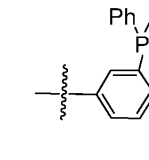
,



,



,



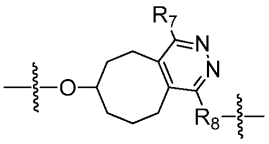
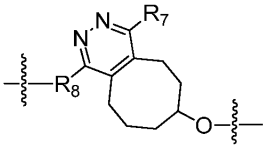
,

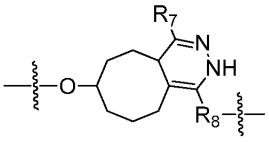
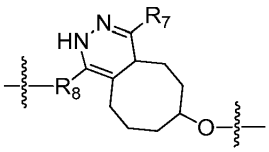
,

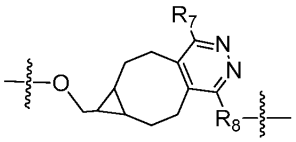
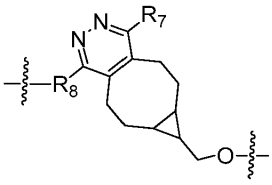
,

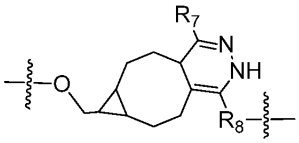
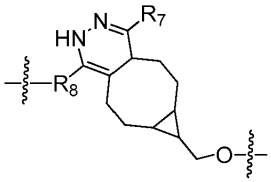
,

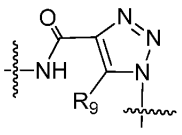
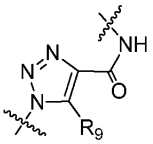
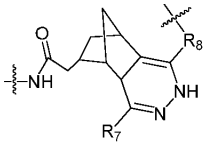
[0336]

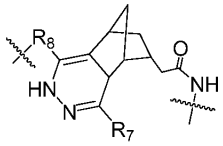
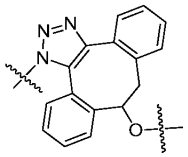
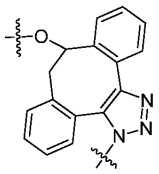


,
,



,

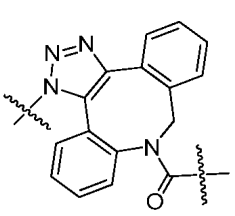
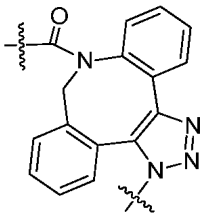


,
,

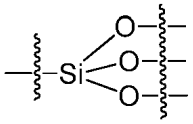


,




,
,
,




,
,
,

[0337]



, , -S-, -Si(OH)$_2$O-,



[0338] ,

[0339] $-CHR^4(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-CHR^4(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-C(=O)NH-$ 및 $-NHC(=O)-$로부터 선택되고;

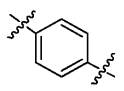
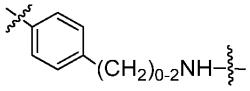
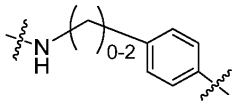
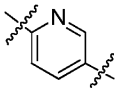
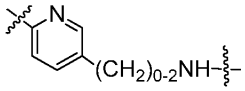
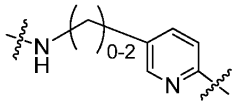
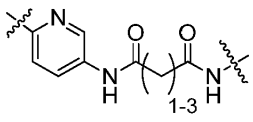
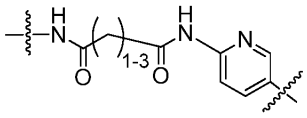
[0340] 각각의 R^4는 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, $-C(=O)OH$ 및 $-OH$로부터 선택되고,

[0341] 각각의 R^5는 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 $-OH$ 기로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고;

[0342] 각각의 R^6은 독립적으로 H, 플루오로, $-C(=O)OH$로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$로 치환된 C_{1-4}알콕시 및 $-C(=O)OH$로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고;

[0343] R^7은 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

[0344] R^8은 독립적으로


,

,

,

,

,

,

, 및


[0345] 로부터 선택되고;

[0346] R^9는 독립적으로 H 및 C_{1-6}할로알킬로부터 선택되고;

[0347] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0348] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고;

[0349] L_2는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고;

[0350] L_3은 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고,

[0351] L_4는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커, 광-절단가능한 링커 또는 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커이다.

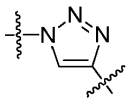
[0352] 특정 실시양태에서, L_1은 $C(=O)-CH_2CH_2-NH-C(=O)-CH_2CH_2-S-$이고, 이에 따라 LU는 $-C(=O)-CH_2CH_2-NH-C(=O)-CH_2CH_2-S-L_2-L_3-L_4-$이다.

[0353] 특정 실시양태에서 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

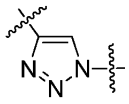
[0354] L_1은 결합, $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 또는 $-X^2-$이고; 여기서

[0355] A_1은 $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_n-$, $-(O(CH_2)_n)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-NHC(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nS-$, $-S(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)-$, $-(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_nNH((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, 또는 $-(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$이고;

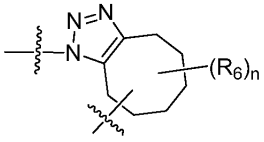
[0356] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8,



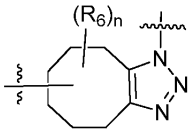
,



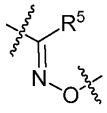
,



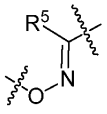
,



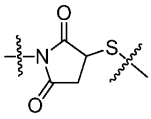
,



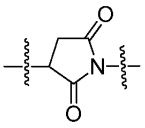
,



,

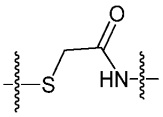
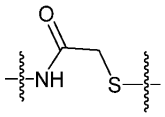
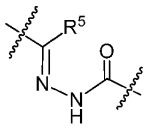


,

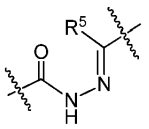
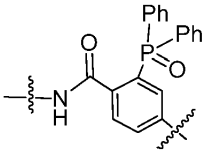
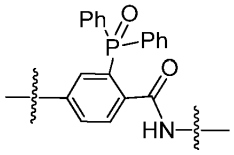


,

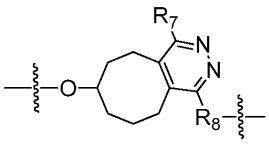
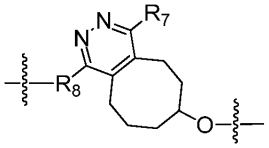
[0357]

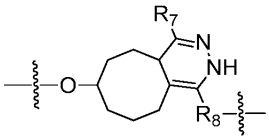
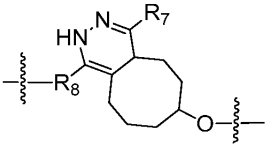
,

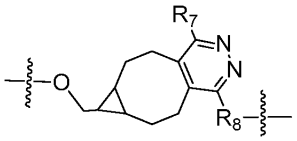
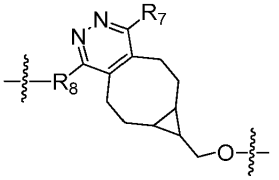
,

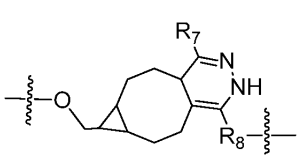
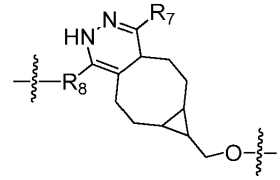
,

,

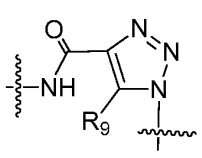
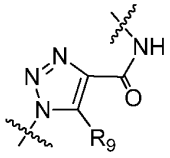
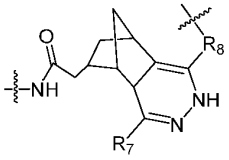
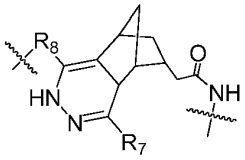
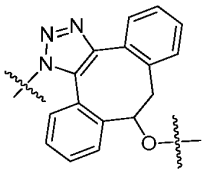
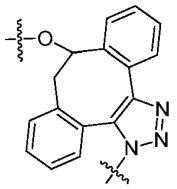
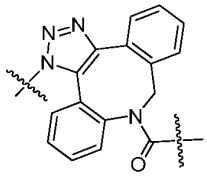
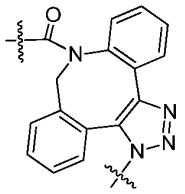
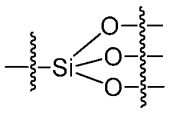
,

,

,

[0358]


,

,

,

,

,

,

,

, -S-, -Si(OH)$_2$O-,


[0359] ,

[0360] -CHR^4(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -CHR^4(CH$_2$)$_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH- 및 -NHC(=O)-로부터 선택되고;

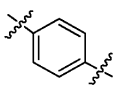
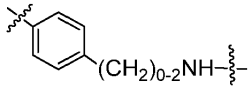
[0361] 각각의 R^{4}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, -C(=O)OH 및 -OH로부터 선택되고,

[0362] 각각의 R^{5}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

[0363] 각각의 R^{6}은 독립적으로 H, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

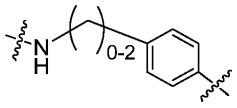
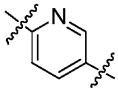
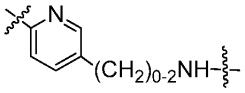
[0364] R^{7}은 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

[0365] R^{8}은 독립적으로

,

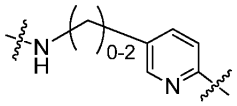
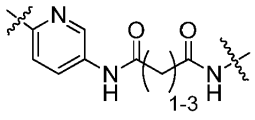
,

,

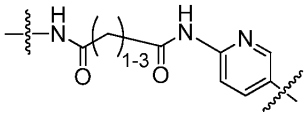
,

,

,

, 및



[0366] 로부터 선택되고;

[0367] R^9는 독립적으로 H 및 C_{1-6}할로알킬로부터 선택되고;

[0368] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0369] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고;

[0370] L_2는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고;

[0371] L_3은 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고;

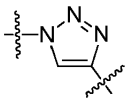
[0372] L_4는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커, 광-절단가능한 링커 또는 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커이다.

[0373] 특정 실시양태에서 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

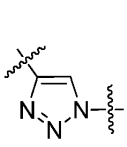
[0374] L_1은 결합, $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 또는 $-X^2-$이고; 여기서

[0375] A_1은 $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nS-$, $-(O(CH_2)_n)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-NHC(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_nNH((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$ 또는 $-(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$이고;

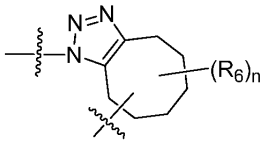
[0376] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8,



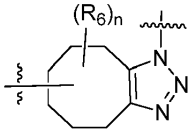
,



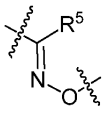
,



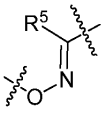
,



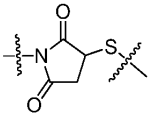
,



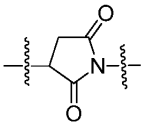
,



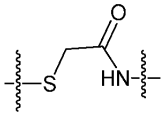
,



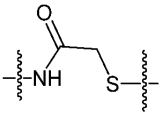
,



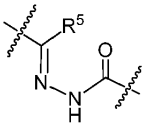
,



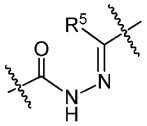
,



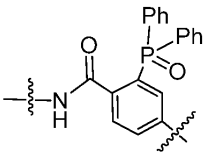
,



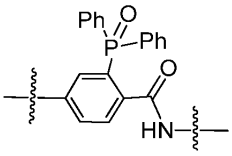
,



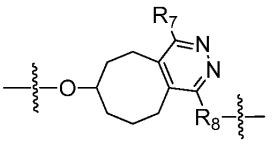
,



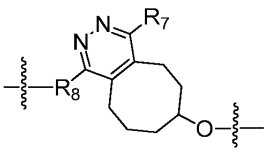
,



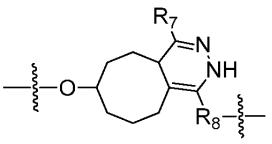
,



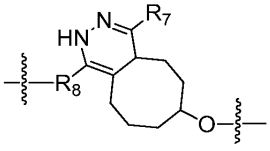
,



,



,

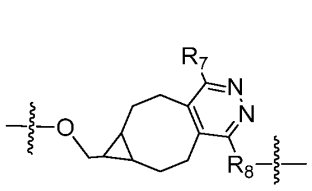
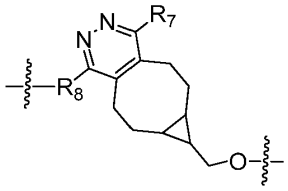


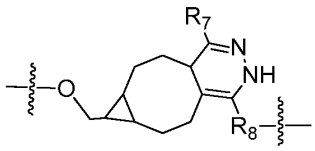
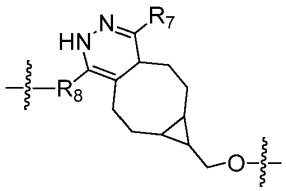
,

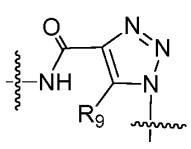
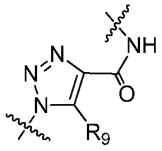
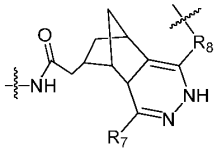
,

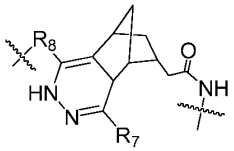
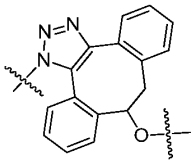
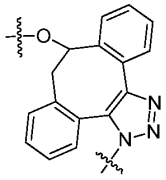
,

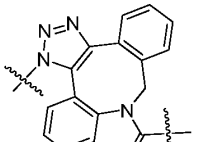
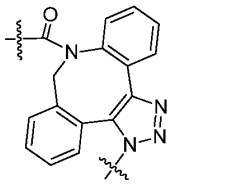
[0377]

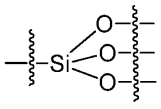


,
,



,




,
,
,




,
,
,



,
, -S-, -Si(OH)$_2$O-,



[0378] ,

[0379] -CHR^4(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -CHR^4(CH$_2$)$_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH- 및 -NHC(=O)-로부터 선택되고;

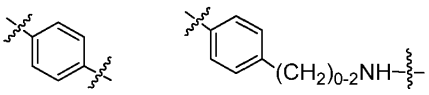
[0380] 각각의 R^{4}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, -C(=O)OH 및 -OH로부터 선택되고,

[0381] 각각의 R^{5}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

[0382] 각각의 R^{6}은 독립적으로 H, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

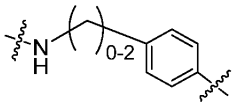
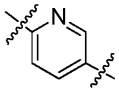
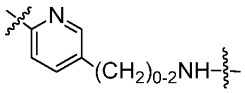
[0383] R^{7}은 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

[0384] R^{8}은 독립적으로



,

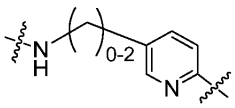
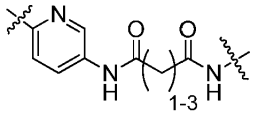
,

,

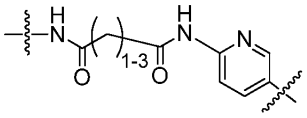
,

,

,

, 및



[0385] 로부터 선택되고;

[0386] R^9는 독립적으로 H 및 C_{1-6}할로알킬로부터 선택되고;

[0387] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0388] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고;

[0389] L_2는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고;

[0390] L_3은 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커 또는 광-절단가능한 링커이고,

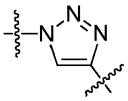
[0391] L_4는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커, 비-절단가능한 링커, 효소적으로 절단가능한 링커, 광-안정성 링커, 광-절단가능한 링커 또는 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커이다.

[0392] 특정 실시양태에서 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

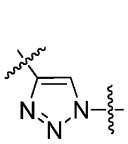
[0393] L_1은 결합, $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 또는 $-X^2-$이고; 여기서

[0394] A_1은 $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nS-$, $-(O(CH_2)_n)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-NHC(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(CH_2)_nNH((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$ 또는 $-(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$이고;

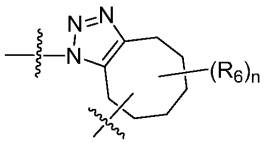
[0395] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8,



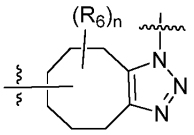
,



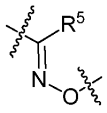
,



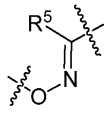
,



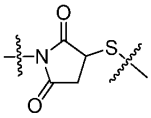
,



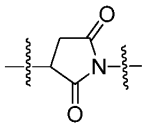
,



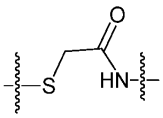
,



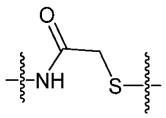
,



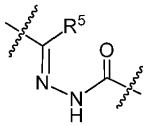
,



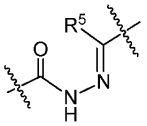
,



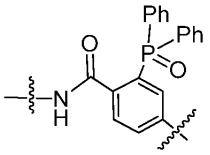
,



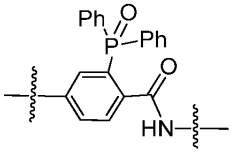
,



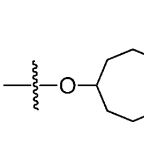
,



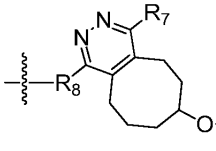
,



,



,

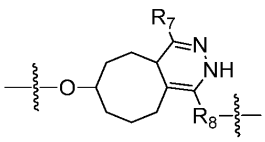
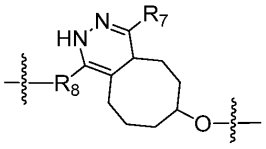


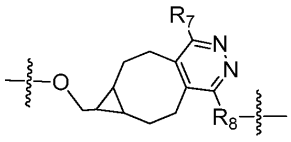
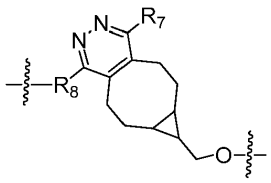
,

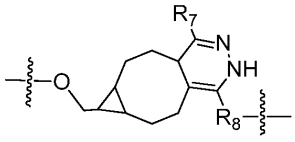
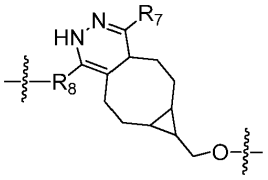
,

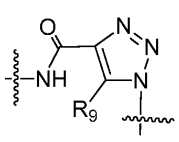
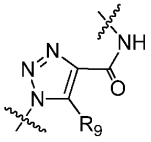
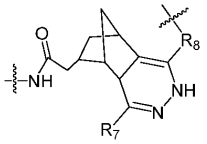
,

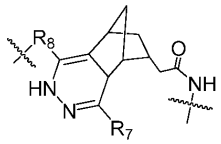
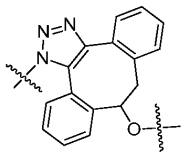
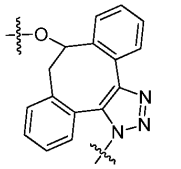
[0396]

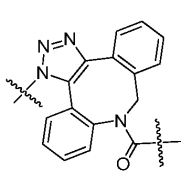
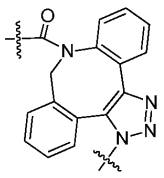


,



,
,

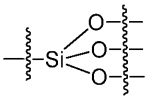


,




,
,
,




,
,
,



,
, -S-, -$Si(OH)_2O$-,

[0397]



[0398] , $-CHR^4(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-CHR^4(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-C(=O)NH-$ 및 $-NHC(=O)-$로부터 선택되고;

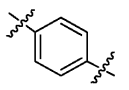
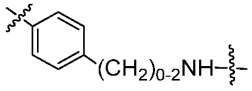
[0399] 각각의 R^4는 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, $-C(=O)OH$ 및 $-OH$로부터 선택되고,

[0400] 각각의 R^5는 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 $-OH$ 기로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고;

[0401] 각각의 R^6은 독립적으로 H, 플루오로, $-C(=O)OH$로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$로 치환된 C_{1-4}알콕시 및 $-C(=O)OH$로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고;

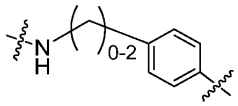
[0402] R^7은 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

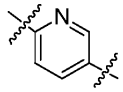
[0403] R^8은 독립적으로

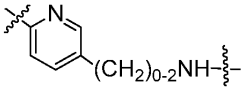



,

,



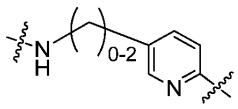


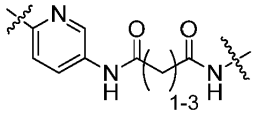


,

,

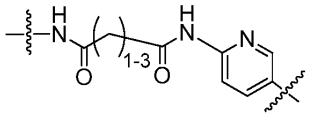
,





,

, 및



[0404] 로부터 선택되고;

[0405] R^9는 독립적으로 H 및 C_{1-6}할로알킬로부터 선택되고;

[0406] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0407] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고;

[0408] L_2는 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커 또는 비-절단가능한 링커이고;

[0409] L_3은 결합, 비-효소적으로 절단가능한 링커 또는 비-절단가능한 링커이고;

[0410] L_4는 결합, 효소적으로 절단가능한 링커 또는 자기-희생적 스페이서를 포함하는 링커이다.

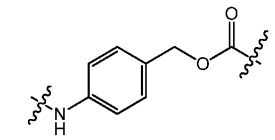
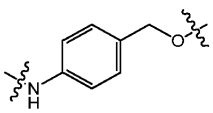
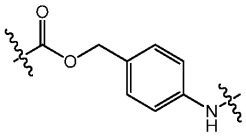
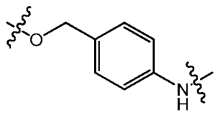
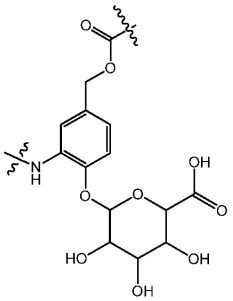
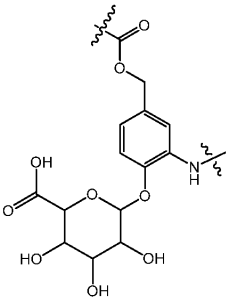
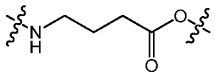
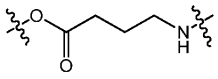
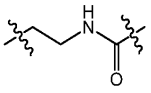
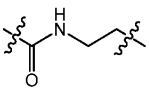
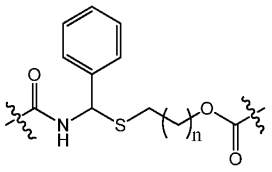
[0411] 특정 실시양태에서 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

[0412] L_1은 결합, $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 또는 $-X^2-$이고;

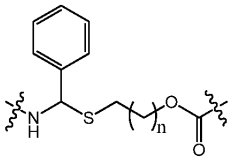
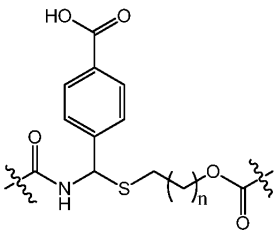
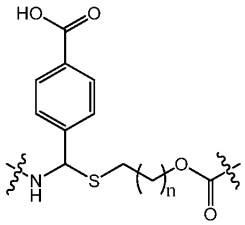
[0413] L_2는 결합, $-A_2-$, 또는 $-A_2X^2-$이고;

[0414] L_3은 결합, $-A_3-$, 또는 $-A_3X^2-$이고;

[0415] L_4는 결합, $-A_4-$, $-A_4X^2-$,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

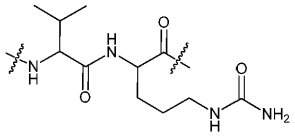
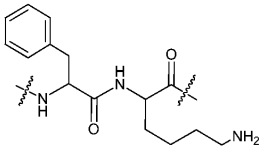
[0416]

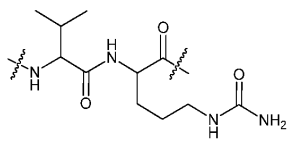
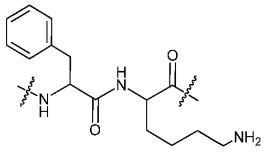

,

, 또는


[0417] 이고;

[0418] A_1은 -C(=O)NH-, -NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -C(=O)NH$(C(R^4)_2)_n$-, -O$(CH_2)_n)_m$-, -(O$(C(R^4)_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m$-, -$((C(R^4)_2)_nO)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -$(((C(R^4)_2)_nO)_mC(R^4)_2)_n$ -, -$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -$(C(R^4)_2)_n$C(=O)NH-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -$(C(R^4)_2)_n$NHC(=O)-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -NHC(=O)$(C(R^4)_2)_n$-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-,

-C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$S-, -S(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -S(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)NH-, -C(=O)NH(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -C(=O)(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$C(=O)-, -(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)-, -(CH$_2$)$_n$(O(CH$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$NH((CH$_2$)$_n$O)$_m$(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NH((C(R^4)$_2$)$_n$O)$_m$(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(O(CH$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, 또는 -(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-이고;

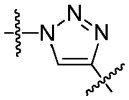
[0419] A_2는 -C(=O)NH-, -C(=O)NH(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(O(CH$_2$)$_n$)$_m$-, -(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$-, -((CH$_2$)$_n$O)$_m$-, -((C(R^4)$_2$)$_n$O)$_m$-, -((CH$_2$)$_n$O)$_m$(CH$_2$)$_n$-, -((C(R^4)$_2$)$_n$O)$_m$C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)NR^4-, -(CH$_2$)$_n$NHC(=O)-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)-, -NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(CH$_2$)$_n$S-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$S-, -S(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -S(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)NH-, -(CH$_2$)$_n$S-, -(C(R^4)$_2$)$_n$S-, -S(CH$_2$)$_n$-, -S(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$NH-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NH-, -C(=O)NH(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -C(=O)(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$C(=O)-, -(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)-, -(CH$_2$)$_n$(O(CH$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$(O(CH$_2$)$_n$)$_m$OC(=O)NH(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$OC(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$NH((CH$_2$)$_n$O)$_m$(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NH((C(R^4)$_2$)$_n$O)$_m$(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(O(CH$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-,  또는  이고;

[0420] A_3은 -C(=O)NH-, -C(=O)NH(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(O(CH$_2$)$_n$)$_m$-, -(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$-, -((CH$_2$)$_n$O)$_m$-, -((C(R^4)$_2$)$_n$O)$_m$-, -((CH$_2$)$_n$O)$_m$(CH$_2$)$_n$-, -(((C(R^4)$_2$)$_n$O)$_m$C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)NH-, -(CH$_2$)$_n$NHC(=O)-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)-, -NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(CH$_2$)$_n$S-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$S-, -S(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -S(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)NH-, -(CH$_2$)$_n$S-, -(C(R^4)$_2$)$_n$S-, -S(CH$_2$)$_n$-, -S(C(R^4)$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -C(=O)(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$C(=O)-, -(C(R^4)$_2$)$_n$C(=O)-, -(CH$_2$)$_n$(O(CH$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$(O(CH$_2$)$_n$)$_m$OC(=O)NH(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$OC(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(CH$_2$)$_n$(O(CH$_2$)$_n$)$_m$OC(=O)-, -(C(R^4)$_2$)$_n$(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$OC(=O)-, -(CH$_2$)$_n$(O(CH$_2$)$_n$)$_m$C(=O)-, -(C(R^4)$_2$)$_n$(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$C(=O)-, -(CH$_2$)$_n$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -(C(R^4)$_2$)$_n$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(O(CH$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(CH$_2$)$_n$-, -(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$NHC(=O)(C(R^4)$_2$)$_n$-,  또는  이고;

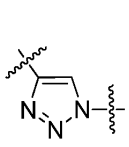
[0421] A_4는 -C(=O)NH-, -C(=O)NH(CH$_2$)$_n$-, -C(=O)NH(C(R^4)$_2$)$_n$-, -(O(CH$_2$)$_n$)$_m$-, -(O(C(R^4)$_2$)$_n$)$_m$-, -((CH$_2$)$_n$O)$_m$-,

$-(((C(R^4)_2)_nO)_m-$, $-((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(((C(R^4)_2)_nO)_mC(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)-$, $-NHC(=O)(CH_2)_n-$, $-NHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nS-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_nS-$, $-S(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-S(C(R^4)_2)_nC(=O)NH-$, $-C(=O)NH(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)NH(C(R^4)_2)_nNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-C(=O)(CH_2)_n-$, $-C(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nC(=O)-$, $-(C(R^4)_2)_nC(=O)-$, $-(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_n(O(C(R^4)_2)_n)_mNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nNHC(=O)(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_nNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$, $-(CH_2)_nNH((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$, $-(C(R^4)_2)_nNH((C(R^4)_2)_nO)_m(C(R^4)_2)_n-$, $-(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$, 또는 $-(O(C(R^4)_2)_n)_mNHC(=O)(C(R^4)_2)_n-$이고;

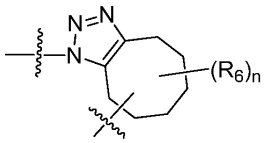
[0422] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8,



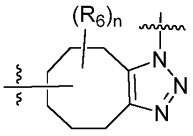
,



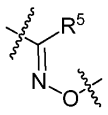
,



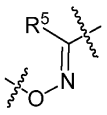
,



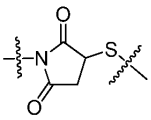
,



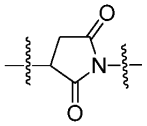
,



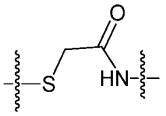
,



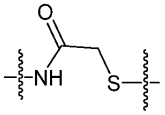
,



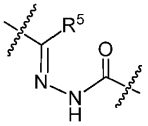
,



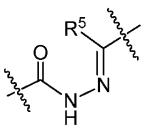
,



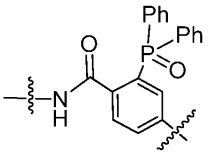
,



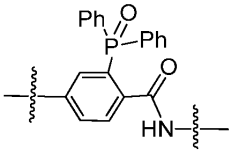
,



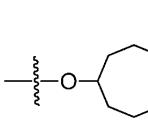
,



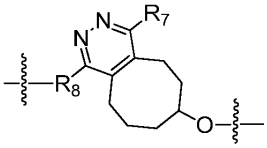
,



,



,

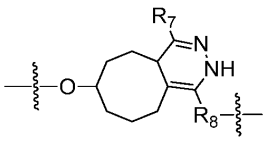
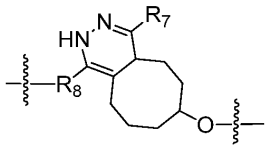


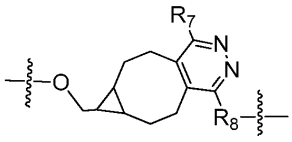
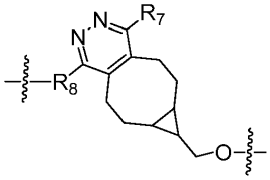
,

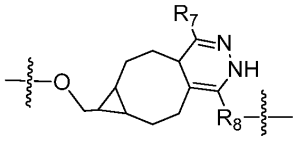
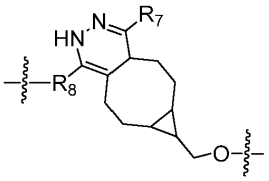
,

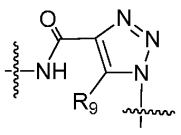
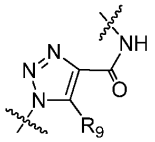
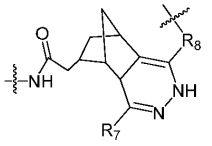
,

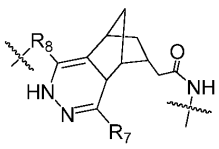
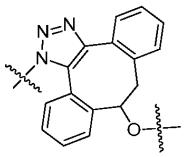
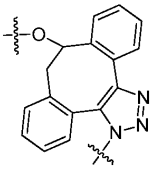
[0423]

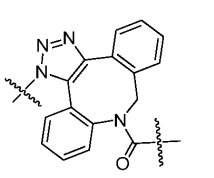
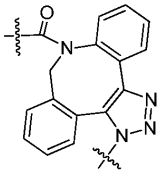


,



, ,

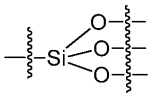


,




, , ,




, , ,



, , -S-, -$Si(OH)_2O$-,

[0424]


, $-CHR^4(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-CHR^4(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-C(=O)NH-$ 및 $-NHC(=O)-$로부터 선택되고;

[0425]

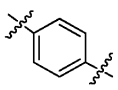
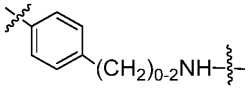
[0426] 각각의 R^4는 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, $-C(=O)OH$ 및 $-OH$로부터 선택되고,

[0427] 각각의 R^5는 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 $-OH$ 기로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고;

[0428] 각각의 R^6은 독립적으로 H, 플루오로, $-C(=O)OH$로 치환된 벤질옥시, $-C(=O)OH$로 치환된 벤질, $-C(=O)OH$로 치환된 C_{1-4}알콕시 및 $-C(=O)OH$로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고;

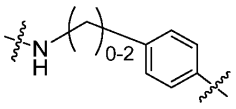
[0429] R^7은 독립적으로 H, C_{1-4}alkyl, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

[0430] R^8은 독립적으로

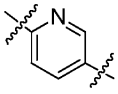



,

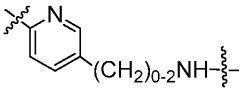
,



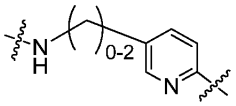
,



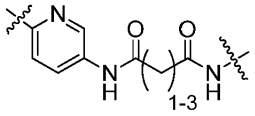
,



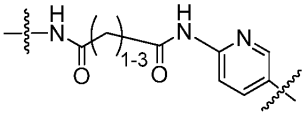
,



,



, 및



[0431] 로부터 선택되고;

[0432] R^9는 독립적으로 H 및 C_{1-6}할로알킬로부터 선택되고;

[0433] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0434] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택된다.

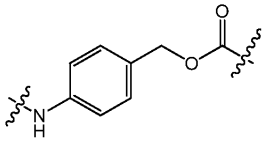
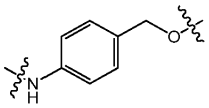
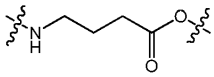
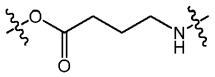
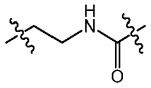
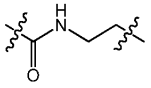
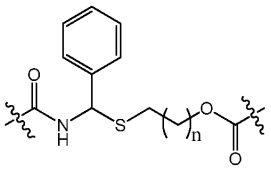
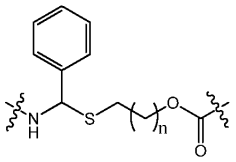
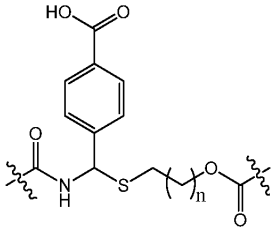
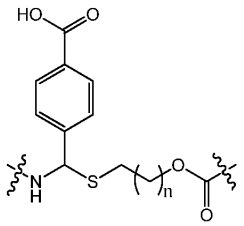
[0435] 특정 실시양태에서 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

[0436] L_1은 결합, $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 또는 $-X^2-$이고;

[0437] L_2는 결합, $-A_2-$, 또는 $-A_2X^2-$이고;

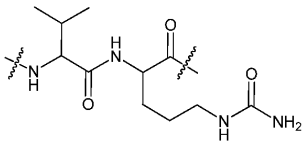
[0438] L_3은 결합, $-A_3-$, 또는 $-A_3X^2-$이고;

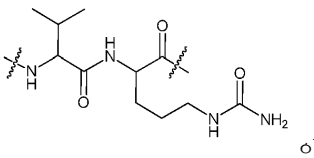
[0439] L_4는 결합, $-A_4-$, $-A_4X^2-$,


,

,

,

,

,

,

,

,



[0440] ,또는 이고;

[0441] A_1은 -C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -O$(CH_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-, -S$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -C(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$C(=O)-, -$(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NH$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$- 또는 -O$(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-이고;

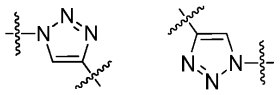
[0442] A_2는 -C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -O$(CH_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-, -S$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -C(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$C(=O)-, -$(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NH$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -O$(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$- 또는  이고;

[0443] A_3은 -C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -O$(CH_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-, -S$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -C(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$C(=O)-, -$(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NH$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -O$(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$- 또는  이고;

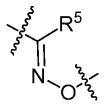
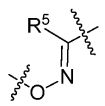
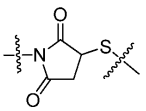
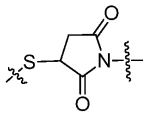
[0444] A_4는 -C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -O$(CH_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-, -S$(CH_2)_n$C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -C(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$C(=O)-, -$(CH_2)_n(O(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-,

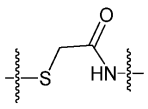
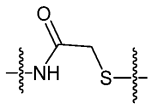
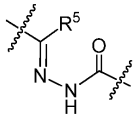
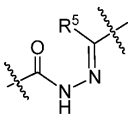
$-(CH_2)_nNH((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n-$ 또는 $-(O(CH_2)_n)_mNHC(=O)(CH_2)_n-$이고;

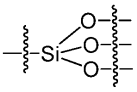
[0445] 각각의 X^2는 독립적으로 결합,


,

,


,

,

,

,


,

,

,

,



-S-, $-Si(OH)_2O-$,

[0446] ,

[0447] $-CHR^4(CH_2)_nC(=O)NH-$, $-CHR^4(CH_2)_nNHC(=O)-$, $-C(=O)NH-$ 및 $-NHC(=O)-$로부터 선택되고;

[0448] 각각의 R^4는 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, $-C(=O)OH$ 및 $-OH$로부터 선택되고,

[0449] 각각의 R^5는 독립적으로 H, C_{1-4}알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 $-OH$ 기로 치환된 C_{1-4}알킬로부터 선택되고;

[0450] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0451] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택된다.

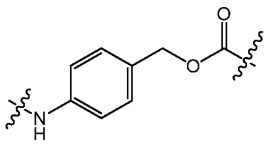
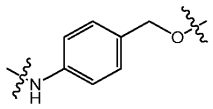
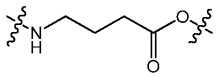
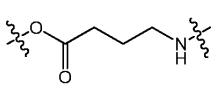
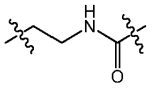
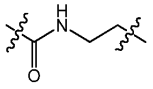
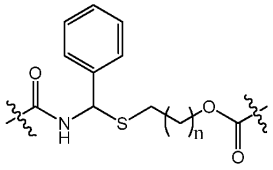
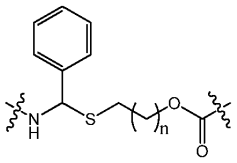
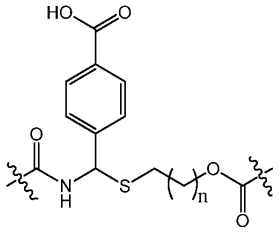
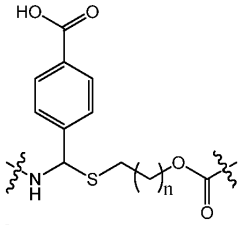
[0452] 특정 실시양태에서, 링커 유닛 (LU)은 $-L_1-L_2-L_3-L_4-$이고, 여기서

[0453] L_1은 결합, $-A_1-$, $-A_1X^2-$ 또는 $-X^2-$이고;

[0454] L_2는 결합, $-A_2-$, 또는 $-A_2X^2-$이고;

[0455] L_3은 결합, $-A_3-$, 또는 $-A_3X^2-$이고;

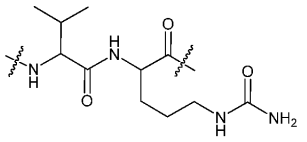
[0456] L_4는 결합, $-A_4-$, $-A_4X^2-$,


,

,

,

,

,

,

,

,


, 또는

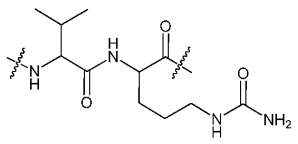
[0457] 이고;

[0458] A_1은 -C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-, -$(O(CH_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NH$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$- 또는 -$(O(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-이고;

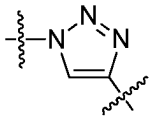
[0459] A_2는 -C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-, -$(O(CH_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NH$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -$(O(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$- 또는


이고;

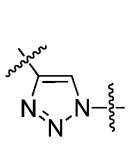
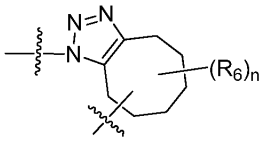
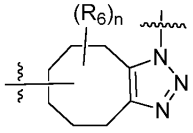
[0460] A_3은 -C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-, -$(O(CH_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NH$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -$(O(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$- 또는

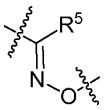
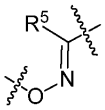
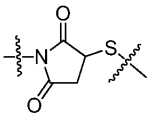
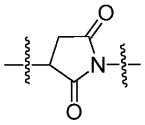

이고;

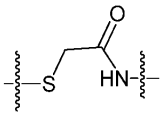
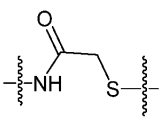
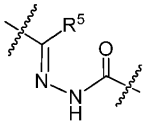
[0461] A_4는 -C(=O)NH-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$S-, -$(O(CH_2)_n)_m$-, -$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$-, -NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH$(CH_2)_n$NHC(=O)$(CH_2)_n$-, -$(CH_2)_n$NH$((CH_2)_nO)_m(CH_2)_n$- 또는 -$(O(CH_2)_n)_m$NHC(=O)$(CH_2)_n$-이고;



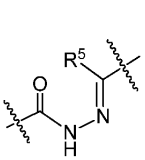
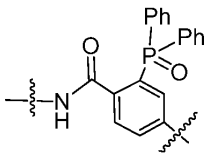
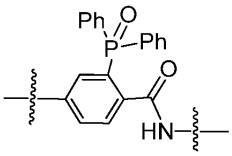
[0462] 각각의 X^2는 독립적으로 결합, R^8, ,


,

,

,


,

,

,

,


,

,

,

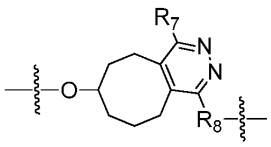
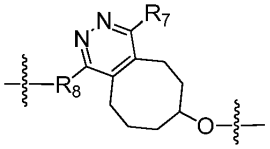
[0463]

,

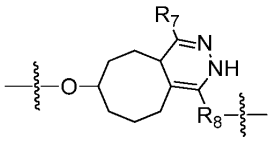
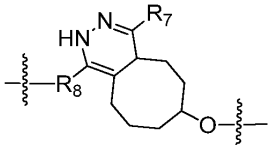
,

,

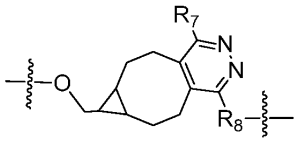
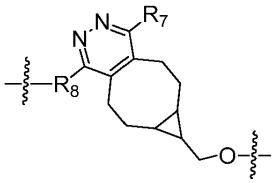



,

,

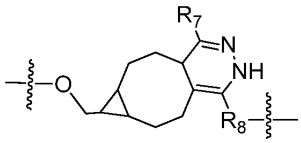
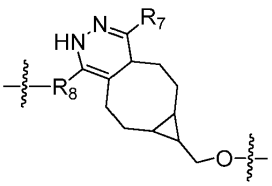



,

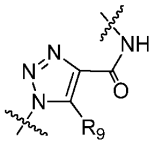
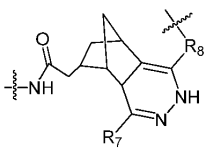



,

,

,

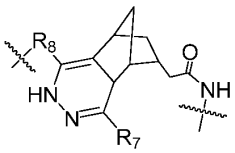
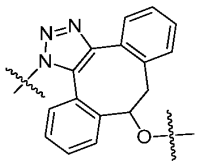
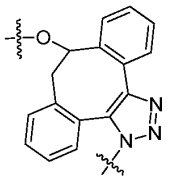



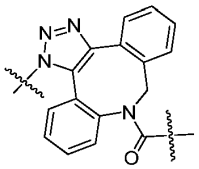
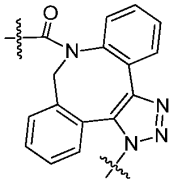
,

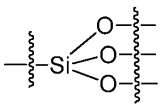
,

,

[0464]




,
,
,



,
, -S-, -Si(OH)$_2$O-,



[0465] ,

[0466] -CHR^4(CH$_2$)$_n$C(=O)NH-, -CHR^4(CH$_2$)$_n$NHC(=O)-, -C(=O)NH- 및 -NHC(=O)-로부터 선택되고;

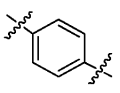
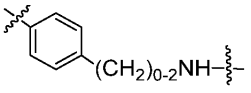
[0467] 각각의 R^{4}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 기지의 아미노산의 측쇄, -C(=O)OH 및 -OH로부터 선택되고,

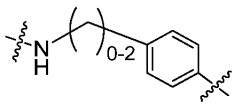
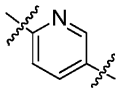
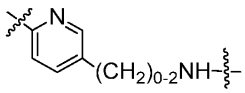
[0468] 각각의 R^{5}는 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐 또는 1 내지 3개의 -OH 기로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

[0469] 각각의 R^{6}은 독립적으로 H, 플루오로, -C(=O)OH로 치환된 벤질옥시, -C(=O)OH로 치환된 벤질, -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알콕시 및 -C(=O)OH로 치환된 C$_{1-4}$알킬로부터 선택되고;

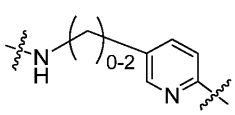
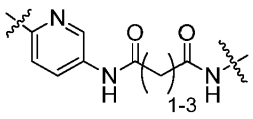
[0470] R^{7}은 독립적으로 H, C$_{1-4}$알킬, 페닐, 피리미딘 및 피리딘으로부터 선택되고;

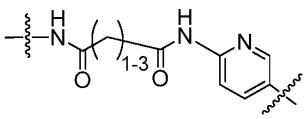
[0471] R^{8}은 독립적으로



,
,




,
,
,

[0472]



,
, 및



[0473] 로부터 선택되고,

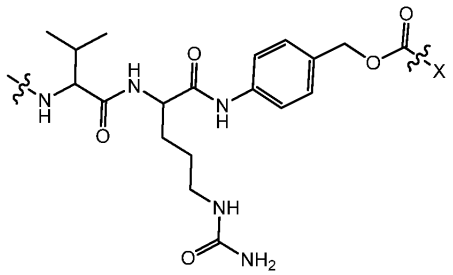
[0474] R^{9}는 독립적으로 H 및 C$_{1-6}$할로알킬로부터 선택되고;

[0475] 각각의 n은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택되고,

[0476] 각각의 m은 독립적으로 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 및 9로부터 선택된다.

[0477] 한 실시양태에서, L_1은 $-(CH_2)_{1-10}-C(=O)-$, 예를 들어 $-(CH_2)_5-C(=O)-$이고; L_2, L_3 및 L_4는 각각 결합을 나타낸다.

[0478] 특정 실시양태에서 LU는 이 화학식의 val-cit 링커를 포함하며, 여기서 X는 페이로드, 전형적으로 약물 모이어티, 예컨대 항암 활성을 갖는 것을 나타낸다:



[0479] .

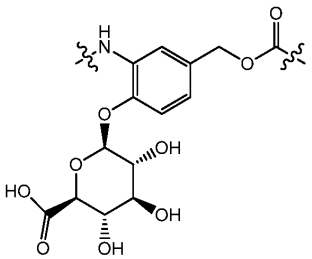
[0480] L_4-L_5-L_6이 상기 제시된 바와 같은 val-cit 링커인 경우에, L_3은 바람직하게는 $-(CH_2)_{2-6}-C(=O)-$이다.

[0481] 특정 실시양태에서 X기는 메이탄시노이드, 예컨대 DM1 또는 DM4, 또는 돌라스타틴 유사체 또는 유도체, 예컨대 돌라스타틴 10 또는 15 및 아우리스타틴 MMAF 또는 MMAE, 또는 칼리케아미신, 예컨대 N-아세틸-γ-칼리케아미신, 또는 표지 또는 염료, 예컨대 로다민 또는 테트라메틸로다민이다.

[0482] 본원에 사용된 "링커"는 항체 또는 그의 단편을 X 기 (페이로드)에 연결시켜 면역접합체를 형성할 수 있는 임의의 화학적 모이어티이다. 화합물 또는 항체가 여전히 활성인 조건에서, 링커는 절단, 예컨대 산-유도된 절단, 광-유도된 절단, 펩티다제-유도된 절단, 에스테라제-유도된 절단, 및 디술피드 결합 절단에 영향을 받기 쉬울 수 있다. 대안적으로, 링커는 절단에 대해 실질적으로 저항성일 수 있다. 링커는 자기-희생적 스페이서를 포함할 수 있거나 또는 포함하지 않을 수 있다.

