(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0026998
(43) 공개일자 2024년02월29일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/12 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01) *A61P 1/00* (2006.01)
A61P 29/00 (2023.01) *A61P 31/04* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/1282 (2013.01)
A61K 9/19 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7001365
(22) 출원일자(국제) 2022년06월30일
심사청구일자 없음
(85) 번역문제출일자 2024년01월12일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2022/026399
(87) 국제공개번호 WO 2023/277166
국제공개일자 2023년01월05일
(30) 우선권주장
JP-P-2021-110423 2021년07월02일 일본(JP)

(71) 출원인
고쿠리츠다이가쿠호우진 도쿄다이가쿠
일본, 도쿄, 분쿄구, 혼고 7-쵸메 3-1
(72) 발명자
신쿠라 레이코
일본국 113-8654 도쿄토 분쿄쿠 혼고 7쵸메 3반 1고 고쿠리츠다이가쿠호우진 도쿄다이가쿠 나이
모리타 나오키
일본국 113-8654 도쿄토 분쿄쿠 혼고 7쵸메 3반 1고 고쿠리츠다이가쿠호우진 도쿄다이가쿠 나이
타마노 류타로
일본국 113-8654 도쿄토 분쿄쿠 혼고 7쵸메 3반 1고 고쿠리츠다이가쿠호우진 도쿄다이가쿠 나이
(74) 대리인
김성호

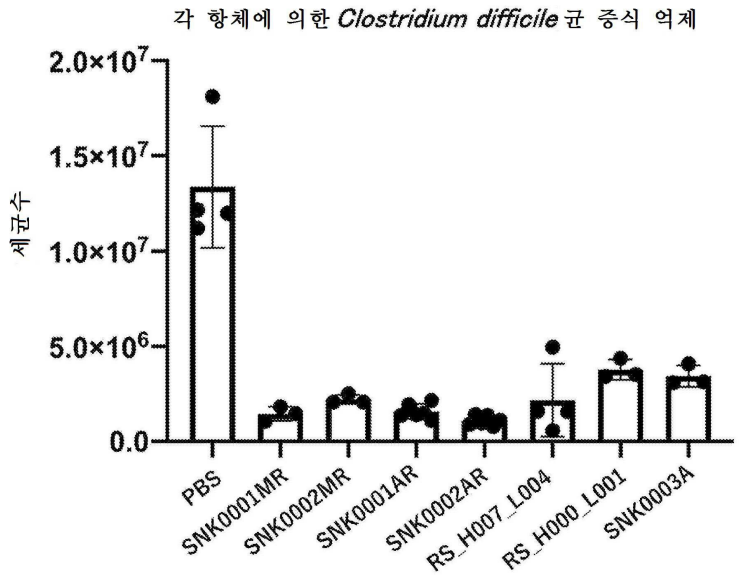
전체 청구항 수 : 총 11 항

(54) 발명의 명칭 **클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하기 위한 모노클로날 항체 함유 조성물**

(57) 요 약

본 발명은, 클로스트리듐·디피실균(Clostridium difficile균(C. difficile균))의 증식을 억제하기 위한, 클로스트리듐·디피실 생체균에 결합하는 모노클로날 항체를 함유하는 조성물 및 그 사용에 관한 것이다. 본 발명은 또한, 염증성 장 질환을 치료하기 위한 당해 조성물 및 그 사용을 개시한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
A61P 1/00 (2018.01)
A61P 29/00 (2023.02)
A61P 31/04 (2018.01)
A61K 2039/505 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을 함유하는, 생체 내에서 클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하기 위한 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서,

염증성 장 질환의 치료를 위하여 사용되는, 조성물.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서,

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가, 푸소박테리움 뉴클레아툼 세균체에 더 결합하는, 조성물.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

a)

배열 번호 7로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄(重鎖) 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

배열 번호 8로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄(輕鎖) 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체;

b)

배열 번호 17로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

배열 번호 18로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체;

c)

배열 번호 27로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

배열 번호 28로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체; 또는

d)

배열 번호 37로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

배열 번호 38로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체; 또는

e)

배열 번호 37로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

배열 번호 38로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 참조 항체에 대하여,

중쇄 CDR1 ~ 3, 경쇄 CDR1 ~ 3 및 경쇄 FR1로부터 선택되는 적어도 하나의 영역에 있어서, 적어도 하나의 아미노산 변이를 가지고,

대장균 SHMT 단백질 중의 아미노산 배열 RQEEHIELIAS 및 C. difficile의 iPGM 단백질 중의 아미노산 배열 VLDMMKLEKPE에 결합하는 항체

인, 조성물.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

배열 번호 1로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

배열 번호 2로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

배열 번호 3으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

배열 번호 4로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

배열 번호 5로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2, 및

배열 번호 6으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, 조성물.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

배열 번호 11로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

배열 번호 12로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

배열 번호 13으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

배열 번호 14로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

배열 번호 15로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2, 및

배열 번호 16으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, 조성물.

청구항 7

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

배열 번호 21로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

배열 번호 22로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

배열 번호 23으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

배열 번호 24로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

배열 번호 25로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2, 및

배열 번호 26으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, 조성물.

청구항 8

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

배열 번호 31로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

배열 번호 32로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

배열 번호 34로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

배열 번호 35로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

배열 번호 36으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, 조성물.

청구항 9

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

배열 번호 37로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

배열 번호 38로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 참조 항체에 대하여,

중쇄 CDR1 ~ 3, 경쇄 CDR1 ~ 3 및 경쇄 FR1로부터 선택되는 적어도 하나의 영역에 있어서, 적어도 하나의 아미노산 변이를 가지고,

대장균 SHMT 단백질 중의 아미노산 배열 RQEEHIELIAS 및 C. difficile의 iPGM 단백질 중의 아미노산 배열 VLDMMKLEKPE에 결합하는 항체인, 조성물.

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

X_1YYIH의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

RIDPENX_2X_3TTYAPKFQ의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, YCARSTVL의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

RX_4SQSIVHTNG의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

KLLIYKV의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

GVYYFQGS의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고,

경쇄 FR1이,

TPLSLPVSLGDQA의 아미노산 배열 또는

$SPASX_5SVSLGDRX_6$의 아미노산 배열을 포함하고,

X_1, X_2, X_3은 각각 독립적으로 중성 극성 아미노산 또는 산성 극성 아미노산이고, X_4는 비극성 아미노산 또는 중성 극성 아미노산이고, X_5, X_6은 각각 독립적으로 비극성 아미노산인 항체인, 조성물.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서,

동결 건조제로서 제공되는, 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은, 클로스트리듐·디피실균(Clostridium difficile균(C. difficile균))의 증식을 억제하기 위한, 클로스트리듐·디피실 생체균에 결합하는 모노클로날 항체를 함유하는 조성물 및 그 사용에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 장관 내는, 생체에 있어서는 말하자면 「체외」에 해당되기 때문에, 매우 다종, 또한 다수의 장내 상주 세균, 바이러스, 음식 유래 등의 항원에, 항상 노출된 상태가 되어 있다. 이와 같은 장내 상주 세균은, 장내 세균총을 형성하고 있다.

[0003] 이 장내 세균총은, 장 상피 세포 등으로 구성되는 점막면을 통하여, 생체에 대하여 다양한 기능을 다하고 있는 것이 밝혀져 있고, 장내 세균이 존재하지 않으면 장관 면역계가 정상적으로 발달하지 않는 것도 알고 있다(비특허문헌 1 ~ 3).

[0004] 장내 세균총이 변화하여 숙주(宿主)와의 공생 관계가 무너지면, 장관 면역계가 과잉으로 자극되어 그 항상성이 파탄되고, 나아가서는 염증성 장 질환, 대장암, 천식, 알레르기, 비만 등이라고 하는 많은 질환이 유발되어 버린다. 이와 같은 것으로부터, 장관 면역계는 병원체 등을 배제할 뿐만 아니라, 면역계 전체의 항상성의 유지에 중요한 역할을 담당하고 있는 것이 알려져 있다(비특허 문헌 4 ~ 7).

[0005] 종래, 항생 물질을 이용하여 장내 세균총을 제어하려는 시도가 다수 행하여져 왔지만, 항생제 내성균의 문제로 효과가 없게 되는 것이 문제점으로 거론되고 있다. 따라서, 종래의 시도에도 불구하고, 여전히 디피실 장염이나, 그 외의 장내 세균총에 관련되는 염증성 장 질환으로 괴로워하는 환자가 다수 존재한다. 또한, 비교적 새로운 어프로치로서, 분변 이식 등이 시도되고 있지만, 그 치료 효과는 안정되어 있지 않다. 그 결과, 이미 몇 가지의 시도에서는 치료법으로서의 개발이 중지되어 있다. 또한, 종래, 장내 세균총이 방출하는 독소에 대한 항체를 치료약으로서 이용하는 것이 연구되고, 상품화되고 있다. 그렇지만, 당해 항체 의약은, 어디까지나 독소에 대하는 것이기 때문에, 이것을 이용한 치료법은 대처 요법에 지나지 않는다. 따라서, 장내 세균총에 관련되는 염증성 장 질환을 근본적으로 치료하기 위한 의약의 개발이 요망되고 있었다.

[0006] 염증성 장 질환에 관계하는 C. difficile균은, 원내 감염을 일으키는 균으로서, MRSA와 함께 주의가 필요한 균이다. 실제, 미국의 통계에서는, 매년 40 ~ 50만명 정도가 감염되고, 15000 ~ 20000명 정도가 사망하고 있다. C. difficile균 감염은 많은 경우, 항생 물질을 장기 투여하고 있는 환자에게 발생하는 것, 한 번 이환되면, 재발생하는 확률이 15 ~ 35%로 높은 질환인 점에서, 염증성 장 질환 관련 세균 중에서도, 특히 유효한 치료가 요구되고 있다. 현상(現狀)에서는 반코마이신 등 강력한 항생 물질에 의한 치료가 행하여지고 있지만, 원래 균의 독소는 남아 버리는 것, 항생 물질 내성을 가지는 균의 발생을 조장하는 것으로부터, 대체 수법이 요구되고 있다.

선행기술문헌

비특허문헌

[0007] (비특허문헌 0001) Cerf-Bensussan N, and Gaboriau-Routhiau V., Nat Rev Immunol 2010; 10 : 735

(비특허문헌 0002) Hooper LV, and Macpherson AJ., Nat Rev Immunol 2010; 10 : 159

(비특허문헌 0003) Round JL, and Mazmanian SK, Proc Natl Acad Sci USA 2010; 107 : 12204

(비특허문헌 0004) Vijay-Kumar M, et al., Science 2010; 328 : 228

(비특허문헌 0005) Shulzhenko N, et al., Nat Med 2011; 17 : 1585

(비특허문헌 0006) Bry L, et al., Science 1996; 273 : 1380

(비특허문헌 0007) Turnbaugh PJ, et al., Nature 2006; 444 : 1027

발명의 내용

해결하려는 과제

[0008] 본 발명은, 생체 내에 있어서의 클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하고, 염증성 장 질환의 치료에 사용되는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편, 및 이것들을 포함하는 조성물 및 이것들을 사용하는 방법을 제공하는 것을 과제로 한다.

과제의 해결 수단

[0009] 본 발명의 발명자들이 예의(鋭意) 연구를 진행시킨 결과, 클로스트리듐·디피실 생체균에 결합하는 모노클로날 항체를 이용하는 것에 의하여, 생체 내에 있어서의 클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하고, 염증성 장 질환을 치료할 수 있는 것을 찾아냈다.

[0010] 본 발명은 일 태양(態様)에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을 함유하는, 생체에 있어서의 클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하는 조성물, 혹은, 염증성 장 질환의 치료를 위하여 사용되는 조성물을 제공한다.

[0011] 본 발명은 일 태양에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을 함유하는, 생체 내에서 클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하기 위한 조성물을 제공한다.

[0012] 본 발명은 일 태양에 있어서, 개체에 있어서의 클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하는 방법이고, 유효량의 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을, 상기 개체에 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0013] 본 발명은 일 태양에 있어서, 개체에 있어서의 염증성 장 질환을 치료하는 방법이고, 유효량의 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을, 상기 개체에 투여하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0014] 본 발명은 보다 구체적으로는 이하를 제공한다.

[0015] [항목 1]

[0016] 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을 함유하는, 생체 내에서 클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하기 위한 조성물.

[0017] [항목 2]

[0018] 항목 1에 있어서, 염증성 장 질환의 치료를 위하여 사용되는, 조성물.

[0019] [항목 3]

[0020] 항목 1 또는 2에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가, 푸소박테리움 뉴클레아툼 세균체에 더 결합하는, 조성물.

[0021] [항목 4]

[0022] 항목 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

[0023] a)

[0024] 배열 번호 7로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄(重鎖) 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0025] 배열 번호 8로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄(輕鎖) 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체;

[0026] b)

[0027] 배열 번호 17로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0028] 배열 번호 18로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체;

[0029] c)

[0030] 배열 번호 27로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0031] 배열 번호 28로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체; 또는

[0032] d)

[0033] 배열 번호 37로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0034] 배열 번호 38로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체; 또는

[0035] e)

[0036] 배열 번호 37로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

[0037] 배열 번호 38로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 참조 항체에 대하여,

[0038] 중쇄 CDR1 ~ 3, 경쇄 CDR1 ~ 3 및 경쇄 FR1로부터 선택되는 적어도 하나의 영역에 있어서, 적어도 하나의 아미노산 변이를 가지고,

[0039] 대장균 SHMT 단백질 중의 아미노산 배열 RQEEHIELIAS 및 C. difficile의 iPGM 단백질 중의 아미노산 배열 VLDMMKLEKPE에 결합하는 항체

[0040] 인, 조성물.

[0041] [항목 5]

[0042] 항목 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

[0043] 배열 번호 1로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0044] 배열 번호 2로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0045] 배열 번호 3으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

[0046] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0047] 배열 번호 4로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0048] 배열 번호 5로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2, 및

[0049] 배열 번호 6으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

[0050] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, 조성물.

[0051] [항목 6]

[0052] 항목 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

[0053] 배열 번호 11로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0054] 배열 번호 12로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0055] 배열 번호 13으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

[0056] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0057] 배열 번호 14로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0058] 배열 번호 15로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2, 및

[0059] 배열 번호 16으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

[0060] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, 조성물.

[0061] [항목 7]

[0062] 항목 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

[0063] 배열 번호 21로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0064] 배열 번호 22로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0065] 배열 번호 23으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

[0066] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0067] 배열 번호 24로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0068] 배열 번호 25로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2, 및

[0069] 배열 번호 26으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

[0070] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, 조성물.

[0071] [항목 8]

[0072] 항목 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

[0073] 배열 번호 31로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0074] 배열 번호 32로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0075] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

[0076] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

[0077] 배열 번호 34로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0078] 배열 번호 35로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0079] 배열 번호 36으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

[0080] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체인, 조성물.

[0081] [항목 9]

[0082] 항목 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

[0083] 배열 번호 37로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

[0084] 배열 번호 38로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 참조 항체에 대하여,

[0085] 중쇄 CDR1 ~ 3, 경쇄 CDR1 ~ 3 및 경쇄 FR1로부터 선택되는 적어도 하나의 영역에 있어서, 적어도 하나의 아미노산 변이를 가지고,

[0086] 대장균 SHMT 단백질 중의 아미노산 배열 RQEEHIELIAS 및 C. difficile의 iPGM 단백질 중의 아미노산 배열 VLDMMKLEKPE에 결합하는 항체인, 조성물.

[0087] [항목 10]

[0088] 항목 1 내지 3 중 어느 한 항에 있어서, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

[0089] X_1YYIH의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0090] RIDPENX$_2$X$_3$TTYAPKFQ의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, YCARSTVL의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0091] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0092] RX$_4$SQSIVHTNG의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0093] KLLIYKV의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0094] GVYYFQGS의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

[0095] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고,

[0096] 경쇄 FR1이,

[0097] TPLSLPVSLGDQA의 아미노산 배열 또는

[0098] SPASX$_5$SVSLGDRX$_6$의 아미노산 배열을 포함하고,

[0099] X_1, X_2, X_3은 각각 독립적으로 중성 극성 아미노산 또는 산성 극성 아미노산이고, X_4는 비극성 아미노산 또는 중성 극성 아미노산이고, X_5, X_6은 각각 독립적으로 비극성 아미노산인 항체인, 조성물.

[0100] [항목 11]

[0101] 항목 1 내지 10 중 어느 한 항에 있어서, 동결 건조제로서 제공되는, 조성물.

발명의 효과

[0102] 본 발명은, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을 함유하는, 생체에 있어서의 클로스트리듐·디피실균의 증식을 억제하는 조성물, 혹은, 염증성 장 질환의 치료를 위하여 사용되는 조성물을 제공한다, 라고 하는 효과를 가져온다.

도면의 간단한 설명

[0103] 도 1은, C. difficile 세균체에 결합하는 항체에 의한 C. difficile균 증식 억제 효과를 도시하는 도면이다.

도 2는, C. difficile 세균체에 결합하는 항체에 의한 C. difficile 감염 억제 효과를 도시하는 도면이다. C. difficile 세균체에 결합하는 항체로서, SNK0002M 및 W27G2를 이용한 결과를 도시한다.

도 3은, C. difficile 세균체에 결합하는 항체에 의한 C. difficile 감염 억제 효과를 도시하는 도면이다. C. difficile 감염 후 4일 후(좌 패널) 및 10일 후(우 패널)에 있어서의, 분변 중의 C. difficile 생균수를 도시한다. C. difficile 세균체에 결합하는 항체로서 SNK0002M 및 W27G2를 이용한 결과를 도시한다.

도 4는, C. difficile 세균체에 결합하는 항체의, 대장암 원인균이라고 생각되고 있는 푸소박테리움 뉴클레아툼(Fusobacterium nucleatum)에 대한 증식 억제 효과를 도시하는 도면이다. C. difficile 세균체에 결합하는 항체로서, 항체 SNK0001M, SNK0003A, SNK0001MR, SNK0002MR, SNK0001AR, SNK0002AR 및 RS_H000_L001을 이용한 결과를 도시한다.

도 5는 C. difficile균의 항원 분자를 특정하였을 때의 2차원 전기 영동 데이터를 도시하는 도면이다. 3종의 SDS-PAGE 화상 중의 동일한 스폿을 빨강 화살표로 도시한다. 당해 스폿으로부터 얻어진 시료에 관하여, 질량 분석을 실시하였다.

도 6은, 각종 합성 펩티드에 대한 W27G2 항체의 웨스턴 블롯과 CBB 염색의 결과를 도시하는 도면이다. 회색의 문자는 각 세균종으로 공통의 아미노산 배열을 도시한다. 밑줄은 W27G2 항체가 인식한 합성 펩티드를 도시한다.

도 7은, 각종 합성 펩티드에 대한 W27G2 항체의 웨스턴 블롯과 CBB 염색의 결과를 도시하는 도면이다. 회색의 문자는 각 세균종으로 공통의 아미노산 배열을 도시한다. 밑줄은 W27G2 항체가 인식한 합성 펩티드를 도시한다.

도 8은, W27G2 항체가 인식하는 대장균의 SHMT의 에피토프를 공유하는 세균을 데이터베이스 해석한 결과의 일부를 도시하는 도면이다.

도 9는, RS_H000_L000GR Fab - E. coli SHMT (25-45)의 결정을 도시하는 도면이다.

도 10은, RS_H000_L000GR Fab-C. difficile iPGM (486-509) 복합체의 결정을 도시하는 도면이다.

