



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2020-0062390
(43) 공개일자 2020년06월03일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/18 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
C07K 16/28 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/18 (2013.01)
A61K 39/395 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-7015247(분할)
(22) 출원일자(국제) 2008년09월26일
심사청구일자 2020년05월27일
(62) 원출원 특허 10-2018-7033614
원출원일자(국제) 2008년09월26일
심사청구일자 2018년11월20일
(85) 번역문제출일자 2020년05월27일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2008/067483
(87) 국제공개번호 WO 2009/041613
국제공개일자 2009년04월02일
(30) 우선권주장
JP-P-2007-250147 2007년09월26일 일본(JP)

(71) 출원인
추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤
일본국 도쿄도 기타쿠 우키마 5초메 5반 1고
(72) 발명자
이가와 도모유키
일본국 시즈오카 고텐바시 고마카도 1초메 135 추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내
시라이와 히로타케
일본국 시즈오카 고텐바시 고마카도 1초메 135 추가이 세이야쿠 가부시키키가이샤 내
(74) 대리인
서종완

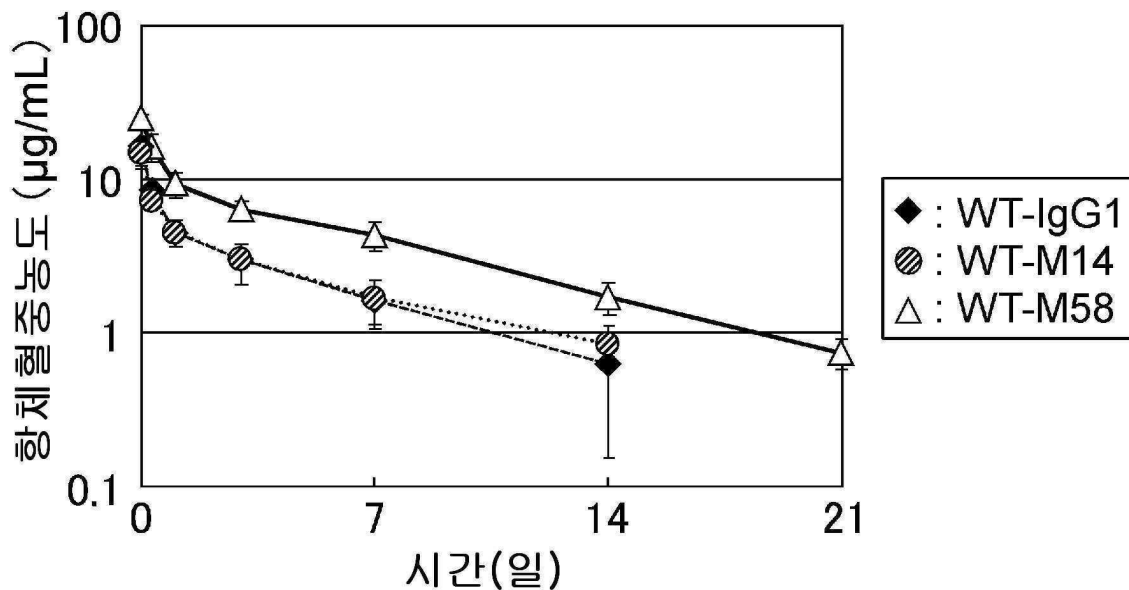
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 항체 정상영역 개변체

(57) 요약

본 발명자 등은, 항체의 정상영역에 있어서, 산성조건하에서의 안정성, 현지영역의 디설피드에 유래하는 이질성(heterogeneity), H사슬 C말단에 유래하는 이질성, 고농도 제제에 있어서의 안정성을 개선시키는 것에 성공하였다. 추가적으로 새로운 T-cell 에피토프 펩티드의 출현을 최소한으로 억제하면서, Fcγ 수용체에 결합을 저하시킨 신규한 정상영역 서열을 발견하는 것에 성공하였다. 이것에 의해, 물성(안정성 및 균일성), 면역원성, 안전성, 또한, 약물동태를 개선시킨 항체 정상영역을 발견하는데 성공하였다.

대표도 - 도24



(52) CPC특허분류

C07K 16/2866 (2013.01)

C07K 2317/52 (2013.01)

C07K 2317/53 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg 및/또는 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln이 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 불변영역.

청구항 2

서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys, 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu, 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg 및 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 불변영역.

청구항 3

제2항의 IgG2 불변영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 불변영역.

청구항 4

서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys, 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu, 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg, 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln, 및 313번째(EU 넘버링 424번째)의 Asn이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 불변영역.

청구항 5

제4항의 IgG2 불변영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 불변영역.

청구항 6

서열번호:35에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 불변영역.

청구항 7

서열번호:37에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 불변영역.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 불변영역을 갖는 항체.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 불변영역을 갖는 항IL-6 수용체 항체.

청구항 10

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항의 불변영역을 갖는 항체를 포함하는 의약 조성물.

발명의 설명

기술 분야

본 발명은 물성(안정성, 이질성(heterogeneity)), 면역원성(항원성), 안전성, 및/또는 혈장 중 반감기가 개선된 항체 정상영역 및 그 정상영역을 포함하는 항체에 관한 것이다.

[0001]

배경 기술

- [0002] 항체는 혈장 중(혈중)에서의 안정성이 높고, 부작용도 적은 것으로부터 의약품으로서 주목받고 있다. 그 중에서도 IgG형의 항체 의약품은 다수 시판되고 있고, 현재도 수많은 항체 의약품이 개발되고 있다(비특허문헌 1, 비특허문헌 2).
- [0003] 현재 시판되고 있는 항체 의약품의 대부분이 IgG1 서브클래스의 항체이다. IgG1 타입의 항체는 Fc γ 수용체에 결합 가능하고, ADCC 활성을 발휘하는 것이 가능하여, 항암 항체 의약품의 경우는 유용할 것으로 생각되고 있다. 그러나, 항원의 생물학적 작용을 중화하는 것이 목적인 항체 의약품에 있어서는 Fc영역의 ADCC 등의 이펙터 기능에 중요한 Fc γ 수용체로의 결합은 불필요한 부작용을 야기할 가능성이 있기 때문에 배제하는 것이 바람직하다(비특허문헌 3). 또한, Fc γ 수용체는 항원제시세포에 발현하고 있는 것으로부터, Fc γ 수용체에 결합하는 분자는 항원제시되기 쉬워져, IgG1의 Fc부분에 단백질이나 펩티드를 결합함으로써 면역원성이 증강되는(시키는 것이 가능한) 것이 보고되어 있다(비특허문헌 4, 특허문헌 1). 또한 TGN1412의 PhaseI 임상시험에서 보여진 중대한 부작용의 원인 중 하나로서, 항체의 Fc부분과 Fc γ 수용체의 상호작용이 생각되고 있다(비특허문헌 5). 이와 같이, 부작용이나 면역원성의 관점에서 생각하면, 항원의 생물학적 작용을 중화하는 것이 목적인 항체 의약품에 있어서는 Fc γ 수용체로의 결합은 바람직하지 않은 것으로 생각된다.
- [0004] Fc γ 수용체로의 결합을 완전히 없애는 것은 불가능하지만 저하시키는 방법으로서, IgG 항체의 서브타입을 IgG1에서 IgG2 또는 IgG4로 바꾸는 방법을 생각할 수 있다(비특허문헌 6). Fc γ 수용체로의 결합을 완전히 없애는 방법으로서, 인공적인 개변을 Fc영역에 도입하는 방법이 보고되어 있다. 예를 들면, 항CD3 항체나 항CD4 항체는 항체의 이펙터 기능이 부작용을 야기한다. 이에, Fc영역의 Fc γ 수용체 결합부분에 야생형 서열에는 존재하지 않는 아미노산 변이(비특허문헌 3, 7)를 도입한 Fc γ 수용체 비결합형 항CD3 항체나 항CD4 항체의 임상시험이 현재 행해지고 있다(비특허문헌 5, 8). 또한, IgG1의 Fc γ R 결합부위(EU 넘버링:233, 234, 235, 236, 327, 330, 331번째)를 IgG2 및 IgG4의 서열로 함으로써 Fc γ 수용체 비결합형 항체를 제작하는 것이 가능하다(비특허문헌 9, 특허문헌 2). 그러나, 이들 분자는 모두 천연으로는 존재하지 않는 T-cell 에피토프 펩티드로 될 수 있는 9~12 아미노산의 새로운 펩티드 서열이 출현하고 있어, 면역원성의 리스크를 생각할 수 있다. 이러한 과제를 해결한 Fc γ 수용체 비결합형 항체의 보고는 지금까지 없다.
- [0005] 한편, 항체를 의약품으로서 개발하는데 있어서, 그 단백질의 물성, 그 중에서도 균일성과 안정성은 매우 중요하다. IgG2의 서브타입은, 힌지영역의 디설피드 결합에 유래하는 이질성이 보고되어 있다(비특허문헌 10, 특허문헌 3). 이것에 유래하는 목적 물질/관련 물질의 이질성의 제조간 차를 유지하면서 의약품으로서 대량으로 제조하는 것은 어렵다. 의약품으로서 개발하는 항체분자는, 가능한 한 단일 물질인 것이 요망된다.
- [0006] 또한, IgG2 및 IgG4는 산성조건하에서의 안정성이 부족하다. 일반적으로 IgG 타입의 항체는 프로테인 A를 사용한 정제공정 및 바이러스 불활성화 공정에 있어서 산성조건하에 폭로되는 것으로부터, IgG2 및 IgG4는 동공정에 있어서는 안정성에 관하여 주의가 필요하고, 의약품으로서 개발하는 항체분자는 바람직하게는 산성조건하에 있어도 안정한 편이 좋다. 천연형의 IgG2 및 IgG4, 및 IgG2 및 IgG4를 베이스로 한 Fc γ 수용체 비결합형 항체(비특허문헌 6, 7, 특허문헌 2)에 있어서는, 이들의 과제가 있어, 의약품으로서 개발하는데 있어서는 해결되는 것이 요망된다.
- [0007] IgG1 타입의 항체는 산성조건하에서 비교적 안정하고, 힌지영역의 디설피드 결합에 유래하는 이질성도 적으나, 제제 보존 중에 힌지영역의 펩티드 결합이 비효소적으로 용액 중에서 분해가 진행되어, 불순물로서 Fab 단편이 생성되는 것이 보고되어 있다(비특허문헌 11). 의약품으로서 개발하는데 있어서는 불순물의 생성은 해결되는 것이 바람직하다.
- [0008] 또한, 항체의 C말단 서열의 이질성으로서, C말단 아미노산의 리신 잔기의 결손, 및 C말단의 2 아미노산의 글리신, 리신의 결손에 의한 C말단 아미노기의 아미드화가 보고되어 있어(비특허문헌 12), 의약품으로서 개발하는데 있어서는 이들 이질성은 존재하지 않는 것이 바람직하다.
- [0009] 이와 같이 항원을 중화하는 것이 목적인 항체 의약품의 정상영역은, 이들 과제를 모두 해결한 정상영역 서열이 바람직하나, 이들 조건을 모두 만족하는 정상영역의 보고는 지금까지 없다.
- [0010] 또한 항체 의약품의 투여형태에 대해서는, 만성적인 자기면역질환 등의 경우는 피하투여 제제가 바람직한 것으로 알려져 있다. 지속적인 치료효과를 발휘할 수 있도록 항체의 혈장 중 반감기를 길게 함으로써 투여 단백량을 적게 하고, 고농도 제제가 가능한 정도로 높은 안정성을 부여함으로써, 긴 투여간격에서의 피하투여를 가능하게

하여, 저비용 또한 편리성이 높은 항체 의약을 제공할 수 있을 것으로 생각된다.

- [0011] 일반적으로 피하투여 제제는 고농도 제제일 필요가 있는 것에 대해, IgG 타입의 항체제제의 경우, 안정성 등의 측면에서 일반적으로는 100 mg/mL 정도의 제제가 한도일 것으로 생각되고 있어(비특허문헌 13), 고농도에서의 안정성의 확보가 과제였다. 그러나, 지금까지 정상영역에 아미노산 치환을 도입함으로써 고농도에 있어서의 IgG의 안정성을 개선시킨 보고는 없다. 항체의 혈장 중 반감기를 길게 하는 방법으로서, 정상영역의 아미노산 치환이 보고되어 있으나(비특허문헌 14, 비특허문헌 15), 면역원성 리스크의 관점에서 정상영역에 천연으로 존재하지 않는 서열을 도입하는 것은 바람직하지 않다.
- [0012] 이와 같이 항원을 중화하는 것이 목적인 항체 의약의 정상영역은, 이들 과제를 모두 해결한 정상영역 서열이 바람직하나, 이들 조건을 만족하는 정상영역의 보고는 지금까지 없다. 따라서, 이들 과제를 개선시킨 항체의 정상영역이 요망되고 있었다.
- [0013] 또한, 본 출원의 발명에 관련된 선행기술문헌정보를 이하에 나타낸다.
- [0014] 비특허문헌 1 : Monoclonal antibody successes in the clinic, Janice M Reichert, Clark J Rosensweig, Laura B Faden & Matthew C Dewitz, Nature Biotechnology 23, 1073 - 1078 (2005)
- [0015] 비특허문헌 2 : Pavlou AK, Belsey MJ., The therapeutic antibodies market to 2008., Eur J Pharm Biopharm. 2005 Apr;59(3):389-96.
- [0016] 비특허문헌 3 : Reddy MP, Kinney CA, Chaikin MA, Payne A, Fishman-Lobell J, Tsui P, Dal Monte PR, Doyle ML, Brigham-Burke MR, Anderson D, Reff M, Newman R, Hanna N, Sweet RW, Truneh A. Elimination of Fc receptor-dependent effector functions of a modified IgG4 monoclonal antibody to human CD4. J Immunol. 2000 Feb 15;164(4):1925-33.
- [0017] 비특허문헌 4 : Guyre PM, Graziano RF, Goldstein J, Wallace PK, Morganelli PM, Wardwell K, Howell AL. Increased potency of Fc-receptor-targeted antigens. Cancer Immunol Immunother. 1997 Nov-Dec;45(3-4):146-8.
- [0018] 비특허문헌 5 : Strand V, Kimberly R, Isaacs JD. Biologic therapies in rheumatology: lessons learned, future directions. Nat Rev Drug Discov. 2007 Jan;6(1):75-92.
- [0019] 비특허문헌 6 : Gessner JE, Heiken H, Tamm A, Schmidt RE. The IgG Fc receptor family. Ann Hematol. 1998 Jun;76(6):231-48.
- [0020] 비특허문헌 7 : Cole MS, Anasetti C, Tso JY. Human IgG2 variants of chimeric anti-CD3 are nonmitogenic to T cells. J Immunol. 1997 Oct 1;159(7):3613-21.
- [0021] 비특허문헌 8 : Chau LA, Tso JY, Melrose J, Madrenas J. HuM291(Nuvion), a humanized Fc receptor-nonbinding antibody against CD3, anergizes peripheral blood T cells as partial agonist of the T cell receptor.Transplantation. 2001 Apr 15;71(7):941-50.
- [0022] 비특허문헌 9 : Armour KL, Clark MR, Hadley AG, Williamson LM., Recombinant human IgG molecules lacking Fcgamma receptor I binding and monocyte triggering activities. Eur J Immunol. 1999 Aug;29(8):2613-24.
- [0023] 비특허문헌 10 : Chu GC, Chelius D, Xiao G, Khor HK, Coulibaly S, Bondarenko PV. Accumulation of Succinimide in a Recombinant Monoclonal Antibody in Mildly Acidic Buffers Under Elevated Temperatures. Pharm Res. 2007 Mar 24; 24(6):1145-56
- [0024] 비특허문헌 11 : A.J. Cordoba, B.J. Shyong, D. Breen, R.J. Harris, Nonenzymatic hinge region fragmentation of antibodies in solution, J. Chromatogr., B, Anal. Technol. Biomed. Life Sci. 818 (2005) 115-121.
- [0025] 비특허문헌 12 : Johnson KA, Paisley-Flango K, Tangarone BS, Porter TJ, Rouse JC. Cation exchange-HPLC and mass spectrometry reveal C-terminal amidation of an IgG1 heavy chain. Anal Biochem. 2007 Jan 1;360(1):75-83.
- [0026] 비특허문헌 13 : Shire SJ, Shahrokh Z, Liu J. Challenges in the development of high protein concentration formulations.J Pharm Sci. 2004 Jun;93(6):1390-402.

- [0027] 비특허문헌 14 : Hinton PR, Xiong JM, Johlfs MG, Tang MT, Keller S, Tsurushita N., An engineered human IgG1 antibody with longer serum half-life., J Immunol. 2006 Jan 1;176(1):346-56.
- [0028] 비특허문헌 15 : Ghetie V, Popov S, Borvak J, Radu C, Matesoi D, Medesan C, Ober RJ, Ward ES., Increasing the serum persistence of an IgG fragment by random mutagenesis., Nat Biotechnol. 1997 Jul;15(7):637-40.
- [0029] 특허문헌1 : US 20050261229A1
- [0030] 특허문헌2 : WO 99/58572
- [0031] 특허문헌3 : US 2006/0194280

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0032] 본 발명은 이러한 상황을 감안하여 이루어진 것으로, 그 목적은, 항체 정상영역의 아미노산을 개변함으로써, 물성(안정성 및 균일성), 면역원성, 안전성, 또한, 약물동태를 개선(혈장 중(혈중) 체류성을 개선)시킨 항체 정상영역을 제공하는 것에 있다.

과제의 해결 수단

- [0033] 본 발명자 등은 항체의 정상영역의 아미노산 서열을 개변함으로써, 물성(안정성 및 균일성), 면역원성, 안전성, 또한, 약물동태가 개선된 항체 정상영역의 창제를 위해, 예의 연구를 행하였다. 그 결과, 본 발명자 등은, 항체의 정상영역에 있어서, 산성조건하에서의 안정성, 힌지영역의 디설피드에 유래하는 이질성, H사슬 C말단에 유래하는 이질성, 고농도 제제에 있어서의 안정성을 개선시키는 것에 성공하고, 추가적으로 새로운 T-cell 에피토프 펩티드의 출현을 최소한으로 억제하면서, Fc γ 수용체에 결합을 저하시킨 신규한 정상영역 서열을 발견하는데 성공하였다.
- [0034] 본 발명은 항체의 정상영역의 아미노산 서열의 개변에 의해, 보다 우수한 안전성·면역원성·물성(안정성, 균일성)을 가지며, 보다 우수한 약물동태를 갖는 항체 정상영역, 그 항체 정상영역을 포함하는 항체, 그 항체를 포함하는 의약 조성물, 및 그들의 제조방법에 관한 것이다. 보다 구체적으로는, 하기 [1]~[35]를 제공하는 것이다.
- [0035] [1] 이하의 (a)~(c) 중 어느 하나에 기재된 인간 항체 정상영역;
- [0036] (a) 서열번호:1에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 329번째(EU 넘버링 446 번째, EU 넘버링 Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication No.91-3242를 참조)의 Gly와 330번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 양쪽 결손되어 있는 것을 특징으로 하는 인간 항체 정상영역,
- [0037] (b) 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly와 326번째(EU 넘버링 447 번째)의 Lys가 양쪽 결손되어 있는 것을 특징으로 하는 인간 항체 정상영역,
- [0038] (c) 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 326번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly와 327번째(EU 넘버링 447 번째)의 Lys가 양쪽 결손되어 있는 것을 특징으로 하는 인간 항체 정상영역,
- [0039] [2] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 209번째(EU 넘버링 330번째), 210번째(EU 넘버링 331번째) 및 218번째(EU 넘버링 339번째)의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 정상영역,
- [0040] [3] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 276번째(EU 넘버링 397번째)의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 정상영역,
- [0041] [4] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째), 102번째(EU 넘버링 219번째), 및/또는 16번째(EU 넘버링 133번째)의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 정상영역,
- [0042] [5] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 20번째(EU 넘버링 137번째) 및 21번째(EU 넘버링 138번째)의 아미노산이 추가적으로 다른 아미노산으로 치환되어 있는 것을 특징으로 하는, [4]에 기재된 IgG2 정상영역,
- [0043] [6] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355

번째)의 Arg 및/또는 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln이 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 정상영역,

- [0044] [7] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 209번째(EU 넘버링 330번째), 210번째(EU 넘버링 331번째), 218번째(EU 넘버링 339번째), 276번째(EU 넘버링 397번째), 14번째(EU 넘버링 131번째), 16번째(EU 넘버링 133번째), 102번째(EU 넘버링 219번째), 20번째(EU 넘버링 137번째) 및 21번째(EU 넘버링 138번째)의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0045] [8] [7]에 기재된 IgG2 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0046] [9] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 276번째(EU 넘버링 397번째), 14번째(EU 넘버링 131번째), 16번째(EU 넘버링 133번째), 102번째(EU 넘버링 219번째), 20번째(EU 넘버링 137번째) 및 21번째(EU 넘버링 138번째)의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0047] [10] [9]에 기재된 IgG2 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0048] [11] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys, 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu, 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg 및 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0049] [12] [11]에 기재된 IgG2 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0050] [13] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys, 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu, 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg, 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln, 및 313번째(EU 넘버링 434번째)의 Asn이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0051] [14] [13]에 기재된 IgG2 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0052] [15] 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 289번째(EU 넘버링 409번째)의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되어 있는 것을 특징으로 하는 IgG4 정상영역,
- [0053] [16] 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째, 16번째, 20번째, 21번째, 97번째, 100번째, 102번째, 103번째, 104번째, 105번째(EU 넘버링 131, 133, 137, 138, 214, 217, 219, 220, 221, 222번째), 113번째, 114번째, 115번째(EU 넘버링 233, 234, 235번째) 및 289번째(EU 넘버링 409번째)의 아미노산이 다른 아미노산으로 치환되고, 또한 116번째(EU 넘버링 236번째)의 아미노산이 결실된 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역,
- [0054] [17] [16]에 기재된 IgG4 정상영역에 있어서, 추가적으로 326번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly와 327번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결실된 IgG4 정상영역,
- [0055] [18] 서열번호:1에 기재된 IgG1 정상영역에 있어서, 317번째(EU 넘버링 434번째)의 Asn이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역,
- [0056] [19] [18]의 IgG1 정상영역에 있어서, 329번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 330번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역,
- [0057] [20] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 209번째(EU 넘버링 330번째)의 Ala, 210번째(EU 넘버링 331번째)의 Pro, 218번째(EU 넘버링 339번째)의 Thr, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys, 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu, 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0058] [21] [20]에 기재된 IgG2 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0059] [22] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133)의

Arg, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,

- [0060] [23] [22]에 기재된 IgG2 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역,
- [0061] [24] 서열번호:5에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0062] [25] 서열번호:7에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0063] [26] 서열번호:9에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0064] [27] 서열번호:35에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0065] [28] 서열번호:36에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0066] [29] 서열번호:37에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0067] [30] 서열번호:43에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0068] [31] 서열번호:57(M40△GK)에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0069] [32] 서열번호:55(M86△GK)에 기재된 아미노산 서열을 갖는 인간 항체 정상영역,
- [0070] [33] [1] 내지 [32] 중 어느 하나에 기재된 정상영역을 갖는 항체,
- [0071] [34] [1] 내지 [32] 중 어느 하나에 기재된 정상영역을 갖는 항IL-6 수용체 항체, 및
- [0072] [35] [1] 내지 [32] 중 어느 하나에 기재된 정상영역을 갖는 항체를 포함하는 의약 조성물.

도면의 간단한 설명

- [0074] 도 1은 염산 용출법에 의해 정제한 WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4, IgG2-M397V, IgG4-R409K의 겔 여과 크로마토그래피에 의한 회합체 함량의 분석결과를 나타내는 그래프이다.
- 도 2는 WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4의 양이온 교환 크로마토그래피(IEC) 분석결과를 나타내는 도면이다.
- 도 3은 WT-IgG2의 힌지영역의 추정 디설피드 결합양식을 나타내는 도면이다.
- 도 4는 IgG2-SKSC의 힌지영역의 추정 디설피드 결합양식을 나타내는 도면이다.
- 도 5는 WT-IgG2와 IgG2-SKSC의 양이온 교환 크로마토그래피(IEC) 분석결과를 나타내는 도면이다.
- 도 6은 인간화 PM-1 항체, H사슬 C말단△K 항체, H사슬 C말단△GK 항체의 양이온 교환 크로마토그래피(IEC) 분석결과를 나타내는 도면이다.
- 도 7은 WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 FcγRI에 대한 결합량의 비교를 나타내는 도면이다.
- 도 8은 WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 FcγRIIa에 대한 결합량의 비교를 나타내는 도면이다.
- 도 9는 WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 FcγRIIb에 대한 결합량의 비교를 나타내는 도면이다.
- 도 10은 WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 FcγRIIIa(Val)에 대한 결합량의 비교를 나타내는 도면이다.
- 도 11은 WT-IgG1, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 고농도 안정성시험에 있어서의 회합체 증가량을 나타내는 그래프이다.
- 도 12는 WT-IgG1, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 고농도 안정성시험에 있어서의 Fab 단편 증가량을 나타내는 그래프이다.
- 도 13은 WT-IgG2와 WT-M14△GK와 WT-M31△GK의 양이온 교환 크로마토그래피(IEC) 분석결과를 나타내는

도면이다.

도 14는 WT-IgG1 및 WT-M14를 인간 FcRn 형질전환 마우스에 정맥 내 투여 후의 혈장 중 농도추이를 나타낸 그래프이다.

도 15는 WT-IgG1, WT-M44, WT-M58, WT-M73을 인간 FcRn 형질전환 마우스에 정맥 내 투여 후의 혈장 중 농도추이를 나타낸 그래프이다.

도 16은 항IL-6 수용체 항체 WT, 항IL-6 수용체 항체 F2H/L39, 항IL-31 수용체 항체 HOLO, 항RANKL 항체인 DNS의 정상영역이 미치는 이질성으로의 영향을 양이온 교환 크로마토그래피에 의해 평가한 도면이다.

도 17은 항IL-6 수용체 항체 WT, 항IL-6 수용체 항체 F2H/L39의 CH1 도메인의 시스테인이 미치는 이질성으로의 영향을 양이온 교환 크로마토그래피에 의해 평가한 도면이다.

도 18은 항IL-6 수용체 항체 WT, 항IL-6 수용체 항체 F2H/L39의 CH1 도메인의 시스테인이 미치는 변성 피크로의 영향을 DSC에 의해 평가한 도면이다.

도 19는 TOCILIZUMAB, 대조 및 Fv5-M83의 BaF/gp130에 있어서의 중화활성을 나타내는 그래프이다.

도 20은 TOCILIZUMAB, Fv3-M73 및 Fv4-M73의 BaF/gp130에 있어서의 중화활성을 나타내는 그래프이다.

도 21은 TOCILIZUMAB, 대조, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83을 게잡이원숭이에 정맥 내 투여 후의 혈장 중 농도추이를 나타낸 그래프이다.

도 22는 TOCILIZUMAB, 대조, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83을 게잡이원숭이에 정맥 내 투여 후의 CRP 농도추이를 나타낸 그래프이다.

도 23은 TOCILIZUMAB, 대조, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83을 게잡이원숭이에 정맥 내 투여 후의 비결합형 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체 농도추이를 나타낸 그래프이다.