[0483] X^1 기를 본원에 제공된 변형된 항체 또는 그의 항체 단편에 접합시키기 위해 본원에서 사용되는 비-효소적으로 절단가능한 링커의 비-제한적인 예는 산-불안정성 링커, 디술피드 모이어티를 함유하는 링커, 트리아졸 모이어티를 함유하는 링커, 히드라진 모이어티를 함유하는 링커, 티오에테르 모이어티를 함유하는 링커, 디아조 모이어티를 함유하는 링커, 옥심 모이어티를 함유하는 링커, 아미드 모이어티를 함유하는 링커 및 아세트아미드 모이어티를 함유하는 링커를 포함한다.

[0484] X 기를 본원에 제공된 변형된 항체 또는 그의 항체 단편에 접합시키기 위해 본원에서 사용되는 효소적으로 절단가능한 링커의 비-제한적 예는 프로테아제에 의해 절단되는 링커, 아미다제에 의해 절단되는 링커, 및 β-글루쿠로니다제 또는 또 다른 글리코시다제에 의해 절단되는 링커를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

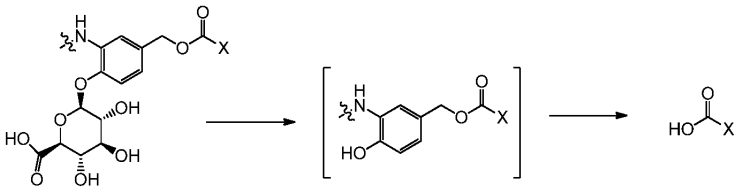
[0485] 특정 실시양태에서, 이같은 효소 절단가능한 링커는 카텝신 Z, 카텝신 B, 카텝신 H 및 카텝신 C를 포함하는는 카텝신에 의해 절단되는 링커이다. 특정 실시양태에서, 효소적으로 절단가능한 링커는 카텝신 Z, 카텝신 B, 카텝신 H 또는 카텝신 C에 의해 절단되는 디펩티드를 포함하는, 카텝신에 의해 절단되는 디펩티드이다. 특정 실시양태에서, 효소적으로 절단가능한 링커는 카텝신 B-절단가능한 펩티드 링커이다. 특정 실시양태에서, 효소적으로 절단가능한 링커는 카텝신 B-절단가능한 디펩티드 링커이다. 특정 실시양태에서, 효소적으로 절단가능한 디펩티드 링커는 발린-시트룰린 또는 페닐알라닌-리신이다. X 기를 본원에 제공된 변형된 항체 또는 그의 항체 단편에 접합시키기 위해 본원에서 사용되는 효소적으로 절단가능한 링커의 다른 비-제한적 예는 β-글루쿠로니다제에 의해 절단되는 링커, 예를 들어  를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0486] 문헌 [Ducry et al., Bioconjugate Chem, (2010) vol. 21(1), 5-13]을 참조한다.

[0487] "자기-희생적 스페이서"는 한쪽 말단에서 제1 화학적 모이어티에 공유 연결되고, 다른쪽 말단에서 제2 화학적 모이어티에 공유 연결됨으로써 안정적인 트리파르테이트 분자를 형성하는 이관능성 화학적 모이어티이다. 링커는 화학적으로 또는 효소적으로 스페이서로부터 절단가능한 제3 화학적 모이어티에 결합된 자기 희생적 스페이서를 포함할 수 있다. 자기-희생적 스페이서 및 제1 화학적 모이어티 또는 제3 화학적 모이어티 사이의 결합이 절단되면, 자기-희생적 스페이서는 신속하고 자발적인 분자내 반응을 거쳐, 제2 화학적 모이어티로부터 분리된다. 이러한 분자내 반응은 일반적으로 전자적 재배열, 예컨대 1,4, 또는 1,6, 또는 1,8 제거 반응 또는 매우 유리한 5- 또는 6-원 고리가 형성되는 고리화를 수반한다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 제1 또는 제3 모이어티는 효소 절단가능한 기이고, 이러한 절단은 효소 반응으로부터 발생하고, 한편 다른 실시양태에서 제1 또는 제3 모이어티는 산 불안정성 기이고, 이러한 절단은 pH의 변화로 인해 일어난다. 본 발명에 적용시에, 제2 모이어티는 본원에 정의된 바와 같은 "페이로드" 기이다. 특정 실시양태에서 자기-희생적 스페이서로부터의 제1 또는 제3 모이어티의 절단은 단백질분해 효소에 의한 절단으로부터 발생하는 한편, 다른 실시양태에서 이는 히드롤라제에 의한 절단으로부터 발생한다. 특정 실시양태에서, 자기-희생적 스페이서로부터의 제1 또는 제3 모이어티의 절단은 카텝신 효소 또는 글루쿠로니다제에 의한 절단으로부터 발생한다.

[0488] 특정 실시양태에서, 효소 절단가능한 링커는 펩티드 링커이고, 자기-희생적 스페이서는 그의 말단 중 한쪽에서 펩티드 링커에 공유 연결되고, 그의 다른 말단에서는 약물 모이어티에 공유 연결된다. 이러한 트리파르타이트 분자는 안정하고, 효소의 부재 하에 약리학적으로 불활성이지만, 스페이서 모이어티 및 펩티드 모이어티를 공유 연결하는 결합에서 효소에 의해 효소적으로 절단가능하다. 펩티드 모이어티가 트리파르타이트 분자로부터 절단되고, 이는 스페이서 모이어티의 자기-희생적 특성을 개시하여, 스페이서 모이어티를 약물 모이어티에 공유 연결하는 결합의 자발적 절단을 발생시키며, 이에 의해 약리학적으로 활성인 형태의 약물이 방출된다.

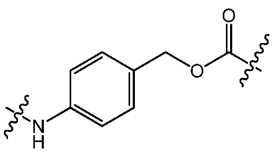
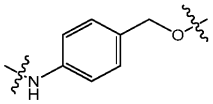
[0489] 다른 실시양태에서, 링커는 한쪽 말단에서는 펩티드에 직접 또는 간접적으로 연결되고, 다른쪽 말단에서 페이로드에 연결되는 자기-희생적 스페이서를 포함하고; 스페이서는 효소적으로, 예컨대 글루쿠로니다제에 의해 스페이서로부터 절단될 수 있는 제3 모이어티에 부착된다. 제3 모이어티의 절단 시에, 스페이서는 페이로드를 방출시키는 방식으로 분해 또는 재정렬된다. 이러한 유형의 자기-희생적 스페이서를 갖는 링커의 예는 이러한 글루쿠로니다제-절단가능한 링커이며, 여기서 글루쿠로니다제에 의해 촉매되는 아세탈의 가수분해가 페놀계 화합물을 방출하고, 이는 생리학적 조건 하에 자발적으로 분해된다:

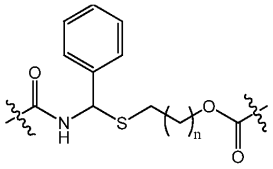
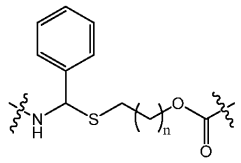
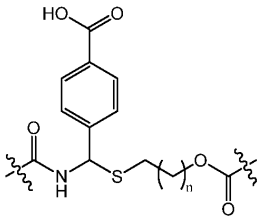
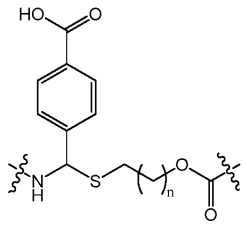
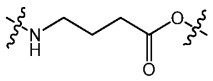


[0490] .

[0491] X^1 기를 본원에 제공된 변형된 항체 또는 그의 항체 단편에 접합시키는데 임의적으로 사용되는 자기-희생적 스페이서의 비-제한적 예는 벤질 카르보닐 모이어티, 벤질 에테르 모이어티, 4-아미노부티레이트 모이어티, 헤미티오아미날 모이어티 또는 N-아실헤미티오아미날 모이어티를 포함하는 모이어티를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

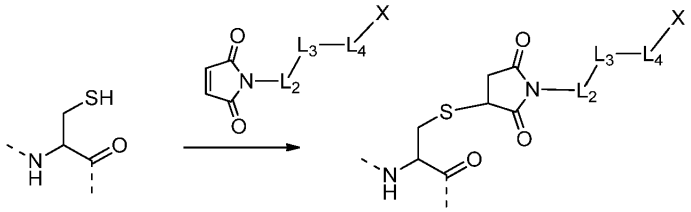
[0492] 자기-희생적 스페이서의 다른 예는 p-아미노벤질옥시카르보닐 기, p-아미노벤질옥시카르보닐 기와 전자적으로 유사한 방향족 화합물, 예컨대 2-아미노이미다졸-5-메탄올 유도체 및 오르토 또는 파라-아미노벤질아세탈을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 특정 실시양태에서, 아미드 결합 가수분해 시에 고리화가 진행되는 본원에서 사용된 자기-희생적 스페이서는 치환 및 비치환된 4-아미노부티르산 아미드 및 2-아미노페닐프로피온산 아미드를 포함한다.

[0493] 특정 실시양태에서, 자기-희생적 스페이서는  또는  이고, 다른

실시양태에서 자기-희생적 스페이서는  이며, 여기서 n은 1 또는 2이다. 다른 실시양태에서 자기-희생적 스페이서는  이며, 여기서 n은 1 또는 2이다. 다른 실시양태에서 자기-희생적 스페이서는  이며, 여기서 n은 1 또는 2이다. 다른 실시양태에서 자기-희생적 스페이서는  이며, 여기서 n은 1 또는 2이다. 다른 실시양태에서 자기-희생적 스페이서는  이며, 여기서 n은 1 또는 2이다.

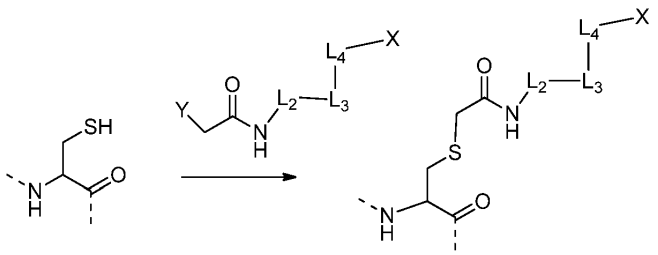
[0494] 반응식 (2a-2c)은 본원에 제공된 변형된 항체 또는 그의 항체 단편의 번역후 변형을 설명하며, 여기서 링커 유닛 (LU)은 -L_1-L_2-L_3-L_4-이고, L1은 각각의 경우에 새로운 Cys와 반응하는 기이다.

[0495] [반응식 2a]



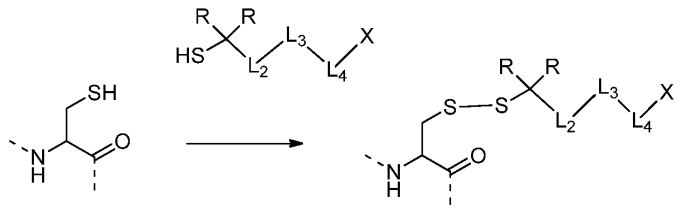
[0496]

[0497] [반응식 2b]



[0498]

[0499] [반응식 3c]



[0500]

[0501] 반응식 2a-2c 각각에서, 출발 물질은 본원에 기재된 바와 같은 변형된 항체 또는 항체 단편 내의 대체 Cys 잔기이고, 여기서 파선 결합은 항체 또는 항체 단편의 인접한 잔기로의 연결을 나타내고; 각각의 R은 H 또는 C_{1-4} 알킬, 전형적으로 H 또는 메틸이고; L_2, L_3 및 L_4는 상기 기재된 것과 같은 연결 유닛 LU의 성분이고; X는 페이로드이고; 본 발명의 치환기 Cys의 황에 L_2를 연결시키는 기는 L_1이다.

[0502] 본 발명의 일부 실시양태에서, X는 적합한 상보적 관능기와의 상호작용에 의해 접합된 항체를 또 다른 화학적 모이어티에 연결시키는데 사용될 수 있는 반응성 관능기이다. 표 4는 X가 나타낼 수 있는 반응성 관능기의 일부 예를, X를 포함하는 접합체를 또 다른 화합물에 연결시키는데 사용될 수 있는 상보적 관능기와 함께 도시한다. X를 사용하여 상응하는 상보적 관능기에 연결시키는 방법은 관련 기술분야에 널리 공지되어 있다. 아지드를 사용하는 연결은 전형적으로 '클릭(Click)' 또는 구리-무함유 클릭 화학 반응을 이용하여 수행되고; 히드라진, 알콕시아민 또는 아실 히드라진이 참여하는 반응은 전형적으로 카르보닐 관능기 중 하나를 갖는 쉬프 염기의 형성을 통해 진행된다.

[0503] [표 4]

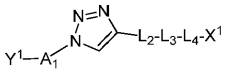
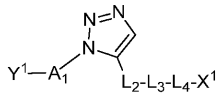
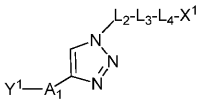
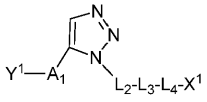
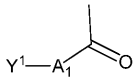
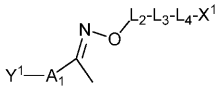
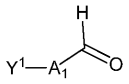
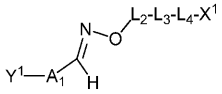
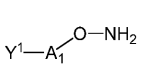
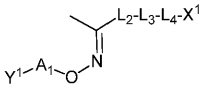
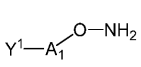
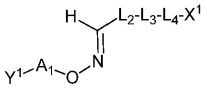
X	X에 대한 상보적 반응성 관능기
티올	티올, 말레이미드, 할로아세트아미드, 비닐 술폰, 또는 비닐피리딘
아지드	알켄, 알킨, 포스핀-(티오)에스테르, 시클로옥틴, 시클로옥텐 또는 옥사노보르나디엔
포스핀-(티오)에스테르)	아지드
옥사노보르나디엔	아지드 또는 테트라진
알킨	아지드 또는 테트라진
알켄	테트라진
시클로옥틴	아지드 또는 테트라진
시클로옥텐	테트라진
노르보르넨	테트라진
테트라진	노르보르넨, 알켄, 알킨, 시클로옥틴 또는 옥사노보르나디엔
알데히드	히드록실아민, 히드라진 또는 NH_2-NH-C(=O)-
케톤	히드록실아민, 히드라진 또는 NH_2-NH-C(=O)-
히드록실아민	알데히드 또는 케톤
히드라진	알데히드 또는 케톤
NH_2-NH-C(=O)-	알데히드 또는 케톤
할로아세트아미드	티올
티올	티올
말레이미드	티올
비닐 술폰	티올
비닐피리딘	티올

[0504]

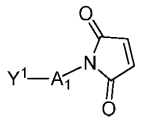
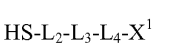
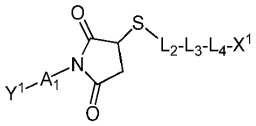
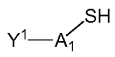
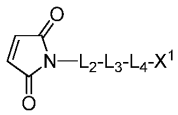
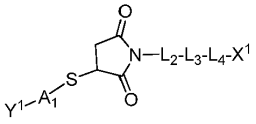
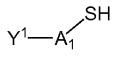
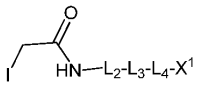
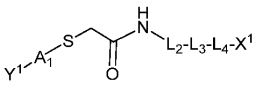
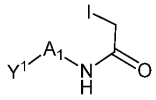
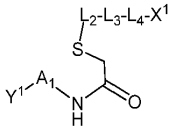
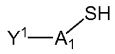
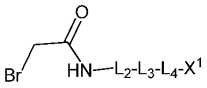
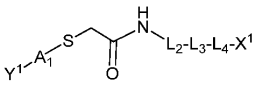
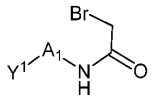
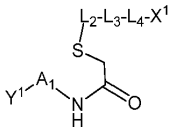
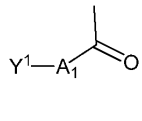
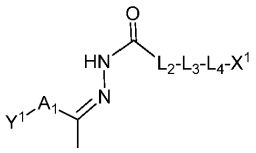
[0505] 이들 성분을 사용하여 만들어진 연결의 예시적 생성물이 표 5에 도시되며, 여기서 Y^1은 본 발명의 항체를 나타내고, A_1은 항체를 페이로드 X^a에 연결시키는 연결 유닛 (LU)을 나타내고, 화학식 II-a에서 $-L_2-L_3-L_4-$는 X^a를 통해 접합된 항체에 연결될, 분자 내에 존재할 수 있는 링커 유닛을 나타내고, X^1은 페이로드를 나타낸다. 페이로드 X^a는 반응성 관능기이고, 화학식 II-a 상의 X^b는 상응하는 상보적 관능기이고, 화학식 II-a는 그 자체로 접합된

항체에 연결될 분자를 나타낸다. 표 5의 세번째 칼럼은 X^a의 X^b와의 반응으로부터의 생성물을 도시한다.

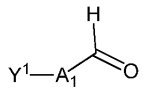
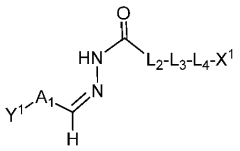
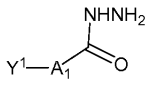
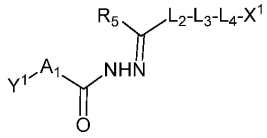
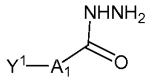
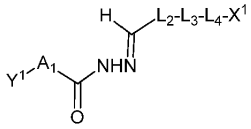
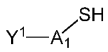
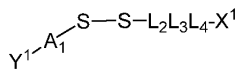
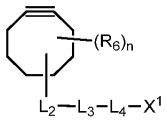
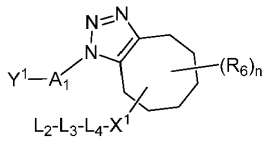
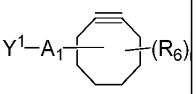
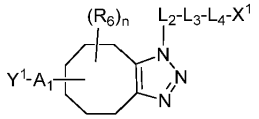
[0506] [표 5]

$Y^1-A_1-X^a$	X^b-L_2-L_3-L_4-X^1 화학식 (II-a)	$Y^1-A_1-X^2-L_2-L_3-L_4-X^1$
$Y^1-A_1-N_3$	$HC\equiv C-L_2-L_3-L_4-X^1$	
$Y^1-A_1-N_3$	$HC\equiv C-L_2-L_3-L_4-X^1$	
$Y^1-A_1-C\equiv CH$	N_3-L_2-L_3-L_4-X^1	
$Y^1-A_1-C\equiv CH$	N_3-L_2-L_3-L_4-X^1	
	NH_2-O-L_2-L_3-L_4-X^1	
	NH_2-O-L_2-L_3-L_4-X^1	
	$CH_3C(=O)$-L_2-L_3-L_4-X^1	
	HC(=O)-L_2-L_3-L_4-X^1	

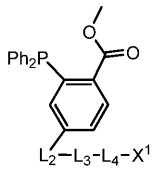
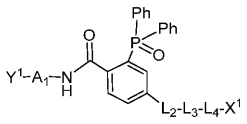
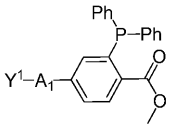
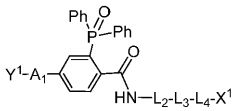
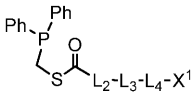
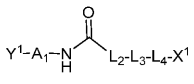
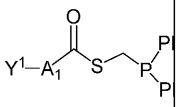
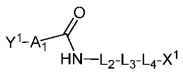
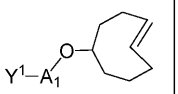
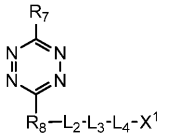
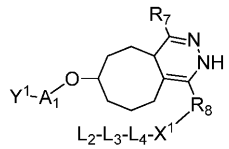
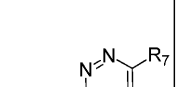
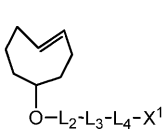
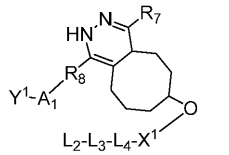
[0507]

$Y^1-A_1-X^a$	$X^b-L_2-L_3-L_4-X^1$ 화학식 (II-a)	$Y^1-A_1-X^2-L_2-L_3-L_4-X^1$
		
		
		
		
		
		
		

[0508]

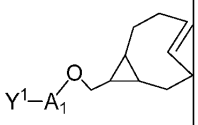
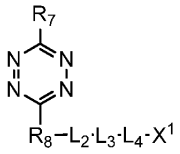
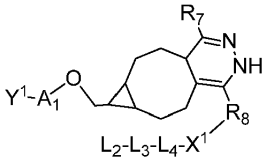
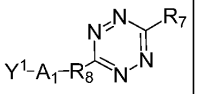
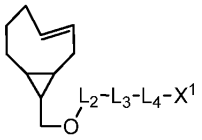
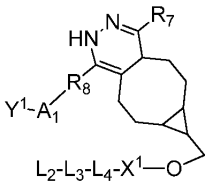
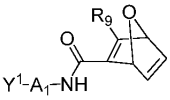
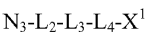
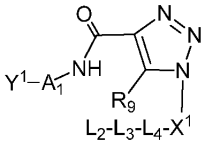
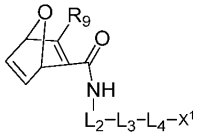
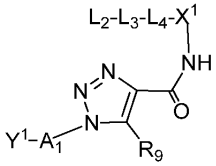
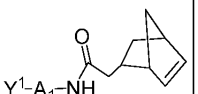
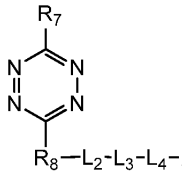
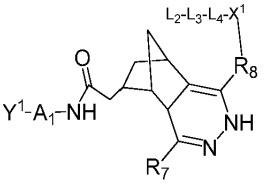
$Y^1-A_1-X^a$	$X^b-L_2-L_3-L_4-X^1$ 화학식 (II-a)	$Y^1-A_1-X^2-L_2-L_3-L_4-X^1$
	$NH_2-NH-C(=O)-L_2-L_3-L_4-X^1$	
	$R_5C(=O)-L_2-L_3-L_4-X^1$	
	$HC(=O)-L_2-L_3-L_4-X^1$	
	$HS-L_2-L_3-L_4-X^1$	
$Y^1-A_1-N_3$		
	$N_3-L_2-L_3-L_4-X^1$	

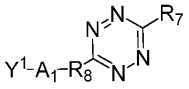
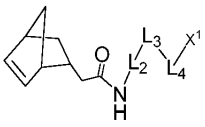
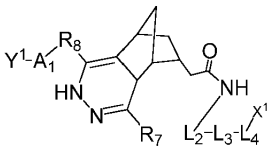
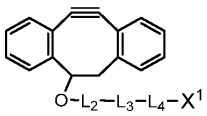
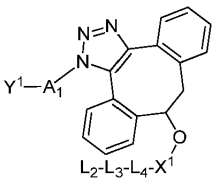
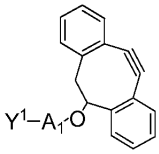
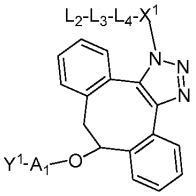
[0509]

$Y^1-A_1-X^a$	$X^b-L_2-L_3-L_4-X^1$ 화학식 (II-a)	$Y^1-A_1-X^2-L_2-L_3-L_4-X^1$
$Y^1-A_1-N_3$		
	$N_3-L_2-L_3-L_4-X^1$	
$Y^1-A_1-N_3$		
	$N_3-L_2-L_3-L_4-X^1$	
		
		

[0510]

[0511]

$Y^1-A_1-X^a$	$X^b-L_2-L_3-L_4-X^1$ 화학식 (II-a)	$Y^1-A_1-X^2-L_2-L_3-L_4-X^1$
		
		
		
		
		

$Y^1-A_1-X^a$	$X^b-L_2-L_3-L_4-X^1$ 화학식 (II-a)	$Y^1-A_1-X^2-L_2-L_3-L_4-X^1$
		
$Y^1-A_1-N_3$		
	$N_3-L_2-L_3-L_4-X^1$	

[0512]

[0513] 특정 실시양태에서, 본원에 제공된 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 약 1 내지 16, 예컨대 1-12, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8의 "X 기-대-항체" (페이로드 대 항체) 비로 접합되며, 여기서 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 본원에 개시된 특정 부위에서 혼입된 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8개 시스테인 잔기를 함유한다. 예를 들어, 4의 "X 기-대-항체" 비는 2개의 Cys 잔기를 항체의 중쇄에 혼입시켜 달성될 수 있으며, 4개의 접합 부위 (각각의 중쇄로부터 2개씩)를 함유할 것이다. 이러한 항체의 면역접합체는 최대 4개의 페이로드 기를 함유할 것이며, 유사하거나 또는 상이할 수 있고, 바람직하게는 모두 유사하다. 또 다른 예에서, 4의 "X 기-대-항체" 비는 1개의 Cys 잔기를 항체의 중쇄에 혼입시키고, 제2 Cys 잔기를 항체의 경쇄에 혼입시켜 4개의 접합 부위 (2개의 중쇄 내에 2개 및 2개의 경쇄 내에 2개)를 생성시킴으로써 달성될 수 있다. 6, 8 또는 그 초과의 비는 항체의 중쇄 및 경쇄 내에서의 3, 4개 또는 그 초과의 본 발명의 시스테인 치환의 조합에 의해 달성될 수 있다. 다수의 시스테인 기를 항체에 치환시키는 것은 부적절한 디술피드 형성 및 다른 문제를 일으킬 수 있다. 따라서, 1개의 항체 분자 상에 4개 초과의 페이로드 기를 부하하는 경우에, 본 발명의 방법은 대안적으로 시스테인 황에서의 반응, 예컨대 리신에서의 아실화에 의존하지 않는 방법, 또는 S6 태그를 통한 접합 또는 Pcl 방법과 조합될 수 있다.

[0514] 페이로드 대 항체 비는 특정 접합체 분자에서 정확한 값을 갖는데, 그 값은 전형적으로 접합 단계에서, 어느 정도의 불균질성으로 인해, 다수의 분자를 함유하는 샘플을 설명하는데 사용되는 경우에는 종종 평균 값일 것으로 이해된다. 면역접합체의 샘플에 대한 평균 부하는 본원에서 약물 대 항체 비, 또는 DAR로 지칭된다. 일부 실시양태에서, DAR은 약 1 내지 약 16이고, 전형적으로 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 또는 8이다. 일부 실시양태에서, 샘플의 적어도 50중량%는 ±2의 평균 비를 갖는 화합물이고, 바람직하게는 샘플의 적어도 50%는 ±1의 평균 비를 함유하는 접합체이다. 바람직한 실시양태는 DAR이 약 2 또는 약 8, 예를 들어 약 2, 약 4, 약 6 또는 약 8인 면역접합체를 포함한다. 일부 실시양태에서, '약 n'의 DAR은 DAR에 대한 측정값이 (화학식 I에서) n의 10% 내에 있음을 의미한다.

[0515] **3. Fc 영역의 프레임워크의 추가적 변경**

[0516] 본 발명은 부위-특이적으로 표지된 면역접합체를 제공한다. 본 발명의 면역접합체는, 예를 들어 항체의 특성을 개선하기 위해, V_H 및/또는 V_L 내의 프레임워크 잔기에 대한 변형을 추가로 포함하는 변형된 항체 또는 그의 항체 단편을 포함할 수 있다. 전형적으로, 이러한 프레임워크 변형은 항체의 면역원성을 감소시키기 위해 이루어

진다. 예를 들어, 한가지 접근법은 하나 이상의 프레임워크 잔기를 상응하는 배선 서열로 "역-돌연변이"시키는 것이다. 보다 구체적으로, 체세포 돌연변이가 일어난 항체는 항체가 유래된 배선 서열과는 상이한 프레임워크 잔기를 함유할 수 있다. 이러한 잔기는 항체 프레임워크 서열을 항체가 유래된 배선 서열과 비교함으로써 확인될 수 있다. 프레임워크 영역을 그의 배선 형상으로 되돌리기 위해, 예를 들어 부위-지정 돌연변이유발에 의해, 체세포 돌연변이가 배선 서열로 "역-돌연변이"될 수 있다. 이같은 "역-돌연변이"된 항체 또한 본 발명에 포괄되도록 의도된다.

[0517] 또 다른 유형의 프레임워크 변형은 프레임워크 영역 내의, 또는 심지어 하나 이상의 CDR 영역 내의 하나 이상의 잔기를 돌연변이시켜 T-세포 에피토프를 제거함으로써 항체의 잠재적인 면역원성을 감소시키는 것을 포함한다. 이러한 접근법은 또한 "탈면역화"로도 지칭되고, 미국 특허 공개 번호 20030153043 (Carr et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0518] 프레임워크 또는 CDR 영역 내에서 이루어진 변형에 추가로 또는 대안적으로, 본 발명의 항체는 전형적으로 항체의 하나 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 항원-의존성 세포 세포독성을 변경하기 위하여 Fc 영역 내에 변형을 포함하도록 조작될 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 항체의 하나 이상의 기능적 특성을 다시 변경하기 위해 화학적으로 변형될 수 있거나 (예를 들어, 하나 이상의 화학적 모이어티가 항체에 부착될 수 있음), 또는 그의 글리코실화가 변경되도록 변형될 수 있다. 각각의 이들 실시양태가 하기에 추가로 상세하게 기재된다.

[0519] 한 실시양태에서, CH1의 힌지 영역이 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수가 변경, 예를 들어 증가 또는 감소되도록 변형된다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,677,425 (Bodmer et al.)에 추가로 기재되어 있다. CH1의 힌지 영역 내의 시스테인 잔기의 수는, 예를 들어 경쇄 및 중쇄의 어셈블리를 용이하게 하거나 또는 항체의 안정성을 증가 또는 감소시키기 위해 변경된다.

[0520] 또 다른 실시양태에서, 항체의 생물학적 반감기를 감소시키기 위해 항체의 Fc 힌지 영역이 돌연변이된다. 보다 구체적으로, 하나 이상의 아미노산 돌연변이가 Fc-힌지 단편의 CH2-CH3 도메인 인터페이스 영역에 도입되어, 항체는 천연 Fc-힌지 도메인 스타필로코실 단백질 A (SpA) 결합에 비해 손상된 SpA 결합을 갖게 된다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 6,165,745 (Ward et al.)에 추가로 상세하게 기재되어 있다.

[0521] 또 다른 실시양태에서, Fc 영역이 적어도 하나의 아미노산 잔기를 상이한 아미노산 잔기로 대체함으로써 변경되어 항체의 이펙터 기능을 변경시킨다. 예를 들어, 항체가 이펙터 리간드에 대해 변경된 친화도를 갖지만 모 항체의 항원-결합 능력은 보유하도록 하나 이상의 아미노산을 상이한 아미노산 잔기로 대체할 수 있다. 친화도가 변경된 이펙터 리간드는, 예를 들어 Fc 수용체 또는 보체의 C1 성분일 수 있다. 이러한 접근법은 미국 특허 번호 5,624,821 및 5,648,260 (둘 다, Winter et al.)에 기재되어 있다.

[0522] 또 다른 실시양태에서, 항체가 변경된 C1q 결합 및/또는 감소되거나 제거된 보체 의존성 세포독성 (CDC)을 갖도록 아미노산 잔기로부터 선택된 하나 이상의 아미노산을 상이한 아미노산 잔기로 대체할 수 있다. 이러한 접근법은 예를 들어 미국 특허 번호 6,194,551 (Idusogie et al.)에 기재되어 있다.

[0523] 또 다른 실시양태에서, 하나 이상의 아미노산 잔기를 변경함으로써 보체를 고정하는 항체의 능력을 변경한다. 이러한 접근법은 예를 들어 PCT 공개 WO 94/29351 (Bodmer et al.)에 기재되어 있다. 구체적인 실시양태에서, 본 발명의 항체 또는 그의 항체 단편의 하나 이상의 아미노산이 하나 이상의 동종이형 아미노산 잔기, 예컨대 IgG1 하위부류 및 카파 이소형에 대해 도 4에 제시된 것으로 대체된다. 동종이형 아미노산 잔기는 또한 문헌 [Jefferis et al., MAbs. 1:332-338 (2009)]에 기재된 바와 같이 IgG1, IgG2, 및 IgG3 하위부류의 중쇄의 불변 영역 뿐만 아니라 카파 이소형의 경쇄의 불변 영역을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0524] 또 다른 실시양태에서, Fc 영역은 하나 이상의 아미노산을 변형시킴으로써 항체 의존성 세포 세포독성 (ADCC)을 매개하는 항체의 능력을 증가시키고/거나 Fcγ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시키도록 변형된다. 이러한 접근법은 예를 들어 PCT 공개 WO 00/42072 (Presta)에 기재되어 있다. 또한, FcγR1, FcγRII, FcγRIII 및 FcRn에 대한 인간 IgG1 상의 결합 부위가 맵핑되었고, 개선된 결합을 갖는 변이체가 기재되어 있다 (문헌 [Shields et al., J. Biol. Chem. 276:6591-6604, 2001] 참조).

[0525] 또 다른 실시양태에서, 항체의 글리코실화가 변형된다. 예를 들어, 비-글리코실화 항체가 제조될 수 있다 (즉, 항체에 글리코실화가 결여됨). 예를 들어, "항원"에 대한 항체의 친화도를 증가시키기 위해, 글리코실화가 변경될 수 있다. 이러한 탄수화물 변형은, 예를 들어 항체 서열 내의 하나 이상의 글리코실화 부위를 변경시킴으로써 달성될 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 가변 영역 프레임워크 글리코실화 부위를 제거하여 그 부위에서

글리코실화가 제거되도록, 하나 이상의 아미노산 치환이 이루어질 수 있다. 이러한 비-글리코실화는 항원에 대한 항체의 친화도를 증가시킬 수 있다. 이러한 접근법은 예를 들어 미국 특허 번호 5,714,350 및 6,350,861 (Co et al.)에 기재되어 있다.

[0526] 추가로 또는 대안적으로, 변경된 글리코실화 유형을 갖는 항체, 예컨대 감소된 양의 푸코실 잔기를 갖는 저푸코실화 항체 또는 증가된 양분성 GlcNac 구조를 갖는 항체가 제조될 수 있다. 이러한 변경된 글리코실화 패턴은 항체의 ADCC 능력을 증가시키는 것으로 입증되었다. 이러한 탄수화물 변형은, 예를 들어 변경된 글리코실화 기구를 갖는 숙주 세포 내에서 항체를 발현시킴으로써 달성될 수 있다. 변경된 글리코실화 기구를 갖는 세포는 관련 기술분야에 기재되어 있고, 본 발명의 재조합 항체를 발현시켜 변경된 글리코실화를 갖는 항체를 생산하는 숙주 세포로서 사용될 수 있다. 예를 들어, EP 1,176,195 (Hang et al.)는 푸코실 트랜스퍼라제를 코딩하는, 기능적으로 파괴된 FUT8 유전자를 갖는 세포주를 기재하며, 이러한 세포주에서 발현된 항체는 저푸코실화를 나타낸다. PCT 공개 WO 03/035835 (Presta)는 Asn(297)-연결된 탄수화물에 푸코스를 부착시키는 능력이 감소되어 숙주 세포 내에서 발현된 항체에서 저푸코실화가 일어나는 변이체 CHO 세포주인 Lec13 세포를 기재하고 있다 (또한, 문헌 [Shields et al., (2002) J. Biol. Chem. 277:26733-26740] 참조). PCT 공개 WO 99/54342 (Umana et al.)는 당단백질-변형된 글리코실 트랜스퍼라제 (예를 들어, 베타(1,4)-N 아세틸글루코스아미닐트랜스퍼라제 III (GnTIII))를 발현하도록 조작된 세포주를 기재하며, 이러한 조작된 세포주에서 발현된 항체는 증가된 양분성 GlcNac 구조를 나타내고, 이는 항체의 증가된 ADCC 활성을 발생시킨다 (또한 문헌 [Umana et al., Nat. Biotech. 17:176-180, 1999] 참조).

[0527] 또 다른 실시양태에서, 항체는 그의 생물학적 반감기를 증가시키기 위해 변형된다. 다양한 접근법이 가능하다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,277,375 (Ward)에 기재된 바와 같이, 하기 돌연변이: T252L, T254S, 또는 T256F 중 하나 이상이 도입될 수 있다. 대안적으로, 생물학적 반감기를 증가시키기 위해, 항체는 미국 특허 5,869,046 및 6,121,022 (Presta et al.)에 기재된 바와 같이 IgG의 Fc 영역의 CH2 도메인의 2개의 루프로부터 얻은 샐비지 수용체 결합 에피토프를 함유하도록 CH1 또는 C_L 영역 내에서 변경될 수 있다.

[0528] **4. 항체 접합체**

[0529] 본 발명은 부위-특이적 표지 방법, 변형된 항체 및 그의 항체 단편, 및 이에 따라 제조된 면역접합체를 제공한다. 본 발명의 방법을 이용하여, 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 표지, 예컨대 약물 모이어티, 예를 들어 항암제, 자가면역 치료제, 항염증제, 항진균제, 항박테리아제, 항기생충제, 항바이러스제, 또는 마취제, 또는 영상화 시약, 예컨대 PET 영상화를 위한 킬레이트화제, 또는 형광 표지 또는 MRI 대조 시약에 접합될 수 있다. 항체 또는 항체는 또한 본 발명의 방법들을 다른 접합 방법과 조합하여 여러 동일하거나 상이한 표지 모이어티를 사용하여 접합될 수도 있다.

[0530] 특정 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 V-ATPase 억제제, HSP90 억제제, IAP 억제제, mTor 억제제, 미세관 안정화제, 미세관 불안정화제, 아우리스타틴, 돌라스타틴, 메이탄시노이드, MetAP (메티오닌 아미노펩티다제), 단백질 CRM1의 핵 유출의 억제제, DPPIV 억제제, 프로테아솜 억제제, 미토콘드리아의 포스포릴 전달 반응의 억제제, 단백질 합성 억제제, 키나제 억제제, CDK2 억제제, CDK9 억제제, HDAC 억제제, DNA 손상 작용제, DNA 알킬화제, DNA 삽입제, DNA 작은 홈 결합제, 토포이소머라제 억제제, RNA 합성 억제제, 키네신 억제제, 단백질-단백질 상호작용의 억제제 및 DHFR 억제제로부터 선택된 약물 모이어티를 포함한다.

[0531] 또한, 본 발명의 변형된 항체 또는 항체 단편은 주어진 생물학적 반응을 변형시키는 약물 모이어티에 접합될 수 있다. 약물 모이어티는 통상의 화학 치료제로 제한되는 것으로 간주되지 않아야 한다. 예를 들어, 약물 모이어티는 면역 조절제, 예컨대 면역 강화제, 소분자 면역 강화제, TLR 효능제, CpG 올리고머, TLR2 효능제, TLR4 효능제, TLR7 효능제, TLR9 효능제, TLR8 효능제, T-세포 에피토프 펩티드 등일 수 있다. 약물 모이어티는 또한 올리고뉴클레오티드, siRNA, shRNA, cDNA 등일 수 있다. 대안적으로, 약물 모이어티는 바람직한 생물학적 활성을 보유하는 단백질, 펩티드 또는 폴리펩티드일 수 있다. 이러한 단백질은 예를 들어 독소, 예컨대 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소, 콜레라 독소, 또는 디프테리아 독소, 단백질, 예컨대 종양 괴사 인자, α-인터페론, β-인터페론, 신경 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자, 조직 플라스미노겐 활성화제, 시토카인, 아폽토시스 작용제, 항혈관신생제, 또는 생물학적 반응 조절제, 예컨대, 예를 들어 림포카인을 포함할 수 있다.

[0532] 한 실시양태에서, 본 발명의 변형된 항체 또는 항체 단편이 약물 모이어티, 예컨대 세포독소, 약물 (예를 들어, 면역억제제) 또는 방사성독소에 접합된다. 세포독소의 예는 탁산 (예를 들어, 국제 (PCT) 특허 출원 번호 WO 01/38318 및 PCT/US03/02675 참조), DNA-알킬화제 (예를 들어, CC-1065 유사체), 안트라시클린, 튜부리신 유사체, 두오카르마이신 유사체, 아우리스타틴 E, 아우리스타틴 F, 메이탄시노이드, 및 반응성 폴리에틸렌 글리콜

모이어티를 포함하는 세포독성제 (예를 들어, 문헌 [Sasse et al., J. Antibiot. (Tokyo), 53, 879-85 (2000), Suzawa et al., Bioorg. Med. Chem., 8, 2175-84 (2000), Ichimura et al., J. Antibiot. (Tokyo), 44, 1045-53 (1991), Francisco et al., Blood (2003)] (인쇄물 공개 이전의 전자 공개), 미국 특허 번호 5,475,092, 6,340,701, 6,372,738, 및 6,436,931, 미국 특허 출원 공개 번호 2001/0036923 A1, 계류 중인 미국 특허 출원 일련 번호 10/024,290 및 10/116,053, 및 국제 (PCT) 특허 출원 번호 WO 01/49698 참조), 탁솔, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 브로민화에티듐, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 콜키신, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데히드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 및 퓨로마이신, 및 이들의 유사체 또는 상동체를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 치료제는 또한 예를 들어 항대사물 (예를 들어, 메토트렉세이트, 6-메르캅토퓨린, 6-티오구아닌, 시타라빈, 5-플루오르우라실 데카르바진), 알킬화제 (예를 들어, 메클로레타민, 티오에파 클로람부실, 멜팔란, 카르무스틴 (BSNU) 및 로무스틴 (CCNU), 시클로포스파미드, 부술판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C, 및 시스-디클로로디아민 백금 (II) (DDP) 시스플라틴, 안트라시클린 (예를 들어, 다우노루비신 (이전에 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제 (예를 들어, 닥티노마이신 (이전에 악티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신, 및 안트라마이신 (AMC)), 및 항유사분열제 (예를 들어, 빈크리스틴 및 빈블라스틴)를 포함한다. (예를 들어, US20090304721 (시애틀 제네틱스(Seattle Genetics)) 참조).

[0533] 본 발명의 변형된 항체 또는 항체 단편에 접합될 수 있는 치료 세포독소의 다른 예는 두오카르마이신, 칼리케아미신, 메이탄신 및 아우리스타틴 및 그의 유도체를 포함한다. 칼리케아미신 항체 접합체의 예는 상업적으로 입수가능하다 (밀로타르그(Mylotarg)™; 와이어쓰-에이어스트(Wyeth-Ayerst)).

[0534] 세포독소의 유형, 링커, 및 치료제를 항체에 접합시키기 위한 방법의 추가적인 논의를 위해, 문헌 [Saito et al., (2003) Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215; Trail et al., (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Payne, (2003) Cancer Cell 3:207-212; Allen, (2002) Nat. Rev. Cancer 2:750-763; Pastan and Kreitman, (2002) Curr. Opin. Investig. Drugs 3:1089-1091; Senter and Springer, (2001) Adv. Drug Deliv. Rev. 53:247-264]을 또한 참조한다.

[0535] 본 발명에 따르면, 세포독성 방사성 의약품 (방사성 면역접합체로 또한 지칭됨)이 생성되도록 변형된 항체 또는 그의 항체 단편이 방사성 동위원소에 접합될 수도 있다. 진단적 또는 치료적 사용을 위하여 항체에 접합될 수 있는 방사성 동위원소의 예는 아이오딘^{131}, 인듐^{111}, 이트륨^{90} 및 루테튬^{177}을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 방사성면역접합체를 제조하는 방법은 관련 기술분야에 확립되어 있다. 제발린(Zevalin)™ (DEC 파마슈티칼스(DEC Pharmaceuticals)) 및 벡사르(Bexxar)™ (코릭사 파마슈티칼스(Corixa Pharmaceuticals))을 비롯한 방사성면역접합체의 예가 상업적으로 입수가능하고, 본 발명의 항체를 사용하여 방사성면역접합체를 제조하는데 유사한 방법을 이용할 수 있다. 특정 실시양태에서, 마크로시클릭 킬레이트화제는 링커 분자를 통해 항체에 부착될 수 있는 1,4,7,10-테트라아자시클로도데칸-N,N',N",N"'-테트라아세트산 (DOTA)이다. 이러한 링커 분자는 관련 기술분야에 통상적으로 공지되어 있고, 문헌 [Denardo et al., (1998) Clin. Cancer Res. 4(10):2483-90; Peterson et al., (1999) Bioconjug. Chem. 10(4):553-7; 및 Zimmerman et al., (1999) Nucl. Med. Biol. 26(8):943-50] (각각 그 전문이 참조로 포함됨)에 기재되어 있다.

[0536] 본 발명은 항원에 특이적으로 결합하는 변형된 항체 또는 그의 단편을 추가로 제공한다. 변형된 항체 또는 단편은 이종 단백질 또는 폴리펩티드 (또는 그의 단편, 바람직하게는 적어도 10, 적어도 20, 적어도 30, 적어도 40, 적어도 50, 적어도 60, 적어도 70, 적어도 80, 적어도 90 또는 적어도 100개의 아미노산의 폴리펩티드)에 접합 또는 융합되어 융합 단백질을 생성할 수 있다. 특히, 본 발명은 본원에 기재된 항체 단편 (예를 들어, Fab 단편, Fd 단편, Fv 단편, F(ab)2 단편, V_H 도메인, V_H CDR, V_L 도메인 또는 V_L CDR) 및 이종 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 포함하는 융합 단백질을 제공한다.

[0537] 일부 실시양태에서, 항원 결합 특이성이 없는 변형된 항체 단편, 예컨대 비제한적으로 본 발명에 따라 조작된 시스테인 잔기(들)를 갖는 변형된 Fc 도메인을 사용하여 이러한 항체 단편 (예를 들어, 조작된 Fc) 및 이종 단백질, 폴리펩티드 또는 펩티드를 포함하는 융합 단백질을 생성한다.

[0538] 추가의 융합 단백질은 유전자-셔플링, 모티프-셔플링, 엑손-셔플링 및/또는 코돈-셔플링 ("DNA 셔플링"으로 총칭됨)의 기술을 통해 생성될 수 있다. DNA 셔플링은 본 발명의 항체 또는 그의 단편의 활성을 변경하기 위해 사용될 수 있다 (예를 들어, 보다 높은 친화도 및 보다 낮은 해리율을 갖는 항체 또는 그의 단편). 일반적으로, 미국 특허 번호 5,605,793, 5,811,238, 5,830,721, 5,834,252, 및 5,837,458; 문헌 [Patten et al., (1997) Curr. Opinion Biotechnol. 8:724-33; Harayama, (1998) Trends Biotechnol. 16(2):76-82;

Hansson et al., (1999) J. Mol. Biol. 287:265-76; 및 Lorenzo and Blasco, (1998) Biotechniques 24(2):308- 313]을 참조한다 (이러한 특허 및 간행물 각각은 그 전문이 본원에 참조로 포함됨). 항체 또는 그의 단편, 또는 코딩된 항체 또는 그의 단편은 재조합 전에 오류-유발 PCR, 무작위 뉴클레오티드 삽입 또는 다른 방법에 의한 무작위 돌연변이유발에 의해 변경될 수 있다. 항원에 특이적으로 결합하는 항체 또는 그의 단편을 코딩하는 폴리뉴클레오티드가 하나 이상의 이종 분자의 하나 이상의 성분, 모티프, 절편, 부분, 도메인, 단편 등과 재조합될 수 있다.

[0539] 또한, 본 발명의 변형된 항체 또는 그의 항체 단편은 마커 서열, 예컨대 펩티드에 접합되어 정제를 용이하게 할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 마커 아미노산 서열은 헥사-히스티딘 펩티드, 예컨대 특히 pQE 벡터 (퀴아젠, 인크.(QIAGEN, Inc.), 미국 91311 캘리포니아주 채츠워스 에톤 애비뉴 9259)에서 제공된 태그이며, 다수가 상업적으로 입수가능하다. 예를 들어 문헌 [Gentz et al., (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824]에 기재된 바와 같이, 헥사-히스티딘은 융합 단백질의 편리한 정제를 제공한다. 정제에 유용한 다른 펩티드 태그는 인플루엔자 헤마글루티닌 단백질로부터 유래된 에피토프에 상응하는 헤마글루티닌 ("HA") 태그 (Wilson et al., (1984) Cell 37:767), 및 "FLAG" 태그 (A. Einhauer et al., J. Biochem. Biophys. Methods 49: 455-465, 2001)를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명에 따르면, 항체 또는 항체 단편이 또한 종양-투과 펩티드에 그의 효능을 강화시키기 위해 접합될 수 있다.