도 11은, W27G2 항체와 대장균 SHMT 항원의 결합 양식(좌) 및, W27G2 항체와 C. difficile 세균 iPGM 항원의 결합 양식을 도시하는 3차원 재구성 화상이다.

도 12는, W27G2 항체와 대장균 SHMT 항원의 결합 양식(좌) 및, W27G2 항체와 C. difficile 세균 iPGM 항원의 결합 양식을 도시하는 3차원 재구성 화상이다.

도 13은, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체인 W27G2 항체의 변이체의 중쇄 가변 영역의 아미노산 배열을 정렬한 것이다.

도 14는, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체인 W27G2 항체의 변이체의 경쇄 가변 영역의 아미노산 배열을 정렬한 것이다.

도 15는 RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체를 비환원형 SDS-PAGE에 공급하고, 쿠마시 블루 염색을 행한 결과를 도시하는 도면이다. 레인 1은, W27G2 하이브리도마 배양액으로부터 하이드록시아파타이트 컬럼에 의하여 조정제(粗精製)된 항체 샘플의 결과를 도시한다. 레인 2 ~ 14는, CHO 세포에 의하여 산생(産生)된 각종 RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체(W27G2 항체에 대하여, 항원 특이성을 실질적으로 변경하지 않도록 중쇄 또는 경쇄에 변이를 도입하여, CHO 세포로 산생된 항체를, RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체. 도 15에 있어서 상세는 생략한다) 샘플의 결과를 도시한다.

도 16은, 하이브리도마로부터 얻어진 W27G2 항체 및 각종 RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체의, 대장균 SHMT 및 SHMT 변이체에 대한 결합을 도시하는 도면이다.

도 17은, W27G2 항체 및 각종 RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체에 관하여, 복수의 세균의 총 단백질에 대한 특이적 결합 특성을 도시하는 도면이다. W27G2 항체로서, W27G2-CHT(W27 하이브리도마 배양 상청을 하이드록시아파타이트 컬럼으로 조정제한 것), W27G2-GF(W27CHT를 한층 더 겔 여과 컬럼으로 다량체 획분을 정제한 것)를 이용하고, RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체로서, RS_H000_L001, RS_H000_L005 및 RS_H007_L005를 사용하였다.

도 18은, 각종 RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체에 의한, 대장균 증식 억제 효과를 도시하는 도면이다.

도 19는, 2개의 리컴비넌트 IgA 항체, 항체 RS_H000_L001(rW27) 및 SNK0002AR가 각각, C. difficile 감염 마우스의 체중 감소 및 생존율 저하를 억제한 것을 도시하는 도면이다.

도 20은, 2개의 리컴비넌트 IgA 항체, 항체 RS_H000_L001(rW27) 및 SNK0002AR 및 Vancomycin의 투여 후의, 변중의 C. difficile균 함유량을 도시하는 도면이다.

도 21은, 2개의 리컴비넌트 IgA 항체, 항체 RS_H000_L001(rW27) 및 SNK0002AR, 및 rW27 IgG 항체 및 Vancomycin의 투여 후 14일 시점(사망한 마우스는 사망 시점)에서 채집한 변에 있어서의 16S rRNA 분석에 의하여, 세균의 order level의 상대적 존재 비율을 해석한 결과를 도시하는 도면이다.

도 22는, 2개의 리컴비넌트 IgA 항체, 항체 RS_H000_L001(rW27) 및 SNK0002AR 및 rW27 IgG 항체, 및 Vancomycin의 투여 후 14일 시점(사망한 마우스는 사망 시점)에서 채집한 변에 있어서의 16S rRNA 분석 결과를 이용하여, β-diversity 해석한 결과를 도시하는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0104] (정의)

[0105] 본 명세서에 있어서, 복수의 수치의 범위가 나타내진 경우, 그것들 복수의 범위의 임의의 하한값 및 상한값의 조합으로 이루어지는 범위도 마찬가지로 의미한다.

[0106] 본 명세서에 있어서, 「항체」란 가장 넓은 의미에 있어서 사용되고, 의도된 항원 결합 활성을 나타내는 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 및 항체 단편을 포함하지만, 이것들에 한정되지 않는다. 전체 길이 항체는 주로 폴리펩티드로 구성되는 중쇄 및 경쇄를 포함한다. 중쇄 및 경쇄는, 각각 항원을 인식하는 가변 영역이라고 불리는 부위를 포함하고, 당해 부위는 일반적으로, 각각 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이라고 불린다. 당해 가

변 영역은, 나아가 상세하게 항원을 인식하는 부위로서 특정되는, 각각 CDR1 ~ 3이라고 불리는 부위를 아미노 말단으로부터 순서대로 가진다. 덧붙여, 이것들의 CDR1 ~ 3은, 보다 상세하게 중쇄 CDR1, 중쇄 CDR2, 중쇄 CDR3, 경쇄 CDR1, 경쇄 CDR2, 경쇄 CDR3 등이라고도 불린다. 또한, 중쇄 및 경쇄의 CDR1 ~ 3 이외의 영역은, 각각 아미노 말단으로부터 순서대로, 중쇄 FR1 ~ 4 및 경쇄 FR1 ~ 4라고 불린다. 항체는 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄로 이루어지는 형태 외에, 1개의 중쇄 및 1개의 경쇄로 이루어지는 항체(단일 쇄 항체라고도 불린다)의 형태여도 무방하다.

[0107] 항체는, 임의의 클래스, 예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 혹은 IgY 등, 혹은 서브 클래스, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 혹은 IgA2 등이어도 무방하다.

[0108] 항체는 동일종에서 유래하는 아미노산 배열을 가지고 있어도 이종에서 유래하는 아미노산을 가지고 있어도 무방하다. 동일종 유래의 경우, 예를 들어, 인간 유래, 마우스 유래, 래트 유래, 햄스터 유래, 토끼 유래, 염소 유래, 당나귀 유래, 돼지 유래, 소 유래, 말 유래, 닭 유래, 원숭이 유래, 침팬지 유래, 낙타 유래, 라마 유래 등을 들 수 있다.

[0109] 이종 유래의 경우도, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 인간, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼, 염소, 양, 당나귀, 돼지, 소, 말, 닭, 원숭이, 침팬지, 낙타, 라마 등 중 어느 2개 이상에서 유래하는 항체를 들 수 있다.

[0110] 본 명세서에 있어서, 항체의 「항원 결합 단편」은, 항원에 특이적으로 결합하는 능력을 보지(保持)하는, 항체의 1개 이상의 단편을 가리킨다. 항체의 항원에 특이적으로 결합하는 능력은, 그 일부로 이루어지는 단편에 의하여도 유지될 수 있는 것을 알고 있다. 일 태양으로서, 항체의 「항원 결합 단편」은, 경쇄 가변 영역(VL), 중쇄 가변 영역(VH), 경쇄 정상(定常) 영역(CL) 및 중쇄 정상 영역의 일부인 CH1 도메인으로 이루어지는 Fab 단편, 힌지(hinge) 영역에서 디술피드 가교에 의하여 연결한 2개의 Fab 단편을 포함하는 F(ab′) 2단편, VH 및 CH1 도메인으로 이루어지는 Fd 단편, 항체의 단일의 암(arm)의 VL 및 VH 도메인으로 이루어지는 Fv 단편, 단일의 가변 도메인을 포함하는 dAb 단편, 및 단리(單離)된 상보성(相補性) 결정 영역(CDR)일 수 있지만, 이것들에 한정되지 않는다.

[0111] 본 발명의 항체는, CDR 그래프트화된 항체여도 무방하다. 일례에 있어서, CDR 그래프트화된 항체에서는, 하나의 동물종에서 유래하는 항체의 CDR 영역의 일부 또는 전부의 배열이, 다른 동물종의 CDR 배열로 치환되어 있다. 예를 들어, 1개 이상의 마우스 항체의 CDR가 인간 항체의 CDR 배열로 치환되어 있다.

[0112] 항체의 중쇄 가변 영역 중의 중쇄 CDR1 ~ 3 및 경쇄 가변 영역 중의 경쇄 CDR1 ~ 3을 동정(同定)할 때에는 당업자에게 주지의 방법을 이용할 수 있다. 예를 들어, 예를 들어 당업자에게 주지의 「Kabat 정의」(Kabat 등, Ann. NY Acad, Sci. 1971, Vol. 190, pp. 382-391 및 Kabat, E. A. 등 Sequences of Proteins of Immunological Interest, 제5판, 1991, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication, pp. 91-3242), 「Chothia 정의」(Chothia et al., Nature, 1989, Vol. 342, pp. 877-883), 「접촉 정의」(MacCallum et al., J. Mol. Biol., 1996, Vol. 262, pp. 732-745) 등을 이용할 수 있다. 항체 내의 CDR 배열을 동정하는데, 공공 데이터베이스의 정보에 기초하여 CDR를 동정하여도 무방하다.

[0113] 본 명세서에 있어서 「동일성」이란, 2 이상의 대비 가능한 아미노산 배열 또는 염기 배열의, 서로에 대하는 동일한 아미노산 배열 또는 염기 배열의 정도를 말한다. 따라서, 어떤 2개의 아미노산 배열 또는 염기 배열의 동일성이 높을수록, 그것들의 배열의 동일성 또는 유사성은 높다. 아미노산 배열 또는 염기 배열의 동일성의 레벨은, 통상(通常)은, 배열 분석용 툴인 FASTA를 이용하고, 디폴트 파라미터를 이용하여 결정된다. 또는, Karlin 및 Altschul에 의한 알고리즘 BLAST(예를 들어, Karlin S, Altschul SF. Proc. Natl Acad Sci USA. 87: 2264-2268(1990), Karlin S, Altschul SF. Natl Acad Sci USA. 90: 5873-7(1993) 등)를 이용하여 결정할 수 있다. 이와 같은 BLAST의 알고리즘에 기초한 BLASTN나 BLASTX로 불리는 프로그램이 개발되어 있다(예를 들어, Altschul SF, GishW, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. J Mol Biol. 215: 403-10(1990) 등). 이것들의 해석 방법의 구체적인 수법은 공지이고, NCBI의 웹 사이트를 참조할 수 있다. 예를 들어, 어떤 아미노산 배열 A가, 다른 아미노산 배열 B와 특정의 % 동일하다는 것은, 아미노산 배열 A와 아미노산 배열 B가 당해 %의 동일성을 가지는 것을 의미한다.

[0114] 본 명세서에 있어서, 「모노클로날」이란, 실질적으로 균일한 항체의 집단으로부터 얻을 수 있는 항체 등의 특징을 나타내는 수식어이다. 이와 같은 항체의 집단에 포함되는 개개의 항체는, 미량으로 존재할 수 있는, 가능한 천연에 생기는 돌연 변이를 제외하여 동일하다.

[0115] 본 명세서에 있어서 「보존적인 치환 기술」이란, 아미노산 잔기가 유사한 측쇄(側鎖)를 가지는 아미노산 잔기

로 치환되는 기술을 의미한다.

[0116] 예를 들어, 라이신, 아르기닌, 히스티딘이라고 하는 염기성 측쇄를 가지는 아미노산 잔기끼리로 치환되는 것이, 보존적인 치환 기술에 해당한다. 그 외, 아스파라긴산, 글루타민산이라고 하는 산성 측쇄를 가지는 아미노산 잔기; 글리신, 아스파라긴, 글루타민, 세린, 트레오닌, 티로신, 시스테인이라고 하는 비대전성 극성 측쇄를 가지는 아미노산 잔기; 알라닌, 발린, 류신, 이소류신, 프롤린, 페닐알라닌, 메티오닌, 트립토판이라고 하는 비극성 측쇄를 가지는 아미노산 잔기; 트레오닌, 발린, 이소류신이라고 하는 β-분지(分枝) 측쇄를 가지는 아미노산 잔기, 티로신, 페닐알라닌, 트립토판, 히스티딘이라고 하는 방향족 측쇄를 가지는 아미노산 잔기끼리로의 치환도 마찬가지로, 보존적인 치환 기술에 해당한다.

[0117] 본 명세서에 있어서, 「장내 세균」이란, 생체 내의 장내에 상주하는 세균이면 특별히 한정은 되지 않는다. 이와 같은 장내 세균으로서는, 생체 내에서 장내 세균총을 형성하고, 장내 면역계의 항상성의 유지에 관여하는 세균을 들 수 있다.

[0118] 구체적인 장내 세균으로서는, 특별히 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어,

[0119] Prevotella속에 속하는 세균,

[0120] Bacteroides속에 속하는 세균,

[0121] Megamonas속에 속하는 세균,

[0122] Bifidobacterium속에 속하는 세균,

[0123] Faecalibacterium속에 속하는 세균,

[0124] Coprococcus속에 속하는 세균,

[0125] Ruminococcus속에 속하는 세균,

[0126] Blautia속에 속하는 세균,

[0127] Eubacterium속에 속하는 세균,

[0128] Roseburia속에 속하는 세균,

[0129] Lactobacillus속에 속하는 세균,

[0130] Clostridium속에 속하는 세균,

[0131] Escherichia속에 속하는 세균,

[0132] Staphylococcus속에 속하는 세균,

[0133] Enterococcus속에 속하는 세균,

[0134] Pseudomonas속에 속하는 세균,

[0135] Enterorhabdus속에 속하는 세균,

[0136] Fusobacterium속에 속하는 세균

[0137] 등을 들 수 있다.

[0138] (조성물)

[0139] 본 발명의 조성물은, 바람직하게는 의약 조성물, 경구 조성물 또는 경장(經腸) 조성물로서 제공되지만, 이것들에 한정되지 않는다.

[0140] (의약 조성물)

[0141] 본 발명에 관련되는 의약 조성물은, C. difficile 세균체와 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을 포함하고, 생체에 있어서의 C. difficile의 증식을 억제하기 위하여 이용된다.

[0142] 일 태양에 있어서, 본 발명에 관련되는 의약 조성물은, C. difficile 세균과 관련하는 질환의 치료를 위하여 사용된다.

[0143] C. difficile 세균과 관련하는 질환이란, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어, 염증성 장 질환, 궤양성 대장염, 크론병, 알레르기, 천식, 비만, 자기 면역 질환, 신생아 괴사성 장염 등을 들 수 있고, 그 중에서도 염증성 장 질환이 바람직하다.

[0144] 이와 같은 본 발명에 관련되는 의약 조성물은, 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편의 유효량을 포함하고 있으면 되고, 예를 들어, 의약 조성물 100중량% 중의 본 발명에 관련되는 항체의 함유 비율이 0.001 ~ 99.99중량%의 범위가 되도록, 대상으로 하는 질환의 종류, 제형, 투여 방법, 투여 대상, 투여 대상자의 증상의 정도, 및 투여에 의하여 발휘되는 효과의 정도 등을 감안하여, 적의(適宜) 설정할 수 있다.

[0145] 본 명세서에서 사용하는 용어 「유효량」이란, 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체에 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편이 생체에 있어서의 C. difficile균의 증식을 억제할 수 있는 양, 또는 질환 치료 효과를 발휘하는 양을 말한다.

[0146] 본 발명에 관련되는 의약 조성물에는, 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체에 결합하는 모노클로날 항체와 함께, 약학적으로 허용 가능한 담체(擔體) 혹은 첨가물을 배합하여도 무방하다. 약학적으로 허용 가능한 담체 혹은 첨가물이란, 임의의 담체, 희석제, 부형제, 현탁제, 윤활제, 애주번트, 매체, 송달 시스템, 유화제, 정제 분해 물질, 흡수제, 보존제, 계면 활성제, 착색제, 향료, 또는 감미료를 의미하고, 공지의 것을 채용하면 된다.

[0147] 본 발명에 관련되는 의약 조성물은, 상술의 C. difficile 세균과 관련하는 장내 질환에 이환된 개체에 투여하는 공정을 포함하는 장내 질환의 치료 방법에 있어서의 이용 가능성을 가지고 있다. 또한, 상술과 같은 장내 질환의 병태나 증상을 발증(發症)하고 있지 않지만, 장내 질환의 소인(素因)을 가질 수 있는 개체에 투여하는 공정을 포함하는 장내 질환의 예방 방법에 있어서의 이용 가능성도 가지고 있다. 이것들의 개체를, 본 발명에 관련되는 의약 조성물의 투여 대상으로 하면 된다.

[0148] 이와 같은 투여 대상이 되는 개체는, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 인간, 마우스, 래트, 모르모트, 토끼, 햄스터, 개, 고양이, 족제비, 소, 돼지 등의 포유류, 닭 등의 조류 등을 들 수 있다.

[0149] 당해 의약 조성물의 투여량 및 투여 방법은, 투여 대상이 되는 개체가 이환되는 장내 질환의 종류, 성별, 종, 연령, 전신 상태, 질환의 중독도(重篤度), 소망하는 효과의 정도 등에 각기 다르기는 하다. 투여량으로서는, 통상은, 0.001 ~ 100mg/kg/일의 범위에서 적의 설정하면 된다.

[0150] 또한, 투여 방법에 관하여는, 특별히 한정은 되지 않지만, 소화관에 직접 투여하는 것이 바람직하고, 이와 같은 투여 방법으로서, 예를 들어 경구 투여, 경비(經鼻) 투여, 경점막(經粘膜) 투여, 경장 투여 등을 들 수 있다.

[0151] 덧붙여, 경장 투여란, 항문을 통한 투여에는 한정되지 않고, 예를 들어 위루(胃瘻) 등과 같이 개체 외로부터 튜브 등을 소화관에 삽입하여, 그것을 경유한 투여도 포함된다. 소화관을 삽입하는 위치는 장에 한정되지 않고, 식도, 위, 소장(십이지장, 공장(空腸), 회장(回腸) 등을 포함한다.), 대장(맹장, 결장, 직장 등을 포함한다.) 등을 들 수 있다.

[0152] 덧붙여, 이와 같은 본 발명에 관련되는 의약 조성물의 투여는, 상기의 양을 1일에 한 번에 투여하여도 무방하고, 수회로 나누어 투여하여도 무방하다. 또한, 상기 질환에 대한 치료 효과를 가지는 범위에 있어서, 투여 간격은, 매일, 격일, 매주, 격주, 2 ~ 3주마다, 매월, 격월 또는 2 ~ 3개월마다여도 무방하다.

[0153] (경구 또는 경장 조성물)

[0154] 본 발명에 관련되는 경구 또는 경장 조성물은, 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 모노클로날 항체 또는 그 항원 결합 단편을 포함한다. 이와 같은 경구 또는 경장 조성물을 사용하는 것에 의하여, 생체에 있어서의 C. difficile 세균의 증식을 억제하고, C. difficile 세균과 관련하는 질환을 치료할 수 있다.

[0155] 이와 같은 경구 또는 경장 조성물에 있어서의 상기 C. difficile 세균체와 결합하는 항체의 배합 비율은, 특별히 한정은 되지 않고, 경구 또는 경장 조성물의 형태, 용도 등에 따라 적의 조정하면 되지만, 통상은 경구 또는 경장 조성물의 총량에 대하여, 0.001 ~ 99중량% 정도로 하면 된다.

[0156] 본 발명에 관련되는 경구 또는 경장 조성물의 사용 대상으로 하는 개체는, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 인간, 마우스, 래트, 모르모트, 토끼, 햄스터, 개, 고양이, 족제비, 소, 돼지 등의 포유류, 닭 등의 조류 등을 들 수 있다.

[0157] 본 발명에 관련되는 경구 또는 경장 조성물에 함유되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체는, 정장(整腸) 조

성물, 장내 환경 개선 조성물, 장내 환경 최적화 조성물, 또는 장내 부패 방지 조성물로서 특히 유용하다.