도 24는 WT-IgG1, WT-M14 및 WT-M58을 인간 FcRn 형질전환 마우스에 정맥 내 투여 후의 혈장 중 농도추이를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0075] 본 발명은 항체의 정상영역(constant region)의 아미노산 서열을 개변함으로써, 물성(안정성 및 균일성), 면역원성, 안전성, 또한, 약물동태가 개선된 항체 정상영역, 그 정상영역을 포함하는 항체, 그 항체를 포함하는 의약 조성물, 및 그들의 제조방법을 제공한다.
- [0076] 본 발명에 있어서 항체의 정상영역이란 IgG1, IgG2, IgG4 타입의 정상영역을 의미한다. 항체 정상영역은 바람직하게는 인간 항체 정상영역이다. 인간 IgG1 정상영역, 인간 IgG2 정상영역 및 인간 IgG4 정상영역의 아미노산 서열은 공지이다(인간 IgG1 정상영역:서열번호:1, 인간 IgG2 정상영역:서열번호:2, 인간 IgG4 정상영역:서열번호:3). 또한 본 발명의 아미노산이 치환된 항체 정상영역은, 본 발명의 아미노산 치환을 포함하는 것인 한, 다른 아미노산 치환이나 수식을 포함해도 된다. 따라서, 본 발명에 있어서는, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열로부터 이미 1 또는 복수의 아미노산이 치환 및/또는 수식된 IgG2 정상영역에 대해 본 발명의 아미노산 치환을 행하는 경우, 또는 본 발명의 아미노산 치환을 행한 후에 1 또는 복수의 아미노산을 치환 및/또는 수식하는 경우도, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 본 발명의 아미노산 치환이 행해진 IgG2 정상영역에 해당한다. 서열번호:1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역, 서열번호:3에 기재된 IgG4 정상영역에 대해서도 동일하다. 또한, 인간 IgG4 정상영역은, 힌지부분의 안정성을 개선시키기 위한 개변(Mol Immunol. 1993 Jan;30(1):105-8.)을 도입한 서열이다. 또한 EU 넘버링 297번째의 당사슬은 어떠한 당사슬 구조여도 되고, 또한 당사슬이 결함되어 있지 않아도 된다(예를 들면 대장균에서 생산함으로써 가능).
- [0077] <아미노산 개변 IgG2>
- [0078] 본 발명은 산성에서의 안정성이 개선된 IgG2 정상영역을 제공한다.
- [0079] 보다 구체적으로는, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 276번째(EU 넘버링 397번째)의 Met가 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 정상영역을 제공한다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, Val로의 치환인 것이 바람직하다. 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서 276번째(EU 넘버링 397번째)의 Met를 다른 아미노산으로 치환함으로써, 항체의 산성조건하에서의 안정성을 향상시키는 것이 가능하다.

- [0080] 본 발명에 의해 제공되는 산성에서의 안정성이 개선된 IgG2 정상영역은 적어도 전술한 아미노산 치환이 행해져 있으면 되고, 동시에 다른 아미노산의 치환, 결실, 부가 및/또는 삽입 등이 행해져 있어도 된다.
- [0081] 또한 본 발명은, 힌지영역의 이질성(heterogeneity)이 개선된 IgG2 정상영역을 제공한다.
- [0082] 보다 구체적으로는 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg, 및/또는, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys가 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 정상영역을 제공한다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys는 Ser로 치환되는 것이 바람직하고, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg는 Lys로 치환되는 것이 바람직하며, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys는 Ser로 치환되는 것이 바람직하다(IgG2-SKSC).
- [0083] 이들의 치환을 행함으로써, IgG2의 힌지영역에 유래하는 이질성을 저감하는 것이 가능하다. 본 발명의 아미노산이 치환된 IgG2 정상영역에는, 상기 3종류의 아미노산 치환 중 1종류 이상의 아미노산이 치환된 IgG2 정상영역이 포함되나, 14번째의 Cys와 102번째의 Cys가 다른 아미노산으로 치환되어 있는 것, 또는 상기 3종류 모든 아미노산이 치환되어 있는 것이 바람직하다.
- [0084] 본 발명에 의해 제공되는 이질성이 개선된 IgG2 정상영역은 적어도 전술한 아미노산 치환이 행해져 있으면 되고, 동시에 다른 아미노산의 치환, 결실, 부가 및/또는 삽입 등이 행해져 있어도 된다.
- [0085] 예를 들면, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 14번째의 Cys와 16번째의 Arg에 변이를 도입한 경우, 천연으로는 존재하지 않는 T-cell 에피토프 펩티드로 될 수 있는 9~12 아미노산의 새로운 펩티드 서열이 출현되어 버려 면역원성 리스크가 발생할 우려가 있다. 따라서, 전술한 아미노산 치환에 수반하여, 추가적으로 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu와 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser을 다른 아미노산으로 치환함으로써 천연으로 존재하지 않는 T-cell 에피토프 펩티드의 발현을 회피하는 것이 가능하다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 20번째의 Glu는 Gly로, 21번째의 Ser은 Gly로 치환되는 것이 바람직하다.
- [0086] 또한 본 발명은 Fc γ 수용체로의 결합활성이 저감된 IgG2 정상영역을 제공한다.
- [0087] 보다 구체적으로는, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 209번째(EU 330)의 Ala가 Ser로, 210번째(EU 331)의 Pro가 Ser로, 및/또는 218번째(EU 339)의 Thr이 Ala로 치환된 IgG2 정상영역을 제공한다. 209번째(EU 330)의 Ala, 210번째(EU 331)의 Pro의 치환에 의해 Fc γ 수용체로의 결합을 저하시키는 것이 가능한 것은 이미 보고되어 있으나(Eur J Immunol. 1999 Aug;29(8):2613-24.), 이 개변에서는 T-cell 에피토프가 될 수 있는 비인간 유래의 펩티드가 출현하기 때문에, 면역원성 리스크의 측면에서는 바람직하지 않다. 이에, 218번째(EU 339)의 Thr의 Ala로의 치환을 동시에 행함으로써, T-cell 에피토프가 될 수 있는 9~12 아미노산으로서는 인간 유래의 펩티드만을 사용한 상태로 IgG2의 Fc γ 수용체로의 결합을 저하시키는 것이 가능하다.
- [0088] 본 발명의 아미노산이 치환된 IgG2 정상영역은, 전술한 3개소의 아미노산 치환 중 1개소 이상의 아미노산이 치환되어 있으면 되나, 바람직하게는 전술한 3개소 모든 아미노산이 치환되어 있는 것이 바람직하다. 따라서, 본 발명의 아미노산이 치환된 IgG2 정상영역의 바람직한 태양으로서, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 209번째(EU 330)의 Ala가 Ser로 치환되고, 210번째(EU 331)의 Pro가 Ser로 치환되며, 또한 218번째(EU 339)의 Thr이 Ala로 치환된 IgG2 정상영역을 들 수 있다.
- [0089] 본 발명에 의해 제공되는 Fc γ 수용체로의 결합활성이 저감된 IgG2 정상영역은 적어도 전술한 아미노산 치환이 행해져 있으면 되고, 동시에 다른 아미노산의 치환, 결실, 부가 및/또는 삽입 등이 행해져 있어도 된다.
- [0090] 또한 본 발명은 C말단의 이질성이 개선된 IgG2 정상영역을 제공한다.
- [0091] 보다 구체적으로는, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 IgG2 정상영역을 제공한다. 이들의 아미노산을 양쪽 결손시킴으로써, 비로소 항체의 H사슬 C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 것이 가능하다.
- [0092] 본 발명에 의해 제공되는 C말단의 이질성이 개선된 IgG2 정상영역은 적어도 전술한 아미노산의 결실이 행해져 있으면 되고, 동시에 다른 아미노산의 치환, 결실, 부가 및/또는 삽입 등이 행해져 있어도 된다.
- [0093] 또한 본 발명은, 약물동태가 향상된 IgG2 정상영역을 제공한다.
- [0094] 보다 구체적으로는, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg, 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln이 다른 아미노산으로

치환된 IgG2 정상영역을 제공한다. 이들 아미노산 치환에 의해 항체의 약물동태를 향상시키는 것이 가능하다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His는 Gln으로 치환되는 것이 바람직하고, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg는 Gln으로 치환되는 것이 바람직하며, 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln은 Glu로 치환되는 것이 바람직하다. 본 발명의 아미노산이 치환된 IgG2 정상영역에는, 상기 3종류의 아미노산 치환 중 1종류 이상의 아미노산이 치환된 IgG2 정상영역이 포함되나, 상기 3종류 모든 아미노산이 치환되어 있는 것이 바람직하다.

- [0095] 또한 본 발명에서는, 산성에서의 안정성이 개선되고, 힌지영역의 이질성이 개선되며, 및/또는 Fc γ 수용체로의 결합활성이 저감된 IgG2의 바람직한 태양으로서 이하의 IgG2를 들 수 있다.
- [0096] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열로 되는 정상영역을 갖는 IgG2에 있어서, 209번째의 Ala, 210번째의 Pro, 218번째의 Thr, 276번째의 Met, 14번째의 Cys, 16번째의 Arg, 102번째의 Cys, 20번째의 Glu, 21번째의 Ser이 다른 아미노산으로 치환된 항체.
- [0097] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 209번째(EU 넘버링 330)의 Ala를 Ser, 210번째(EU 넘버링 331)의 Pro를 Ser, 218번째(EU 넘버링 339)의 Thr을 Ala, 276번째(EU 넘버링 397)의 Met를 Val, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 Ser, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로 치환하는 것이 바람직하다.
- [0098] 이러한 IgG2 정상영역의 예로서, 서열번호:4(M14)의 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역을 들 수 있다.
- [0099] 또한, 본 발명의 IgG2 정상영역의 다른 바람직한 태양으로서, 전술한 IgG2 정상영역에 있어서, C말단의 이질성을 저감시키기 위해 추가적으로 325번째의 Gly 및 326번째의 Lys가 결손된 IgG2 정상영역을 들 수 있다. 이러한 항체의 예로서, 서열번호:5(M14 Δ GK)의 아미노산 서열로 되는 정상영역을 갖는 IgG2를 들 수 있다.
- [0100] 또한 본 발명은 힌지영역의 이질성이 개선되고, 및/또는 Fc γ 수용체로의 결합활성이 저감된 IgG2의 바람직한 태양으로서 이하의 IgG2를 들 수 있다.
- [0101] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열로 되는 정상영역을 갖는 IgG2에 있어서, 209번째의 Ala, 210번째의 Pro, 218번째의 Thr, 14번째의 Cys, 16번째의 Arg, 102번째의 Cys, 20번째의 Glu, 21번째의 Ser이 다른 아미노산으로 치환된 항체.
- [0102] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 209번째(EU 넘버링 330)의 Ala를 Ser, 210번째(EU 넘버링 331)의 Pro를 Ser, 218번째(EU 넘버링 339)의 Thr을 Ala, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 Ser, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로 치환하는 것이 바람직하다.
- [0103] 이와 같은 IgG2 정상영역의 예로서, 서열번호:54(M86)의 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역을 들 수 있다.
- [0104] 또한, 본 발명의 IgG2 정상영역의 다른 바람직한 태양으로서, 전술한 IgG2 정상영역에 있어서, C말단의 이질성을 저감시키기 위해 추가적으로 325번째의 Gly 및 326번째의 Lys가 결손된 IgG2 정상영역을 들 수 있다. 이와 같은 항체의 예로서, 서열번호:55(M86 Δ GK)의 아미노산 서열로 되는 정상영역을 갖는 IgG2를 들 수 있다.
- [0105] 또한 본 발명은 산성에서의 안정성이 개선되고, 힌지영역의 이질성이 개선된 IgG2 정상영역의 바람직한 태양으로서 이하의 IgG2 정상영역을 들 수 있다.
- [0106] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 276번째의 Met, 14번째의 Cys, 16번째의 Arg, 102번째의 Cys, 20번째의 Glu, 21번째의 Ser이 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 정상영역.
- [0107] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 276번째(EU 넘버링 397)의 Met를 Val, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 Ser, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로 치환하는 것이 바람직하다. 이러한 IgG2 정상영역의 예로서, 서열번호:6(M31)의 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역을 들 수 있다.
- [0108] 또한, 본 발명의 IgG2 정상영역의 다른 바람직한 태양으로서, 전술한 IgG2 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째의 Gly 및 326번째의 Lys가 결손된 IgG2 정상영역을 들 수 있다. 이러한 항체의 예로서, 서열번호:7(M31 Δ GK)의 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역을 들 수 있다.
- [0109] 또한 본 발명은 힌지영역의 이질성이 개선된 IgG2 정상영역의 바람직한 태양으로서 이하의 IgG2 정상영역을 들

수 있다.

- [0110] 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 14번째의 Cys, 16번째의 Arg, 102번째의 Cys, 20번째의 Glu, 21번째의 Ser이 다른 아미노산으로 치환된 IgG2 정상영역.
- [0111] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 Ser, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로 치환하는 것이 바람직하다.
- [0112] 이와 같은 IgG2 정상영역의 예로서, 서열번호:56(M40)의 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역을 들 수 있다.
- [0113] 또한, 본 발명의 IgG2 정상영역의 다른 바람직한 태양으로서, 전술한 IgG2 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째의 Gly 및 326번째의 Lys가 결손된 IgG2 정상영역을 들 수 있다. 이와 같은 항체의 예로서, 서열번호:57(M40△GK)의 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역을 들 수 있다.
- [0114] 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys, 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu, 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg, 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln, 및 313번째(EU 넘버링 434번째)의 Asn이 다른 아미노산으로 치환되고, 또한 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역을 제공한다.
- [0115] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 14번째의 Cys는 Ser로, 16번째의 Arg는 Lys로, 102번째의 Cys는 Ser로, 20번째의 Glu는 Gly로, 21번째의 Ser은 Gly로, 147번째의 His는 Gln으로, 234번째의 Arg는 Gln으로, 298번째의 Gln은 Glu로 치환하는 것이 바람직하다.
- [0116] 구체적으로는 본 발명은 서열번호:35에 기재된 아미노산 서열을 갖는 정상영역(M58)을 제공한다.
- [0117] 본 발명은 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg, 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys, 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu, 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser, 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His, 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg 및 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln이 다른 아미노산으로 치환되고, 또한 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역을 제공한다.
- [0118] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 14번째의 Cys는 Ser로, 16번째의 Arg는 Lys로, 102번째의 Cys는 Ser로, 20번째의 Glu는 Gly로, 21번째의 Ser은 Gly로, 147번째의 His는 Gln으로, 234번째의 Arg는 Gln으로, 298번째의 Gln은 Glu로, 313번째의 Asn은 Ala로 치환되는 것이 바람직하다.
- [0119] 구체적으로는 본 발명은 서열번호:37에 기재된 아미노산 서열을 갖는 정상영역을 제공한다(M73).
- [0120] 이들의 항체 정상영역은, Fc γ 수용체로의 결합활성의 저하, 면역원성 리스크의 저감, 산성조건하에서의 안정성의 향상, 이질성의 저감, 약물동태의 향상 및/또는, IgG1 정상영역과 비교한 제제 중에서의 높은 안정성이라는 성질을 갖는, 최적화된 항체 정상영역이다.
- [0121] <아미노산 개변 IgG4>
- [0122] 본 발명은 산성에서의 안정성이 개선된 IgG4 정상영역을 제공한다.
- [0123] 보다 구체적으로는, 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역에 있어서, 289번째(EU 넘버링 409번째)의 Arg가 다른 아미노산으로 치환된 IgG4 정상영역을 제공한다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, Lys로의 치환인 것이 바람직하다. 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열에 있어서 277번째(EU 넘버링 409번째)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환함으로써, 항체의 산성조건하에서의 안정성을 향상시키는 것이 가능하다.
- [0124] 본 발명에 의해 제공되는 산성에서의 안정성이 개선된 IgG4 정상영역은 적어도 전술한 아미노산 치환이 행해져 있으면 되고, 동시에 다른 아미노산의 치환, 결실, 부가 및/또는 삽입 등이 행해져 있어도 된다.
- [0125] 또한 본 발명은 C말단의 이질성이 개선된 IgG4 정상영역을 제공한다.
- [0126] 보다 구체적으로는, 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역에 있어서, 326번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 327번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 IgG4 정상영역을 제공한다. 이들 아미노산을 양

쪽 결손시킴으로써, 비로소 항체의 H사슬 C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 것이 가능하다.

- [0127] 본 발명에 의해 제공되는 C말단의 이질성이 개선된 IgG4 정상영역은 적어도 전술한 아미노산 결손이 행해져 있으면 되고, 동시에 다른 아미노산의 치환, 결실, 부가 및/또는 삽입 등이 행해져 있어도 된다.
- [0128] 또한 본 발명은 산성에서의 안정성이 개선되고, 이질성이 개선되며, 및/또는 Fc γ 수용체로의 결합활성이 저감된 IgG4의 바람직한 태양으로서 이하의 정상영역으로 되는 IgG4를 들 수 있다.
- [0129] 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역에 있어서, 14번째의 Cys, 16번째의 Arg, 20번째의 Glu, 21번째의 Ser, 97번째의 Arg, 100번째의 Ser, 102번째의 Tyr, 103번째의 Gly, 104번째의 Pro, 105번째의 Pro, 113번째의 Glu, 114번째의 Phe, 115번째의 Leu, 및 289번째의 Arg가 다른 아미노산으로 치환되고, 또한 116번째의 Gly가 결손된 IgG4 정상영역.
- [0130] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser로, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys로, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly로, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로, 97번째(EU 넘버링 214)의 Arg를 Thr로, 100번째(EU 넘버링 217)의 Ser을 Arg로, 102번째(EU 넘버링 219)의 Tyr을 Ser로, 103번째(EU 넘버링 220)의 Gly를 Cys로, 104번째(EU 넘버링 221)의 Pro를 Val로, 105번째(EU 넘버링 222)의 Pro를 Glu로, 113번째(EU 넘버링 233)의 Glu를 Pro로, 114번째(EU 넘버링 234)의 Phe를 Val로, 115번째(EU 넘버링 235)의 Leu를 Ala로, 289번째(EU 넘버링 409)의 Arg를 Lys로 치환하는 것이 바람직하다.
- [0131] 이러한 IgG4 정상영역의 예로서, 서열번호:8(M11)의 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역을 들 수 있다.
- [0132] 또한, 본 발명의 IgG4 정상영역의 다른 바람직한 태양으로서, 전술한 IgG4 정상영역에 있어서, 추가적으로 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 IgG4 정상영역을 들 수 있다. 이러한 항체의 예로서, 서열번호:9(M11 Δ GK)의 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역을 들 수 있다.
- [0133] <아미노산 개변 IgG1>
- [0134] 본 발명은 C말단의 이질성이 개선된 IgG1 정상영역을 제공한다.
- [0135] 보다 구체적으로는 서열번호:1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역에 있어서, 329번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 330번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys가 결손된 IgG1 정상영역을 제공한다. 이들 아미노산을 양쪽 결손시킴으로써, 비로소 항체의 H사슬 C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 것이 가능하다.
- [0136] 또한 본 발명은, 약물동태가 향상된 IgG1 정상영역을 제공한다.
- [0137] 보다 구체적으로는 서열번호:1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역에 있어서, 317번째(EU 넘버링 434번째)의 Asn이 다른 아미노산으로 치환된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역을 제공한다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, Ala로의 치환이 바람직하다.
- [0138] 또한, 본 발명은 서열번호:36에 기재된 아미노산 서열로부터 329번째의 Gly 및 330번째의 Lys를 결손시킨 정상영역을 제공한다. 보다 구체적으로는 본 발명은 서열번호:43(M83)에 기재된 아미노산 서열을 갖는 정상영역을 제공한다(M83).
- [0139] 본 발명에 의해 제공되는 C말단의 이질성이 개선된 IgG1 정상영역은 적어도 전술한 아미노산 결손이 행해져 있으면 되고, 동시에 다른 아미노산의 치환, 결실, 부가 및/또는 삽입 등이 행해져 있어도 된다.
- [0140] 또한, 본 발명은 전술한 어느 하나에 기재된 항체 정상영역을 포함하는 항체를 제공한다. 본 발명의 항체는 전술한 항체 정상영역을 갖는 한, 항원의 종류, 항체의 유래 등은 한정되지 않고, 어떠한 항체여도 된다.
- [0141] 본 발명의 항체에는, 전술한 어느 하나에 기재된 아미노산 치환을 포함하는 항체의 수식물도 포함된다. 또한 항체의 유래로서는, 특별히 한정되지 않으나, 인간 항체, 마우스 항체, 랫트 항체, 토끼 항체 등을 들 수 있다. 또한, 본 발명의 항체는 키메라 항체, 인간화 항체, 완전 인간화 항체 등이어도 된다. 본 발명의 항체의 바람직한 태양으로서, 인간화 항체를 들 수 있다.
- [0142] 또한, 전술한 항체 정상영역 및/또는 전술한 항체 정상영역을 포함하는 항체분자는, 항체 유사 결합분자(scaffold 분자), 생리활성 펩티드, 결합 펩티드 등을 Fc 융합분자로서 결합시키는 것도 가능하다.
- [0143] 또한 본 발명의 항체에는, 전술한 어느 하나에 기재된 정상영역을 포함하는 항체라면 그 수식물도 포함된다.
- [0144] 항체의 수식물의 예로서는, 예를 들면, 폴리에틸렌글리콜(PEG)이나 세포장해성 물질 등의 각종 분자와 결합시킨

항체를 들 수 있다. 이러한 항체 수식물은, 본 발명의 항체에 화학적인 수식을 행함으로써 얻을 수 있다. 항체의 수식방법은 이 분야에 있어서 이미 확립되어 있다.

- [0145] 또한, 본 발명의 항체는 이중 특이성 항체(bispecific antibody)여도 된다. 이중 특이성 항체란, 상이한 에피토프를 인식하는 가변영역을 동일한 항체분자 내에 갖는 항체를 말하나, 당해 에피토프는 상이한 분자 중에 존재하고 있어도 되고, 동일한 분자 중에 존재하고 있어도 된다.
- [0146] 전술한 항체 정상영역은 임의의 항원에 대한 항체의 정상영역으로서 사용하는 것이 가능하고, 항원은 특별히 한정되지 않는다.
- [0147] 본 발명의 항체는, 예를 들면 이하와 같이 하여 취득하는 것이 가능하다. 본 발명의 항체를 취득하는 하나의 태양에 있어서는, 먼저, 항체의 정상영역에 있어서, 1 또는 복수의 아미노산 잔기를, 목적의 다른 아미노산으로 치환 또는 결손한다. 1 또는 복수의 아미노산 잔기를 목적의 다른 아미노산으로 치환하는 방법으로서, 예를 들면, 부위특이적 변이유발법(Hashimoto-Gotoh, T, Mizuno, T, Ogasahara, Y, and Nakagawa, M. (1995) An oligodeoxyribonucleotide-directed dual amber method for site-directed mutagenesis. *Gene* 152, 271-275, Zoller, MJ, and Smith, M.(1983) Oligonucleotide-directed mutagenesis of DNA fragments cloned into M13 vectors. *Methods Enzymol.* 100, 468-500, Kramer,W, Drutsa,V, Jansen,HW, Kramer,B, Pflugfelder,M, and Fritz,HJ(1984) The gapped duplex DNA approach to oligonucleotide-directed mutation construction. *Nucleic Acids Res.* 12, 9441-9456, Kramer W, and Fritz HJ(1987) Oligonucleotide-directed construction of mutations via gapped duplex DNA *Methods. Enzymol.* 154, 350-367, Kunkel,TA(1985) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 82, 488-492)을 들 수 있다. 그 방법을 사용하여, 항체의 정상영역의 목적하는 아미노산을 목적의 다른 아미노산으로 치환할 수 있다.
- [0148] 항체를 취득하기 위한 다른 태양으로서, 먼저, 당업자에게 주지의 방법에 의해, 목적의 항원에 결합하는 항체를 얻는다. 취득된 항체가 비인간 동물 항체라면, 인간화하는 것도 가능하다. 항체의 결합활성은 당업자에게 공지된 방법으로 측정할 수 있다. 이어서, 항체의 정상영역의 1 또는 복수의 아미노산 잔기를, 목적의 다른 아미노산으로 치환 또는 결손한다.
- [0149] 보다 구체적으로는, 본 발명은, 이하의 (a) 및 (b)의 공정을 포함하는 항체의 제조방법에 관한 것이다.
- [0150] (a) 정상영역 중의 1 또는 복수의 아미노산 잔기가 목적의 다른 아미노산으로 치환 또는 결손된 H사슬을 코딩하는 DNA, 및 L사슬을 코딩하는 DNA를 발현시키는 공정
- [0151] (b) 공정(a)의 발현산물을 회수하는 공정
- [0152] 본 발명의 제조방법에 있어서는, 먼저, 항체의 H사슬을 코딩하는 DNA로서, 정상영역 중의 1 또는 복수의 아미노산 잔기가 목적의 다른 아미노산으로 치환 또는 결손된 H사슬을 코딩하는 DNA, 및 항체의 L사슬을 코딩하는 DNA를 발현시킨다. 정상영역 중의 1 또는 복수의 아미노산 잔기가 목적의 다른 아미노산으로 치환 또는 결손된 H사슬을 코딩하는 DNA는, 예를 들면, 야생형의 H사슬을 코딩하는 DNA의 정상영역부분을 취득하고, 그 정상영역 중의 특정 아미노산을 코딩하는 코돈이 목적의 다른 아미노산을 코딩하도록, 적절히 치환을 도입함으로써 얻을 수 있다.
- [0153] 또한, 사전에, 야생형 H사슬의 정상영역 중의 1 또는 복수의 아미노산 잔기가 목적의 다른 아미노산으로 치환 또는 결손된 단백질질을 코딩하는 DNA를 설계하고, 그 DNA를 화학적으로 합성함으로써, 정상영역 중의 1 또는 복수의 아미노산 잔기가 목적의 다른 아미노산으로 치환 또는 결손된 H사슬을 코딩하는 DNA를 얻는 것도 가능하다.
- [0154] 아미노산 치환의 종류로서는, 이것에 한정되지 않으나, 본 명세서에 기재된 치환을 들 수 있다.
- [0155] 또한, 정상영역 중에 있어서, 1 또는 복수의 아미노산 잔기가 목적의 다른 아미노산으로 치환 또는 결손된 H사슬을 코딩하는 DNA는, 부분 DNA로 나누어 제조할 수 있다. 부분 DNA의 조합으로서, 예를 들면, 가변영역을 코딩하는 DNA와 정상영역을 코딩하는 DNA, 또는 Fab영역을 코딩하는 DNA와 Fc영역을 코딩하는 DNA 등을 들 수 있으나, 이들 조합에 한정되지 않는다. L사슬을 코딩하는 DNA도 또한, 마찬가지로 부분 DNA로 나누어 제조할 수 있다.
- [0156] 상기 DNA를 발현시키는 방법으로서, 이하의 방법을 들 수 있다. 예를 들면, H사슬 가변영역을 코딩하는 DNA와 함께 발현벡터에 삽입하여 H사슬 발현벡터를 구축한다. 마찬가지로, L사슬 가변영역을 코딩하는 DNA를, L사슬 정상영역을 코딩하는 DNA와 함께 발현벡터에 삽입하여 L사슬 발현벡터를 구축한다. 이들의 H사슬, L사슬의 유전

자를 단일 벡터에 삽입하는 것도 가능하다. 발현벡터로서는 예를 들면 SV40 virus based 벡터, EB virus based 벡터, BPV(파필로마바이러스) based 벡터 등을 사용할 수 있으나, 이들에 한정되지 않는다.

[0157] 이상의 방법으로 제작된 항체 발현벡터에 의해 숙주세포를 공형질전환한다. 숙주세포로서는 CHO세포(차이니스 햄스터 난소) 등 전술한 세포 외에도 대장균, 효모나 고초균 등의 미생물이나 동식물의 개체가 사용된다(Nature Biotechnology 25, 563-565 (2007), Nature Biotechnology 16, 773-777 (1998), Biochemical and Biophysical Research Communications 255, 444-450 (1999), Nature Biotechnology 23, 1159-1169 (2005), Journal of Virology 75, 2803-2809 (2001), Biochemical and Biophysical Research Communications 308, 94-100 (2003)). 또한, 형질전환에는 리포펙틴법(R. W. Malone et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 6077 (1989), P. L. Felgner et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 7413 (1987), 전기천공법, 인산칼슘법(F. L. Graham & A. J. van der Eb, Virology 52, 456-467(1973)), DEAE-Dextran법 등이 바람직하게 사용된다.