[0540] 다른 실시양태에서, 본 발명의 변형된 항체 또는 항체 단편이 진단제 또는 검출가능한 작용제에 접합된다. 이러한 면역접합체는 특정 요법의 효능을 결정하는 것과 같은 임상 시험 절차의 일부로서 질환 또는 장애의 발병, 발달, 진행 및/또는 중증도를 모니터링하거나 예측하는데 유용할 수 있다. 이러한 진단 및 검출은 양고추냉이 퍼옥시다제, 알칼리성 포스파타제, 베타-갈락토시다제, 또는 아세틸콜린에스테라제와 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 다양한 효소; 스트렙타비딘/비오틴 및 아비딘/비오틴과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 보결분자단; 알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 350, 알렉사 플루오르 405, 알렉사 플루오르 430, 알렉사 플루오르 488, 알렉사 플루오르 500, 알렉사 플루오르 514, 알렉사 플루오르 532, 알렉사 플루오르 546, 알렉사 플루오르 555, 알렉사 플루오르 568, 알렉사 플루오르 594, 알렉사 플루오르 610, 알렉사 플루오르 633, 알렉사 플루오르 647, 알렉사 플루오르 660, 알렉사 플루오르 680, 알렉사 플루오르 700, 알렉사 플루오르 750, 움벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로트리아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 또는 피코에리트린과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 형광 물질; 루미놀과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 발광 물질; 루시페라제, 루시페린 및 에쿼린과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 생물발광 물질; 아이오딘 (^{131}I, ^{125}I, ^{123}I, 및 ^{121}I,), 탄소 (^{14}C), 황 (^{35}S), 삼중수소 (^{3}H), 인듐 (^{115}In, ^{113}In, ^{112}In, 및 ^{111}In,), 테크네튬 (^{99}Tc), 탈륨 (^{201}Ti), 갈륨 (^{68}Ga, ^{67}Ga), 팔라듐 (^{103}Pd), 몰리브데넘 (^{99}Mo), 크세논 (^{133}Xe), 플루오린 (^{18}F), ^{153}Sm, ^{177}Lu, ^{159}Gd, ^{149}Pm, ^{140}La, ^{175}Yb, ^{166}Ho, ^{90}Y, ^{47}Sc, ^{186}Re, ^{188}Re, ^{142}Pr, ^{105}Rh, ^{97}Ru, ^{68}Ge, ^{57}Co, ^{65}Zn, ^{85}Sr, ^{32}P, ^{153}Gd, ^{169}Yb, ^{51}Cr, ^{54}Mn, ^{75}Se, ^{64}Cu, ^{113}Sn, 및 ^{117}Sn과 같은, 그러나 이에 제한되지 않는 방사성 물질; 및 다양한 양전자 방출 단층촬영을 이용하는 양전자 방출 금속, 및 비-방사성 상자성 금속 이온을 포함하지만 이에 제한되지 않는 검출가능한 물질에 항체를 커플링시킴으로써 달성될 수 있다.

[0541] 본 발명의 변형된 항체 또는 항체 단편은 또한 고체 지지체에 부착될 수 있고, 이는 표적 항원의 정제 또는 면역검정에 특히 유용하다. 이러한 고체 지지체는 유리, 셀룰로스, 폴리아크릴아미드, 나일론, 폴리스티렌, 폴리비닐 클로라이드 또는 폴리프로필렌을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0542] **5. 제약 조성물**

[0543] 면역접합체를 포함하는 제약 또는 무균 조성물을 제조하기 위해, 본 발명의 면역접합체가 제약상 허용되는 담체 또는 부형제와 혼합된다. 조성물은 추가로 암 (유방암, 결장직장암, 폐암, 다발성 골수종, 난소암, 간암, 위암, 췌장암, 급성 골수성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 골육종, 편평 세포 암종, 말초 신경초 종양 (예를 들어, 슈반세포종), 두경부암, 방광암, 식도암, 바렛 식도암, 교모세포종, 투명 세포 연부 조직 육종, 악성 중피종, 신경섬유종증, 신암, 흑색종, 전립선암, 양성 전립선 비대증 (BPH), 여성형유방증 및 자궁내막증)을 치료 또는 예방하는데 적합한 하나 이상의 다른 치료제를 함유할 수 있다.

[0544] 치료제 및 진단제의 제제는 예를 들어 동결건조 분말, 슬러리, 수용액, 로션 또는 현탁액 형태로 생리학상 허용되는 담체, 부형제 또는 안정화제와 혼합하여 제조될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Hardman et al., Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, N.Y., 2001; Gennaro,

Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, N.Y., 2000; Avis, et al. (eds.), Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY, 1993; Lieberman, et al. (eds.), Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY, 1990; Lieberman, et al. (eds.) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY, 1990; Weiner and Kotkoskie, Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 2000] 참조).

[0545] 치료 투여 요법을 선택하는 것은 물질의 혈청 또는 조직 교체율, 증상 수준, 물질의 면역원성 및 생물학적 매트릭스에서의 표적 세포의 접근성을 비롯한 여러 요인에 따라 달라진다. 특정 실시양태에서, 투여 요법은 허용되는 부작용 수준에 부합하도록 환자에 전달되는 치료제의 양을 최대화한다. 따라서, 전달되는 생물제제의 양은 부분적으로는 특정 물질 및 치료되는 상태의 중증도에 따라 달라진다. 항체, 시토카인 및 소분자의 적합한 용량을 선택하는 것에 대한 지침이 입수가능하다 (예를 들어, 문헌 [Wawrzynczak, Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK, 1996; Kresina (ed.), Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, N.Y., 1991; Bach (ed.), Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, N.Y., 1993; Baert et al., New Engl. J. Med. 348:601-608, 2003; Milgrom et al., New Engl. J. Med. 341:1966-1973, 1999; Slamon et al., New Engl. J. Med. 344:783-792, 2001; Beniaminovitz et al., New Engl. J. Med. 342:613-619, 2000; Ghosh et al., New Engl. J. Med. 348:24-32, 2003; Lipsky et al., New Engl. J. Med. 343:1594-1602, 2000] 참조).

[0546] 적절한 용량은 예를 들어, 치료에 영향을 미치는 것으로 관련 기술분야에 공지되어 있거나 그러한 것으로 의심되거나, 또는 치료에 영향을 미칠 것으로 예측되는 파라미터 또는 요인을 사용하여 임상의에 의해 결정된다. 일반적으로, 용량은 최적 용량보다 다소 적은 양에서 시작하며, 그후 임의의 부정적 부작용에 비해 바람직하거나 최적인 효과가 달성될 때까지 소량 증분으로 증가시킨다. 중요한 진단 척도는, 예를 들어 염증의 증상 또는 생산된 염증성 시토카인의 수준을 포함한다.

[0547] 본 발명의 제약 조성물 중 활성 성분의 실제 투여량 수준은 환자에게 독성이 없으면서 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 원하는 치료 반응을 달성하는데 효과적인 활성 성분의 양이 달성되도록 달라질 수 있다. 선택된 투여량 수준은 사용되는 본 발명의 특정한 조성물, 또는 그의 에스테르, 염 또는 아미드의 활성, 투여 경로, 투여 시간, 사용되는 특정한 화합물의 배출 속도, 치료 기간, 사용되는 특정한 조성물과 조합 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 치료받는 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 이전 병력 및 의료 분야에 공지된 다른 요인을 비롯한 다양한 약동학적 요인에 따라 결정될 것이다.

[0548] 본 발명의 항체 또는 그의 단편을 포함하는 조성물은 연속 주입에 의해, 또는 예를 들어 1일, 1주, 또는 1주 1-7회 간격의 투여에 의해 제공될 수 있다. 용량은 정맥내, 피하, 국소, 경구, 비강내, 직장, 근육내, 뇌내, 또는 흡입에 의해 제공될 수 있다. 구체적 용량 프로토콜은 유의한 바람직하지 않은 부작용을 방지하는 최대 용량 또는 투여 빈도를 수반하는 것이다.

[0549] 본 발명의 면역접합체의 경우에, 환자에게 투여되는 투여량은 환자 체중 1 kg 당 0.0001 mg/kg 내지 100 mg/kg 일 수 있다. 투여량은 환자 체중 1 kg 당 0.0001 mg/kg 내지 20 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 10 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 5 mg/kg, 0.0001 내지 2 mg/kg, 0.0001 내지 1 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 0.75 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 0.5 mg/kg, 0.0001 mg/kg 내지 0.25 mg/kg, 0.0001 내지 0.15 mg/kg, 0.0001 내지 0.10 mg/kg, 0.001 내지 0.5 mg/kg, 0.01 내지 0.25 mg/kg 또는 0.01 내지 0.10 mg/kg일 수 있다. 본 발명의 항체 또는 그의 단편의 투여량 (mg/kg)은 환자의 체중 (킬로그램(kg))에 투여되는 용량을 곱하는 것을 이용하여 계산될 수 있다.

[0550] 본 발명의 면역접합체의 투여가 반복될 수 있고, 투여는 적어도 1일, 2일, 3일, 5일, 10일, 15일, 30일, 45일, 2개월, 75일, 3개월, 또는 적어도 6개월 간격일 수 있다. 구체적 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체의 투여가 3주마다 반복된다.

[0551] 치료할 상태, 환자의 전반적인 건강, 투여 방법 경로 및 용량, 및 부작용의 중증도와 같은 요인들에 따라 특정한 환자에 대한 유효량이 달라질 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Maynard et al., A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, Fla., 1996; Dent, Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UK, 2001] 참조).

[0552] 투여 경로는, 예를 들어 국소 또는 피부 적용, 정맥내, 복강내, 뇌내, 근육내, 안내, 동맥내, 뇌척수내, 병변내 주사 또는 주입, 또는 지속 방출 시스템 또는 이식에 의한 것일 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Sidman et al.,

Biopolymers 22:547-556, 1983; Langer et al., J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277, 1981; Langer, Chem. Tech. 12:98-105, 1982; Epstein et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688-3692, 1985; Hwang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030-4034, 1980]; 미국 특허 번호 6,350,466 및 6,316,024 참조). 필요한 경우에, 조성물은 가용화제 및 주사 부위에서 통증을 완화하기 위한 국부 마취제, 예컨대 리도카인을 또한 포함할 수 있다. 또한, 예를 들어 흡입기 또는 네뷸라이저의 사용, 및 에어로졸화제를 사용한 제제화에 의한 폐 투여도 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 6,019,968, 5,985,320, 5,985,309, 5,934,272, 5,874,064, 5,855,913, 5,290,540, 및 4,880,078; 및 PCT 공개 번호 WO 92/19244, WO 97/32572, WO 97/44013, WO 98/31346, 및 WO 99/66903을 참조하며, 이들은 각각 그의 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0553] 또한, 본 발명의 조성물은 관련 기술분야에 공지된 하나 이상의 다양한 방법을 이용하여 하나 이상의 투여 경로를 통해 투여될 수 있다. 통상의 기술자가 인지하는 바와 같이, 투여 경로 및/또는 방식은 원하는 결과에 따라 달라질 것이다. 본 발명의 면역접합체에 대한 선택된 투여 경로는 정맥내, 근육내, 피내, 복막내, 피하, 척수 또는 다른 비경구 투여 경로, 예를 들어 주사 또는 주입에 의한 것을 포함한다. 비경구 투여는 경장 및 국소 투여 이외의 다른, 통상적으로 주사에 의한 투여 방식을 나타내고, 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 피막내, 안와내, 심장내, 피내, 복강내, 경기관, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외 및 흉골내 주사 및 주입을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 대안적으로, 본 발명의 조성물은 비-비경구 경로를 통해, 예컨대 국소, 표피 또는 점막 투여 경로, 예를 들어 비강내, 경구, 질, 직장, 설하 또는 국소로 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 주입에 의해 투여된다. 또 다른 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 피하로 투여된다.

[0554] 본 발명의 면역접합체가 제어 방출 또는 지속 방출 시스템으로 투여되는 경우에, 제어 또는 지속 방출을 달성하기 위해 펌프가 사용될 수 있다 (문헌 [Langer, 상기 문헌; Sefton, CRC Crit. Ref Biomed. Eng. 14:20, 1987; Buchwald et al., Surgery 88:507, 1980; Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574, 1989] 참조). 본 발명의 요법의 제어 또는 지속 방출을 달성하기 위해 중합체 물질이 사용될 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Fla., 1974; Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York, 1984; Ranger and Peppas, J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61, 1983] 참조; 또한 문헌 [Levy et al., Science 228:190, 1985; During et al., Ann. Neurol. 25:351, 1989; Howard et al., J. Neurosurg. 7 1:105, 1989]; 미국 특허 번호 5,679,377; 미국 특허 번호 5,916,597; 미국 특허 번호 5,912,015; 미국 특허 번호 5,989,463; 미국 특허 번호 5,128,326; PCT 공개 번호 WO 99/15154; 및 PCT 공개 번호 WO 99/20253 참조). 지속 방출 제제에 사용된 중합체의 예는 폴리(2-히드록시 에틸 메타크릴레이트), 폴리(메틸 메타크릴레이트), 폴리(아크릴산), 폴리(에틸렌-코-비닐 아세테이트), 폴리(메타크릴산), 폴리글리콜리드 (PLG), 폴리무수물, 폴리(N-비닐 피롤리돈), 폴리(비닐 알콜), 폴리아크릴아미드, 폴리(에틸렌 글리콜), 폴리락티드 (PLA), 폴리(락티드-코-글리콜리드) (PLGA) 및 폴리오르토에스테르를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 한 실시양태에서, 지속 방출 제제에 사용되는 중합체는 불활성이고, 여과가능한 불순물이 없고, 저장, 멸균 및 생분해성에 대해 안정하다. 제어 또는 지속 방출 시스템이 예방적 또는 치료적 표적에 인접하게 놓일 수 있고, 따라서 전신 용량의 일부만을 필요로 한다 (예를 들어, 문헌 [Goodson, in Medical Applications of Controlled Release, 상기 문헌, vol. 2, pp. 115-138, 1984] 참조).

[0555] 문헌 [Langer, Science 249:1527-1533, 1990]의 검토에서 제어 방출 시스템이 논의된다. 통상의 기술자에게 공지된 임의의 기술을 본 발명의 하나 이상의 면역접합체를 포함하는 지속 방출 제제를 생산하는데 사용할 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 번호 4,526,938, PCT 공개 WO 91/05548, PCT 공개 WO 96/20698, 문헌 [Ning et al., Radiotherapy & Oncology 39:179-189, 1996; Song et al., PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology 50:372-397, 1995; Cleek et al., Pro. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24:853-854, 1997; 및 Lam et al., Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24:759-760, 1997]을 참조하며, 이들은 각각 그의 전문이 본원에 참조로 포함된다.

[0556] 본 발명의 면역접합체가 국소로 투여되는 경우에, 이는 연고, 크림, 경피 패치, 로션, 겔, 샴푸, 스프레이, 에어로졸, 용액, 에멀젼 형태, 또는 통상의 기술자에게 널리 공지된 다른 형태로 제제화될 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Remington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 19th ed., Mack Pub. Co., Easton, Pa. (1995)]을 참조한다. 비-분무가능한 국소 투여 형태의 경우, 국소 적용에 적합한 담체 또는 하나 이상의 부형제를 포함하고 일부 경우에 물보다 큰 동적 점도를 갖는 점성 내지 반고체 또는 고체 형태가 전형적으로 사용된다. 적합한 제제는, 원하는 경우에 멸균되거나 또는 예를 들어 삼투압과 같은 다

양한 특성에 영향을 주는 보조제 (예를 들어, 보존제, 안정화제, 습윤제, 완충제, 또는 염)와 혼합되는 용액, 현탁액, 에멀젼, 크림, 연고, 분말, 도찰제, 살브 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 다른 적합한 국소 투여 형태는 일부 경우에 활성 성분이 고체 또는 액체 불활성 담체와 조합되어 가압된 휘발물질 (예를 들어, 기체상 추진제, 예컨대 프레온(Freon)™)의 혼합물에 또는 압착병에 충전되는 분무가능한 에어로졸 제제를 포함한다. 보습제 또는 함습제가 또한 원하는 경우에 제약 조성물 및 투여 형태에 첨가될 수 있다. 이러한 추가의 성분의 예는 관련 기술분야에 공지되어 있다.

[0557] 면역접합체를 포함하는 조성물이 비강내로 투여되는 경우에, 이는 에어로졸 형태, 스프레이, 미스트 내에 또는 점적제의 형태로 제제화될 수 있다. 특히, 본 발명에 따라 사용하기 위한 예방제 또는 치료제는 적합한 추진제 (예를 들어, 디클로로디플루오로메탄, 트리클로로플루오로메탄, 디클로로테트라플루오로에탄, 이산화탄소 또는 다른 적합한 기체)를 사용하여 가압 팩 또는 네뷸라이저로부터 에어로졸 스프레이 제공 형태로 편리하게 전달될 수 있다. 가압 에어로졸의 경우에, 투여 단위는 계량된 양을 전달하기 위해 밸브를 제공함으로써 결정될 수 있다. 흡입기 또는 취입기에 사용하기 위한, 캡슐 및 카트리지 (예를 들어, 젤라틴으로 구성됨)는 화합물의 분말 혼합물 및 적합한 분말 기제, 예컨대 락토스 또는 전분을 함유하여 제제화될 수 있다.

[0558] 제2 치료제, 예를 들어 시토카인, 스테로이드, 화학요법제, 항생제 또는 방사선과의 공-투여 또는 이를 사용한 치료를 위한 방법이 관련 기술분야에 공지되어 있다 (예를 들어, 문헌 [Hardman et al., (eds.) (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10.sup.th ed., McGraw-Hill, New York, N.Y.; Poole and Peterson (eds.) (2001) Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.; Chabner and Longo (eds.) (2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., Pa.] 참조). 유효량의 치료제는 증상을 적어도 10%; 적어도 20%; 적어도 약 30%; 적어도 40%, 또는 적어도 50% 감소시킬 수 있다.

[0559] 본 발명의 면역접합체와 조합되어 투여될 수 있는 추가의 요법 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)은 본 발명의 면역접합체와 5분 미만의 간격, 30분 미만의 간격, 1시간 간격, 약 1시간 간격, 약 1 내지 약 2시간 간격, 약 2시간 내지 약 3시간 간격, 약 3시간 내지 약 4시간 간격, 약 4시간 내지 약 5시간 간격, 약 5시간 내지 약 6시간 간격, 약 6시간 내지 약 7시간 간격, 약 7시간 내지 약 8시간 간격, 약 8시간 내지 약 9시간 간격, 약 9시간 내지 약 10시간 간격, 약 10시간 내지 약 11시간 간격, 약 11시간 내지 약 12시간 간격, 약 12시간 내지 18시간 간격, 18시간 내지 24시간 간격, 24시간 내지 36시간 간격, 36시간 내지 48시간 간격, 48시간 내지 52시간 간격, 52시간 내지 60시간 간격, 60시간 내지 72시간 간격, 72시간 내지 84시간 간격, 84시간 내지 96시간 간격, 또는 96시간 내지 120시간 간격으로 투여될 수 있다. 2종 이상의 요법제는 1회 동일한 환자 방문에서 투여될 수 있다.

[0560] 특정 실시양태에서, 본 발명의 면역접합체는 생체내에서 적합한 분포가 보장되도록 제제화될 수 있다. 예를 들어, 혈액-뇌 장벽 (BBB)은 고도로 친수성인 많은 화합물을 배제시킨다. 본 발명의 치료 화합물이 (원하는 경우에) BBB를 확실하게 횡단하도록 하기 위해, 이들은 예를 들어 리포솜 내에 제제화될 수 있다. 리포솜 제조 방법에 대해, 예를 들어 미국 특허 번호 4,522,811; 5,374,548; 및 5,399,331을 참조한다. 리포솜은 특정 세포 또는 기관 내로 선택적으로 수송되어 표적화 약물 전달을 증진시키는 하나 이상의 모이어티를 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [Ranade, (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685] 참조). 예시적 표적화 모이어티는 폴레이트 또는 비오틴 (예를 들어, 미국 특허 번호 5,416,016 (Low et al.) 참조); 만노시드 (Umezawa et al., (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1038); 항체 (Bloeman et al., (1995) FEBS Lett. 357:140; Owais et al., (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39:180); 계면활성제 단백질 A 수용체 (Briscoe et al., (1995) Am. J. Physiol. 1233:134); p 120 (Schreier et al., (1994) J. Biol. Chem. 269:9090)을 포함하고, 문헌 [K. Keinanen; M. L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346:123; J. J. Killion; I. J. Fidler (1994) Immunomethods 4:273]을 또한 참조한다.

[0561] 본 발명은 본 발명의 면역접합체를 포함하는 제약 조성물을 이를 필요로 하는 대상체에게 단독으로 또는 다른 요법과 조합하여 투여하기 위한 프로토콜을 제공한다. 본 발명의 조합 요법의 요법제 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)는 대상체에게 공동으로 또는 순차적으로 투여될 수 있다. 본 발명의 조합 요법의 요법제 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)는 또한 주기적으로 투여될 수 있다. 주기적 요법은 소정의 기간 동안의 제1 요법제 (예를 들어, 제1 예방제 또는 치료제)의 투여, 이어서 소정의 기간 동안의 제2 요법제 (예를 들어, 제2 예방제 또는 치료제)의 투여 및 상기 순차적인 투여의 반복, 즉 요법제 (예를 들어, 작용제) 중 하나에 대한 내성의 발생을 감소시키고/거나, 요법제 (예를 들어, 작용제) 중 하나의 부작용을 방지 또는 감소시키고/거나, 요법제의 효능

을 개선시키기 위한 순환을 포함한다.

[0562] 본 발명의 조합 요법의 요법제 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)는 대상체에게 공동으로 투여될 수 있다.

[0563] 용어 "공동으로"는 정확히 동일한 시간에서의 요법제 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)의 투여로 제한되지 않으며, 오히려 본 발명의 항체 또는 그의 단편을 포함하는 제약 조성물을 본 발명의 항체가 다른 요법제(들)와 함께 작용하여 이들이 다르게 투여된 경우보다 증가된 이익을 제공할 수 있도록 하는 순서 및 시간 간격으로 대상체에게 투여하는 것을 의미한다. 예를 들어, 각각의 요법제는 동시에 또는 상이한 시점에서 임의의 순서로 순차적으로 대상체에게 투여될 수 있지만; 동시에 투여되지 않을 경우에도, 이들은 목적하는 치료 또는 예방 효과를 제공하기 위해 충분히 가까운 시간 간격으로 투여되어야 한다. 각각의 요법제는 임의의 적절한 형태로 및 임의의 적합한 경로에 의해 대상체에게 개별 투여될 수 있다. 다양한 실시양태에서, 요법제 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)는 대상체에게 15분 미만, 30분 미만, 1시간 미만 간격, 약 1시간 간격, 약 1시간 내지 약 2시간 간격, 약 2시간 내지 약 3시간 간격, 약 3시간 내지 약 4시간 간격, 약 4시간 내지 약 5시간 간격, 약 5시간 내지 약 6시간 간격, 약 6시간 내지 약 7시간 간격, 약 7시간 내지 약 8시간 간격, 약 8시간 내지 약 9시간 간격, 약 9시간 내지 약 10시간 간격, 약 10시간 내지 약 11시간 간격, 약 11시간 내지 약 12시간 간격, 24시간 간격, 48시간 간격, 72시간 간격, 또는 1주 간격으로 투여될 수 있다. 다른 실시양태에서, 2종 이상의 요법제 (예를 들어, 예방제 또는 치료제)는 동일한 환자 방문에서 투여된다.

[0564] 조합 요법의 예방제 또는 치료제는 대상체에게 동일한 제약 조성물로 투여될 수 있다. 대안적으로, 조합 요법의 예방제 또는 치료제는 대상체에게 개별 제약 조성물로 공동으로 투여될 수 있다. 예방제 또는 치료제는 대상체에게 동일한 또는 상이한 투여 경로로 투여될 수 있다.

[0565] 본 발명이 상세하게 기재되었으나, 하기 실시예 및 청구범위에 의해 추가로 설명되며, 이는 예시적인 것이지 추가의 제한을 의미하는 것은 아니다.

[0566] **실시예**

[0567] **실시예 1. 인간 IgG1 중쇄 및 카파 경쇄 내의 Cys 돌연변이를 위한 표면 접근가능 부위의 선택.**

[0568] 인간 IgG1 중쇄 및 인간 카파 경쇄의 불변 영역 내의 표면 노출된 잔기를, 문헌 [Tsodikov et al., "A novel computer program for fast exact calculation of accessible and molecular surface areas and average surface curvature," J. Comput. Chem., 23, 600-609 (2002)]에 기재된 바와 같이 컴퓨터 프로그램 서페이스 레이서 5.0을 이용하여 hIgG1/카파 항체의 결정 구조 (단백질 데이터뱅크 구조 엔트리 1HZH.pdb, 표 6, 표 7, 도 1)에서 확인하였다. 하기 기준에 기초하여, 88개의 잔기 (hIgG 중쇄에서 59개 부위 및 인간 카파 경쇄에서 29개 부위)가 Cys 치환을 위해 선택되었다: 1) 중쇄의 불변 영역 및 경쇄의 불변 영역의 CH1, CH2 및 CH3 도메인 내의 잔기를 선택함; 2) 표면 노출된 잔기를 선택하되 항체간 이량체 형성을 방지하기 위해 전체적으로 노출된 잔기 및 C-말단 영역을 회피함; 3) 극성 또는 하전된 잔기, 예컨대 Ser, Thr, Lys, Arg, Glu, 및 Asp에 초점을 맞춤; 및 4) FcRn 결합 도메인, 단백질 A 결합 도메인, 및 중쇄 힌지 영역 내의 잔기를 배제함.

[0569] 기준 1), 즉 항체의 불변 영역 내의 Cys 치환 부위의 선택은 접합 부위의, 다수의 상이한 항체에 대한 전환성 (transferability)을 보장한다. 기준 2)는 주요 노출된 잔기의 Cys 치환에서 항체간 이량체 형성의 관찰에 기초한다 (이러한 기준에 기초하여 배제된 잔기는 표 6에 열거됨). IgG 결정 구조에 기초하여, Cys 측쇄의 추정되는 배향은 다음을 고려하였다: Cys 측쇄가 또 다른 항체와의 상호작용으로부터 부분적으로 차폐될 수 있으나 여전히 소분자 페이로드와 반응할 수 있는 잔기가, 보다 큰 표면 접근성을 갖지만 큰 거대분자와의 상호작용, 예컨대 이량체 형성을 가능하게 할 수 있는 배향을 갖는 잔기보다 유리하다. 기준 3)은 항체 상의 돌연변이의 불안정화 영향을 최소화하기 위해 보존적 돌연변이를 우선으로 하도록 이행되었다. 유사하게, 기준 4)는 항체에 대한 기능적 변화, 예컨대 각각 항체의 약동학적 특성에 영향을 미칠 수 있거나 또는 정제 핸들의 손실을 발생시킬 수 있는 FcRn 및 단백질 A 결합에 대한 영향을 방지하기 위해 사용되었다. 기준 4에 기초하여 배제된 잔기는 표 6에 열거되어 있다. hIgG1/카파의 구조 모델 내의 88개 선택된 돌연변이 부위의 위치는 선택된 부위가 표면 접근가능하다는 것을 나타낸다 (도 2).

[0570] [표 6] 인간 IgG1 중쇄 내의 아미노산 잔기의 표면 접근성. 표면 접근성은 서페이스 레이서 5.0을 이용하여 계산하였고, 옹스트롬 제곱 [$Å^2$]으로 표현된다. "배제된 부위"는 실시예 1에 언급된 이유로 인해 선택으로부터 배제된 부위를 나타낸다. "선택된 부위"는 본 발명에서 Cys로의 치환을 위해 선택된 부위이다.

Eu 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	배제 이유 (적용가능한 경우)	선택된 부위
117	SER	128		HC-S117C
118	ALA	2		
119	SER	79		HC-S119C
120	THR	71		
121	LYS	136		HC-K121C
122	GLY	21		
123	PRO	2		
124	SER	40		HC-S124C
125	VAL	0		
126	PHE	1		
127	PRO	0		
128	LEU	0		
129	ALA	0		
130	PRO	0		
131	SER	0		
132	SER	34		HC-S132C
133	LYS	87		
134	SER	123		HC-S134C
135	THR	1		
136	SER	183		HC-S136C
137	GLY	84		
138	GLY	40		
139	THR	33		HC-T139C
140	ALA	0		
141	ALA	0		
142	LEU	0		
143	GLY	0		
144	CYS	0		
145	LEU	0		
146	VAL	0		
147	LYS	0		
148	ASP	1		
149	TYR	0		
150	PHE	0		
151	PRO	0		
152	GLU	52		HC-E152C
153	PRO	89		HC-P153C
154	VAL	10		
155	THR	69		HC-T155C
156	VAL	0		
157	SER	39		HC-S157C
158	TRP	0		

[0571]

Eu 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	배제 이유 (적용가능한 경우)	선택된 부위
159	ASN	4		
160	SER	164	이량체	
161	GLY	35	이량체	
162	ALA	115	이량체	
163	LEU	17		
164	THR	125		HC-T164C
165	SER	183		HC-S165C
166	GLY	20		
167	VAL	12		
168	HIS	5		
169	THR	60		HC-T169C
170	PHE	0		
171	PRO	33		HC-P171C
172	ALA	9		
173	VAL	0		
174	LEU	68		HC-L174C
175	GLN	0		
176	SER	162		HC-S176C
177	SER	68		HC-S177C
178	GLY	8		
179	LEU	0		
180	TYR	6		
181	SER	0		
182	LEU	2		
183	SER	0		
184	SER	0		
185	VAL	0		
186	VAL	0		
187	THR	30		
188	VAL	0		
189	PRO	86		HC-P189C
190	SER	21		
191	SER	127		HC-S191C
192	SER	17		
193	LEU	0		
194	GLY	18		
195	THR	111		HC-T195C
196	GLN	79		
197	THR	90		HC-T197C
198	TYR	0		
199	ILE	25		
200	CYS	0		

[0572]

Eu 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	배제 이유 (적용가능한 경우)	선택된 부위
201	ASN	8		
202	VAL	0		
203	ASN	22		
204	HIS	0		
205	LYS	217		HC-K205C
206	PRO	66		
207	SER	50		HC-S207C
208	ASN	91		
209	THR	24		
210	LYS	234	이량체	
211	VAL	30		
212	ASP	97		HC-D212C
213	LYS	70		
214	LYS	146		
215	ALA	0		
216	GLU	79		
217	PRO	0		
218	LYS	4		
219	SER	149		
220	CYS	7		
221	ASP	0	힌지	
222	LYS	208	힌지	
223	THR	112	힌지	
224	HIS	1	힌지	
225	THR	22	힌지	
226	CYS	12	힌지	
227	PRO	22	힌지	
228	PRO	133	힌지	
229	CYS	7	힌지	
230	PRO	84	힌지	
231	ALA	114	힌지	
232	PRO	49	힌지	
233	GLU	114	힌지	
234	LEU	90		
235	LEU	88		
236	GLY	9		
237	GLY	46		
238	PRO	14		
239	SER	9		
240	VAL	0		
241	PHE	0		
242	LEU	0		

[0573]

Eu 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	배제 이유 (적용가능한 경우)	선택된 부위
243	PHE	1		
244	PRO	34		
245	PRO	0		
246	LYS	55		HC-K246C
247	PRO	18		
248	LYS	47		
249	ASP	1		
250	THR	0	FcRn 결합	
251	LEU	0		
252	MET	53	단백질A, FcRn 결합	
253	ILE	155	단백질 A 결합	
254	SER	157	단백질A, FcRn 결합	
255	ARG	103		
256	THR	86	FcRn 결합	
257	PRO	0	FcRn 결합	
258	GLU	42		HC-E258C
259	VAL	0	FcRn 결합	
260	THR	0		
261	CYS	0		
262	VAL	0		
263	VAL	0		
264	VAL	0		
265	ASP	11	FcRn 결합	
266	VAL	0		
267	SER	10		
268	HIS	79		
269	GLU	189		HC-E269C
270	ASP	23		
271	PRO	20		
272	GLU	152		
273	VAL	19		
274	LYS	138		HC-K274C
275	PHE	2		
276	ASN	1		
277	TRP	0		
278	TYR	14		
279	VAL	0		
280	ASP	66		
281	GLY	72		
282	VAL	141		

[0574]

Eu 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	배제 이유 (적용가능한 경우)	선택된 부위
283	GLU	80		
284	VAL	25		
285	HIS	133		
286	ASN	119		HC-N286C
287	ALA	67		
288	LYS	182		HC-K288C
289	THR	5		
290	LYS	177		HC-K290C
291	PRO	51		
292	ARG	252		HC-R292C
293	GLU	83		HC-E293C
294	GLU	73		HC-E294C
295	GLN	170		
296	TYR	29		
297	ASN	61	글리코실화	
298	SER	125	글리코실화	
299	THR	2	글리코실화	
300	TYR	28		
301	ARG	18		
302	VAL	0		
303	VAL	10		
304	SER	0		
305	VAL	17		
306	LEU	0		
307	THR	27	FcRn 결합	
308	VAL	0	FcRn 결합	
309	LEU	122		
310	HIS	4	단백질 A 결합	
311	GLN	145	단백질 A, FcRn 결합	
312	ASP	14		
313	TRP	0		
314	LEU	6	단백질 A 결합	
315	ASN	151	단백질 A 결합	
316	GLY	12		
317	LYS	81		
318	GLU	49		
319	TYR	0		
320	LYS	55		HC-K320C
321	CYS	0		
322	LYS	78		HC-K322C

[0575]

Eu 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	배제 이유 (적용가능한 경우)	선택된 부위
323	VAL	0		
324	SER	0		
325	ASN	0		
326	LYS	213		HC-K326C
327	ALA	10		
328	LEU	9		
329	PRO	158		
330	ALA	96		HC-A330C
331	PRO	44		
332	ILE	32		
333	GLU	85		HC-E333C
334	LYS	50		HC-K334C
335	THR	70		HC-T335C
336	ILE	13		
337	SER	15		HC-S337C
338	LYS	0		
339	ALA	37		
340	LYS	217	단백질 A 결합	
341	GLY	37		
342	GLN	235		
343	PRO	42		
344	ARG	98		HC-R344C
345	GLU	105		
346	PRO	0		
347	GLN	24		
348	VAL	3		
349	TYR	3		
350	THR	0		
351	LEU	0		
352	PRO	38		
353	PRO	0		
354	SER	0		
355	ARG	249		HC-R355C
356	ASP	53		
357	GLU	0		
358	LEU	36		
359	THR	144	이량체	
360	LYS	114		HC-K360C
361	ASN	155		
362	GLN	41		HC-Q362C
363	VAL	0		
364	SER	0		

[0576]

Eu 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	배제 이유 (적용가능한 경우)	선택된 부위
365	LEU	0		
366	THR	0		
367	CYS	0		
368	LEU	0		
369	VAL	0		
370	LYS	1		
371	GLY	0		
372	PHE	0		
373	TYR	23		
374	PRO	0		
375	SER	29		HC-S375C
376	ASP	9		
377	ILE	11		
378	ALA	11		
379	VAL	4		
380	GLU	18	FcRn 결합	
381	TRP	0		
382	GLU	22		HC-E382C
383	SER	1		
384	ASN	147		
385	GLY	102	이량체	
386	GLN	161		
387	PRO	99		
388	GLU	4		
389	ASN	189		HC-N389C
390	ASN	36		HC-N390C
391	TYR	44		
392	LYS	82		HC-K392C
393	THR	36		HC-T393C
394	THR	0		
395	PRO	72		
396	PRO	47		
397	VAL	9		
398	LEU	111		HC-L398C
399	ASP	0		
400	SER	81		HC-S400C
401	ASP	68		
402	GLY	29		
403	SER	0		
404	PHE	22		
405	PHE	0		
406	LEU	0		

[0577]

Eu 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	배제 이유 (적용가능한 경우)	선택된 부위
407	TYR	0		
408	SER	0		
409	LYS	0		
410	LEU	0		
411	THR	0		
412	VAL	0		
413	ASP	80		HC-D413C
414	LYS	83		
415	SER	69		HC-S415C
416	ARG	53		
417	TRP	0		
418	GLN	108		
419	GLN	177		
420	GLY	39		
421	ASN	35		
422	VAL	81		HC-V422C
423	PHE	0		
424	SER	2		
425	CYS	0		
426	SER	0		
427	VAL	0		
428	MET	0	FcRn 결합	
429	HIS	0		
430	GLU	14		
431	ALA	22		
432	LEU	1		
433	HIS	227	단백질 A 결합	
434	ASN	126	단백질 A, FcRn 결합	
435	HIS	28		
436	TYR	54		
437	THR	36		
438	GLN	82		
439	LYS	12		
440	SER	62		
441	LEU	2		
442	SER	34		
443	LEU	101		
444	SER	70	이량체	

[0578]

[0579] [표 7] 인간 카파 경쇄 내의 아미노산 잔기의 표면 접근성. 표면 접근성은 서페이스 레이서 5.0을 이용하여 계산하였고, 옹스트롬 제곱 [$Å^2$]으로 표현된다. "선택된 부위"는 본 발명에서 Cys로의 치환을 위해 선택된 부위를 나타낸다.

EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 부위	EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 부위
107	LYS	90	LC-K107C	161	GLU	66	LC-E161C
108	ARG	49	LC-R108C	162	SER	8	
109	THR	148	LC-T109C	163	VAL	14	
110	VAL	77		164	THR	5	
111	ALA	16		165	GLU	74	LC-E165C
112	ALA	50	LC-A112C	166	GLN	8	
113	PRO	2		167	ASP	13	
114	SER	39	LC-S114C	168	SER	170	LC-S168C
115	VAL	0		169	LYS	241	LC-K169C
116	PHE	0		170	ASP	48	LC-D170C
117	ILE	0		171	SER	1	
118	PHE	0		172	THR	0	
119	PRO	0		173	TYR	0	
120	PRO	0		174	SER	0	
121	SER	0		175	LEU	0	
122	ASP	90	LC-D122C	176	SER	0	
123	GLU	51	LC-E123C	177	SER	0	
124	GLN	0		178	THR	0	
125	LEU	21		179	LEU	0	
126	LYS	230		180	THR	13	
127	SER	101		181	LEU	21	
128	GLY	12		182	SER	59	LC-S182C
129	THR	41	LC-T129C	183	LYS	131	LC-K183C
130	ALA	0		184	ALA	32	
131	SER	0		185	ASP	52	
132	VAL	0		186	TYR	0	
133	VAL	0		187	GLU	77	
134	CYS	0		188	LYS	201	LC-K188C
135	LEU	0		189	HIS	42	
136	LEU	0		190	LYS	167	LC-K190C
137	ASN	5		191	VAL	58	LC-V191C
138	ASN	18		192	TYR	0	
139	PHE	0		193	ALA	0	
140	TYR	0		194	CYS	0	
141	PRO	3		195	GLU	12	
142	ARG	55	LC-R142C	196	VAL	0	

[0580]

EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 부위	EU 번호	잔기	표면 접근성 [Å²]	선택된 부위
143	GLU	117	LC-E143C	197	THR	38	LC-T197C
144	ALA	7		198	HIS	4	
145	LYS	160	LC-K145C	199	GLN	127	LC-Q199C
146	VAL	11		200	GLY	11	
147	GLN	22		201	LEU	17	
148	TRP	0		202	ARG	343	
149	LYS	48		203	SER	110	LC-S203C
150	VAL	0		204	PRO	69	
151	ASP	59		205	VAL	30	
152	ASN	157	LC-N152C	206	THR	70	LC-T206C
153	ALA	51		207	LYS	44	
154	LEU	117	LC-L154C	208	SER	47	
155	GLN	26		209	PHE	5	
156	SER	122	LC-S156C	210	ASN	44	
157	GLY	114		211	ARG	89	
158	ASN	19		212	GLY	15	
159	SER	22	LC-S159C	213	GLU	107	
160	GLN	36		214	CYS	58	

[0581]

[0582] **실시예 2. 트라스투주맙 Cys 돌연변이체 항체의 제조.**

[0583] 트라스투주맙의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 코딩하는 DNA를 화학적으로 합성하고, 인간 IgG1 및 인간 카파 경쇄의 불변 영역을 함유하는 2가지 포유동물 발현 벡터, pOG-HC 및 pOG-LC에 클로닝하여, 각각 2가지 야생형 구축물, pOG-트라스투주맙 HC 및 pOG-트라스투주맙 LC를 생성하였다. 벡터에서, 포유동물 세포에서의 항체 중쇄 및 경쇄 구축물의 발현은 CMV 프로모터에 의해 구동된다. 벡터는 중쇄 또는 경쇄의 N-말단 내에 합성 24개 아미노산 신호 서열: MKTFILLLWVLLLWVIFLLPGATA (서열 99)를 함유하여, 포유동물 세포로부터의 그의 분비를 안내한다. 신호 서열은 293 프리스타일(Freestyle)™ 세포에서 수백개의 포유동물 단백질의 단백질 분비를 지시하는데 효율적인 것으로 입증되었다. 올리고뉴클레오티드 지시된 돌연변이유발을 이용하여 트라스투주맙에서 Cys 돌연변이체 구축물을 제조하였다. 실시예 1에 기재된 바와 같은 인간 IgG1 중쇄 및 카파 경쇄의 불변 영역에서 선택된 88개의 Cys 돌연변이에 상응하는 88개 쌍의 돌연변이 프라이머 (표 8)를 화학적으로 합성하였다. 센스 및 안티센스 돌연변이 프라이머를 PCR 증폭 전에 혼합하였다. 주형으로서 pOG-트라스투주맙 HC 및 pOG-트라스투주맙 LC를 사용하는 PfuUltra II 퓨전 HS DNA 폴리머라제 (스트라타진(Stratagene))를 사용하여 PCR 반응을 수행하였다. PCR 반응 후에, PCR 생성물을 아가로스 겔 상에서 확인하고, DPN I로 처리한 후에 DH5a 세포에 형질전환시켰다 (Klock et al., (2009) Methods Mol Biol. 498:91-103).

[0584] 88개 Cys 돌연변이체 구축물의 서열을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 야생형 트라스투주맙 중쇄의 전장 아미노산 서열은 서열 1로 제시되고, 경쇄의 전장 아미노산 서열은 서열 90으로 제시된다. 59개 트라스투주맙 HC Cys 돌연변이체 구축물 (서열 2 내지 서열 60) 및 29개 트라스투주맙 LC Cys 돌연변이체 구축물 (서열 61 내지 서열 89)의 불변 영역의 코딩된 단백질 서열이 각각 표 9 및 표 10에 제시된다. 인간 IgG1 중쇄 및 인간 카파 경쇄 내의 아미노산 잔기는 Eu 넘버링 시스템에 의해 넘버링된다 (Edelman et al., (1969) Proc Natl Acad Sci U S A, 63:78-85).

[0585] [표 8] 인간 IgG1의 중쇄 및 경쇄의 88개의 Cys 돌연변이를 제조하는데 사용된 돌연변이 프라이머의 DNA 서열.