[0158] 본 발명에 관련되는 경구 또는 경장 조성물의 사용량은, 상술과 같은 경구 또는 경장 조성물의 효과가 발휘되는 범위이면, 특별히 한정은 되지 않고, 나아가 경구 또는 경장 조성물을 섭취하는 개체의 종류나, 목적으로 하는 효과, 그 목적으로 하는 정도, 및 그 외의 제조건 등에 따라 설정하면 된다. 구체적으로는 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체의 양으로 환산하여, 통상은 0.001 ~ 100mg/kg/일 정도로 하면 되고, 이것을 1일 1회 ~ 수회로 나누어 섭취하여도 무방하다.

[0159] 덧붙여, 경장이란 항문을 통한 투여에 한정되지 않는다. 예를 들어, 본 발명의 경장 조성물을, 공지의 성분과 함께 배합하여 장내 세정액으로서 사용하는 것도 가능하다.

[0160] 본 발명에 관련되는 경구 또는 경장 조성물은, 장내 세균의 이상 증식 및/또는 장내 세균총의 병적 변화를 억제하는 효과를 발휘하는 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 모노클로날 항체를 포함하는 것이고, 이와 같은 효과를 발휘하는 것을 기대하여 식품의 분야, 사료의 분야에 호적(好適)하게 이용할 수 있다. 따라서, 본 발명의 경구 또는 경장 조성물은, 식품 조성물 또는 사료 조성물로 할 수 있다.

[0161] 상술의 식품 조성물은, 본 발명의 경구 또는 경장 조성물을 식품의 분야에 오로지 호적하게 이용하는 조성물이다. 이와 같은 식품 조성물은, 정장용, 장내 환경 개선용, 장내 환경 최적화용, 장내 부패 방지용 등으로 표시된 식품 조성물로서 제공할 수 있다.

[0162] 상술의 식품 조성물로서는, 일반의 식품 외에, 조건부 특정 보건용 식품을 포함하는 특정 보건용 식품, 영양 보조 식품, 기능성 식품, 병자용 식품 등을 들 수 있다.

[0163] 상술의 식품 조성물의 구체적인 형태는 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어, 청량 음료, 탄산 음료, 영양 음료, 과실 음료, 유산 음료, 유음료 등의 음료; 아이스크림, 아이스 셔벗, 빙수 등의 빙과; 엿, 캔디, 껌, 초콜릿, 정과(錠菓), 스낵 과자, 비스킷, 젤리, 잼, 크림, 구운 과자 등의 과자류; 메밀국수, 우동, 당면, 중화면, 즉석면 등의 면류; 어묵, 햄, 소시지 등의 수산·축산 가공 식품; 가공유, 발효유 등의 유제품; 샐러드유, 튀김유, 마가린, 마요네즈, 쇼트닝, 휘핑크림, 드레싱 등의 유지 및 유지 가공 식품; 소스, 양념장 등의 조미료; 스프, 스튜, 샐러드, 반찬, 맛가루, 채소 절임, 빵, 시리얼 등을 예시할 수 있다. 또한, 특정 보건용 식품, 영양 보조 식품, 기능성 식품 등의 경우이면, 분말, 과립, 캡슐, 트로치, 태블릿, 시럽 등의 형태를 들 수 있다.

[0164] 상술의 사료 조성물은, 본 발명의 사료 조성물을 사료의 분야에 오로지 이용되는 조성물이다. 이와 같은 사료 조성물은, 정장용, 장내 환경 개선용, 장내 환경 최적화용, 장내 부패 방지용 등으로 표시된 식품 조성물로서 제공할 수 있다.

[0165] 상술의 사료 조성물의 구체적인 형태는 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 상술한 본 발명에 관련되는 사료 조성물이 발휘하는 효과가 손상되지 않는 한에 있어서, 통상의 사료에 혼합, 또는 필요에 따라 통상의 사료에 배합 가능한 성분과 함께 혼합하여 사료 조성물로 하면 되고, 사료 조성물 그 자체를 사료로 하여도 무방하다.

[0166] (생체 내의 C. difficile 세균의 증식을 억제하는 방법)

[0167] 본 발명에 관련되는 생체 내의 C. difficile 세균의 증식을 억제하는 방법은, 상술의 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체 혹은 그 항원 결합 단편, 또는 이것들을 포함하는 의약 조성물, 경구 조성물 혹은 경장 조성물의 유효량을, 생체에 투여하는 공정을 포함하는 방법이다.

[0168] 본 발명에 관련되는 생체 내의 C. difficile 세균의 증식을 억제하는 방법은, C. difficile 세균과 관련하는 질환을 치료하기 위하여 실시될 수 있다. 당해 C. difficile 세균과 관련하는 질환이란, 상기 〔본 발명에 관련되는 의약 조성물〕에서 설명한 질환일 수 있다. 또한, 구체적인 투여 방법, 투여량에 관하여도, 상기 〔본 발명에 관련되는 의약 조성물〕에서 설명한 것일 수 있다.

[0169] (C. difficile 세균체에 결합하는 항체 또는 그 항원 결합 단편)

[0170] 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, C. difficile 세균에 결합한다. 전형적으로는, 본 발명의 항체는 배양 상청 중에 존재하는 파괴되어 있지 않은 C. difficile 세균에 결합한다.

[0171] 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 하이브리도마 등의 B 세포 유래의 항체 산생 세포로부터 산생된 것을 사용하여도 무방하고, 유전자 재조합 기술을 이용하여, 당해 항체를 코드하는 핵산을 면역계 이외의 세포에 도입하여 산생한 것을, 리컴비넌트 항체로서 사용하여도 무방하다.

[0172] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 7로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

[0173] 배열 번호 8로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0174]

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
SNK0001_HV (배열 번호 7)	MEWIWIFLFILSGTAGVQSQVQLQQSGAELARPG ASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQGLEWIG EIYPRSGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMEL RSLTSEDSAVYFCARLASSYYGSSYDWYFDVWGT GTTVTVSS
SNK0001_LV (배열 번호 8)	MRTPAQFLGILLLWFPGIKCDIKMTQSPSSMYAS LGERVTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKSPKTLI YRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYED MGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK

[0175] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 1로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0176] 배열 번호 2로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0177] 배열 번호 3으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0178] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0179] 배열 번호 4로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0180] 배열 번호 5로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0181] 배열 번호 6으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

[0182] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0183]

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
SNK0001_HCDR1 (배열 번호 1)	SYGIS
SNK0001_HCDR2 (배열 번호 2)	EIYPRSGNTYYNEKFK
SNK0001_HCDR3 (배열 번호 3)	FCARLASS
SNK0001_LCDR1 (배열 번호 4)	KASQDINSYLS
SNK0001_LCDR2 (배열 번호 5)	RANRLVD
SNK0001_LCDR3 (배열 번호 6)	LQYDEFPLT

[0184] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 7로 나타내지는 아미노산 배열 또는, 이것과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 배열 동일성을 가지는 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0185] 배열 번호 8로 나타내지는 아미노산 배열 또는, 이것과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 배열 동일성을 가지는 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역

[0186] 을 포함한다.

[0187] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 비장 유래 B 세포로부터 얻어진 하이브리도마가 산생성하는 IgM 항체 SNK0001M이다. 항체 SNK0001M을 코드하는 핵산 배열을 결정하고, 재조합 기술을 적용하여 산생된 리컴비넌트 정제 항체 SNK0001MR, 및 IgA 항체로 한 리컴비넌트 정제 항체 SNK0001AR도 마찬가지로 이용할 수 있다.

[0188] 항체 SNK0001AR는, 이하의 아미노산 배열 구성을 가지고 있다.

SNK0001AR의 아미노산 배열		
중쇄	전체 길이 배열	MEWIWIFLFILSGTAGVQSQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFT SYGISWVKQRTGQGLEWIGEIYPRSGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTA YMELRSLTSEDSAVYFCARLASSYYGSSYDWYFDVWGTGTTVTVSSESA RNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLIHDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVN FPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCS GPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALEDLLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAV FTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASFKCTVTH PESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNP KEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWK QGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICY
	가변 영역	MEWIWIFLFILSGTAGVQSQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFT SYGISWVKQRTGQGLEWIGEIYPRSGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTA YMELRSLTSEDSAVYFCARLASSYYGSSYDWYFDVWGTGTTVTVSS
	CDR1	SYGIS
	CDR2	EIYPRSGNTYYNEKFK
	CDR3	FCARLASS
경쇄	전체 길이 배열	MRTPAQFLGILLLWFPGIKCDIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDI NSYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSL EYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELKRADAAPTVSIFPPSSEQLTS GGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMS STLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC
	가변 영역	MRTPAQFLGILLLWFPGIKCDIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDI NSYLSWFQQKPGKSPKTLIYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSL EYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK
	CDR1	KASQDINSYLS
	CDR2	RANRLVD
	CDR3	LQYDEFPLT

[0189]

[0190] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 17로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

[0191] 배열 번호 18로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
SNK0002_HV (배열 번호17)	MGRLTSSFLLLIVPAYVLSQVTLKESGPGILQPSQ TLSLTCSFSGFSLSTFGMGVGWIRQPSGKGLEWLA HIWWDDDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIAN VDTADTATYYCARIAGFDYWGQGTTLTVSS
SNK0002_LV (배열 번호18)	MHFQVQIFSFLLISASVIMSRGQIVLTQSPAIMSA SPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKLWIY STSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAA TYYCQQRSSYPYTFGGGTKLEIK

[0192]

[0193] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 11로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0194] 배열 번호 12로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0195] 배열 번호 13으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0196] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0197] 배열 번호 14로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0198] 배열 번호 15로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0199] 배열 번호 16으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

[0200] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0201]

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
SNK0002_HCDR1 (배열번호11)	TFGMG
SNK0002_HCDR2 (배열번호12)	LAHIWWDDDKYYNPAL
SNK0002_HCDR3 (배열번호13)	YYCARIAG
SNK0002_LCDR1 (배열번호14)	SASSSVSYMHW
SNK0002_LCDR2 (배열번호15)	STSNLASG
SNK0002_LCDR3 (배열번호16)	QRSSYPYTF

[0202] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 17로 나타내지는 아미노산 배열 또는, 이것과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 배열 동일성을 가지는 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0203] 배열 번호 18로 나타내지는 아미노산 배열 또는, 이것과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 배열 동일성을 가지는 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역

[0204] 을 포함한다.

[0205] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 비장 유래 B 세포로부터 얻어진 하이브리도마가 세균이 산생성하는 IgM 항체 SNK0002M이다. 항체 SNK0002M을 코드하는 핵산 배열을 결정하고, 재조합 기술을 적용하여 산생된 리컴비넌트 정제 항체 SNK0002MR, 및 IgA 항체로 한 리컴비넌트 정제 항체 SNK0002AR도 마찬가지로 이용할 수 있다.

[0206] 항체 SNK0002AR는, 이하의 아미노산 배열 구성을 가지고 있다.

SNK0002AR의 아미노산 배열		
중쇄	전체 길이 배열	MGRLTSSFLLLIVPAYVLSQVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTFGMGV GWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTAD TATYYCARIAGFDYWGQGTTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLIHD YFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCS VQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALEDLLLGSDASLTCTL NGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASFKC TVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKE VLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCM VGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICY
	가변 영역	MGRLTSSFLLLIVPAYVLSQVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTFGMGV GWIRQPSGKGLEWLAHIWWDDDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTAD TATYYCARIAGFDYWGQGTTLTVSS
	CDR1	TFGMG
	CDR2	LAHIWWDDDKYYNPAL
	CDR3	YYCARIAG
경쇄	전체 길이 배열	MHFQVQIFSFLLISASVIMSRGQIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVSYMH WFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQ QRSSYPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDI NVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHK TSTSPIVKSFNRNEC
	가변 영역	MHFQVQIFSFLLISASVIMSRGQIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVSYMH WFQQKPGTSPKLWIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQ QRSSYPYTFGGGTKLEIK
	CDR1	SASSSVSYMHW
	CDR2	STSNLASG
	CDR3	QRSSYPYTF

[0207]

[0208] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 27로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역의 중쇄 CDR1의 아미노산 배열, 중쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 중쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

[0209] 배열 번호 28로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 CDR1의 아미노산 배열, 경쇄 CDR2의 아미노산 배열, 및 경쇄 CDR3의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
SNK0003_HV (배열 번호 27)	MGFSRIFLFLLSVTTGVHSQAYLQQSGAELVRPGAS VRMSCKASDYTFTSYNIHWVKQTPRQGLEWIGAIYS GNGATSHNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSE DSAVYFCTRVGLRSPFDFWGQGTTLTVSS
SNK0003_LV (배열 번호 28)	MESQTQVFVYMLLWLSGVDGDIVMTQSLKFMST SGGDRVSVTCKASQSVGTSVAWYQQKPGQSPKP LIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFSLTISNVQ SEDLAEYFCQQYNNYPYTFGGGTKLEIK

[0210]

[0211] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 21로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0212] 배열 번호 22로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0213] 배열 번호 23으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0214] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0215] 배열 번호 24로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0216] 배열 번호 25로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0217] 배열 번호 26으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3

[0218] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0219]

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
SNK0003_HCDR1 (배열 번호 21)	SYNIH
SNK0003_HCDR2 (배열 번호 22)	AIYSGNGATSHNQKFK
SNK0003_HCDR3 (배열 번호 23)	FCTRVGLR
SNK0003_LCDR1 (배열 번호 24)	KASQSVGTSVA
SNK0003_LCDR2 (배열 번호 25)	SASYRYS
SNK0003_LCDR3 (배열 번호 26)	QQYNNYPYT

[0220] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 27로 나타내지는 아미노산 배열 또는, 이것과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 배열 동일성을 가지는 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0221] 배열 번호 28로 나타내지는 아미노산 배열 또는, 이것과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 배열 동일성을 가지는 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역

[0222] 을 포함한다.

[0223] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 장관 점막 고유층 유래 B 세포로부터 얻어진 하이브리도마가 산생성하는 IgA 항체 SNK0003A이다. 항체 SNK0003M을 코드하는 핵산 배열을 결정하고, 재조합 기술을 적용하여 산생된 리컴비넌트 정제 항체 SNK0003MR, 및 IgA 항체로 한 리컴비넌트 정제 항체 SNK0003AR도 마찬가지로 이용할 수 있다.

[0224] 항체 SNK0003A는, 이하의 아미노산 배열 구성을 가지고 있다.

SNK0003A의 아미노산 배열		
중쇄	전체 길이 배열	MGFSRIFLFLLSVTTGVHSQAYLQQSGAELVRPGASVRMSCKASDYTFTSYNIHW VKQTPRQGLEWIGAIYSGNGATSHNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYFCTRVGLRSPFDFWGQGTTLTVSSESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLI HDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVK CSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALEDLLLGSDASLTC TLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASF KCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNP KEVLVRWLHGNEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYS CMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVIMSEGDGICY
	가변 영역	MGFSRIFLFLLSVTTGVHSQAYLQQSGAELVRPGASVRMSCKASDYTFTSYNIHW VKQTPRQGLEWIGAIYSGNGATSHNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDS AVYFCTRVGLRSPFDFWGQGTTLTVSS
	CDR1	SYNIH
	CDR2	AIYSGNGATSHNQKFK
	CDR3	FCTRVGLR
경쇄	전체 길이 배열	MESQTQVFVYMLLWLSGVDGDIVMTQSLKFMSTSGGDRVSVTCKASQSVGTSVAW YQQKPGQSPKPLIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFSLTISNVQSEDLAEYFCQQ YNNYPYTFGGGTKLEIKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDIN VKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKT STSPIVKSFNRNEC
	가변 영역	MESQTQVFVYMLLWLSGVDGDIVMTQSLKFMSTSGGDRVSVTCKASQSVGTSVAW YQQKPGQSPKPLIYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFSLTISNVQSEDLAEYFCQQ YNNYPYTFGGGTKLEIK
	CDR1	KASQSVGTSVA
	CDR2	SASYRYS
	CDR3	QQYNNYPYT

[0225]

[0226] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 클로스트리듐·디피실 세균체에 결합하는 모노클로날 항체가,

[0227] 배열 번호 31로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0228] 배열 번호 32로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0229] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3

[0230] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

[0231] 배열 번호 34로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0232] 배열 번호 35로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0233] 배열 번호 36으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

[0234] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다.

[0235] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 37로 나타내지는 아미노산 배열 또는, 이것과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 배열 동일성을 가지는 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0236] 배열 번호 38로 나타내지는 아미노산 배열 또는, 이것과 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 배열 동일성을 가지는 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역

[0237] 을 포함한다.

[0238] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 배열 번호 37로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및,

[0239] 배열 번호 38로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 참조 항체에 대하여,

[0240] 중쇄 CDR1 ~ 3, 경쇄 CDR1 ~ 3 및 경쇄 FR1로부터 선택되는 적어도 하나의 영역에 있어서, 적어도 하나의 아미노산 변이를 가지고,

[0241] 대장균 SHMT 단백질 중의 아미노산 배열 RQEEHIELIAS(배열 번호 72) 및 C. difficile의 iPGM 단백질 중의 아미노산 배열 VLDMMKLEKPE(배열 번호 73)에 결합하는 항체이다.

[0242]

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
W27G2_HV (배열 번호37)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS
W27G2_LV (배열 번호38)	MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVK

[0243] 상기 항체가 가지는 적어도 하나의 아미노산 변이는, 상기 참조 항체의 아미노산 배열을 가지는 항체와 대장균 SHMT 단백질, 및 참조 항체의 아미노산 배열을 가지는 항체와 C. difficile의 iPGM 단백질의 결합체의 입체 구조 해석의 결과를 이용하는 것에 의하여, 당업자에게 이용 가능한 기술을 적용하는 것에 의하여 특정할 수 있다. 참조 항체에 대한 아미노산 변이의 수는, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 또는 그 이상이어도 무방하다.

[0244] 이와 같은 참조 항체는, 중쇄 가변 영역으로서 W27G2_HV(배열 번호 37), 경쇄 가변 영역으로서 W27G2_LV(배열 번호 38)를 가지는 항체이면 특별히 한정되지 않는다. 예를 들어, IgG 항체(W27RS_H000_L000GR)를 이용할 수 있다. 항체 W27RS_H000_L000GR는, 장관 점막 고유층 유래의 B 세포로부터 얻어진 하이브리도마의 산생하는 항체 W27G2

[0245] 와 동일한 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 가지고 있다.

[0246]

W27RS__H000__L000GR의 아미노산 배열		
중쇄	가변 영역	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS
	CDR1	DYYIH
	CDR2	RIDPENDETTYAPKFQ
	CDR3	YCARSTVL
경쇄	가변 영역	MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVK
	CDR1	RASQSIVHTNG
	CDR2	KLLIYKV
	CDR3	GVYYCFQGS

[0247] 특정된 변이를 가지는 항체가 실제로 대장균 SHMT 단백질 중의 아미노산 배열 RQEEHIELIAS 및 C. difficile의 iPGM 단백질 중의 아미노산 배열 VLDMMKLEKPE에 결합하는 것은, ELISA나 웨스턴 블롯 등, 당업자에게 주지의 방법에 의하여 확인할 수 있다.

[0248] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, X_1YYIH의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0249] RIDPENX$_2$X$_3$TTYAPKFQ의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, YCARSTVL의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0250] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0251] RX$_4$SQSIVHTNG의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0252] KLLIYKV의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0253] GVYYFQGS의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

[0254] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고,

[0255] 경쇄 FR1가

[0256] TPLSLPVSLGDQA의 아미노산 배열 또는

[0257] SPASX$_5$SVSLGDRX$_6$의 아미노산 배열을 포함하고,

[0258] X$_1$, X$_2$, X$_3$은 각각 독립적으로 중성 극성 아미노산 또는 산성 극성 아미노산이고, X$_4$는 비극성 아미노산 또는 중성 극성 아미노산이고, X$_5$, X$_6$은 각각 독립적으로 비극성 아미노산인 항체이다.