[0158] 항체의 제조에 있어서는, 다음으로, 공정(a)에서 얻어진 발현산물을 회수한다. 발현산물의 회수는, 예를 들면, 형질전환체를 배양한 후, 형질전환체의 세포 내 또는 배양액으로부터 분리함으로써 행할 수 있다. 항체의 분리, 정제에는, 원심분리, 유안분획, 염석, 한외여과, 1q, FcRn, 프로테인 A, 프로테인 G 칼럼, 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피 등의 방법을 적절히 조합시켜서 행할 수 있다.

[0159] <IgG2 정상영역의 산성조건하에 있어서의 안정성을 향상시키는 방법>

[0160] 또한 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열(IgG2)에 있어서, 276번째(EU 넘버링 397번째)의 Met를 다른 아미노산으로 치환하는 공정을 포함하는, 항체의 산성조건하에 있어서의 안정성을 향상시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 항체의 산성조건하에 있어서의 안정성을 향상시키는 방법은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열(IgG2)에 있어서 276번째(EU 넘버링 397번째)의 Met를 다른 아미노산으로 치환하는 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함하는 것이어도 된다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나 Val로의 치환이 바람직하다. 아미노산 치환의 방법은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.

[0161] <IgG2 정상영역의 힌지부분에 유래하는 이질성을 개선하는 방법>

[0162] 또한 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열(IgG2)에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정, 및/또는 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정을 포함하는, 항체의 이질성을 개선하는 방법에 관한 것이다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 14번째의 Cys는 Ser로, 16번째의 Arg는 Lys로, 102번째의 Cys는 Ser로 치환되는 것이 바람직하다. 본 발명의 항체의 이질성을 개선하는 방법은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열(IgG2)에 있어서, 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys를 치환하는 공정, 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg를 치환하는 공정, 및/또는 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys를 치환하는 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산을 포함하는 것이어도 된다. 아미노산 치환의 방법은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다. 치환되는 아미노산은 전술한 3개의 아미노산 모두가 치환되어도 되고, 1 또는 2(예를 들면 14번째와 102번째 등)의 아미노산이 치환되어도 된다.

[0163] <IgG2 정상영역의 C말단 아미노산 결손에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법>

[0164] 또한 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys를 결손시키는 공정을 포함하는, 항체의 이질성을 개선하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 항체의 이질성을 개선하는 방법은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys를 결손시키는 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함해도 된다. 아미노산 치환의 방법은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.

[0165] <IgG2 정상영역의 아미노산을 치환함으로써 약물동태를 향상시키는 방법>

[0166] 또한 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 147번째(EU 268)의 His, 234번째(EU 355)의 Arg 및/또는 298번째(EU 419)의 Gln을 다른 아미노산으로 치환하는 공정을 포함하는, 항체의 약물동태를 향상시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 약물동태를 향상시키는 방법은, 전술한 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함하는 것이어도 된다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않지만, 147번째(EU 268)의 His는 Gln으로, 234번째(EU 355)의 Arg는 Gln으로, 298번째(EU 419)의 Gln은 Glu로 치환되는 것이 바람

직하다.

- [0167] 또한 본 발명은, 서열번호:20 또는 서열번호:35(M58)의 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 313번째(EU 434)의 Asn을 다른 아미노산으로 치환하는 공정을 포함하는, 항체의 약물동태를 향상시키는 방법에 관한 것이다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, Ala로의 치환이 바람직하다. 본 발명의 약물동태를 향상시키는 방법은, 전술한 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함하는 것이어도 된다.
- [0168] <IgG1 정상영역의 아미노산을 치환함으로써 약물동태를 향상시키는 방법>
- [0169] 또한 본 발명은, 서열번호:1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역에 있어서, 317번째(EU 434)의 Asn을 다른 아미노산으로 치환하는 공정을 포함하는, 항체의 약물동태를 향상시키는 방법에 관한 것이다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, Ala로의 치환이 바람직하다. 본 발명의 약물동태를 향상시키는 방법은, 전술한 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함하는 것이어도 된다.
- [0170] 또한 본 발명은, 서열번호:1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역에 있어서, 317번째(EU 434)의 Asn을 다른 아미노산으로 치환하는 공정, 및 329번째(EU 446)의 Gly 및 330번째(EU 447)의 Lys를 결손하는 공정을 포함하는, 항체의 약물동태를 향상시키고, C말단 아미노산 결손에 유래하는 이질성을 경감하는 방법에 관한 것이다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, Ala로의 치환이 바람직하다. 본 발명의 약물동태를 향상시키는 방법은, 전술한 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함하는 것이어도 된다.
- [0171] <IgG2 정상영역의 인간 서열을 유지한 채로 Fc γ R로의 결합을 저감시키는 방법>
- [0172] 또한 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 209번째(EU 330)의 Ala를 Ser로 치환하는 공정, 210번째(EU 331)의 Pro를 Ser로 치환하는 공정, 및 218번째(EU 339)의 Thr을 Ala로 치환하는 공정을 포함하는, 항체의 Fc γ R로의 결합을 저감시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 항체의 Fc γ R로의 결합을 저감시키는 방법은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 209번째(EU 330)의 Ala를 Ser로 치환하는 공정, 210번째(EU 331)의 Pro를 Ser로 치환하는 공정, 및 218번째(EU 339)의 Thr을 Ala로 치환하는 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함하는 것이어도 된다. 아미노산 치환의 방법은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.
- [0173] 또한 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 하기에 기재된 공정을 포함하는, IgG2의 힌지부분에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법, 산성조건하에서의 안정성을 향상시키는 방법, C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법 및/또는 항체의 Fc γ R로의 결합을 저감시키는 방법에 관한 것이다(M14 Δ GK).
- [0174] (a) 서열번호:2의 209번째(EU 넘버링 330)의 Ala를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0175] (b) 서열번호:2의 210번째(EU 넘버링 331)의 Pro를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0176] (c) 서열번호:2의 218번째(EU 넘버링 339)의 Thr을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0177] (d) 서열번호:2의 276번째(EU 넘버링 397)의 Met를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0178] (e) 서열번호:2의 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0179] (f) 서열번호:2의 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0180] (g) 서열번호:2의 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0181] (h) 서열번호:2의 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0182] (i) 서열번호:2의 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0183] 및
- [0184] (j) 서열번호:2의 325번째의 Gly 및 326번째의 Lys(EU 넘버링 446 및 447)를 결손시키는 공정.
- [0185] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 209번째(EU 넘버링 330)의 Ala를 Ser, 210번째(EU 넘버링 331)의 Pro를 Ser, 218번째(EU 넘버링 339)의 Thr을 Ala, 276번째(EU 넘버링 397)의 Met를 Val, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 Ser, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로 치환하는 것이 바람직하다.

- [0186] 또한 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 하기에 기재된 공정을 포함하는, IgG2의 힌지부분에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법, C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법 및/또는 항체의 Fc γ R로의 결합을 저감시키는 방법에 관한 것이다(M86 Δ GK).
- [0187] (a) 서열번호:2의 209번째(EU 넘버링 330)의 Ala를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0188] (b) 서열번호:2의 210번째(EU 넘버링 331)의 Pro를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0189] (c) 서열번호:2의 218번째(EU 넘버링 339)의 Thr을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0190] (d) 서열번호:2의 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0191] (e) 서열번호:2의 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0192] (f) 서열번호:2의 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0193] (g) 서열번호:2의 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0194] (h) 서열번호:2의 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0195] 및
- [0196] (i) 서열번호:2의 325번째의 Gly 및 326번째의 Lys(EU 넘버링 446 및 447)을 결손시키는 공정.
- [0197] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 209번째(EU 넘버링 330)의 Ala를 Ser, 210번째(EU 넘버링 331)의 Pro를 Ser, 218번째(EU 넘버링 339)의 Thr을 Ala, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 Ser, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로 치환하는 것이 바람직하다.
- [0198] 본 발명의 방법은, 상기 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환이나 결손, 기타 공정을 포함하는 것이어도 된다. 아미노산의 치환이나 결손의 방법은 특별히 한정되는 것은 아니나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.
- [0199] 또한 본 발명은, 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 하기에 기재된 공정을 포함하는, IgG2의 힌지부분에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법, 산성조건하에서의 안정성을 향상시키는 방법, 및/또는 C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법에 관한 것이다(M31 Δ GK).
- [0200] (a) 서열번호:2의 276번째(EU 넘버링 397)의 Met를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0201] (b) 서열번호:2의 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0202] (c) 서열번호:2의 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0203] (d) 서열번호:2의 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0204] (e) 서열번호:2의 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0205] (f) 서열번호:2의 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0206] 및
- [0207] (g) 서열번호:2의 325번째의 Gly 및 326번째의 Lys(EU 넘버링 446 및 447)를 결손시키는 공정.
- [0208] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 276번째(EU 넘버링 397)의 Met를 Val, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 Ser, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로 치환하는 것이 바람직하다.
- [0209] 또한 본 발명은, 서열번호:20에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 하기에 기재된 공정을 포함하는, IgG2의 힌지부분에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법 및/또는 C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법에 관한 것이다(M40 Δ GK).
- [0210] (a) 서열번호:2의 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0211] (b) 서열번호:2의 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

- [0212] (c) 서열번호:2의 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0213] (d) 서열번호:2의 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0214] (e) 서열번호:2의 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,
- [0215] 및
- [0216] (f) 서열번호:2의 325번째의 Gly 및 326번째의 Lys(EU 넘버링 446 및 447)를 결손시키는 공정.
- [0217] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys, 102번째(EU 넘버링 219)의 Cys를 Ser, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로 치환하는 것이 바람직하다.
- [0218] 또한 본 발명은 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 하기에 기재된 공정을 포함하는, IgG2의 힌지부분에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법, 약물동태를 향상시키는 방법 및/또는 C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법에 관한 것이다(M58).
- [0219] (a) 서열번호:2의 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys를 Ser로 치환하는 공정,
- [0220] (b) 서열번호:2의 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg를 Lys로 치환하는 공정,
- [0221] (c) 서열번호:2의 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys를 Ser로 치환하는 공정,
- [0222] (d) 서열번호:2의 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu를 Gly로 치환하는 공정,
- [0223] (e) 서열번호:2의 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser을 Gly로 치환하는 공정,
- [0224] (f) 서열번호:2의 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His를 Gln으로 치환하는 공정,
- [0225] (g) 서열번호:2의 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg를 Gln으로 치환하는 공정,
- [0226] (h) 서열번호:2의 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln을 Glu로 치환하는 공정,
- [0227] (i) 서열번호:2의 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys를 결손시키는 공정.
- [0228] 또한 본 발명은 서열번호:2에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG2 정상영역에 있어서, 하기에 기재된 공정을 포함하는, IgG2의 힌지 부분에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법, 약물동태를 향상시키는 방법 및/또는 C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법에 관한 것이다(M73).
- [0229] (a) 서열번호:2의 14번째(EU 넘버링 131번째)의 Cys를 Ser로 치환하는 공정,
- [0230] (b) 서열번호:2의 16번째(EU 넘버링 133번째)의 Arg를 Lys로 치환하는 공정,
- [0231] (c) 서열번호:2의 102번째(EU 넘버링 219번째)의 Cys를 Ser로 치환하는 공정,
- [0232] (d) 서열번호:2의 20번째(EU 넘버링 137번째)의 Glu를 Gly로 치환하는 공정,
- [0233] (e) 서열번호:2의 21번째(EU 넘버링 138번째)의 Ser을 Gly로 치환하는 공정,
- [0234] (f) 서열번호:2의 147번째(EU 넘버링 268번째)의 His를 Gln으로 치환하는 공정,
- [0235] (g) 서열번호:2의 234번째(EU 넘버링 355번째)의 Arg를 Gln으로 치환하는 공정,
- [0236] (h) 서열번호:2의 298번째(EU 넘버링 419번째)의 Gln을 Glu로 치환하는 공정,
- [0237] (i) 서열번호:2의 313번째(EU 넘버링 434번째)의 Asn을 Ala로 치환하는 공정,
- [0238] (j) 서열번호:2의 325번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 326번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys를 결손시키는 공정.
- [0239] 본 발명의 방법은, 상기 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환이나 결손, 기타 공정을 포함하는 것이어도 된다. 아미노산의 치환이나 결손의 방법은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.
- [0240] <IgG4 정상영역의 산성조건하에 있어서의 안정성을 향상시키는 방법>
- [0241] 본 발명은 또한, 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역(Mol Immunol. 1993 Jan;30(1):105-

8.)에 있어서, 289번째(EU 넘버링 409번째)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정을 포함하는, 항체의 산성 조건하에 있어서의 안정성을 향상시키는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 항체의 산성조건하에 있어서의 안정성을 향상시키는 방법은, 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열(인간 IgG4 정상영역)에 있어서 289번째(EU 넘버링 409번째)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함해도 된다. 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, Lys로의 치환이 바람직하다. 아미노산 치환의 방법은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.

[0242] <IgG4 정상영역의 C말단 아미노산 결손에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법>

[0243] 또한 본 발명은, 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역(Mol Immunol. 1993 Jan;30(1):105-8.)에 있어서, 326번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 327번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys를 결손시키는 공정을 포함하는, 항체의 이질성을 개선하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 이질성을 개선하는 방법은, 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역에 있어서, 327번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys 및/또는 326번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly를 결손시키는 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환을 포함해도 된다. 아미노산 치환의 방법은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.

[0244] 또한 본 발명은, 서열번호:3에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG4 정상영역에 있어서, 하기에 기재된 공정을 포함하는, IgG4의 산성조건하에서의 안정성을 향상시키는 방법, C말단에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법, 항체의 Fc γ R로의 결합을 저감시키는 방법에 관한 것이다(M11 Δ GK).

[0245] (a) 서열번호:3의 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0246] (b) 서열번호:3의 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0247] (c) 서열번호:3의 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0248] (d) 서열번호:3의 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0249] (e) 서열번호:3의 97번째(EU 넘버링 214)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0250] (f) 서열번호:3의 100번째(EU 넘버링 217)의 Ser을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0251] (g) 서열번호:3의 102번째(EU 넘버링 219)의 Tyr을 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0252] (h) 서열번호:3의 103번째(EU 넘버링 220)의 Gly를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0253] (i) 서열번호:3의 104번째(EU 넘버링 221)의 Pro를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0254] (j) 서열번호:3의 105번째(EU 넘버링 222)의 Pro를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0255] (k) 서열번호:3의 113번째(EU 넘버링 233)의 Glu를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0256] (l) 서열번호:3의 114번째(EU 넘버링 234)의 Phe를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0257] (m) 서열번호:3의 115번째(EU 넘버링 235)의 Leu를 다른 아미노산으로 치환하는 공정,

[0258] (n) 서열번호:3의 116번째(EU 넘버링 236)의 Gly를 결손하는 공정,

[0259] (o) 서열번호:3의 289번째(EU 넘버링 409)의 Arg를 다른 아미노산으로 치환하는 공정, 및

[0260] (p) 서열번호:3의 326번째(EU 넘버링 446)의 Gly 및 327번째(EU 넘버링 447)의 Lys를 결손시키는 공정.

[0261] 치환 후의 아미노산은 특별히 한정되지 않으나, 14번째(EU 넘버링 131)의 Cys를 Ser로, 16번째(EU 넘버링 133)의 Arg를 Lys로, 20번째(EU 넘버링 137)의 Glu를 Gly로, 21번째(EU 넘버링 138)의 Ser을 Gly로, 97번째(EU 넘버링 214)의 Arg를 Thr로, 100번째(EU 넘버링 217)의 Ser을 Arg로, 102번째(EU 넘버링 219)의 Tyr을 Ser로, 103번째(EU 넘버링 220)의 Gly를 Cys로, 104번째(EU 넘버링 221)의 Pro를 Val로, 105번째(EU 넘버링 222)의 Pro를 Glu로, 113번째(EU 넘버링 233)의 Glu를 Pro로, 114번째(EU 넘버링 234)의 Phe를 Val로, 115번째(EU 넘버링 235)의 Leu를 Ala로, 289번째(EU 넘버링 409)의 Arg를 Lys로 치환하는 것이 바람직하다.

[0262] 본 발명의 방법은, 상기 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산 치환이나 결손, 기타 공정을 포함하는 것이어도 된다. 아미노산의 치환이나 결손의 방법은 특별히 한정되는 것은 아니나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.

- [0263] <IgG1 정상영역의 C말단 아미노산 결손에 유래하는 이질성을 저감시키는 방법>
- [0264] 또한 본 발명은, 서열번호:1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역에 있어서, 329번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly 및 330번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys를 결손시키는 공정을 포함하는, 항체의 이질성을 개선하는 방법에 관한 것이다. 본 발명의 항체의 이질성을 개선하는 방법은, 서열번호:1에 기재된 아미노산 서열을 갖는 IgG1 정상영역에 있어서, 330번째(EU 넘버링 447번째)의 Lys 및 329번째(EU 넘버링 446번째)의 Gly를 결손시키는 공정을 포함하는 한, 다른 아미노산을 포함해도 된다. 아미노산 치환의 방법은 특별히 한정되지 않으나, 예를 들면 전술한 부위특이적 변이유발법이나 실시예에 기재된 방법에 의해 행할 수 있다.
- [0265] 전술한 항체 정상영역은 특별히 한정되지 않아, 어떠한 항체에 사용해도 되나, 본 발명의 정상영역을 사용한 항체의 예로서 예를 들면 이하의 항체를 들 수 있다.
- [0266] (a) 서열번호:48((VH4-M73)의 아미노산 서열을 갖는 중쇄),
- [0267] (b) 서열번호:46((VH3-M73)의 아미노산 서열을 갖는 중쇄),
- [0268] (c) 서열번호:44((VH5-M83)의 아미노산 서열을 갖는 중쇄),
- [0269] (d) 서열번호:49((VL1-kappa)의 아미노산 서열을 갖는 경쇄),
- [0270] (e) 서열번호:47((VL3-kappa)의 아미노산 서열을 갖는 경쇄),
- [0271] (f) 서열번호:45((VL5-kappa)의 아미노산 서열을 갖는 경쇄),
- [0272] (g) (a)의 중쇄와 (d)의 경쇄를 포함하는 항체(FV3-M73),
- [0273] (h) (b)의 중쇄와 (e)의 경쇄를 포함하는 항체(FV4-M73),
- [0274] (i) (c)의 중쇄와 (f)의 경쇄를 포함하는 항체(FV5-M83).
- [0275] <항체를 포함하는 의약 조성물>
- [0276] 본 발명은 본 발명의 항체를 포함하는, 의약 조성물을 제공한다.
- [0277] 본 발명의 의약 조성물은, 항체에 더하여 의약적으로 허용 가능한 담체를 도입하고, 공지의 방법으로 제제화하는 것이 가능하다. 예를 들면, 물 또는 그 이외의 약학적으로 허용 가능한 용액과의 무균성용액, 또는 현탁액제의 주사제의 형태로 비경구적으로 사용할 수 있다. 예를 들면, 약리학상 허용되는 담체 또는 매체, 구체적으로는, 멸균수나 생리식염수, 식물유, 유화제, 현탁제, 계면활성제, 안정제, 향미제, 부형제, 비히클, 방부제, 결합제 등과 적절히 조합시켜서, 일반적으로 인정된 제약 실시예 요구되는 단위용량형태로 혼화함으로써 제제화하는 것이 생각된다. 이들 제제에 있어서의 유효성분량은 지시된 범위의 적당한 용량이 얻어지도록 하는 것이다.
- [0278] 주사를 위한 무균조성물은 주사용 증류수와 같은 비히클을 사용하여 통상의 제제 실시예에 따라 처방할 수 있다.
- [0279] 주사용 수용액으로서는, 예를 들면 생리식염수, 포도당이나 기타 보조약을 포함하는 등장액, 예를 들면 D-소르비톨, D-만노오스, D-만니톨, 염화나트륨을 들 수 있고, 적당한 용해보조제, 예를 들면 알코올, 구체적으로는 에탄올, 폴리알코올, 예를 들면 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌글리콜, 비이온성 계면활성제, 예를 들면 폴리소르베이트 80(TM), HCO-50과 병용해도 된다.
- [0280] 유성액으로서는 참기름, 대두유를 들 수 있고, 용해보조제로서 안식향산 벤질, 벤질알코올과 병용해도 된다. 또한 완충제, 예를 들면 인산염 완충액, 초산나트륨 완충액, 무통화제, 예를 들면, 염산프로카인, 안정제, 예를 들면 벤질알코올, 페놀, 산화방지제와 배합해도 된다. 조제된 주사액은 통상, 적당한 앰플에 충전시킨다.
- [0281] 투여는 바람직하게는 비경구투여이고, 구체적으로는, 주사제형, 경비투여제형, 경폐투여제형, 경피투여형 등을 들 수 있다. 주사제형의 예로서는, 예를 들면, 정맥 내 주사, 근육 내 주사, 복강 내 주사, 피하 주사 등에 의해 전신 또는 국부적으로 투여할 수 있다.
- [0282] 또한, 환자의 연령, 증상에 따라 적절히 투여방법을 선택할 수 있다. 항체 또는 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 의약 조성물의 투여량으로서는, 예를 들면, 1회에 대해 체중 1 kg당 0.0001 mg~1000 mg의 범위에서 선택하는 것이 가능하다. 또는, 예를 들면, 환자당 0.001~100000 mg/body의 범위에서 투여량을 선택할 수 있으나, 이들의 수치에 반드시 제한되지는 않는다. 투여량, 투여방법은, 환자의 체중이나 연령, 증상 등에 따라 변동되나, 당업자라면 적절히 선택하는 것이 가능하다.

[0283] 본 명세서에서 사용되고 있는 아미노산의 세글자 표기와 한글자 표기의 대응은 이하와 같다.

[0284] 알라닌:Ala:A

[0285] 아르기닌:Arg:R

[0286] 아스파라긴:Asn:N

[0287] 아스파라긴산:Asp:D

[0288] 시스테인:Cys:C

[0289] 글루타민:Gln:Q

[0290] 글루탐산:Glu:E

[0291] 글리신:Gly:G

[0292] 히스티딘:His:H

[0293] 이소류신:Ile:I

[0294] 류신:Leu:L

[0295] 리신:Lys:K

[0296] 메티오닌:Met:M

[0297] 페닐알라닌:Phe:F

[0298] 프롤린:Pro:P

[0299] 세린:Ser:S

[0300] 트레오닌:Thr:T

[0301] 트립토판:Trp:W

[0302] 티로신:Tyr:Y

[0303] 발린:Val:V

[0304] 또한 본 명세서에 있어서 인용된 모든 선행기술문헌은, 참조로서 본 명세서에 포함된다.

[0305] 실시예

[0306] 이하, 본 발명을 실시예에 의해 더욱 구체적으로 설명하나 본 발명은 이들 실시예에 제한되는 것은 아니다.

[0307] [실시예 1] IgG2 및 IgG4의 산성조건하에 있어서의 안정성의 향상

[0308] IgG2, IgG4화 인간화 IL-6 수용체 항체 발현 벡터의 제작·발현

[0309] Fc γ 수용체로의 결합성을 저하시키기 위해 인간화 항인간 IL-6 수용체 항체인 인간화 PM1 항체(Cancer Res. 1993 Feb 15;53(4):851-6)의 정상영역은 IgG1 아이소타입이나, 정상영역을 IgG2로 치환한 분자(WT-IgG2, 서열번호:13), 및 IgG4(Mol Immunol. 1993 Jan;30(1):105-8.)로 치환한 분자(WT-IgG4, 서열번호:14)를 제작하였다. IgG의 발현에는 동물세포 발현용 벡터를 사용하였다. 참고예 1에서 사용하고 있는 인간화 PM1 항체(IgG1)의 정상영역부분의 NheI/NotI 소화와 ligation에 의해 정상영역을 IgG2 또는 IgG4로 치환한 발현 벡터를 구축하였다. 각 DNA 단편의 염기서열은, BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems)를 사용하여, DNA 시퀀서 ABI PRISM 3730xL DNA Sequencer 또는 ABI PRISM 3700 DNA Sequencer(Applied Biosystems)로, 첨부 설명서 기재의 방법에 따라 결정하였다. L사슬로서 WT(서열번호:15)를 사용하고, WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4의 발현은 이하의 방법으로 실시하였다. 인간 태아 신장암 세포 유래 HEK 293H주(Invitrogen)를 10% Fetal Bovine Serum(Invitrogen)을 포함하는 DMEM배지(Invitrogen)로 현탁하고, 5×10^5 개/mL의 세포밀도로 접착세포용 디쉬(직경 10 cm, CORNING)의 각 디쉬에 10 mL씩 파종하여 CO₂ 인큐베이터(37℃, 5% CO₂) 내에서 하루 배양한 후에, 배지를 흡인 제거하고, CHO-S-SFM-II(Invitrogen)배지 6.9 mL를 첨가하였다. 조제한 플라스미드 DNA 혼합액(합계 13.8 μ g)을 1 μ g/mL Polyethylenimine(Polysciences Inc.) 20.7 μ L와 CHO-S-SFMII배지 690 μ L를 혼

합하여 실온에서 10분간 정치한 것을 각 디쉬의 세포로 투입하고, 4~5시간, CO₂ 인큐베이터(37℃에서 5% CO₂) 내에서 인큐베이트하였다. 그 후, CHO-S-SFM-II(Invitrogen)배지 6.9 mL를 첨가하고, 3일간 CO₂ 인큐베이터 내에서 배양하였다. 배양상청을 회수한 후, 원심분리(약 2000 g, 5분간, 실온)하여 세포를 제거하고, 추가적으로 0.22 μ m 필터 MILLEX^(R)-GV(Millipore)를 통과시켜 멸균하였다. 그 샘플은 사용할 때까지 4℃에서 보존하였다.

[0310] (1) 인간화 PM1 항체(PM-1 VH+IgG1) H사슬:서열번호:12(아미노산 서열)

[0311] (2) 인간화 PM-1 VH+IgG2 H사슬:서열번호:13(아미노산 서열)

[0312] (3) 인간화 PM-1 VH+IgG4 H사슬:서열번호:14(아미노산 서열)

[0313] WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4의 프로테인 A 염산 용출에 의한 정제

[0314] 얻어진 배양상청에 TBS 중에 현탁시킨 50 μ L의 rProtein A SepharoseTM Fast Flow(Amersham Biosciences)를 첨가하고, 4℃에서 4시간 이상 전도혼화(轉倒混和)하였다. 그 용액을 0.22 μ m의 필터컵 Ultrafree^(R)-MC(Millipore)에 옮기고, TBS 500 μ L로 3회 세정 후, rProtein A SepharoseTM 수지에 100 μ L의 10 mM HCl, 150 mM NaCl, pH 2.0으로 현탁하고 2분간 정치한 후, 항체를 용출시켰다(염산 용출법). 바로, 6.7 μ L의 1.5 M Tris-HCl, pH 7.8을 첨가하여 중화하였다. 용출은 2회 행하여, 200 μ L의 정제 항체를 얻었다.

[0315] 염산 용출법에 의해 정제한 WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4의 겔 여과 크로마토그래피 분석

[0316] 염산 용출법에 의해 얻어진 정제품의 회합체 함량을 평가하기 위해 겔 여과 크로마토그래피 분석을 행하였다.