돌연변이 부위	프라이머 명칭	서열	서열 번호
LC-K107C	LC-CYS-S1	GTGGAGATCTGTCGAACGGTGGCCGCTC CCAGCGTGTTCA	100
	LC-CYS-A1	ACCGTTCGACAGATCTCCACCTTGGTACC CTGTCCGAAC	101
LC-R108C	LC-CYS-S2	GGAGATCAAATGCACGGTGGCCGCTCCC AGCGTGTTCATCT	102
	LC-CYS-A2	GCCACCGTGCATTTGATCTCCACCTTGGT ACCCTGTCCGA	103
LC-T109C	LC-CYS-S3	GATCAAACGATGTGTGGCCGCTCCCAGC GTGTTCATCTTCC	104
	LC-CYS-A3	GCGGCCACACATCGTTTGATCTCCACCTT GGTACCCTGTC	105
LC-A112C	LC-CYS-S4	ACGGTGGCCTGTCCCAGCGTGTTCATCTT CCCCCCCAGCGA	106
	LC-CYS-A4	CACGCTGGGACAGGCCACCGTTCGTTTG ATCTCCACCTTG	107
LC-S114C	LC-CYS-S5	GCCGCTCCCTGCGTGTTCATCTTCCCCCC CAGCGACGAGCA	108
	LC-CYS-A5	ATGAACACGCAGGGAGCGGCCACCGTTC GTTTGATCTCCA	109
LC-D122C	LC-CYS-S6	CCCCCAGCTGTGAGCAGCTGAAGAGCGG CACCGCCAGCGT	110
	LC-CYS-A6	CAGCTGCTCACAGCTGGGGGGGGAAGATG AACACGCTGGGA	111
LC-E123C	LC-CYS-S7	CCCAGCGACTGTCAGCTGAAGAGCGGCA CCGCCAGCGTG	112
	LC-CYS-A7	TTCAGCTGACAGTCGCTGGGGGGGGAAGA TGAACACGCTG	113
LC-T129C	LC-CYS-S10	AGAGCGGCTGTGCCAGCGTGGTGTGCCT GCTGAACAACTT	114
	LC-CYS-A10	CACGCTGGCACAGCCGCTCTTCAGCTGCT CGTCGCTGGGG	115
LC-R142C	LC-CYS-S11	TCTACCCCTGTGAGGCCAAGGTGCAGTG	116

[0586]

돌연변이 부위	프라이머 명칭	서열	서열 번호
		GAAGGTGGACAA	
	LC-CYS-A11	TTGGCCTCACAGGGGTAGAAGTTGTTCA GCAGGCACACCA	117
LC-E143C	LC-CYS-S12	TACCCCCGGTGTGCCAAGGTGCAGTGGA AGGTGGACAAC	118
	LC-CYS-A12	ACCTTGGCACACCGGGGGTAGAAGTTGT TCAGCAGGCACA	119
LC-K145C	LC-CYS-S13	CGGGAGGCCTGCGTGCAGTGGAAGGTGG ACAACGCCCTGC	120
	LC-CYS-A13	CACTGCACGCAGGCCTCCCGGGGGTAGA AGTTGTTCAGCA	121
LC-N152C	LC-CYS-S14	AAGGTGGACTGTGCCCTGCAGAGCGGCA ACAGCCAGGAGA	122
	LC-CYS-A14	TGCAGGGCACAGTCCACCTTCCACTGCAC CTTGGCCTCCC	123
LC-L154C	LC-CYS-S15	GACAACGCCTGTCAGAGCGGCAACAGCC AGGAGAGCGTCA	124
	LC-CYS-A15	TGCCGCTCTGACAGGCGTTGTCCACCTTC CACTGCACCTTG	125
LC-S156C	LC-CYS-S16	GCCCTGCAGTGTGGCAACAGCCAGGAGA GCGTCACCGAGCA	126
	LC-CYS-A16	GCTGTTGCCACACTGCAGGGCGTTGTCCA CCTTCCACTGCA	127
LC-S159C	LC-CYS-S18	AGCGGCAACTGTCAGGAGAGCGTCACCG AGCAGGACAGCAA	128
	LC-CYS-A18	CTCTCCTGACAGTTGCCGCTCTGCAGGGC GTTGTCCACCT	129
LC-E161C	LC-CYS-S19	AACAGCCAGTGCAGCGTCACCGAGCAGG ACAGCAAGGACT	130
	LC-CYS-A19	GTGACGCTGCACTGGCTGTTGCCGCTCTG CAGGGCGTTGT	131
LC-E165C	LC-CYS-S20	GAGCGTCACCTGTCAGGACAGCAAGGAC TCCACCTACAGC	132
	LC-CYS-A20	CTGTCCTGACAGGTGACGCTCTCCTGGCT GTTGCCGCTCT	133
LC-S168C	LC-CYS-S21	GAGCAGGACTGCAAGGACTCCACCTACA GCCTGAGCAGCA	134
	LC-CYS-A21	GAGTCCTTGCAGTCCTGCTCGGTGACGCT CTCCTGGCTGT	135
LC-K169C	LC-CYS-S22	CAGGACAGCTGTGACTCCACCTACAGCC TGAGCAGCACC	136
	LC-CYS-A22	GTGGAGTCACAGCTGTCCTGCTCGGTGAC GCTCTCCTGG	137
LC-D170C	LC-CYS-S23	ACAGCAAGTAGTCCACCTACAGCCTGAG CAGCACCCTGAC	138
	LC-CYS-A23	TAGGTGGACTACTTGCTGTCCTGCTCGGT GACGCTCTCCT	139
LC-S182C	LC-CYS-S24	TGACCCTGTGCAAGGCCGACTACGAGAA GCATAAGGTGTA	140
	LC-CYS-A24	GTCGGCCTTGCACAGGGTCAGGGTGCTG CTCAGGCTGTAG	141
LC-K183C	LC-CYS-S25	GACCCTGAGCTGTGCCGACTACGAGAAG CATAAGGTGTAC	142
	LC-CYS-A25	TAGTCGGCACAGCTCAGGGTCAGGGTGC TGCTCAGGCTGT	143

[0587]

[0588]

돌연변이 부위	프라이머 명칭	서열	서열 번호
LC-K188C	LC-CYS-S26	GACTACGAGTGCCATAAGGTGTACGCCT GCGAGGTGAC	144
	LC-CYS-A26	ACCTTATGGCACTCGTAGTCGGCCTTGCT CAGGGTCAGG	145
LC-K190C	LC-CYS-S27	GAGAAGCATTGCGTGTACGCCTGCGAGG TGACCCACCAG	146
	LC-CYS-A27	GGCGTACACGCAATGCTTCTCGTAGTCGG CCTTGCTCAGG	147
LC-V191C	LC-CYS-S28	AGCATAAGTAGTACGCCTGCGAGGTGAC CCACCAGGGCCT	148
	LC-CYS-A28	CAGGCGTACTACTTATGCTTCTCGTAGTC GGCCTTGCTCA	149
LC-T197C	LC-CYS-S29	GCGAGGTGTGTCACCAGGGCCTGTCCAG CCCCGTGACCAA	150
	LC-CYS-A29	CCCTGGTGACACACCTCGCAGGCGTACA CCTTATGCTTCT	151
LC-Q199C	LC-CYS-S30	GTGACCCACTGTGGCCTGTCCAGCCCCGT GACCAAGAGCT	152
	LC-CYS-A30	GACAGGCCACAGTGGGTCACCTCGCAGG CGTACACCTTAT	153
LC-S203C	LC-CYS-S31	GGCCTGTCCTGTCCCGTGACCAAGAGCTT CAACAGGGGCGA	154
	LC-CYS-A31	GTCACGGGACAGGACAGGCCCTGGTGGG TCACCTCGCAGG	155
LC-T206C	LC-CYS-S32	CAGCCCCGTGTGCAAGAGCTTCAACAGG GGCGAGTGCTAA	156
	LC-CYS-A32	AAGCTCTTGCACACGGGGCTGGACAGGC CCTGGTGGGTC	157
HC-S117C	HC-CYS-S1	CCGTCTCCTGCGCTAGCACCAAGGGCCC CAGCGTGTTC	158
	HC-CYS-A1	GGTGCTAGCGCAGGAGACGGTGACCAGG GTTCCTTGAC	159
HC-S119C	HC-CYS-S2	TCCTCGGCTTGTACCAAGGGCCCCAGCGT GTTCCCCCTGG	160
	HC-CYS-A2	CCCTTGGTACAAGCCGAGGAGACGGTGA CCAGGGTTCCTT	161
HC-K121C	HC-CYS-S3	CTAGCACCTGTGGCCCCAGCGTGTTCCCC CTGGCCCCCA	162
	HC-CYS-A3	GCTGGGGCCACAGGTGCTAGCCGAGGAG ACGGTGACCAG	163
HC-S124C	HC-CYS-S4	AGGGCCCCTGTGTGTTCCCCCTGGCCCCC AGCAGCAAGA	164
	HC-CYS-A4	GGGGAACACACAGGGGCCCTTGGTGCTA GCCGAGGAGACG	165
HC-S132C	HC-CYS-S5	CCCCCAGCTGCAAGAGCACCAGCGGCGG CACAGCCGCCCT	166
	HC-CYS-A5	GGTGCTCTTGCAGCTGGGGGCCAGGGGG AACACGCTGGGG	167
HC-S134C	HC-CYS-S6	AGCAGCAAGTGTACCAGCGGCGGCACAG CCGCCCTGGGCT	168
	HC-CYS-A6	CCGCTGGTACACTTGCTGCTGGGGGCCA GGGGGAACACG	169
HC-S136C	HC-CYS-S7	AGAGCACCTGTGGCGGCACAGCCGCCCT GGGCTGCCTGGT	170
	HC-CYS-A7	GTGCCGCCACAGGTGCTCTTGCTGCTGGG GGCCAGGGGGA	171

돌연변이 부위	프라이머 명칭	서열	서열 번호
HC-T139C	HC-CYS-S8	AGCGGCGGCTGTGCCGCCCTGGGCTGCC TGGTGAAGGACT	172
	HC-CYS-A8	CAGGGCGGCACAGCCGCCGCTGGTGCTC TTGCTGCTGGGG	173
HC-E152C	HC-CYS-S9	TACTTCCCCTGTCCCGTGACCGTGTCCTG GAACAGCGGA	174
	HC-CYS-A9	GGTCACGGGACAGGGGAAGTAGTCCTTC ACCAGGCAGC	175
HC-P153C	HC-CYS-S10	TCCCCGAGTGCGTGACCGTGTCCTGGAAC AGCGGAGCCCT	176
	HC-CYS-A10	CACGGTCACGCACTCGGGGAAGTAGTCC TTCACCAGGCAG	177
HC-T155C	HC-CYS-S11	GAGCCCGTGTGCGTGTCCTGGAACAGCG GAGCCCTGACCT	178
	HC-CYS-A11	CAGGACACGCACACGGGCTCGGGGAAGT AGTCCTTCACCA	179
HC-S157C	HC-CYS-S12	TGACCGTGTGCTGGAACAGCGGAGCCCT GACCTCCGGCGT	180
	HC-CYS-A12	CTGTTCCAGCACACGGTCACGGGCTCGG GGAAGTAGTCCT	181
HC-T164C	HC-CYS-S13	GGAGCCCTGTGCTCCGGCGTGCACACCTT CCCCGCCGTGCT	182
	HC-CYS-A13	ACGCCGGAGCACAGGGCTCCGCTGTTCC AGGACACGGTCA	183
HC-S165C	HC-CYS-S14	CCCTGACCTGTGGCGTGCACACCTTCCCC GCCGTGCTGCA	184
	HC-CYS-A14	TGTGCACGCCACAGGTCAGGGCTCCGCT GTTCCAGGACAC	185
HC-T169C	HC-CYS-S15	GCGTGCACTGCTTCCCCGCCGTGCTGCAG AGCAGCGGCCT	186
	HC-CYS-A15	GGCGGGGAAGCAGTGCACGCCGGAGGTC AGGGCTCCGCTG	187
HC-P171C	HC-CYS-S16	CACACCTTCTGTGCCGTGCTGCAGAGCAG CGGCCTGTACA	188
	HC-CYS-A16	CAGCACGGCACAGAAGGTGTGCACGCCG GAGGTCAGGGCT	189
HC-L174C	HC-CYS-S17	CCGCCGTGTGTCAGAGCAGCGGCCTGTA CAGCCTGTCCA	190
	HC-CYS-A17	GCTGCTCTGACACACGGCGGGGAAGGTG TGCACGCCGGAG	191
HC-S176C	HC-CYS-S18	TGCTGCAGTGCAGCGGCCTGTACAGCCT GTCCAGCGTGGT	192
	HC-CYS-A18	ACAGGCCGCTGCACTGCAGCACGGCGGG GAAGGTGTGCACG	193
HC-S177C	HC-CYS-S19	CTGCAGAGCTGTGGCCTGTACAGCCTGTC CAGCGTGGTGA	194
	HC-CYS-A19	TACAGGCCACAGCTCTGCAGCACGGCGG GGAAGGTGTGCA	195
HC-P189C	HC-CYS-S21	TGACAGTGTGCAGCAGCAGCCTGGGCAC CCAGACCTACAT	196
	HC-CYS-A21	CTGCTGCTGCACACTGTCACCACGCTGGA CAGGCTGTACA	197
HC-S191C	HC-CYS-S22	TGCCCAGCTGCAGCCTGGGCACCCAGAC CTACATCTGCAA	198
	HC-CYS-A22	CCCAGGCTGCAGCTGGGCACTGTCACCA CGCTGGACAGGCT	199

[0589]

[0590]

돌연변이 부위	프라이머 명칭	서열	서열 번호
HC-T195C	HC-CYS-S23	GCCTGGGCTGTCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCACAA	200
	HC-CYS-A23	GTAGGTCTGACAGCCCAGGCTGCTGCTG GGCACTGTCACCA	201
HC-T197C	HC-CYS-S24	GCACCCAGTGCTACATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCA	202
	HC-CYS-A24	GCAGATGTAGCACTGGGTGCCCAGGCTG CTGCTGGGCACT	203
HC-K205C	HC-CYS-S25	TGAACCACTGTCCCAGCAACACCAAGGT GGACAAGAGAGT	204
	HC-CYS-A25	TGTTGCTGGGACAGTGGTTCACGTTGCAG ATGTAGGTCTGG	205
HC-S207C	HC-CYS-S26	ACAAGCCCTGCAACACCAAGGTGGACAA GAGAGTGGAGC	206
	HC-CYS-A26	CTTGGTGTTGCAGGGCTTGTGGTTCACGT TGCAGATGTAG	207
HC-D212C	HC-CYS-S27	ACCAAGGTGTGCAAGAGAGTGGAGCCCA AGAGCTGCGACA	208
	HC-CYS-A27	CACTCTCTTGCACACCTTGGTGTTGCTGG GCTTGTGGTTCA	209
HC-K246C	HC-CYS-S28	TCCCCCCCTGTCCCAAGGACACCCTGATG ATCAGCAGGA	210
	HC-CYS-A28	GTCCTTGGGACAGGGGGGGAACAGGAAC ACGGAGGGTCCG	211
HC-E258C	HC-CYS-S29	AGGACCCCCTGCGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGAG	212
	HC-CYS-A29	CAGGTCACGCAGGGGGTCCTGCTGATCA TCAGGGTGTCCT	213
HC-E269C	HC-CYS-S30	TGAGCCACTGTGACCCAGAGGTGAAGTT CAACTGGTACG	214
	HC-CYS-A30	CTCTGGGTCACAGTGGCTCACGTCCACCA CCACGCAGGTC	215
HC-K274C	HC-CYS-S32	CCAGAGGTGTGCTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGG	216
	HC-CYS-A32	CCAGTTGAAGCACACCTCTGGGTCCTCGT GGCTCACGTCCA	217
HC-N286C	HC-CYS-S35	GAGGTGCACTGTGCCAAGACCAAGCCCA GAGAGGAGCAGT	218
	HC-CYS-A35	GGTCTTGGCACAGTGCACCTCCACGCCGT CCACGTACCAGT	219
HC-K288C	HC-CYS-S36	CACAACGCCTGTACCAAGCCCAGAGAGG AGCAGTACAACA	220
	HC-CYS-A36	GGCTTGGTACAGGCGTTGTGCACCTCCAC GCCGTCCACGT	221
HC-K290C	HC-CYS-S37	GCCAAGACCTGTCCCAGAGAGGAGCAGT ACAACAGCACCT	222
	HC-CYS-A37	CTCTCTGGGACAGGTCTTGGCGTTGTGCA CCTCCACGCCGT	223
HC-R292C	HC-CYS-S38	ACCAAGCCCTGTGAGGAGCAGTACAACA GCACCTACAGGGT	224
	HC-CYS-A38	CTGCTCCTCACAGGGCTTGGTCTTGGCGT TGTGCACCTCCA	225
HC-E293C	HC-CYS-S39	CAAGCCCAGATGCGAGCAGTACAACAGC ACCTACAGGGTG	226
	HC-CYS-A39	GTACTGCTCGCATCTGGGCTTGGTCTTGG CGTTGTGCACCT	227

돌연변이 부위	프라이머 명칭	서열	서열 번호
HC-E294C	HC-CYS-S40	GCCCAGAGAGTGTCAGTACAACAGCACC TACAGGGTGGT	228
	HC-CYS-A40	TTGTACTGACACTCTCTGGGCTTGGTCTT GGCGTTGTGCA	229
HC-K320C	HC-CYS-S41	CAAGGAATACTGCTGCAAGGTCTCCAAC AAGGCCCTGCCA	230
	HC-CYS-A41	GACCTTGCAGCAGTATTCCTTGCCGTTCA GCCAGTCCTGGT	231
HC-K322C	HC-CYS-S42	TACAAGTGCTGCGTCTCCAACAAGGCCCT GCCAGCCCCCA	232
	HC-CYS-A42	GTTGGAGACGCAGCACTTGTATTCCTTGC CGTTCAGCCAGT	233
HC-K326C	HC-CYS-S43	GGTCTCCAACTGTGCCCTGCCAGCCCCCA TCGAAAAGACC	234
	HC-CYS-A43	GGCAGGGCACAGTTGGAGACCTTGCACT TGTATTCCTTGC	235
HC-A330C	HC-CYS-S44	GCCCTGCCATGTCCCATCGAAAAGACCA TCAGCAAGGCCA	236
	HC-CYS-A44	TTCGATGGGACATGGCAGGGCCTTGTTG GAGACCTTGCACT	237
HC-E333C	HC-CYS-S45	GCCCCCATCTGCAAGACCATCAGCAAGG CCAAGGGCCAGC	238
	HC-CYS-A45	GATGGTCTTGCAGATGGGGGCTGGCAGG GCCTTGTTGGAGA	239
HC-K334C	HC-CYS-S46	CCCATCGAATGCACCATCAGCAAGGCCA AGGGCCAGCCA	240
	HC-CYS-A46	GCTGATGGTGCATTCGATGGGGGCTGGC AGGGCCTTGTTG	241
HC-T335C	HC-CYS-S47	TCGAAAAGTGCATCAGCAAGGCCAAGGG CCAGCCACGGGA	242
	HC-CYS-A47	CTTGCTGATGCACTTTTCGATGGGGGCTG GCAGGGCCTTGT	243
HC-S337C	HC-CYS-S48	AGACCATCTGCAAGGCCAAGGGCCAGCC ACGGGAGCCCCA	244
	HC-CYS-A48	CCTTGGCCTTGCAGATGGTCTTTTCGATG GGGGCTGGCAGG	245
HC-R344C	HC-CYS-S50	GGCCAGCCATGCGAGCCCCAGGTGTACA CCCTGCCTCCAT	246
	HC-CYS-A50	CTGGGGCTCGCATGGCTGGCCCTTGGCCT TGCTGATGGTCT	247
HC-R355C	HC-CYS-S51	CTCCATCCTGCGACGAGCTGACCAAGAA CCAGGTGTCCCT	248
	HC-CYS-A51	CAGCTCGTCGCAGGATGGAGGCAGGGTG TACACCTGGGGCT	249
HC-K360C	HC-CYS-S52	AGCTGACCTGCAACCAGGTGTCCCTGAC CTGTCTGGTGA	250
	HC-CYS-A52	CACCTGGTTGCAGGTCAGCTCGTCCCGGG ATGGAGGCAGG	251
HC-Q362C	HC-CYS-S53	CCAAGAACTGCGTGTCCCTGACCTGTCTG GTGAAGGGCTT	252
	HC-CYS-A53	TCAGGGACACGCAGTTCTTGGTCAGCTCG TCCCGGGATGGA	253
HC-S375C	HC-CYS-S54	TTCTACCCCTGCGACATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACG	254
	HC-CYS-A54	GGCGATGTCGCAGGGGTAGAAGCCCTTC ACCAGACAGGTCA	255

[0591]

돌연변이 부위	프라이머 명칭	서열	서열 번호
HC-E382C	HC-CYS-S55	TGGAGTGGTGCAGCAACGGCCAGCCCGA GAACAACTACA	256
	HC-CYS-A55	GGCCGTTGCTGCACCACTCCACGGCGAT GTCGCTGGGGTAG	257
HC-N389C	HC-CYS-S56	AGCCCGAGTGCAACTACAAGACCACCCC CCCAGTGCTGGA	258
	HC-CYS-A56	CTTGTAGTTGCACTCGGGCTGGCCGTTGC TCTCCCACTCCA	259
HC-N390C	HC-CYS-S57	CCCGAGAACTGCTACAAGACCACCCCCC CAGTGCTGGACA	260
	HC-CYS-A57	GGTCTTGTAGCAGTTCTCGGGCTGGCCGT TGCTCTCCCACT	261
HC-K392C	HC-CYS-S58	GAACAACTACTGCACCACCCCCCCAGTG CTGGACAGCGAC	262
	HC-CYS-A58	GGGGTGGTGCAGTAGTTGTTCTCGGGCTG GCCGTTGCTCT	263
HC-T393C	HC-CYS-S59	AACTACAAGTGTACCCCCCCAGTGCTGG ACAGCGACGGCA	264
	HC-CYS-A59	TGGGGGGGTACACTTGTAGTTGTTCTCGG GCTGGCCGTTG	265
HC-L398C	HC-CYS-S60	CCCCAGTGTGTGACAGCGACGGCAGCTT CTTCCTGTACA	266
	HC-CYS-A60	GTCGCTGTCACACACTGGGGGGGTGGTC TTGTAGTTGTTCT	267
HC-S400C	HC-CYS-S61	TGCTGGACTGCGACGGCAGCTTCTTCCTG TACAGCAAGCT	268
	HC-CYS-A61	GCTGCCGTCGCAGTCCAGCACTGGGGGG GTGGTCTTGTAGT	269
HC-D413C	HC-CYS-S62	TGACCGTGTGCAAGTCCAGGTGGCAGCA GGGCAACGTGTT	270
	HC-CYS-A62	ACCTGGACTTGCACACGGTCAGCTTGCTG TACAGGAAGAAG	271
HC-S415C	HC-CYS-S63	TGGACAAGTGCAGGTGGCAGCAGGGCAA CGTGTTCAGCT	272
	HC-CYS-A63	CTGCCACCTGCACTTGTCCACGGTCAGCT TGCTGTACAGG	273
HC-V422C	HC-CYS-S64	AGGGCAACTGCTTCAGCTGCAGCGTGAT GCACGAGGCCCT	274
	HC-CYS-A64	GCAGCTGAAGCAGTTGCCCTGCTGCCAC CTGGACTTGTCCA	275

[0592]

[0593] [표 9] 인간 IgG1 중쇄 내의 Cys 돌연변이체 구축물의 불변 영역의 아미노산 서열. 서열 1은 전장 트라스투주맙 (인간 IgG1)에 대한 서열이다. 서열 2 내지 서열 60은 인간 IgG1 중쇄 내의 59개 Cys 돌연변이체 구축물에 대한 서열을 나타내며, 이는 오직 불변 영역의 서열만을 제시한다.

서열 1
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYP
TNGYTRYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGF
YAMDYWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN
TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC
LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

서열 2
CASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 3
SACTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 4
SASTCGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 5
SASTKGPCVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 6
SASTKGPSVFPLAPSCKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 7
SASTKGPSVFPLAPSSKCTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

[0594]

서열 8 SASTKGPSVFPLAPSSKSTCGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 9 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGCAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 10 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPCPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 11 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPECVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 12 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVCVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 13 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVCWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 14 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALCSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

[0595]

서열 15 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTCGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 16 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHCF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 17 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF CAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
서열 18 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVCQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
서열 19 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQCSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
서열 20 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSCGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
서열 21 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVCSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK

[0596]

서열 22 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSCSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
서열 23 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGCQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
서열 24 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQCYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
서열 25 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHCPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 26 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPCNTKVDKKVEPKSCDKT HTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGK
서열 27 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVCKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 28 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPCPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

[0597]

서열 29 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPCVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 30 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHCDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 31 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVCFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 32 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHCAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 33 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNACTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 34 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTCPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 35 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPCEEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

[0598]

서열 36 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPRCEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 37 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPRECQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 38 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 39 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCCVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 40 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNCALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 41 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP CPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 42 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APICKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

[0599]

서열 43 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIECTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 44 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKCISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 45 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTICKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 46 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPCEPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 47 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSCEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 48 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTCNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 49 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNCVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

[0600]

서열 50
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPCDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 51
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWCS NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 52
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPECNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 53
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENCYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 54
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYCTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 55
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKCTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK
서열 56
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVCDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH YTQKSLSLSPGK

[0601]

서열 57
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDCDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 58
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVCKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 59
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKCRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 60
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTH
TCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES
NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNCFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGK

서열 290:
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE**C**
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP**C**DIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

서열 291
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE**C**
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NY**C**TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK

서열 292
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTC
PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE**C**
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT**C**NQVSLTCLVKGFYP**C**DIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
SLSPGK

[0602]

서열 293 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE**C**TISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMT**C**NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNY**C**TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
서열 294 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE**C**TISKAKGQP REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP**C**DIAVEWESNGQPE NNY**C**TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
서열 295 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP**C**PVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP**C**DIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

[0603]

[0604] [표 10] 29개 인간 카파 경쇄 Cys 돌연변이체 구축물의 불변 영역의 아미노산 서열. 서열 61은 야생형 인간 카파 경쇄의 불변 영역의 서열이다. 서열 62 내지 서열 90은 인간 카파 경쇄의 불변 영역 내의 29개 Cys 돌연변이체 구축물에 대한 서열을 나타낸다.

서열 61 CRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 62 KCTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC

[0605]

서열 63 KRCVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 64 KRTVACPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 65 KRTVAAPCVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 66 KRTVAAPSVFIFPPSCEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 67 KRTVAAPSVFIFPPSDCQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 68 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGCASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 69 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPCEAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 70 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRCAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 71 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREACVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 72 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDCALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 73 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNACQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 74 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQCG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 75 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NCQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 76 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQCSVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC

[0606]

서열 77 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTCQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 78 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDCKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 79 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSCDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 80 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKCSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 81 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLCKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 82 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSCADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 83 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYECHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 84 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHCVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 85 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKCYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 86 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVCHQGLSSPVTKSF NRGEC
서열 87 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHCGLSSPVTKSF NRGEC
서열 88 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSCPVTKSF NRGEC
서열 89 KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVCKSF NRGEC
서열 90 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSAS FLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEI KRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC

[0607]

[0608] **실시예 3. 트라스투주맙 중쇄 및 경쇄 Cys 돌연변이의 상이한 항체로의 전환.**

[0609] 트라스투주맙의 경우, 약물 페이로드의 부착을 위한 모든 Cys 돌연변이는 그의 인간 IgG1 중쇄 및 인간 카파 경쇄의 불변 영역 내에 있도록 선택된다. 항체의 불변 영역은 일차 서열 및 구조가 고도로 보존되어 있기 때문에, 트라스투주맙과 관련하여 우수한 페이로드 부착 부위로 확인된 Cys 돌연변이체 잔기는 또한 다른 항체에서도 바람직한 부착 잔기로서 작용할 것이다. 이러한 일반적 접합 부위의 다른 항체로의 전환성을 입증하기 위해, 본 발명자들은 Cys 돌연변이의 세트를 항체 14090에 클로닝하였다. 항체 14090은 트라스투주맙과는 상이한 표적 단백질에 결합하는 인간 IgG1 중쇄 및 인간 람다 경쇄를 갖는 항체이다. 항체 14090의 가변 영역을 코딩하는 DNA를 7개의 선택된 pOG 트라스투주맙 HC Cys 돌연변이체 플라스미드 구축물에 클로닝하여 (서열은 표 11에 열거됨), 실시예 2에 기재된 바와 같이 플라스미드 내의 트라스투주맙 구축물의 가변 영역을 교체하였다. 그 결과, 항체 14090 및 트라스투주맙의 상응하는 7개의 Cys 구축물 내의 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열이 동일하였다 (도 3). 후속 실시예는 이러한 부위가 용이하게 접합될 수 있다는 것을 보여준다. 대조적으로, 상이한 인간 IgG 이소형에 대한 일차 서열 및 삼차 구조의 고도의 유사성으로 인해 (도 4), 트라스투주맙의 카파 경쇄 상의 Cys 돌연변이는 상이한 이소형 중쇄를 함유하는 인간 항체 상의 동등한 경쇄로 용이하게 전환될 수 있다. 동일한 방식으로, IgG1의 불변 영역에서 확인된 부위는 IgG2, IgG3 및 IgG4로 전환될 수 있다.

[0610] **실시예 4. 인간 람다 경쇄 내의 시스테인 돌연변이.**

[0611] 인간 람다 및 카파 경쇄는 적은 아미노산 서열 유사성을 갖는다 (도 5a). 항체 14090의 람다 경쇄 내의 돌연변이는 트라스투주맙의 카파 경쇄 내의 바람직한 잔기와 관련하여 인간 람다 경쇄를 함유하는 Fab의 단백질 결정 구조 모델 (단백질 데이터뱅크 구조 엔트리 3G6D.pdb)에서의 잔기 위치의 대략적인 유사성에 기초하여 선택하였다 (도 5a 및 b). PIPE 클로닝 전략 (Klock and Lesley, 2009)과 조합하여 올리고뉴클레오티드 지시된 돌연변이유발 (Higuchi et al. 1988)을 이용하여 항체 14090-람다 경쇄 플라스미드에서 7개의 추가의 Cys 돌연변이체 구축물을 생성하였다. 람다 경쇄 내의 Cys 점 돌연변이를 생성하는데 사용된 돌연변이 프라이머가 표 12에 열거된다. 항체 14090의 분비는 또한 합성 24개 아미노산 신호 서열: MKTFILLLWVLLLWVIFLLPGATA (서열 99)에 의해 지시된다. 항체 14090 Cys 구축물의 서열을 DNA 서열분석에 의해 확인하였다. 인간 야생형 람다 경쇄의 불변 영역에 대한 서열은 서열 91로 제시된다. 경쇄 내의 7개의 Cys 돌연변이체 구축물의 코딩된 단백질 서열 (서열 92 내지 서열 98)이 표 13에 제시된다. 후속 실시예는 이러한 Cys 돌연변이체가 ADC 페이로드와 효율적으로 접합된다는 것을 보여줄 것이다. 이러한 돌연변이체는 모두 인간 람다 경쇄의 불변 영역에 있기 때문에, 이러한 접합 부위는 람다 경쇄를 갖는 다른 항체로 용이하게 전환될 수 있다.

[0612] [표 11] 항체 14090의 가변 영역의 클로닝에 사용된 트라스투주맙 중쇄 Cys 구축물의 서열 번호.

[0613]

트라스투주맙 HC Cys 구축물의 서열
서열 5
서열 8
서열 9
서열 10
서열 18
서열 48
서열 50

[0614] [표 12] 인간 IgG1의 람다 경쇄 내의 7개의 Cys 돌연변이체 구축물의 돌연변이유발에 사용된 프라이머의 뉴클레오티드 서열.

[0615]

돌연변이 부위	프라이머 명칭	서열	서열 번호
LC-A143C	Seq-0017	CCGGGATGCGTGACAGTGGCCTGG AAGGCAGATAGC	276
	Seq-0018	TGTCACGCATCCCGGGTAGAAGTCA CTTATGAGACA	277
LC-T145C	Seq-0019	GCCGTGTGTGTGGCCTGGAAGGCA GATAGCAGCCCC	278
	Seq-0020	GGCCACACACACGGCTCCCGGGTA GAAGTCACTTAT	279
LC-A147C	Seq-0021	ACAGTGTGTTGGAAGGCAGATAGC AGCCCCGTCAAG	280
	Seq-0022	CTTCCAACACACTGTCACGGCTCCC GGGTAGAAGTC	281
LC-K156C	Seq-0023	CCCGTCTGTGCGGGAGTGGAGACC ACCACACCCTCC	282
	Seq-0024	TCCCGCACAGACGGGGCTGCTATCT GCCTTCCAGGC	283
LC-V159C	Seq-0025	GCGGGATGTGAGACCACCACACCC TCCAAACAAAGC	284
	Seq-0026	GGTCTCACATCCCGCCTTGACGGGG CTGCTATCTGC	285
LC-T163C	Seq-0027	ACCACCTGTCCCTCCAAACAAAGCA ACAACAAGTAC	286
	Seq-0028	GGAGGGACAGGTGGTCTCCACTCC CGCCTTGACGGG	287
LC-S168C	Seq-0029	AAACAATGCAACAACAAGTACGCG GCCAGCAGCTAT	288
	Seq-0030	GTTGTTGCATTGTTTGGAGGGTGTG GTGGTCTCCAC	289

[0616] [표 13] 항체 14090 람다 경쇄 내의 Cys 돌연변이체 구축물의 불변 영역의 아미노산 서열. 서열 91은 야생형 인간 람다 경쇄의 불변 영역에 대한 서열이다. 서열 91 내지 서열 98은 항체 14090의 인간 람다 경쇄의 불변 영역 내의 7개 Cys 돌연변이체의 서열을 나타낸다.

서열 91 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS
서열 92 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGCVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS
서열 93 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVCVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS
서열 94 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVCWKADSSPVKAG VETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS
서열 95 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVCAG VETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS
서열 96 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG CETTTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS
서열 97 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTCPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS
서열 98 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG VETTTPSKQCNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPT ECS

[0617]

[0618] **실시예 5. 293 프리스타일™ 세포에서의 Cys 돌연변이체 항체의 발현 및 정제.**

[0619] 트라스투주맙 항체의 Cys 돌연변이체를 이전에 기재된 바와 같은 일시적 형질감염 방법을 이용하여 중쇄 및 경쇄 플라스미드를 공동-형질감염시킴으로써 293 프리스타일™ 세포에서 발현시켰다 (Meissner, et al., Biotechnol Bioeng. 75:197-203 (2001)). 공동-형질감염에 사용된 DNA 플라스미드는 제조업체의 프로토콜에 따라 퀴아젠 플라스미드 정제 키트를 이용하여 제조하였다. 293 프리스타일™ 세포를 프리스타일™ 발현 배지 (인비트로젠(Invitrogen)) 중에서 현탁액으로 5% CO_2 하에 37℃에서 배양하였다. 형질감염 전날에, 세포를 0.7 x 10^6개 세포/ml로 새로운 배지에 분배하였다. 형질감염 당일에, 세포 밀도는 전형적으로 1.5 x 10^6개 세포/ml에 도달하였다. 세포를 PEI 방법을 이용하여 1:1 비의 중쇄 및 경쇄 플라스미드의 혼합물로 형질감염시켰다 (Meissner et al., 2001). 형질감염된 세포를 5일 동안 추가 배양하였다. 배양물을 20분 동안 2000x g에서 원심분리하여 배양물로부터의 배지를 수거하고, 0.2 마이크로미터 필터를 통해 여과하였다. 발현된 항체를 단백질 A-세파로스(Sepharose)™ (지이 헬스케어 라이프 사이언시스(GE Healthcare Life Sciences))를 사용하여 여과된 배지로부터 정제하였다. 항체 IgG를 용리 완충제 (pH 3.0)에 의해 단백질 A-세파로스™ 칼럼으로부터 용리하고, 즉시 1 M 트리스-HCl (pH 8.0)로 중화시킨 후에 완충제를 PBS로 교환하였다.

[0620] 일시적으로 형질감염된 293 프리스타일™에서의 88개 Cys 트라스투주맙 돌연변이체 항체의 발현 수준은 야생형 트라스투주맙과 유사하며 (평균 수율 18.6 mg/L +/- 9.5 mg/L) (표 14)), 이는 선택된 부위에서의 단일 점 돌연변이가 세포의 분비 기작에 의한 발현된 항체의 체류를 유의하게 변경시키지 않았다는 것을 시사한다. 비-환원 SDS PAGE를 이용한 정제된 트라스투주맙 Cys 돌연변이체 항체의 분석은 Cys 돌연변이체 항체가 조작된 시스테인에 의해 디술피드-연결된 올리고머를 형성하지 않았음을 보여준다 (도 6). 크기 배제 크로마토그래피 (도 7)는 모든 Cys 돌연변이체 트라스투주맙 항체가 단량체라는 결론은 추가로 뒷받침하였다. 돌연변이체 항체의 HPLC 역상 분석은 또한 대부분의 Cys 돌연변이체 항체가 체류 시간 및 균질성 측면에서 야생형 트라스투주맙과 구별되지 않는다는 것을 시사한다 (도 8). 질량 분광측정법 (인택트 LC-MS)에 의한 비-환원 탈글리코실화 전장 트라스투주맙 LC-R108C의 분석은 대부분의 항체가 2개의 시스테인에 의해 변형되었다는 것을 보여주었다 (도 9 및 표 15). 이러한 관찰은 트라스투주맙 Cys 돌연변이체 항체 내의 조작된 시스테인의 티올 기가 293 프리스타일™ 세포에서 발현시에 시스테인에 의해 변형되고, 이러한 변형은 임의의 티올 반응성 시약과의 접합 전에 환원 시약에 의해 제거될 필요가 있다는 것을 나타낸 이전의 공개내용과 일치한다 (Chen, et al., mAbs 1:6, 563-571, 2009).

[0621] 항체 14090의 Cys 돌연변이체를 또한 기재된 바와 같이 PEI 방법을 이용하여 HC 및 LC 플라스미드를 공동-형질감염시킴으로써 293 프리스타일™ 세포에서 발현시켰다 (Meissner et al., 2001). 항체 14090의 Cys 돌연변이체의 발현 수준은 야생형 항체 14090과 유사하다 (표 16).

[0622] [표 14] 293 프리스타일™ 세포에서 일시적으로 발현된 트라스투주맙 Cys 돌연변이체 항체의 수율. 수율은 단백질 A 정제 후에 280 nm에서의 UV 흡광도에 의해 측정하였다.

트라스투주맙 Cys 돌연변이체	정제된 Ab (mg/L)	트라스투주맙 Cys 돌연변이체	정제된 Ab (mg/L)
HC-S117C	46.9	HC-R355C	30.1
HC-S119C	22.5	HC-K360C	32.0
HC-K121C	22.1	HC-Q362C	20.7
HC-S124C	17.8	HC-S375C	33.3
HC-S132C	30.9	HC-E382C	35.3
HC-S134C	18.6	HC-N389C	28.7
HC-S136C	21.2	HC-N390C	34.5
HC-T139C	25.9	HC-K392C	28.2
HC-E152C	13.0	HC-T393C	6.6
HC-P153C	10.8	HC-L398C	5.1
HC-T155C	18.4	HC-S400C	4.1
HC-S157C	16.9	HC-D413C	27.6
HC-T164C	20.2	HC-S415C	10.6
HC-S165C	20.6	HC-V422C	5.0
HC-T169C	8.2	LC-K107C	11.0
HC-P171C	24.6	LC-R108C	27.0
HC-L174C	15.2	LC-T109C	13.1
HC-S176C	13.4	LC-A112C	10.5
HC-S177C	30.0	LC-S114C	21.2
HC-P189C	11.7	LC-D122C	25.5
HC-K205C	13.3	LC-E123C	20.1
HC-S207C	2.5	LC-T129C	7.1
HC-D212C	26.5	LC-R142C	14.6
HC-K246C	12.0	LC-E143C	10.0
HC-E258C	18.7	LC-K145C	13.0
HC-E269C	6.3	LC-N152C	12.0
HC-K273C	20.7	LC-L154C	13.1
HC-N286C	15.0	LC-S156C	12.0
HC-K288C	20.9	LC-S159C	26.6
HC-K290C	20.0	LC-E161C	20.0
HC-R292C	21.0	LC-E165C	5.0
HC-E293C	31.2	LC-S168C	12.0
HC-E294C	37.5	LC-K169C	4.0
HC-K320C	23.6	LC-D170C	5.0
HC-K322C	35.1	LC-S182C	8.8
HC-K326C	28.0	LC-K183C	12.6
HC-A330C	27.1	LC-K188C	12.0
HC-E333C	10.3	LC-K190C	5.2
HC-K334C	14.0	LC-V191C	29.9
HC-T335C	7.0	LC-T197C	19.0
HC-S337C	6.9	LC-Q199C	16.8
HC-R344C	32.6	LC-S203C	26.2
		LC-T206C	27.8

[0623]

[0624] [표 15] 293 프리스타일™ 세포로부터의 정제 후의 트라스투주맙 LC-R108C 항체에 대한 이론적 및 관찰된 질량.

항체 종		이론적 질량 (Da)	관찰된 질량 (Da)
LC-R108C		145063	145071
LC-R108C-Cys 부가물	+1 Cys	145181	145189
LC-R108C-Cys 이중 부가물	+2 Cys	145299	145311

[0625]

[0626] [표 16] 293 프리스타일™ 세포에서 일시적으로 발현된 항체 14090 Cys 돌연변이체의 수율.

항체 14090 Cys 돌연변이체	Ab 수율 (mg/L)
HC-S124C	4.72
HC-S136C	3.64
HC-T139C	4.59
HC-E152C	2.93
HC-L174C	5.26
HC-E258C	5.86
HC-K360C	4.86
LC-A143C	4.63
LC-T145C	6.98
LC-A147C	8.37
LC-K156C	5.74
LC-V159C	9.67
LC-T163C	9.98
LC-S168C	5.61

[0627]

[0628] **실시예 6. Cys 돌연변이체 항체의 환원, 재산화, 및 MC-MMAF와의 접합.**

[0629] 포유동물 세포에서 발현된 항체 내의 조작된 Cys는 그의 생합성 동안 부가물 (디술피드), 예컨대 글루타티온 (GSH) 및/또는 시스테인에 의해 변형되므로 (Chen et al. 2009), 초기에 발현된 생성물에서 변형된 Cys는 티올 반응성 시약, 예컨대 말레이미도 또는 브로모- 또는 아이오도-아세트아미드 기에 반응하지 않는다. 발현 후에 조작된 시스테인을 접합시키기 위해, 글루타티온 또는 시스테인 부가물은 이들 디술피드를 환원시킴으로써 제거될 필요가 있고, 이는 일반적으로 발현된 단백질 내의 모든 디술피드를 환원시키는 것을 수반한다. 이는 우선 항체를 환원제, 예컨대 디티오트레이톨 (DTT)에 노출시킨 후에, 항체의 모든 천연 디술피드 결합의 재산화를 허용하여 기능적 항체 구조를 복구 및/또는 안정화시키는 절차에 의해 달성될 수 있다. 따라서, 모든 천연 디술피드 결합 및 조작된 시스테인 잔기의 시스테인 또는 GSH 부가물 사이의 디술피드 결합을 환원시키기 위해, 새로 제조된 DTT를 트라스투주맙 및 항체 14090의 이전에 정제된 Cys 돌연변이체에 20 mM의 최종 농도로 첨가하였다. 항체를 DTT와 37℃에서 1시간 동안 인큐베이션한 후에, 혼합물을 4℃에서 PBS에 대해 3일 동안 매일 완충제를 교환하면서 투석하여 DTT를 제거하고, 천연 디술피드 결합을 재산화시켰다. 대안적 방법은 탈염 칼럼, 세파덱스 G-25를 통해 환원 시약을 제거하는 것이다. 단백질이 완전하게 환원되면, 1 mM 산화 아스코르베이트 (데히드로-아스코르브산)을 탈염 샘플에 첨가하고, 재산화 인큐베이션을 20시간 동안 수행하였다. 두 방법은 유사한 결과를 도출하였다. 그러나, $CuSO_4$를 사용하는 문헌에 이전에 기재된 재산화 프로토콜에 따른 시도는 단백질 침전을 발생시켰다. 여기서 모든 샘플은 상기 기재된 투석 프로토콜을 이용한다. 재산화는 쇄내 디술피드를 복구시키는 반면, 투석은 새로-도입된 시스테인(들)에 연결된 시스테인 및 글루타티온을 투석에 의해 분리하는 것을 허용한다.

[0630] 재산화 후에, 항체는 접합시키기에 용이하다. 말레이미드-MMAF (MC-MMAF, 항체에 대해 10 당량, 도 10)를 첨가하여 PBS 완충제 (pH7.2) 중에서 항체를 재산화시켰다. 인큐베이션을 1시간 내지 24시간 수행하였다. 접합 과정을 역상 HPLC에 의해 모니터링하였으며, 이로부터 접합된 항체를 접합되지 않은 항체와 분리할 수 있었다. 접합 반응 혼합물을 80℃로 가열된 PRLP-S 4000A 칼럼 (50 mm x 2.1 mm, 애질런트) 상에서 분석하고, 칼럼의 용리는 0.1% TFA를 함유하는 물 중 30-60% 아세토니트릴의 선형 구배에 의해 1.5 ml/분의 유량으로 수행하였다. 칼럼으로부터의 단백질의 용리를 280 nm, 254 nm 및 215 nm에서 모니터링하였다. 전형적인 접합 혼합물의 역상 HPLC 트레이스가 도 11에 제시된다.

[0631] 접합 혼합물을 역상 HPLC에 의해 분석하였을 때, 다수의 Cys 부위가 균일한 단일 피크 용리 프로파일에 의해 시사되는 바와 같이 균질한 접합 생성물을 생성한 반면 (도 11), 일부 Cys 부위는 불균질한 접합 생성물을 생성하였다 (도 12). 상기 기재된 절차는 천연 디술피드 결합의 환원 및 재산화 뿐만 아니라 조작된 시스테인 잔기의 시스테인 및 GSH 부가물 사이의 결합의 환원을 수반한다. 재산화 과정 동안, 조작된 시스테인 잔기는 디술피드 셔플링 과정을 통한 적절한 천연 디술피드 결합의 재형성을 방해할 수 있다. 이는 조작된 시스테인 및 천연 시스테인 잔기 사이 또는 부정확하게 매치된 천연 디술피드 결합 사이에서 미스매치된 디술피드 결합의 형성을 유발할 수 있다. 이러한 미스매치된 디술피드 결합은 역상 HPLC 칼럼 상에서의 항체의 체류에 영향을 미칠 수 있

다. 미스매치 과정은 또한 바람직한 조작된 시스테인이 아닌 쌍을 형성하지 않은 시스테인 잔기를 발생시킬 수 있다. 항체 상의 상이한 위치에 대한 말레이미드-MMAF의 부착은 체류 시간에 다르게 영향을 미친다 (하기 균질하게 접합된 ADC의 논의 참조). 또한, 불완전한 재산화는 조작된 시스테인 잔기와의 바람직한 접합 뿐만 아니라 말레이미드-MMAF와 반응할 천연 시스테인 잔기를 갖는 항체를 남길 것이다. 천연 디술피드 결합의 적절하고 완전한 형성을 방해하는 임의의 과정이 말레이미드-MMAF에 대한 접합시에 복잡한 HPLC 프로파일을 발생시킬 것이다 (도 11). 정제되지 않은 반응 혼합물의 UV 흡광도에 의해 측정된 균일한 ADC의 수율은 Cys 돌연변이에 따라 달라진다 (표 17). 상기 기재된 환원/재산화 프로토콜 및 접합 절차를 이용하여 88개 Cys 돌연변이체 트라스투주맙 항체 중 65개가 균질한 접합 생성물을 생성하였으며, 이들 부위가 접합을 위한 시스테인-조작된 항체의 제조시에 이루어질 Cys 대체에 유리한 부위이다.

[0632] 이들 65개 Cys-MMAF ADC를 다양한 검정에서 상세하게 분석하였다: 시차 주사 형광측정법 (DSF)을 이용하여 열안정성을 측정하였다. 분석 크기 배제 크로마토그래프 (AnSEC)를 이용하여 응집을 측정하였다. 시험관내 항원 의존성 세포 사멸 효력은 세포 생존율 검정에 의해 측정하고, 약동학적 거동은 마우스에서 측정하였다. 이러한 검정 및 각각의 결과는 하기에서 보다 상세하게 기재된다.

[0633] 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 응집 상태를 평가하기 위해, ADC를 크기 배제 크로마토그래피 칼럼 (GE, 슈퍼덱스 200(Superdex200), 3.2/30)에서 PBS 중 0.1 ml/분의 유량으로 분석하였다. 모든 65개 Cys-MMAF ADC는 단량체였다. 대부분의 ADC는 10% 미만의 올리고머를 함유하며 (도 13, 표 18), 이는 선택된 부위에서의 트라스투주맙 Cys 돌연변이체 구축물에 대한 MC-MMAF의 접합이 항체의 응집을 일으키지 않았다는 것을 나타낸다.

[0634] [표 17] 트라스투주맙 Cys 돌연변이체 구축물을 사용하여 생성된 MMAF ADC의 수율. "헤테로"는 상이한 체류 시간을 갖는, 역상 HPLC에서 제시된 종의 불균질한 혼합물을 나타낸다.

[0635]

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	수율 (mg/L)	Cys 구축물	수율 (mg/L)
HC-S117C	6.9	HC-R344C	33.4
HC-S119C	15.3	HC-R355C	24.3
HC-K121C	4.4	HC-K360C	26.5
HC-S124C	13.2	HC-Q362C	헤테로
HC-S132C	헤테로	HC-S375C	34.3
HC-S134C	헤테로	HC-E382C	34.9
HC-S136C	헤테로	HC-N389C	헤테로
HC-T139C	11.1	HC-N390C	33.1
HC-E152C	7.8	HC-K392C	20.8
HC-P153C	8.2	HC-T393C	헤테로
HC-T155C	12.9	HC-L398C	3.4
HC-S157C	13.5	HC-S400C	1.7
HC-T164C	13.7	HC-D413C	헤테로
HC-S165C	헤테로	HC-S415C	헤테로

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	수율 (mg/L)	Cys 구축물	수율 (mg/L)
HC-T169C	4.7	HC-V422C	3.6
HC-P171C	14.7	LC-K107C	1.6
HC-L174C	9.1	LC-R108C	12.2
HC-S176C	헤테로	LC-T109C	8.4
HC-S177C	헤테로	LC-A112C	헤테로
HC-P189C	7.7	LC-S114C	16.9
HC-S191C	헤테로	LC-D122C	헤테로
HC-T195C	헤테로	LC-E123C	헤테로
HC-T197C	헤테로	LC-T129C	4.0
HC-K205C	11.3	LC-R142C	11.3
HC-S207C	1.0	LC-E143C	4.0
HC-D212C	헤테로	LC-K145C	8.7
HC-K246C	9.0	LC-N152C	7.2
HC-E258C	10.1	LC-L154C	1.3
HC-E269C	5.6	LC-S156C	7.2
HC-K274C	15.3	LC-S159C	12.3
HC-N286C	12.9	LC-E161C	12.0
HC-K288C	14.4	LC-E165C	2.0
HC-K290C	8.0	LC-S168C	3.1
HC-R292C	10.3	LC-K169C	2.5
HC-E293C	15.0	LC-D170C	2.2
HC-E294C	헤테로	LC-S182C	7.9
HC-K320C	18.9	LC-K183C	3.8
HC-K322C	29.1	LC-K188C	7.2
HC-K326C	22.8	LC-K190C	헤테로
HC-A330C	헤테로	LC-V191C	헤테로
HC-E333C	7.4	LC-T197C	16.4
HC-K334C	11.2	LC-Q199C	10.3
HC-T335C	5.2	LC-S203C	13.5
HC-S337C	1.4	LC-T206C	헤테로

[0636]

[0637] [표 18] 분석 크기-배제 크로마토그래피에 의해 결정된 바와 같은, 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC 제제 내의 올리고머의 백분율.

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	올리고머 (%)	접합 부위	올리고머 (%)
HC-S117C	b.d.	HC-R344C	9.5
HC-S119C	3.2	HC-R355C	b.d.
HC-K121C	b.d.	HC-K360C	b.d.
HC-S124C	b.d.	HC-S375C	b.d.
HC-T139C	4.8	HC-E382C	b.d.
HC-E152C	b.d.	HC-N390C	b.d.
HC-P153C	b.d.	HC-K392C	b.d.
HC-T155C	b.d.	HC-L398C	b.d.
HC-S157C	b.d.	HC-S400C	9.2
HC-T164C	b.d.	HC-V422C	b.d.
HC-T169C	b.d.	LC-K107C	b.d.
HC-P171C	b.d.	LC-R108C	b.d.
HC-L174C	b.d.	LC-T109C	b.d.
HC-P189C	b.d.	LC-S114C	b.d.
HC-K205C	b.d.	LC-T129C	b.d.
HC-S207C	b.d.	LC-R142C	b.d.
HC-K246C	b.d.	LC-E143C	13.1
HC-E258C	b.d.	LC-K145C	b.d.
HC-E269C	b.d.	LC-N152C	b.d.
HC-K274C	11.7	LC-L154C	7.3
HC-N286C	9.2	LC-S156C	6.1
HC-K288C	b.d.	LC-S159C	2.8
HC-K290C	b.d.	LC-E161C	b.d.
HC-R292C	b.d.	LC-E165C	b.d.
HC-E293C	b.d.	LC-S168C	b.d.
HC-K320C	b.d.	LC-K169C	b.d.
HC-K322C	b.d.	LC-D170C	b.d.
HC-K326C	b.d.	LC-S182C	6.9
HC-E333C	b.d.	LC-K183C	b.d.
HC-K334C	b.d.	LC-K188C	b.d.
HC-T335C	b.d.	LC-T197C	b.d.
HC-S337C	b.d.	LC-Q199C	6.3
		LC-S203C	b.d.

[0638]

[0639] b.d.: 검출 한계 미만.

[0640] **실시예 7. 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 시험관내 열 안정성 검정.**

[0641] 트라스투주맙에 MMAF 페이로드를 접합시켜 항체를 안정화시키거나 불안정화시킬 수 있으며, 이는 환경적으로 민감한 염료, 예컨대 시프로 오렌지(sypro orange)에 의해 모니터링되는 온도 유도된 변성에 기초하여 시차 주사 형광측정법 (DSF)에 의해 결정될 수 있는, 항체의 용융 온도의 변화를 유발한다. ADC 샘플을 384-웰 플레이트에서 PBS (6.7 mM 인산나트륨 pH7.2; 150 mM NaCl)에 삼중으로 분배하였다. 각각의 웰에서, 8 μl의 0.25 mg/ml 항체를 2 μl 25x 시프로 오렌지 염료 (인비트로젠)와 혼합하였다. 플레이트를 밀봉하고, 30 내지 85℃의 온도 램프를 사용하는 로슈 라이트사이클러(Roche LightCycler) 480 시스템에서 20회 형광 스캔 (℃마다 기록됨)을 수행하여 분석하였다. 용융 온도는 형광 강도 대 시간 곡선의 일차 도함수로부터 결정하였다.

[0642] 야생형 트라스투주맙에 대한 전형적인 열 이동 검정은 2가지 용융 전이 (Tm), 각각 69.7℃의 Tm1 및 81.2℃의 Tm2를 밝혀내었다 (표 19). 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC가 단백질 열 안정성 검정에 적용되었을 때, 이는 항체에 대한 MC-MMAF의 접합이 접합 부위에 따라 상이한 Tm 변화를 유도하였다는 것을 증명하였다 (표 19). MC-MMAF가 CH1 또는 CH3 도메인 내의 대부분의 Cys 부위에 접합되었을 때, 생성된 ADC, 예를 들어 HC-K356C-MMAF는 야생형 항-Her과 유사한 패턴을 나타내었으며, 이 때 Tm1 및 Tm2는 거의 변화가 없었다. 그러나, MC-MMAF가 CH2 도메인에 위치한 Cys 부위에 접합되었을 때, Tm1의 감소가 대부분의 부위에서 관찰된 반면, Tm2는 크게 변화하지 않고 유지되었다. 대부분의 CH2 도메인 Cys-MMAF 접합체에서 관찰된 Tm1 감소는 5℃ 내지 26℃

범위였다. Tm1이 가장 크게 감소한 2개의 ADC는 HC-T335C-MMAF 및 HC-S337C-MMAF (각각, Tm1이 42℃ 및 45℃ 임)였다 (도 14). 이러한 결과는 MC-MMAF 접합의 위치가 ADC의 안정성에 유의한 영향을 미칠 수 있다는 것을 나타낸다.