[0259] 상기 항체는, 3차원 구조 해석에 의하여, 대장균 SHMT 단백질 중의 아미노산 배열 RQEEHIELIAS 및 C. difficile의 iPGM 단백질 중의 아미노산 배열 VLDMMKLEKPE에 대하여, W27G2 항체와 마찬가지의 결합 양식을 가지도록 설계된 것이고, 실제로 이것들 세균에 대하여 W27G2 항체와 마찬가지의 결합 양식, 및, 세균 증식 억제 효과를 가져온다.

[0260] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, X$_1$YYIH의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0261] RIDPENX$_2$X$_3$TTYAPKFQ의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, YCARSTVL의 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0262] 을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및

[0263] RX$_4$SQSIVHTNG의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0264] KLLIYKV의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0265] GVYYFQGS의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

[0266] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고,

[0267] 경쇄 FR1이

[0268] TPLSLPVSLGDQA의 아미노산 배열 또는

[0269] SPASX$_5$SVSLGDRX$_6$의 아미노산 배열을 포함하고,

[0270] X$_1$, X$_2$는 각각 독립적으로 아스파라긴 또는 아스파라긴산이고, X$_3$은 글루타민 또는 글루타민산이고, X$_4$는 알라닌 또는 세린이고, X$_5$는 류신 또는 메티오닌이고, X$_6$은 알라닌 또는 발린인 항체이다.

[0271] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0272] 배열 번호 31 또는 41로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0273] 배열 번호 32, 42 ~ 44의 어느 하나로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0274] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0275] 을 포함한다.

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
W27G2_HCDR1 (배열 번호31)	DYYIH
W27G2_HCDR2 (배열 번호32)	RIDPENDETTYAPKFQ
W27G2_HCDR3 (배열 번호33)	YCARSTVL
RS_HCDR1_D50N (배열 번호41)	NYYIH
RS_HCDR2_D75N (배열 번호42)	RIDPENNETTYAPKFQ
RS_HCDR2_E76Q (배열 번호43)	RIDPENDQTTYAPKFQ
RS_HCDR2_D75N_E76Q (배열 번호44)	RIDPENNQTTYAPKFQ

[0276]

[0277] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0278] 배열 번호 31로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0279] 배열 번호 32로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0280] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0281] 을 포함한다.

[0282] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0283] 배열 번호 31로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0284] 배열 번호 42로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0285] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0286] 을 포함한다.

[0287] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0288] 배열 번호 31로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0289] 배열 번호 43으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0290] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0291] 을 포함한다.

[0292] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0293] 배열 번호 31로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0294] 배열 번호 44로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0295] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0296] 을 포함한다.

[0297] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0298] 배열 번호 41로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0299] 배열 번호 32로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0300] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0301] 을 포함한다.

[0302] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0303] 배열 번호 41로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0304] 배열 번호 42로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0305] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0306] 을 포함한다.

[0307] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0308] 배열 번호 41로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0309] 배열 번호 43으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0310] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0311] 을 포함한다.

[0312] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 중쇄는,

[0313] 배열 번호 41로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0314] 배열 번호 44로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2,

[0315] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0316] 을 포함한다.

[0317] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 경쇄는,

[0318] 배열 번호 34 또는 52로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0319] 배열 번호 35로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0320] 배열 번호 36으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

[0321] 을 포함한다.

[0322]

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
W27G2_LCDR1 (배열 번호34)	RASQSIVHTNG
W27G2_LCDR2 (배열 번호35)	KLLIYKV
W27G2_LCDR3 (배열 번호36)	GVYYCFQGS
RS_LCDR1_A44S (배열 번호 52)	RSSQSIVHTNG

[0323] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 경쇄는,

[0324] 배열 번호 34로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0325] 배열 번호 35로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0326] 배열 번호 36으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

[0327] 을 포함한다.

[0328] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 경쇄는,

[0329] 배열 번호 52로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0330] 배열 번호 35로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2,

[0331] 배열 번호 36으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3,

[0332] 을 포함한다.

[0333] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체 또는 그 항원 결합 단편은, 경쇄 가변 영역에 Protein L과 결합하는 배열을 포함한다. 당해 Protein L과 결합하는 배열을 포함하는 항체 분자 또는 그 항원 결합 단편은, Protein L 컬럼을 이용하여 정제하는 것이 가능하게 된다.

[0334] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하고, Protein L과 결합하는 배열을 포함하는 항체 또는 그 항원 결합 단편은, $SPASX_5SVSLGDRX_6$ 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, X_5, X_6은 각각

독립적으로 비극성 아미노산이다.

[0335] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합해, Protein L과 결합하는 배열을 포함하는 항체 또는 그 항원 결합 단편은, $SPASX_5SVSLGDRX_6$의 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, X_5는 류신 또는 메티오닌이고, X_6은 알라닌 또는 발린이다.

[0336] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하고, Protein L과 결합하는 배열을 포함하는 항체 또는 그 항원 결합 단편은, 배열 번호 53 ~ 55로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나에 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0337]

배열명 (배열 번호)	아미노산 배열
RS_LFR1_L001 (배열 번호53)	SPASLSVSLGDRA
RS_LFR1_L002 (배열 번호54)	SPASLSVSLGDRV
RS_LFR1_L003 (배열 번호55)	SPASMSVSLGDRA
RS_LFR1_L000 (배열 번호56)	TPLSLPVSLGDQA

[0338] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하고, Protein L과 결합하는 배열을 포함하는 항체 또는 그 항원 결합 단편은, 배열 번호 54에 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0339] 당해 배열은, Protein L과 항체 분자가 결합하도록, W27G2 항체의 경쇄 FR1 영역의 배열 TPLSLPVSLGDQA(배열 번호 56)에 변이를 도입한 것이다.

[0340] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하고, Protein L과 결합하는 배열을 포함하는 항체 또는 그 항원 결합 단편은, 배열 번호 55에 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0341] 당해 배열은, Protein L과 항체 분자가 보다 강고하게 결합하도록, 배열 번호 54에 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 FR1 영역에 한층 더 변이를 도입한 것이다.

[0342] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하고, Protein L과 결합하는 배열을 포함하는 항체 또는 그 항원 결합 단편은, 배열 번호 58에 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0343] 당해 배열은, Protein L과 항체 분자가 보다 강고하게 결합하도록, 배열 번호 54에 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 가변 영역의 경쇄 FR1 영역에 한층 더 변이를 도입한 것이다.

[0344] 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 상기의 중쇄 및 경쇄 중 어느 조합을 가지고 있어도 무방하고, Protein L과 결합하는 배열을 포함하여도 포함하지 않아도 무방하다.

[0345] 일 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체 또는 그 항원 결합 단편은,

[0346] 배열 번호 31 또는 41로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR1,

[0347] 배열 번호 32, 42 ~ 44 중 어느 하나로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR2, 및

[0348] 배열 번호 33으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 중쇄 CDR3,

[0349] 을 포함하는 중쇄 가변 영역;

[0350] 배열 번호 34 또는 52로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR1,

[0351] 배열 번호 35로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR2, 및

[0352] 배열 번호 36으로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 CDR3; 및,

[0353] 배열 번호 53 ~ 56 중 어느 하나로 나타내지는 아미노산 배열을 포함하는 경쇄 FR1,

[0354] 을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항체이다.

[0355] 예를 들어, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 하기의 중쇄 가변 영역 중 어느 하나와, 경쇄 가변 영역 중 어느 하나와의 조합을 포함한다.

중쇄 가변 영역	아미노산 배열
W27G2_HV (배열 번호37)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLS CTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETTYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTV LDYWGHGTTLTVSS
RS_HV001 (배열 번호45)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLS CTVSGFNFTNYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDETTYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTV LDYWGHGTTLTVSS
RS_HV002 (배열 번호46)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLS CTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENNETTYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTV LDYWGHGTTLTVSS
RS_HV003 (배열 번호47)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLS CTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDQTTYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTV LDYWGHGTTLTVSS
RS_HV004 (배열 번호48)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLS CTVSGFNFTNYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENNETTYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTV LDYWGHGTTLTVSS
RS_HV005 (배열 번호49)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLS CTVSGFNFTNYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENDQTTYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTV LDYWGHGTTLTVSS
RS_HV006 (배열 번호50)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLS CTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENNQTTYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTV LDYWGHGTTLTVSS
RS_HV007 (배열 번호51)	MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLS CTVSGFNFTNYYIHWVRQRTEQGLEWIGRIDPENNQTTYA PKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTV LDYWGHGTTLTVSS

[0356]

경쇄 가변 영역	아미노산 배열
W27G2_LV (배열 번호 38)	MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQTPASLPVSLGDQASISC RASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGT KLEVK
RS_LV001 (배열 번호 57)	MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISC RASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGT KLEVK
RS_LV002 (배열 번호 58)	MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRVTISC RASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGT KLEVK
RS_LV003 (배열 번호 59)	MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRVTISC RSSQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGT KLEVK
RS_LV004 (배열 번호 60)	MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASMSVSLGDRATISC RSSQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGT KLEVK
RS_LV005 (배열 번호 61)	MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISC RSSQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPD RFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGT KLEVK

[0357]

[0358] 바람직하게는, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 하기의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 조합을 포함한다.

중쇄 가변 영역	경쇄 가변 영역
W27G2_HV (배열 번호 37)	RS_LV001 (배열 번호 57)
W27G2_HV (배열 번호 37)	RS_LV004 (배열 번호 60)
W27G2_HV (배열 번호 37)	RS_LV005 (배열 번호 61)
RS_HV001 (배열 번호 45)	RS_LV005 (배열 번호 61)
RS_HV002 (배열 번호 46)	RS_LV005 (배열 번호 61)
RS_HV003 (배열 번호 47)	RS_LV005 (배열 번호 61)
RS_HV004 (배열 번호 48)	RS_LV005 (배열 번호 61)
RS_HV005 (배열 번호 49)	RS_LV005 (배열 번호 61)
RS_HV006 (배열 번호 50)	RS_LV005 (배열 번호 61)
RS_HV007 (배열 번호 51)	RS_LV001 (배열 번호 57)
RS_HV007 (배열 번호 51)	RS_LV002 (배열 번호 58)
RS_HV007 (배열 번호 51)	RS_LV003 (배열 번호 59)
RS_HV007 (배열 번호 51)	RS_LV004 (배열 번호 60)
RS_HV007 (배열 번호 51)	RS_LV005 (배열 번호 61)

[0359]

[0360] 바람직하게는, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 하기를 포함한다.

항체명	중쇄 가변 영역	경쇄 가변 영역	설명
SNK0001M	SNK0001_HV	SNK0001_LV	하이브리도마 산생 IgM
SNK0001MR	SNK0001_HV	SNK0001_LV	CHO 세포 산생 리컨비넌트 IgM
SNK0001MA	SNK0001_HV	SNK0001_LV	CHO 세포 산생 리컨비넌트 IgA
SNK0002M	SNK0002_HV	SNK0002_LV	하이브리도마 산생 IgM
SNK0002MR	SNK0002_HV	SNK0002_LV	CHO 세포 산생 리컨비넌트 IgM
SNK0002MA	SNK0002_HV	SNK0002_LV	CHO 세포 산생 리컨비넌트 IgA
SNK0003A	SNK0003_HV	SNK0003_LV	하이브리도마 산생 IgA
SNK0003AR	SNK0003_HV	SNK0003_LV	CHO 세포 산생 리컨비넌트 IgA
W27G2	W27G2_HV	W27G2_LV	하이브리도마 산생 IgA
RS_H000_L001	W27G2_HV	RS_LV001	CHO 세포 산생 리컨비넌트 IgA 프로테인 L 결합형
RS_H000_L005	W27G2_HV	RS_LV005	CHO 세포 산생 리컨비넌트 IgA 프로테인 L 결합형

[0361]

			W２７G２의 경쇄 CDR１로 변이
RS_H001_L005	RS_HV001	RS_LV005	CHO 세포 산생 리컴비넌트 IgA 프로테인 L 결합형 W２７G２의 중쇄 CDR１로 변이 W２７G２의 경쇄 CDR１로 변이
RS_H002_L005	RS_HV002	RS_LV005	CHO 세포 산생 리컴비넌트 IgA 프로테인 L 결합형 W２７G２의 중쇄 CDR２로 변이 W２７G２의 경쇄 CDR１로 변이
RS_H003_L005	RS_HV003	RS_LV005	CHO 세포 산생 리컴비넌트 IgA 프로테인 L 결합형 W２７G２의 중쇄 CDR２로 변이 W２７G２의 경쇄 CDR１로 변이
RS_H004_L005	RS_HV004	RS_LV005	CHO 세포 산생 리컴비넌트 IgA 프로테인 L 결합형 W２７G２의 중쇄

[0362]

[0363]

			CDR1 및 CDR2로 변이 W27G2의 경쇄 CDR1로 변이
RS_H005_L005	RS_HV005	RS_LV005	CHO세포 산생 리컴비넌트IgA 프로테인L결합형 W27G2의 중쇄 CDR1 및 CDR2로 변이 W27G2의 경쇄 CDR1로 변이
RS_H006_L005	RS_HV006	RS_LV005	CHO세포 산생 리컴비넌트IgA 프로테인L결합형 W27G2의 중쇄 CDR2로 변이 W27G2의 경쇄 CDR1로 변이
RS_H007_L001	RS_HV007	RS_LV001	CHO세포 산생 리컴비넌트IgA 프로테인L결합형 W27G2의 중쇄 CDR1 및 CDR2로 변이
RS_H007_L002	RS_HV007	RS_LV002	CHO세포 산생 리컴비넌트IgA 프로테인L결합형

			W27G2의 중쇄 CDR1 및 CDR 2로 변이
RS_H007_L003	RS_HV007	RS_LV003	CHO세포 산생 리컴비넌트IgA 프로테인 L 결합형 W27G2의 중쇄 CDR1 및 CDR 2로 변이 W27G2의 경쇄 CDR1로 변이
RS_H007_L004	RS_HV007	RS_LV004	CHO세포 산생 리컴비넌트IgA 프로테인 L 결합형 W27G2의 중쇄 CDR1 및 CDR 2로 변이 W27G2의 경쇄 CDR1로 변이
RS_H007_L005	RS_HV007	RS_LV005	CHO세포 산생 리컴비넌트IgA 프로테인 L 결합형 W27G2의 중쇄 CDR1 및 CDR 2로 변이 W27G2의 경쇄 CDR1로 변이

[0364]

[0365] W27G2 항체에 대하여, 항원 특이성을 실질적으로 변경하지 않도록 중쇄 또는 경쇄에 변이를 도입하여, CHO 세포로 산생된 항체를, RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체라고 부른다. 이것들의 RS 변이체 리컴비넌트 정제 항체는, 한층 더 프로테인 L로의 결합을 위한 변이를 가지고 있다.

[0366] 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, C. difficile 세균체에 대하여 결합하는 것 외에, 다른 질환 관련 세균에 대하여도 결합하는 다중 특이성을 가질 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 한층 더, 대장암 원인균이라고 생각되고 있는 Fusobacterium nucleatum에도 결합하고, 바람직하게는 그 증식을 억제한다.

[0367] 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 그 항원 결합 특성을 잃지 않는 범위에서, 구성 아미노산 배열, 예를 들어 그 중쇄 가변 영역, 경쇄 가변 영역, 중쇄 CDR1 ~ 3 또는 경쇄 CDR1 ~ 3에 변이를 가질 수 있다. 당해 변이는, 치환, 결실(缺失), 삽입 등이어도 무방하고, 이것들에 한정되지 않는다. 예를 들어 치환이면 보존적인 치환 기술을 채용할 수 있다. 나아가, 3차원 구조 해석 등을 이용하여, 항체와 항원의 결합 양식을 상세하게 해석하는 것에 의하여, 본 발명의 C. difficile 세균체에 결합하는 항체는, 그 항원 결합 특성을 잃지 않는 범위에서 다양한 변이를 도입할 수 있다.

[0368] (핵산)

[0369] 본 발명의 항체 또는 그 항원 결합 단편을 코드하는 핵산은, 리보뉴클레오티드여도, 디옥시뉴클레오티드여도 무방하다. 또한, 당해 핵산의 형태는 특별히 한정되지 않고, 단일 쇄의 형태여도, 이중 쇄의 형태여도 무방하다. 당해 핵산 배열을 이용하는 코돈은 특별히 한정되지 않고, 목적에 따라 각종 코돈을 적의 선택하여 사용할 수 있다. 예를 들어, 제조 시에 채용하는 숙주 세포의 종류에 따라, 코돈 빈도 등을 고려하여 적의 선택할 수

있다. 일 태양에 있어서, 본 발명의 항체 또는 그 항원 결합 단편을 코드하는 핵산은, 본 발명에 관련되는 항체 또는 그 항원 결합 단편을 발현하고, 제조하는 것에 이용된다.

[0370] 본 발명의 항체 또는 그 항원 결합 단편을 코드하는 염기 핵산이 항원 결합 단편을 코드하는 경우, 예를 들어, 별개의 핵산 분자에 의하여 Fv 단편의 2개의 도메인, VL 및 VH를 코드하여도 무방하고, 재조합 기술을 이용하고, VL 및 VH 영역 쌍이 1가 분자를 형성하는 단일의 단백질 쇄(단일 쇄 Fv(scFv))를 단일의 핵산에 의하여 코드하여도 무방하다.

[0371] 본 발명의 항체 또는 그 항원 결합 단편을 코드하는 염기 핵산에 관한 배열 정보를 이하에 예시한다.