[0317] 회합체 평가법: 시스템 Waters Alliance

[0318] 칼럼 G3000SWx1(TOSOH)

[0319] 이동상 50 mM sodium phosphate, 300 mM KCl, pH 7.0

[0320] 유속 · 파장 0.5 ml/min, 220 nm

[0321] 결과를 도 1에 나타내었다. WT-IgG1의 정제 후의 회합체 함량은 2% 정도였던 것에 대해, WT-IgG2 및 WT-IgG4의 정제 후의 회합체 함량은 25% 정도였다. 이것으로부터, IgG1은 염산 용출시의 산에 대해 안정하나, IgG2 및 IgG4는 염산 용출시의 산에 대해 불안정하여 변형 · 회합화가 진행되었다고 생각되어, IgG2 및 IgG4는 IgG1과 비교하여 산성조건하에 있어서의 안정성이 낮은 것이 명백해졌다. IgG 분자의 정제에 있어서는, 프로테인 A가 다용되나, IgG 분자의 프로테인 A로부터의 용출은 산성조건하에서 행해진다. 또한 IgG 분자를 의약품으로서 개발하는데 있어서 필요한 바이러스 불활성화는, 일반적으로 산성조건하에 있어서 행해진다. 이들 사실로부터, IgG 분자의 산성조건하에 있어서의 안정성은 높은 것이 바람직하나, IgG2 및 IgG4 분자는 산성조건하에 있어서의 안정성이 IgG1보다도 떨어지는 것을 알 수 있어, 의약품으로서 개발하기 위해서는 산성조건하에서의 변성 · 회합화라는 과제가 존재하는 것이 처음으로 명백해졌다. 의약품으로서 개발하기 위해서는 변성 · 회합화라는 과제가 해결되는 것이 바람직하다고 생각되었으나, 지금까지 아미노산 치환에 의해 이것을 해결하는 방법은 보고되어 있지 않다.

[0322] WT-IgG2, WT-IgG4의 CH3 도메인 개변체의 제작과 평가

[0323] IgG2 및 IgG4 분자는 산성조건하에 있어서의 안정성이 IgG1보다도 떨어지는 것이 나타내어졌기 때문에, IgG2 및 IgG4 분자의 산성조건하에서의 안정성을 개선시키는 개변체를 검토하였다. IgG2 및 IgG4 분자의 정상영역의 모델로부터, 산성조건하에 있어서의 불안정요인으로서, CH3 도메인에 있어서의 CH3/CH3 계면의 불안정성이 생각되어, IgG2에 있어서는 EU 넘버링 397번째의 메티오닌, IgG4에 있어서는 EU 넘버링 409번째의 아르기닌이 각각 IgG2 및 IgG4의 CH3/CH3 계면을 불안정화하고 있다고 생각되었다. IgG1에 있어서는, EU 넘버링 397번째는 발린이고, 409번째는 리신인 것으로부터, IgG2의 EU 넘버링 397번째의 메티오닌을 발린으로 개변한 항체(IgG2-M397V 서열번호:16(아미노산 서열)), 및 IgG4의 EU 넘버링 409번째의 아르기닌을 리신으로 개변한 항체(IgG4-R409K 서열번호:17(아미노산 서열))를 제작하였다.

[0324] 목적의 항체의 발현벡터의 제작 · 발현 · 정제는, 전술한 염산 용출의 방법을 사용하여 행하였다. Protein A로부터의 염산 용출법에 의해 얻어진 정제품의 회합체 함량을 평가하기 위해 겔 여과 크로마토그래피 분석을 행하였다.

- [0325] 회합체 평가법: 시스템 Waters Alliance
- [0326] 칼럼 G3000SWx1(TOSOH)
- [0327] 이동상 50 mM sodium phosphate, 300 mM KCl, pH 7.0
- [0328] 유속 · 과장 0.5 ml/min, 220 nm
- [0329] 결과를 도 1에 나타내었다. WT-IgG1의 정제 후의 회합체 함량은 2% 정도였던 것에 대해, WT-IgG2 및 WT-IgG4의 정제 후의 회합체 함량은 25% 정도였다. 그것에 대해, CH3 도메인 개변체인 IgG2-M397V 및 IgG4-R409K의 회합체 함량이 IgG1과 동등 레벨인 2% 정도였다. IgG2의 EU 넘버링 397번째의 메티오닌을 발린으로 개변함으로써, 또는, IgG4의 EU 넘버링 409번째의 아르기닌을 리신으로 개변함으로써, IgG2 항체 및 IgG4 항체의 산성조건하에 있어서의 안정성을 향상시키는 것이 가능한 것이 명백해졌다. 정제 항체를 20 mM sodium acetate, 150 mM NaCl, pH 6.0의 용액에 대해 투석(EasySEP, TOMY)을 행하고, 약 0.1 mg/mL의 단백질 농도로, 40℃에서 100℃까지 1℃/min의 승온속도로 DSC 측정(열변성 중간온도, Tm값 측정)을 행하였다. WT-IgG2, WT-IgG4, IgG2-M397V 및 IgG4-R409K의 열변성 중간온도를 측정한 결과, WT-IgG2, WT-IgG4에 비해 IgG2-M397V, IgG4-R409K는 각각 개변을 도입한 CH3 도메인의 Tm값이 높은 것을 알 수 있었다. 이것으로부터, IgG2-M397V, IgG4-R409K는 각각 WT-IgG2, WT-IgG4에 비해 열안정성에 있어서도 우수한 것을 알 수 있었다.
- [0330] IgG2 및 IgG4는 단백질 A를 사용한 정제과정 및 바이러스 불활성화공정에 있어서 산성조건하에 폭로되는 것으로부터, 동일 공정에 있어서의 변성 · 회합화가 과제였으나, IgG2 및 IgG4의 정상영역 서열로서, IgG2-M397V 및 IgG4-R409K를 사용함으로써, 그 과제를 해결하는 것이 가능한 것이 명백해져, 동일 개변은 IgG2 및 IgG4 항체를 의약품으로서 개발하는데 있어서 매우 유용한 것을 알 수 있었다. 또한 IgG2-M397V 및 IgG4-R409K는 열안정성도 우수하다는 점으로부터도 유용하다는 것을 알 수 있었다.
- [0331] [실시에 2] IgG2의 디설피드 결합 유래의 이질성의 개선
- [0332] WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4의 단백질 A 초산 용출에 의한 정제
- [0333] 실시예 1에서 얻어진 배양상청에 TBS 중에 현탁시킨 50 μ L의 rProtein A Sepharose™ Fast Flow(Amersham Biosciences)를 첨가하고, 4℃에서 4시간 이상 전도혼화하였다. 그 용액을 0.22 μ m의 필터컵 Ultrafree^(R)-MC(Millipore)로 옮기고, TBS 500 μ L로 3회 세정 후, rProtein A Sepharose™ 수지에 100 μ L의 50 mM 초산나트륨 수용액, pH 3.3으로 현탁하여 2분간 정치한 후, 항체를 용출시켰다. 바로, 6.7 μ L의 1.5 M Tris-HCl, pH 7.8을 첨가하여 중화하였다. 용출은 2회 행하여, 200 μ L의 정제 항체를 얻었다.
- [0334] WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4의 양이온 교환 크로마토그래피(IEC) 분석
- [0335] 정제된 WT-IgG1, WT-IgG2, WT-IgG4의 균일성을 평가하기 위해 양이온 교환 크로마토그래피에 의한 분석을 행하였다.
- [0336] IEC 평가법: 시스템 Waters Alliance
- [0337] 칼럼 ProPac WCX-10(Dionex)
- [0338] 이동상 A : 25 mM MES-NaOH, pH 6.1
- [0339] B : 25 mM MES-NaOH, 250 mM Na-Acetate, pH 6.1
- [0340] 유속 · 과장 0.5 ml/min, 280 nm
- [0341] 그라디언트 B: 50%-75% (75min) WT-IgG1 분석시
- [0342] B: 30%-55% (75min) WT-IgG2, WT-IgG4 분석시
- [0343] 결과를 도 2에 나타내었다. WT-IgG1, WT-IgG4는 이온 교환 분석에서 싱글 피크였으나, WT-IgG2는 복수의 피크가 존재하고 있는 것을 알 수 있어, IgG2 분자는, IgG1이나 IgG4와 비교하여 이질성이 많은 것을 알 수 있었다. 실제로, IgG2의 아이소타입은, 힌지영역의 디설피드 결합에 유래하는 이질성(불균일성)이 보고되어 있어(비특허문헌 10), 도 2에 나타내어진 IgG2의 헤테로 피크도 이것에 유래하는 목적물질/관련물질이라고 생각된다. 목적물질/관련물질의 이질성의 제조간 차를 유지하면서 의약품으로서 대량으로 제조하는 것은 어려워, 의약품으로서 개발하는 항체분자는 바람직하게는 가능한 한 균일한(이질성이 적은) 물질인 것이 좋다. 따라서 야생형 IgG2는,

항체를 의약품으로서 개발하는데 있어서 중요한 균일성에 과제가 있다고 생각되었다. 실제로, US20060194280(A1)에 있어서, 천연형 IgG2는 이온 교환 크로마토그래피 분석에 있어서 디설피드 결합에 유래하는 다양한 헤테로 피크가 관찰되고 있어, 이들의 피크간에는 생물활성이 상이한 것도 보고되어 있다. 이 헤테로 피크를 단일화하는 방법으로서, US20060194280(A1)에 있어서는 정제공정에 있어서의 리폴딩이 보고되어 있으나, 제조에 있어서 이들의 공정을 사용하는 것은 비용이 들고 번잡하기 때문에, 바람직하게는 아미노산 치환에 의해 헤테로 피크를 단일화하는 방법이 바람직하다. 의약품으로서 개발하는데 있어서는 힌지영역의 디설피드 결합에 유래하는 이질성이 해결되는 것이 바람직하다고 생각되었으나, 지금까지 아미노산 치환에 의해 이것을 해결하는 방법은 보고되어 있지 않다.

[0344] WT-IgG2의 CH1 도메인, 힌지영역의 개변체의 제작과 평가

[0345] 도 3에 나타내는 바와 같이 IgG2 분자에 관해서는 다양한 디설피드 결합패턴이 생각된다. IgG2의 힌지영역에 유래하는 이질성의 원인으로, 디설피드 결합의 어긋남 및 프리 시스테인의 존재가 생각되었다. IgG2는 upper hinge영역에 2개의 시스테인을 갖고(EU 넘버링 219번째와 220번째, 이 upper hinge의 2개의 시스테인에 인접하는 시스테인으로서, H사슬의 CH1 도메인에 존재하는 EU 넘버링 131번째의 시스테인과 L사슬의 C말단 시스테인 및 이량화하는 상대 H사슬의 동일한 upper hinge의 2개의 시스테인을 들 수 있다. 즉, IgG2의 upper hinge 주변에는 H2L2가 회합한 상태에서는 합계 8개의 시스테인이 인접해 있고, 이것에 의해, 디설피드 결합의 어긋남 및 프리 시스테인에 의한 다양한 이질성이 존재하는 것이 생각된다.

[0346] IgG2의 힌지영역에 유래하는 이질성을 저감하는 것을 목적으로 IgG2의 힌지영역 서열과 CH1 도메인의 개변을 행하였다. IgG2에 있어서 디설피드 결합의 어긋남 및 프리 시스테인에 의한 이질성을 회피하기 위한 검토를 행하였다. 각종 개변체의 검토 결과, 야생형 IgG2 정상영역 서열 중, H사슬의 CH1 도메인에 존재하는 EU 넘버링 131번째의 시스테인과 133번째의 아르기닌을 각각 세린과 리신으로 개변하고, H사슬의 upper hinge에 존재하는 EU 넘버링 219번째의 시스테인을 세린으로 개변(이하, IgG2-SKSC)(IgG2-SKSC: 서열번호:18)함으로써, 열안정성을 저하시키지 않고 이질성을 회피하는 것이 가능하다고 생각되었다. 이것에 의해, IgG2-SKSC의 H사슬과 L사슬의 공유결합은, EU 넘버링 220번째의 시스테인과 L사슬 C말단의 시스테인으로 디설피드 결합에 의해 균일하게 형성된다고 생각된다(도 4).

[0347] IgG2-SKSC의 발현벡터의 제작, 발현, 정제는 참고예 1에서 기재한 방법으로 실시하였다. 정제된 IgG2-SKSC 및 야생형 IgG2(WT-IgG2)의 균일성을 평가하기 위해 양이온 교환 크로마토그래피에 의한 분석을 행하였다.

[0348] IEC 평가법: 시스템 Waters Alliance

[0349] 칼럼 ProPac WCX-10(Dionex)

[0350] 이동상 A : 25 mM MES-NaOH, pH 5.6

[0351] B : 25 mM MES-NaOH, 250 mM Na-Acetate, pH 5.6

[0352] 유속·과장 0.5 ml/min, 280 nm

[0353] 그라디언트 B : 50%-100% (75min)

[0354] 결과를 도 5에 나타내었다. 전술한 바와 같이, WT-IgG2는 복수의 피크가 존재하고 있으나, IgG2-SKSC는 싱글 피크로서 용출되는 것을 알 수 있었다. IgG2의 힌지영역의 디설피드 결합에 유래하는 이질성은, EU 넘버링 220번째의 시스테인과 L사슬 C말단의 시스테인으로 단일한 디설피드 결합을 형성하는 IgG2-SKSC의 개변을 도입함으로써 회피할 수 있는 것이 나타내어졌다. 또한, 실시예 1과 동일한 방법으로, WT-IgG1, WT-IgG2 및 IgG2-SKSC의 열변성 중간온도를 측정한 결과, WT-IgG2는 WT-IgG1에 비해 낮은 Tm값을 나타내는 Fab 도메인의 피크가 관찰되었으나, IgG2-SKSC에 있어서는 그 피크가 확인되지 않았다. 이것으로부터, IgG2-SKSC는 WT-IgG2와 비교하여 열안정성에 있어서도 우수한 것을 알 수 있었다.

[0355] 야생형 IgG2는, 항체를 의약품으로서 개발하는데 있어서 중요한 균일성에 과제가 있다고 생각되었으나, IgG2-SKSC를 IgG2의 정상영역 서열로서 사용함으로써, 이 과제를 해결하는 것이 가능한 것이 명백해져, IgG2를 의약품으로서 개발하는데 있어서 매우 유용한 것을 알 수 있었다. 또한 IgG2-SKSC는 열안정성도 우수하다는 점으로부터도 유용한 것을 알 수 있었다.

[0356] [실시예 3] IgG 분자의 C말단 이질성의 개선

[0357] WT-IgG1의 H사슬 C말단 Δ GK 항체의 발현벡터 구축

- [0358] 항체의 C말단 서열의 이질성으로서, C말단 아미노산의 리신 잔기의 결손 및 C말단의 2아미노산인 글리신, 리신의 결손에 의한 C말단 아미노기의 아미드화가 보고되어 있어(비특허문헌 12), 의약품으로서 개발하는데 있어서는 이들의 이질성은 존재하지 않는 것이 바람직하다. 실제로, 인간화 PM-1 항체인 TOCILIZUMAB에 있어서도, 그 주성분은 염기서열상 존재하는 C말단 아미노산의 리신이 번역 후 수식에 의해 결손된 서열이나, 리신이 잔존해 있는 부성분도 이질성으로서 존재한다. 이에, C말단 아미노산의 이질성을 저감시키는 것을 목적으로 C말단 아미노산의 개변을 행하였다. 구체적으로는, 야생형 IgG1의 H사슬 정상영역의 C말단의 리신 및 글리신을 염기서열상 사전에 결손시킴으로써, C말단의 2아미노산인 글리신, 리신의 결손에 의한 C말단 아미노기의 아미드화를 억제하는 것이 가능한지 여부를 검토하였다.
- [0359] 참고예 1에서 얻은 인간화 PM1 항체(WT)의 pB-CH 벡터를 사용해서 H사슬 C말단 서열에 변이를 도입하였다. QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit (Stratagene)를 사용해서, 첨부 설명서 기재의 방법으로 EU 넘버링 447번째의 Lys 및/또는 EU 넘버링 446번째의 Gly를 코딩하는 염기서열에 대해서, 이것을 중지 코돈으로 하는 변이를 도입하였다. 이것에 의해, C말단의 1아미노산인 리신(EU 넘버링 447)을 사전에 결손시킨 항체, C말단의 2아미노산인 글리신(EU 넘버링 446), 리신(EU 넘버링 447)을 사전에 결손시킨 항체의 발현벡터를 제작하였다. 인간화 PM1 항체의 L사슬과 발현시킴으로써 H사슬 C말단 Δ K 항체 및 H사슬 C말단 Δ GK 항체를 얻었다. 발현·정제는 참고예 1에서 기재한 방법으로 실시하였다.
- [0360] 정제한 H사슬 C말단 Δ GK 항체의 양이온 교환 크로마토그래피 분석을 이하와 같이 행하였다. 정제한 H사슬 C말단 Δ GK 항체를 사용해서 이하의 방법으로 양이온 교환 크로마토그래피에 의한 분석을 행하고, C말단 결손이 이질성에 미치는 영향을 평가하였다. 양이온 교환 크로마토그래피 분석조건은 이하와 같고, 인간화 PM1 항체, H사슬 C말단 Δ K 항체, H사슬 C말단 Δ GK 항체의 크로마토그램을 비교하였다.
- [0361] 칼럼: ProPac WXC-10(Dionex)
- [0362] 이동상: A: 25 mmol/L MES/NaOH, pH 6.1
- [0363] B: 25 mmol/L MES/NaOH, 250 mmol/L NaCl, pH 6.1
- [0364] 유속: 0.5 ml/min
- [0365] 그라디언트: 25% B(5 min)→(105 min)→67% B→(1 min)→100% B(5 min)
- [0366] 검출: 280 nm
- [0367] 미개변 인간화 PM-1 항체, H사슬 C말단 Δ K 및 H사슬 C말단 Δ GK 항체의 분석결과를 도 6에 나타낸다. 비특허문헌 10으로부터, 주 피크보다도 유지가 느린 염기성 피크에 H사슬 C말단 449번째의 Lys 잔존체, 447번째의 Pro 아미드체가 포함되나, H사슬 C말단 Δ K에서는 확인되지 않았던 염기성 피크의 대폭 감소가 H사슬 C말단 Δ GK 항체에서는 확인되었던 것으로부터, H사슬 C말단의 2아미노산을 결손시킴으로써 비로소 H사슬 C말단 이질성을 경감시키는 것이 가능하다고 알 수 있었다.
- [0368] H사슬 C말단의 2잔기의 결손이 미치는 열안정성으로의 영향을 평가하기 위해, DSC에 의한 H사슬 C말단 Δ GK 항체의 열변성 온도측정을 행하였다. DSC 측정용으로서 150 mM NaCl을 포함하는 20 mM 초산완충액, pH 6.0에 투석함으로써 완충액을 치환하였다. 인간화 PM1 항체, H사슬 C말단 Δ GK 항체 및 리퍼런스용액(투석외액)을 충분히 탈기한 후, 이들을 각각 열량계 셀에 봉입하여 40℃에서의 열평형화를 충분히 행하였다. 다음으로 DSC 주사를 40℃~100℃에서 약 1 K/분 주사속도로 행하였다. 얻어진 변성 피크에 대해서, 비특허문헌(Rodolfo등, Immunology Letters, 1999년, p47-52)을 참고로 피크 어사인을 행한 바, C말단 결손은 CH3 도메인의 열변성온도에 영향을 미치지 않는 것을 확인하였다.
- [0369] 이것에 의해, H사슬 정상영역 C말단의 리신 및 글리신을 염기서열상 사전에 결손시킴으로써, 항체의 열안정성에 영향을 미치지 않고, C말단 아미노산의 이질성을 저감시키는 것이 가능해졌다. 인간 항체 정상영역 IgG1, IgG2, IgG4에 있어서, C말단 서열은 모두 EU 넘버링 447번째가 Lys, EU 넘버링 446번째가 Gly가 되어 있는 것으로부터, 본건 등에서 발견된 C말단 아미노산의 이질성을 저감시키는 방법은 IgG2 정상영역과 IgG4 정상영역에도 적용 가능하다고 생각된다.
- [0370] [실시예 4] 신규 최적화 정상영역 M14 Δ GK 서열의 제작
- [0371] 항원을 중화하는 것이 목적인 항체 의약에 있어서는 Fc영역이 갖는 ADCC 등의 이펙터기능은 필요하지 않아, 따라서, Fc γ 수용체로의 결합은 불필요하다. 면역원성이나 부작용의 측면에서 Fc γ 수용체로의 결합은 바람직하

지 않을 가능성도 생각된다(비특허문헌 5, 6). 인간화 항IL-6 수용체 IgG1 항체인 TOCILIZUMAB은 IL-6 수용체에 특이적으로 결합하고, 그 생물학적 작용을 중화함으로써, 관절 류머티즘 등의 IL-6이 관련하는 질환의 치료제로서 이용 가능하여, Fc γ 수용체로의 결합은 불필요하다.

[0372] Fc γ 수용체 비결합의 최적화 정상영역 M14 Δ GK, M11 Δ GK, M17 Δ GK의 제작과 평가

[0373] Fc γ 수용체로의 결합을 저하시키는 방법으로서, IgG 항체의 아이소타입을 IgG1에서 IgG2 또는 IgG4 아이소타입으로 바꾸는 방법을 생각할 수 있다(Ann Hematol. 1998 Jun;76(6):231-48.). Fc γ 수용체로의 결합을 완전히 없애는 방법으로서, 인공적인 개변을 Fc영역에 도입하는 방법이 보고되어 있다. 예를 들면, 항CD3 항체나 항CD4 항체는 항체의 이펙터기능이 부작용을 야기하기 때문에, Fc영역의 Fc γ 수용체 결합부분에 야생형 서열에는 존재하지 않는 아미노산 변이(비특허문헌 3, 7)를 도입한 Fc γ 수용체 비결합형 항CD3 항체나 항CD4 항체의 임상시험이 현재 행해지고 있다(비특허문헌 5, 8). 또한, IgG1의 Fc γ R 결합부위(EU 넘버링:233, 234, 235, 236, 327, 330, 331번째)를 IgG2(EU 넘버링:233, 234, 235, 236) 및 IgG4(EU 넘버링:327, 330, 331번째)의 서열로 함으로써 Fc γ 수용체 비결합 항체를 제작하는 것이 가능하다고 보고되어 있다(특허문헌 3). 그러나, IgG1에 이들의 변이를 모두 도입하면, 천연에는 존재하지 않는 T-cell 에피토프 펩티드가 될 수 있는 9아미노산의 새로운 펩티드 서열이 출현하여 면역원성의 리스크가 높아질 것으로 생각된다. 의약품으로서 개발하는데 있어서는, 면역원성 리스크는 최대한 낮추는 것이 바람직하다.

[0374] 전술한 과제를 해결하기 위해, IgG2의 정상영역으로의 개변을 검토하였다. IgG2의 정상영역은 Fc γ R 결합부위 중 EU 넘버링:233, 234, 235, 236이 비결합형이나, Fc γ R 결합부위 중 EU 넘버링:327, 330, 331번째는 비결합형 IgG4와는 상이한 서열이기 때문에, EU 넘버링:327, 330, 331번째의 아미노산을 IgG4의 서열로 개변할 필요가 있다(Eur J Immunol. 1999 Aug;29(8):2613-24에 있어서의 G2 Δ a). 그러나, IgG4는 EU 넘버링:339번째의 아미노산이 알라닌인 것에 대해, IgG2는 트레오닌이기 때문에, EU 넘버링:327, 330, 331번째의 아미노산을 IgG4의 서열로 개변한 것 만으로는 천연에는 존재하지 않는 T-cell 에피토프 펩티드가 될 수 있는 9아미노산의 새로운 펩티드 서열이 출현해버려, 면역원성 리스크가 발생한다. 이에, 전술한 개변에 더하여 새롭게 IgG2의 EU 넘버링:339번째의 트레오닌을 알라닌으로 개변함으로써, 새로운 펩티드 서열의 출현을 방지하는 것이 가능한 것을 발견하였다.

[0375] 이들 변이에 더하여, 실시예 1에서 발견한 IgG2 산성조건하에서의 안정성을 향상시키는 IgG2의 EU 넘버링 397번째의 메티오닌으로부터 발린으로의 변이, 실시예 2에서 발견된 힌지영역의 디설피드 결합에 유래하는 이질성을 개선시키는 EU 넘버링 131번째의 시스테인으로부터 세린으로의 변이, 133번째의 아르기닌으로부터 리신으로의 변이, 219번째의 시스테인으로부터 세린으로의 변이를 도입하였다. 또한 131번째와 133번째의 변이 도입에 수반하여 천연에는 존재하지 않는 T-cell 에피토프 펩티드가 될 수 있는 9아미노산의 새로운 펩티드 서열이 출현해버려 면역원성 리스크가 발생하는 것으로부터, EU 넘버링 137번째의 글루타민산으로부터 글리신으로의 변이, 138번째의 세린으로부터 글리신으로의 변이를 도입함으로써, 131번째에서 139번째 부근의 펩티드 서열을 천연에 존재하는 인간 서열과 동일한 것으로 하였다. 또한, C말단에 유래하는 이질성을 저감시키기 위해 H사슬 C말단의 EU 넘버링 446, 447번째의 글리신 및 리신을 결손시켰다. 이들의 변이를 모두 도입한 정상영역 서열을 M14 Δ GK로 한(M14 Δ GK: 서열번호:5). M14 Δ GK는 T-cell 에피토프 펩티드가 될 수 있는 9아미노산의 새로운 펩티드 서열로서 219번째의 시스테인으로부터 세린으로의 변이를 도입한 1개소가 존재하나, 시스테인과 세린은 아미노산 서열로서의 성질이 비슷한 것으로부터 면역원성 리스크는 매우 작다고 생각되어, TEPITOPE에 의한 면역원성 예측에 있어서도 면역원성의 변화는 확인되지 않았다.

[0376] 가변영역 서열로서 WT를 갖고, 정상영역 서열로서 M14 Δ GK를 갖는 H사슬 항체 서열(M14 Δ GK: 서열번호:5, WT-M14 Δ GK: 서열번호:19)의 발현벡터를 참고예 1에 기재된 방법으로 제작하고, H사슬로서 WT-M14 Δ GK, L사슬로서 WT를 사용하여 참고예 1에 기재한 방법으로 발현·정제하였다.

[0377] 또한, 동일한 방법으로, IgG4 정상영역에 Fc γ 수용체로의 결합을 저하시키기 위해 EU 넘버링:233, 234, 235, 236번째에 변이를 도입하고(Eur J Immunol. 1999 Aug;29(8):2613-24)에 있어서의 G4 Δ b, 이 개변에 있어서는 새로운 비인간 서열이 생기기 때문에 면역원성 리스크가 상승한다), 면역원성 리스크를 저감시키기 위해 전술한 개변에 더하여 힌지영역의 디설피드 결합양식을 M14 Δ GK와 동일하게 하기 위해 EU 넘버링:131, 133, 137, 138, 214, 217, 219, 220, 221, 222번째에 변이를 도입하고, 추가적으로 산성조건하에서의 안정성을 향상시키기 위해 EU 넘버링 409번째에 변이를 도입하고(실시예 1), C말단의 이질성을 저하시키기 위해 EU 넘버링 446번째와 447번째를 결손시킨(실시예 3) WT-M11 Δ GK(M11 Δ GK:서열번호:8, WT-M11 Δ GK:서열번호:21)의 발현벡터를 제작하였다.