[0643] [표 19] 시차 주사 형광측정법 (DSF)에 의해 관찰된 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 용융 온도 Tm1 및 Tm2.

[0644]

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	HC 도메인	Tm1 [°C]	Tm2 [°C]
야생형 항체	n.a.	69.71	81.18
HC-S117C	CH1	69.09	79.85
HC-S119C	CH1	69.28	78.58
HC-K121C	CH1	69.63	78.52
HC-S124C	CH1	69.27	80.56
HC-T139C	CH1	69.09	80.74
HC-E152C	CH1	69.63	80.83
HC-P153C	CH1	69.71	78.52
HC-T155C	CH1	69.27	80.83
HC-S157C	CH1	69.72	80.81
HC-T164C	CH1	69.17	80.7
HC-T169C	CH1	68.74	80.47
HC-P171C	CH1	69.27	77.18
HC-L174C	CH1	69.89	80.03
HC-P189C	CH1	69.09	81.27
HC-K205C	CH1	69.54	80.65
HC-S207C	CH1	69.00	80.65
HC-K246C	CH2	64.65	80.74

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	HC 도메인	Tm1 [°C]	Tm2 [°C]
HC-E258C	CH2	65.32	81.03
HC-E269C	CH2	65.36	81.01
HC-K274C	CH2	67.14	81.09
HC-N286C	CH2	67.22	81.09
HC-K288C	CH2	65.54	80.83
HC-K290C	CH2	69.00	80.65
HC-R292C	CH2	67.49	80.56
HC-E293C	CH2	64.34	81.03
HC-K320C	CH2	60.60	80.59
HC-K322C	CH2	62.41	80.70
HC-K326C	CH2	63.05	80.74
HC-E333C	CH2	63.67	80.92
HC-K334C	CH2	64.65	80.47
HC-T335C	CH2	42.93	80.04
HC-S337C	CH2	45.56	80.48
HC-R344C	CH3	69.50	80.92
HC-R355C	CH3	68.18	81.25
HC-K360C	CH3	69.28	80.92
HC-S375C	CH3	68.20	81.36
HC-E382C	CH3	69.36	80.74
HC-N390C	CH3	68.73	80.92
HC-K392C	CH3	67.05	80.92
HC-L398C	CH3	68.47	81.36
HC-S400C	CH3	68.65	81.27
HC-V422C	CH3	69.98	81.45
LC-K107C	n.a.	69.45	80.29
LC-R108C	n.a.	70.10	n.d.[1]
LC-T109C	n.a.	68.47	80.21
LC-T129C	n.a.	68.47	80.12
LC-R142C	n.a.	69.00	78.61
LC-E143C	n.a.	69.83	80.59
LC-K145C	n.a.	69.00	80.65
LC-N152C	n.a.	67.49	81.09
LC-L154C	n.a.	68.47	80.65
LC-S156C	n.a.	68.83	80.47
LC-S159C	n.a.	69.50	79.93
LC-E161C	n.a.	68.65	80.12
LC-E165C	n.a.	69.27	79.76
LC-S168C	n.a.	69.54	79.67
LC-K169C	n.a.	69.09	80.29

[0645]

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	HC 도메인	Tm1 [°C]	Tm2 [°C]
LC-D170C	n.a.	68.83	80.12
LC-S182C	n.a	69.18	80.29
LC-K183C	n.a	69.09	80.47
LC-K188C	n.a	68.74	80.65
LC-T197C	n.a	69.63	80.74
LC-Q199C	n.a	69.54	80.21
LC-S203C	n.a	68.84	80.92

[0646]

[0647] n.d. Tm2의 광범위한 전이가 정확한 Tm 결정을 방해하였기 때문에 결정되지 않음., n.a. 적용가능하지 않음

[0648] **실시예 8. Cys ADC의 시험관내 세포 사멸 효력을 측정하기 위한 세포 증식 검정**

[0649] 표적 항원을 자연적으로 발현하는 세포 또는 표적 항원을 발현하도록 조작된 세포주가 종종 ADC의 활성 및 효력을 검정하는데 사용된다. 시험관내에서 트라스투주맙 ADC의 세포 사멸 효력을 평가하기 위해, 2가지 조작된 세포주, MDA-MB231 클론 16 및 클론 40, 및 HCC1954 세포를 사용하였다 (Clinchy B, Gazdar A, Rabinovsky R, Yefenof E, Gordon B, Vitetta ES. Breast Cancer Res Treat. (2000) 61:217-228). MDA-MB231 클론 16 세포는 높은 카피수 (~5x10^5개 카피/세포)의 재조합 인간 Her2를 안정하게 발현하는 반면, 클론 40은 낮은 카피수 (~5x10^3개 카피/세포)의 인간 Her2를 발현한다. HCC1954 세포는 내재적으로 표면에서 높은 수준 (~5x10^5개 카피/세포)의 인간 Her2를 발현한다. 항체 14090 ADC의 세포 사멸 효력을 결정하기 위해, CMK11-5 및 Jurkat 세포를 사용하였다. CMK11-5 세포는 세포 표면에서 항체 14090에 대한 항원을 높은 수준으로 발현하지만, Jurkat 세포에는 검출가능한 항원 발현이 존재하지 않는다. 항원 의존성 세포독성 효과는 오직 세포 표면에서 충분한 항원을 발현하는 세포만을 사멸시키고, 항원이 결여된 세포는 사멸시키지 않을 것이다. 세포를 다양한 농도의 ADC와 인큐베이션한지 5일 후에 셀-타이터-글로(Cell-Titer-Glo)™ (프로메가(Promega))를 사용하여 세포 증식 검정을 수행하였다 (Riss et al., (2004) Assay Drug Dev Technol. 2:51-62). 일부 연구에서, 세포 기반 검정은 고처리량이며, 자동화 시스템에서 수행된다 (Melnick et al., (2006) Proc Natl Acad Sci U S A. 103:3153-3158).

[0650] 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC는 MDA-MB231 클론 16 및 HCC1954를 특이적으로 사멸시켰으나, MDA-MB231 클론 40 세포는 사멸시키지 않았다 (도 15). MDA-MB231 클론 16 세포 검정에서 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 IC_{50}은 30 pM 내지 200 pM 범위이다 (표 20, 도 16). 유사하게, 항체 14090 Cys-MMAF ADC는 세포 증식 검정에서 항원 의존성 세포 사멸을 보여주었다. 항체 14090 Cys-MMAF ADC는 항원 발현 CMK11-5 세포를 사멸시켰으나, 항원 음성 Jurkat 세포는 사멸시키지 않았다 (도 17). CMK11-5 증식 검정에서 항체 14090-MMAF ADC의 IC_{50}은 400 pM 내지 1 nM 범위이다 (표 21).

[0651] [표 20] MDA-MB231 클론 16 $Her2^{+}$ 세포 증식 검정에서의 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 IC_{50}.

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	IC_{50} (μM)	트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	IC_{50} (μM)
HC-S117C	1.55E-04	HC-R344C	2.75E-04
HC-S119C	1.18E-04	HC-R355C	1.21E-04
HC-K121C	1.06E-04	HC-K360C	1.92E-04
HC-S124C	9.78E-05	HC-S375C	1.42E-04
HC-T139C	1.48E-04	HC-E382C	2.53E-04
HC-E152C	7.62E-05	HC-N390C	1.58E-04
HC-P153C	9.27E-05	HC-K392C	1.43E-04
HC-T155C	1.33E-04	HC-L398C	1.08E-04
HC-S157C	1.47E-04	HC-S400C	1.43E-04
HC-T164C	1.34E-04	HC-V422C	1.72E-04
HC-T169C	1.98E-04	LC-K107C	2.59E-05
HC-P171C	1.33E-04	LC-R108C	2.96E-05
HC-L174C	1.19E-04	LC-T109C	8.12E-05
HC-P189C	1.82E-04	LC-S114C	3.37E-05
HC-K205C	1.02E-04	LC-T129C	2.73E-05
HC-S207C	2.16E-04	LC-R142C	2.64E-05
HC-K246C	9.54E-05	LC-E143C	3.76E-05
HC-E258C	9.40E-05	LC-K145C	3.87E-05
HC-E269C	8.98E-05	LC-N152C	2.14E-05
HC-K274C	9.99E-05	LC-L154C	3.52E-05
HC-N286C	9.94E-05	LC-S156C	4.28E-05
HC-K288C	7.47E-05	LC-S159C	4.34E-05
HC-K290C	3.55E-04	LC-E161C	3.62E-05
HC-R292C	9.69E-05	LC-E165C	4.68E-05
HC-E293C	1.10E-04	LC-S168C	2.50E-04
HC-K320C	9.79E-05	LC-K169C	7.74E-05
HC-K322C	1.16E-04	LC-D170C	1.64E-04
HC-K326C	1.73E-04	LC-S182C	9.07E-05
HC-E333C	1.28E-04	LC-K183C	8.39E-05
HC-K334C	1.43E-04	LC-K188C	9.71E-05
HC-T335C	8.69E-05	LC-T197C	1.07E-04
HC-S337C	7.79E-05	LC-Q199C	1.31E-04
		LC-S203C	1.18E-04

[0652]

[0653] [표 21] CMK11-5 세포 증식 검정에서의 항체 14090 Cys-MMAF ADC의 IC_{50}

항체 14090 Cys-MMAF ADC	IC_{50} (μM)
HC-S124C	9.26E-04
HC-T139C	1.22E-03
HC-E152C	4.60E-04
HC-L174C	6.02E-04
HC-K360C	8.56E-04
HC-S375C	4.38E-04
LC-A143C	7.09E-04
LC-A147C	1.14E-03
LC-V159C	5.41E-04
LC-T163C	6.38E-04
LC-S168C	1.06E-03

[0654]

[0655] **실시예 9. 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 약동학 연구**

[0656] 긴 혈청 반감기가 ADC의 높은 생체내 효능에 중요하다는 것이 입증되었다 (Hamblett, et al., "Effects of drug loading on the antitumor activity of a monoclonal antibody drug conjugate," Clin Cancer Res., 10:7063-7070 (2004); Alley et al., Bioconjug Chem. 19:759-765 (2008)). 일반적으로 소수성 약물 페이로드를 항체에 부착시키는 것은 항체의 특성에 유의한 영향을 미칠 수 있으며, 이는 생체내에서 ADC의 빠른 클리어런스 (Hamblett et al., 2004) 및 부족한 생체내 효능으로 이어질 수 있다. 생체내 MMAF ADC 클리어런스에 대한 상이한 접합 부위의 영향을 평가하기 위해, 65개 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC를 사용하여 비-종양 보유 마우스에서 약동학 연구를 수행하였다. 뮤린 혈장에서 MMAF 함유 ADC를 검출하기 위해, 항-MMAF 항체를 생성하였다. 혈장으로부터 트라스투주맙 IgG 분자를 포획하기 위한 인간 HER2의 세포외 도메인 및 2가지 개별 검정에서 신호 생성을 위한 항-인간 IgG (항-hIgG) 항체 및 항-MMAF 항체를 사용하는, ADC의 검출을 위한 ELISA 검정이 개발되었다. 2가지 ELISA 검정은 하기에 보다 상세하게 논의되는 바와 같이 각각 트라스투주맙 항체 및 "무손상" ADC의 혈청 농도를 측정한다.

[0657] 군당 3마리 마우스에게 1 mg/kg의 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 단일 용량을 투여하였다. 2주의 기간에 걸쳐 10개의 혈장 샘플을 수집하고, 인간 HER2의 세포외 도메인을 사용하여 ELISA에 의해 분석함으로써, 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC 및 MMAF가 결여된 트라스투주맙을 포함하는 모든 트라스투주맙 IgG 분자를 포획하였다. 이어서, 항-MMAF 및 항-hIgG 항체를 2가지 개별 검정에서 검출을 위해 사용하였다. 항-MMAF 항체 ELISA는 오직 트라스투주맙 MMAF 접합체의 농도만을 측정하고, 항-hIgG ELISA는 트라스투주맙 Cys-MMAF 접합체 및 MMAF가 결여된 트라스투주맙 항체를 둘 다 정량화한다. 개별적으로 마우스에 주사된 동일한 물질을 사용하여 각각의 ADC에 대한 표준 곡선을 작성하였다. 따라서, 항-MMAF 및 항-hIgG를 사용한 검정은 마우스에 주사한 후에 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 약물 부하의 변화가 일어나지 않는다면 동일한 농도 판독값을 제공할 것이다. MMAF 페이로드의 일부가 손실된 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 경우에, 항-MMAF 항체를 사용하는 ELISA 검정으로 항-hIgG ELISA보다 낮은 농도를 측정할 것이다. 이에 따라, 2가지 농도 판독값을 비교하여 마우스에서 생체내 인큐베이션 동안 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC로부터의 약물-방출을 측정한다.

[0658] 항-hIgG ELISA에 의해 측정시에, 65개 ADC 중 63개가 접합되지 않은 야생형 트라스투주맙 항체와 유사한 약동학적 프로파일을 나타내었으며 (도 18, 19, 20), 이는 이들 부위에의 MC-MMAF 페이로드 접합이 항체의 클러어런스에 유의한 영향을 미치지 않는다는 것을 나타낸다. HC-T335C 및 HC-S337C 2가지는 예외였다. 이들 2개 부위에의 MC-MMAF의 접합은 항-MMAF 및 항-hIgG ELISA에 의해 측정된 바와 같이 ADC의 빠른 클리어런스를 발생시킨다 (도 21). 단백질 열 이동 검정은 트라스투주맙 HC-T335C-MMAF 및 트라스투주맙 HC-S337C-MMAF의 Tm1이, 야생형 트라스투주맙 항체에서의 69℃로부터, 각각 42℃ 및 45℃로 감소하였다는 것을 보여주었다 (도 14). 이러한 2개 부위에의 MC-MMAF의 접합은 ADC의 열 안정성을 현저하게 감소시킨다 (각각 27℃ 및 24℃). 접합되지 않은 항체와 유사한 약동학적 프로파일을 나타내는 63개 ADC에서, Tm1 변화는 8℃보다 작았으며, 이는 빠른 클리어런스가 ADC의 낮은 열 안정성과 상관관계가 있을 가능성이 있음을 시사한다.

[0659] 다양한 Cys 부위에서의 MMAF 페이로드 및 항체 사이의 연결의 화학적 안정성을 결정하기 위해, 각각의 샘플에서 항-MMAF ELISA에 의해 측정된 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 농도 및 항-hIgG ELISA에 의해 측정된 모든 트라스투주맙 분자의 농도를 서로 비교하였다. 측정 오차 내에 있는 다수의 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC는 2주의 기간에 걸쳐 2개 농도 사이에서 우수한 중첩을 보여주였으며, 이는 이들 부위에 도입된 MC-MMAF 및 시스테인 사이의 결합이 상기 기간에 걸친 마우스에서의 순환 동안 적합하다는 것을 시사한다 (도 18, 19). 대조적으로, 일부 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC는 항-MMAF 판독값보다 높은 항-hIgG 판독값에 의해 나타난 바와 같이 유의한 약물 손실을 보여주었다 (도 20). 일부 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC에서, ADC의 농도는 hIgG의 약 50%였다. 이러한 결과는, 이전에 제안된 바와 같이 (Shen et al. Nat. Biotechnol. 2012, 30 (2):184-9), 상이한 부위에 접합된 약물 페이로드의 티올-말레이미드 결합의 안정성에 유의한 차이가 존재한다는 것을 시사한다. 우수한 안정성을 갖는 부위가 본원에 기재된 바와 같은 ADC를 제조하는데 사용하기에 바람직한 부위이다.

[0660] 약동학 연구에서, 혈장-농도-대-시간-곡선-아래-면적 (AUC)은 투여된 약물의 전체 클리어런스 및 생체이용률을 추정하는데 중요한 파라미터이다. 본 발명자들의 약동학 연구에서, 각각의 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC에 대해 2가지 AUC 값, AUC-MMAF 및 AUC-hIgG를, 항-MMAF 및 항-hIgG ELISA를 이용한 측정으로부터 개별적으로 계산하였다. 모든 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC에서 AUC-hIgG에 대한 AUC-MMAF의 비는 0.4 내지 1.2였다 (표 20). 도 18, 19 및 20은 관찰된 AUC-MMAF/AUC-hIgG 비의 전체 범위에 걸쳐 ADC에 대한 PK 곡선을 포함하고, 측정의 가변성 및 불확실성을 설명한다. AUC-MMAF 대 AUC-hIgG 비 >1 (표 20)은 약물 손실이 발생하지 않는 경우에 거의 1을 유지할 것이므로, 이러한 비는 >25%의 불확실성을 시사한다. 표 20에 제시된 바와 같이, 양쪽 ELISA로부터 측정가능한 AUC를 갖는 63개 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC 중에서, 40개 ADC가 AUC-MMAF/AUC-hIgG 비 >0.7을 나

타내었고, 이는 측정 정확도 내에서, 마우스에 투여된 후에 이들에게서 MMAF 약물 손실이 거의 관찰되지 않았다는 것을 나타낸다. 그러나, 23개 ADC는 AUC-MMAF/AUC-hIgG 비 <0.7을 나타내었으며, 이는 이들 23개 부위에서의 MMAF 페이로드 접합체의 양이 마우스에서의 생체내 인큐베이션 동안 유의하게 감소하였다는 것을 시사한다.

[0661] 상이한 접합 부위에서의 말레이미드 연결부의 안정성의 차이가 Cys 조작된 ADC에 대해 이전에 보고되었다 (논의 및 참조를 위해 문헌 [Shen et al., (2012) Nat Biotechnol. 22;30(2):184-9] 참조). 증진된 혈청 안정성을 나타내는 바람직한 부위에서, 항체 환경은 아마도 말레이미드의 시스테인과의 반응에 의해 형성된 숙신이미드 고리의 가수분해를 촉매할 것이다. 가수분해된 형태는 다시 되돌릴 수 없으며, 말레이미드 약물을 방출할 수도 없다. 따라서, 항체 환경이 고리 가수분해를 촉매하는 능력은 예측될 수 없을 것이며, 이는 특정의 조작된 Cys 부위의 놀라운 특성이다. 따라서, 0.7 초과의 AUC(MMAF)/AUC(hIgG) 비를 갖는 표 22의 부위가 이러한 기준에 기초하여 시스테인 치환에 특히 적합한 부위이며, 약 0.9 이상의 비를 갖는 부위는 적용되는 경우에 본 발명의 목적에 특히 바람직한 시스테인 치환 부위이다. 이들은 중쇄 부위 322, 334, 121, 288, 171, 139, 360, 117, 392, 375, 292, 333, 174, 258, 337, 422, 320, 390, 및 335; 및 경쇄 부위 107, 203, 108 및 114를 포함한다.

[0662] [표 22] 마우스에서의 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 AUC-MMAF 및 AUC-hIgG

트라스투주맙Cys-MMAF ADC	AUC-MMAF (hrs*μg/ml)	AUC-hIgG (hrs*μg/ml)	AUC(MMAF)/AUC(hIgG)
HC-K246C-MMAF	1515	3587	0.4
HC-K205C-MMAF	2109	4893	0.4
LC-S168C-MMAF	1688	3619	0.5
LC-E143C-MMAF	1589	3254	0.5
HC-E382C-MMAF	1364	2541	0.5
HC-T155C-MMAF	2930	5308	0.6
HC-S119C-MMAF	2230	4045	0.6

[0663]

[0664]

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	AUC-MMAF (hrs*μg/ml)	AUC-hIgG (hrs*μg/ml)	AUC(MMAF)/AUC(hIgG)
LC-T129C-MMAF	2375	4332	0.6
LC-T109C-MMAF	1588	2716	0.6
LC-K169C-MMAF	2858	4855	0.6
HC-S400C-MMAF	2363	3922	0.6
HC-R355C-MMAF	2344	3777	0.6
HC-R344C-MMAF	1994	3215	0.6
LC-Q199C-MMAF	2042	3261	0.6
LC-S182C-MMAF	2434	3722	0.7
HC-P153C-MMAF	2201	3402	0.7
HC-N286C-MMAF	2286	3535	0.7
HC-T169C-MMAF	2113	3190	0.7
LC-K183C-MMAF	2014	3053	0.7
LC-T197C-MMAF	2126	3177	0.7
LC-K145C-MMAF	2339	3454	0.7
HC-L398C-MMAF	2063	2979	0.7
HC-P189C-MMAF	2042	2968	0.7
HC-S157C-MMAF	2625	3640	0.7
HC-E269C-MMAF	2373	3293	0.7
LC-S159C-MMAF	2063	2809	0.7
LC-E161C-MMAF	1974	2632	0.8
LC-E165C-MMAF	2481	3244	0.8
HC-T164C-MMAF	2514	3290	0.8
LC-R142C-MMAF	2903	3786	0.8
LC-S156C-MMAF	2217	2847	0.8
HC-S207C-MMAF	2378	3001	0.8
LC-N152C-MMAF	2303	2862	0.8
HC-E152C-MMAF	3403	4202	0.8
LC-L154C-MMAF	1959	2387	0.8
LC-K188C-MMAF	2230	2680	0.8
HC-K326C-MMAF	2621	3157	0.8
LC-D170C-MMAF	2048	2420	0.9
HC-K290C-MMAF	2668	3090	0.9
HC-E293C-MMAF	2167	2523	0.9
HC-S124C-MMAF	2107	2463	0.9
HC-K274C-MMAF	3080	3554	0.9
HC-K322C-MMAF	3108	3437	0.9
HC-K334C-MMAF	4527	5048	0.9
HC-K121C-MMAF	2647	2952	0.9
HC-K288C-MMAF	2681	2902	0.9
HC-P171C-MMAF	2312	2481	0.9

[0665]

트라스투주맙 Cys-MMAF ADC	AUC-MMAF (hrs*μg/ml)	AUC-hIgG (hrs*μg/ml)	AUC(MMAF)/AUC(hIgG)
LC-K107C-MMAF	2621	2817	0.9
HC-T139C-MMAF	2951	3186	0.9
HC-K360C-MMAF	3791	4014	0.9
HC-S117C-MMAF	2661	2828	0.9
LC-S203C-MMAF	2730	2919	0.9
HC-K392C-MMAF	3148	3302	1.0
HC-S375C-MMAF	2593	2644	1.0
HC-R292C-MMAF	2816	2806	1.0
HC-E333C-MMAF	3850	3796	1.0
HC-L174C-MMAF	2604	2541	1.0
HC-E258C-MMAF	3941	3732	1.1
HC-S337C-MMAF	34.38	32.14	1.1
HC-V422C-MMAF	2662	2424	1.1
HC-K320C-MMAF	3181	2776	1.2
HC-N390C-MMAF	3627	3105	1.2
LC-R108C-MMAF	3711	2992	1.2
LC-S114C-MMAF	n.a.	2567	n.a.
HC-T335C-MMAF	6.71	n.a.	n.a.

[0666] n.a: 적용가능하지 않음.

[0667] **실시예 10: 2 초과의 약물-대-항체-비를 갖는 항체 약물 접합체를 생산하기 위한 Cys 부위의 조합.**

[0668] 리신 잔기로의 접합 또는 부분적으로 환원된 천연 디술피드 결합을 통해 생산된 항체 접합체는 종종 3 내지 4의 약물-대-항체-비 (DAR)를 특징으로 한다. Cys 조작된 항체는 보다 전형적으로 2의 DAR을 특징으로 한다. 특정 적응증의 경우에, 이론적으로 항체 내에 다중 Cys 돌연변이를 도입하여 달성될 수 있는 보다 높은 DAR을 갖는 ADC를 생산하는 것이 바람직할 수 있다. Cys 돌연변이의 수가 증가할수록, 이러한 돌연변이가 ADC 제조 동안 요구되는 재산화 과정을 방해하여 불균질한 생성물이 생성될 가능성이 또한 증가한다. 이러한 연구에서, 우수한 재산화 거동을 갖는 다수의 단일 부위 중쇄 및 경쇄 Cys 돌연변이체가 확인되었다.

[0669] 2 초과의 DAR을 갖는 ADC의 생산을 위해 여러 접합 부위가 조합될 수 있다는 것을 입증하기 위해, 트라스투주맙 및 항체 14090의 경쇄 및 중쇄의 여러 바람직한 단일 부위 Cys 구축물 (표 23)을 실시예 5에 기재된 바와 같이 293 프리스타일™ 세포에서 공동발현시켰다. 모두 중쇄 상에 1개의 Cys 돌연변이 및 경쇄 상에 1개의 Cys 돌연변이를 함유하는 정제된 항체를 실시예 6에 기재된 바와 같이 환원시키고, 재산화시키고, MC-MMAF와 접합시켰다. 역상 고압 액체 크로마토그래피는 단일 한정된 용리 피크가 천연 디술피드 결합의 효율적인 재산화를 시사함을 입증하였다. MC-MMAF 접합 이후의 역상 고압 액체 크로마토그래피는 또한 DAR 4 ADC 종에 대한 단일 용리 피크를 우세하게 나타내었다. 표 23의 모든 ADC의 DAR이 질량 분광측정법에 의해 4인 것으로 확인되었다. 생산 수율은 16 내지 24 mg/L (일시적 세포 배양물)였다. ADC는 분석 크기 배제 크로마토그래피에 의해 결정된 바와 같이 주로 단량체였으며; 8개 항체 중 오직 2개에서만 소량의 응집체를 검출할 수 있었다 (표 23). 트라스투주맙 및 14090 ADC는 각각 MDA-MB231 클론 16 및 CMK1105 세포 증식 검정에서 항원-의존성 세포 사멸을 나타내었다 (표 23).

[0670] [표 23] 4의 DAR을 갖는 Cys 조작된 MMAF ADC의 특성.

Cys-MMAF ADC (DAR=4)	LC 서열 번호	HC 서열 번호	수율 (mg/L)	AnSEC % 단량체	AnSEC % 다량체	IC_{50} MDA-MB231-16 세포 (μM)	IC_{50} CMK11-5 세포 (μM)
트라스투주맙 LC-S159C-HC-E258C	75	29	17.3	100	검출되지 않음	4.91e-4	효력 없음
트라스투주맙 LC-S159C-HC-S375C	75	50	17.8	100	검출되지 않음	2.44e-4	효력 없음
트라스투주맙 LC-E165C-HC-E258C	77	29	16.5	100	검출되지 않음	3.24e-4	효력 없음
트라스투주맙 LC-E165C-HC-S375C	77	50	16.9	100	검출되지 않음	2.15e-4	효력 없음
항체 14090 LC-A143C-HC-K360C	92	48	16.1	94.8	5.2	효력 없음	4.92e-4
항체 14090 LC-A143C-HC-S375C	92	50	21.8	100	검출되지 않음	효력 없음	4.76e-4
항체 14090 LC-V159C-HC-K360C	96	48	24.0	100	검출되지 않음	효력 없음	4.55e-4
항체 14090 LC-V159C-HC-S375C	96	50	21.7	97.1	2.9	효력 없음	3.99e-4

[0671]

[0672] n.d.: 검출가능하지 않음,

[0673] 효력 없음: 평가된 최고 농도(66 nM)에서 세포 사멸의 징후가 없음

[0674] 서열은 오직 항체 서열의 불변 영역을 특정한다.

[0675] **실시예 11. ADC 소수성에 기초한 Cys 부위의 선택**

[0676] DAR 2, 4, 6 및 8을 갖는 ADC의 제조를 위한 Cys 돌연변이체 및 돌연변이체 조합의 선택을 추가로 최적화하기 위해, 단일 부위 트라스투주맙 Cys 및 Pcl 돌연변이체를 사용하여 제조된 MMAF ADC (Pcl ADC의 제조는 특허 출원 55573에 기재됨)의 특성을 분석하고, 접합 부위의 접근성 및 용매 노출을 IgG의 결정 구조에서 조사하였다.

[0677] 가장 유익한 데이터 중 하나는 페이로드가 상이한 부위에 부착되었을 때 트라스투주맙 Pcl-MMAF ADC의 소수성이 크게 달라졌다는 것이 관찰된 것이다 (도 23). 이들 ADC의 소수성은 TSKgel 페닐-5PW 칼럼을 사용하는 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC) (도소 바이오사이언스(Tosoh Bioscience), TSKgel 페닐-5PW, 13 μm, 21x150 mm, 스테인레스 스틸, Cat# 07656; 구동 완충제 A: 20 mM NaPi 중 1.5 M 황산암모늄 (pH7.4); 완충제 B: 20 mM NaPi 중 20% 이소프로판올 (pH7.4); 유량 5 ml/min; 선형 구배: 20% → 80% 완충제 B (90 분); 280 nm에서의 UV 흡광도에 의해 모니터링됨)에 의해 측정하였다. 놀랍게도, ADC 중에서 DAR 2 종은 오직 ABA-MMAF 부착 부위에만 차이가 있음에도 불구하고 그의 체류 시간이 크게 달라지는 것으로 관찰되었다 (도 23). HIC는 소수성에 기초하여 분자를 분리한다. 모든 DAR 2 ADC는 접합되지 않은 항체보다 큰 HIC 체류 시간 (WT = 45분, 도 23)을 가지며, 이는 소수성 약물 분자, 예컨대 ABA-MMAF가 항체에 부착되는 경우에 예상된다. 그러나, 페이로드가 상이한 부위에 부착되면 ADC의 소수성은 다양한 정도로 증가한다.

[0678] 놀랍게도 체류 시간의 큰 차이는 항체 구조 상의 부착 부위의 위치를 조사하여 설명될 수 있다 (도 24): 체류 시간은 약물 페이로드가 항체의 외부에 노출된 부위, 예를 들어 HC-K288Pcl, HC-N286Pcl, HC-V422Pcl, HC-L398Pcl 및 HC-S415Pcl (여기서 각각의 ADC에 대해 87 내지 94분의 체류 시간이 측정됨)에서 부착되는 경우에 더 높다 (도 23). 반대로, 페이로드가 내부 부위, 예컨대 가변 및 CH1 도메인 사이에 형성된 캐비티 (예를 들어, HC-P153Pcl, HC-E152Pcl, HC-L174Pcl, HC-P171Pcl, LC-R142Pcl, LC-E161Pcl, LC-E165Pcl, LC-S159Pcl) 또

는 항체의 CH2 및 CH3 도메인 사이의 큰 개구부 (예를 들어, HC-K246C, HC-S375Pc1, HC-T393Pc1, HC-K334Pc1)에서 부착되는 경우에, HIC 체류 시간은 오직 47 내지 57분으로 증가하였으며, 이는 페이로드가 용매 및 HIC 칼럼과의 상호작용으로부터 부분적으로 격리되기 때문이다. 다른 부위, 예를 들어 상대적으로 노출된 부위, LC-K107Pc1 및 HC-K360Pc1의 경우에, 70 및 83분의 중간 체류 시간이 측정되었다.

[0679] 단백질 약물의 소수성을 감소시키는 것은 응집 및 순환으로부터의 클리어런스를 감소시킬 수 있기 때문에 일반적으로 유익한 것으로 간주된다. 본 발명자들은 도 23에 제시된 HIC 데이터가 바람직한 페이로드 부착 부위의 선택을 가능하게 한다고 제안하였다. 약물 페이로드를 이들이 용매 상호작용으로부터 격리되고 부착이 약물 부착시에 항체의 소수성을 최소로 증가시키는 부위에서 접합시키는 것은 접합 화학 반응 및 페이로드 클래스와 관계없이 유익할 것이다. 최소의 소수성 변화를 유발하는 부착 부위를 주의깊게 선택하는 것이 항체당 4, 6 또는 8개 약물이 부착되거나, 또는 특히 소수성 페이로드가 사용되는 경우에 특히 유익할 수 있다.

[0680] **낮은 소수성을 갖는 ADC를 위해 선택된 Cys 부위:**

[0681] ADC의 소수성을 최소화하기 위해, 항체의 다양한 단백질 도메인의 내부를 가리키는 부위를 선택하였다. 선택은 항체 구조의 분석 및 적용가능한 경우에 DAR=2를 갖는 기존의 ADC의 거동 (거동 = HIC 상의 체류 시간 및/또는 SEC 수지와 상호작용하는 접합체를 사용한 AnSEC에서의 지연된 체류 시간)에 기초한다. 표 1 및 표 2에서 확인된 Cys 부위 중에서, 표 24에 열거된 부위가 상기 기준을 만족시킨다.

[0682] 모든 ADC를 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC)에 의해 분석하였다. 노출된 부위 HC-K360C, LC-K107C, HC-E258C 및 HC-R292C에서 접합된 트라스투주맙 MMAF ADC를 비교 목적을 위해 사용하였다. 결과는 표 25에 제시된다. 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC 및 접합되지 않은 야생형 항체를 하기 기재되는 바와 같이 TSKgel 부틸-NPR 칼럼 상에서 분석하였다. 비교를 위해, TSKgel 페닐-5PW 상에서 Pc1-MMAF ADC에 대해 이전에 수득한 HIC 데이터 (도 23)가 또한 열거되어 있다. 상이한 기기 프로토콜에도 불구하고, 2개의 링커의 상이한 기하학적 구조 및 구조로 인해 약간의 변동이 예상된다 하더라도, 동일한 위치에서 접합되지만 상이한 접합 방법을 통해 접합된 ADC에 대한 체류 시간의 비는 거의 일정하게 유지된다. HIC 데이터는 체류 시간이 사실상 페이로드가 부착 화학 반응 및 링커 구조와 관계없이 항체의 내부에서 얼마나 잘 격리되는지에 대한 척도임을 시사한다. 예상되는 바와 같이 상이한 부착 부위의 상대적 랭킹은 Pc1-MMAF 및 Cys-MMAF ADC에서 매우 동일하게 유지된다.

[0683] 표 24에서 선택된 부위, HC-E333C, HC-K392C, 및 HC-K326C에의 부착은 노출된 부위 ADC LC-K107C-MMAF, HC-E258C-MMAF, HC-R292C-MMAF 및 HC-K360C-MMAF와 유사한 HIC 체류 시간을 갖는 MMAF ADC를 생성한다 (표 28). HC-E152C, LC-E165C, HC-P171C, LC-R142C, LC-E161C, HC-L174C 및 HC-S124C 부위에의 부착은 생성된 ADC의 체류 시간을 접합되지 않은 야생형 항체에 비해 15% 미만만큼 증가시킨다. 이러한 부위는 모두 CH1 도메인 내에 또는 경쇄 (LC) 상에 위치하고, HIC 체류 시간 데이터는 이들을 바람직한 부착 부위로서 제안한다. CH3 도메인 부위 중에서, HC-K334C 및 HC-S375C는 접합시에 가장 낮은 소수성 증가를 나타내어, 이들을 바람직한 부착 부위가 되도록 한다.

[0684] [표 24] Cys 돌연변이체 부위

Cys 돌연변이체 부위	부위 (EU 번호)
LC-R142C	142
LC-S159C	159
LC-E161C	161
LC-E165C	165
HC-S124C	124
HC-E152C	152
HC-P171C	171
HC-L174C	174
HC-K326C	326
HC-E333C	333
HC-K334C	334
HC-S375C	375
HC-K392C	392

[0685]

[0686] [표 25] 트라스투주맙 MMAF ADC의 DAR 2 종의 소수성 상호작용 크로마토그래피 (HIC) 체류 시간.

[0687] Cys 및 Pc1 접합 화학 반응의 비교에서, 2개의 세트가 잘 일치한다: 한 화학 반응에 의해 접합된 약물을 가리는

부위는 또한 다른 화학 반응에 의해 접합된 경우에 약물을 가리는 경향이 있다. 2개 링커 시스템의 상이한 기하학적 구조로 인해 약간의 가변성이 예상된다.

[0688]

트라스투주맙ADC	DAR2 HIC 체류[a] (min)	트라스투주맙ADC	DAR2 HIC 체류[b] (min)	비
WT	19.5	WT	45	0.43
HC-E152C-MMAF	20.4	HC-E152Pcl-MMAF	50	0.41
LC-E165C-MMAF	20.8	LC-E165Pcl-MMAF	55	0.38
HC-P171C-MMAF	21.0	HC-P171Pcl-MMAF	51	0.41
HC-K334C-MMAF	21.5	HC-K334Pcl-MMAF	56	0.38
HC-S375C-MMAF	21.6	HC-S375Pcl-MMAF	52	0.42
LC-R142C-MMAF	21.7	LC-R142Pcl-MMAF	51	0.42
LC-E161C-MMAF	22.0	LC-E161Pcl-MMAF	55	0.40
HC-L174C-MMAF	22.0	HC-L174Pcl-MMAF	50	0.44
HC-S124C-MMAF	22.4	HC-S124Pcl-MMAF	59	0.38
HC-E333C-MMAF	23.1	HC-E333Pcl-MMAF	63	0.37
HC-K392C-MMAF	23.1	HC-K392Pcl-MMAF	60	0.38
HC-R292C-MMAF	23.8	HC-R292Pcl-MMAF	69	0.35
HC-K326C-MMAF	24.5	HC-K326Pcl-MMAF	72	0.34
LC-K107C-MMAF	24.8	LC-K107Pcl-MMAF	70	0.35
HC-E258C-MMAF	24.9	HC-E258Pcl-MMAF	69	0.36
HC-K360C-MMAF	26.8	HC-K360Pcl-MMAF	83	0.32

[0689] [a] 분석 HIC: 도소 바이오사이언스 (미국 펜실베니아주 킹 오브 프러시아) TSKgel 부틸-NPR 칼럼 (100 mm x 4.6 mm, 2.5 μm), 구동 완충제 A: 50 mM 인산나트륨, 1.5 M 황산암모늄, pH 7.0; 완충제 B: 50 mM 인산나트륨, pH 7.0; 100% A에서 5분 유지, 이어서 20 → 100% B의 선형 구배 (40분)로 이루어진 구배; 280 nm에서의 UV 흡광도에 의해 모니터링됨.

[0690] [b] 세미-정제용 HIC: 도소 바이오사이언스 (미국 펜실베니아주 킹 오브 프러시아), TSKgel 페닐-5PW, 13 μm, 21x150 mm; 구동 완충제 A: 20 mM NaPi 중 1.5 M 황산암모늄 (pH7.4); 완충제 B: 20 mM NaPi 중 20% 이소프로판올 (pH7.4); 유량 5 ml/분; 선형 구배 20% → 80% 완충제 B (90분); 280 nm에서의 UV 흡광도에 의해 모니터링됨.

[0691] 상세한 분석 HIC 프로토콜:

[0692] 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC에 대한 분석 HIC 데이터를 디오넥스 얼티메이트(Dionex UltiMate) 3000 HPLC (미국 캘리포니아주 서니베일) 상에 설치된 도소 바이오사이언스 (미국 펜실베니아주 킹 오브 프러시아) TSKgel 부틸-NPR 칼럼 (100 mm x 4.6 mm, 2.5 μm)을 사용하여 수집하였다. 방법은 완충제 A (50 mM 인산나트륨, 1.5 M 황산암모늄, pH 7.0) 및 완충제 B (50 mM 인산나트륨, pH 7.0)의 이원 구배로 이루어진다. 대략 50 μg의 항체 (PBS)를 동등 부피의 3 M 황산암모늄으로 희석하여 샘플을 제조하였다. 구배는 100% A에서 5분 유지, 이어서 20 → 100% B의 선형 구배 (40분) 및 최종적으로 10분 동안 초기 조건에서의 재평형화, 이후의 후속 주입으로 이루어진다. 분리는 280 nm에서의 UV 흡광도에 의해 모니터링하였다.

[0693] DAR 4, 6 및 8 Cys ADC의 제조 및 특성화

[0694] DAR 4, 6 및 8 ADC의 제조를 위해 Cys 돌연변이를 조합할 수 있다. 일반적으로, 바람직한 조합은 DAR 4를 갖는 ADC를 생성하는 2개의 Cys 돌연변이의 조합이다. DAR 4 ADC의 제조를 위해 중쇄 (HC) Cys 돌연변이체를 경쇄 (LC) Cys 돌연변이체와 조합하는 것을 포함하는 일부 예가 실시예 10에서 트라스투주맙 및 항체 14090에 대해 제시된다. 추가의 데이터가 표 26에 제공된다. HIC 데이터 및 IgG 결정 구조에서의 부착 부위의 조사에 기초하여, 실시예 2, 5 및 6에 기재된 프로토콜을 이용하여 추가의 Cys 조합을 제조하였다. MMAF ADC의 선택된 예에 대한 데이터가 표 26에 제시된다. 또한, 선택된 중쇄 부위를 조합하고, 중쇄의 이중 Cys 돌연변이를 실시예 2에 열거된 프로토콜에 따라 클로닝하였다. 2개의 HC Cys 돌연변이를 특징으로 하는 항체를 제조하고, 실시예 5 및 6에 기재된 프로토콜에 따라 접합시켰다.

[0695] DAR 4 ADC의 제조를 위해, 조합은 표 24에 열거된 단일 부위 돌연변이를 포함한다. 단일 부위의 조합은 낮은 소수성을 갖는 ADC를 생성한다 (표 25). 일부 조합에서, 하나의 Cys 돌연변이가 CH1 도메인 내에 또는 경쇄 상에 위치하고, 제2 부위가 CH3 도메인 내에 위치한다. 이러한 조합의 예는 HC-E152C 및 HC-S375C, 및 LC-E165C

및 HC-S375C, 및 HC-E152C 및 HC-K334C, 및 LC-E165C 및 HC-K334C의 Cys 돌연변이체 조합을 특징으로 하는 항체이다.

[0696] DAR 6 및 8을 갖는 ADC는 또한 3 또는 4개의 Cys 돌연변이가 1개의 항체에서 조합되는 경우에 제조될 수 있다. 선택된 중쇄 조합은 DAR 4, 6 및 8 ADC의 제조를 위해 조합하였다. 중쇄의 이중 및 삼중 Cys 돌연변이를 실시예 2에 열거된 프로토콜에 따라 클로닝하였다. 2, 3 및 4개의 Cys 돌연변이를 특징으로 하는 항체를 제조하고, 실시예 5 및 6에 기재된 프로토콜에 따라 접합시켰다. 일부 DAR 4, DAR 6 및 DAR 8 ADC 예의 특성은 표 26에 요약된다. 이들 ADC 중 일부는 놀랍게도 도 25에서 나타난 바와 같이 우수한 PK 특성을 갖는다. 항체 14090은 마우스 교차-반응성이며, 이에 따라 항체 14090 ADC는 예상된 바와 같이 어떠한 마우스 항원에도 결합하지 않는 트라스투주맙 ADC보다 빠르게 클리어링된다.

[0697] 조합은 표 24에 열거된 단일 부위 돌연변이 중 3 및 4개와의 조합을 포함한다. 조합은 낮은 소수성을 갖는 ADC를 생성하는 부위를 포함한다 (표 25). 조합은 1개의 Cys 돌연변이가 CH1 도메인 내에 또는 경쇄 (LC) 상에 위치하고, 임의적으로 추가의 1 내지 3개의 부위가 CH3 도메인 내에 위치하는 것을 포함한다. 이러한 조합의 예는 HC-E152C 또는 LC-E165C의, HC-S375C, HC-K334C, 및/또는 HC-K392C와의 Cys 돌연변이체 조합을 특징으로 하는 항체를 포함한다. DAR 6 및 DAR 8 ADC의 제조에 바람직한 조합은 각각 표 27 및 표 28에 제시된다.

[0698] 몇몇을 제외하고, 연구된 모든 Cys 부위에서의 MMAF 부착은 열 안정성이 높고 (실시예 7, 표 19), 응집되는 경향이 낮고 (실시예 6, 표 18) 및 DAR 2 ADC의 약동학적 특성이 우수한 (실시예 9, 표 22, 도 18) ADC를 생성하였다. 분명하게는 상대적으로 가용성인 페이로드, 예컨대 MMAF를 사용한 경우에 ADC 소수성의 차이가 생물물리학적 및 약동학적 특성의 큰 차이로 해석되지 않는다. 실제로, 상기 제시된 바와 같이, 허용되는 약동학적 특성을 갖는 DAR 4, DAR 6 및 DAR 8 MMAF ADC는 심지어는 노출된, "소수성" 부위, 예컨대 HC-K360C를 보다 바람직한 부착 부위에 조합하여 사용함으로써 제조될 수 있다. 그러나, 거동이 보다 덜 우수한 경우에는, 우수한 약동학적 특성을 갖는 비-응집 ADC를 제조하는데 필수적일 수 있는 최소의 소수성 변화를 일으키는 부착 부위를 주의깊게 선택하면서 보다 소수성인 페이로드를 사용한다. 이러한 소수성 페이로드의 경우에, 소수성 증가를 감소시키는 부위의 조합을 사용하는 것이 항체당 4, 6 또는 8개의 약물이 부착될 때 유익할 수 있다.

[0699] [표 26] Cys 돌연변이의 조합을 사용하여 제조된 선택된 DAR 4, 6 및 8 MMAF ADC의 특성화.

Cys-MMAF ADC 명칭	DAR	% 다량체 AnSEC	AUC MMAF/ AUC hIgG
트라스투주맙-HC-E258C-LC-S159C-MMAF	4.0	n.d.	0.9
트라스투주맙-HC-S375C-LC-S159C-MMAF	4.0	n.d.	0.8
트라스투주맙-HC-E258C-LC-E165C-MMAF	4.0	n.d.	0.9
트라스투주맙-HC-S375C-LC-E165C-MMAF	4.0	n.d.	0.8
트라스투주맙-HC-E152C-LC-R142C-MMAF	3.8	n.d.	0.9
트라스투주맙-HC-P171C-LC-R142C-MMAF	3.8	0.1	1.1
트라스투주맙-HC-E152C-LC-S159C-MMAF	3.8	n/a	0.7
항체 14090-HC-S375C-LC-A143C-MMAF	4.0	n.d.	0.9
항체 14090-HC-K360C-LC-V159C-MMAF	4.0	n.d.	1.0
항체 14090-HC-S375C-LC-V159C-MMAF	4.0	2.9	1.0
트라스투주맙-HC-K334C-S375C-LC-E165C-MMAF	6.0	n.d.	0.8
트라스투주맙-HC-K334C-K392C-LC-E165C-MMAF	5.8	11	0.4
트라스투주맙-HC-K334C-K360C-S375C-LC-E165C-MMAF	8.0	5	0.6
트라스투주맙-HC-K334C-K360C-K392C-LC-E165C-MMAF	7.8	n.d.	0.8
트라스투주맙-HC-K334C-S375C-K392C-LC-E165C-MMAF	8.0	n.d.	0.7

[0700]

[0701] *항-MMAF 및 항-IgG ELISA 검정을 사용한 마우스 PK 측정에 기초한 AUC 계산.

[0702] n.d.; 검출되지 않음, 정량화 한계 미만.

[0703] [표 27] DAR 6 ADC의 제조를 위한 Cys 부위의 바람직한 조합.

[0704]

ADC 조합	부위 1	부위 2	부위 3
1	HC-E152C	HC-S375C	HC-K392C
2	HC-E152C	HC-S375C	HC-K334C
3	HC-E152C	HC-K334C	HC-K392C
4	LC-E165C	HC-S375C	HC-K392C
5	LC-E165C	HC-S375C	HC-K334C
6	LC-E165C	HC-K334C	HC-K392C

[0705] [표 28] DAR 8 ADC의 제조를 위한 Cys 부위의 바람직한 조합.