>배열 번호1:SNK0001_HCDR1
SYGIS

>배열 번호2: SNK0001_HCDR2
EIYPRSGNTYYNEKFK

>배열 번호3: SNK0001_HCDR3
FCARLASS

>배열 번호4: SNK0001_LCDR1
KASQDINSYLS

>배열 번호5: SNK0001_LCDR2
RANRLVD

>배열 번호6: SNK0001_LCDR3
LQYDEFPLT

>배열 번호7: SNK0001_HV
MEWIWIFLFILSGTAGVQSQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQGLEWI
GEIYPRSGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARLASSYYGSSYDWYFDVW
GTGTTVTVSS

>배열 번호8: SNK0001_LV
MRTPAQFLGILLLWFPGIKCDIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKSPKTL
IYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELK

(SNK0001AR 항체 중쇄 아미노산 배열)
>배열 번호9: SNK0001AR_H
MEWIWIFLFILSGTAGVQSQVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYTFTSYGISWVKQRTGQGLEWI
GEIYPRSGNTYYNEKFKGKATLTADKSSSTAYMELRSLTSEDSAVYFCARLASSYYGSSYDWYFDVW
GTGTTVTVSSESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLIHDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPAL
ASGGGYTMSSQLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPA
LEDLLLGSDASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGA
SFKCTVTHPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKEVLVRWLHG

[0372]

NEELSPESYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSG
KPTNVSVSVIMSEGDGICY

(SNK0001AR 항체 경쇄 아미노산 배열)
>배열 번호 10: SNK0001AR_L
MRTPAQFLGILLLWFPGIKCDIKMTQSPSSMYASLGERVTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKSPKTL
IYRANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSLEYEDMGIYYCLQYDEFPLTFGAGTKLELKRADAAPT
VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTL
TKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

>배열 번호 11: SNK0002_HCDR1
TFGMG

>배열 번호 12: SNK0002_HCDR2
LAHIWWDDDKYYNPAL

>배열 번호 13: SNK0002_HCDR3
YYCARIAG

>배열 번호 14: SNK0002_LCDR1
SASSSVSYMHW

>배열 번호 15: SNK0002_LCDR2
STSNLASG

>배열 번호 16: SNK0002_LCDR3
QRSSYPYTF

>배열 번호 17: SNK0002_HV
MGRLTSSFLLLIVPAYVLSQVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTFGMGVGWIRQPSGKGLE
WLAHIWWDDDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTADTATYYCARIAGFDYWGQGTTLTVS
S

>배열 번호 18: SNK0002_LV
MHFQVQIFSFLLISASVIMSRGQIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKL
[0373] WIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPYTFGGGTKLEIK

(SNK0002AR항체 중쇄 아미노산 배열)

>배열 번호 19: SNK0002AR_H

MGRLTSSFLLLIVPAYVLSQVTLKESGPGILQPSQTLSLTCSFSGFSLSTFGMGVGWIRQPSGKGLE
WLAHIWWDDDKYYNPALKSRLTISKDTSKNQVFLKIANVDTADTATYYCARIAGFDYWGQGTTLTVS
SESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLIHDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGGYTMS
SQLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALEDLLLGSD
ASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASFKCTVTHP
ESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKEVLVRWLHGNEELSPESY
LVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSV
IMSEGDGICY

(SNK0002AR항체 경쇄 아미노산 배열)

>배열 번호 20: SNK0002AR_L

MHFQVQIFSFLLISASVIMSRGQIVLTQSPAIMSASPGEKVTITCSASSSVSYMHWFQQKPGTSPKL
WIYSTSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRMEAEDAATYYCQQRSSYPYTFGGGTKLEIKRADAAP
TVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLT
LTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

>배열 번호 21: SNK0003_HCDR1

SYNIH

>배열 번호 22: SNK0003_HCDR2

AIYSGNGATSHNQKFK

>배열 번호 23: SNK0003_HCDR3

FCTRVGLR

>배열 번호 24: SNK0003_LCDR1

KASQSVGTSVA

>배열 번호 25: SNK0003_LCDR2

SASYRYS

>배열 번호 26: SNK0003_LCDR3

QQYNNYPYT

[0374]

>배열 번호 27: SNK0003_HV
MGFSRIFLFLLSVTTGVHSQAYLQQSGAELVRPGASVRMSCKASDYTFTSYNIHWVKQTPRQGLEWI
GAIYSGNGATSHNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRVGLRSPFDFWGQGTTLT
VSS

>배열 번호 28: SNK0003_LV
MESQTQVFVYMLLWLSGVDGDIVMTQSLKFMSTSGGDRVSVTCKASQSVGTSVAWYQQKPGQSPKPL
IYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFSLTISNVQSEDLAEYFCQQYNNYPYTFGGGTKLEIK

(SNK0003A 항체 중쇄 아미노산 배열)
>배열 번호 29:SNK0003A_H
MGFSRIFLFLLSVTTGVHSQAYLQQSGAELVRPGASVRMSCKASDYTFTSYNIHWVKQTPRQGLEWI
GAIYSGNGATSHNQKFKGRATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCTRVGLRSPFDFWGQGTTLT
VSSESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLIHDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGGYT
MSSQLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALEDLLLG
SDASLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASFKCTVT
HPESDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKEVLVRWLHGNEELSPE
SYLVFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSV
SVIMSEGDGICY

(SNK0003A 항체 경쇄 아미노산 배열)
>배열 번호 30: SNK0003A_L
MESQTQVFVYMLLWLSGVDGDIVMTQSLKFMSTSGGDRVSVTCKASQSVGTSVAWYQQKPGQSPKPL
IYSASYRYSGVPDRFTGSGSGTDFSLTISNVQSEDLAEYFCQQYNNYPYTFGGGTKLEIKRADAAPT
VSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTL
TKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

>배열 번호 31: W27G2_HCDR1
DYYIH

>배열 번호 32: W27G2_HCDR2
RIDPENDETTYAPKFQ

>배열 번호 33: W27G2_HCDR3
YCARSTVL

[0375]

>배열 번호 34: W27G2_LCDR1
RASQSIVHTNG

>배열 번호 35: W27G2_LCDR2
KLLIYKV

>배열 번호 36: W27G2_LCDR3
GVYYCFQGS

>배열 번호 37:W27G2_HV
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS
>배열 번호 38:W27G2_LV
MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQS
PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVK

(마우스 W27G2 하이브리도마 산생 항체 중쇄 아미노산 배열)
>배열 번호 39:W27G2_H
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS
ESARNPTIYPLTLPRALSSDPVIIGCLIHDYFPSGTMNVTWGKSGKDITTVNFPPALASGGGYTMSS
QLTLPAVECPEGESVKCSVQHDSNAVQELDVKCSGPPPPCPPCPPSCHPSLSLQRPALEDLLLGSDA
SLTCTLNGLRNPEGAVFTWEPSTGKDAVQKKAVQNSCGCYSVSSVLPGCAERWNSGASFKCTVTHPE
SDTLTGTIAKITVNTFPPQVHLLPPPSEELALNELVSLTCLVRAFNPKEVLVRWLHGNEELSPESYL
VFEPLKEPGEGATTYLVTSVLRVSAELWKQGDQYSCMVGHEALPMNFTQKTIDRLSGKPTNVSVSVI
MSEGDGICY

(마우스 W27G2 하이브리도마 산생 항체 경쇄 아미노산 배열)
>배열 번호 40:W27G2_L
MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQS
PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVKRAD
AAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQNGVLNSWTDQDSKDSTYSMSS
TLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC

>배열 번호 41:RS_HCDR1_D50N
[0376] NYYIH

>배열 번호 42:RS_HCDR2_D75N
RIDPENNETTYAPKFQ

>배열 번호 43:RS_HCDR2_E76Q
RIDPENDQTTYAPKFQ

>배열 번호 44:RS_HCDR2_D75N_E76Q
RIDPENNQTTYAPKFQ

>배열 번호 45:RS_HV001
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTNYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS

>배열 번호 46:RS_HV002
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENNETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS

>배열 번호 47:RS_HV003
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENDQTTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS

>배열 번호 48:RS_HV004
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTNYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENNETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS

>배열 번호 49:RS_HV005
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTNYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENDQTTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS

>배열 번호 50:RS_HV006
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENNQTTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS

>배열 번호 51:RS_HV007
MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTNYYIHWVRQRTEQGLEWI
[0377] GRIDPENNQTTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS

>배열 번호 52: RS_LCDR1_A44S
RSSQSIVHTNG

>배열 번호 53: RS_LFR1_L001
SPASLSVSLGDRA

>배열 번호 54: RS_LFR1_L002
SPASLSVSLGDRV

>배열 번호 55: RS_LFR1_L003
SPASMSVSLGDRA

>배열 번호 56: RS_LFR1_L000
TPLSLPVSLGDQA

>배열 번호 57:RS_LV001
MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISCRASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQS
PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVK

>배열 번호 58:RS_LV002
MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRVTISCRASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQS
PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVK

>배열 번호 59:RS_LV003
MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRVTISCRSSQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQS
PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVK

>배열 번호 60:RS_LV004
MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASMSVSLGDRATISCRSSQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQS
PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVK

>배열 번호 61:RS_LV005
MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISCRSSQSIVHTNGNTYLEWYLQKPGQS
PKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVK

>배열 번호 62: RS_HCDR1_X
XYYIH

[0378]

>배열 번호 63: RS_HCDR2_X
RIDPENXXTTYAPKFQ

>배열 번호 64: RS_LCDR1_X
RXSQSIVHTNG

(SNK0001AR 항체 중쇄 cDNA 배열)
>배열 번호 65: SNK0001AR_H_CDNA
ATGGAATGGATCTGGATCTTTCTCTTCATCCTGTCAGGAACTGCAGGTGTCCAATCCCAGGTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGAGCTGAGCTGGCGAGGCCTGGGGCTTCAGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTTCTGG
CTACACCTTCACAAGCTATGGTATAAGCTGGGTGAAGCAGAGAACTGGACAGGGCCTTGAGTGGATT
GGAGAGATTTATCCTAGAAGTGGTAATACTTACTACAATGAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCACACTGA
CTGCAGACAAATCCTCCAGCACAGCGTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGT
CTATTTCTGTGCAAGATTGGCATCGAGCTACTACGGTAGTAGCTACGACTGGTACTTCGATGTCTGG
GGCACAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACAC
TCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGATAATCGGCTGCCTGATTCACGATTACTTCCCTTCCGG
CACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGGGAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTG
GCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGCCAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCCAGAAGGAG
AATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACTCTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGG
TCCTCCTCCTCCTTGTCCTCCTTGTCCTCCTTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCT
CTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTCAGATGCCAGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTG
AGGGAGCTGTCTTCACCTGGGAGCCCTCCACTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAA
TTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGTCCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCA
TCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAGTCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAG
TGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGCTACCGCCGCCGTCGGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCT
CGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTTCAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGA
AATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTAGTGTTTGAGCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCA
CCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTGTATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTC
CTGCATGGTGGGCCACGAGGCCTTGCCCATGAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTCGGGT
AAACCCACCAATGTCAGCGTGTCTGTGATCATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACTGA

(SNK0001AR 항체 경쇄 cDNA 배열)
>배열 번호 66:SNK0001AR_L_CDNA
ATGAGGACCCCTGCTCAGTTTCTTGGAATCTTGTTGCTCTGGTTTCCAGGTATCAAATGTGACATCA
AGATGACCCAGTCTCCATCTTCCATGTATGCATCTCTAGGAGAGAGAGTCACTATCACTTGCAAGGC
[0379] GAGTCAGGACATTAATAGCTATTTAAGCTGGTTCCAGCAGAAACCAGGGAAATCTCCTAAGACCCTG

ATCTATCGTGCAAACAGATTGGTAGATGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGCAAG
ATTATTCTCTCACCATCAGCAGCCTGGAGTATGAAGATATGGGAATTTATTATTGTCTACAGTATGA
TGAGTTTCCGCTCACGTTCGGTGCTGGGACCAAGCTGGAGCTGAAACGGGCTGATGCTGCACCAACT
GTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGA
ACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGT
CCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCTCACGTTG
ACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCAC
CCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTGA

(SNK0002AR 항체 중쇄 cDNA 배열)

>배열 번호 67: SNK0002AR_H_CDNA

ATGGGCAGGCTTACTTCTTCATTCCTGTTACTGATTGTCCCTGCATATGTCCTGTCCCAGGTTACTC
TGAAAGAGTCTGGCCCTGGGATATTGCAGCCCTCCCAGACCCTCAGTCTGACTTGTTCTTTCTCTGG
GTTTTCACTGAGCACTTTTGGTATGGGTGTAGGCTGGATTCGTCAGCCTTCAGGGAAGGGTCTGGAG
TGGCTGGCACACATTTGGTGGGATGATGATAAGTACTATAACCCAGCCCTGAAGAGTCGGCTCACAA
TCTCCAAGGATACCTCCAAAAACCAGGTATTCCTCAAGATCGCCAATGTGGACACTGCAGATACTGC
CACATACTACTGTGCTCGAATAGCTGGGTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCTCC
TCAGAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAG
TGATAATCGGCTGCCTGATTCACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAG
TGGGAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGC
AGCCAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCCAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATG
ACTCTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCCTCCTTGTCC
TCCTTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTCAGAT
GCCAGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTCACCTGGGAGCCCT
CCACTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAG
CGTCCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCT
GAGTCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACC
TGCTACCGCCGCCGTCGGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGC
TTTCAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTAC
CTAGTGTTTGAGCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGC
GTGTATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCTTGCC
CATGAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTCGGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTGTCTGTG
ATCATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACTGA

(SNK0002AR 항체 경쇄 cDNA 배열)

[0380]

>배열 번호 68: SNK0002AR_L_CDNA

ATGCATTTTCAAGTGCAGATTTTCAGCTTCCTGCTAATCAGTGCCTCAGTCATAATGTCCAGAGGAC
AAATTGTTCTCACCCAGTCTCCAGCAATCATGTCTGCATCTCCAGGGGAGAAGGTCACCATAACCTG
CAGTGCCAGCTCAAGTGTAAGTTACATGCACTGGTTCCAGCAGAAGCCAGGCACTTCTCCCAAACTC
TGGATTTATAGCACATCCAACCTGGCTTCTGGAGTCCCTGCTCGCTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGA
CCTCTTACTCTCTCACAATCAGCCGAATGGAGGCTGAAGATGCTGCCACTTATTACTGCCAGCAAAG
GAGTAGTTACCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAACGGGCTGATGCTGCACCA
ACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCT
TGAACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGG
CGTCCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCTCACG
TTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTT
CACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTGA

(SNK0003A 항체 중쇄 cDNA 배열)

>배열 번호 69: SNK0003A_H_CDNA

ATGGGATTCAGCAGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGTAACTACAGGTGTCCACTCCCAGGCTTATC
TACAGCAGTCTGGGGCTGAGCTGGTGAGGCCTGGGGCCTCAGTGAGGATGTCCTGCAAGGCTTCTGA
CTACACATTTACCAGTTACAATATCCACTGGGTAAAGCAGACACCTAGACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAGCTATTTATTCAGGAAATGGTGCTACTTCCCACAATCAGAAGTTCAAGGGCAGGGCCACACTGA
CTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAAGACTCTGCGGT
CTATTTCTGTACAAGAGTGGGACTCCGGTCCCCTTTTGACTTCTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACA
GTCTCCTCAGAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTG
ACCCAGTGATAATCGGCTGCCTGATTCACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGG
AAAGAGTGGGAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACC
ATGAGCAGCCAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCCAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGC
AACATGACTCTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCCTCC
TTGTCCTCCTTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGT
TCAGATGCCAGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTCACCTGGG
AGCCCTCCACTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGT
GTCCAGCGTCCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACC
CATCCTGAGTCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGG
TCCACCTGCTACCGCCGCCGTCGGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGT
GCGAGCTTTCAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAA
AGCTACCTAGTGTTTGAGCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCG
TGTTGCGTGTATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGC
CTTGCCCATGAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTCGGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTG
TCTGTGATCATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACTGA

[0381]

(SNK0003A 항체 경쇄 cDNA 배열)

>배열 번호 70: SNK0003A_L_CDNA

ATGGAGTCACAGACTCAGGTCTTTGTATACATGTTGCTGTGGTTGTCTGGTGTTGATGGAGACATTG
TGATGACCCAGTCTCTAAAATTCATGTCCACATCGGGAGGAGACAGGGTCAGCGTCACCTGCAAGGC
CAGTCAGAGTGTGGGTACAAGTGTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGACAATCTCCTAAACCACTG
ATTTATTCGGCATCTTATCGGTACAGTGGAGTCCCTGATCGCTTCACAGGCAGTGGATCTGGGACAG
ATTTCAGTCTCACCATCAGCAATGTGCAGTCTGAAGACTTGGCAGAATATTTCTGTCAGCAATATAA
CAACTATCCGTACACGTTCGGAGGGGGGACCAAGCTGGAGATAAAACGGGCTGATGCTGCACCAACT
GTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGA
ACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGT
CCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCTCACGTTG
ACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGACATCAACTTCAC
CCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTGA

(마우스 W27G2 하이브리도마 산생 항체 중쇄 cDNA 배열)

>배열 번호 71:W27G_MOUSE_IGA_H_CDNA

ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
GAGTCTGCGAGAAATCCCACCATCTACCCACTGACACTCCCACGAGCTCTGTCAAGTGACCCAGTGA
TAATCGGCTGCCTGATTCACGATTACTTCCCTTCCGGCACGATGAATGTGACCTGGGGAAAGAGTGG
GAAGGATATAACCACCGTAAACTTCCCACCTGCCCTGGCCTCTGGGGGAGGGTACACCATGAGCAGC
CAGTTGACCCTGCCAGCTGTCGAGTGCCCAGAAGGAGAATCCGTGAAATGTTCCGTGCAACATGACT
CTAACGCCGTCCAAGAATTGGATGTGAAGTGCTCTGGTCCTCCTCCTCCTTGTCCTCCTTGTCCTCC
TTCCTGCCATCCCAGCCTGTCACTGCAGCGGCCAGCTCTTGAGGACCTGCTCCTGGGTTCAGATGCC
AGCCTCACATGTACTCTGAATGGCCTGAGAAATCCTGAGGGAGCTGTCTTCACCTGGGAGCCCTCCA
CTGGGAAGGATGCAGTGCAGAAGAAAGCTGTGCAGAATTCCTGCGGCTGCTACAGTGTGTCCAGCGT
CCTGCCTGGCTGTGCTGAGCGCTGGAACAGTGGCGCATCATTCAAGTGCACAGTTACCCATCCTGAG
TCTGACACCTTAACTGGCACAATTGCCAAAATCACAGTGAACACCTTCCCACCCCAGGTCCACCTGC
TACCGCCGCCGTCGGAGGAGCTGGCCCTGAATGAGCTCGTGTCCCTGACATGCCTGGTGCGAGCTTT
CAACCCTAAAGAAGTGCTGGTGCGATGGCTGCATGGAAATGAGGAGCTGTCCCCAGAAAGCTACCTA
GTGTTTGAGCCCCTAAAGGAGCCAGGCGAGGGAGCCACCACCTACCTGGTGACAAGCGTGTTGCGTG
TATCAGCTGAACTCTGGAAACAGGGTGACCAGTACTCCTGCATGGTGGGCCACGAGGCCTTGCCCAT

[0382]

GAACTTCACCCAGAAGACCATCGACCGTCTGTCGGGTAAACCCACCAATGTCAGCGTGTCTGTGATC
ATGTCAGAGGGAGATGGCATCTGCTACTGA

(마우스 W27G2 하이브리도마 산생 항체 경쇄 cDNA 배열)
>배열 번호 72:W27G_MOUSE_IGA_L_CDNA
ATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCCTGGATTCAGCAGTGATGTTTTGA
TGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGTAGAGCTAG
TCAGAGCATTGTACACACTAATGGGAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCT
CCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTGGCAGTG
GATCTGGGACAGATTTCATACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTATTACTG
CTTTCAAGGTTCACATGTTCCTCCGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAGTCAAACGGGCTGAT
GCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCG
TGTGCTTCTTGAACAACTTCTACCCCAAAGACATCAATGTCAAGTGGAAGATTGATGGCAGTGAACG
ACAAAATGGCGTCCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGACAGCACCTACAGCATGAGCAGC
ACCCTCACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACCTGTGAGGCCACTCACAAGA
CATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTAG

(마우스 W27G2 IGG 항체 중쇄 cDNA 배열)
>배열 번호 73:W27G2_MOUSE_IGG_H_CDNA
ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
AAAACGACACCCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCCTGGATCTGCTGCCCAAACTAACTCCATGGTGA
CCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACTCTGGATCCCT
GTCCAGCGGTGTGCACACCTTCCCAGCTGTCCTGCAGTCTGACCTCTACACTCTGAGCAGCTCAGTG
ACTGTCCCCTCCAGCACCTGGCCCAGCGAGACCGTCACCTGCAACGTTGCCCACCCGGCCAGCAGCA
CCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCCAGGGATTGTGGTTGTAAGCCTTGCATATGTACAGTCCCAGA
AGTATCATCTGTCTTCATCTTCCCCCCAAAGCCCAAGGATGTGCTCACCATTACTCTGACTCCTAAG
GTCACGTGTGTTGTGGTAGACATCAGCAAGGATGATCCCGAGGTCCAGTTCAGCTGGTTTGTAGATG
ATGTGGAGGTGCACACAGCTCAGACGCAACCCCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACTTTCCGCTCAGT
CAGTGAACTTCCCATCATGCACCAGGACTGGCTCAATGGCAAGGAGTTCAAATGCAGGGTCAACAGT
GCAGCTTTCCCTGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAAGGCAGACCGAAGGCTCCACAGG
[0383] TGTACACCATTCCACCTCCCAAGGAGCAGATGGCCAAGGATAAAGTCAGTCTGACCTGCATGATAAC