- [0378] 또한, IgG1 정상영역에 Fc γ 수용체로의 결합을 저하시키기 위해 EU 넘버링:233, 234, 235, 236, 327, 330, 331, 339번째에 변이를 도입하고(Eur J Immunol. 1999 Aug;29(8):2613-24에 있어서의 G1 Δ ab), 또한 C말단의 이질성을 저하시키기 위해 EU 넘버링 446번째와 447번째를 결손시킨(실시예 3) WT-M17 Δ GK(M17 Δ GK:서열번호:10, WT-M17 Δ GK:서열번호:20)를 제작하였다.
- [0379] H사슬로서 WT-M17 Δ GK 또는 WT-M11 Δ GK, L사슬로서 WT를 사용하여 실시예 1에 기재한 방법으로 발현·정제하였다.
- [0380] WT-M14 Δ GK, WT-M17 Δ GK, WT-M11 Δ GK의 Fc γ 수용체 결합성의 평가
- [0381] Fc γ RI으로의 결합 평가는 이하와 같이 행하였다. Biacore T100을 사용하여, 센서칩에 고정화한 인간 유래 Fc γ receptor I(이하, Fc γ RI)과, 애널리타로서 사용한 IgG1, IgG2, IgG4, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK 7을 상호작용시켜서, 그 결합량을 비교하였다. 인간 유래의 Fc γ RI로서는 Recombinant Human FcRIA/CD64(R&D systems)를 사용하고, 샘플로서 IgG1, IgG2, IgG4, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK를 사용하여 측정을 행하였다. 아민 커플링법에 의해 센서칩 CM5(BIACORE)에 Fc γ RI을 고정화하였다. 최종적인 Fc γ RI의 고정량은, 약 13000 RU(resonance units)였다. 러닝 버퍼로서 HBS-EP+를 사용하고, 유속은 20 μ L/min로 하였다. 샘플을 HBS-EP+를 사용하여 100 μ g/mL의 농도로 조정하였다. 분석은, 항체용액의 10 μ L를 인젝션하는 2분간을 결합상으로 하고, 그 후 HBS-EP+로 전환하여, 4분간 해리상으로 하였다. 해리상 종료 후, 2 μ L의 5 mM 수산화나트륨을 인젝션함으로써, 센서칩을 재생하였다. 이 결합·해리·재생을 분석의 1 사이클로 하고, 각종 항체용액을 인젝션하여, 센서그램을 얻었다. 애널리타는 각각 IgG4, IgG2, IgG1, M11, M14, M17의 순서로 흘러, 그것을 2회 반복하였다. 측정된 결합량 데이터를 비교한 결과를 도 7에 나타내었다. 그 결과, 결합량은 IgG1>IgG4>>IgG2=M11 Δ GK=M14 Δ GK=M17 Δ GK의 순서로 감소하고 있어, 야생형의 IgG2, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK는 야생형의 IgG1, IgG4보다도 Fc γ RI에 대해 결합이 약한 것이 명백해졌다.
- [0382] Fc γ RIIa로의 결합 평가는 이하와 같이 행하였다. Biacore T100을 사용하여, 센서칩에 고정화한 인간 유래 Fc γ receptor IIA(이하, Fc γ RIIa)와, 애널리타로서 사용한 IgG1, IgG2, IgG4, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK를 상호작용시켜, 그 결합량을 비교하였다. 인간 유래의 Fc γ RIIa로서는 Recombinant Human FcRIIA/CD32a(R&D systems)를 사용하고, 샘플로서 IgG1, IgG2, IgG4, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK를 사용하여 측정을 행하였다. 아민 커플링법에 의해 센서칩 CM5(BIACORE)에 Fc γ RIIa를 고정화하였다. 최종적으로 약 3300 RU의 Fc γ RIIa를 고정화하였다. 러닝 버퍼로서 HBS-EP+를 사용하고, 유속은 20 μ L/min로 하였다. 그 후, 베이스라인이 안정해질 때까지 러닝 버퍼를 흘리고, 측정은 베이스라인이 안정된 후에 행하였다. 고정화한 Fc γ RIIa에 대해, 애널리타로서 각 IgG 아이소타입(IgG1, IgG2, IgG4) 및 변이를 도입한 항체(M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK)를 상호작용시켜, 그 결합량을 관찰하였다. 러닝 버퍼에는 HBS-EP+를 사용하고, 유속은 20 μ L/min, 측정온도는 25 $^{\circ}$ C로 하였다. 각 IgG 및 개변체는 100 μ g/mL로 조정하고, 애널리타로서 20 μ L 흘러, 고정화한 Fc γ RIIa와 상호작용시켰다. 상호작용 후에는 200 μ L의 러닝 버퍼를 흘림으로써 Fc γ RIIa로부터 애널리타를 해리시키고, 센서칩을 재생시켰다. 애널리타는 각각 IgG4, IgG2, IgG1, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK의 순서로 흘리고, 그것을 2회 반복하였다. 측정된 결합량 데이터를 비교한 결과를 도 8에 나타내었다. 그 결과, 결합량은 IgG1>IgG2=IgG4>M11 Δ GK=M14 Δ GK=M17 Δ GK의 순서로 감소하고 있어, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK는 야생형의 IgG1, IgG2, IgG4의 어느 것보다도 Fc γ RIIa에 대해 결합이 약한 것이 명백해졌다.
- [0383] Fc γ RIIb로의 결합 평가는 이하와 같이 행하였다. Biacore T100을 사용하여, 센서칩에 고정화한 인간 유래 Fc γ receptor IIB(이하, Fc γ RIIb)와, 애널리타로서 사용한 IgG1, IgG2, IgG4, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK를 상호작용시켜서, 그 결합량을 비교하였다. 인간 유래의 Fc γ RIIb로서는 Recombinant Human FcRIIB/C(R&D systems)를 사용하고, 샘플로서 IgG1, IgG2, IgG4, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK를 사용하여 측정을 행하였다. 아민 커플링법에 의해 센서칩 CM5(BIACORE)에 Fc γ RIIb를 고정화하였다. 최종적으로 약 4300 RU의 Fc γ RIIb를 고정화하였다. 그 후, 베이스라인이 안정해질 때까지 러닝 버퍼를 흘리고, 측정은 베이스라인이 안정된 후에 행하였다. 고정화한 Fc γ RIIb에 대해, 애널리타로서 각 IgG 아이소타입(IgG1, IgG2, IgG4) 및 변이를 도입한 항체(M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK)를 상호작용시켜, 그 결합량을 관찰하였다. 러닝 버퍼에는 HBS-EP+를 사용하고, 유속은 20 μ L/min, 측정온도는 25 $^{\circ}$ C로 하였다. 각 IgG 및 개변체는 200 μ g/mL로 조정하고, 애널리타로서 20 μ L 흘러, 고정화한 Fc γ RIIb와 상호작용시켰다. 상호작용 후에는 200 μ L 러닝 버퍼를 흘림으로써 Fc γ RIIb로부터 애널리타를 해리시켜, 센서칩을 재생시켰다. 애널리타는 각각 IgG4, IgG2, IgG1, M11 Δ GK, M14 Δ GK, M17 Δ GK의 순서로 흘리고, 그것을 2회 반복하였다. 측정된 결합량 데이터를 비교한 결과를 도 9에 나타내었다. 그 결과, 결합량은 IgG4>IgG1>IgG2>M11 Δ GK=M14 Δ GK=M17 Δ GK의 순서로 감소하고 있어, M11 Δ GK, M14 Δ GK,

M17△GK는 야생형의 IgG1, IgG2, IgG4의 어느 것보다도 FcγRIIb에 대해 결합이 약한 것이 명백해졌다.

- [0384] FcγRIIa로의 결합 평가는 이하와 같이 행하였다. Biacore T100을 사용하여, 센서칩에 고정화한 인간 유래 Fcγ receptor IIIa(이하, FcγRIIIa)와, 애널라이트로서 사용한 IgG1, IgG2, IgG4, M11△GK, M14△GK, M17△GK를 상호작용시켜, 그 결합량을 비교하였다. 인간 유래의 FcγRIIIa로서는 hFcγRIIIaV-His6(재조합 hFcγRIIIaV-His6: 사내 조제품)를 사용하고, 샘플로서 IgG1, IgG2, IgG4, M11△GK, M14△GK, M17△GK를 사용하여 측정을 행하였다. 아민 커플링법에 의해 센서칩 CM5(BIACORE)에 FcγRIIIa를 고정화하였다. 최종적인 hFcγRIIIaV-His6의 고정량은, 약 8200 RU(resonance units)였다. 러닝 버퍼로서 HBS-EP+를 사용하고, 유속은 5 μL/min로 하였다. 샘플을, HBS-EP+를 사용하여 250 μg/mL의 농도로 조정하였다. 분석은, 항체용액의 10 μL를 인젝션하는 2분간을 결합상으로 하고, 그 후 HBS-EP+로 전환하여, 4분간의 해리상으로 하였다. 해리상 종료 후, 20 μL의 5 mM 염산을 인젝션함으로써, 센서칩을 재생하였다. 이 결합·해리·재생을 분석의 1 사이클로 하고, 각종 항체용액을 인젝션하여, 센서그램을 얻었다. 애널라이트는 각각 IgG4, IgG2, IgG1, M11△GK, M14△GK, M17△GK의 순서로 흘렸다. 측정된 결합량 데이터를 비교한 결과를 도 10에 나타내었다. 그 결과, 결합량은 IgG1>>IgG4>IgG2>M17△GK>M11△GK=M14△GK의 순서로 감소하고 있어, M11△GK, M14△GK, M17△GK는 야생형의 IgG1, IgG2, IgG4보다도 FcγRIIIa에 대해 결합이 약한 것이 명백해졌다. 또한, Eur J Immunol. 1999 Aug;29(8):2613-24에 보고되어 있는 G1ab의 변이를 포함하는 M17△GK와 비교하여, M11△GK, M14△GK가 더욱 약한 결합인 것이 명백해졌다.
- [0385] 이상으로부터, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 각종 Fcγ 수용체로의 결합은 야생형의 IgG1과 비교하여 현저히 저하되어 있는 것이 확인되었다. WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK를 정상영역으로서 사용함으로써, Fcγ 수용체를 매개로 한 APC로의 삽입에 유래하는 면역원성 리스크나 ADCC 등의 이펙터기능에 유래하는 부작용을 회피하는 것이 가능하며, 항원을 중화하는 것이 목적인 항체의약의 정상영역 서열로서 유용하다.
- [0386] WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 고농도 안정성 시험
- [0387] WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 고농도 제제에 있어서의 안정성의 평가를 행하였다. WT-IgG1, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 정제 항체를 20 mM histidine chloride, 150 mM NaCl, pH 6.5의 용액에 대해 투석(EasySEP, TOMY)을 행하고, 그 후 한외여과막에 의해 농축하여, 고농도 안정성 시험을 행하였다. 조건은 이하와 같다.
- [0388] 항체: WT-IgG1, WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK
- [0389] 완충액: 20 mM histidine chloride, 150 mM NaCl, pH 6.5
- [0390] 농도: 61 mg/mL
- [0391] 보존온도와 기간: 40℃-2W, 40℃-1M, 40℃-2M
- [0392] 회합체 평가법: 시스템 Waters Alliance
- [0393] 칼럼 G3000SWxl(TOSOH)
- [0394] 이동상 50 mM sodium phosphate, 300 mM KCl, pH 7.0
- [0395] 유속·과장 0.5 mL/min, 220 nm
- [0396] 샘플을 1/100로 희석하여 분석
- [0397] Initial(제제 조제 직후) 및 각 조건에서 보존 후의 제제의 회합체 함유량을 전술한 겔 여과 크로마토그래피법에 의해 평가하고, initial로부터 회합체 함량의 변화량에 대해 도 11에 나타내었다. 그 결과, WT-IgG1과 비교하여 WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK의 회합체 증가량은 낮고, WT의 회합체 증가량의 약 1/2이었다. 또한, 도 12에 나타내는 바와 같이 Fab 단편의 증가량에 관해서는, WT-IgG1과 WT-M17△GK는 동일 정도였으나, WT-M14△GK와 WT-M11△GK는 WT의 Fab 단편 증가량의 약 1/4이었다. IgG 타입의 항체 제제의 열화(劣化)경로로서, WO 2003/039485에 기재되어 있는 바와 같이, 회합체의 생성과 Fab 분해물의 생성을 주로 들 수 있다. WT-M14△GK와 WT-M11△GK는, WT-IgG1과 비교하여 회합체와 Fab 단편의 생성의 2개의 측면에서 제제적 안정성이 우수한 것이 발견되었다. 이것에 의해, IgG1 정상영역에서는 안정성이 충분하지 않아, 의약품으로서 개발 가능한 고농도 용액 제제가 만들어내지 못했던 항체에 있어서도, 정상영역으로서 WT-M14△GK, WT-M17△GK, WT-M11△GK를 사용하는 것이 보다 높은 안정성을 갖는 고농도 용액 제제가 제작 가능해진다고 생각되었다.

- [0398] 특히 M14△GK는, 본래 IgG2 분자가 갖는 산성조건하에서의 불안정성을 향상시키고, 힌지영역의 디설피드 결합에 유래하는 이질성을 개선하여, Fc γ 수용체에 결합하지 않고, T-cell 에피토프 펩티드가 될 수 있는 9아미노산의 새로운 펩티드 서열을 최소한으로 억제하며, 또한, 고농도 제제에 있어서의 안정성이 IgG1보다도 우수한 신규한 정상영역 서열로서 매우 유용할 것으로 생각되었다.
- [0399] [실시예 5] M31△GK의 제작과 평가
- [0400] 실시예 4에서 제작한 M14△GK에 대해, EU 넘버링: 330, 331, 339번째를 IgG2의 서열로 개변한 M31△GK를 제작하였다(M31△GK: 서열번호:7). 가변영역 서열로서 WT를 갖고, 정상영역 서열로서 M31△GK를 갖는 H사슬 항체 서열(WT-M31△GK: 서열번호:22)의 발현백터를 참고예 1에 기재된 방법으로 제작하고, H사슬로서 WT-M31△GK, L사슬로서 WT를 사용하여, WT-M31△GK를 참고예 1에 기재한 방법으로 발현·정제하였다.
- [0401] WT-M31△GK에 더하여, 동시에 발현·정제한 WT-IgG2 및 WT-M14△GK의 양이온 교환 크로마토그래피 분석을 이하고 같이 행하였다. 양이온 교환 크로마토그래피 분석조건은 이하와 같고, WT-IgG2, WT-M14△GK, WT-M31△GK의 크로마토그램을 비교하였다.
- [0402] 칼럼: ProPac WCX-10(Dionex)
- [0403] 이동상: A: 25 mmol/L MES/NaOH, pH 6.1
- [0404] B: 25 mmol/L MES/NaOH, 250 mmol/L NaCl, pH 6.1
- [0405] 유속: 0.5 mL/min
- [0406] 그라디언트: 0% B(5 min)→(65 min)→100% B→(1 min)
- [0407] 검출: 280 nm
- [0408] WT-IgG2, WT-M14△GK, WT-M31△GK의 분석결과를 도 13에 나타낸다. WT-IgG2는 복수의 피크가 존재하고 있으나, WT-M31△GK는 WT-M14△GK와 마찬가지로 싱글 피크로서 용출되는 것을 알 수 있었다. WT-M31△GK에 있어서도 IgG2의 힌지영역의 디설피드 결합에 유래하는 이질성은 회피할 수 있는 것이 나타내어졌다.
- [0409] [실시예 6] WT-M14의 혈장 중 체류성 평가
- [0410] 인간에 있어서의 혈장 중 체류성의 예측방법
- [0411] IgG 분자의 혈장 중 체류성이 긴(소실이 느린) 것은, IgG 분자의 셀비지 수용체(salvage receptor)로서 알려져 있는 FcRn이 기능하고 있기 때문이다(Nat Rev Immunol. 2007 Sep;7(9):715-25). 음세포작용(pinocytosis)에 의해 삼입된 IgG 분자는, 엔도솜 내의 산성조건하(pH 6.0 부근)에 있어서 엔도솜 내에 발현하고 있는 FcRn에 결합한다. FcRn에 결합할 수 없었던 IgG 분자는 리소솜으로 진행하여 리소솜으로 분해되나, FcRn으로 결합한 IgG 분자는 세포 표면으로 이행하여 혈장 중의 중성조건하(pH 7.4 부근)에 있어서 FcRn으로부터 해리됨으로써 다시 혈장 중으로 되돌아간다.
- [0412] IgG 타입의 항체로서, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4의 아이소타입이 알려져 있으나, 이들의 인간에서의 혈장 중 반감기는, IgG1, IgG2가 약 36일, IgG3가 약 29일, IgG4가 16일인 것이 보고되어 있어(Nat Biotechnol. 2007 Dec;25(12):1369-72.), IgG1 및 IgG2의 혈장 중 체류성이 가장 길다고 생각되고 있다. 일반적으로 항체의약의 아이소타입은 IgG1, IgG2, IgG4이나, 이들 IgG 항체의 약물동태를 더욱 향상시키는 방법으로서, IgG의 정상영역의 서열을 개변함으로써 전술한 인간 FcRn으로의 결합성을 향상시키는 방법이 보고되어 있다(J Biol Chem. 2007 Jan 19;282(3):1709-17, J Immunol. 2006 Jan 1;176(1):346-56).
- [0413] 마우스 FcRn과 인간 FcRn에서는 종차(種差)가 존재하는 것으로부터(Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Dec 5;103(49):18709-14), 정상영역의 서열을 개변한 IgG 항체의 인간에 있어서의 혈장 중 체류성을 예측하기 위해 서는, 인간 FcRn으로의 결합 평가 및 인간 FcRn 형질전환 마우스에 있어서 혈장 중 체류성을 평가하는 것이 바람직하다고 생각되었다(Int Immunol. 2006 Dec;18(12):1759-69).
- [0414] 인간 FcRn으로의 결합 평가
- [0415] FcRn은 FcRn과 β 2-microglobulin의 복합체이다. 공개되어 있는 인간 FcRn 유전자 서열(J. Exp. Med. 180 (6), 2377-2381 (1994))을 토대로 하여, 올리고 DNA 프라이머를 제작하였다. 인간 cDNA(Human Placenta Marathon-Ready cDNA, Clontech)를 주형으로 하고, 제작한 프라이머를 사용하여 PCR법에 의해 유전자 전장을 코드하는

DNA 단편을 조제하였다. 얻어진 DNA 단편을 주형으로, PCR법에 의해 시그널영역을 포함하는 세포외영역(Met1-Leu290)을 코드하는 DNA 단편을 증폭하고, 동물세포 발현벡터에 삽입하였다(인간 FcRn 아미노산 서열 서열번호:24). 마찬가지로, 공개되어 있는 인간 β 2-microglobulin 유전자 서열(Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26), 16899-16903 (2002))을 토대로 하여, 올리고 DNA 프라이머를 제작하였다. 인간 cDNA(Hu-Placenta Marathon-Ready cDNA, CLONTECH)를 주형으로 하여, 제작한 프라이머를 사용하여 PCR법에 의해 유전자 전장을 코드하는 DNA 단편을 조제하였다. 얻어진 DNA 단편을 주형으로, PCR법에 의해 시그널영역을 포함하는 β 2-microglobulin 전장(Met1-Met119)을 코드하는 DNA 단편을 증폭하여, 동물세포 발현벡터에 삽입하였다(인간 β 2-microglobulin 아미노산 서열 서열번호:25).

[0416] 가용형 인간 FcRn의 발현은 이하의 순서로 행하였다. 조제한 인간 FcRn 및 인간 β 2-microglobulin의 플라스미드를, 10% Fetal Bovine Serum(Invitrogen)을 사용한 lipofection법에 의해, 인간 태아 신장암 세포 유래 HEK293H주(Invitrogen)의 세포로 도입하였다. 얻어진 배양상청을 회수한 후, IgG Sepharose 6 Fast Flow(Amersham Biosciences)를 사용하여, (J Immunol. 2002 Nov 1;169(9):5171-80.)의 방법에 따라 정제를 행하였다. 그 후, HiTrap Q HP(GE Healthcare)에 의해 정제를 행하였다.

[0417] 인간 FcRn으로의 결합 평가에는 Biacore 3000을 사용하고, 센서칩에 고정화한 Protein L 또는 토끼 항인간 IgG Kappa chain 항체로 결합시킨 항체에, 애닐라이트로서 인간 FcRn을 상호작용시켰을 때의 인간 FcRn의 결합량으로부터 친화성(KD)을 산출하였다. 구체적으로는, 러닝 버퍼로서 150 mM NaCl을 포함하는 50 mM Na-phosphate buffer, pH 6.0을 사용하여, 아민 커플링법에 의해 센서칩 CM5(BIACORE)에 Protein L 또는 토끼 항인간 IgG Kappa chain 항체를 고정화하였다. 그 후, 항체를 0.02% Tween20을 포함하는 러닝 버퍼로 희석하여 인젝션하고 칩에 항체를 결합시킨 후, 인간 FcRn을 인젝션하고, 인간 FcRn의 항체로의 결합성을 평가하였다.

[0418] 친화성의 산출에는 소프트웨어, BIAevaluation을 사용하였다. 얻어진 센서그램으로부터, 인간 FcRn 인젝션 종료 직전의 항체로의 hFcRn 결합량을 구하고, 이것을 steady state affinity법으로 피팅(fitting)하여 인간 FcRn에 대한 항체의 친화성을 산출하였다.

[0419] 인간 FcRn 형질전환 마우스에 있어서의 혈장 중 체류성 평가

[0420] 인간 FcRn 형질전환 마우스(B6.mFcRn-/- .hFcRn Tg line 276 +/+ 마우스, Jackson Laboratories)에 있어서의 체내 동태의 평가는 이하와 같이 행하였다. 항체를 마우스에 1 mg/kg의 투여량으로 정맥 내에 단회 투여하여 적시 채혈을 행하였다. 채취한 혈액은 바로 4℃, 15,000 rpm으로 15분간 원심분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지 -20℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존하였다. 혈장 중 농도는 ELISA법을 사용하여 측정하였다.

[0421] WT-M14의 인간에 있어서의 혈장 중 체류성의 예측 평가

[0422] WT-IgG1과 WT-M14의 인간 FcRn으로의 결합성의 평가를 Biacore에 의해 행한 결과, 표 1에 나타내는 바와 같이, WT-M14의 결합성이 약간 WT-IgG1보다도 우수하였다.

표 1

	KD(μ M)
WT-IgG1	2.07
WT-M14	1.85

[0423]

[0424] 그러나, WT-IgG1과 WT-M14의 인간 FcRn 형질전환 마우스에 있어서의 혈장 중 체류성의 평가를 행한 결과, 도 14에 나타내는 바와 같이, WT-IgG1과 WT-M14는 동등한 혈장 중 체류성을 나타낸 것으로부터, M14의 정상영역은 인간에 있어서도 IgG1의 정상영역과 동등한 혈장 중 체류성을 나타낸다고 생각되었다.

[0425] [실시에 7] 약물동태를 향상시킨 WT-M44, WT-M58, WT-M73의 제작

[0426] WT-M58 분자의 제작

[0427] 실시예 6에 나타낸 바와 같이, WT-M14의 인간 FcRn 형질전환 마우스에 있어서의 혈장 중 체류성은 WT-IgG1과 동등하였다. 약물동태를 향상시키는 방법으로서, 항체의 등전점을 저하시키는 방법과 FcRn으로의 결합성을 증강시키는 방법이 알려져 있으나, WT-M14의 약물동태를 향상시키는 것을 목적으로 이하의 개변을 도입하였다. 구체적

으로는, 실시예 4에 있어서 WT-M14로 제작한 WT-M31△GK의 EU 넘버링 397번째의 발린을 메티오닌으로 개변하고, 268번 히스티딘을 글루타민으로 개변하며, 355번 아르기닌을 글루타민으로 개변하고, 419번 글루타민을 글루타민산으로 개변하였다. 이들 4개소의 개변을 WT-M31△GK에 도입하여, WT-M58(서열번호:26(아미노산 서열))을 제작하였다. 발현벡터의 제작은, 실시예 1의 방법으로 제작하고, H사슬로서 WT-M58을 사용하고, L사슬로서 L(WT)을 사용한 WT-M58의 발현·정제는 실시예 1에 기재한 방법으로 행하였다.

[0428] WT-M73 분자의 제작

[0429] 한편, IgG1에 대해, EU 넘버링:434번째를 알라닌으로 치환한 WT-M44(서열번호:27(아미노산 서열))를 제작하였다. 또한 M44에 대해 H사슬 C말단의 이질성을 저감하기 위해 446번째의 글리신 및 447번째의 리신을 결손시킨 WT-M83(서열번호:58(아미노산 서열))을 제작하였다. 또한, WT-M58에 대해 EU 넘버링:434번째를 알라닌으로 치환한 WT-M73(서열번호:28(아미노산 서열))을 제작하였다.

[0430] 이들 발현벡터의 제작은, 실시예 1의 방법으로 제작하고, H사슬로서 WT-M44 또는 WT-M58 또는 WT-M73을 사용하고, L사슬로서 L(WT)을 사용한 WT-M44 및 WT-M58 및 WT-M73의 발현·정제는 실시예 1에 기재된 방법으로 행하였다.

[0431] WT-M44, WT-M58, WT-M73의 인간에 있어서의 혈장 중 체류성의 예측 평가

[0432] WT-IgG1, WT-M44, WT-M58 및 WT-M73의 인간 FcRn으로의 결합성의 평가를 BIAcore에 의해 행한 결과, 표 2에 나타내는 바와 같이, WT-M44, WT-M58 및 WT-M73의 결합성은 WT-IgG1보다도 각각 2.7배, 약 1.4배 및 약 3.8배 정도 우수하였다.

표 2

	KD(μM)
WT-IgG1	1.62
WT-M44	0.59
WT-M58	1.17
WT-M73	0.42

[0433]

[0434] WT-IgG1, WT-M14 및 WT-M58의 인간 FcRn 형질전환 마우스에 있어서의 혈장 중 체류성의 평가를 행한 결과, 도 24에 나타내는 바와 같이, WT-M58은 WT-IgG1, WT-M14와 비교하여 약물동태의 향상이 확인되었다. 또한, WT-IgG1, WT-M44, WT-M58 및 WT-M73의 인간 FcRn 형질전환 마우스에 있어서의 혈장 중 체류성의 평가를 행한 결과, 도 15에 나타내는 바와 같이, WT-M44, WT-M58 및 WT-M73은 모두 WT-IgG1과 비교하여 약물동태의 개선이 확인되어, 그 약물동태의 개선효과는 인간 FcRn으로의 결합능과 상관관계가 있었다. 그 중에서도 WT-M73에 관해서는, WT-IgG1과 비교하여 28일 후의 혈장 중 농도가 약 16배 개선되어 있었던 것으로부터, 인간에 있어서도 M73의 정상영역을 갖는 항체는 IgG1의 정상영역을 갖는 항체와 비교하여 약물동태가 대폭 향상된다고 생각되었다.

[0435] [실시예 8] 다양한 항체에 있어서의 신규 정상영역 M14 및 M58에 의한 이질성 저감효과

[0436] 실시예 4에 나타내는 바와 같이, 항IL-6 수용체 항체인 인간화 PM1 항체(WT)에 있어서, 정상영역을 IgG2로부터 M14로 변환함으로써, IgG2의 힌지영역에 유래하는 이질성을 저감할 수 있는 것이 확인되었다. 이에, 인간화 PM1 항체 이외 IgG2타입의 항체에 대해서도, 정상영역을 M14 또는 M58로 변환함으로써 이질성을 저감할 수 있는지 여부를 검토하였다.

[0437] 인간화 PM1 항체 이외의 항체로서, 항IL-6 수용체 항체인 F2H/L39(F2H/L39_VH 아미노산 서열 서열번호:29, F2H/L39_VL 아미노산 서열 서열번호:30), 항IL-31 수용체 항체인 HOLO(HOLO_VH 아미노산 서열 서열번호:31, HOLO_VL 아미노산 서열 서열번호:32), 항RANKL 항체인 DNS(DNS_VH 아미노산 서열 서열번호:33, DNS_VL 아미노산 서열 서열번호:34)를 사용하였다. 각각의 항체에 대해, 정상영역을 IgG1(서열번호:1), IgG2(서열번호:2) 및, M14(서열번호:5) 또는 M58(서열번호:35)로 한 것을 제작하였다.

[0438] 이질성의 평가방법으로서, 양이온 교환 크로마토그래피에 의한 평가를 행하였다. 제작한 항체의 이질성의 평가는, 칼럼으로서 ProPac WCX-10(Dionex)을 사용하고, 이동상 A로서 20 mM Sodium Acetate, pH 5.0, 이동상 B로서 20 mM Sodium Acetate, 1 M NaCl, pH 5.0을 사용하여, 적절한 유속 및 그라디언트로 실시하였다. 양이온 교

환 크로마토그래피(IEC)에 의한 평가를 행한 결과를 도 16에 나타내었다.