[0706]

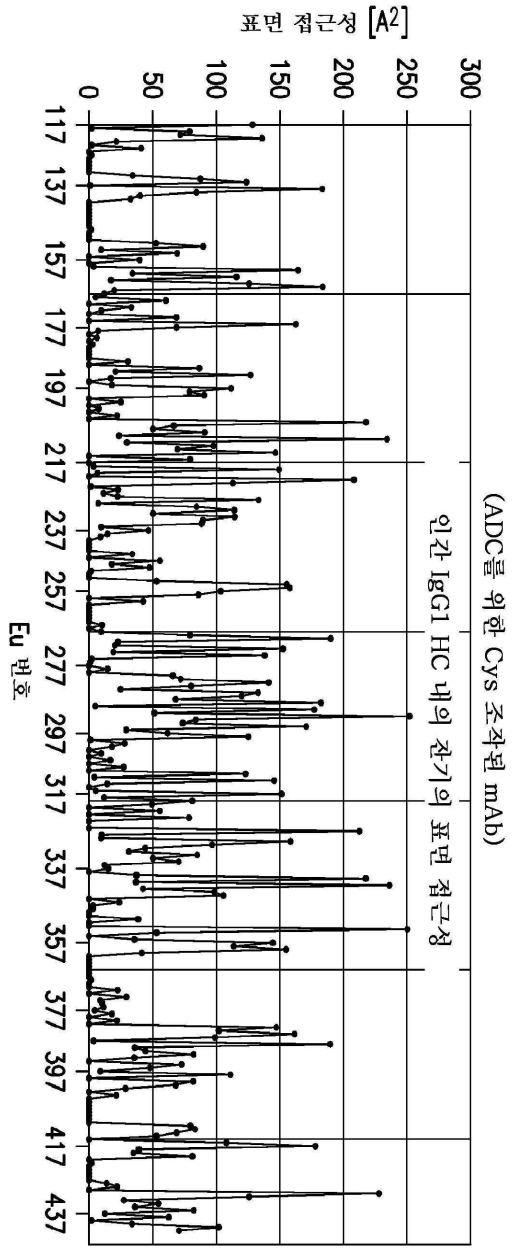
ADC 조합	부위 1	부위 2	부위 3	부위 4
1	HC-E152C	HC-S375C	HC-K334C	HC-K392C
2	HC-E152C	HC-S375C	HC-E333C	HC-K392C
3	LC-E165C	HC-S375C	HC-K334C	HC-K392C
4	LC-E165C	HC-S375C	HC-E333C	HC-K392C

[0707] **실시예 12. 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 생체내 효능 연구.**

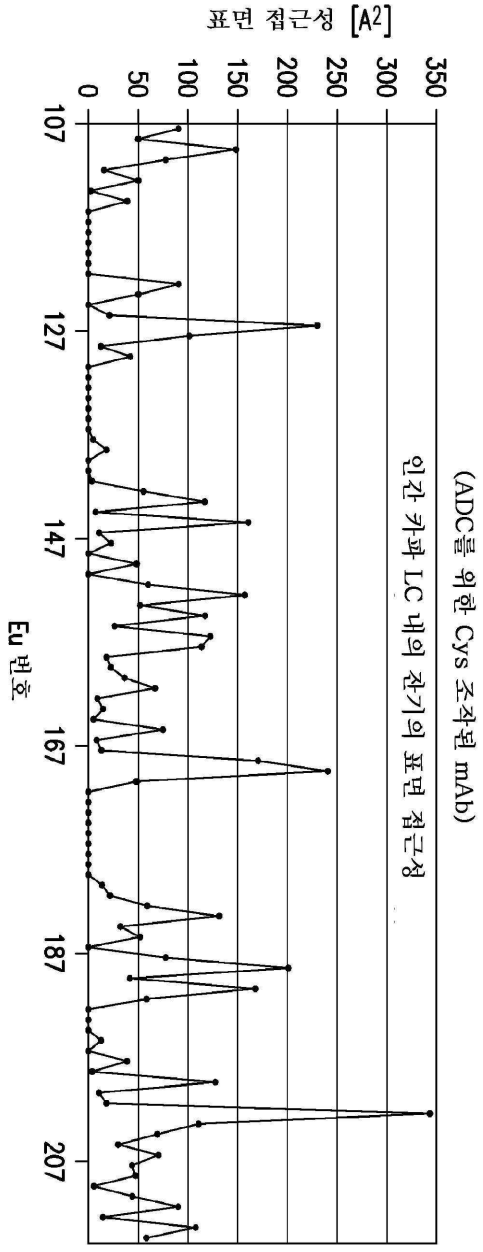
[0708] 생체내 이종이식편 종양 모델은 관련되고 잘 특성화된 인간 원발성 종양 또는 종양 세포주를 면역-결핍 누드 마우스에 이식함으로써 관찰된 생물학적 활성을 시뮬레이션한다. 종양 이종이식편 마우스를 항암 시약으로 처리하는 연구는 시험된 시약의 생체내 효능에 관한 유용한 정보를 제공하였다 (Sausville and Burger, 2006). MDA-MB231 클론 16 세포가 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC에 대해 항원 의존성 방식으로 민감하였으므로 (도 15), 이 세포주를 생체내 모델로서 선택하여 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC를 평가하였다. 모든 동물 연구는 실험실 동물의 관리 및 이용에 대한 지침 (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) (NIH publication; National Academy Press, 8th edition, 2001)에 따라 수행하였다. MDA-MB231 클론 16 세포를 nu/nu 마우스에 피하로 이식하였다 (Morton and Houghton, 2007). 종양 크기가 ~200 mm^{3}에 도달한 후에, 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC를 3 mg/kg의 단일 용량으로 IV 주사에 의해 마우스에 투여하였다. 종양 성장을 ADC 주사 후에 매주 측정하였다. 각각의 처리군은 9마리 마우스를 포함하였다. 3가지 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC를 사용하는 생체내 효능 연구의 예가 도 22에 제시된다. 마우스를 3 mg/kg 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC로 처리하였을 때 모든 3가지 시험된 Cys-MMAF ADC에서 종양 퇴행이 발생하였다 (도 22). ADC 처리와 관련하여 체중 손실은 관찰되지 않았다. 트라스투주맙 Cys-MMAF ADC의 3 mg/kg의 단일 용량 처리가 MDA-MB231 클론 16 종양의 퇴행을 효과적으로 유발한다는 결과를 확인하였다.

도면

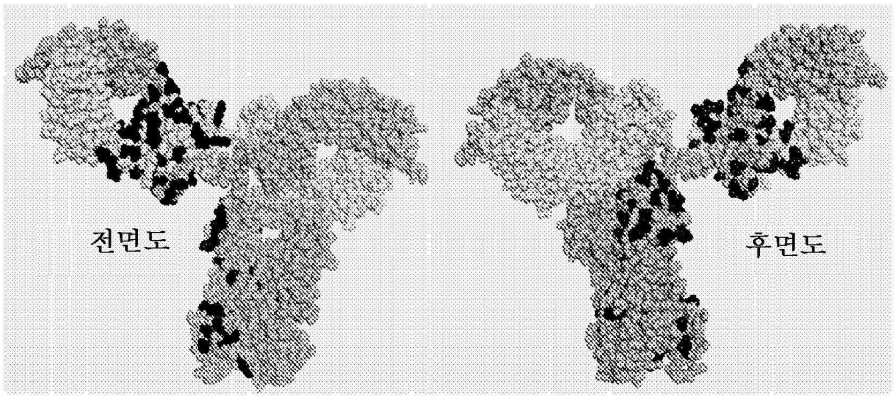
도면1a


표면 접근성 [A2]
0
50
100
150
200
250
300
117
137
157
177
197
217
237
257
277
297
317
337
357
377
397
417
437
Eu 번호
인간 IgG1 HC 내의 잔기의 표면 접근성
(ADC를 위한 Cys 조작된 mAb)

도면1b


표면 접근성 [A2]
0
50
100
150
200
250
300
350
107
127
147
167
187
207
Eu 번호
인간 카파 LC 내의 잔기의 표면 접근성
(ADC를 위한 Cys 조작된 mAb)

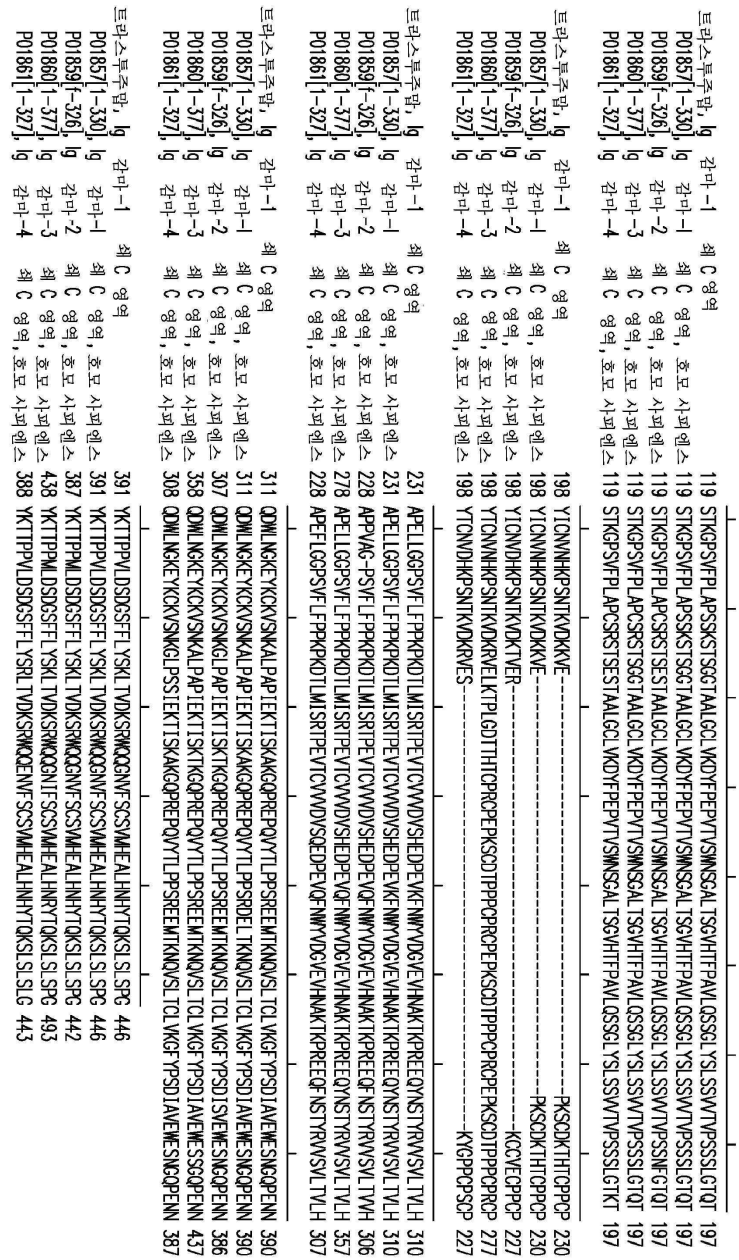
도면2



도면3

```
Tras   SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS 176
14090  SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS 176
Tras   SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG 236
14090  SGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLG 236
Tras   GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY 296
14090  GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY 296
Tras   NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE 356
14090  NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE 356
Tras   EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR 416
14090  EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR 416
Tras   WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447
14090  WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK 447
```

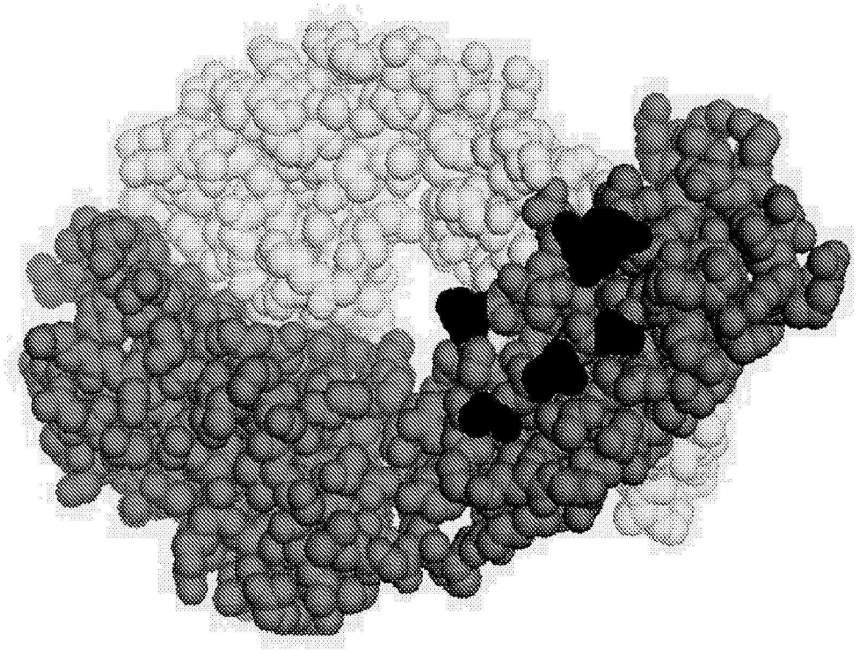
도면4


트라스투주맙, Ig 감마-1 쇄 C 영역 119 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT 197
P01857[1-330]_Ig 감마-1 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 119 STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT 197
P01859[f-326]_Ig 감마-2 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 119 STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQT 197
P01860[1-377]_Ig 감마-3 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 119 STKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQT 197
P01861[1-327]_Ig 감마-4 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 119 STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKT 197
트라스투주맙, Ig 감마-1 쇄 C 영역 198 YTCNVNHKPSNTKVDKKVE----------PKSCDKTHTCPPCP 230
P01857[1-330]_Ig 감마-1 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 198 YTCNVNHKPSNTKVDKKVE----------PKSCDKTHTCPPCP 230
P01859[f-326]_Ig 감마-2 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 198 YTCNVDHKPSNTKVDKTVER----------KCCVECPPCP 227
P01860[1-377]_Ig 감마-3 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 198 YTCNVNHKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCP 277
P01861[1-327]_Ig 감마-4 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 198 YTCNVDHKPSNTKVDKRVES----------KYGPPCPSCP 227
트라스투주맙, Ig 감마-1 쇄 C 영역 231 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH 310
P01857[1-330]_Ig 감마-1 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 231 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH 310
P01859[f-326]_Ig 감마-2 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 228 APPVAG-PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVVH 306
P01860[1-377]_Ig 감마-3 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 278 APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLH 357
P01861[1-327]_Ig 감마-4 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 228 APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLH 307
트라스투주맙, Ig 감마-1 쇄 C 영역 311 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN 390
P01857[1-330]_Ig 감마-1 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 311 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN 390
P01859[f-326]_Ig 감마-2 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 307 QDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENN 386
P01860[1-377]_Ig 감마-3 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 358 QDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENN 437
P01861[1-327]_Ig 감마-4 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 308 QDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN 387
트라스투주맙, Ig 감마-1 쇄 C 영역 391 YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 446
P01857[1-330]_Ig 감마-1 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 391 YKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 446
P01859[f-326]_Ig 감마-2 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 387 YKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG 442
P01860[1-377]_Ig 감마-3 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 438 YKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSVMHEALHNRYTQKSLSLSPG 493
P01861[1-327]_Ig 감마-4 쇄 C 영역, 호모 사피엔스 388 YKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQQENVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG 443

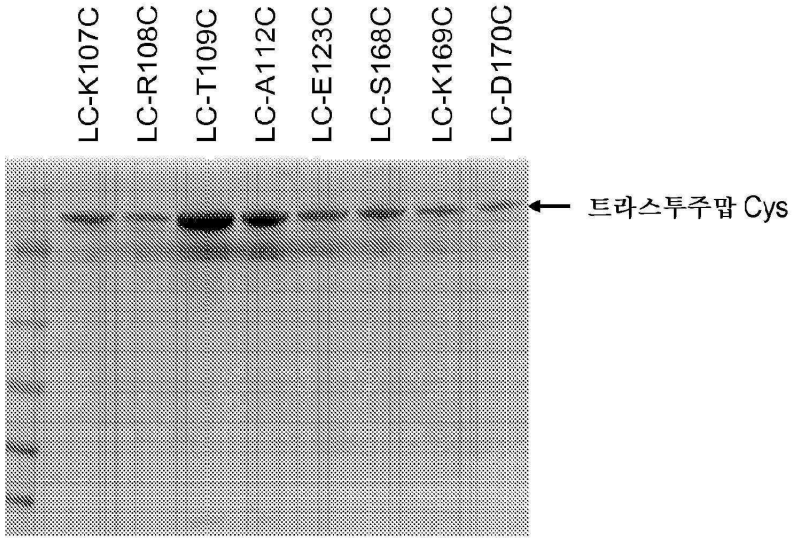
도면5a


카파 RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNA-LQSGNSQESVTEQDSK
AAPSV +FPPS E+L++ A++VCL+++FYP V WK D++ +++G E+ T
람다 QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAG--VETTTPSKQS
카파 DSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
++ Y+ SS L+L+ ++ H+ Y+C+VTH+G S V K+ EC
람다 NNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEG--STVEKTVAPTECS

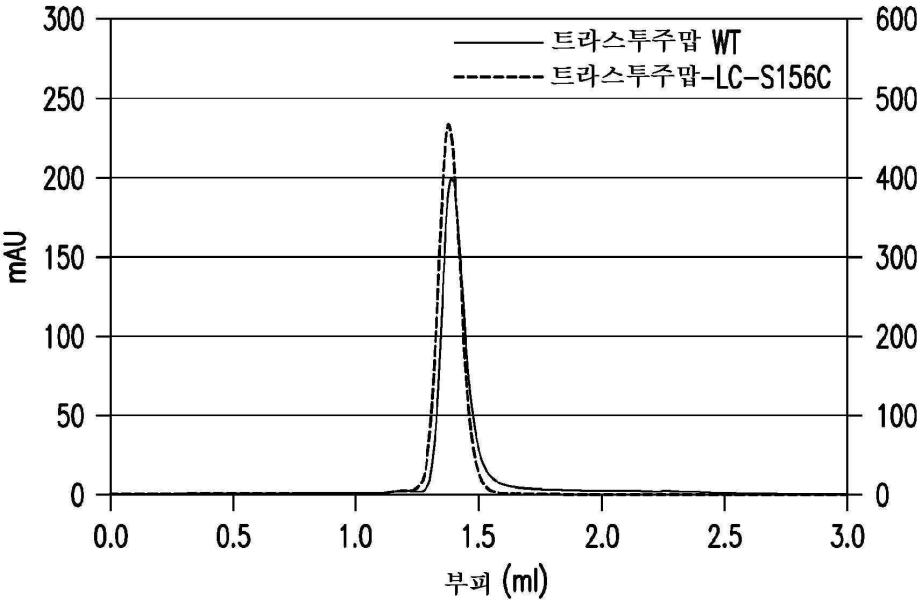
도면5b



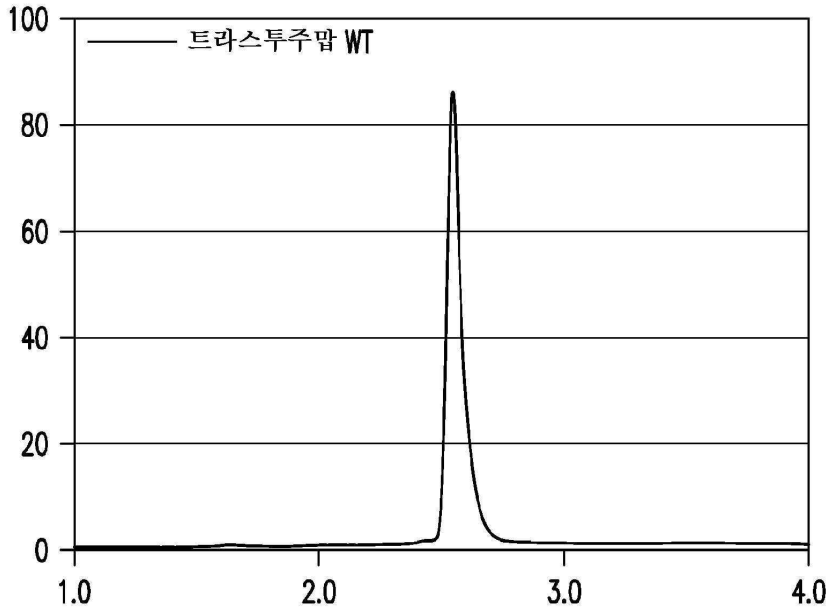
도면6


LC-K107C
LC-R108C
LC-T109C
LC-A112C
LC-E123C
LC-S168C
LC-K169C
LC-D170C
트라스투주맙 Cys

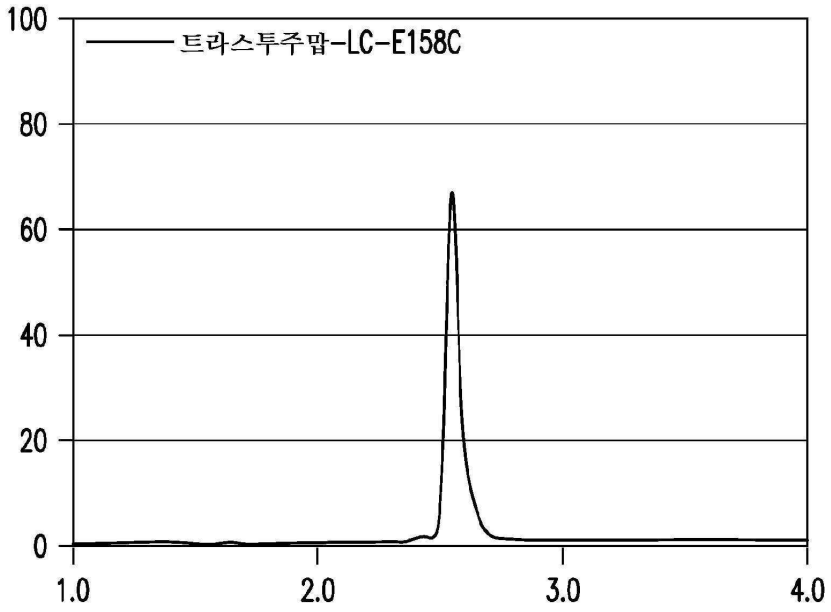
도면7


트라스투주맙 WT
트라스투주맙-LC-S156C
mAU
300
250
200
150
100
50
0
600
500
400
300
200
100
0
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
부피 (ml)

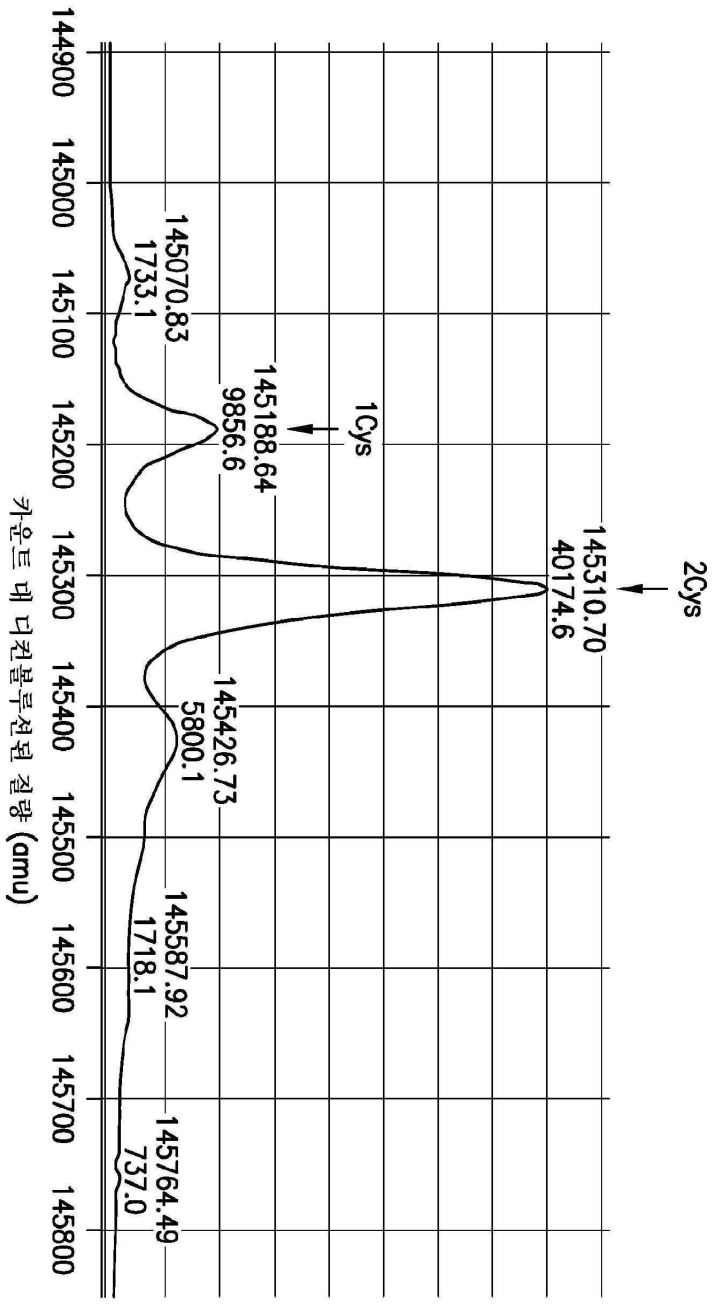
도면8a


트라스투주맙 WT
100
80
60
40
20
0
1.0
2.0
3.0
4.0

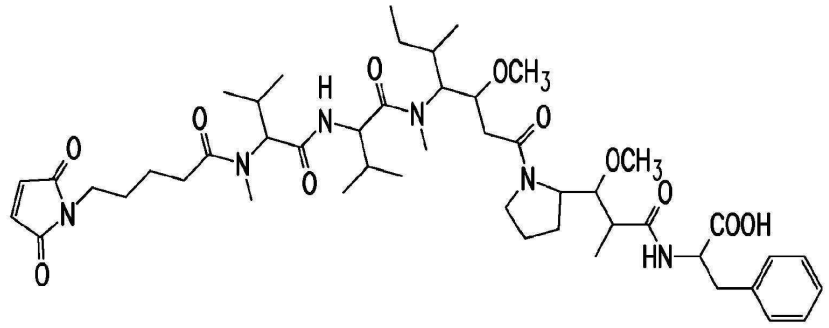
도면8b



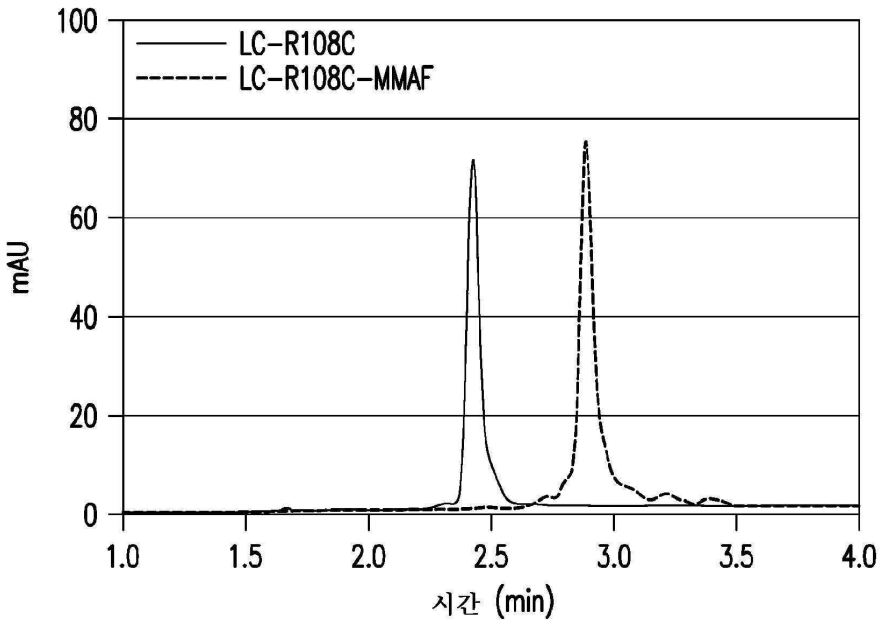
도면9


2Cys
145310.70
40174.6
1Cys
145188.64
9856.6
145070.83
1733.1
145426.73
5800.1
145587.92
1718.1
145764.49
737.0
144900
145000
145100
145200
145300
145400
145500
145600
145700
145800
카운트 대 디컨볼루션된 질량 (amu)

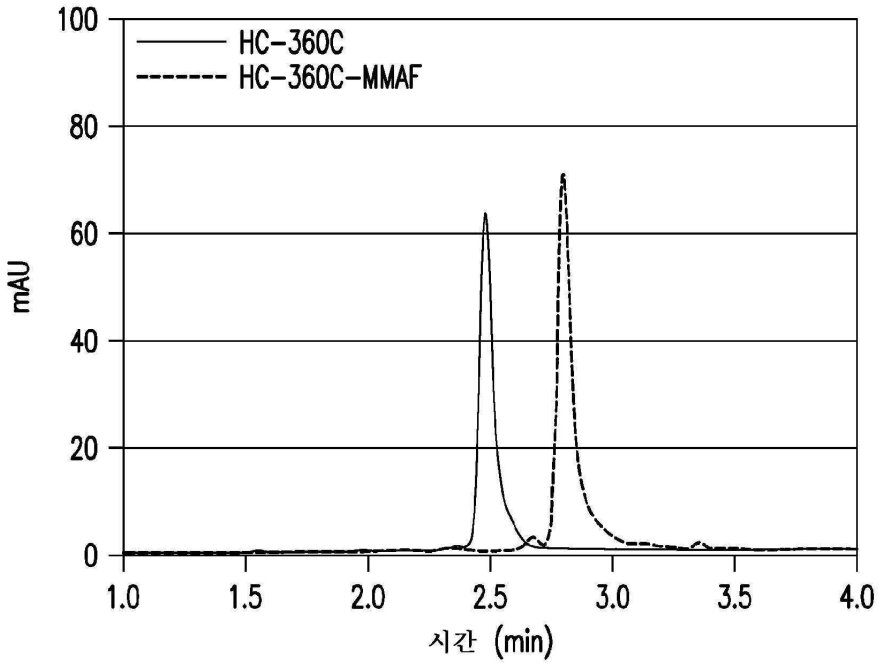
도면10


O
N
O
O
N
O
H
N
O
N
OCH3
O
N
OCH3
O
HN
COOH

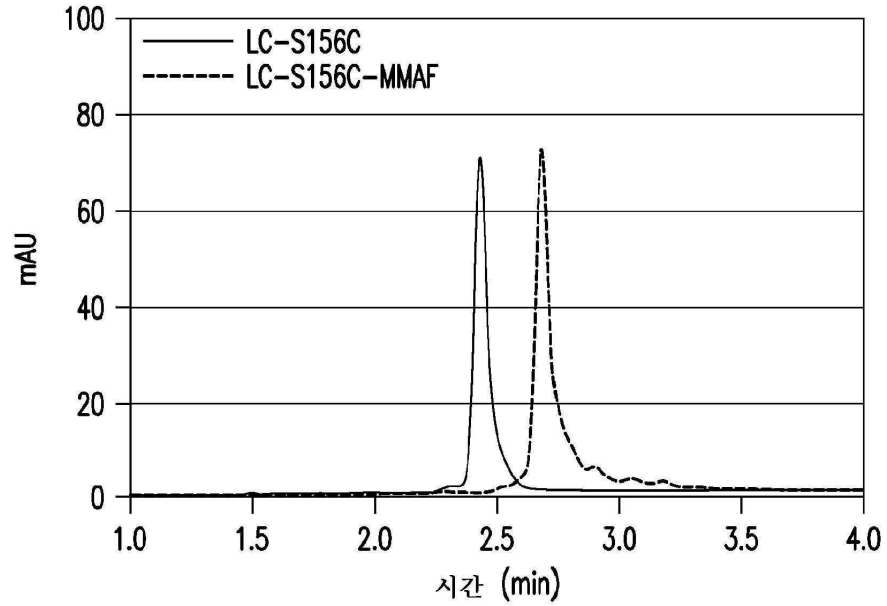
도면11a


LC-R108C
LC-R108C-MMAF
mAU
100
80
60
40
20
0
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.0
시간 (min)

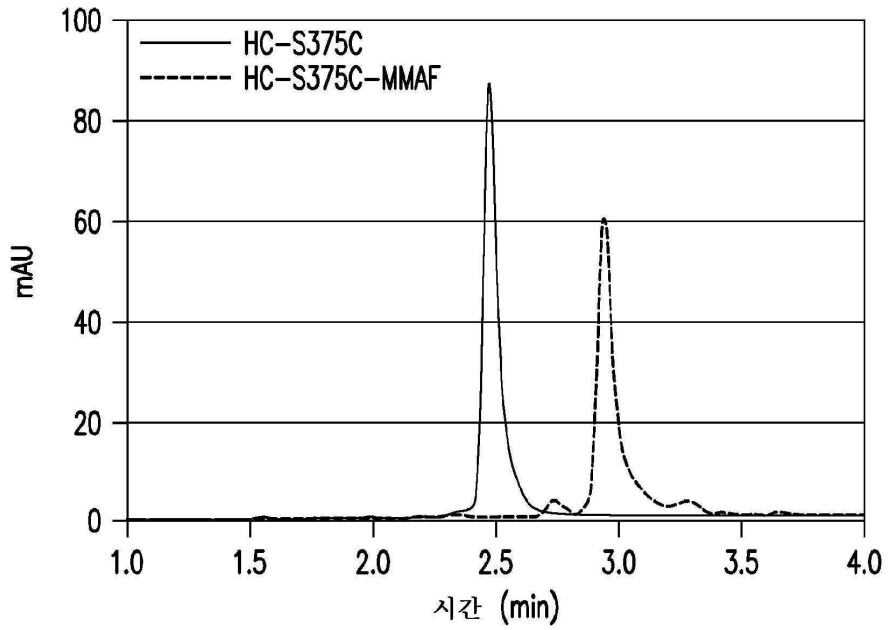
도면11b


HC-360C
HC-360C-MMAF
mAU
100
80
60
40
20
0
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.0
시간 (min)

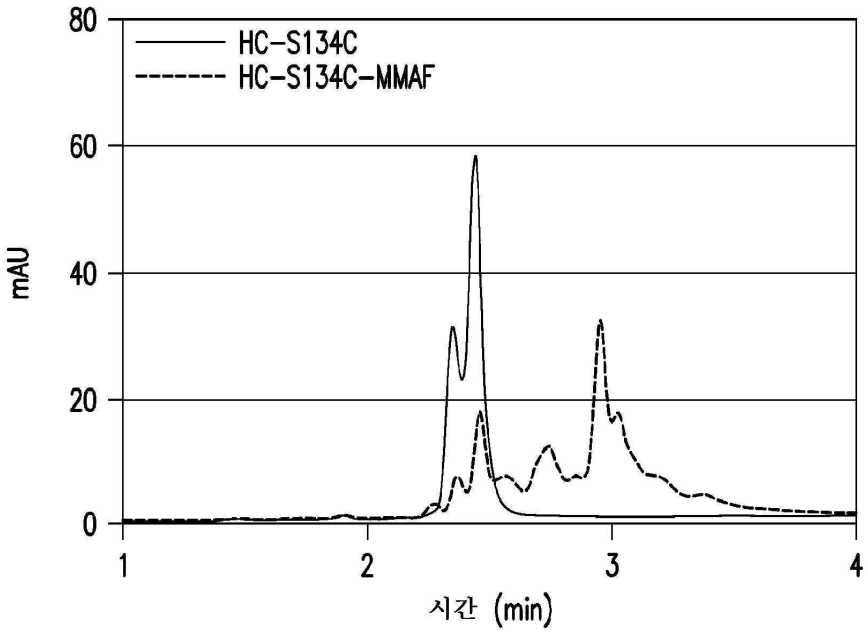
도면11c


LC-S156C
LC-S156C-MMAF
mAU
100
80
60
40
20
0
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.0
시간 (min)

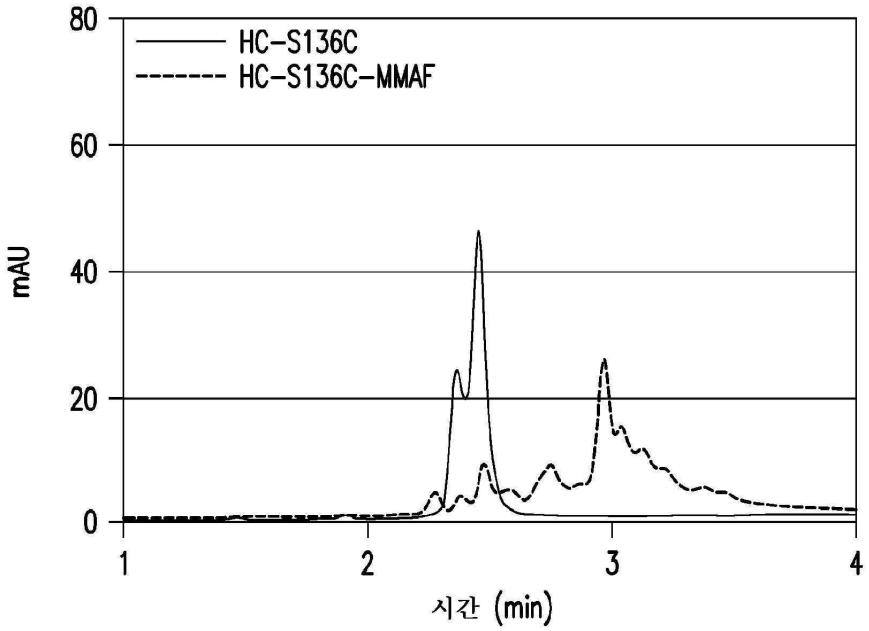
도면11d


HC-S375C
HC-S375C-MMAF
mAU
100
80
60
40
20
0
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
3.5
4.0
시간 (min)

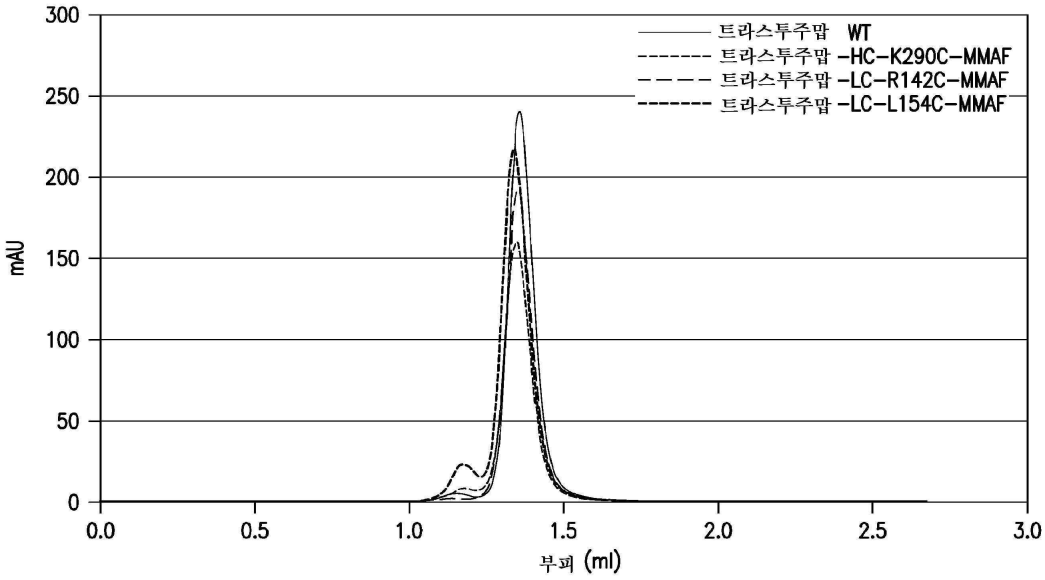
도면12a


HC-S134C
HC-S134C-MMAF
mAU
80
60
40
20
0
1
2
3
4
시간 (min)

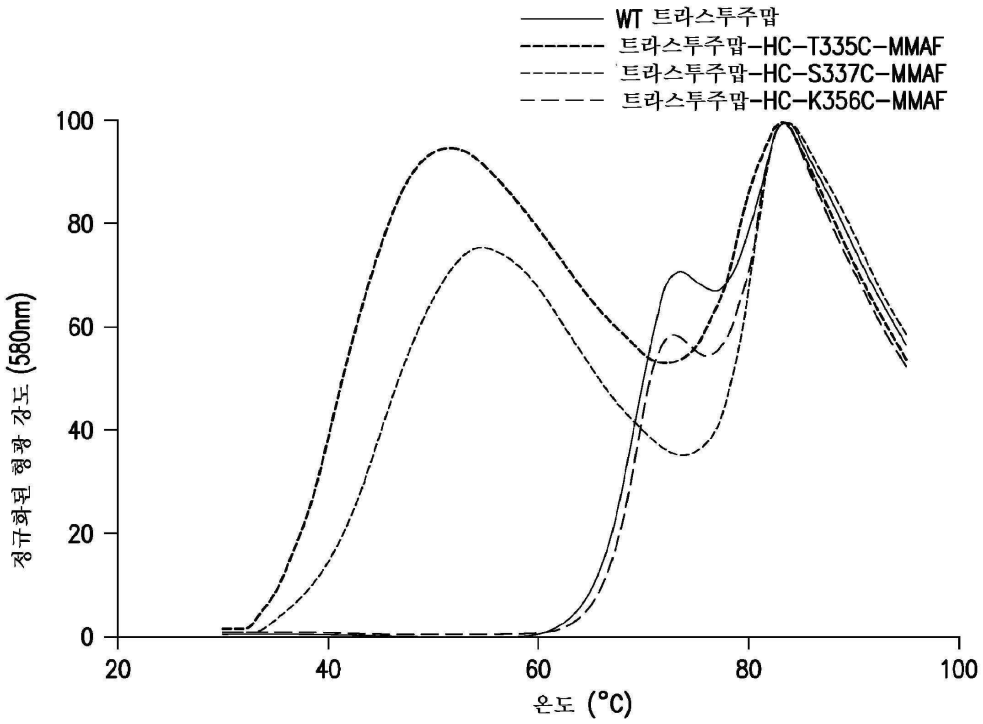
도면12b


HC-S136C
HC-S136C-MMAF
mAU
80
60
40
20
0
1
2
3
4
시간 (min)

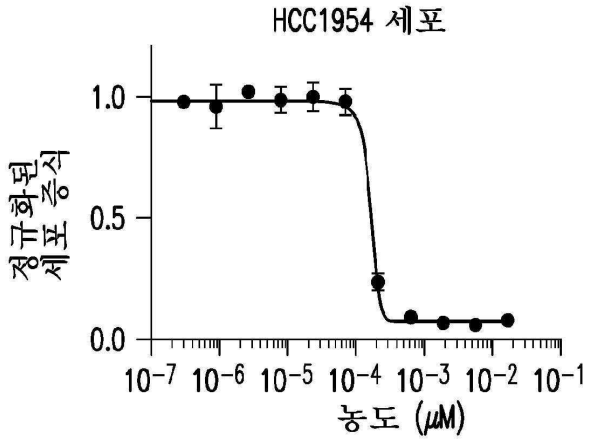
도면13


트라스투주맙 WT
트라스투주맙 -HC-K290C-MMAF
트라스투주맙 -LC-R142C-MMAF
트라스투주맙 -LC-L154C-MMAF
mAU
300
250
200
150
100
50
0
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5
3.0
부피 (ml)

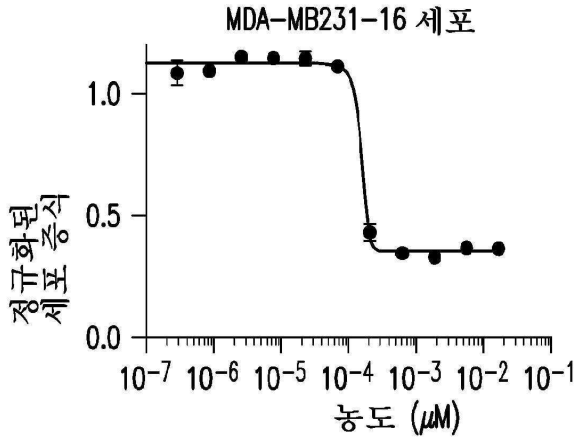
도면14


WT 트라스투주맙
트라스투주맙-HC-T335C-MMAF
트라스투주맙-HC-S337C-MMAF
트라스투주맙-HC-K356C-MMAF
정규화된 형광 강도 (580nm)
100
80
60
40
20
0
20
40
60
80
100
온도 (°C)

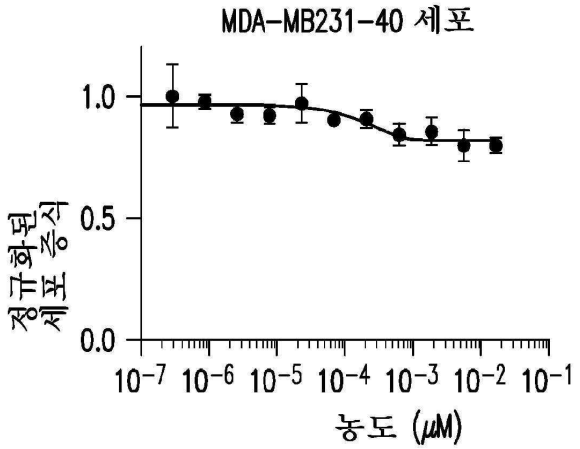
도면15a


HCC1954 세포
정규화된 세포 증식
1.0
0.5
0.0
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1
농도 (μM)

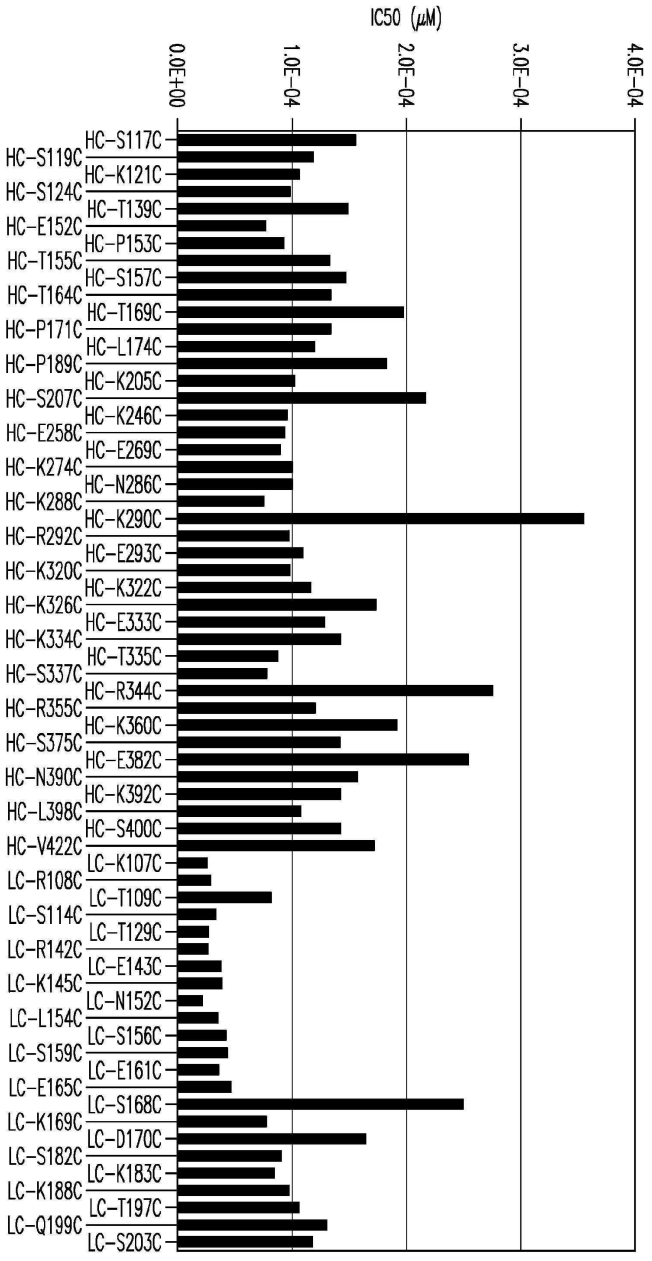
도면15b


MDA-MB231-16 세포
1.0
0.5
0.0
정규화된 세포 증식
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1
농도 (μM)

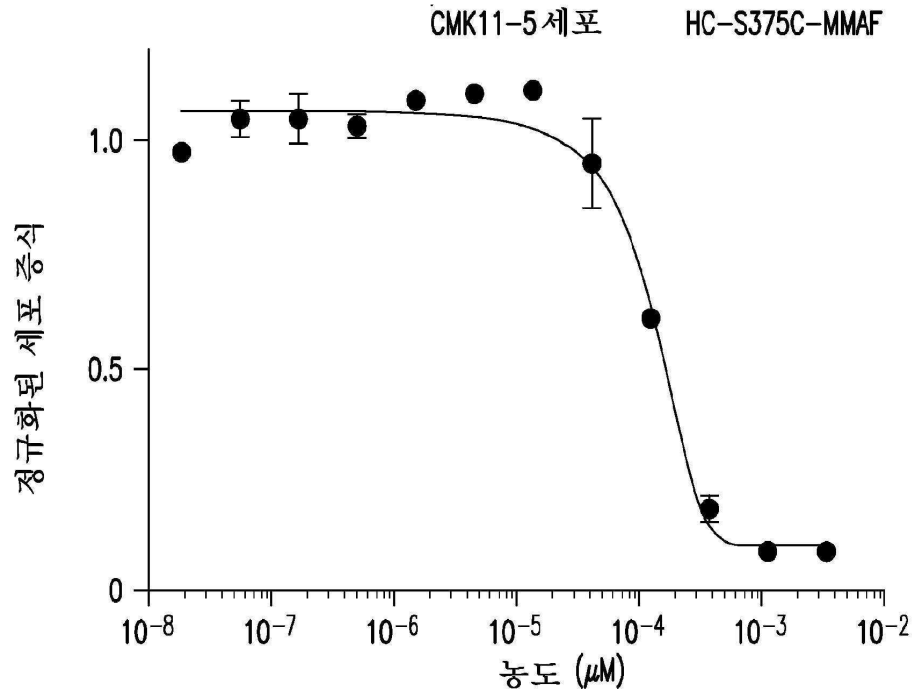
도면15c


MDA-MB231-40 세포
1.0
0.5
0.0
정규화된 세포 증식
10-7 10-6 10-5 10-4 10-3 10-2 10-1
농도 (μM)