AGACTTCTTCCCTGAAGACATTACTGTGGAGTGGCAGTGGAATGGGCAGCCAGCGGAGAACTACAAG
AACACTCAGCCCATCATGGACACAGATGGCTCTTACTTCGTCTACAGCAAGCTCAATGTGCAGAAGA
GCAACTGGGAGGCAGGAAATACTTTCACCTGCTCTGTGTTACATGAGGGCCTGCACAACCACCATAC
TGAGAAGAGCCTCTCCCACTCTCCTGGTAAAtaa

(인간 키메라화 W27G2 IgG 항체 중쇄 cDNA 배열)
>배열 번호 74: W27G2_HUMAN_CHIMERA_IGG_H_CDNA
ATGAAATGCAGCTGGATCATCTTCTTCCTGATGGCAGTGGTTACAGGGGTCAATTCAGAGGTTCAGC
TGCAGCAGTCTGGGTCAGAGCTTGTGAAGTCTGGGGCCTCAGTCAAGTTGTCCTGCACAGTTTCTGG
GTTCAACTTTACAGACTACTATATACACTGGGTGAGGCAGAGGACTGAACAGGGCCTGGAATGGATT
GGAAGGATTGATCCTGAGAATGATGAAACTACATATGCCCCGAAATTCCAGGGCAAGGCCACTATGA
CAGCAGACACATCTTCCAACACAGCCTACCTGCAGCTCACCAGCCTGACATCTGAAGACACTGCCGT
CTATTACTGTGCTAGATCTACGGTCCTTGACTACTGGGGCCACGGCACCACTCTCACAGTCTCCTCA
GCATCCCCGACTAGTTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCAAGAGCACCT
CTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTG
GAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTAC
TCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGA
ATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAACTCACAC
ATGCCCACCGTGCCCAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCC
AAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAG
ACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCG
GGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTGGCTG
AATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAGCCCCTATCGAGAAAACCATCT
CCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGAC
CAAGAACCAGGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG
GAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACGGCTCCT
TCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTC
CGTGATGCATGAGGGTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGA

(인간 키메라화 W27G2 IgG 항체 경쇄 cDNA 배열)
>배열 번호 75: W27G2_HUMAN_CHIMERA_IGG_L_CDNA
ATGGACATGAAGTTGCCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCCTGGATTCAGCAGTGATG
TTTTGATGACCCAAACTCCACTCTCCCTGCCTGTCAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTTGTAG
AGCTAGTCAGAGCATTGTACACACTAATGGGAACACCTATTTAGAATGGTACCTGCAGAAACCAGGC
CAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGGTTCAGTG

[0384] GCAGTGGATCTGGGACAGATTTCATACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATCTGGGAGTTTA

TTACTGCTTTCAAGGTTCACATGTTCCTCCGACGTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAAGTCAAACGG
GCTGATGCTGCACCAACTGTATCCATCTTCCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCT
CTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCTCGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAGGTGGATAACGC
CCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTC
AGCAGCACCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCC
ATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

(마우스 W27G2 IGG 항체 중쇄 아미노산 배열)

>배열 번호 76: W27G2_MOUSE_IGG_H

MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS
KTTPPSVYPLAPGSAAQTNSMVTLGCLVKGYFPEPVTVTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSV
TVPSSTWPSETVTCNVAHPASSTKVDKKIVPRDCGCKPCICTVPEVSSVFIFPPKPKDVLTITLTPK
VTCVVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQTQPREEQFNSTFRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNS
AAFPAPIEKTISKTKGRPKAPQVYTIPPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDITVEWQWNGQPAENYK
NTQPIMDTDGSYFVYSKLNVQKSNWEAGNTFTCSVLHEGLHNHHTEKSLSHSPGK

(인간 키메라화 W27G2 IgG 항체 중쇄 아미노산 배열)

>배열 번호 77:W27G2_HUMAN_CHIMERA_IGG_H

MKCSWIIFFLMAVVTGVNSEVQLQQSGSELVKSGASVKLSCTVSGFNFTDYYIHWVRQRTEQGLEWI
GRIDPENDETTYAPKFQGKATMTADTSSNTAYLQLTSLTSEDTAVYYCARSTVLDYWGHGTTLTVSS
ASPTSSTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKP
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
ESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEGLHNHYTQKSLSLSPGK

(인간 키메라화 W27G2 IgG 항체 경쇄 아미노산 배열)

>배열 번호 78:W27G2_HUMAN_CHIMERA_IGG_L

MDMKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRASQSIVHTNGNTYLEWYLQKPG
QSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPPTFGGGTKLEVKR
ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[0385]

[0386] (C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 제조 방법)

[0387] 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체에 결합하는 항체의 제조 방법은, 하기의 공정 1 ~ 3을 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0388] (공정 1)

[0389] 장관 점막 고유층 또는 비장으로부터 채취된 B 세포로부터, 항체 산생 불사화 세포를 제작하는 공정.

[0390] (공정 2)

[0391] 상기 공정 1에서 제작한 항체 산생 불사화 세포를 배양하고, C. difficile 세균체와 결합하는 항체를 산생하는 세포를 결정하는 공정.

[0392] (공정 3)

[0393] 상기 C. difficile 세균체와 결합하는 항체를 산생하는 세포로부터 항체를 회수하는 공정.

[0394] 본 발명에 관련되는, C. difficile 세균체와 결합하는 항체의 제조 방법에는, 공정 3 후에, 후술하는 것과 같은 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 필요에 따라, 이것들을 적의 조합한 구성으로 하기 위하여, 예를 들어, 프로테아제 등에 의하여 처리하는 공정, 디술피드 결합 등의 화학적 결합이 가능하게 되는 것과 같은, 관능기를 도입하는 공정, 및 그것에 이어서 상기 관능기를 통하여 상기 화학적 결합을 형성시키는 공정 등이 포함되어 있어도 무방하다.

[0395] 본 발명의 C. difficile 세균체와 결합하는 항체의 제조 방법에 있어서의 상기 공정 1 ~ 3에 관하여, 이하에 상

술한다.

[0396] (공정 1에 관하여)

[0397] 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체의 제조 방법에 있어서의 공정 1은, 장관 점막 고유층 또는 비장으로부터 채취된 B 세포로부터, 항체 산생 불사화 세포를 제작하는 공정이다.

[0398] 장관 점막 고유층(Lamina Propria)이란, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 식도, 위, 소장(십이지장, 공장, 회장 등을 포함한다.), 대장(맹장, 결장, 직장 등을 포함한다.) 등에 존재하는 점막을 구성하는 층의 하나이고, 상피 세포를 포함하는 층과 점막 기판(Muscularis mucosae)과의 사이에 위치하는 층이면 된다. 그 중에서도, 림프계 조직, 모세혈관, 림프관 등을 포함하고 있는, 소장에 존재하는 장관 점막 고유층이 바람직하다.

[0399] 비장의 세포로서는, 특별히 한정되지 않지만, B 세포를 포함한 세포를 사용할 수 있다.

[0400] 장관 점막 고유층 또는 비장으로부터 B 세포를 채취하는 방법은, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 장관을 채취하고, 얻어진 장관을 세정 후에 절개하여 점막층을 노출시킨다. 그 다음에, 적당한 농도의 EDTA를 포함하는 생리 식염수 중에서 진탕시켜 상피 세포를 유리(遊離)시켜 제거한다. 그 후, 적당한 농도의 콜라게나아제 등이라고 하는 소화 효소로 처리하는 것에 의하여, B 세포를 회수하는 방법을 들 수 있다. 이것 이외의 공지의 방법을 채용하여도 무방하고 또한, 시판의 장관 점막 고유층 또는 비장 유래의 B 세포를 구입하여 입수하여도 무방하다.

[0401] 장관 점막 고유층 또는 비장의 유래, 즉 상기 B 세포의 유래는, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어, 인간, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼, 염소, 양, 당나귀, 돼지, 소, 말, 닭, 원숭이, 침팬지, 낙타, 라마 등을 들 수 있다.

[0402] 장관 점막 고유층 또는 비장으로부터 채취된 B 세포로부터 항체 산생 불사화 세포를 작성하는 공정에는, 당업자의 공지의 임의의 방법을 이용할 수 있다. 예를 들어, 항체 산생 불사화 세포로서, 당해 B 세포와 B 세포 이외의 종류를 융합시켜 제조한 하이브리도마를 작성할 수 있고, 또한, B 세포에 EB 바이러스 등을 감염시키는 것에 의하여, 불사화 B 세포를 작성할 수 있지만 이것들에 한정되지 않는다.

[0403] B 세포와 B 세포 이외의 종류를 융합시켜 하이브리도마를 제조하는 경우, 당해 B 세포 이외의 세포의 종류(본 명세서에 있어서, 「다른 세포」라고 부르는 일이 있다.)란, 당해 B 세포와 접촉하는 것에 의하여 융합하여 하이브리도마를 형성하고, 당해 하이브리도마가 상술한 B 세포가 발휘하는, 항체를 산생하는 기능을 잃지 않는 것이라면 특별히 한정되지 않는다.

[0404] 이와 같은 다른 세포로서, 상기 B 세포와 융합하여 하이브리도마를 형성하고, 당해 하이브리도마가 불사화 기능을 획득할 수 있는 것과 같은 세포가 바람직하고, 구체적으로는 암 세포, 그 중에서도, 미엘로마 등이라고 하는 골수종에서 유래하는 세포 등을 들 수 있다. 바람직한 다른 세포는, 미엘로마, 예를 들어 마우스 NS1 세포이다.

[0405] 다른 세포의 유래는, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 인간, 마우스, 래트, 햄스터, 토끼, 염소, 양, 당나귀, 돼지, 소, 말, 닭, 원숭이, 침팬지, 낙타, 라마 등을 들 수 있다.

[0406] 융합이란, 상기 B 세포와 다른 세포가 일체(一體) 불가분으로 합일하는 것을 의미한다. 여기서, 일체 불가분이란, 융합한 후의 세포가 증식할 때의 현상인 세포 분열은 제외하는 것이다. 이와 같이 하여, 융합한 세포가, 본 명세서에 있어서의 하이브리도마의 일례로서 들고 있다.

[0407] 혼합 및 융합 시의 조건은 특별히 한정되지 않고, 세포를 융합하는 방법에 있어서 통상 이용되는 조건을 적의 채용하면 된다. 예를 들어, B 세포, 또는 다른 세포를 배양할 때에 이용되는 조건을 적의 개변하여 행하면 된다. 이와 같은 방법으로서, 예를 들어 적당한 배지 중에 있어서, B 세포와 B 세포 이외의 종류의 세포를 혼합하여 폴리에틸렌글리콜 등의 존재 하에서 이것들을 접촉시키는 방법; 상기 혼합 후에 전기 자극을 주는 방법; 센다이 바이러스 등의 바이러스를 이용하는 방법 등 후에, 이것을 37℃, 5%의 이산화탄소의 조건 하에서 인큐베이트하는 방법을 들 수 있다.

[0408] 융합에 걸리는 시간도, 특별히 한정되는 것은 아니고, 융합 그 자체가 완료할 때까지의 시간을 적의 설정하면 된다. 융합이 완료한 것을 확인하는 방법은, 통상의 세포의 융합을 행할 때에 이용되는, 공지의 방법을 적의 개변하여 행하면 된다. 이와 같은 방법으로서, 예를 들어 현미경 하에서 융합의 진행 정도를 관찰하는 방법을 들 수 있고, 공지의 키트를 적의 선택하여, 그 사용 조건을 따라 세포를 융합하여도 무방하다.

[0409] (공정 2에 관하여)

[0410] 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체의 제조 방법에 있어서의 공정 2는, 상기 공정 1에서 제작한 항체 산생 불사화 세포를 배양하고, C. difficile 세균체와 결합하는 항체를 산생하는 세포를 결정하는 공정이다.

[0411] 바람직하게는, 공정 2는, 담체에 고정된 C. difficile 세균체 전체에 대하여 결합하는 항체를 산생하는 세포를 결정하는 것에 의하여 행하여진다. 바람직하게는, 고정된 C. difficile 세균체는 용균 처리를 받고 있지 않다. 예를 들어, C. difficile 세균체는 Na_2CO_3 버퍼로 현탁된 상태로 ELISA 플레이트 등의 담체에 고정된다.

[0412] 본 발명의 공정 2 전에, 공정 1에서 얻어진 항체 산생 불사화 세포를, 모노클로날 항체를 제조할 때에 통상 이용되는 것과 같은 한계 희석법 등의 서브클로닝 공정 등에 공급하고 있어도 무방하다.

[0413] C. difficile 세균체와 결합하는 항체를 산생하는 항체 산생 불사화 세포는, ELISA, EIA, RIA, FLISA, FIA 등에 의한 수단, FACS에 의한 수단 등 이용하여 결정할 수 있다.

[0414] 또한, 상술의 방법에서 결정한 C. difficile 세균체와 결합하는 항체 산생 불사화 세포를 결정한 후에, 한층 더 다른 장내 세균과도 결합하는 항체를 산생하는 항체 산생 불사화 세포를 결정하는 공정을 포함하여도 무방하다.

[0415] (공정 3에 관하여)

[0416] 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체의 제조 방법에 있어서의 공정 3은, 상기 공정 2에서 결정된, C. difficile 세균체와 결합하는 항체를 산생하는 세포로부터, 항체를 회수하는 공정이다.

[0417] 공정 3에 있어서의 구체적인 회수 방법은, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 IgA 항체를 산생하는 세포의 배양액의 상청을 회수하는 방법, 상기 세포의 용해액을 회수하는 방법을 들 수 있다. 세포의 용해액은, 초음파 파쇄, 프렌치 프레스 등이라고 하는 공지의 기계적 수단 및/또는 계면 활성제, 세포벽 소화 효소, 세포막 소화 효소를 이용한 공지의 화학적 처리에 의한 방법을 적의 조합하여 세포를 용해하고, 그 후 고액 분리 공정에 공급한 후의 액상(液相) 획분을 회수하여 본 발명의 C. difficile 세균체와 결합하는 항체를 제조할 수 있다.

[0418] 상술의 항체 산생 불사화 세포로부터 항체 분자를 회수하기 전에, 당해 항체 산생 불사화 세포를 적당한 배지를 이용하여 일정 기간 배양한 후에, 상술과 같이 그 상청을 회수하는 방법, 또는 세포의 용해액으로부터 회수하는 방법에 공급하여도 무방하다. 이 외에도, 상술의 항체 산생 불사화 세포를 면역 부전 마우스 등의 동물 개체에 복강 내 투여하고, 이와 같은 개체의 복수(腹水)로부터 항체를 회수하여도 무방하다.

[0419] 덧붙여, 상술의 방법으로 회수한 C. difficile 세균체와 결합하는 항체는, 적의 공지의 정제 공정에 공급하여도 무방하다. 구체적인 정제 수단은, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 아세톤, 황산 암모늄 등을 이용한 침전에 의한 정제 수단; 어피니티, 음이온 교환, 양이온 교환, 사이즈 배제, 역상 등의 컬럼 크로마토그래피를 이용한 정제 수단 등이라고 한, 공지의 단백질의 정제 수단을 적의 조합하여 채용하면 된다.

[0420] (리컴비넌트 항체를 제조하는 방법)

[0421] 다른 태양에 있어서, 본 발명의 C. difficile 세균체와 결합하는 항체는, C. difficile 세균체와 결합하는 것이 확인된 항체를 코드하는 핵산을, 모노클로날 항체를 산생할 수 있는 세포에 도입하고, 당해 세포를 배양하여, 그 세포 추출액 또는 배양 상청으로부터, 모노클로날 항체를 회수하고, 필요에 따라 정제하는 방법을 들 수 있다.

[0422] 항체가 C. difficile 세균체와 결합하는 것을 확인하기 위하여는, 당업자에게 주지의 수단을 이용할 수 있고, 예를 들어, 항체 분자 또는 당해 항체를 산생하는 세포를, ELISA, EIA, RIA, FLISA, FIA 등에 의한 수단, FACS에 의한 수단 등을 이용하여 동정하는 것에 의하여 확인할 수 있다.

[0423] 상기 모노클로날 항체를 산생할 수 있는 세포란, 통상, 포유류 등에서 유래하는 고차 구조를 형성하는 것에 의하여 기능을 발휘하는 각종 단백질을 산생할 수 있는 세포이면, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 COS 세포, HEK 세포(HEK293, HEK293T 등), HELA 세포, CHO 세포 등의 포유류 유래의 세포, Sf9 등이라고 하는 곤충 유래의 세포 등이라고 하는 공지의 세포를 적의 선택하면 된다. 일 태양에 있어서, 효모 세포, 사상균 세포, 대두, 애기장대 등의 식물 세포를 이용하여 모노클로날 항체를 산생할 수도 있다.

[0424] 구체적인 핵산의 도입 방법, 당해 핵산을 도입한 세포의 배양 조건, 회수 방법, 정제 방법에 관하여는, 이용하는 세포의 종류 등에 의하여 각기 다르고, 특별히 한정되지 않고, 공지의 방법을 적의 개변하고, 조합하는 것으로, 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체를 제조할 수 있다.

[0425] 일 태양에 있어서, 이것들 세포 내에서 모노클로날 항체를 산생한 후, 이것들 세포로부터 배양액 중에 분비된 모노클로날 항체를, 배양액과 함께 건조 혹은 동결 건조하는 것으로, 또는, 이것들 세포 중에 축적한 모노클로날 항체를, 이것들 세포와 함께 분쇄, 건조 또는 동결 건조하는 것으로, 경장 섭취에 적합한 항체 함유 조성물로서 모노클로날 항체를 제조할 수도 있다(Virdi et al., Nat. Biotechnol., 2019, Vol.37, pp.527-530). 일 태양에 있어서, 경장 섭취에 적합한 항체 함유 조성물을 산생하는 세포는, 효모 세포, 사상균 세포, 대두, 애기장대 등의 식물 세포인 것이 바람직하고, 산생되는 모노클로날 항체는 VHH 단편이 IgAFc에 융합된 형태인 것이 바람직하다.

[0426] 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체가 키메라 항체인 경우, 상술의 핵산에 관하여, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 코드하는 염기 배열, 및 이종 유래의 중쇄 정상 영역 및 경쇄 정상 영역을 코드하는 염기 배열을 가지는 핵산을 제작하고, 제작한 중쇄 가변 영역을 코드하는 염기 배열과 중쇄 정상 영역을 코드하는 염기 배열을 가지는 핵산을 결합시키고, 또한 제작한 경쇄 가변 영역을 코드하는 염기 배열과 경쇄 정상 영역을 코드하는 염기 배열을 가지는 핵산을 결합시키고, 결합시킨 이것들 핵산을 상술과 같이 항체를 산생할 수 있는 세포에 도입하면 된다.