[0439] 도 16에 나타난 바와 같이, 항IL-6 수용체 항체인 인간화 PM1 항체(WT)뿐 아니라, 항IL-6 수용체 항체인 F2H/L39, 항IL-31 수용체 항체인 HOLO, 항RANKL 항체인 DNS에 있어서도, 정상영역을 IgG1에서 IgG2로 변환함으로써 이질성이 증대하고, 정상영역을 M14 또는 M58로 변환함으로써 어느 항체에 있어서도 이질성을 저감할 수 있는 것이 확인되었다. 이것으로부터, H사슬의 CH1 도메인에 존재하는 EU 넘버링 131번째의 시스테인과 H사슬의 upper hinge에 존재하는 EU 넘버링 219번째의 시스테인을 세린으로 개변함으로써, 가변영역의 항체 서열 및 항원의 종류에 관계없이, 천연형 IgG2에 유래하는 이질성을 저감할 수 있는 것이 나타내어졌다.

[0440] [실시예 9] 다양한 항체에 있어서의 신규 정상영역 M58에 의한 약물동태 개선효과

[0441] 실시예 7에 나타난 바와 같이, 항IL-6 수용체 항체인 인간화 PM1 항체(WT)에 있어서, 정상영역을 IgG1에서 M58로 변환함으로써, 인간 FcRn으로의 결합성이 향상되고, 인간 FcRn 형질전환 마우스에 있어서 약물동태가 향상되는 것이 발견되었다. 이에, 인간화 PM1 항체 이외의 IgG1 항체에 대해서도, 정상영역을 M58로 변환함으로써 약물동태를 향상시킬 수 있는지 여부를 검토하였다.

[0442] 인간화 PM1 항체(WT) 이외의 항체로서, 항IL-31 수용체 항체인 HOLO(HOLO_VH 아미노산 서열 서열번호:31, HOLO_VL 아미노산 서열 서열번호:32), 항RANKL 항체인 DNS(DNS_VH 아미노산 서열 서열번호:33, DNS_VL 아미노산 서열 서열번호:34)를 사용하였다. 각각의 항체에 대해, 정상영역을 IgG1(서열번호:1) 및 M58(서열번호:35)로 한 것을 제작하고, 실시예 6에 나타내는 방법으로 인간 FcRn으로의 결합성을 평가하였다. 그 결과를 표 3에 나타내었다.

표 3

	KD (μM)		
	WT	HOLO	DNS
IgG1	1.42	1.07	1.36
M58	1.03	0.91	1.03

[0443]

[0444] 표 3에 나타난 바와 같이, 항IL-31 수용체 항체인 HOLO, 항RANKL 항체인 DNS에 있어서도, 정상영역을 IgG1으로부터 M58로 변환함으로써, 항IL-6 수용체 항체인 WT와 마찬가지로, 인간 FcRn으로의 결합성이 향상되는 것이 확인되었다. 이것으로부터, 가변영역의 항체 서열 및 항원의 종류에 관계없이, 정상영역을 IgG1으로부터 M58로 변환함으로써 인간에 있어서의 약물동태가 향상될 가능성이 나타내어졌다.

[0445] [실시예 10] CH1 도메인의 시스테인이 미치는 이질성 및 안정성으로의 영향

[0446] 실시예 2에 나타난 바와 같이, 천연형 IgG2의 이질성을 저감하는 것을 목적으로 IgG2의 힌지부분의 시스테인 및 CH1 도메인에 존재하는 시스테인의 개변을 행하였다. 각종 개변체의 검토 결과, 야생형 IgG2 정상영역 서열 중, H사슬의 CH1 도메인에 존재하는 EU 넘버링 131번째의 시스테인과 133번째의 아르기닌을 각각 세린과 리신으로 개변하고, H사슬의 upper hinge에 존재하는 EU 넘버링 219번째의 시스테인을 세린으로 개변한 정상영역인 SKSC(서열번호:38)에 의해, 안정성을 저하시키지 않고 이질성을 저감하는 것이 가능한 것이 발견되었다.

[0447] 한편, 이질성을 저감하는 방법으로서, H사슬의 upper hinge에 존재하는 EU 넘버링 219번째의 시스테인만을 세린으로 개변하는 방법 및, 220번째의 시스테인만을 세린으로 개변하는 방법을 생각할 수 있다. IgG2의 EU 넘버링 219번째의 시스테인을 세린으로 개변한 정상영역인 SC(서열번호:39), 및 IgG2의 EU 넘버링 220번째의 시스테인을 세린으로 개변한 정상영역인 CS(서열번호:40)를 정상영역으로 갖는 WT-SC(서열번호:41) 및 WT-CS(서열번호:42)를 제작하여, WT-IgG1, WT-IgG2, WT-SKSC 및 WT-M58과의 이질성 및 열안정성의 비교를 행하였다. 또한, WT 이외의 항체로서, 상이한 항IL-6 수용체 항체인 F2H/L39(F2H/L39_VH 아미노산 서열 서열번호:29, F2H/L39_VL 아미노산 서열 서열번호:30)에 대해, 정상영역을 각각 IgG1(서열번호:1), IgG2(서열번호:2), SC(서열번호:39), CS(서열번호:40), SKSC(서열번호:38), M14(서열번호:5)로 한 F2H/L39-IgG1, F2H/L39-IgG2, F2H/L39-SC, F2H/L39-CS, F2H/L39-SKSC, F2H/L39-M14를 제작하여, 이질성의 비교를 행하였다.

[0448] WT-IgG1, WT-IgG2, WT-SC, WT-CS, WT-SKSC, WT-M58 및 F2H/L39-IgG1, F2H/L39-IgG2, F2H/L39-SC, F2H/L39-CS, F2H/L39-SKSC, F2H/L39-M14의 이질성의 평가방법으로서, 양이온 교환 크로마토그래피에 의한 평가를 행하였다.

칼럼으로서 ProPac WCX-10(Dionex)을 사용하고, 이동상 A로서 20 mM Sodium Acetate, pH 5.0, 이동상 B로서 20 mM Sodium Acetate, 1 M NaCl, pH 5.0을 사용하여, 적절한 유량 및 그라디언트로 실시하였다. 양이온 교환 크로마토그래피에 의한 평가를 행한 결과를 도 17에 나타내었다.

[0449] 그 결과, 도 17에 나타내는 바와 같이, WT와 F2H/L39 어느 것에 있어서도, 정상영역을 IgG1으로부터 IgG2로 변환함으로써 이질성이 증대하였으나, 정상영역을 SKSC 및 M14 또는 M58로 변환함으로써 이질성이 대폭 저감되었다. 한편, 정상영역을 SC로 한 경우는 정상영역을 SKSC로 한 경우와 마찬가지로 이질성이 대폭 저감되었으나, 정상영역을 CS로 한 경우는 충분히 이질성이 개선되지 않았다.

[0450] 일반적으로 항체를 의약품으로서 개발하기 위해서는 이질성이 적은 것에 더하여, 안정한 제제를 조제하기 위해 높은 안정성을 갖는 것이 바람직하다. 이에 안정성의 평가방법으로서, 시차주사형 열량 측정(DSC)에 의한 열변성 중간온도(Tm값)의 평가를 행하였다(VP-DSC, Microcal사제). 열변성 중간온도(Tm값)는 안정성의 지표로, 의약품으로서 안정한 제제를 제작하기 위해서는, 열변성 중간온도(Tm값)가 높은 것이 바람직하다(J Pharm Sci. 2008pr;97(4):1414-26.). WT-IgG1, WT-IgG2, WT-SC, WT-CS, WT-SKSC, WT-M58을 20 mM sodium acetate, 150 mM NaCl, pH 6.0의 용액에 대해 투석(EasySEP, TOMY)을 행하여, 약 0.1 mg/mL의 단백질 농도에서, 40℃에서 100℃까지 1℃/min의 승온속도로 DSC 측정을 행하였다. 얻어진 DSC의 변성 곡선을 도 18에, Fab부분의 Tm값을 이하의 표 4에 나타내었다.

표 4

	Tm/℃
WT-IgG1	94.8
WT-IgG2	93.9
WT-SC	86.7
WT-CS	86.4
WT-SKSC	93.7
WT-M58	93.7

[0451]

[0452] WT-IgG1 및 WT-IgG2의 Tm값은 거의 동등하여 약 94℃ 정도(IgG2가 약 1℃ 낮음)였던 것에 대해, WT-SC 및 WT-CS의 Tm값은 약 86℃로, WT-IgG1 및 WT-IgG2와 비교하여 현저히 Tm값이 저하되어 있었다. 한편, WT-M58, WT-SKSC의 Tm값은 약 94℃로, 거의 WT-IgG1 및 WT-IgG2와 동등하였다. WT-SC 및 WT-CS는 안정성이 IgG2와 비교하여 현저히 낮은 것으로부터, 의약품으로서 개발하기 위해서는, CH1 도메인의 시스테인도 세린으로 개변한 WT-SKSC 및 WT-M58이 바람직하다고 생각되었다. WT-SC 및 WT-CS의 Tm값이 IgG2와 비교하여 대폭 저하된 이유로서, WT-SC 및 WT-CS는 IgG2의 디설피드 결합 패턴과는 상이한 양식을 취하고 있기 때문이라고 생각되었다.

[0453] 또한, DSC 변성 곡선을 비교한 경우, WT-IgG1, WT-SKSC, WT-M58의 Fab부분의 변성 피크는 샤프하고 또한 단일이었던 것에 대해, WT-SC 및 WT-CS는 이들과 비교하여, Fab부분의 변성 피크가 브로드하여, WT-IgG2는 Fab부분의 변성 피크의 저온측에 솔더 피크가 확인되었다. DSC의 변성 피크는 단일성분의 경우에는 통상 샤프한 변성 피크를 나타내나, Tm이 상이한 복수 성분(즉 이질성)이 존재하는 경우, 변성 피크는 브로드해지는 것으로 생각된다. 즉, WT-IgG2, WT-SC 및 WT-CS에는 복수성분 존재하고, WT-SC 및 WT-CS는, 천연형 IgG2의 이질성이 충분히 저감되어 있지 않을 가능성이 시사되었다. 이것으로부터, 야생형 IgG2의 이질성은 힌지부분의 시스테인뿐 아니라, CH1 도메인에 존재하는 시스테인의 양쪽이 관여하고 있다고 생각되어, DSC 상의 이질성을 저감하기 위해서는 힌지부분의 시스테인뿐 아니라, CH1 도메인의 시스테인도 개변할 필요가 있다고 생각되었다. 또한, 전술한 바와 같이, 힌지부분의 시스테인뿐 아니라, CH1 도메인의 시스테인을 개변함으로써 비로소 야생형 IgG2와 동등한 안정성을 갖는 것이 가능하다.

[0454] 이상으로부터, IgG2의 힌지영역에 유래하는 이질성을 저감한 정상영역으로서, 힌지부분의 시스테인만을 세린으로 치환한 정상영역인 SC와 CS는 이질성 및 안정성의 관점에서 불충분하다고 생각되어, 힌지부분의 시스테인에 더하여, CH1 도메인에 존재하는 EU 넘버링 131번째의 시스테인도 세린으로 치환함으로써 비로소 IgG2와 동등한 안정성을 유지하면서 이질성을 대폭 저감하는 것이 가능한 것이 발견되었다. 그와 같은 정상영역으로서, 전술한 M14, M31, M58, M73 등을 들 수 있고, 특히 M58 및 M73은 약물동태가 향상되어, 안정성이 높고, 이질성이 저

감되어 있는 것으로부터, 항체 의약품의 정상영역으로서 매우 유용할 것으로 생각되었다.

[0455] [실시에 11] PK/PD가 개선된 완전 인간화 IL-6 수용체 항체의 제작

[0456] TOCILIZUMAB(H사슬 WT-IgG1(서열번호:12), L사슬 WT(서열번호:15))에 대해, PK/PD가 개선된 완전 인간화 IL-6 수용체 항체를 제작하기 위해 이하에 나타내는 분자를 제작하였다. 완전 인간화 IL-6 수용체 항체로서, 정상영역에 실시예 7에서 제작한 M73 또는 M83을 사용한 Fv3-M73(H사슬 VH4-M73 서열번호:48, L사슬 VL1-kappa 서열번호:49), Fv4-M73(H사슬 VH3-M73 서열번호:46, L사슬 VL3-kappa 서열번호:47), Fv5-M83(H사슬 VH5-M83 서열번호:44, L사슬 VL5-kappa 서열번호:45)을 발견하였다.

[0457] 제작한 Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83의 IL-6 수용체로의 친화성을 TOCILIZUMAB과 비교하였다. 이들 항체의 IL-6 수용체의 친화성을 측정한 결과를 표 5에 나타내었다(방법은 참고예 참조). 또한, BaF/gp130의 중화활성을 TOCILIZUMAB 및 대조(참고예의 공지의 고친화성 고IL-6 수용체 항체, US 2007/0280945에 있어서의 VQ8F11-21 hIgG1)와 비교하였다(방법은 참고예 참조). 이들 항체의 BaF/gp130에 의한 생물활성을 측정한 결과를 도 19(IL-6 최종농도 300 ng/mL:TOCILIZUMAB, 대조, Fv5-M83) 및 도 20(IL-6 최종농도 30 ng/mL:TOCILIZUMAB, Fv3-M73, Fv4-M73)에 나타내었다. 표 5에 나타내는 바와 같이, Fv3-M73, Fv4-M73은, TOCILIZUMAB과 비교하여 2~3배 정도 강한 친화성을 갖고, Fv5-M83은 TOCILIZUMAB과 비교하여 100배 정도 강한 친화성을 나타내었다(Fv5-M83에서는 친화성의 측정이 곤란하였기 때문에, 정상영역을 IgG1으로 한 Fv5-IgG1을 사용하여 친화성을 측정하였다, 정상영역은 일반적으로 친화성에 영향을 미치지 않는다고 생각됨). 또한, 도 20에 나타내는 바와 같이 Fv3-M73, Fv4-M73은, TOCILIZUMAB과 비교하여 약간 강한 활성을 나타내고, 도 19에 나타내는 바와 같이 Fv5-M83은 TOCILIZUMAB과 비교하여 50% 저해농도로서 100배 이상의 매우 강한 활성을 가지며, 또한, 공지의 고친화성 고IL-6 수용체 항체인 대조와 비교해도 50% 저해농도로서 약 10배 정도 높은 중화활성을 나타내었다.

표 5

	$k_a(1/MS)$	$k_d(1/s)$	KD (M)
TOCILIZUMAB	4.0E+05	1.1E-03	2.7E-09
Fv3-M73	8.5E+05	8.7E-04	1.0E-09
Fv4-M73	7.5E+05	1.0E-03	1.4E-09
Fv5-M83	1.1E+06	2.8E-05	2.5E-11

[0458]

[0459] TOCILIZUMAB, 대조, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83의 등전점을 당업자 공지의 방법에 의해 등전점 전기영동에 의해 측정한 결과, TOCILIZUMAB의 등전점은 약 9.3, 대조는 약 8.4~8.5, Fv3-M73은 약 5.7~5.8, Fv4-M73은 약 5.6~5.7, Fv5-M83은 5.4~5.5로, 어느 항체도 TOCILIZUMAB 및 대조와 비교하여 등전점이 대폭 저하되었다. 또한, 가변영역 VH/VL의 이론등전점을 GENETYX(GENETYX CORPORATION)에 의해 계산한 바, TOCILIZUMAB의 이론등전점은 9.20, 대조는 7.79, Fv3-M73은 5.49, Fv4-M73은 5.01, Fv5-M83은 4.27로, 어느 항체도 TOCILIZUMAB 및 대조와 비교하여 등전점이 대폭 저하되었다. 따라서, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83은 TOCILIZUMAB 및 대조와 비교하여 약물동태가 향상되어 있다고 생각되었다.

[0460] TOCILIZUMAB, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83의 가변영역 서열에 존재하는 T-cell 에피토프를 TEPITOPE(Methods. 2004 Dec;34(4):468-75)를 사용하여 해석을 행하였다. 그 결과, TOCILIZUMAB은 많은 서열이 HLA에 결합하는 T-cell 에피토프가 존재한다고 예측되었으나, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83은 T-cell 에피토프에 결합한다고 예측된 서열이 대폭 감소하였다. 또한, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83은 프레임워크에 마우스 서열이 잔존하지 않고 완전 인간화되어 있다. 이들 사실로부터, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83의 면역원성은 TOCILIZUMAB과 비교하여 면역원성 리스크가 대폭 저감되어 있을 가능성이 시사되었다.

[0461] [실시에 12] 완전 인간화 IL-6 수용체 항체의 원숭이 PK/PD 시험

[0462] TOCILIZUMAB, 대조, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83을 게잡이원숭이에 1 mg/kg으로 정맥 내에 단회 투여하여 혈장 중 농도추이를 평가하였다(방법은 참고예 참조). TOCILIZUMAB, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83의 정맥 내 투여 후의 혈장 중 농도추이를 도 21에 나타내었다. 그 결과, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83은 모두 TOCILIZUMAB

및 대조와 비교하여 게잡이원숭이에 있어서 약물동태가 대폭 개선되었다. 그 중에서도, Fv3-M73과 Fv4-M73의 약물동태는 TOCILIZUMAB과 비교하여 대폭 개선되었다.

[0463] 게잡이원숭이 막형 IL-6 수용체가 어느 정도 중화되어 있는지의 약효를 평가하기 위해, 항체 투여 6일째부터 18 일째(TOCILIZUMAB에 관해서는 3일째부터 10일째)까지 게잡이원숭이 IL-6 5 $\mu\text{g/kg}$ 을 요배부(腰背部)에 연일 피하 투여하고, 24시간 후의 각 개체의 CRP 농도를 측정하였다(방법은 참고예 참조). 각 항체 투여시의 CRP 농도추이를 도 22에 나타내었다. 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체가 어느 정도 중화되어 있는지의 약효를 평가하기 위해, 게잡이원숭이 혈장 중의 비결합형 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체 농도를 측정하고, 가용형 IL-6 수용체의 중화율을 계산하였다(방법은 참고예 참조). 각 항체 투여시의 가용형 IL-6 수용체의 중화율의 추이를 도 23에 나타내었다.

[0464] Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83은 모두 TOCILIZUMAB 및 공지의 고친화성 항IL-6 수용체 항체인 대조와 비교하여 게잡이원숭이 막형 IL-6 수용체를 보다 지속적으로 중화하여 CRP의 증가를 장기간 억제하였다. 또한, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83은 모두 TOCILIZUMAB 및 대조와 비교하여 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체를 보다 지속적으로 중화하여 비결합형 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체의 증가를 장기간 억제하였다. 이것으로 막형 IL-6 수용체 및 가용형 IL-6 수용체의 중화의 지속성에 관해서는, Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83은 모두 TOCILIZUMAB 및 대조보다도 우수한 것이 발견되었다. 그 중에서도 Fv3-M73과 Fv4-M73의 중화의 지속성은 매우 우수하였다. 한편, Fv5-M83이 Fv3-M73과 Fv4-M73보다 CRP 및 비결합형 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체를 낮게 억제하고 있는 것으로부터, Fv5-M83은 막형 IL-6 수용체 및 가용형 IL-6 수용체를 Fv3-M73과 Fv4-M73 및 공지의 고친화성 항IL-6 수용체 항체인 대조보다도 강력하게 중화하고 있다고 생각되었다. 이것은 Fv5-M83이 대조보다도 IL-6 수용체로의 친화성이 강하고, 또한, BaF/gp130에 있어서의 생물활성이 강한 것이 게잡이원숭이의 in vivo에 있어서 반영된 결과라고 생각된다.

[0465] 이들 사실로부터, TOCILIZUMAB 및 대조와 비교하여, Fv3-M73과 Fv4-M73은 항IL-6 수용체 중화항체로서 작용의 지속성이 매우 우수하여 투여 빈도 및 투여량을 대폭 저감하는 것이 가능하며, 또한, Fv5-M83은 항IL-6 수용체 중화항체로서 작용의 강도가 매우 우수하고, 또한 작용의 지속성도 우수한 것이 발견되었다. 따라서 Fv3-M73, Fv4-M73 및 Fv5-M83은 IL-6 안타고니스트로서의 의약품으로서 유용하다고 생각된다.

[0466] [참고예]

[0467] 제조합 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체(cIL-6R)의 조제

[0468] 공개되어 있는 붉은털 원숭이 IL-6 수용체 유전자 서열(Birney et al, Ensembl 2006, Nucleic Acids Res. 2006 Jan 1;34(Database issue):D556-61.)을 토대로 하여 올리고 DNA 프라이머를 제작하여, 게잡이원숭이 채장으로 조제된 cDNA를 주형으로 하고, 프라이머를 사용하여, PCR법에 의해 게잡이원숭이 IL-6 수용체 유전자 전장을 코드하는 DNA 단편을 조제하였다. 얻어진 DNA 단편을 동물세포 발현벡터에 삽입하고, 이것을 사용하여 CHO 정상발현주(cyno.sIL-6R 생산 CHO세포)를 제작하였다. cyno.sIL-6R 생산 CHO세포의 배양액을 HisTrap 칼럼(GE 헬스케어 바이오사이언스)으로 정제 후, Amicon Ultra-15 Ultracel-10k(Millipore)를 사용하여 농축하고, Superdex200pg16/60 겔 여과 칼럼(GE 헬스케어 바이오사이언스)으로 추가적으로 정제를 행하여, 가용형 게잡이원숭이 IL-6 수용체(이하, cIL-6R)의 최종 정제품으로 하였다.

[0469] 제조합 게잡이원숭이 IL-6(cIL-6)의 조제

[0470] 게잡이원숭이 IL-6는 이하와 같이 조제하였다. SWISSPROT Accession No.P79341에 등록되어 있는 212 아미노산을 코드하는 염기서열을 제작하고, 동물세포 발현벡터로 클로닝하여, CHO세포에 도입함으로써 정상발현 세포주를 제작하였다(cyno.IL-6 생산 CHO세포). cyno.IL-6 생산 CHO세포의 배양액을 SP-Sepharose/FF 칼럼(GE 헬스케어 바이오사이언스)으로 정제 후, Amicon Ultra-15 Ultracel-5k(Millipore)를 사용하여 농축하고, Superdex75pg26/60 겔 여과 칼럼(GE 헬스케어 바이오사이언스)으로 추가적으로 정제를 행하여, Amicon Ultra-15 Ultracel-5k(Millipore)를 사용하여 농축하고, 게잡이원숭이 IL-6(이하, cIL-6)의 최종 정제품으로 하였다.

[0471] 공지 고친화성 항IL-6 수용체 항체의 제작

[0472] 공지의 고친화성 항IL-6 수용체 항체로서, US 2007/0280945 A1에 기재되어 있는 고친화성 항IL-6 수용체 항체인 VQ8F11-21 hIgG1(US 2007/0280945 A1, H사슬 아미노산 서열: 서열번호:19, L사슬 아미노산 서열: 서열번호:27)을 발현시키기 위해, 동물세포 발현용 벡터를 구축하였다. 항체 가변영역에 대해서는, 합성 올리고 DNA를 조합시킨 PCR법(assembly PCR)에 의해 제작하고, 정상영역에 대해서는 IgG1을 사용하였다. Assembly PCR법에 의해 항체 가변영역과 정상영역을 결합시키고, 동물발현용 벡터에 삽입하여, 목적의 H사를 발현벡터 및 L사를 발현백

터를 제작하였다. 얻어진 발현백터의 염기서열은 당업자 공지 방법으로 결정하였다. 제작한 발현백터를 사용하여, 발현·정제를 행하였다. 발현·정제는 실시예 1에 기재된 방법으로 행하고, 고친화성 항IL-6 수용체 항체(이후, 대조로 기재함)를 얻었다.

[0473] 인간 gp130 발현 BaF3 세포(BaF/gp130)에 의한 생물활성 평가

[0474] IL-6/IL-6 수용체 의존성 증식을 나타내는 BaF3/gp130을 사용하여, IL-6 수용체 중화활성을 평가하였다. BaF3/gp130을 10% FBS를 포함하는 RPMI1640배지에서 3회 세정한 후에, 5×10^4 cells/mL가 되도록 600 ng/mL 내지는 60 ng/mL의 human interleukin-6(TORAY)(최종농도는 300 ng/mL 내지는 30 ng/mL), 적당량의 제조합 가용성 인간 IL-6 수용체(SR344) 및 10% FBS를 포함하는 RPMI1640배지로 현탁하여, 96웰 플레이트(CORNING)의 각 웰에 50 μ L씩 분주하였다. 다음으로, 정제한 항체를 10% FBS를 포함하는 RPMI1640로 희석하여, 각 웰에 50 μ L씩 혼합하였다. 37℃, 5% CO₂ 조건하에서, 3일간 배양하여, PBS로 2배로 희석한 WST-8 시약(Cell Counting Kit-8, 가부시키가이샤 도진화화학연구소)을 20 μ L/well로 첨가하고, 직후에 SUNRISE CLASSIC(TECAN)을 사용하여 450 nm의 흡광도(참조파장 620 nm)를 측정하였다. 2시간 배양한 후에, 재차 450 nm의 흡광도(참조파장 620 nm)를 측정하여, 2시간의 흡광도 변화를 지표로 인간 IL-6 수용체 중화활성을 평가하였다.

[0475] Biacore에 의한 IL-6 수용체로의 결합 평가

[0476] Biacore T100(GE Healthcare)을 사용하여, 항원 항체반응의 속도론적 해석을 행하였다. 센서칩 상에 아민 커플링법으로 anti-IgG(γ -chain specific)F(ab')₂를 적당량 고정화하고, 다음으로 pH 7.4에 있어서 목적의 항체를 결합시키고, 추가적으로 pH 7.4에 있어서 각종 농도로 조정된 IL-6 수용체인 SR344를 애닐라이트로서 흘려, 항체와 SR344의 상호작용을 측정하였다. 측정은 모두 37℃에서 실시하였다. 측정으로 얻어진 센서그램으로부터, 키네틱스 파라미터인 결합속도상수 k_a (1/Ms) 및 해리속도상수 k_d (1/s)를 산출하고, 그 값을 토대로 하여 K_D (M)를 산출하였다. 각 파라미터의 산출에는 Biacore T100 Evaluation Software(GE Healthcare)를 사용하였다.

[0477] 원숭이 PK/PD 시험에 의한 항체 혈장 중 농도, CRP 농도, 비결합형 가용형 IL-6 수용체의 측정

[0478] 게잡이원숭이 혈장 중 농도 측정은 ELISA법으로 당업자 공지 방법으로 측정하였다.

[0479] CRP 농도는 사이어스 R CRP(간토 화학 주식회사)로, 자동분석장치(TBA-120FR, 도시바 메디컬 시스템즈 주식회사)를 사용해서 측정하였다.

[0480] 게잡이원숭이 혈장 중의 비결합형 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체 농도를 이하와 같이 측정하였다. 게잡이원숭이의 혈장 30 μ L를 0.22 μ m의 필터컵(Millipore)에 있어서 건조시킨 적량의 rProtein A Sepharose Fast Flow(GE Healthcare) 수지에 첨가함으로써 혈장 중에 존재하는 모든 IgG형 항체(게잡이원숭이 IgG, 항인간 IL-6 수용체 항체 및 항인간 IL-6 수용체 항체-게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체 복합체)를 Protein A에 흡착시켰다. 그 후, 고속원심기로 스핀 다운하고, 패스용액을 회수하였다. 패스용액에는 protein A에 결합한 항인간 IL-6 수용체 항체-게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체 복합체는 포함되지 않기 때문에, protein A 패스용액 중의 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체 농도를 측정함으로써, 비결합형 가용형 IL-6 수용체 농도를 측정 가능하다. 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체 농도는, 상기에서 제작한 게잡이원숭이 가용형 IL-6 수용체(cIL-6R)를 스탠다드로 사용하여, 인간 IL-6 수용체 농도를 측정하는 당업자 공지 방법으로 측정하였다. 가용형 IL-6 수용체의 중화율은 이하의 계산식에 의해 계산하였다.