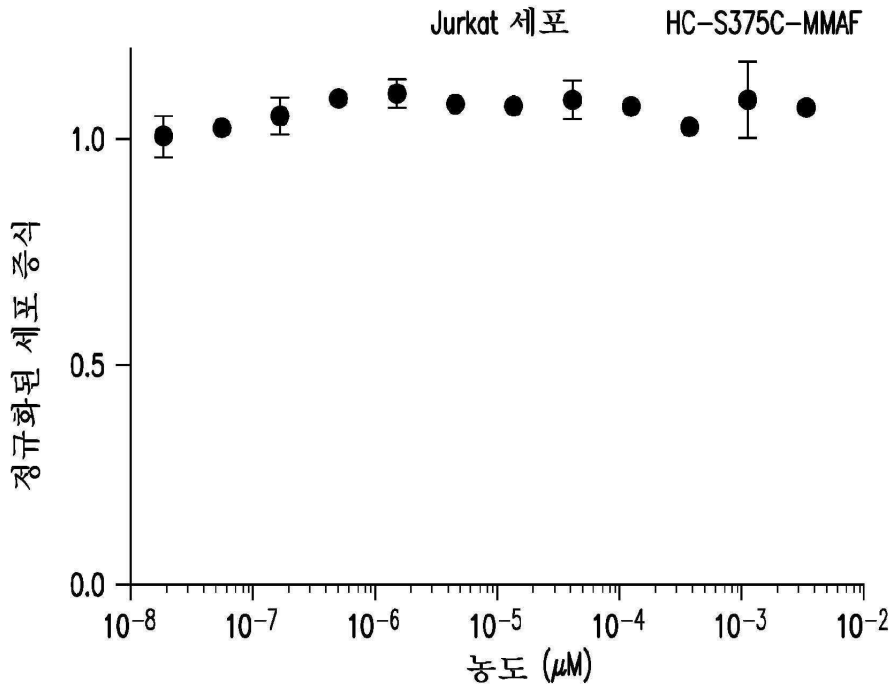
도면16


IC50 (μM)
0.0E+00
1.0E-04
2.0E-04
3.0E-04
4.0E-04
HC-S117C
HC-S119C
HC-K121C
HC-S124C
HC-T139C
HC-E152C
HC-P153C
HC-T155C
HC-S157C
HC-T164C
HC-T169C
HC-P171C
HC-L174C
HC-P189C
HC-K205C
HC-S207C
HC-K246C
HC-E258C
HC-E269C
HC-K274C
HC-N286C
HC-K288C
HC-K290C
HC-R292C
HC-E293C
HC-K320C
HC-K322C
HC-K326C
HC-E333C
HC-K334C
HC-T335C
HC-S337C
HC-R344C
HC-R355C
HC-K360C
HC-S375C
HC-E382C
HC-N390C
HC-K392C
HC-L398C
HC-S400C
HC-V422C
LC-K107C
LC-R108C
LC-T109C
LC-S114C
LC-T129C
LC-R142C
LC-E143C
LC-K145C
LC-N152C
LC-L154C
LC-S156C
LC-S159C
LC-E161C
LC-E165C
LC-S168C
LC-K169C
LC-D170C
LC-S182C
LC-K183C
LC-K188C
LC-T197C
LC-Q199C
LC-S203C

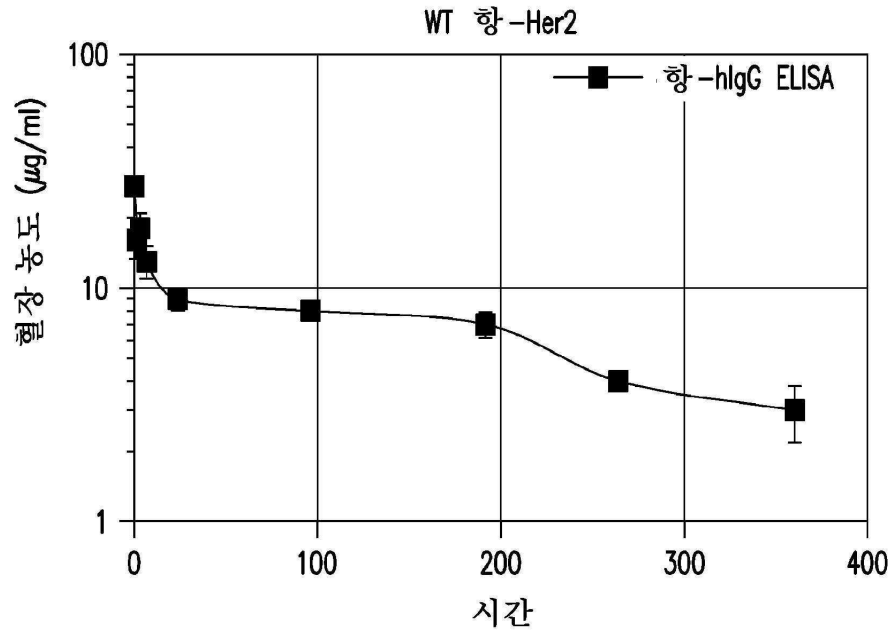
도면17a


CMK11-5 세포
HC-S375C-MMAF
정규화된 세포 증식
1.0
0.5
0
10^{-8}
10^{-7}
10^{-6}
10^{-5}
10^{-4}
10^{-3}
10^{-2}
농도 (μM)

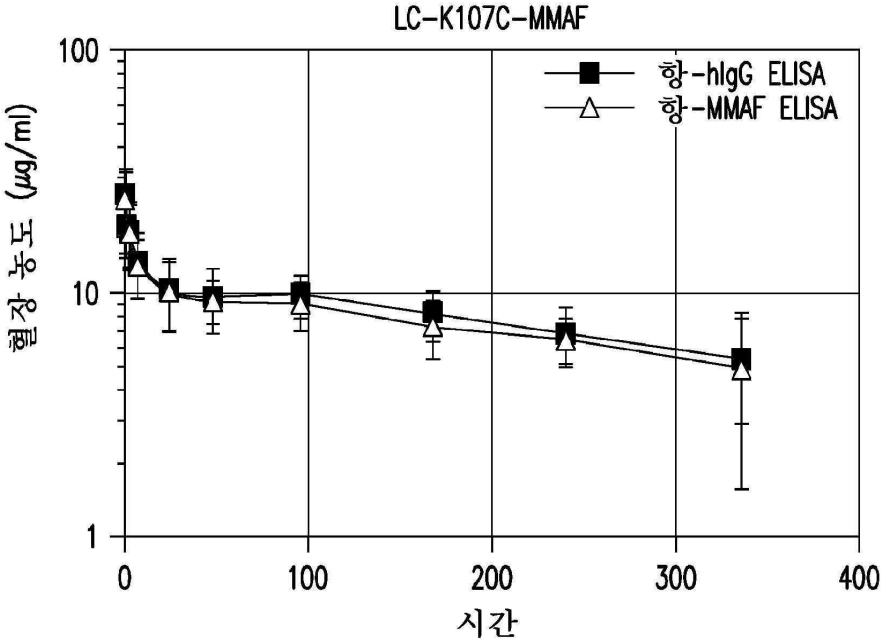
도면17b


Jurkat 세포
HC-S375C-MMAF
정규화된 세포 증식
1.0
0.5
0.0
10^{-8}
10^{-7}
10^{-6}
10^{-5}
10^{-4}
10^{-3}
10^{-2}
농도 (μM)

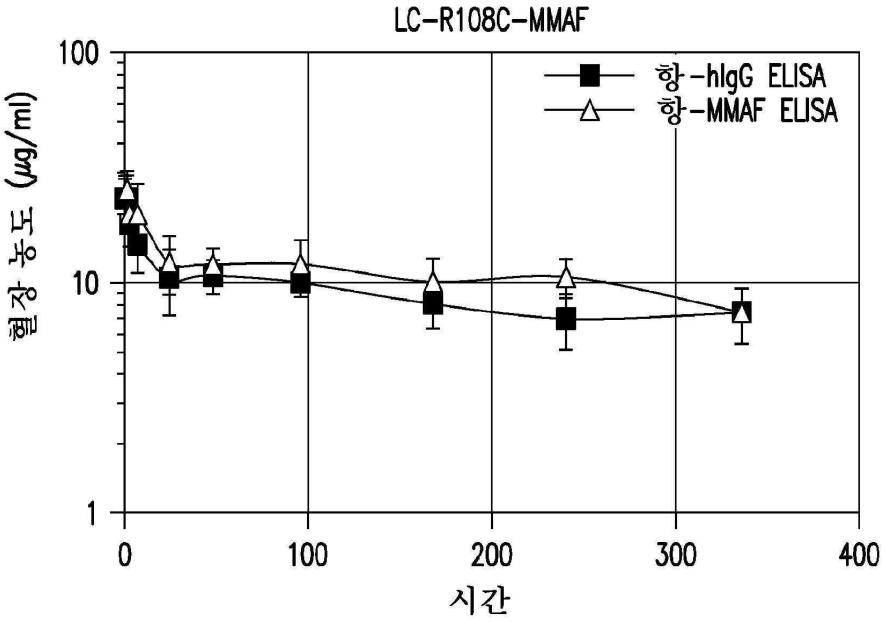
도면18a


WT 항-Her2
항-hIgG ELISA
혈장 농도 (㎍/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

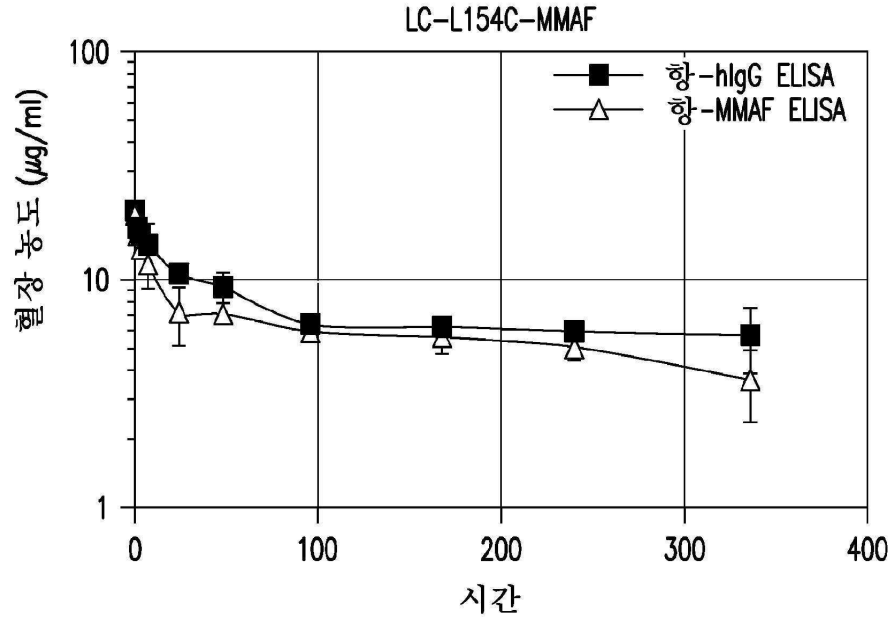
도면18b


LC-K107C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (㎍/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

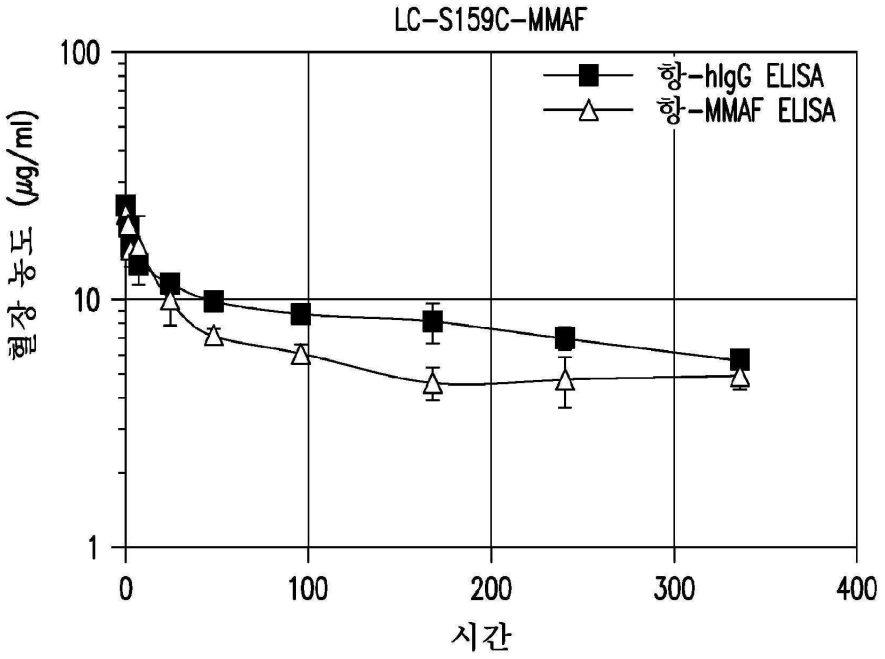
도면18c


LC-R108C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

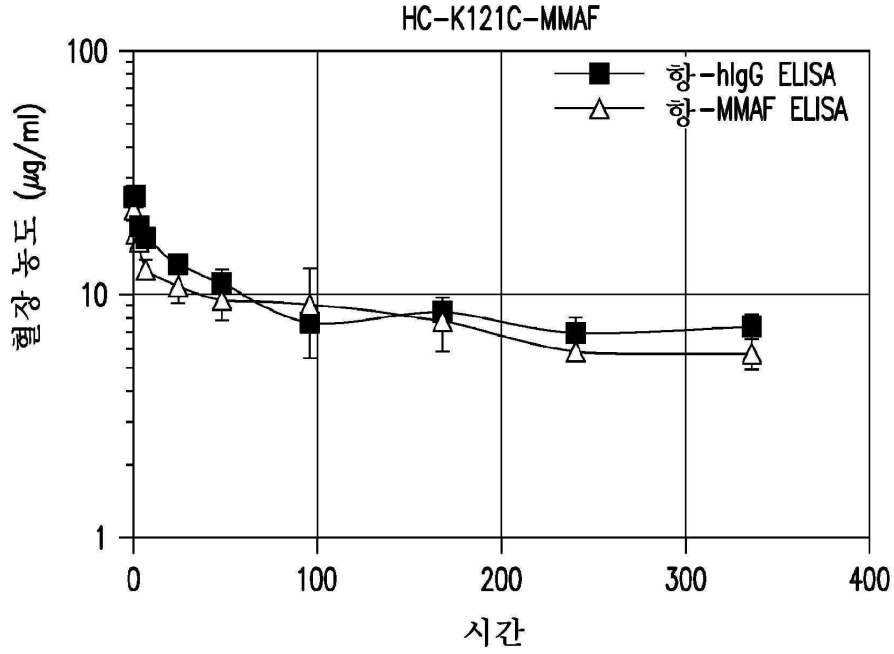
도면18d


LC-L154C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

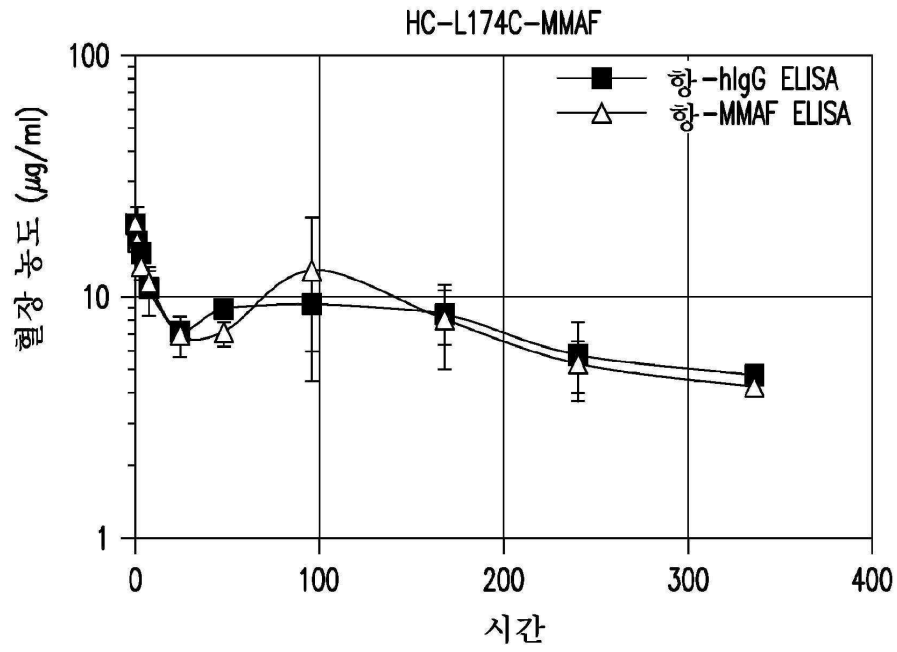
도면18e


LC-S159C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

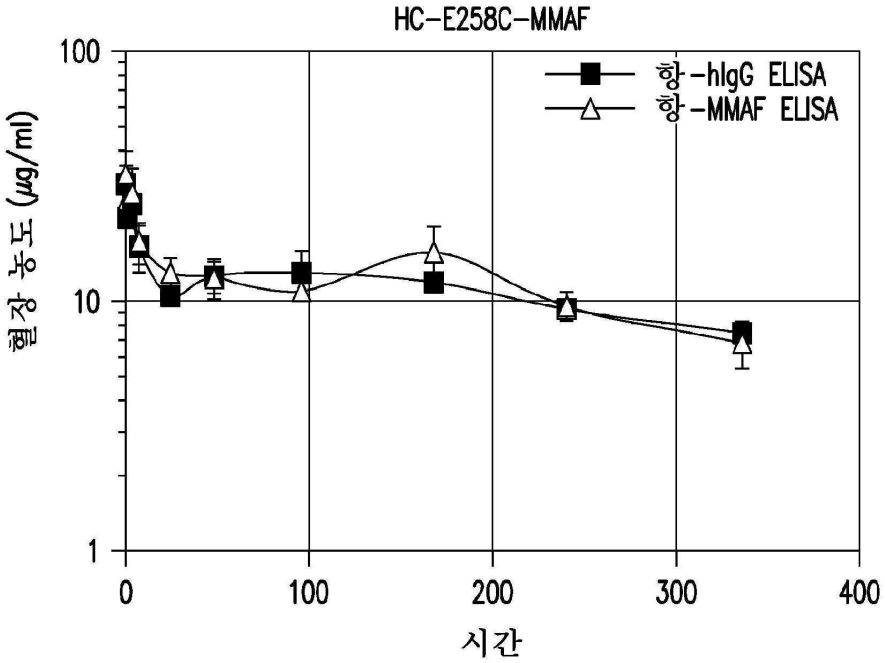
도면19a


HC-K121C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

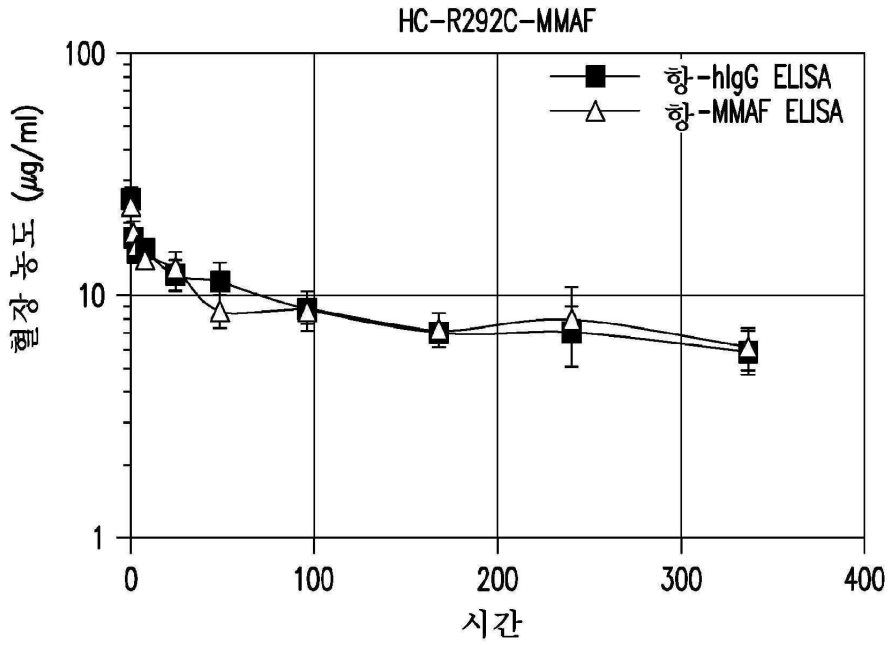
도면19b


HC-L174C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

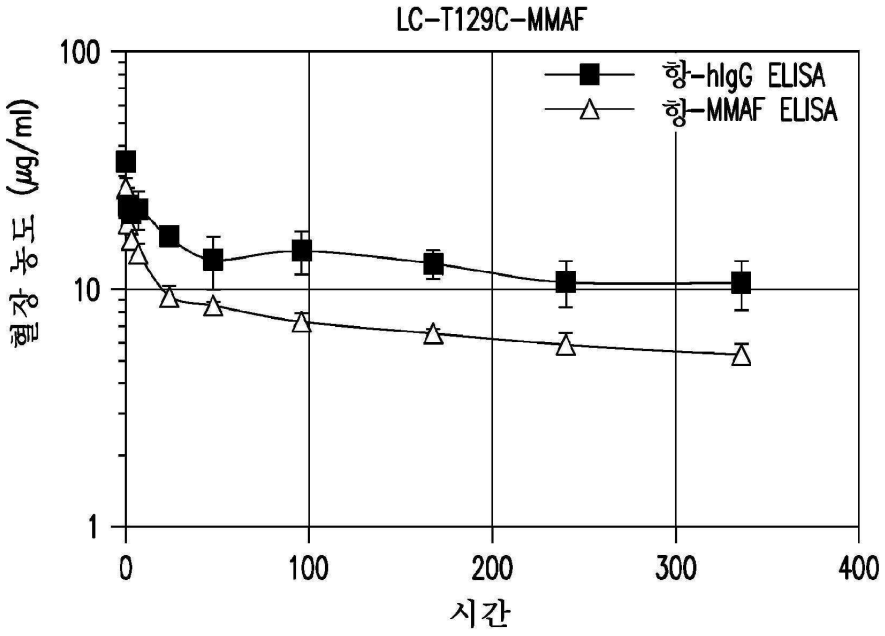
도면19c


HC-E258C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

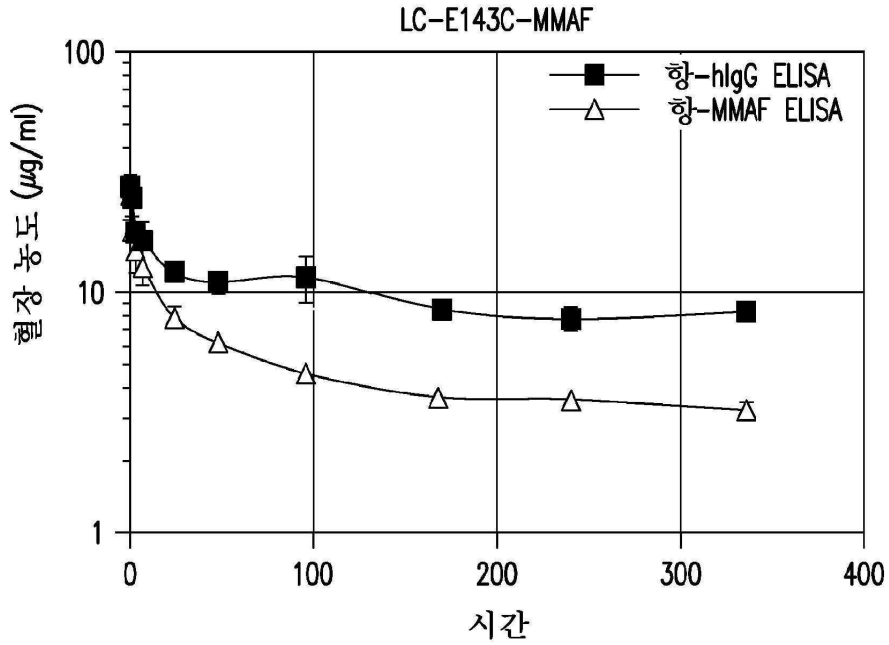
도면19d


HC-R292C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

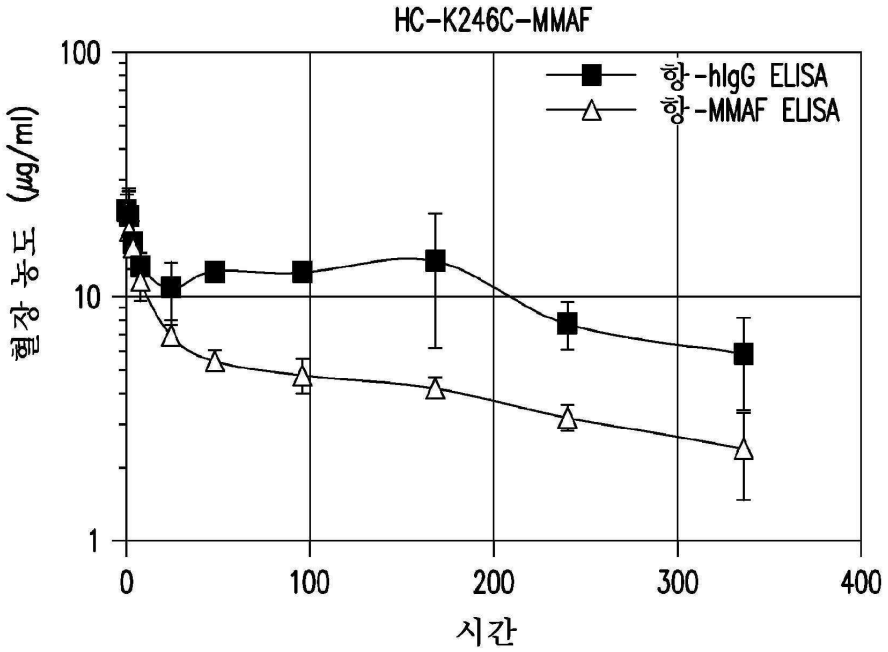
도면20a


LC-T129C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

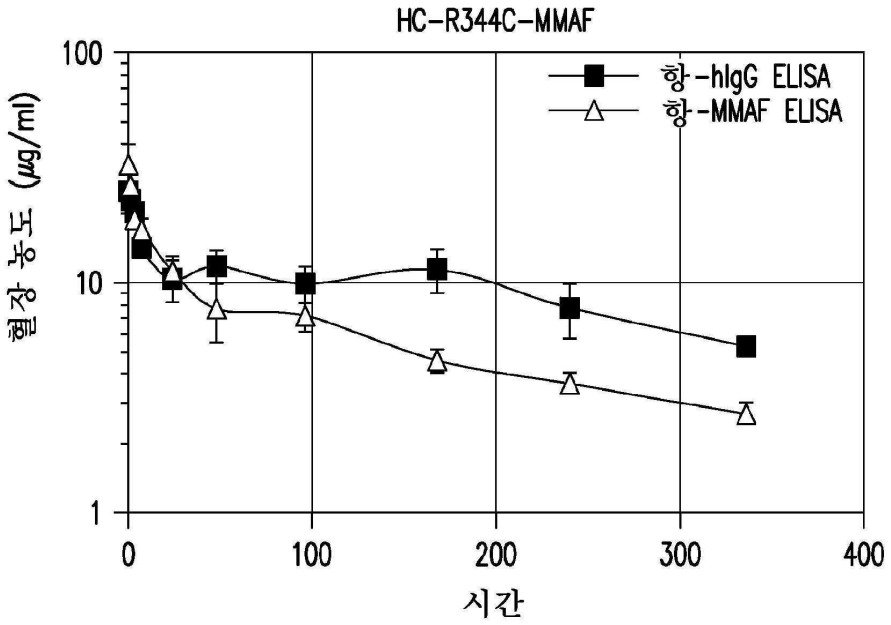
도면20b


LC-E143C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

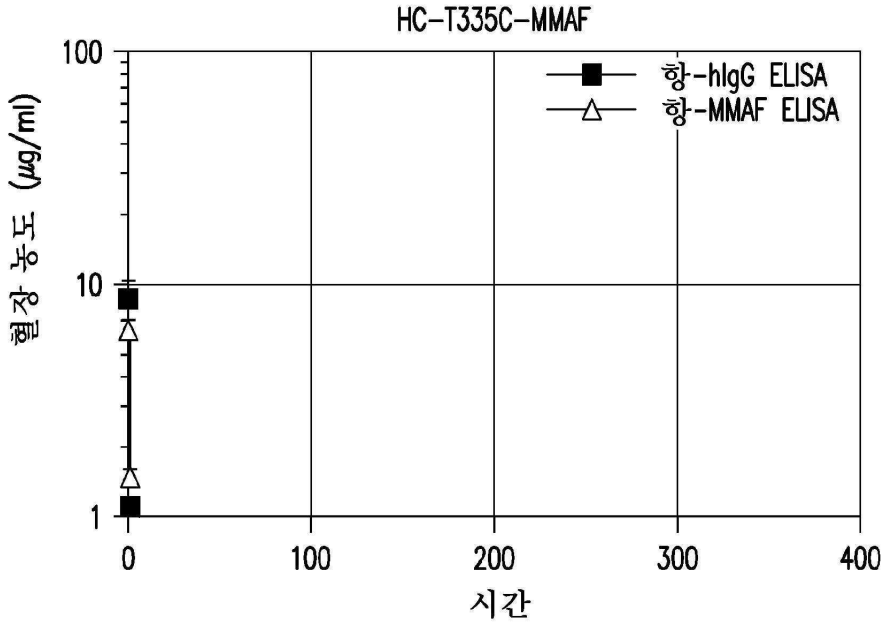
도면20c


HC-K246C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

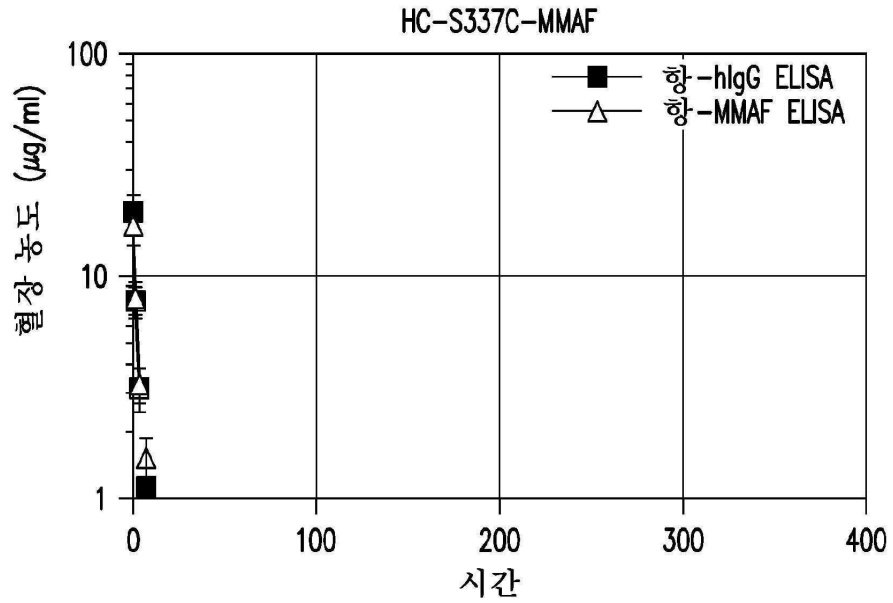
도면20d


HC-R344C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

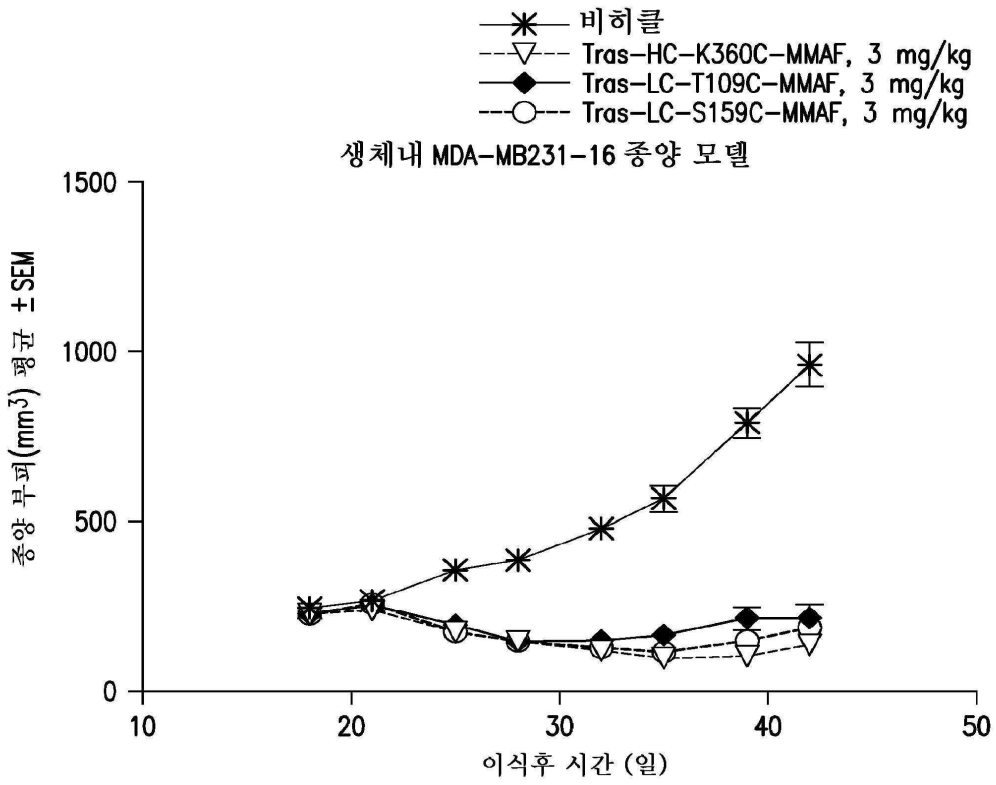
도면21a


HC-T335C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

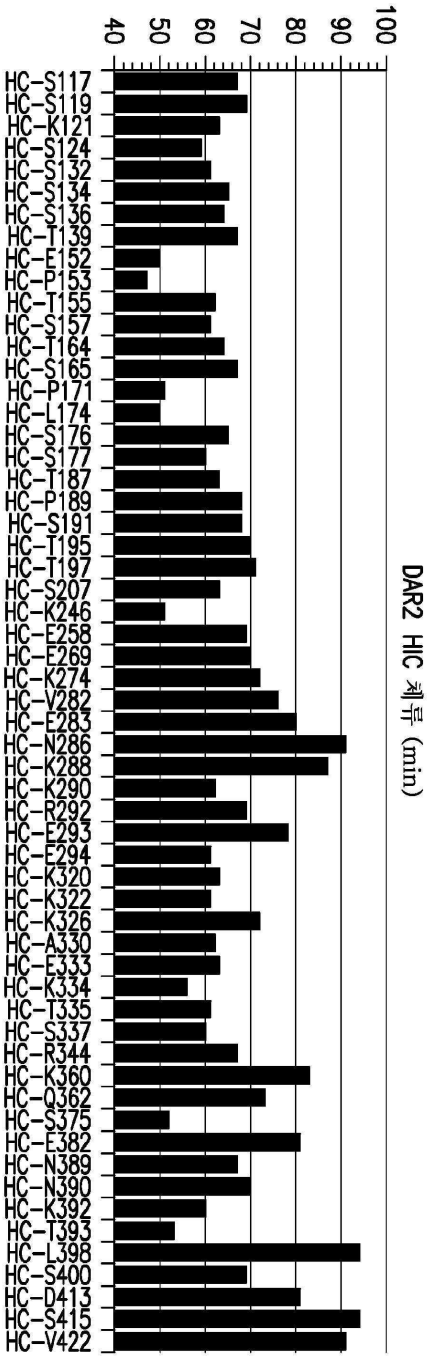
도면21b


HC-S337C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
시간

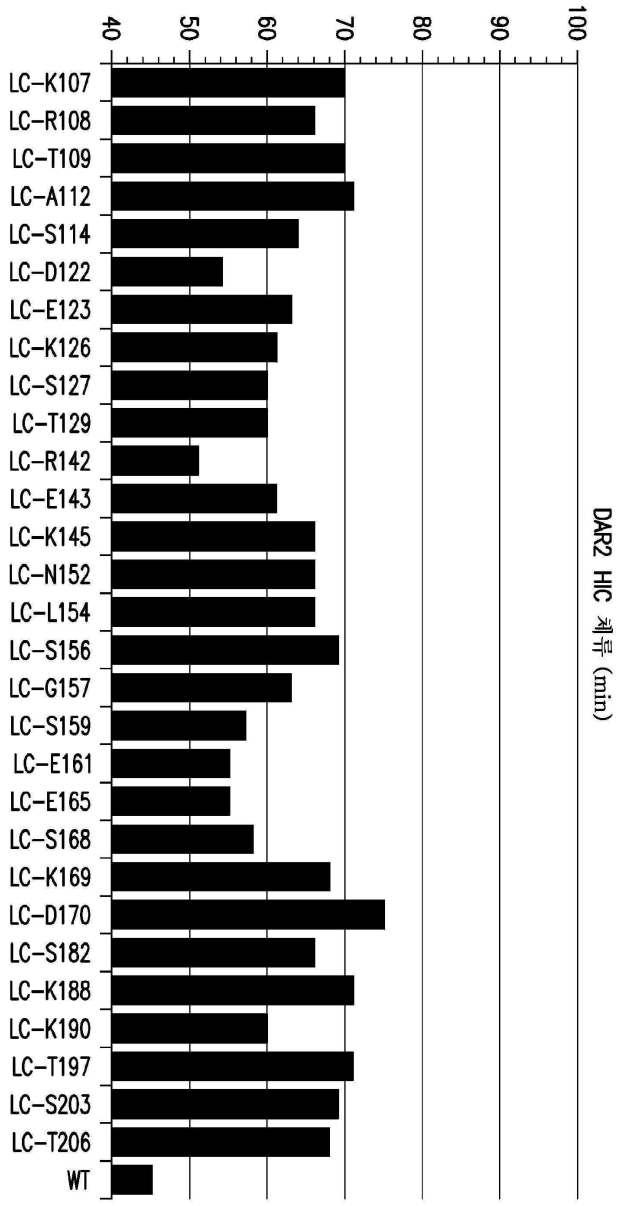
도면22


비히클
Tras-HC-K360C-MMAF, 3 mg/kg
Tras-LC-T109C-MMAF, 3 mg/kg
Tras-LC-S159C-MMAF, 3 mg/kg
생체내 MDA-MB231-16 종양 모델
종양 부피(mm3) 평균 ±SEM
1500
1000
500
0
10
20
30
40
50
이식후 시간 (일)

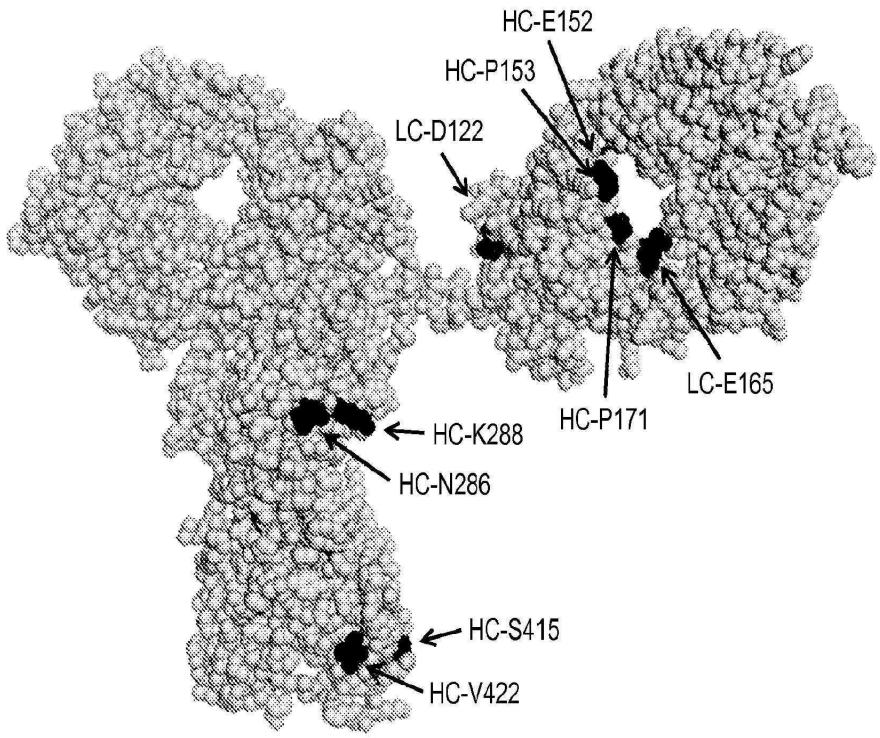
도면23a


40
50
60
70
80
90
100
HC-S117
HC-S119
HC-K121
HC-S124
HC-S132
HC-S134
HC-S136
HC-T139
HC-E152
HC-P153
HC-T155
HC-S157
HC-T164
HC-S165
HC-P171
HC-L174
HC-S176
HC-S177
HC-T187
HC-P189
HC-S191
HC-T195
HC-T197
HC-S207
HC-K246
HC-E258
HC-E269
HC-K274
HC-V282
HC-E283
HC-N286
HC-K288
HC-K290
HC-R292
HC-E293
HC-E294
HC-K320
HC-K322
HC-K326
HC-A330
HC-E333
HC-K334
HC-T335
HC-S337
HC-R344
HC-K360
HC-Q362
HC-S375
HC-E382
HC-N389
HC-N390
HC-K392
HC-T393
HC-L398
HC-S400
HC-D413
HC-S415
HC-V422
DAR2 HIC 체류 (min)

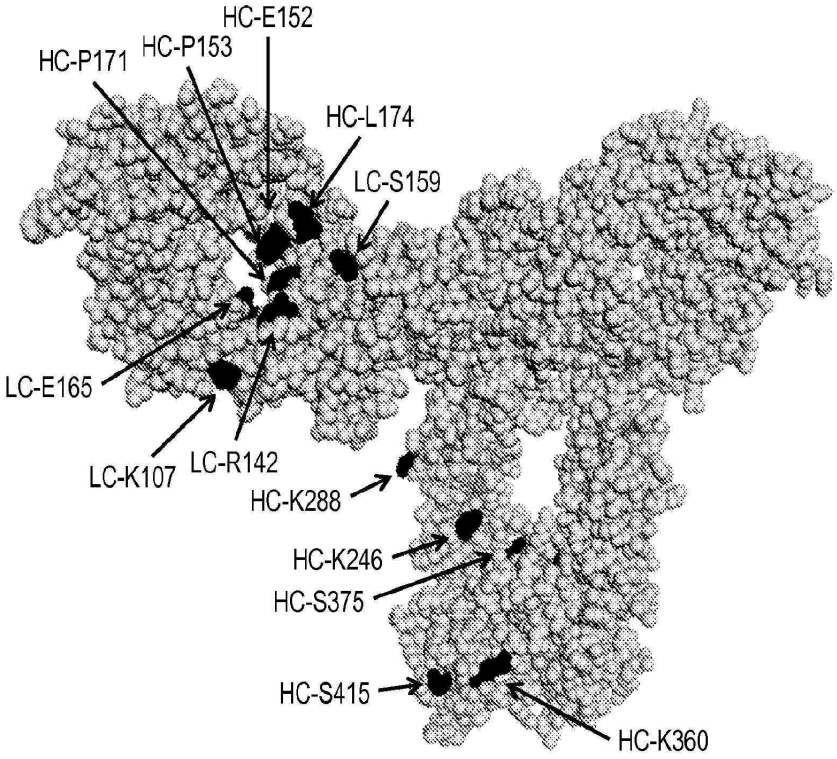
도면23b


40
50
60
70
80
90
100
LC-K107
LC-R108
LC-T109
LC-A112
LC-S114
LC-D122
LC-E123
LC-K126
LC-S127
LC-T129
LC-R142
LC-E143
LC-K145
LC-N152
LC-L154
LC-S156
LC-G157
LC-S159
LC-E161
LC-E165
LC-S168
LC-K169
LC-D170
LC-S182
LC-K188
LC-K190
LC-T197
LC-S203
LC-T206
WT
DAR2 HIC 체류 (min)