[0427] 나아가, 본 발명에 관련되는 C. difficile 세균체와 결합하는 항체가, 중쇄 및/또는 경쇄 CDR1 ~ 3이 마우스에서 유래하는 아미노산 배열을 가지고, 그 이외의 영역이 인간에서 유래하는 아미노산 배열을 가진다고 하는 태양의 항체인 경우(이것을, 인간화 항체라고 칭하는 일도 있다.)의 제조 방법도, 상술의 키메라 항체와 마찬가지로, 중쇄 및/또는 경쇄 CDR1 ~ 3을 코드하는 염기 배열, 및 그것들 이외의 영역을 코드하는 염기 배열을 가지는 핵산을 제작하고, 중쇄 및 경쇄를 구성하도록 핵산을 재결합하고, 이것들을 상술과 같이 모노클로날 IgA 항체를 산생할 수 있는 세포에 도입하면 된다. 항체의 결합능의 보지를 위하여, 일부의 염기를 다른 염기에 치환할 필요가 있는 경우도 있다.

[0428] **실시예**

[0429] 이하, 실시예에 의하여 본 발명을 한층 더 상세하게 설명하지만, 이것들은 예시에 지나지 않고 본 개시를 한정하는 것은 아니다.

[0430] (방법과 재료)

[0431] 1. 마우스

[0432] 8-25주령의 C57BL/6, 혹은 BALB/c 마우스를 사용하였다. 이것들을 SPF 사육하고, 또는 이것들의 마우스에 인간 장내 세균총을 이식하고, 혹은 특정의 병원균을 감염시켰다.

[0433] 실시예 1: 세균에 결합하는 항체의 스크리닝

[0434] (1-1) 소장 및 대장 점막 고유층 세포의 분리

[0435] 마우스를 안락사시킨 후, 개복하고 소장 전체 길이를 적출하였다. 적출한 소장으로부터 결합 조직과 파이어판을 없앤 후, 소장을 세로 절개하고, 소장 내용물을 PBS로 세정하였다. 다음으로, 1mM EDTA를 포함하는 PBS 50ml가 채워져 있는 100ml 비커에 세정한 소장을 1cm 정도의 길이로 절단하여 더하였다. 37℃에서 20분간 진탕한 후, 스트레이너에 소장 단편을 모아, EDTA를 포함하는 PBS를 파기하였다. 50ml 튜브에 소장 단편을 더하고 20ml의 PBS를 더하여 10초간 격렬하게 진탕한 후, 다시 스트레이너에 소장 단편을 모아, PBS를 파기하였다. 이 작업을 2회 반복하고, 소장 조직으로부터 소장 상피 세포만을 없앴다. 다음으로, 100ml 비커에 37℃로 데운 소화 효소액(100ml RPMI 1640, 5ml FCS(최종 농도 5%), 50μl의 2-메르캅토에탄올(최종 농도 55μM), 0.15g의 콜라게나아제, 1ml의 디스파제(50U/ml)(최종 농도 0.5U/ml)에서 조정)를 50ml 더하고, 소장 조직을 한층 더 잘게 잘라 더하고, 37℃에서 30분간 진탕하였다. 그 후 100ml 비커를 정치(靜置)하고 소장 조직을 가라앉힌 후, 상청을 새로운 50ml 튜브로 옮겼다. 이 소화 효소액을 이용한 소화 공정을 20분간 1회 반복하였다. 소화액을 1,500rpm, 실온에서 5분간 원심하고, 상청을 파기하였다. 침전물로서 얻어진 점막 고유층 세포를 2% FCS를 포함하는 RPMI 1640으로 1회 세정한 후에, 2ml의 2% FCS를 포함하는 RPMI 1640으로 현탁하여 빙상에 보존하였다. 2번째의 소화 공정의 반응을 행한 상청에 관하여도 마찬가지의 작업을 행하고 1회째의 세포 현탁액과 2번째의 세포 현탁액을 합치고, 필터에 통과시켜 조직편을 없애고, 소장(대장) 점막 고유층 세포로 하였다.

[0436] (1-2) 항체 산생 하이브리도마의 제작과 클로닝

[0437] 소장(대장) 점막 고유 세포 혹은 비장 세포와 마우스 미엘로마 세포인 NS1 세포를 융합하여 하이브리도마의 제작을 행하였다. 세포 융합은 ClonaCell-HY Hybridoma Cloning Kit(STEMCELL Technologies)에 따라, kit의 시약

과 수순(手順)에 따라 행하였다. 얻어진 하이브리도마를 ClonaCell-HY Hybridoma Cloning Kit(STEMCELL Technologies)에 따라 메틸셀룰로오스 함유 배지에서 증식시키고, 클론을 육안으로 픽업하여, 96 구멍 플레이트로 한층 더 각 클론을 증식시켰다. 그 후, 클로닝한 하이브리도마로부터 동결 세포 스톡을 제작하는 것과 동시에 배양 상청을 취득하였다. 상청 중에 포함되는 항체에 관하여, 통상의 샌드위치 ELISA법에 의하여 항체의 아이소타입을 확인하고, 그 후에 상청 중에 포함되는 항체의 항체가를 측정하고, 각 아이소타입 항체 산생 하이브리도마로서 분리하였다. ELISA에서 사용한 항체는 플레이트로의 코팅에 Anti-goat-mouse IgA(Southern Biotech), Anti-goat-mouse IgG(Southern Biotech), 혹은 Anti-goat-mouse IgM(Southern Biotech)을 2μg/ml, 검출용으로 Alkaline Phosphatase(ALP)-conjugated anti-goat mouse IgA(Southern Biotech), Alkaline Phosphatase(ALP)-conjugated anti-goat mouse IgG(Southern Biotech), 혹은 Alkaline Phosphatase(ALP)-conjugated anti-goat mouse IgM(Southern Biotech)을 0.5μg/ml로 사용하였다. 컨트롤 항체로서 Mouse IgAκ(Immunology Consultants Laboratory), Purified mouse IgG1κIsotype Control(BD Pharmingen), PE-CF594 mouse IgMκIsotype Control(BD Horizon)을 각각 사용하였다. 측정은, TriStar^2 LB942(BERTHOLD TECHNOLOGIES)를 사용하고, OD_{405nm}를 측정하였다. 이상의 조작에 의하여, 합계로 500 이상의 하이브리도마 클론을 취득하였다.

[0438] (1-3) 각 장내 세균에 대한 하이브리도마 IgA 항체의 결합력의 해석

[0439] 각 장내 세균에 결합하는 항체를 스크리닝하기 위하여, 각 세균에 대한 ELISA를 행하였다. 특히, Clostridium difficile(C. difficile)균에 대하여 실시한 스크리닝법을 기술한다. C. difficile를 37℃ 혐기 배양(Brain Heart Infusion media, 80% N_2, 10% H_2, 10% CO_2)을 행하고, 원심 분리에 의하여 모았다. 0.05M Na_2CO_3 버퍼에 세균을 현탁하고, ELISA 플레이트에 코팅하였다. 1% BSA 첨가 PBS에 의한 블로킹 후에, 96 구멍 플레이트 중의 각 항체 배양 상청을 더하고, 실온에서 약 1시간 반응시켰다. 그 후, 플레이트를 0.05% Tween 20첨가 PBS로 세정하고, 각 항체 아이소타입에 대응한 2차 검출 항체(상술)를 더하고 반응 후, Alkali Phosphatase tablet(Sigma)를 사용하여 발색 반응을 행하였다. 충분한 반응을 위하여, 발색 후의 ELISA 플레이트를 4도로 하룻밤 반응시키고, TriStar^2 LB942(BERTHOLD TECHNOLOGIES)를 사용하고, OD_{405nm}를 측정하였다. OD_{405nm}가 2.0 이상을 나타낸 클론을 C. difficile균에 결합하는 항체로 하였다.

[0440] 선택된 클론을 확대 배양하고(약 100mL 배양), 배양액으로부터 IgM과 IgA 항체의 경우는 Protein L 컬럼(Cytiva)을 이용하여, IgG 항체의 경우는 Protein A컬럼(Cytiva)을 이용하여 항체를 정제하였다. 항체의 용출은, 10mM 구연산 버퍼(pH2.5)를 사용하고, 용출액은 곧바로 1M 구연산 버퍼(pH9.0)로 중화하고, 그 후에 Amicon(100kDa)에 의하여 농축 후, 투석막(100kDa 포어 사이즈)에 넣어 투석을 행하고, PBS로 치환하였다. 투석 후에 클린 벤치 내에서 항체액을 회수 후, 시린지 필터(0.22μm)에 의하여 항체를 멸균하고, 4℃ 보존으로 하였다. 항체의 농도는 상술과 마찬가지로 샌드위치 ELISA법에 의하여 측정하였다.

[0441] ELISA에 의하여 선택한 클론의 RNA를 추출하고, 항체 유전자 전체 길이를 클로닝하고, 리컴비넌트 항체의 제작에 이용하였다.

[0442] (1-4) 하이브리도마 유래 항체의 항체 유전자 전체 길이의 클로닝

[0443] 각 클론의 세포로부터 IsogenII(Nippon Gene Co., Ltd.)를 사용하고 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA를 주형으로 하여 cDNA를 합성하고, 항체의 V_H 영역에 대한 7종류의 프라이머(MH1-7)와 Cα 영역, Cα 영역 혹은 Cɣ 영역 특이적 프라이머를 이용하여 RT-PCR를 행하였다.

[0444] 경쇄에 관하여는 Vκ 프라이머와 Cκ 프라이머로 PCR를 행하였다. 프라이머의 염기 배열은 표 1에 나타내었다. 증폭된 V_H 영역 PCR 산물 또는 Vκ 영역 PCR 산물을 직접 시퀀스하고, 각 클론의 가변 영역 유전자 배열을 취득하였다. 이것을 Ig blast로 검색하고, 특정의 V_H 혹은 Vκ 유전자의 한층 더 상류 배열(시그널 배열을 포함한다)을 취득하고, 그 최상류 배열을 기초로 PCR 프라이머를 제작하고, 각 C 영역 분비형 배열의 3′단(端)의 리버스 프라이머와 함께 PCR를 실시하고, H쇄와 L쇄의 전체 길이 유전자 염기 배열을 얻었다. 이것을 기초로 pcDNA 3.1(+) 벡터(Invitrogen)에 H쇄, L쇄, J쇄(데이터베이스로부터 염기 배열을 검색하고 하이브리도마의 cDNA를 이용하여 PCR에 의하여 유전자 배열 전체 길이를 취득)로 클로닝하였다.

표 1

프라이머명	염기 배열(5'-3')
MH1	SARGTNMAGCTGSAGTC
MH2	SARGTNMAGCTGSAGSAGTCWGG
MH3	CAGGTTACTCTGAAAGWTSTG
MH4	GAGGTCCARCTGCAACARTC
MH5	CAGGTCCAACTVCAGCARCC
MH6	GAGGTGAASSTGGTGGAATC
MH7	GATGTGAACTTGGAAGTGTC
IgAR	GATGGTGGGATTTCTCGCAGAC
degVκ	GGCTGCAGSTTCAGTGGCAGTGGRTCWGGRAC
CκR	AACGTGAGGGTGCTGCTCATG

표 1. 하이브리도마 유래 항체의 항체 유전자 가변 영역 증폭용 프라이머의 염기 배열

[0445]

[0446] 표 중의 염기 배열에 있어서, S는 G 또는 C, R는 A 또는 G, N은 A, C, G 또는 T, W는 A 또는 T, V는 G, C 또는 A를 나타낸다.

[0447] 상기의 발현 벡터를 Expi CHOS 세포(Thermo Fischer Scientific)에 H : L : J=2 : 2 : 1의 양 비가 되도록 키트의 프로토콜에 따라 트랜스펙션을 행하였다. (Thermo Fischer Scientific, ExpiCHO Expression System) 트랜스펙션 후 10-12일째에 배양 상청을 회수하고, 상기와 마찬가지로 ProteinL 컬럼에 의하여 항체를 정제, 농축, PBS에 투석으로 치환 후에 필터 멸균을 행하고, 항체가 측정이나 활성 시험에 사용하였다.

[0448] 실시예 2: 세균 증식 억제 시험

[0449] (재료와 방법)

[0450] 실시예 1과 마찬가지의 조건에서, C. difficile균을 하룻밤 37℃에서 혐기 배양하였다. 배양액을 원심분리하고, 세균을 집균 후, 배양액으로 2회 세정을 행하였다. 세균액을 배양액으로 10배로 희석 후에, SYTO24(Invitrogen)와 Cell Viability Kit(Becton Dickinson)에 포함되는 Counting beads를 더하고, 플로우 사이토메트리에 의하여 SYTO24 양성의 생세균수를 Counting beads와의 비교로부터 산출하였다. 배양액으로 세균 10,000cells/5μl가 되도록 희석하였다. 에펜 튜브에 세균 희석액 5μl 더하고, 한층 더 PBS(혐기화 완료), 또는 정제한 시험 항체(혐기화 완료)를 25μl(항체 농도 1mg/ml) 더하고, 37℃ 1시간 정치 배양하였다. 그 후, 배양액을 30μl 더하고, 37℃ 20시간 정치 혐기 배양을 행하였다(항체 최종 농도는 0.42mg/ml).

[0451] 20시간 배양 후, 상기와 마찬가지로 SYTO24와 Counting beads를 더하여 플로우 사이토메트리에 의하여 생세균수를 측정하였다. PBS 샘플(항체의 첨가 없음)과 비교하여, 생세균수가 30% 이하로 감소한 항체를 증식 억제 효과 있음으로 하여, 다음의 마우스 감염 실험에 사용하였다.

[0452] 항체 SNK0001MR, SNK0002MR, SNK0001AR, SMK0002AR, RS_H007_L004, RS_H000_L001 및 SNK0003A의 7종의 항체를 증식 억제 시험에 이용하였다. 항체 SNK0001MR와 SNK0002R는 IgM 산생 하이브리도마(SNK0001M과 SNK0002M)로부터 추출한 항체 유전자 배열 정보를 기초로 얻어진 발현 벡터(H쇄와 L쇄)를 CHO 세포에 유전자 도입을 하여 제작한 리컴비넌트 IgM 항체이다. SNK0003A는 IgA 산생 하이브리도마 유래의 IgA 항체이다. SNK0001AR와 SNK0002AR는 SNK0001M과 SNK0002M 하이브리도마 유래의 항체 유전자 가변 영역의 유전자 배열과 IgA 항체 정상 영역 유전자 배열을 결합시킨 발현 벡터를 제작하고, 한층 더 J쇄 발현 벡터도 구축하여, CHO 세포에 3종의 발현 벡터(H쇄, L쇄, J쇄)를 유전자 도입하여 제작한 리컴비넌트 다량체 IgA 항체이다. RS_H007_L004와 RS_H00_L001은 발명자가 WIPO 국제공개공보 제2014/142084호 등에서 보고한, 장관 점막 고유층 세포로부터 얻어진 W27 산생 하이브리도마가 산생하는 W27 항체의 유전자 배열을 기초로 유전자를 합성하여, 재조합 기술을 적용하여 얻은 리컴비넌트 다량체 IgA 항체이다. 어느 리컴비넌트 항체도 상술의 방법으로 Protein L 컬럼에 의하여 정제를 행하였다. 이것들의 항체는 실시예 1과 마찬가지의 시험에 의하여, C. difficile에 결합하는 것이 확

인되어 있다.

[0453] (결과)

[0454] 결과를 도 1에 도시한다. 시험한 어느 항체도, 음성 대조(PBS)에 비하여 현저한 C. difficile 증식 억제능을 나타내었다.

[0455] 실시예 3: C. difficile균 마우스 감염 실험

[0456] (재료와 방법)

[0457] C. difficile 균주(VPI10483)는 아포액을 제작항고 소구분으로 하여 -80도 보존하였다. 아포액을 해동하여 배양 후에 C. difficile균 선택 배지 플레이트(TCCFA 플레이트)에 파종하여 얻어진 생세균수를 미리 구하였다.

[0458] 아포의 제작 방법은 이하와 같다.

[0459] C. difficile를 SMC 배지에 플레이팅하고, 37℃에서 7일간 혐기 배양하였다. 플레이트에 빙냉(氷冷) 멸균수 3ml를 더하여, 셀 스크래퍼로 콜로니를 긁어내고, 50ml 튜브로 옮겼다. 나아가 빙냉 멸균수 3ml로 플레이트를 세정하고, 세정액도 같은 튜브로 옮겼다. 8,000g, 4℃에서 10분간 원심한 후에, 상청을 버려 빙냉 멸균수 20ml로 균체를 현탁하였다.

[0460] 다시 8,000g, 4℃에서 10분간 원심 후, 상청을 버려 빙냉 멸균수 10ml로 현탁하였다. 현탁 후, 에탄올 10ml를 더하여 볼텍스로 교반시켜, 실온에서 1시간 정치하였다. 8,000g, 4℃에서 10분간 원심하고, 상청을 버려 빙냉 멸균수 20ml로 균체를 현탁하였다. 이 조작을 2회 반복하고, 상청을 폐기하고 나서, 빙냉 멸균수 5ml로 현탁하였다. 1.5ml 튜브에 100μl씩 분주(分注)하고, -80℃에서 보존하였다. SMC 배지 조성을 이하에 나타낸다.

[0461] SMC 배지 조성

[0462]

시약명	사용량
Bacto Peptone	18 g
Bacto Proteose Peptone	1 g
황산 암모늄	200 mg
Tris	300 mg
Agar	3 g

[0463] 상기 시약을 멸균 증류수 200ml에 용해하고, 오토클레이브 멸균하였다. 60℃ 정도까지 식으면, 10%(w/v) L-cysteine 600μl를 더하여, 10cm 플레이트에 적량(適量)씩 분주하였다.

[0464] C. difficile균 선택 배지 플레이트는, 하기 표 1의 시약을 멸균 증류수 400ml에 용해하고, 오토클레이브 멸균하였다. 60℃까지 자연 냉각시키고, Cycloserine(Sigma-Aldrich)(50mg/ml) 2ml와 Cefoxitin(Sigma-Aldrich)(1.6mg/ml) 2ml를 더하고, 10cm 플레이트에 적량씩 분주하여 작성하였다.

(표 1) C. difficile선택 배지 조성

시약명	사용량
Bacto Proteose Peptone	20g
인산수소이나트륨 12수화물	2.68g
인산이수소칼륨	0.4g
염화나트륨	0.8g
황산마그네슘	0.048g
D-(-)-Fructose	2.4g
Taurocholic acid sodium salt hydrate	0.4g
Agar	6.64g
Neutral Red Solution(0.33%)	1ml

[0465]

[0466] C57BL/6 마우스(8주령)를 니혼 쿠레아(CLEA Japan, Inc.)로부터 구입하고, 감염 실험용 멸균 아이솔레이터 내에서 일주일간 순화(馴化) 후, 3종 혼합 항생제(겐타마이신: 500mg/kg, 카나마이신: 150mg/kg, 메트로니다졸: 50mg/kg)를, 존데를 이용하여 4일간 경구 투여를 행하였다. 4일 후에 각 마우스의 체중을 측정하고, 항생제 투여에 의하여 체중 감소가 일어난 개체는 제외하고, 나머지의 마우스를 랜덤으로 군을 나누었다. 항생제 투여 종료의 다음날에, C. difficile균 아포(1×10^3cfu)를 존데로 각 마우스에 경구 감염시켰다. 6시간 후에 시험 항체를 100μg씩 존데로 경구 투여를 행하였다. 그 후, 총 7일간, 1일 1회 100μg씩 항체 투여를 행하였다. 8일째 이후는 항체 투여를 행하지 않고 경과 관찰하였다. 이 동안에, 마우스의 체중 측정, 변의 성상(性狀) 관찰, 변의 채취를 행하였다. 감염 후, 4일째와 10일째에 채취한 변은 중량에 따라 양의 PBS를 더하여 현탁하고, 그 후에 PBS로 한층 더 단계 희석을 행하였다. 이것들의 희석 세균액을 C. difficile균 선택 배지 플레이트에 파종하고, 혐기 배양을 행하고 변 1g 중의 생균수를 구하였다.