(항체투여 후의 비결합형 가용성 IL-6 수용체 농도 ÷ 항체투여 전의 가용성 IL-6

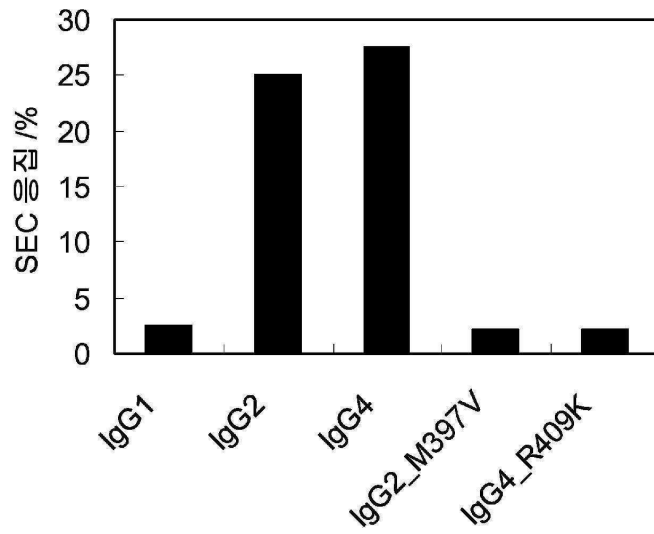
[0481] 수용체 농도) × 100

[0483] [산업상 이용가능성]

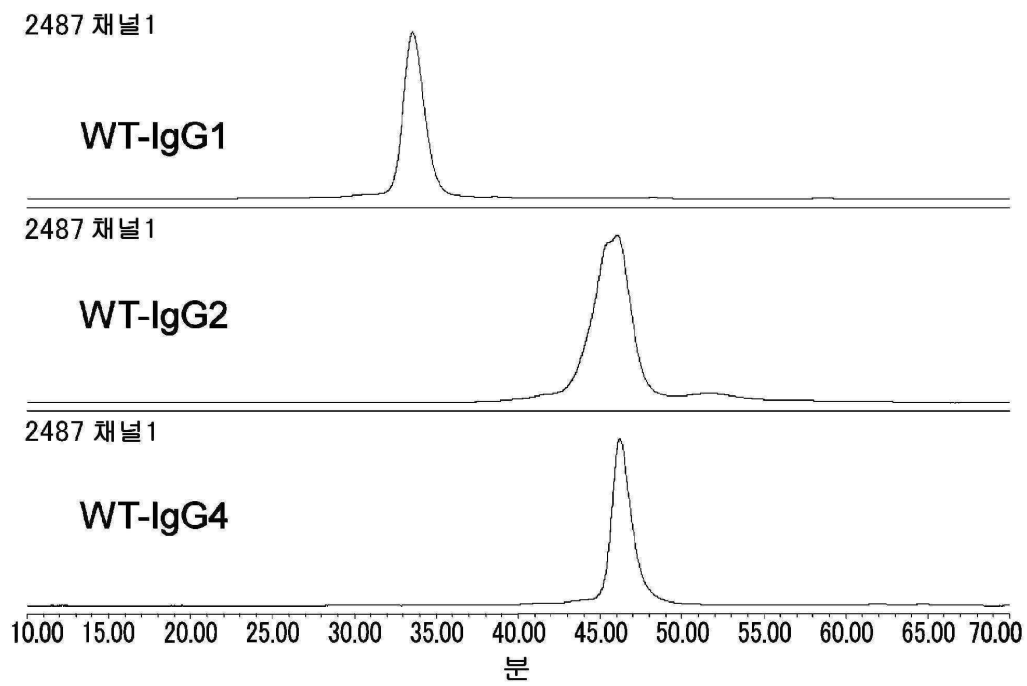
[0484] 본 발명에 의해, 항체의 정상영역의 아미노산 서열을 개변함으로써 물성(안정성 및 균일성), 면역원성, 안전성, 또한, 약물동태가 개선된, 의약품으로서 적합한 항체 정상영역이 제공된다.