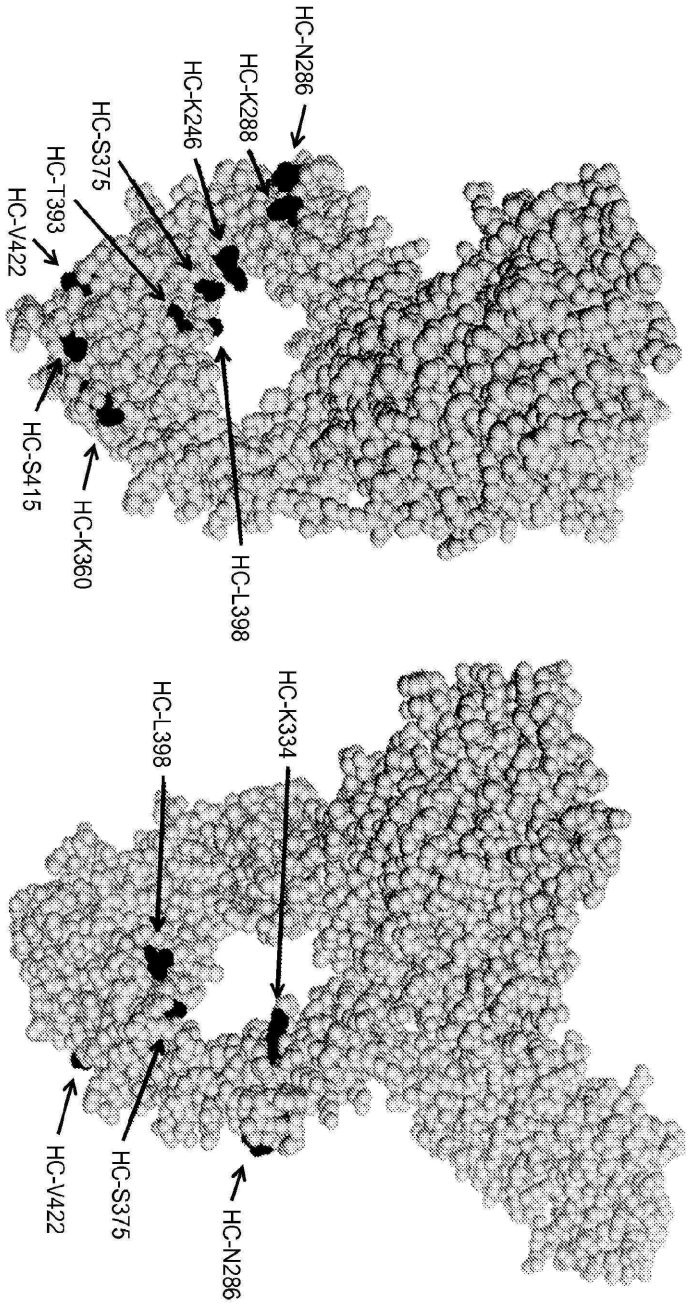
도면24a


HC-E152
HC-P153
LC-D122
LC-E165
HC-P171
HC-K288
HC-N286
HC-S415
HC-V422

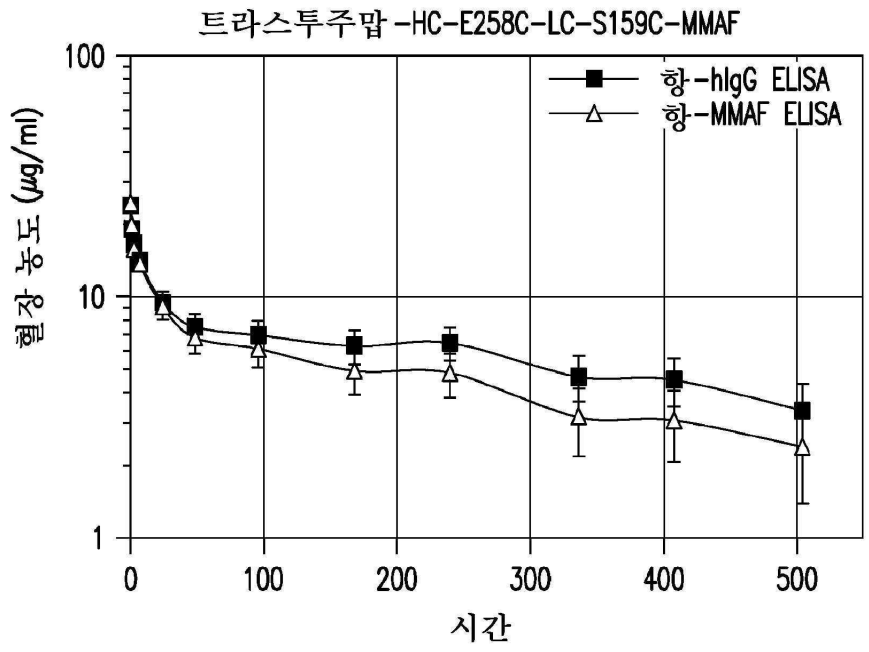
도면24b


HC-E152
HC-P171
HC-P153
HC-L174
LC-S159
LC-E165
LC-K107
LC-R142
HC-K288
HC-K246
HC-S375
HC-S415
HC-K360

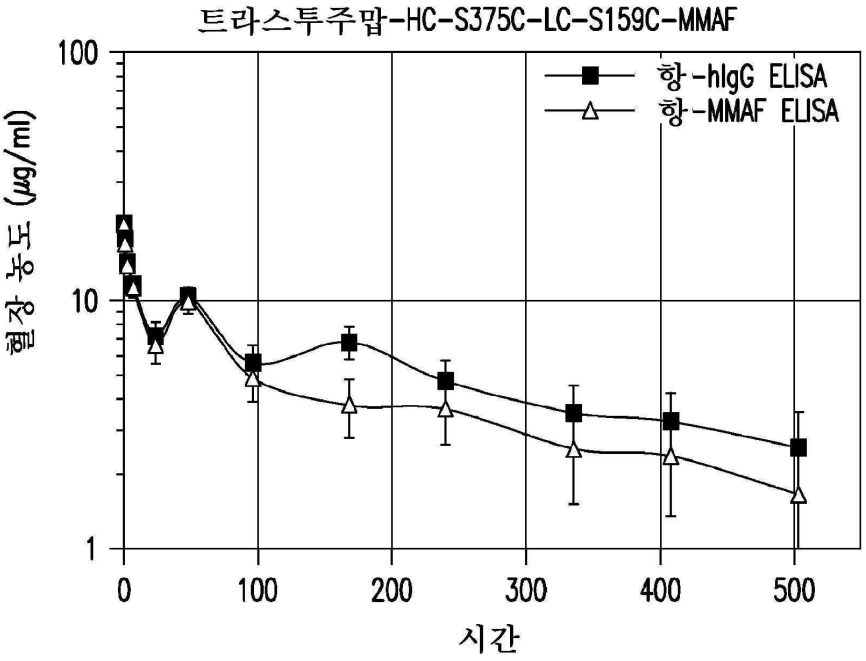
도면24c


HC-N286
HC-K288
HC-K246
HC-S375
HC-T393
HC-V422
HC-S415
HC-K360
HC-L398
HC-L398
HC-K334
HC-V422
HC-S375
HC-N286

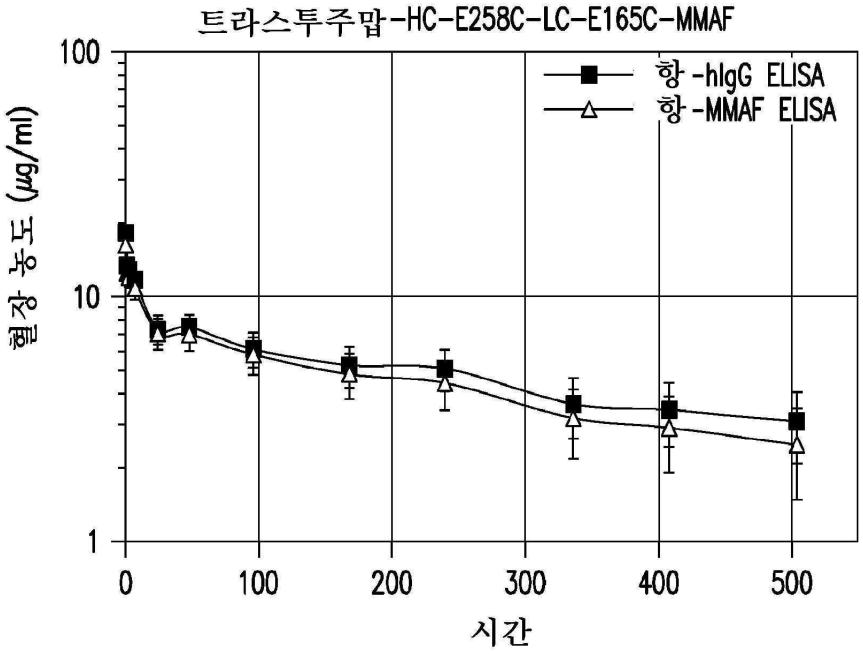
도면25a


트라스투주맙-HC-E258C-LC-S159C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간

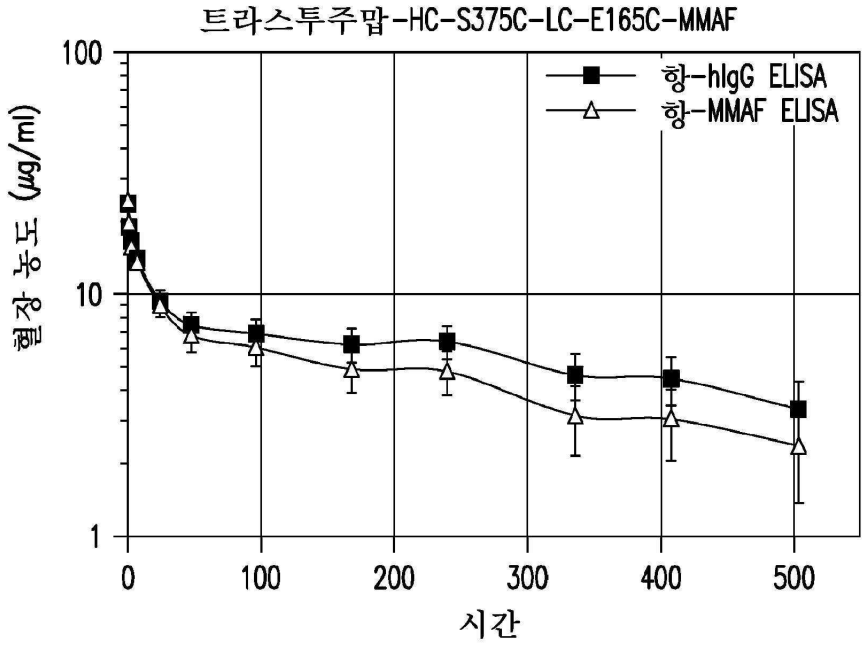
도면25b


트라스투주맙-HC-S375C-LC-S159C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간

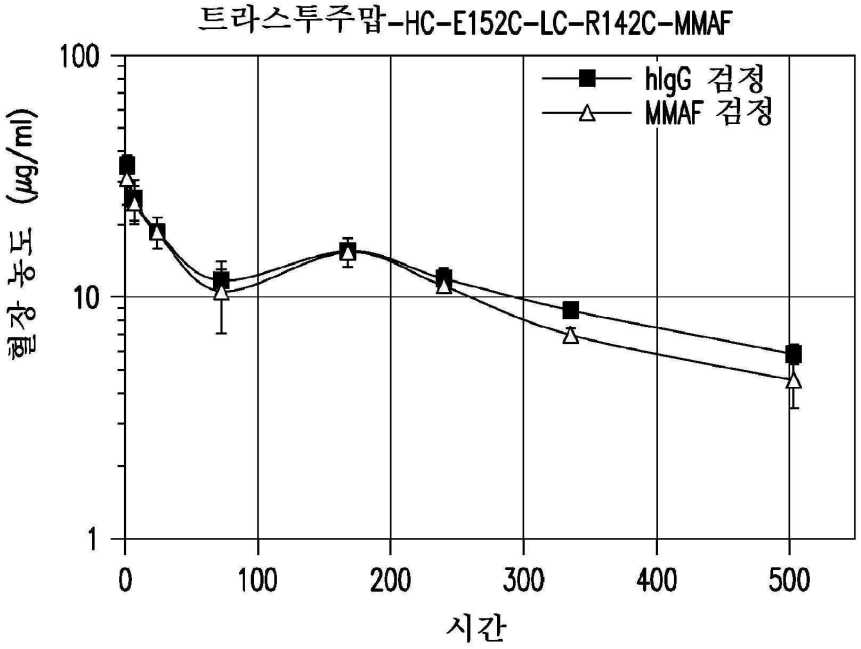
도면25c


트라스투주맙-HC-E258C-LC-E165C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간

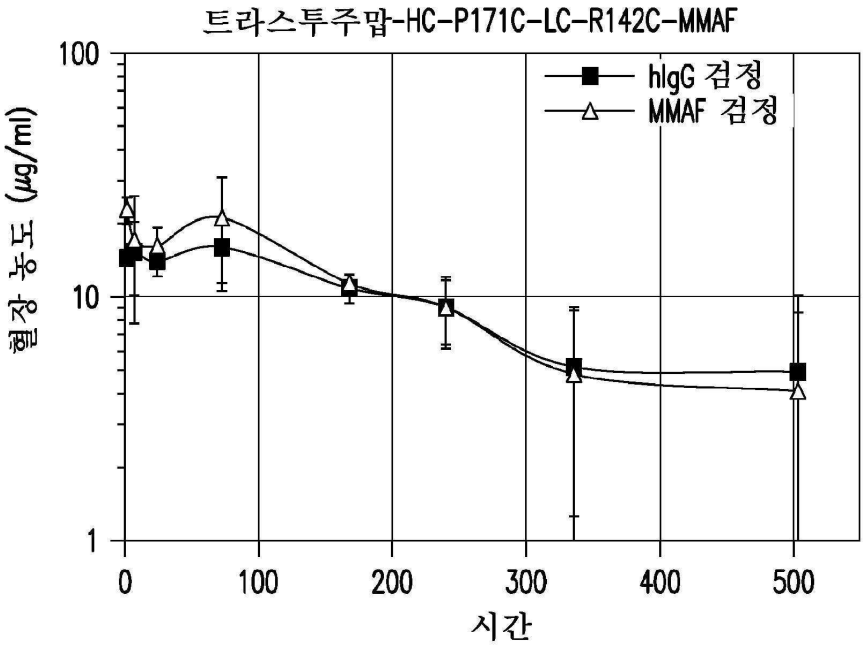
도면25d


트라스투주맙-HC-S375C-LC-E165C-MMAF
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간

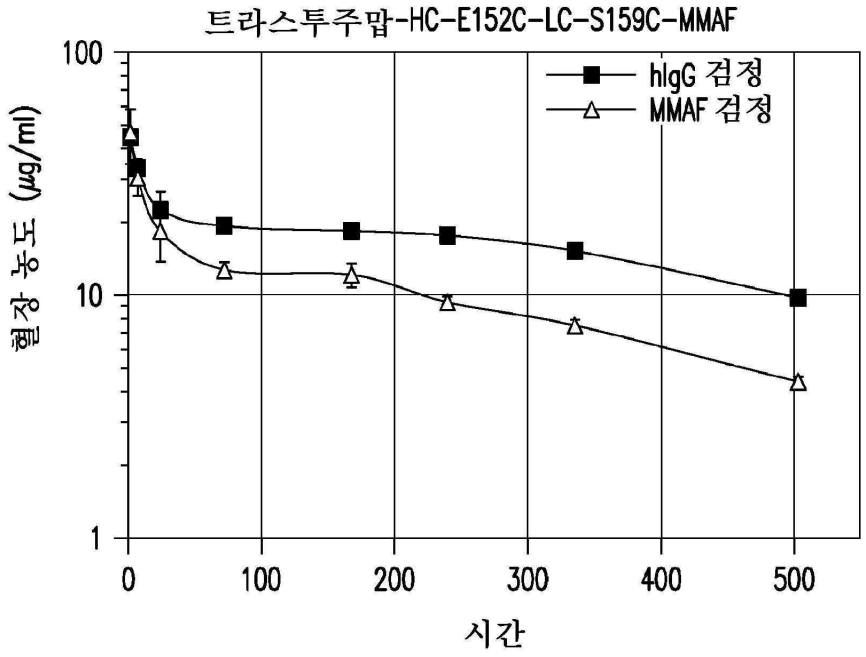
도면25e


트라스투주맙-HC-E152C-LC-R142C-MMAF
hIgG 검정
MMAF 검정
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간

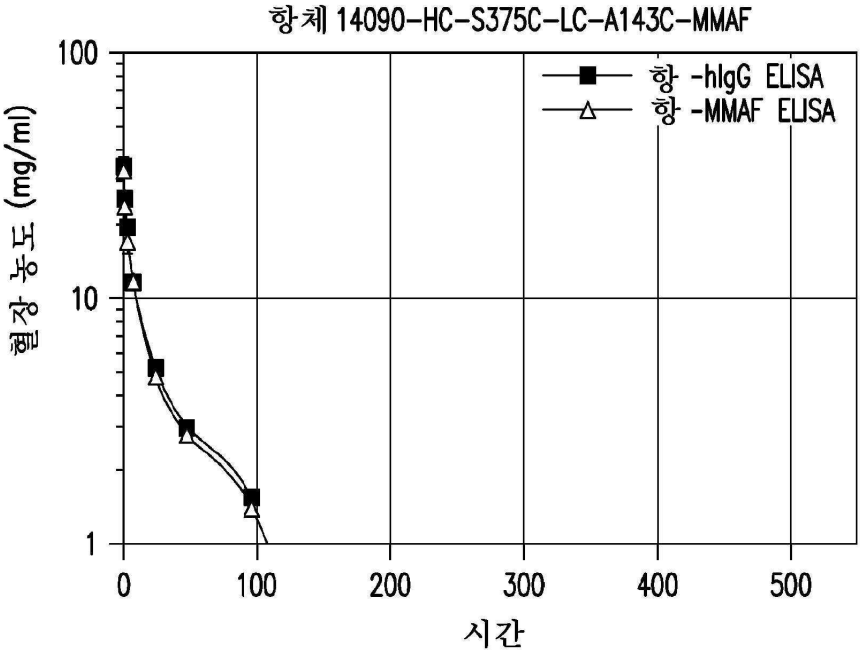
도면25f


트라스투주맙-HC-P171C-LC-R142C-MMAF
hIgG 검정
MMAF 검정
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간

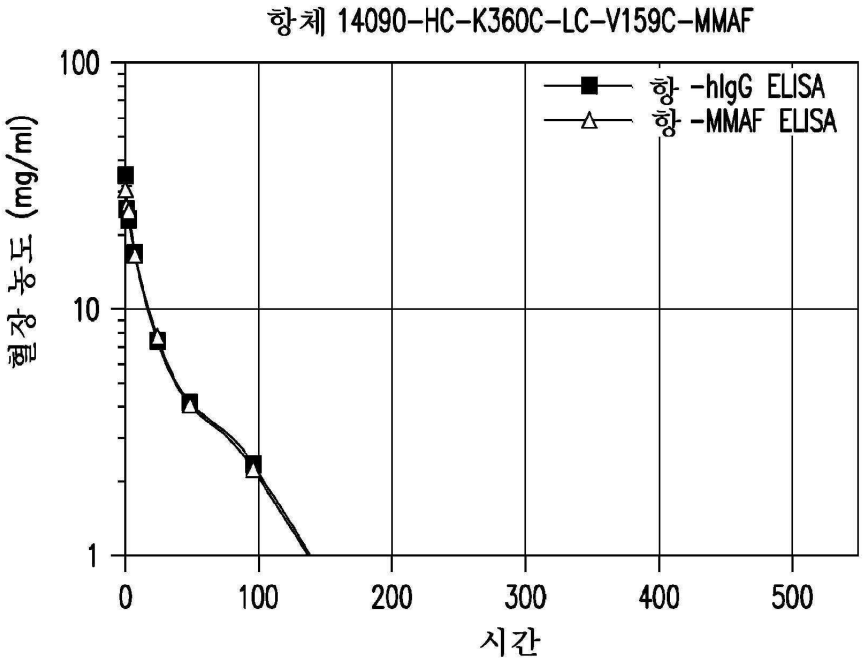
도면25g


트라스투주맙-HC-E152C-LC-S159C-MMAF
hIgG 검정
MMAF 검정
혈장 농도 (μg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간

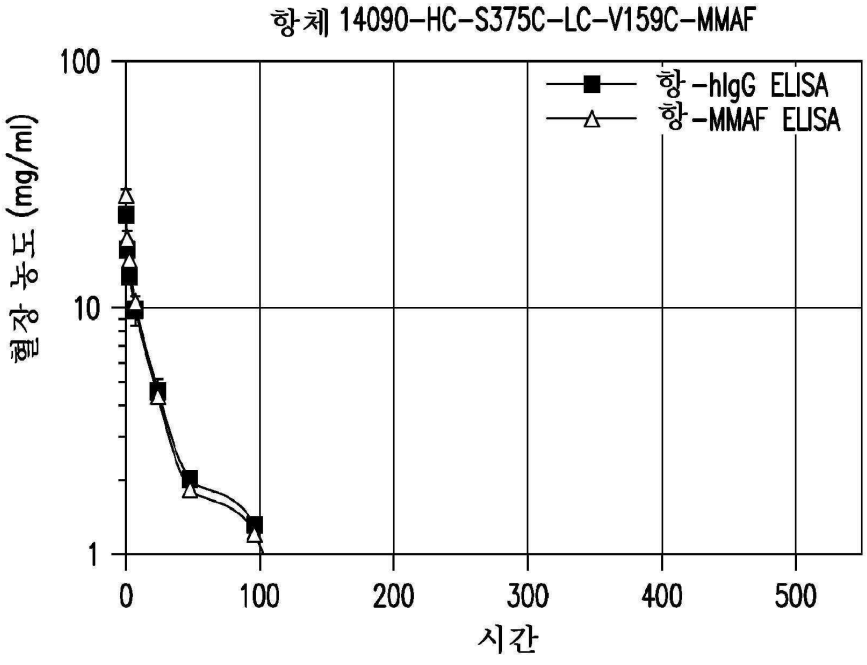
도면25h


항체 14090-HC-S375C-LC-A143C-MMAF
항 -hIgG ELISA
항 -MMAF ELISA
혈장 농도 (mg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간

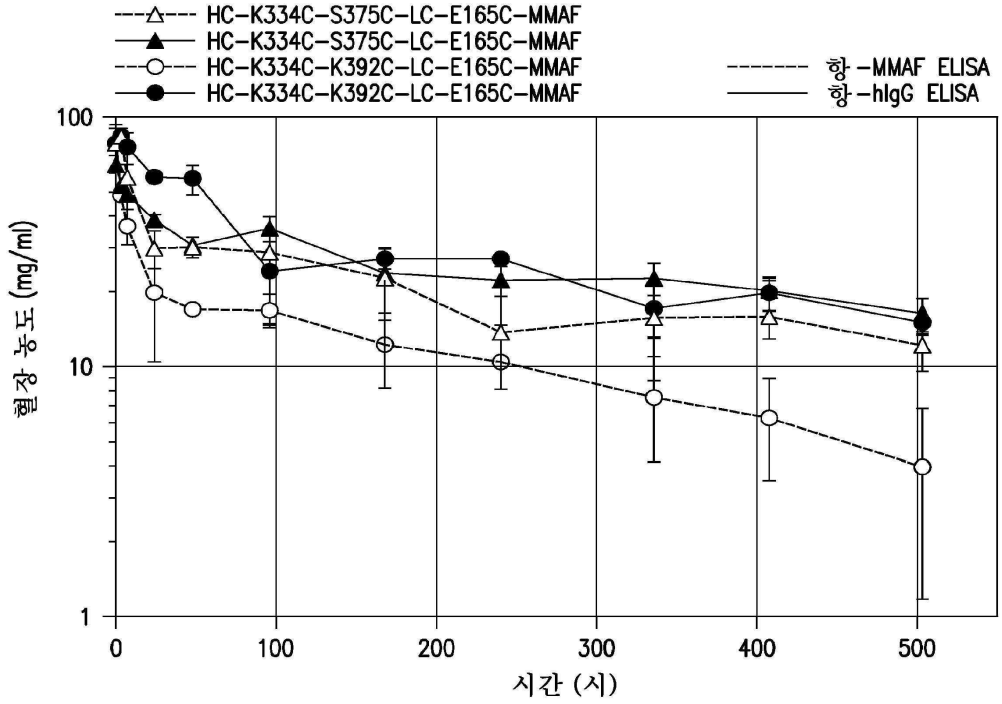
도면25i


항체 14090-HC-K360C-LC-V159C-MMAF
100
10
1
혈장 농도 (mg/ml)
0
100
200
300
400
500
시간
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA

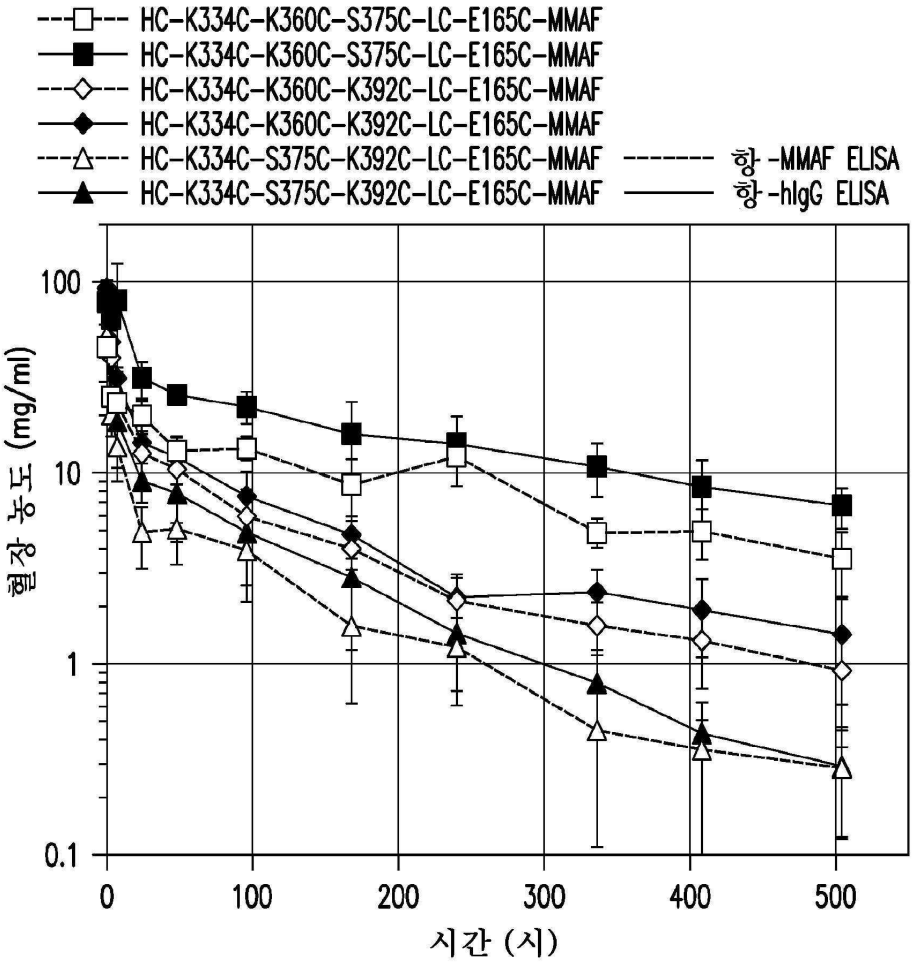
도면25j


항체 14090-HC-S375C-LC-V159C-MMAF
100
10
1
혈장 농도 (mg/ml)
0
100
200
300
400
500
시간
항-hIgG ELISA
항-MMAF ELISA

도면25k


HC-K334C-S375C-LC-E165C-MMAF
HC-K334C-S375C-LC-E165C-MMAF
HC-K334C-K392C-LC-E165C-MMAF
HC-K334C-K392C-LC-E165C-MMAF
항-MMAF ELISA
항-hIgG ELISA
혈장 농도 (mg/ml)
100
10
1
0
100
200
300
400
500
시간 (시)

도면251


HC-K334C-K360C-S375C-LC-E165C-MMAF
HC-K334C-K360C-S375C-LC-E165C-MMAF
HC-K334C-K360C-K392C-LC-E165C-MMAF
HC-K334C-K360C-K392C-LC-E165C-MMAF
HC-K334C-S375C-K392C-LC-E165C-MMAF
HC-K334C-S375C-K392C-LC-E165C-MMAF
항-MMAF ELISA
항-hIgG ELISA
혈장 농도 (mg/ml)
100
10
1
0.1
0
100
200
300
400
500
시간 (시)

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> IRM LLC

<120> SPECIFIC SITES FOR MODIFYING ANTIBODIES TO MAKE IMMUNOCONJUGATES

<130> PAT055572-WO-NP

<140><141><150> 61/762,563

<151> 2013-02-08

<160> 303

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 450

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Ile Lys Asp Thr
20 25 30

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

Ala Arg Ile Tyr Pro Thr Asn Gly Tyr Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

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

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

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

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

Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
130 135 140

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

Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
165 170 175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys
195 200 205
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp
210 215 220

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

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

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

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

Gly Lys

450

<210> 2

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 3

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 3

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 4
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 4
Ser Ala Ser Thr Cys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 5

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 6
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 6
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Cys
1 5 10 15

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 7
<211> 331

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 7
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Cys Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 8

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 8

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

Lys Ser Thr Cys Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 9

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 9

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Cys Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 10

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 10

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 11

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 11

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Cys Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 12

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 12

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Cys Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 13

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 13

```
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1               5                  10                  15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            20                  25                  30
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Cys Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        35                  40                  45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        115                 120                 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
    130                 135                 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145                 150                 155                 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                165                 170                 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            180                 185                 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        195                 200                 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    210                 215                 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
```

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 14
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 14
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 15

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 15

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Cys Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 16

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

Ser Gly Val His Cys Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 17

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Cys Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 18
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 18

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Cys Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 19

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Cys Ser Gly Leu Tyr

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 20

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Cys Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 21
<211> 331

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 21
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

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

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 22
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 22
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 23

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

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

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 24

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Cys Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 25

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Cys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 26
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 26
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Cys Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 27

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Cys

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 28
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 28
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Cys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 29
<211> 331

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 29
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Cys Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 30

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 30

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Cys Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 31

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 31

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Cys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 32

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 32

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Cys Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 33

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 33

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Cys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 34

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 34

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Cys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 35

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 35

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Cys
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 36
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 36
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Cys Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 37

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Cys Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 38

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Cys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 39

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

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

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Cys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 40
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 40

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

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Cys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 41

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Cys Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 42

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Cys Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 43
<211> 331

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 43
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Cys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

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

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 44
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 44
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Cys Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 45

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

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

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Cys Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 46

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

Gly Gln Pro Cys Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 47

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Cys Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 48
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 48
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Cys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 49

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Cys Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 50
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 50
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu

260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 51
<211> 331

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 51
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Cys Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 52

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 52

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Cys Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 53

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

Asn Cys Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 54

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Cys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 55
<211> 331

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 55
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Cys Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 56

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 56

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Cys Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 57

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 57

```
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1               5                  10                  15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            20                  25                  30
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        35                  40                  45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        115                 120                 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
    130                 135                 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145                 150                 155                 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                165                 170                 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            180                 185                 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        195                 200                 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    210                 215                 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
```

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Cys Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 58
<211> 331
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 58
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1 5 10 15

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

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95
Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110
Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175
Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
180 185 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
210 215 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225 230 235 240
Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
245 250 255
Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270

Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Cys Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 59

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

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

Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln
65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Cys Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 60

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln

65 70 75 80

Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp

85 90 95

Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro

100 105 110

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro

115 120 125

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr

130 135 140

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn

145 150 155 160

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg

165 170 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val

180 185 190

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser

195 200 205

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly
290 295 300

Asn Cys Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr
305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 61

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 61

Cys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
50 55 60

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 62

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 62

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

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

<210> 63

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 63

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

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 64

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

Lys Arg Thr Val Ala Cys Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 65

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 65

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

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

<210> 66

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 66

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

50 55 60

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

<210> 67
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 67
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15
Cys Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
35 40 45
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
50 55 60

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

<210> 68
<211> 108
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Cys Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
50 55 60

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 69

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Cys Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 70

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Cys Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 71

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 71

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

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

<210> 72

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Cys Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 73

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 73

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Cys

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 74

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

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

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

<210> 75

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 75

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Cys Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 76

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 76

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Cys Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 77

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Cys Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 78

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 78

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

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

<210> 79

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

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

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 80

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 80

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Cys

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 81

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 81

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

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

<210> 82

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 82

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

50 55 60

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

<210> 83
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 83
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
35 40 45
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
50 55 60

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

<210> 84
<211> 108
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

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

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

<210> 85

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 85

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

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Cys Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 86

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 86

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Cys His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 87

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 87

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

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

<210> 88

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 88

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Cys Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 89

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 89

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

85 90 95

Ser Pro Val Cys Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 90

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 90

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

Ser Arg 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 His Tyr Thr Thr Pro Pro
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

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> 91
<211> 105
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 91
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45
Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60
Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80
His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 92
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 92

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Cys Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45
Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60
Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80
His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 93
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 93
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

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

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 94
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 94

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Cys Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45
Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60
Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80
His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 95
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

polypeptide"

<400> 95

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

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

Cys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 96

<211> 105

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 96

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

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

Lys Ala Gly Cys Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80
His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 97
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 97
Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15
Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val
35 40 45
Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Cys Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys
50 55 60
Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80
His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 98
<211> 105
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 98

Gln Pro Lys Ala Ala Pro Ser Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu
1 5 10 15

Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe
20 25 30

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

Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Cys Asn Asn Lys
50 55 60

Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser
65 70 75 80

His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu
85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
100 105

<210> 99

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 99

Met Lys Thr Phe Ile Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Ile
1 5 10 15

Phe Leu Leu Pro Gly Ala Thr Ala
20

<210> 100

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

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

primer"

<400> 100

gtggagatct gtcgaacggt ggccgctccc agcgtgttca 40

<210> 101

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 101

accgttcgac agatctccac cttggtaccc tgtccgaac 39

<210> 102

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 102

ggagatcaaa tgcacggtgg ccgctcccag cgtgttcatc t 41

<210> 103

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 103

gccaccgtgc atttgatctc caccttggta ccctgtccga 40

<210> 104

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 104

gatcaaacga tgtgtggccg ctcccagcgt gttcatcttc c 41

<210> 105

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 105

gcggccacac atcgtttgat ctccaccttg gtaccctgtc 40

<210> 106

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 106

acggtggcct gtcccagcgt gttcatcttc ccccccagcg a 41

<210> 107

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 107

cacgctggga caggccaccg ttcgtttgat ctccaccttg 40

<210> 108

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 108

gccgctccct gcgtgttcat cttccccccc agcgacgagc a 41

<210> 109

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 109

atgaacacgc agggagcggc caccgttcgt ttgatctcca 40

<210> 110

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 110

cccccagctg tgagcagctg aagagcggca ccgccagcgt 40

<210> 111

<211

> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 111

cagctgctca cagctggggg ggaagatgaa cacgctggga 40

<210> 112

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 112

cccagcgact gtcagctgaa gagcggcacc gccagcgtg 39

<210> 113

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 113

ttcagctgac agtcgctggg ggggaagatg aacacgctg 39

<210> 114

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 114

agagcggctg tgccagcgtg gtgtgcctgc tgaacaactt 40

<210> 115

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 115

cacgctggca cagccgctct tcagctgctc gtcgctgggg 40

<210> 116

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 116

tctacccctg tgaggccaag gtgcagtgga aggtggacaa 40

<210> 117

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 117

ttggcctcac aggggtagaa gttgttcagc aggcacacca 40

<210> 118

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 118

taccccggt gtgccaaggt gcagtggaag gtggacaac 39

<210> 119

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 119

accttggcac accgggggta gaagttgttc agcaggcaca 40

<210> 120

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 120

cgggaggcct gcgtgcagtg gaaggtggac aacgccctgc 40

<210> 121

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 121

cactgcacgc aggcctcccg ggggtagaag ttgttcagca 40

<210> 122

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 122

aaggtggact gtgccctgca gagcggcaac agccaggaga 40

<210> 123

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 123

tgcagggcac agtccacctt ccactgcacc ttggcctccc 40

<210> 124

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 124

gacaacgcct gtcagagcgg caacagccag gagagcgtca 40

<210> 125

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 125

tgccgctctg acaggcgttg tccaccttcc actgcacctt g 41

<210> 126

<211

> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 126

gccctgcagt gtggcaacag ccaggagagc gtcaccgagc a 41

<210> 127

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 127

gctgttgcca cactgcaggg cgttgtccac cttccactgc a 41

<210> 128

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 128

agcggcaact gtcaggagag cgtcaccgag caggacagca a 41

<210> 129

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 129

ctctcctgac agttgccgct ctgcagggcg ttgtccacct 40

<210> 130

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 130

aacagccagt gcagcgtcac cgagcaggac agcaaggact 40

<210> 131

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 131

gtgacgctgc actggctgtt gccgctctgc agggcgttgt 40

<210> 132

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

gagcgtcacc tgtcaggaca gcaaggactc cacctacagc 40

<210> 133

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 133

ctgtcctgac aggtgacgct ctcctggctg ttgccgctct 40

<210> 134

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 134

gagcaggact gcaaggactc cacctacagc ctgagcagca 40

<210> 135

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 135

gagtccttgc agtcctgctc ggtgacgctc tcctggctgt 40

<210> 136

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 136

caggacagct gtgactccac ctacagcctg agcagcacc 39

<210> 137

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 137

gtggagtcac agctgtcctg ctcggtgacg ctctcctgg 39

<210> 138

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 138

acagcaagta gtccacctac agcctgagca gcaccctgac 40

<210> 139

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 139

taggtggact acttgctgtc ctgctcggtg acgctctcct 40

<210> 140

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 140

tgaccctgtg caaggccgac tacgagaagc ataaggtgta 40

<210> 141

<211

> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 141

gtcggccttg cacagggtca gggtgctgct caggctgtag 40

<210> 142

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 142

gaccctgagc tgtgccgact acgagaagca taaggtgtac 40

<210> 143

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 143

tagtcggcac agctcagggt cagggtgctg ctcaggctgt 40

<210> 144

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 144

gactacgagt gccataaggt gtacgcctgc gaggtgac 38

<210> 145

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 145

accttatggc actcgtagtc ggccttgctc agggtcagg 39

<210> 146

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 146

gagaagcatt gcgtgtacgc ctgcgaggtg acccaccag 39

<210> 147

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 147

ggcgtacacg caatgcttct cgtagtcggc cttgctcagg 40

<210> 148

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 148

agcataagta gtacgcctgc gaggtgaccc accagggcct 40

<210> 149

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 149

caggcgtact acttatgctt ctcgtagtcg gccttgctca 40

<210> 150

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 150

gcgaggtgtg tcaccagggc ctgtccagcc ccgtgaccaa 40

<210> 151

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 151

ccctggtgac acacctcgca ggcgtacacc ttatgcttct 40

<210> 152

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 152

gtgacccact gtggcctgtc cagccccgtg accaagagct 40

<210> 153

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 153

gacaggccac agtgggtcac ctcgcaggcg tacaccttat 40

<210> 154

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 154

ggcctgtcct gtcccgtgac caagagcttc aacaggggcg a 41

<210> 155

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 155

gtcacgggac aggacaggcc ctggtgggtc acctcgcagg 40

<210> 156

<211

> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 156

cagccccgtg tgcaagagct tcaacagggg cgagtgctaa 40

<210> 157

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 157

aagctcttgc acacggggct ggacaggccc tggtgggtc 39

<210> 158

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 158

ccgtctcctg cgctagcacc aagggcccca gcgtgttc 38

<210> 159

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 159

ggtgctagcg caggagacgg tgaccagggt tccttgac 38

<210> 160

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 160

tcctcggctt gtaccaaggg ccccagcgtg ttccccctgg 40

<210> 161

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 161

cccttggtac aagccgagga gacggtgacc agggttcctt 40

<210> 162

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 162

ctagcacctg tggccccagc gtgttccccc tggccccca 39

<210> 163

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 163

gctggggcca caggtgctag ccgaggagac ggtgaccag 39

<210> 164

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 164

agggcccctg tgtgttcccc ctggccccca gcagcaaga 39

<210> 165

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 165

ggggaacaca caggggccct tggtgctagc cgaggagacg 40

<210> 166

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 166

cccccagctg caagagcacc agcggcggca cagccgccct 40

<210> 167

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 167

ggtgctcttg cagctggggg ccaggggggaa cacgctgggg 40

<210> 168

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 168

agcagcaagt gtaccagcgg cggcacagcc gccctgggct 40

<210> 169

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 169

ccgctggtac acttgctgct gggggccagg gggaacacg 39

<210> 170

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 170

agagcacctg tggcggcaca gccgccctgg gctgcctggt 40

<210> 171

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 171

gtgccgccac aggtgctctt gctgctgggg gccaggggga 40

<210> 172

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 172

agcggcggct gtgccgccct gggctgcctg gtgaaggact 40

<210> 173

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 173

cagggcggca cagccgccgc tggtgctctt gctgctgggg 40

<210> 174

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 174

tacttcccct gtcccgtgac cgtgtcctgg aacagcgga 39

<210> 175

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 175

ggtcacggga caggggaagt agtccttcac caggcagc 38

<210> 176

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 176

tccccgagtg cgtgaccgtg tcctggaaca gcggagccct 40

<210> 177

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 177

cacggtcacg cactcgggga agtagtcctt caccaggcag 40

<210> 178

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 178

gagcccgtgt gcgtgtcctg gaacagcgga gccctgacct 40

<210> 179

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 179

caggacacgc acacgggctc ggggaagtag tccttcacca 40

<210> 180

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 180

tgaccgtgtg ctggaacagc ggagccctga cctccggcgt 40

<210> 181

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 181

ctgttccagc acacggtcac gggctcgggg aagtagtcct 40

<210> 182

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 182

ggagccctgt gctccggcgt gcacaccttc cccgccgtgc t 41

<210> 183

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 183

acgccggagc acagggctcc gctgttccag gacacggtca 40

<210> 184

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 184

ccctgacctg tggcgtgcac accttccccg ccgtgctgca 40

<210> 185

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 185

tgtgcacgcc acaggtcagg gctccgctgt tccaggacac 40

<210> 186

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 186

gcgtgcactg cttccccgcc gtgctgcaga gcagcggcct 40

<210> 187

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 187

ggcggggaag cagtgcacgc cggaggtcag ggctccgctg 40

<210> 188

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 188

cacaccttct gtgccgtgct gcagagcagc ggcctgtaca 40

<210> 189

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 189

cagcacggca cagaaggtgt gcacgccgga ggtcagggct 40

<210> 190

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 190

ccgccgtgtg tcagagcagc ggcctgtaca gcctgtcca 39

<210> 191

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 191

gctgctctga cacacggcgg ggaaggtgtg cacgccggag 40

<210> 192

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 192

tgctgcagtg cagcggcctg tacagcctgt ccagcgtggt 40

<210> 193

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 193

acaggccgct gcactgcagc acggcgggga aggtgtgcac g 41

<210> 194

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 194

ctgcagagct gtggcctgta cagcctgtcc agcgtggtga 40

<210> 195

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 195

tacaggccac agctctgcag cacggcgggg aaggtgtgca 40

<210> 196

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 196

tgacagtgtg cagcagcagc ctgggcaccc agacctacat 40

<210> 197

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 197

ctgctgctgc acactgtcac cacgctggac aggctgtaca 40

<210> 198

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 198

tgcccagctg cagcctgggc acccagacct acatctgcaa 40

<210> 199

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 199

cccaggctgc agctgggcac tgtcaccacg ctggacaggc t 41

<210> 200

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 200

gcctgggctg tcagacctac atctgcaacg tgaaccacaa 40

<210> 201

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 201

gtaggtctga cagcccaggc tgctgctggg cactgtcacc a 41

<210> 202

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 202

gcacccagtg ctacatctgc aacgtgaacc acaagccca 39

<210> 203

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 203

gcagatgtag cactgggtgc ccaggctgct gctgggcact 40

<210> 204

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 204

tgaaccactg tcccagcaac accaaggtgg acaagagagt 40

<210> 205

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 205

tgttgctggg acagtggttc acgttgcaga tgtaggtctg g 41

<210> 206

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 206

acaagccctg caacaccaag gtggacaaga gagtggagc 39

<210> 207

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 207

cttggtgttg cagggcttgt ggttcacgtt gcagatgtag 40

<210> 208

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 208

accaaggtgt gcaagagagt ggagcccaag agctgcgaca 40

<210> 209

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 209

cactctcttg cacaccttgg tgttgctggg cttgtggttc a 41

<210> 210

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 210

tccccccctg tcccaaggac accctgatga tcagcagga 39

<210> 211

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 211

gtccttggga cagggggga acaggaacac ggagggtccg 40

<210> 212

<211> 38

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 212

aggacccct gcgtgacctg cgtggtggtg gacgtgag 38

<210> 213

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 213

caggtcacgc agggggtcct gctgatcatc agggtgtcct 40

<210> 214

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 214

tgagccactg tgacccagag gtgaagttca actggtacg 39

<210> 215

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 215

ctctgggtca cagtggctca cgtccaccac cacgcaggtc 40

<210> 216

<211

> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 216

ccagaggtgt gcttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg 40

<210> 217

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 217

ccagttgaag cacacctctg ggtcctcgtg gctcacgtcc a 41

<210> 218

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 218

gaggtgcact gtgccaagac caagcccaga gaggagcagt 40

<210> 219

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 219

ggtcttggca cagtgcacct ccacgccgtc cacgtaccag t 41

<210> 220

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 220

cacaacgcct gtaccaagcc cagagaggag cagtacaaca 40

<210> 221

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 221

ggcttggtac aggcgttgtg cacctccacg ccgtccacgt 40

<210> 222

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 222

gccaagacct gtcccagaga ggagcagtac aacagcacct 40

<210> 223

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 223

ctctctggga caggtcttgg cgttgtgcac ctccacgccg t 41

<210> 224

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 224

accaagccct gtgaggagca gtacaacagc acctacaggg t 41

<210> 225

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 225

ctgctcctca cagggcttgg tcttggcgtt gtgcacctcc a 41

<210> 226

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 226

caagcccaga tgcgagcagt acaacagcac ctacagggtg 40

<210> 227

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 227

gtactgctcg catctgggct tggtcttggc gttgtgcacc t 41

<210> 228

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 228

gcccagagag tgtcagtaca acagcaccta cagggtggt 39

<210> 229

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 229

ttgtactgac actctctggg cttggtcttg gcgttgtgca 40

<210> 230

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 230

caaggaatac tgctgcaagg tctccaacaa ggccctgcca 40

<210> 231

<211

> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 231

gaccttgcag cagtattcct tgccgttcag ccagtcctgg t 41

<210> 232

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 232

tacaagtgct gcgtctccaa caaggccctg ccagccccca 40

<210> 233

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 233

gttggagacg cagcacttgt attccttgcc gttcagccag t 41

<210> 234

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 234

ggtctccaac tgtgccctgc cagcccccat cgaaaagacc 40

<210> 235

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 235

ggcagggcac agttggagac cttgcacttg tattccttgc 40

<210> 236

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 236

gccctgccat gtcccatcga aaagaccatc agcaaggcca 40

<210> 237

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 237

ttcgatggga catggcaggg ccttgttgga gaccttgcac t 41

<210> 238

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 238

gcccccatct gcaagaccat cagcaaggcc aagggccagc 40

<210> 239

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 239

gatggtcttg cagatggggg ctggcagggc cttgttggag a 41

<210> 240

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 240

cccatcgaat gcaccatcag caaggccaag ggccagcca 39

<210> 241

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 241

gctgatggtg cattcgatgg gggctggcag ggccttgttg 40

<210> 242

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 242

tcgaaaagtg catcagcaag gccaagggcc agccacggga 40

<210> 243

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 243

cttgctgatg cacttttcga tgggggctgg cagggccttg t 41

<210> 244

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 244

agaccatctg caaggccaag ggccagccac gggagcccca 40

<210> 245

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 245

ccttggcctt gcagatggtc ttttcgatgg gggctggcag g 41

<210> 246

<211

> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 246

ggccagccat gcgagcccca ggtgtacacc ctgcctccat 40

<210> 247

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 247

ctggggctcg catggctggc ccttggcctt gctgatggtc t 41

<210> 248

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 248

ctccatcctg cgacgagctg accaagaacc aggtgtccct 40

<210> 249

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 249

cagctcgtcg caggatggag gcagggtgta cacctggggc t 41

<210> 250

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 250

agctgacctg caaccaggtg tccctgacct gtctggtga 39

<210> 251

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 251

cacctggttg caggtcagct cgtcccggga tggaggcagg 40

<210> 252

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 252

ccaagaactg cgtgtccctg acctgtctgg tgaagggctt 40

<210> 253

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 253

tcagggacac gcagttcttg gtcagctcgt cccgggatgg a 41

<210> 254

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 254

ttctacccct gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaacg 40

<210> 255

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 255

ggcgatgtcg caggggtaga agcccttcac cagacaggtc a 41

<210> 256

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 256

tggagtggtg cagcaacggc cagcccgaga acaactaca 39

<210> 257

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 257

ggccgttgct gcaccactcc acggcgatgt cgctggggta g 41

<210> 258

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 258

agcccgagtg caactacaag accacccccc cagtgctgga 40

<210> 259

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 259

cttgtagttg cactcgggct ggccgttgct ctcccactcc a 41

<210> 260

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 260

cccgagaact gctacaagac cacccccca gtgctggaca 40

<210> 261

<211

> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 261

ggtcttgtag cagttctcgg gctggccgtt gctctcccac t 41

<210> 262

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 262

gaacaactac tgcaccaccc ccccagtgct ggacagcgac 40

<210> 263

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 263

ggggtggtgc agtagttgtt ctcgggctgg ccgttgctct 40

<210> 264

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 264

aactacaagt gtacccccc agtgctggac agcgacggca 40

<210> 265

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 265

tgggggggta cacttgtagt tgttctcggg ctggccgttg 40

<210> 266

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 266

ccccagtgtg tgacagcgac ggcagcttct tcctgtaca 39

<210> 267

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 267

gtcgctgtca cacactgggg gggtggtctt gtagttgttc t 41

<210> 268

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 268

tgctggactg cgacggcagc ttcttcctgt acagcaagct 40

<210> 269

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 269

gctgccgtcg cagtccagca ctgggggggt ggtcttgtag t 41

<210> 270

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 270

tgaccgtgtg caagtccagg tggcagcagg gcaacgtgtt 40

<210> 271

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 271

acctggactt gcacacggtc agcttgctgt acaggaagaa g 41

<210> 272

<211> 39

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 272

tggacaagtg caggtggcag cagggcaacg tgttcagct 39

<210> 273

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 273

ctgccacctg cacttgtcca cggtcagctt gctgtacagg 40

<210> 274

<211> 40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 274

agggcaactg cttcagctgc agcgtgatgc acgaggccct 40

<210> 275

<211> 41

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 275

gcagctgaag cagttgccct gctgccacct ggacttgtcc a 41

<210> 276

<211

> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 276

ccgggatgcg tgacagtggc ctggaaggca gatagc 36

<210> 277

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 277

tgtcacgcat cccgggtaga agtcacttat gagaca 36

<210> 278

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 278

gccgtgtgtg tggcctggaa ggcagatagc agcccc 36

<210> 279

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 279

ggccacacac acggctcccg ggtagaagtc acttat 36

<210> 280

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 280

acagtgtgtt ggaaggcaga tagcagcccc gtcaag 36

<210> 281

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 281

cttccaacac actgtcacgg ctcccgggta gaagtc 36

<210> 282

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 282

cccgtctgtg cgggagtgga gaccaccaca ccctcc 36

<210> 283

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 283

tcccgcacag acggggctgc tatctgcctt ccaggc 36

<210> 284

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 284

gcgggatgtg agaccaccac accctccaaa caaagc 36

<210> 285

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 285

ggtctcacat cccgccttga cggggctgct atctgc 36

<210> 286

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 286

accacctgtc cctccaaaca aagcaacaac aagtac 36

<210> 287

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 287

ggagggacag gtggtctcca ctcccgcctt gacggg 36

<210> 288

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

primer"

<400> 288

aaacaatgca acaacaagta cgcggccagc agctat 36

<210> 289

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 289

gttgttgcat tgtttggagg gtgtggtggt ctccac 36

<210> 290

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic 6xHis tag"

<400> 290

His His His His His His

1 5

<210> 291

<211> 328

<212> PRT

<

213> Homo sapiens

<400> 291

Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr

35 40 45

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
50 55 60

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

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

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

Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu
260 265 270
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe
275 280 285
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

325

<210> 292

<211> 108

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 292

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

1 5 10 15

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Arg

85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 293

<

211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 293

```
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser
1               5                  10                  15
Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
            20                  25                  30
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
        35                  40                  45

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

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
        115                 120                 125
Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
    130                 135                 140
Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
145                 150                 155                 160
Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
                165                 170                 175

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
            180                 185                 190
Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
        195                 200                 205
Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
    210                 215                 220
Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu
225                 230                 235                 240

Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
```

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly

290 295 300

Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr

305 310 315 320

Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325 330

<210> 294

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 294

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys

85 90 95

Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr

145 150 155 160

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

165 170 175

Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

180 185 190

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

195 200 205

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

210 215 220

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met

225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 295

<211> 328

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 295

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

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

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

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
195 200 205
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
210 215 220
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu

225 230 235 240

Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

245 250 255

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

260 265 270

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

275 280 285

Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

290 295 300

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

305 310 315 320

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

325

<210> 296

<211> 324

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 296

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly

35 40 45

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

50 55 60

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr

65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr

85 90 95

Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro

100 105 110

Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
115 120 125
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
130 135 140
Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
145 150 155 160
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
165 170 175

Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu
180 185 190
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala
195 200 205
Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
210 215 220
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
225 230 235 240

Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser
245 250 255
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
260 265 270
Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu
275 280 285
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
290 295 300

Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
305 310 315 320
Leu Ser Pro Gly

<210> 297
<211> 375

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 297

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser
1 5 10 15

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

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly
35 40 45

Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu
50 55 60

Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr
65 70 75 80

Thr Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg
85 90 95

Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro Arg
100 105 110

Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys
115 120 125

Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro
130 135 140

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys Pro Ala
145 150 155 160

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
165 170 175

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
180 185 190

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr Val
195 200 205

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
210 215 220

Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

275 280 285

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

290 295 300

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

305 310 315 320

Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

325 330 335

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

340 345 350

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln Lys

355 360 365

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

370 375

<210> 298

<211> 325

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 298

Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly

35 40 45

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

100 105 110
Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140
Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
145 150 155 160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn

165 170 175
Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
180 185 190
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro
195 200 205
Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn

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

290 295 300

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu

305 310 315 320

Ser Leu Ser Leu Gly

325

<210> 299

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 299

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

1 5 10 15

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 80

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> 300

<211> 332

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 300

Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu

35 40 45

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu

50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr

65 70 75 80

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val

85 90 95

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro

100 105 110

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

115 120 125

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

130 135 140

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe

145 150 155 160

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

165 170 175

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

180 185 190

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val

195 200 205

Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala

210 215 220

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

225 230 235 240

Glu Glu Met Thr Cys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly

245 250 255

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
260 265 270
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
275 280 285

Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
290 295 300
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
305 310 315 320
Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 301
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"

<400> 301
Cys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
35 40 45
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
50 55 60

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

<210> 302

<211> 332

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 302

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

Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys
20 25 30

Asp Tyr Phe Pro Cys Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu
35 40 45

Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr
65 70 75 80

Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val
85 90 95

Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
100 105 110

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
115 120 125

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
130 135 140

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
145 150 155 160

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
165 170 175

Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr

180 185 190

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

Phe Tyr Pro Cys Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
260 265 270
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
275 280 285
Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln
290 295 300
Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
305 310 315 320

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 303
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic polypeptide"
<400> 303
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp
1 5 10 15
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn
20 25 30

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu
35 40 45

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp
50 55 60

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr
65 70 75 80

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser
85 90 95

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105