도면

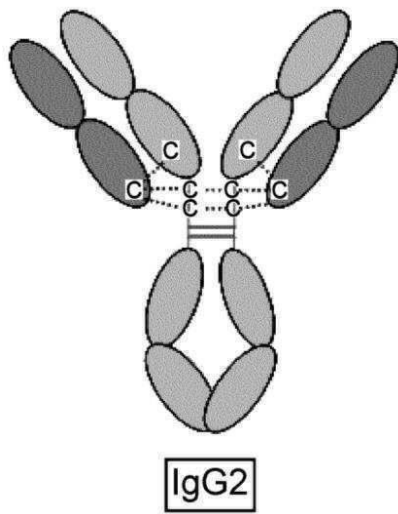
도면1



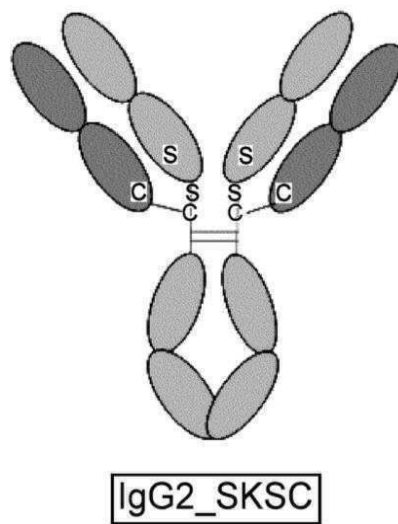
도면2



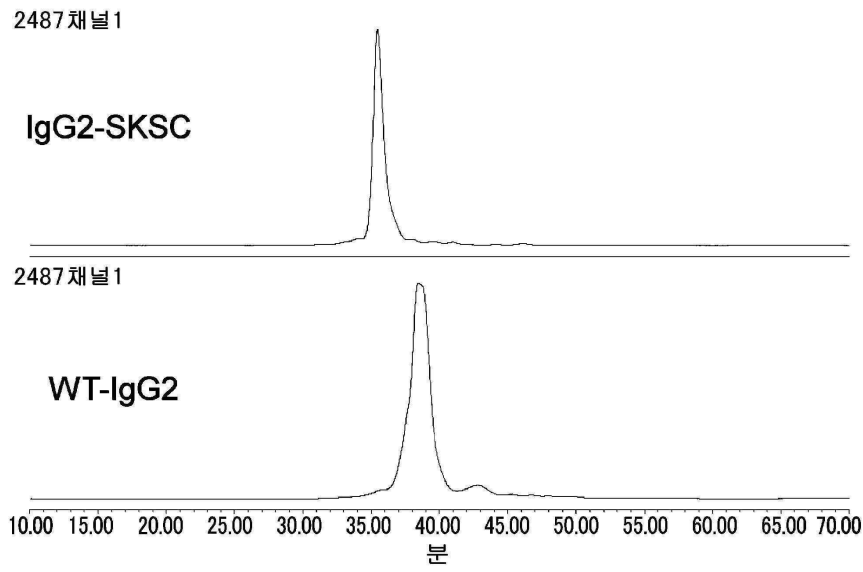
도면3



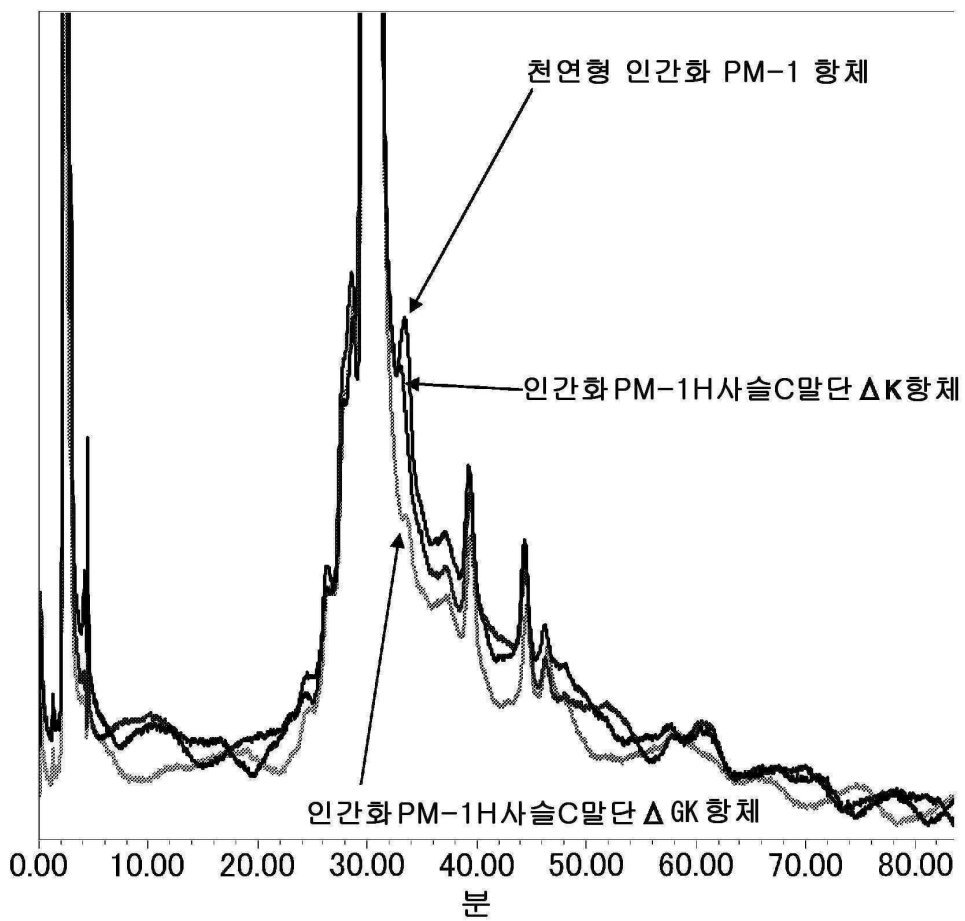
도면4

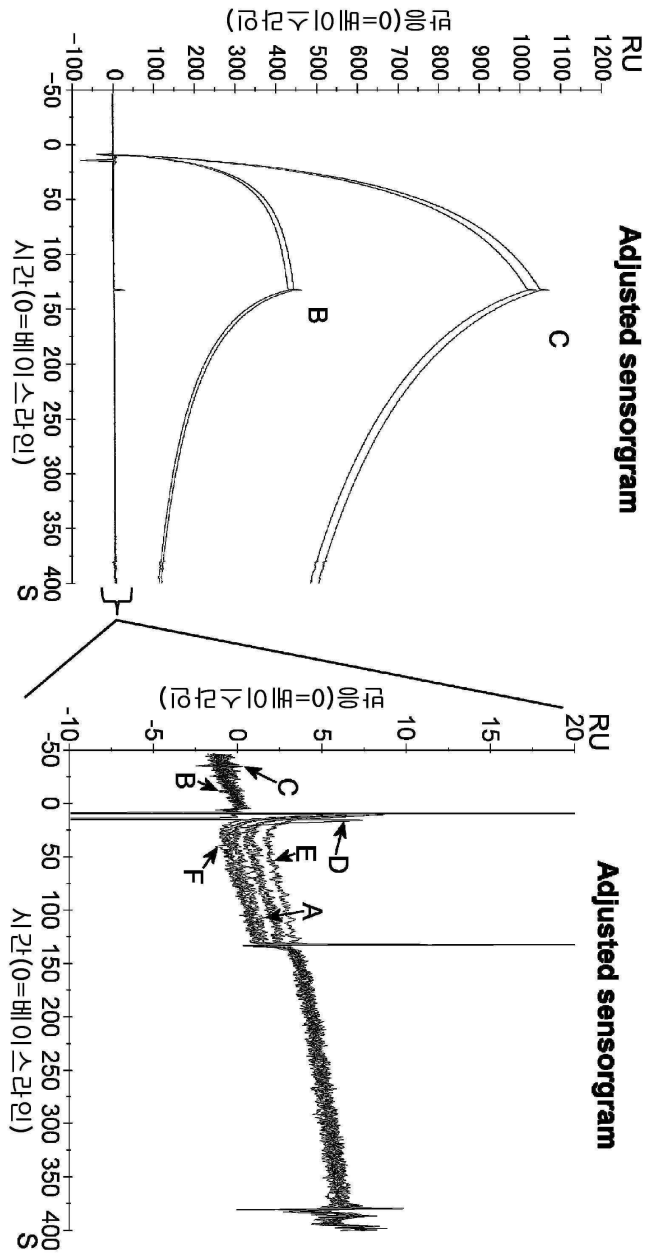


도면5



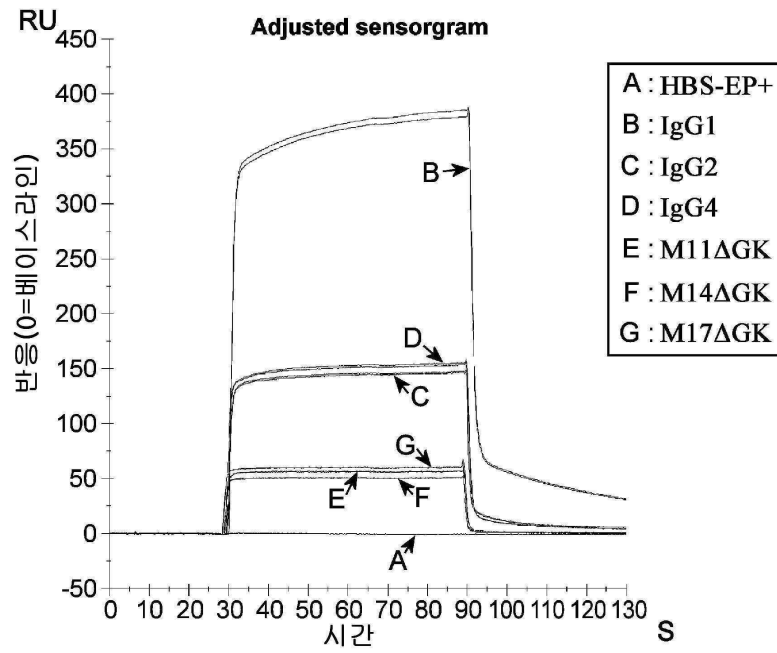
도면6



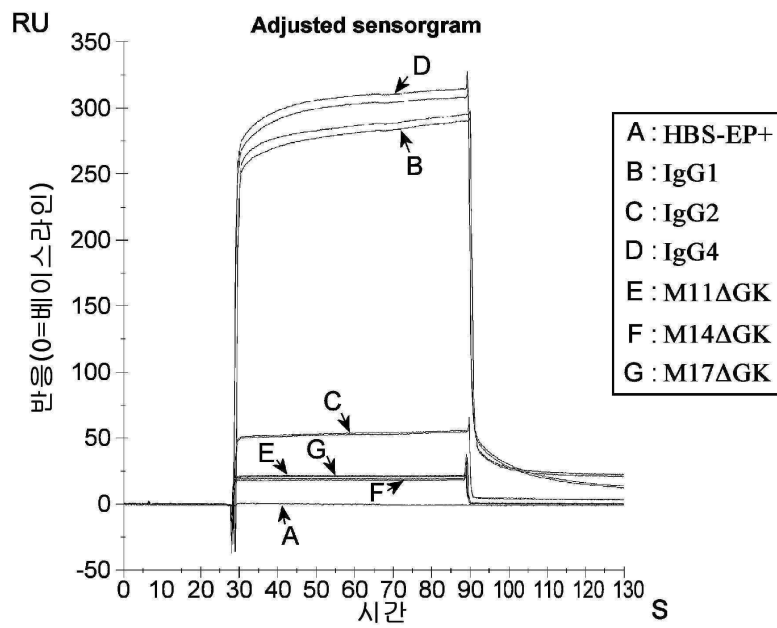


도면7

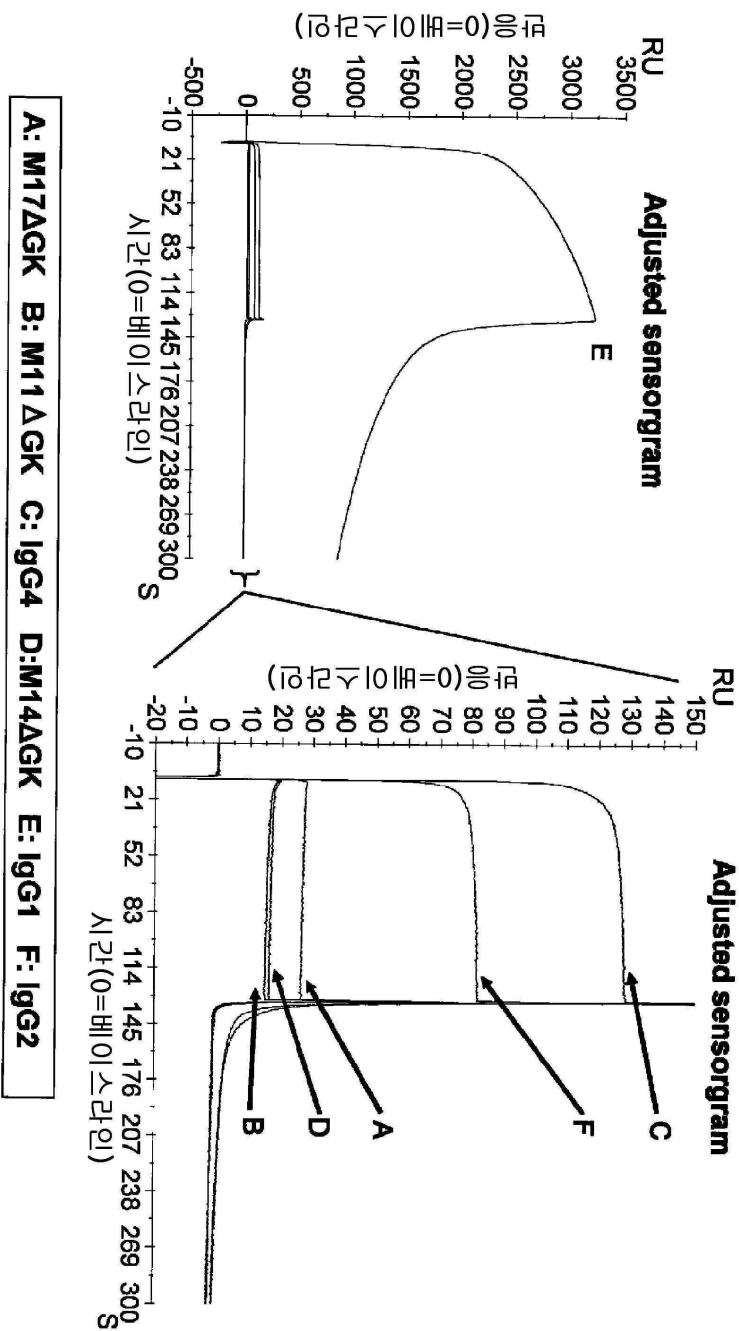
도면8



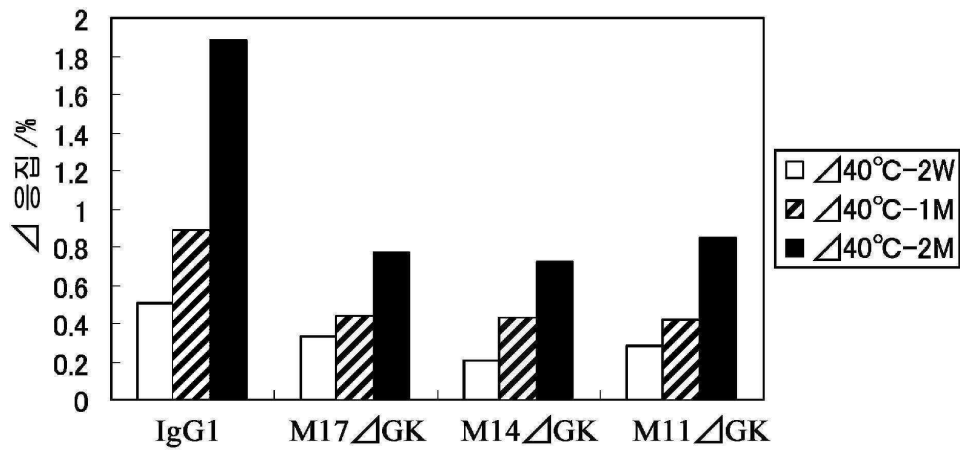
도면9



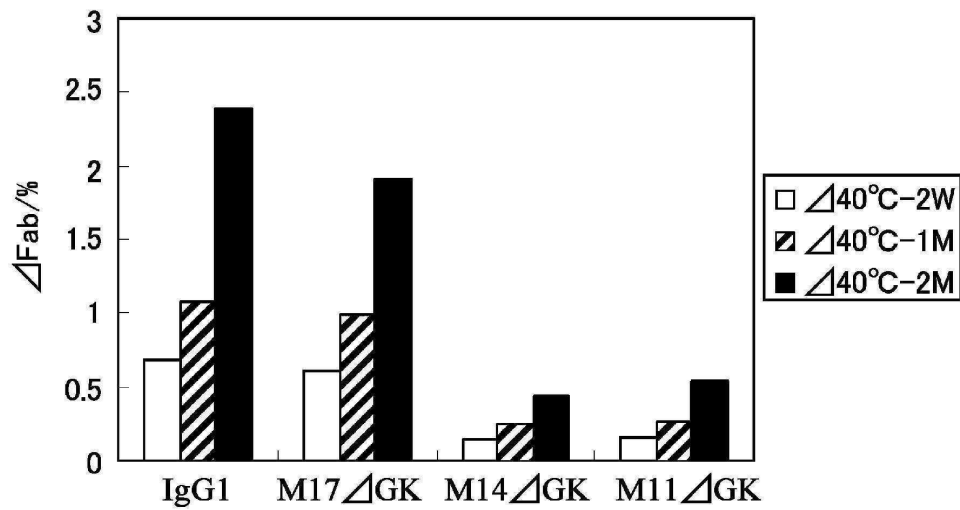
도면10



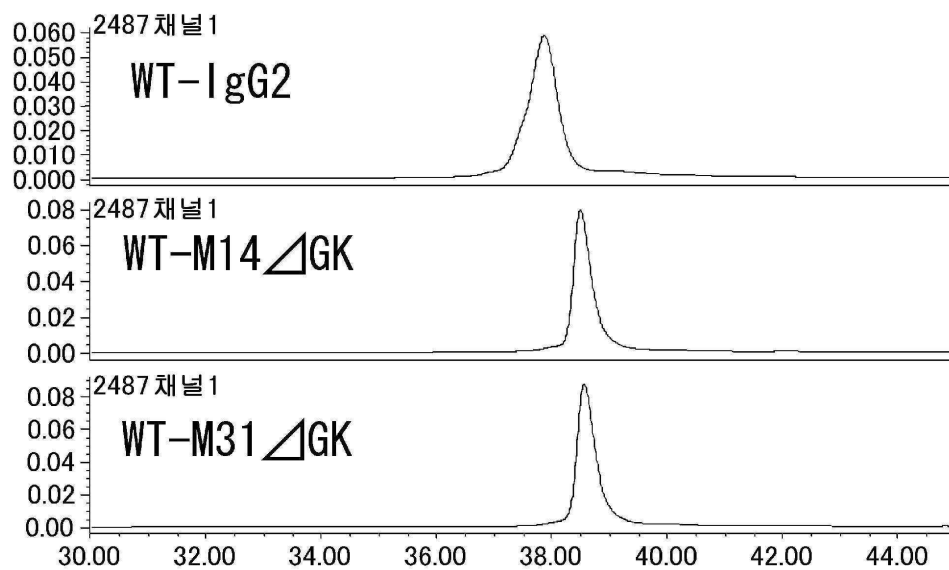
도면11



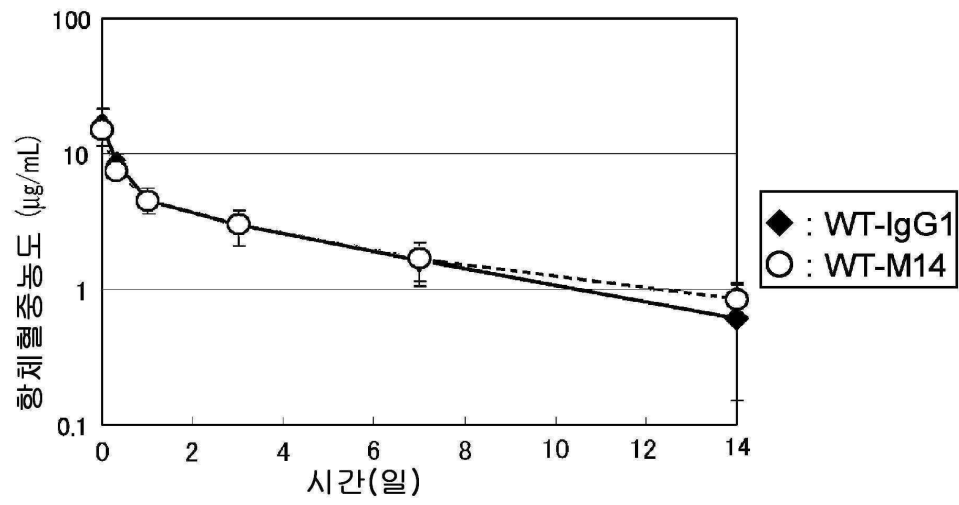
도면12



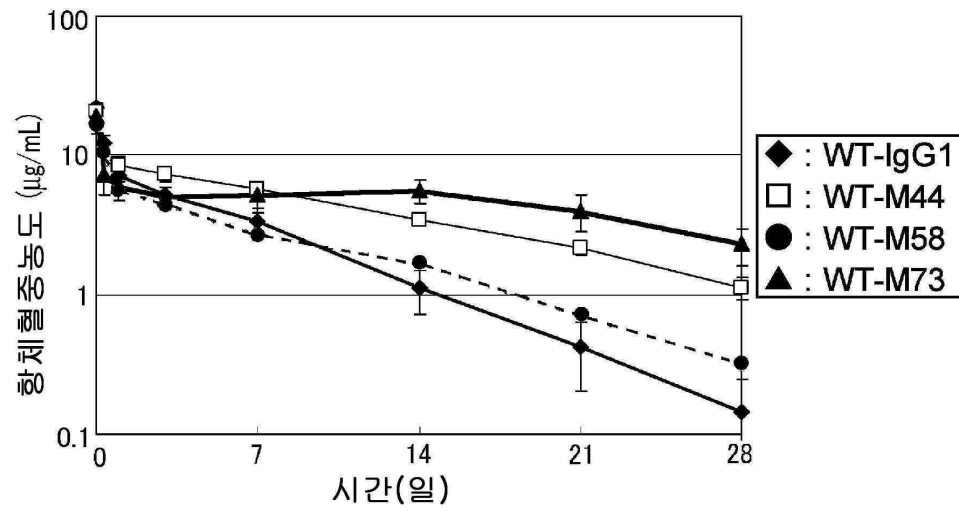
도면13



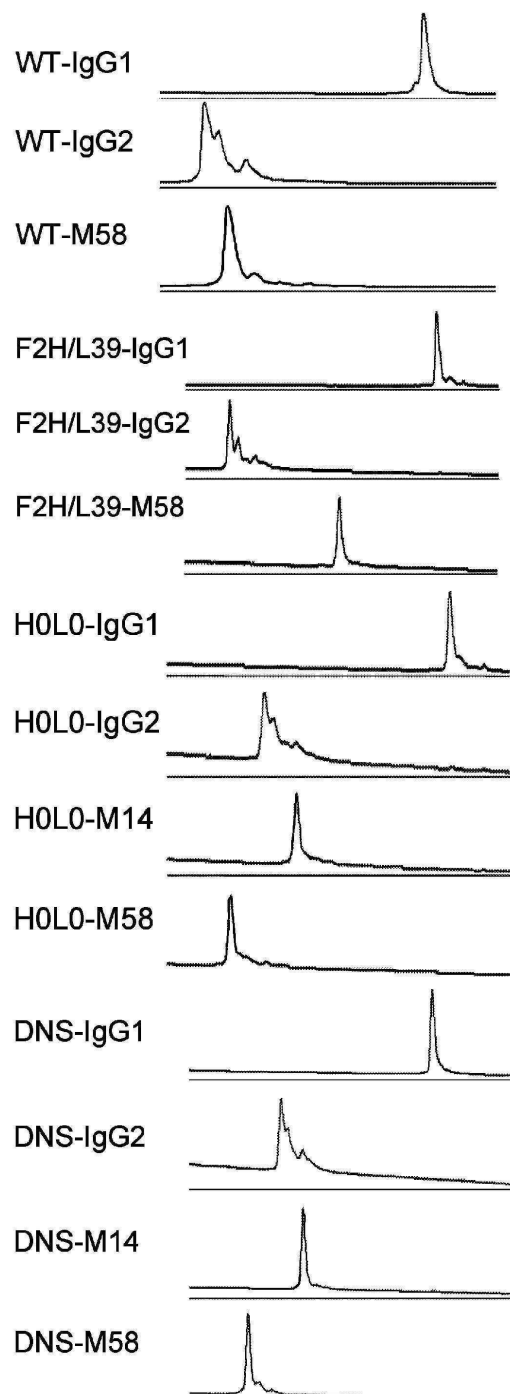
도면14



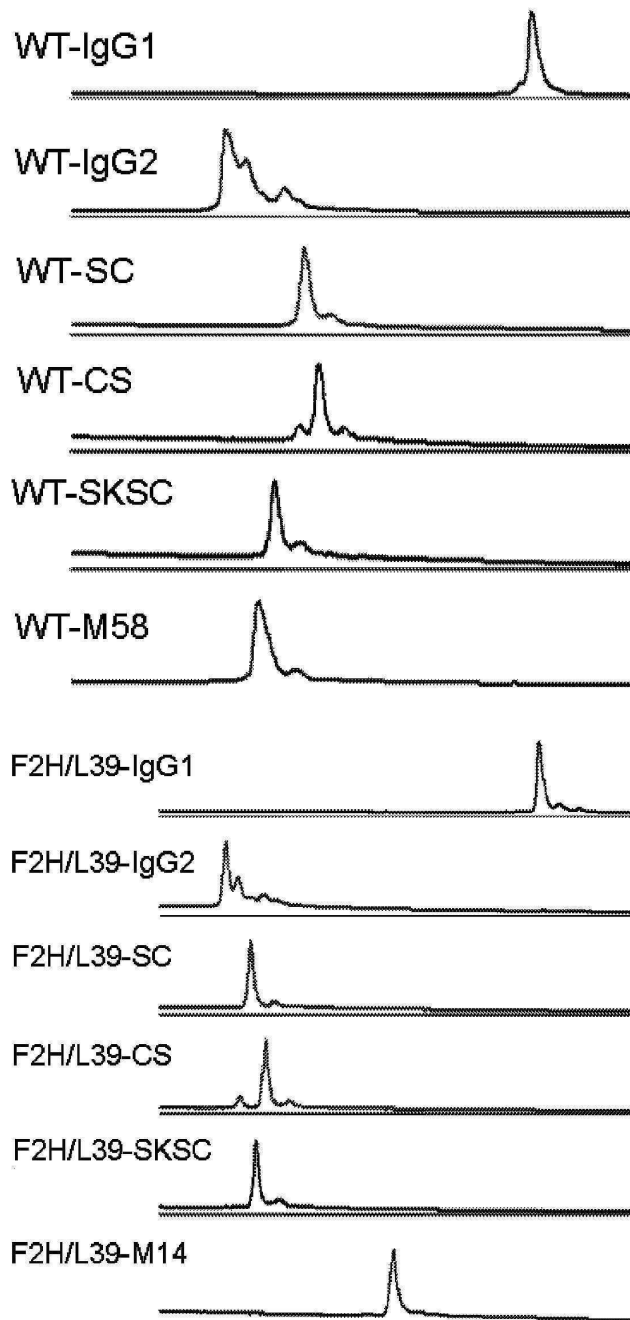
도면15



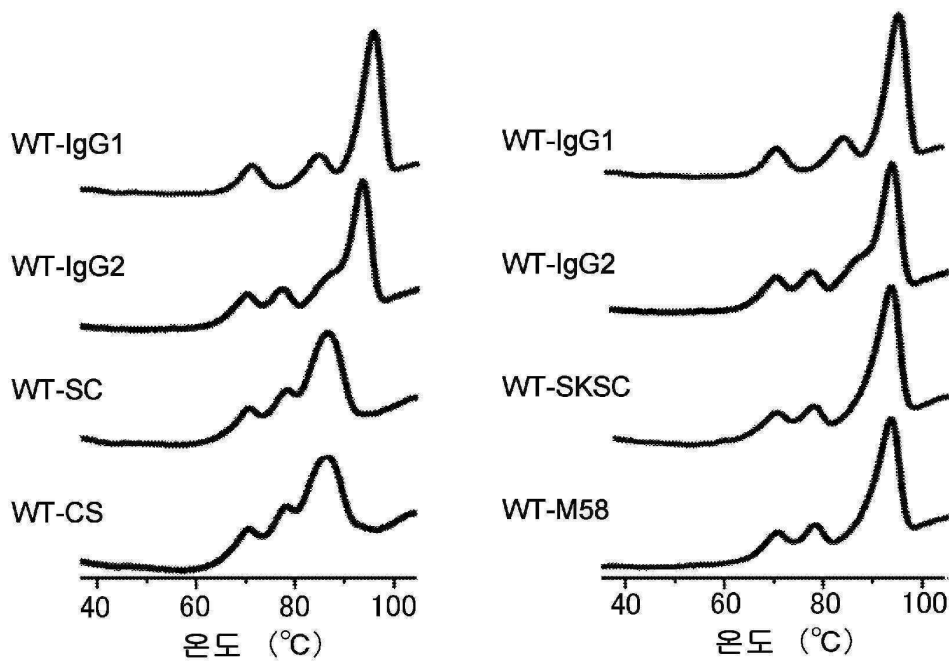
도면16



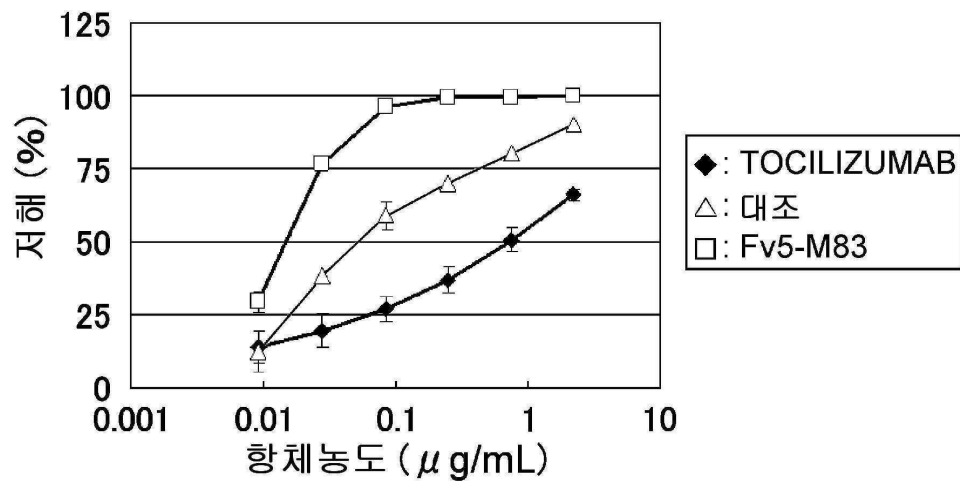
도면17



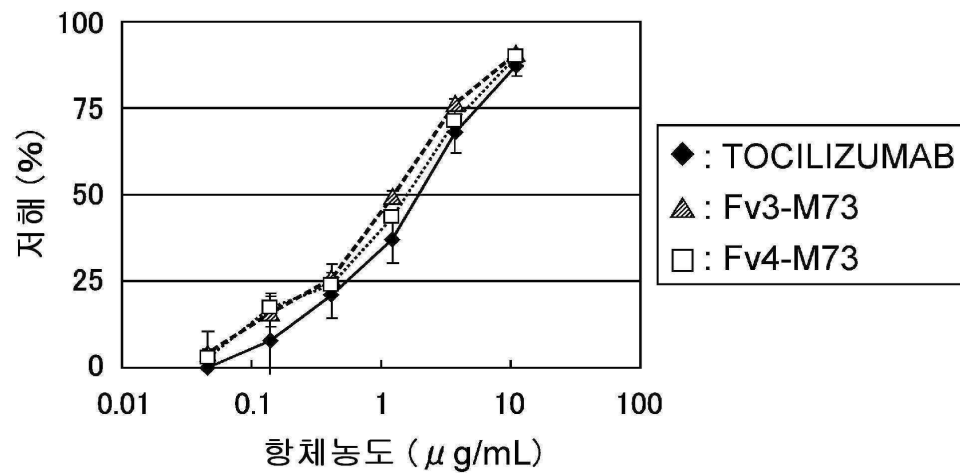
도면18



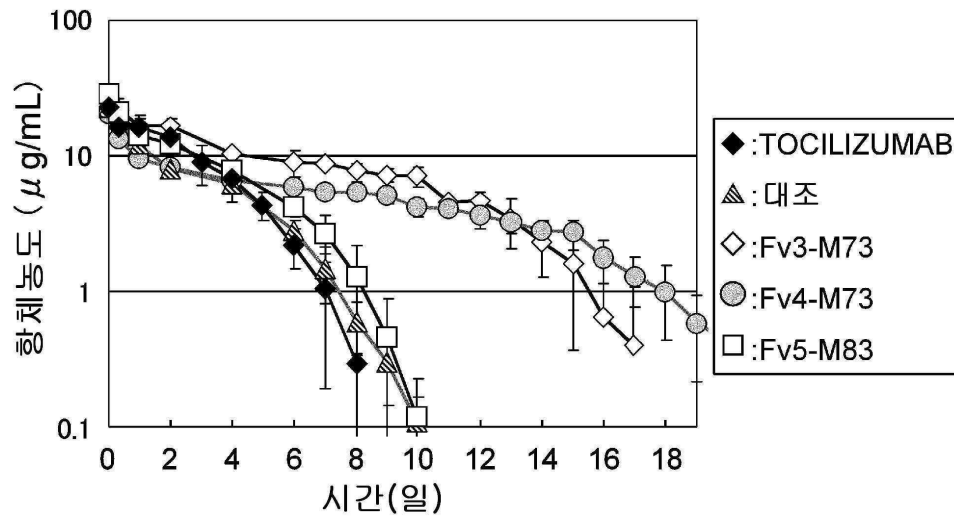
도면19



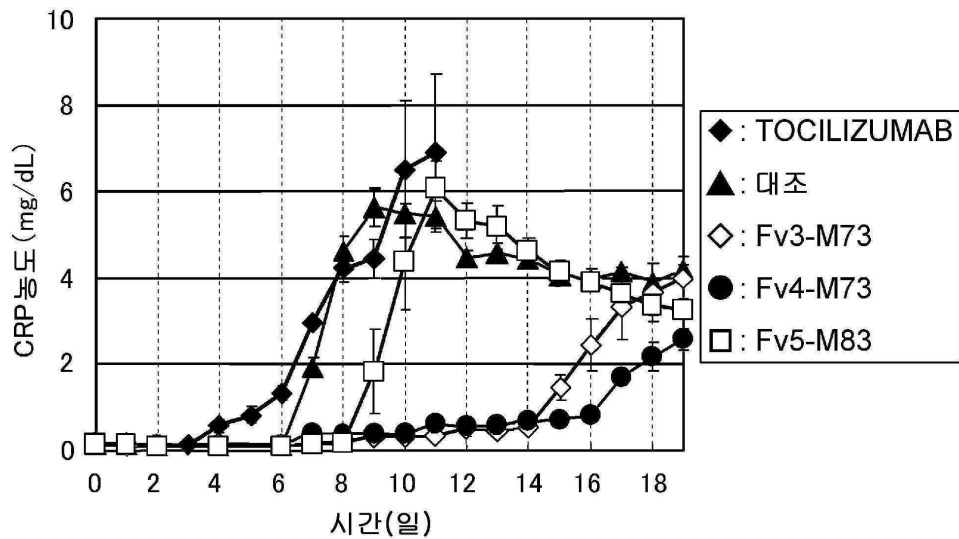
도면20



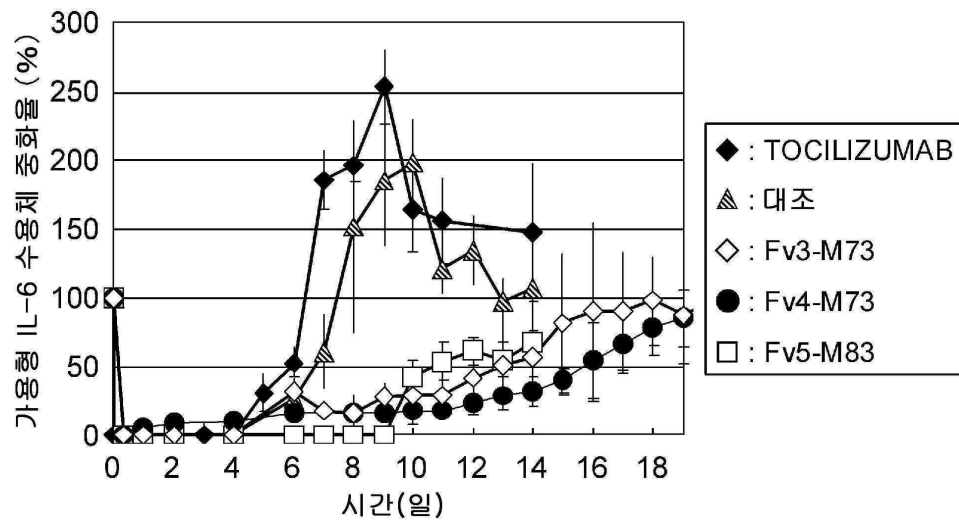
도면21



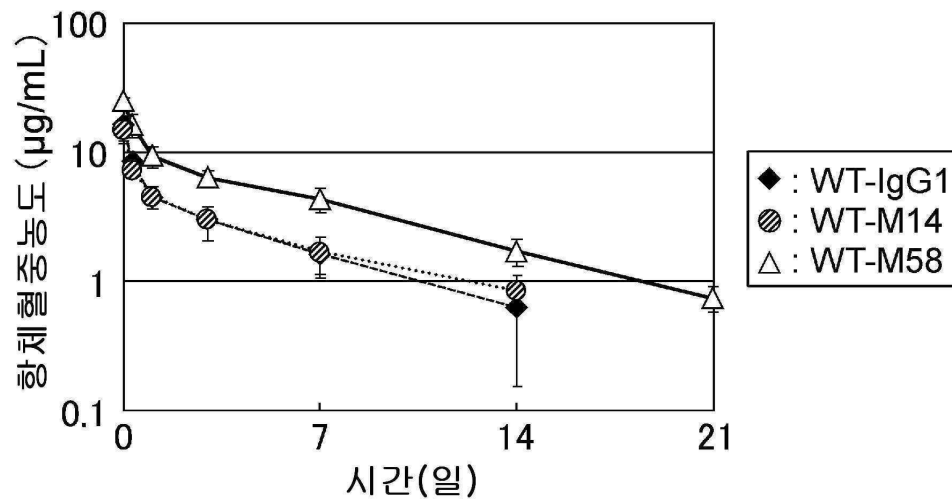
도면22



도면23



도면24



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

<120> Altered constant region of antibody

<130> C1-A0709P

<150> JP 2007-250147

<151> 2007-09-26

<160> 58

<170> PatentIn version 3.4

<210> 1

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50	55	60	
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
65	70	75	80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
	85	90	95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
	100	105	110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
	115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
	130	135	140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
	165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
	180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
	195	200	205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
	210	215	220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu			
225	230	235	240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
	245	250	255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn			
	260	265	270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe			
	275	280	285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn			
290	295	300	

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 325 330
 <210> 2
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
 1 5 10 15

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

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

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys
 325

<210> 3
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400

> 3

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

50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 115 120 125

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

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

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

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
325

<210> 4

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 4

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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 Arg 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 Lys
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys
 325
 <210> 5
 <211> 324
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 5
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr

 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser

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

 85 90 95
 Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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 Arg 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 Lys

 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro

<210> 6

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 6

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

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

65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 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 Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys
325

<210> 7

<211> 324

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 7

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

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

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

 Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 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 Lys

275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro

<210> 8

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 8

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Pro Val Ala 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 Lys
 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 Lys
 325

 <210> 9
 <211> 324
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 9
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15

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

 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Pro Val Ala 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 Lys

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

<210> 10

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ala Pro Pro Val Ala 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
Gly Leu Pro Ser Ser 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 Lys
325

<210> 11

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 11

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110
Pro Ala Pro Pro Val Ala 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
Gly Leu Pro Ser Ser 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
 325

<210> 12

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 12

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

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

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

115	120	125	
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			
130	135	140	
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
165	170	175	
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
180	185	190	
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro			
195	200	205	
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys			
210	215	220	
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro			
225	230	235	240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser			
245	250	255	
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp			
260	265	270	
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn			
275	280	285	
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val			
290	295	300	
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu			
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
325	330	335	
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
340	345	350	
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
355	360	365	

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 13

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 13

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

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

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 14

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 14

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

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

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

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350

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

355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430

 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440 445
 <210> 15
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 15
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile

 35 40 45
 Tyr Tyr Gly Ser Glu Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Asn Ser Leu Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu
 100 105

<210> 16

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 16

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240

Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255

Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300

Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
435 440 445

<210> 17

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 17

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430
Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435 440 445

<210> 18

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu

210	215	220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu		
225	230	235
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
245	250	255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln		
260	265	270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
275	280	285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu		
290	295	300
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
305	310	315
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
325	330	335
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
340	345	350
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
355	360	365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
370	375	380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly		
385	390	395
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
405	410	415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
420	425	430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
435	440	445
<210>	19	
<211>	443	

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu

210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440
 <210> 20
 <211> 446
 <212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

 Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

 Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400

 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

 <210> 21
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 21

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

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp

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

35 40 45
Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80
Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110
Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

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

130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu

210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu

225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln

 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

 325 330 335
 Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly

 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu
 435 440
 <210> 22
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 22

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

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

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

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu

225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255

 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320

 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380

 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440

 <210> 23
 <211> 15

 <212> PRT
 <213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 23

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 24

<211> 267

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

Ala Glu Ser His Leu Ser Leu Leu Tyr His Leu Thr Ala Val Ser Ser

1 5 10 15

Pro Ala Pro Gly Thr Pro Ala Phe Trp Val Ser Gly Trp Leu Gly Pro

20 25 30

Gln Gln Tyr Leu Ser Tyr Asn Ser Leu Arg Gly Glu Ala Glu Pro Cys

35 40 45

Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu

50 55 60

Thr Thr Asp Leu Arg Ile Lys Glu Lys Leu Phe Leu Glu Ala Phe Lys

65 70 75 80

Ala Leu Gly Gly Lys Gly Pro Tyr Thr Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys

85 90 95

Glu Leu Gly Pro Asp Asn Thr Ser Val Pro Thr Ala Lys Phe Ala Leu

100 105 110

Asn Gly Glu Glu Phe Met Asn Phe Asp Leu Lys Gln Gly Thr Trp Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

His Arg Leu Arg Glu His Leu Glu Arg Gly Arg Gly Asn Leu Glu Trp

165 170 175

Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys Ala Arg Pro Ser Ser Pro Gly

180 185 190
Phe Ser Val Leu Thr Cys Ser Ala Phe Ser Phe Tyr Pro Pro Glu Leu
195 200 205
Gln Leu Arg Phe Leu Arg Asn Gly Leu Ala Ala Gly Thr Gly Gln Gly
210 215 220

Asp Phe Gly Pro Asn Ser Asp Gly Ser Phe His Ala Ser Ser Ser Leu
225 230 235 240
Thr Val Lys Ser Gly Asp Glu His His Tyr Cys Cys Ile Val Gln His
245 250 255
Ala Gly Leu Ala Gln Pro Leu Arg Val Glu Leu
260 265

<210> 25

<211> 99

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Ile Gln Arg Thr Pro Lys Ile Gln Val Tyr Ser Arg His Pro Ala Glu
1 5 10 15

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

Arg Val Asn His Val Thr Leu Ser Gln Pro Lys Ile Val Lys Trp Asp
85 90 95
Arg Asp Met

<210> 26

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu

210	215	220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu		
225	230	235
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu		
245	250	255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln		
260	265	270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys		
275	280	285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu		
290	295	300
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys		
305	310	315
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys		
325	330	335
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser		
340	345	350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys		
355	360	365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln		
370	375	380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly		
385	390	395
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln		
405	410	415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn		
420	425	430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro		
435	440	
<210>	27	
<211>	449	

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240
 Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255
 Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270
 Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

 275 280 285
 Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300
 Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320
 Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335
 Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

 340 345 350
 Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365
 Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380
 Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445
 Lys

<210> 28

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 28

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

1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp

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

35 40 45
Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80
Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95
Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110
Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

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

130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190
Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
225 230 235 240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
245 250 255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
260 265 270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
275 280 285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
290 295 300
Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440
<210> 29
<211> 119

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 29

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

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

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

<210> 30

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 30

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

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

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

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly Asn Arg Leu Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu

100 105

<210> 31

<211> 120

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Asp Gly Tyr Asp Asp Gly Pro Tyr Thr Met Asp Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser

115 120

<210> 32

<211> 107

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 32

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Phe
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asn Ala Lys Thr Leu Ala Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Glu Ser Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105
<210> 33
<211> 122
<212> PRT
<213> Mus musculus
<400> 33
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Gly Ile Thr Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Pro Gly Thr Thr Val Ile Met Ser Trp Phe Asp Pro Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 34

<211> 108

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 34

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105

<210> 35

<211> 324

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 35

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

1 5 10 15

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

20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45

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

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

<210> 36

<211> 330

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 36

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
 100 105 110
 Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
 115 120 125
 Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
 130 135 140

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

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

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

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

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

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

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

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

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 37

<211> 324

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 37

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

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

 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95
 Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Pro Val Ala 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 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 Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
 305 310 315 320
 Ser Leu Ser Pro

<210> 38

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 38

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

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

Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220
 Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys
 325

 <210> 39
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 39

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys
325

<210> 40

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 40

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

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

Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210

215

220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275

280

285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys

325

<210> 41

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 41

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

275 280 285

Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys

355 360 365

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

370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly

385 390 395 400

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

405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

435 440 445

<210> 42

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 42

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

1 5 10 15

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

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

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

180 185 190

Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Ser Val Glu

210 215 220

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

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

 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415

 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 43
 <211> 328
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 43

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

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

 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 290 295 300
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr
 305 310 315 320
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 325

 <210> 44
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

 <400> 44
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Asp Asp
 20 25 30
 His Ala Val Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Thr Leu
 50 55 60

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

100	105	110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe		
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu		
130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp		
145	150	155
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu		
165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser		
180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350

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

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400
 Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415
 Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430
 Ala Leu His Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445

<210> 45

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 45

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

Tyr Tyr Gly Ser Glu Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly Asn Arg Leu Pro Tyr
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu 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> 46

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 46

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

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp

20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

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

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

 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys

325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
 340 345 350
 Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly

 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440
 <210> 47
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence

 <400> 47
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Thr Asp Ile Ser Ser His
 20 25 30
 Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Tyr Gly Ser His Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ala
 65 70 75 80
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gln Gly Asn Arg Leu Pro Tyr

85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Glu 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> 48

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 48

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp

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

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

 85 90 95
 Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Glu Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu

 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
 305 310 315 320

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Ala
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 49
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
<400> 49

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Arg Asp Ile Ser Ser His
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Gly Ser His Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

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

65						70						75					80
Glu	Asp	Ala	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gly	Gln	Gly	Asn	Arg	Leu	Pro	Tyr		
				85					90					95			
Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Glu	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>	50																
<211>	445																
<212>	PRT																
<213>	Artificial																
<220><223>	An artificially synthesized peptide sequence																
<400>	50																
Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Pro	Gly	Leu	Val	Arg	Pro	Ser	Gln		
1			5				10					15					
Thr	Leu	Ser	Leu	Thr	Cys	Thr	Val	Ser	Gly	Tyr	Ser	Ile	Thr	Ser	Asp		
		20					25				30						
His	Ala	Trp	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Pro	Pro	Gly	Arg	Gly	Leu	Glu	Trp		

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
 50 55 60
 Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
 65 70 75 80
 Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu
 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys
 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu

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

355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn

420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 51

<211> 443

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 51

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 1 5 10 15
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
 20 25 30

His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
 35 40 45
 Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu

50	55	60	
Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser			
65	70	75	80
Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly			
	100	105	110
Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe			
	115	120	125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu			
	130	135	140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp			
145	150	155	160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu			
	165	170	175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser			
	180	185	190
Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro			
	195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu			
210	215	220	
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu			
225	230	235	240
Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu			
	245	250	255
Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln			
	260	265	270
Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys			
	275	280	285
Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu			
290	295	300	

Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys
305 310 315 320
Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335
Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350
Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365
Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380
Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400
Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415
Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430
His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440
<210> 52
<211> 445
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> An artificially synthesized peptide sequence
<400> 52
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30
His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

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

 85 90 95
 Ala Arg Ser Leu Ala Arg Thr Thr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Ser Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu

 210 215 220
 Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu
 225 230 235 240
 Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu
 245 250 255
 Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln
 260 265 270
 Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys

 275 280 285
 Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu
 290 295 300
 Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys

305 310 315 320
 Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
 325 330 335
 Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser

 340 345 350
 Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
 355 360 365
 Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
 370 375 380
 Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
 385 390 395 400
 Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln

 405 410 415
 Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
 420 425 430
 His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445
 <210> 53
 <211> 443
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220><223> An artificially synthesized peptide sequence
 <400> 53
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln
 1 5 10 15

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

65				70				75				80			
Leu	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Thr	Ala	Ala	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85				90				95			
Ala	Arg	Ser	Leu	Ala	Arg	Thr	Thr	Ala	Met	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly
				100				105				110			
Ser	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe
				115				120				125			
Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu
130				135				140							
Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp
145				150				155				160			
Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu
				165				170				175			
Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser
				180				185				190			
Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro
195				200				205							
Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Ser	Cys	Val	Glu
210				215				220							
Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu
225				230				235				240			
Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu
				245				250				255			
Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln
260				265				270							
Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys
275				280				285							
Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu
290				295				300							
Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys
305				310				315				320			

Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys
325 330 335

Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser
340 345 350

Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys
355 360 365

Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln
370 375 380

Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly
385 390 395 400

Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln
405 410 415

Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn
420 425 430

His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440

<210> 54

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 54

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

1 5 10 15

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

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

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

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

[illegible]

325

<210> 55

<211> 324

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro

100 105 110

Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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 Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285
 Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro

<210> 56

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 56

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
 50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
 65 70 75 80
 Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
 85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Ser Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 100 105 110
 Pro Val Ala 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 His 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 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val 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
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu
 210 215 220

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
 275 280 285

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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	Pro	Gly	Lys										
325															
<210>	57														
<211>	324														
<212>	PRT														
<213>	Artificial														
<220><223>	An artificially synthesized peptide sequence														
<400>	57														
Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys
1	5				10				15						
Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr
20			25			30									
Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser
35			40			45									
Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser
50			55			60									
Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr
65	70				75				80						
Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys
85			90			95									
Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Ser	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
100			105			110									
Pro	Val	Ala	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	His	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	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	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
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu

210 215 220
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg 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 Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro

<210> 58

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> An artificially synthesized peptide sequence

<400> 58

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

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Tyr Ser Ile Thr Ser Asp
20 25 30

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

Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Thr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Met Leu Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Arg Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

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

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

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290	295	300	
Val Ser Val Leu Thr	Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315	320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys			
	325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr			
	340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr			
	355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu			
	370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu			
385	390	395	400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys			
	405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu			
	420	425	430
Ala Leu His Ala His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro			
	435	440	445