[0467] (결과)

[0468] W27G2 또는 SNK0002M 항체를 투여한 마우스군에서는, 음성 대조(PBS 투여군)에 비하여, C. difficile균 아포액 투여 후의 체중 감소가 억제되었다(도 2).

[0469] 또한, 변 중의 C. difficile 생균에 관하여, 4일째의 변에 충분한 수의 생균수를 관찰한 것으로부터 각 마우스로의 감염은 성립하고 있는 것이 확인되었다. 10일째의 변에 관하여, W27G2 항체 또는 SNK0002M 항체를 투여한 마우스군에서는 생균수가 격감하고 있던 것으로부터, 이것들의 항체에 의하여 균의 증식이 유의(有意)하게 생체 내에서도 억제된 것이 확인되었다(도 3).

[0470] 실시예 4: C. difficile균 이외의 세균에 대한 효과

[0471] 상기 C. difficile균에 결합하는 항체에 관하여, 실시예 1에서 이용한 ELISA와 마찬가지의 방법에 의하여, 다른 세균에 대한 결합 특성 및 당해 세균에 대한 효과를 조사하였다. 예로서, 대장암 원인균이라고 생각되고 있는 Fusobacterium nucleatum에 대한 결합 특성 및 효과를 조사한 결과를 제시한다. 세균을 혐기 배양 후, 플로우사이토메트리를 이용하여 균수를 1,000cells/tube로 가지런히 하여 각 시험 항체와 반응시키고, 항체에 의한 증식 억제 효과를 검증하였다. 더한 항체의 최종 농도와 배양 시간은 실시예 2와 마찬가지이다.

[0472] 항체와 균을 반응 후, 배양액을 더하여 한층 더 20시간 배양한 후에 생균수를 측정하였다.

[0473] (결과)

[0474] 항체 SNK0001M, SNK0001MR, SNK0001AR, SNK0002MR, SNK0002AR, RS_H000_L001, 및 SNK0003A는, Fusobacterium nucleatum에 대하여 현저한 증식 억제 효과를 나타내었다(도 4). 한편으로, SNK0004A나 SNK0005A는 증식 억제 효과를 나타내지 않았다(negative control).

[0475] 실시예 5: W27 항체의 C. difficile 항원 분자의 특정

[0476] W27 항체는 대장균의 serine hydroxymethyl transferase(SHMT)에 결합하는 것이 확인되어 있는(WIPO 국제공개공보 제2014/142084호 등), 이하의 방법에 의하여, W27 항체가 대장균의 SHMT에 결합하는 것을 확인하는 것과 함께, W27 항체의 C. difficile 항원 분자를 특정하였다. 덧붙여, W27G2 항체는 W27 항체와 동일한 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역을 가진다.

[0477] (재료와 방법)

[0478] 대장균을 25ml의 LB 배지에서 16시간 정치 배양하였다. 2, 150g으로 5분간 원심하여 집균하였다. 상청을 없앤 후에, 1ml의 lysis buffer(멸균 1×PBS, 10% NP-40, ×100 Protease Inhibitor Cocktail(Nacalai))로 현탁하여, 초음파 파쇄 후, 빙상에서 30분간 정치하였다. 세균 용해액을 새로운 튜브에 200μl씩 분주한 후에 2-ME 50μl, 10% SDS 200μl를 더하여 변성(95℃, 10min)하였다. 2-ME와 SDS를 희석하기 위하여 희석액(멸균 1×PBS, 0.1% NP-40, ×100 Protease Inhibitor Cocktail)을 800μl 더하였다. 단백질 용액을 가용성과 불용성 분획으로 분리하기 위하여, 15,000rpm으로 5분간의 원심을 행하였다. 가용성 획분을 사용하여, 2D-PAGE를 행하여 표적 단백질의 스폿의 동정을 행하였다.

[0479] C. difficile균에 관하여도 마찬가지의 방법으로 세균 용해액을 조제하고, 가용성 획분을 사용하여, 2D-PAGE를 행하였다.

[0480] 2D-PAGE의 방법을 이하에 서술한다. 우선, 2D-PAGE의 샘플을 제작하기 위하여, 상기의 면역 침강 산물의 2배량의 냉각 아세톤을 더하여 -20℃에서 20분간의 정치 후, 원심(16, 630g, 10min)에 의하여 상청을 없애고 건조시켰다. 1차원째 전기 영동용 샘플 버퍼(60mM Tris-HCl(pH8.8), 5M Urea, 1M Thiourea, 5mM EDTA, 1% CHAPS, 1% NP-40)에 용해하고, 1/10 양의 1M Iodoacetamide를 더하고 나서 실온에서 10분간 정치하고, 2D-PAGE의 1차원용 샘플로 하였다. 2차원째의 영동은, 웨스턴 블롯과 은 염색을 행하기 위하여 SDS-PAGE용 겔을 2매(枚) 사용하였다. pH3 ~ 8 Immobiline TM DryStrip(GE Healthcare)를 이용하여 1차원째 전기 영동 후, 2차원째의 SDS-PAGE를 한 후에 웨스턴 블롯과 은 염색을 각각의 겔에 대하여 행하였다. W27 항체가 인식하는 스폿을 특정하기 쉽게 하기 위하여, 브롯팅 후의 멤브레인을 Pierce™ Reversible Protein Stain로 염색하고, 멤브레인 상(上)의 모든 단백질의 위치를 확인하였다. 이 염색을 Stain Eraser로 소거 후에 W27 항체를 반응시켜 웨스턴 블롯에 의한 스폿을 확인하였다. 은 염색은 실베스트 스테인 원(Nacalai)을 사용하고, 프로토콜에 따랐다. 이 3종류(W27에 의한 웨스턴 블롯, Pierce TM Reversible Protein Stain, 은 염색)의 결과를 비교하여 W27 항체가 특이적으로 인식하고 있는 스폿을 잘라 내어 겔 내 효소 소화를 행하였다.

[0481] 겔내 효소 소화의 방법을 이하에 서술한다. 잘라 낸 겔편에 MilliQ 물을 400μl 더하여 10분간 진탕한 후에 상청을 제외하였다. 이 조작을 2회 반복한 후, 100% 아세토니트릴 200μl를 더하여 10분간 진탕하였다. 상청을 없앤 후에 감압 건조를 20분간 행하고, 프로테아제 용액(50mM ammonium hydrogen carbonate, 10μl/ml Trypsin)을 20μl 더하여, 빙상에서 30분간 팽윤시키는 것으로 겔편에 트립신을 흡수시켰다. 여분의 프로테아제 용액을 없애고, 반응액(50mM ammonium hydrogen carbonate)을 100μl 더하여, 37℃에서 하룻밤 효소 소화를 행하였다. 반응액에 추출액(5% formic acid, 50% acetonitrile)을 한층 더 50μl 더하여 30분간 진탕하였다. 회수한 용액에 0.1% formic acid를 200μl 더하여, 샘플량이 반량 정도가 될 때까지 감압 건조를 행하였다. 샘플을 스핀 필터(UltraFree 0.1μm PVDF)로 옮겨 원심(2,460g, 5min, 4℃)하였다. 하층에 떨어진 용액을 바이알로 옮겨 담아 LCMS-IT-TOF(Shimadzu)로 해석을 행하였다. 아미노산 배열의 동정은 Mascot search를 이용하였다.

[0482] (결과)

[0483] 상기의 방법에 의하여, W27 항체의 항원 분자로서 대장균의 SHMT, 및 C. difficile균의 2, 3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase(iPGM)를 특정하였다. 일례로서, C. difficile균의 항원 분자를 특정하였을 때의 2차원 전기 영동 데이터를 도 5에 도시한다.

[0484] 실시예 6: W27 항체의 항원 분자의 에피토프 결정

[0485] W27 항체는 대장균의 SHMT의 N말 25-30 아미노산에 에피토프가 있는 것이 특정되어 있다(논문 발표 완료). C. difficile의 iPGM에 관하여도 트렁케이션 단백질을 제작하려고 시도하였지만, 단백 발현의 효율이 현저하게 저하하기 때문에 웨스턴 블롯 해석으로 W27 항체의 반응을 확인할 수 없었다.

[0486] 그래서, W27 항체는 E. coli의 iPGM을 인식하지 않는 것을 웨스턴 블롯으로 확인하고, W27 항체가 인식하는 C. difficile의 iPGM 및 E. coli의 iPGM의 키메라 단백질을 발현하는 플라스미드를 In-Fusion(등록 상표) HD Cloning Kit(TaKaRa)를 이용하여 제작하였다. 데이터베이스 상의 각 세균의 iPGM 유전자 배열 정보로부터 프라

이머를 작성하였다(표). 키메라 단백질을 DH5α로 과잉 발현시키고, W27 항체의 인식을 웨스턴 블롯으로 확인하고 에피토프 배열의 장소를 좁혔다.

표 2

표 2: In-Fusion클로닝에 이용한 프라이머 염기 배열

[0487]

C. difficile PGM	
	염기 배열 (5'-3')
C.dif F primer	GTG GTG GAA TTC ACC ATG ATG AAA AAA CCA GTT GCT
C.dif R primer	GAA GGG CCC TCT AGA TTT TGA AAT AAG TGA ATG ACC
C.dif 50F primer	GAT GTT GGT CTA CCT GAT GGT CAA ATG GGA AAT TCA
C.dif 50R primer	AAG ACC ACT AGC ATT TAT CAA TGT GTT TGG ATA CTC
C.dif 320F primer	AAA ACT CAA CTT AGA GCT GCT GAA ACT GAA AAG TAT
C.dif 320R primer	TCC ATT TTT AGC TAG ATA CTC ACC TAG AGT GTT GGC
C.dif 390F primer	GTA TTA AAC TTT GCA AAT CCT GAT ATG GTA GGT CAT
C.dif 390R primer	TAT AAA GTC AAA CTT ATC TTC TCC TAG TTT ATC TAA
C.dif 411F primer	ATG GAA GCG GCG GTT AAG GCT GTT GAA ACT GTA GAT
C.dif 443F primer	GCT GAC CAC GGT AAC GCT GAA TAT ATG TTA GAC CCA
C.dif 464F primer	ACC AAC CTG CCA GTT CCA TTT ATT GTA GTT GGT CAA
C.dif 487F primer	AAA CTT TCT GAC ATC GCA CCG ACT GTT TTA GAT ATG
E.coli F primer	GTG GTG GAA TTC ACC ATG TTG GTT TCT AAA AAA CCT
E.coli R primer	GAA GGG CCC TCT AGA TTC CAC GAT GAA CAG CGG CTT
E.coli 52F primer	AAT GCT AGT GGT CTT GAA GTC GGT CTG CCT GAC CGT
E.coli 52R primer	CAG ACC GGA AGC GTC GAT CAG AGG TAG ACC AAC ATC
E.coli 325F primer	CTA GCT AAA AAT GGA AAA ACT CAG TTG CGT ATT TCC
E.coli 325R primer	GTC GTT TTT CGC CAT CCA CTC TCT AAG TTG AGT TTT
E.coli 395F primer	AAG TTT GAC TTT ATA ATC TGT AAC TAT CCG AAC GGC
E.coli 395R primer	AAT GGT GTC GTA TTT GCC GCT TGC AAA GTT TAA TAC

[0488] 분석의 결과, C. difficile의 iPGM에서는, C말의 490 ~ 510번째의 아미노산이 에피토프로서 중요하였다. 에피토프인 것을 한층 더 확인하기 위하여 각 에피토프 후보를 포함하는 펩티드(BSA 컨쥬게이트)를 SIGMA에 외주하였다. 펩티드만으로는 분자량이 작기 때문에, 웨스턴 블롯으로 확인할 수 있도록 각 펩티드에 BSA를 컨쥬게이트하였다. 펩티드에 4×SDS buffer를 더하고, W27 항체에 의한 웨스턴 블롯을 행하고, 어느 합성 펩티드에 반응하는지를 확인하였다. 결과를 도 6 및 7에 도시한다.

[0489] 상기 시험의 결과, 대장균의 SHMT의 에피토프 배열은 RQEEHIELIASEN, C. difficile iPGM의 에피토프 배열은 APTVLDMMKLEKPEEMTGHSLISK인 것이 판명되었다.

[0490] W27 항체가 인식하는 대장균의 SHMT의 에피토프를 공유하는 세균을 데이터베이스 해석한 바, EEHI 배열을 가지는 세균은 거의 Proteabacteria에 속하는 세균이고, 병원균을 많이 포함하고 있었다(도 8). 유산균이나 인간의 SHMT의 같은 부분의 아미노산 배열은 달라, 이 차이를 W27 항체는 인식하고 있다고 생각되었다. (Okai et al., Nature microbiology 1, 16103, 2016)

[0491] 실시예 7: W27 항체와 항원 분자의 결정 구조 해석

[0492] (7-1) IgG W27 Fab의 조제와 정제

[0493] W27 항체의 항원 인식을 조사하기 위하여, CHO(차이니즈 햄스터 난소) 세포에 의하여 발현시킨 W27 리컴비넌트 IgG 항체를 제작하였다. 이것은, 결정 구조 해석을 향하여 항원 결합 부위(Fab)를 대량으로 확보할 필요가 있었기 때문이다. 조정제된 IgG W27을 10mM Tris-HCl(pH8.0)로 1mg/ml로 조정한 후, 0.05mg/ml의 파파인(나카라이테스크)으로, 20℃에서 24시간 소화하여 Fc 영역과 Fab 영역으로 소화하였다. 그 후, HiTrap SP HP 컬럼(Cytiva)을 이용한 양이온 교환 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다. Buffer는, 10mM Bis-Tris buffer(pH6.0)(buffer A)와, 10mM Bis-Tris buffer(pH6.0), 300mM NaCl(buffer B)을 사용하여, buffer B 농도를 서서히 상승시킨 리니어 그라디언트 용출로 Fab와 Fc를 분리 정제하였다. 그 후, Fab를 많이 포함하는 fraction은, HiLoad 26/600 Superdex 2000 pg 겔 여과 컬럼(Cytiva)을 이용한 겔 여과 크로마토그래피로 한층 더 정제를 행하였다. 겔 여과의 buffer에는 5mM BisTris(pH6.5), 100mM NaCl(겔 여과 buffer)을 사용하였다. 겔 여과 크로마토그래피에 의한 정제 후, rProtein A Sepharose Fast Flow 수지(Cytiva)를 충전한 컬럼으로 미

량의 Fc의 협잡을 흡착시켜 제외하고, 통과 획분에 있는 Fab를 회수하였다. 정제한 Fab는, 겔 여과 buffer의 조건에서 Amicon Ultra 10000 MWCO(Millipore)로 48.2mg/ml까지 농축한 후, 에펜도르프 튜브에 20μl씩 분주하여 액체 질소로 순간 동결시키고, 사용할 때까지 -80℃로 보존하였다. 수량(收量)은, 50mg의 IgG W27로부터 17.4mg의 Fab를 얻었다.

[0494] (7-2) E. coli SHMT (25-45)의 발현과 정제(결정 구조 해석용)

[0495] E. coli 유래 SHMT (25-45)를 코드하는 cDNA 영역을 PrimeSTAR Max DNA Polymerase(TaKaRa)를 이용하여 증폭한 후, 플라스미드 pGEX6P-3(Cytiva)을 개량한 플라스미드 pGEXM(Kim SY, et al. (2021) Sci Rep 11(1):2120)의 Sma I와 NotI 멀티 클로닝 사이트에 In-Fusion HD Cloning Kit(Clontech)로 짜넣어 발현 플라스미드를 구축하였다. 작성한 발현 플라스미드를, 대장균 Rosetta2주(Merck)로 형질 전환하였다. 덧붙여, SHMT (25-45)는 Gultathione-S-transferase(GST) 융합 단백질(이하, GST-SHMT (25-45)라고 기재한다.)로서 발현하였다. 또한, GST와 목적 단백질의 사이에는, 인간 라이노바이러스 3C 프로테아제(이하, HRV3C 프로테아제)에 의한 절단 배열 LEVLFQGP(절단 부위는 Q와 G의 사이이다)가 삽입되어 있기 때문에, 발현시킨 GST 융합 단백질은, GST와 목적 단백질과의 사이를 HRV3C 프로테아제로 분리할 수 있다. 최종 정제 산물이 되는 E. coli SHMT (25-45)의 아미노산 배열은, GPRQEEHIELIASENYTSPRVMQ이다.

[0496] 대장균은, 50μg/ml 암피실린과 25μg/ml 클로람페니콜, 0.5%(W/V) 글리세린, 0.05%(W/V) 글루코오스, 0.2%(W/V) 락토오스, 1mM 황산 마그네슘을 포함하는 LB 배지를 사용하여, 37℃로 배양을 개시하였다. 배지의 탁도가 0.6(파장 600nm로 측정)으로 이르렀을 때, 배지를 냉각 후, 종료 농도가 0.1mM이 되도록 1M isopropyl-β-D-thio-galactopyranoside(이하, IPTG)를 더하여, 목적 단백질의 발현을 유도하였다. IPTG 첨가 후, 한층 더 18℃에서 24시간 배양을 행하였다. 배양액 중의 균체는 4,000rpm(Beckman J2-M1 JA10 rotor)로, 4℃에서 20분 원심하여 집균하였다. 집균한 균체는 정제에 사용할 때까지 -30℃로 보존하였다.

[0497] SHMT의 정제는, 이하와 같이 하여 행하였다. 균체를 10mM Tris-HCl(pH8.0), 300mM NaCl에 현탁하여, 4℃로 초음파 파쇄를 행한 후, 4℃, 20,000rpm에서 40분간, 원심을 행한 후, 불용성 획분을 제거하여, 상청의 가용성 획분을 다음의 정제에 이용하였다. 가용성 획분으로부터의 GST-SHMT (25-45)의 정제는, Glutathione-Sepharose 4B 수지(이하, GS4B)(Cytiva)를 사용한 어피니티 컬럼을 이용하여 행하였다. 파쇄 후의 가용성 획분을, GS4B가 충전된 어피니티 컬럼에 제공하여, GST-SHMT (25-45)를 흡착 후, 10mM Tris-HCl(pH8.0), 300mM NaCl(이하, 세정 buffer)로, 충분히 GS4B를 세정하였다. 그 후, 10mM Tris-HCl(pH8.0), 300mM NaCl, 20mM Glutathione로 GST-SHMT (25-45)를 수지로부터 용출시켰다. 용출액에 HRV3C 프로테아제(Merck)를 이용하여 4℃에서 18시간 소화를 행하고 GST와 SHMT (25-45)로 절단하고, GST를 제거하였다. 이 SHMT (25-45)는, N 말단에 HRV 3C 프로테아제의 인식 배열의 일부를 포함하는 GP 배열이 여분으로 부가된다. GST 절단 후의 SHMT (25-45)는, HiLoad 26/600 Superdex 75pg 겔 여과 컬럼(Cytiva)을 이용하여, 5mM BisTris(pH6.5), 100mM NaCl의 조건에서 겔 여과 정제를 행하였다. 정제 한 SHMT (25-45)는, 5mM BisTris(pH6.5), 100mM NaCl(겔 여과 buffer)의 조건에서 PALL Corporation centrifugal Device with 1K로 4.72mg/ml까지 농축한 후, 에펜도르프 튜브에 20μl로 분주하여 액체 질소로 순간 동결시키고, 사용할 때까지 -80℃로 보존하였다. 수량은, 2L 배양의 균체로부터 결정화에 이용하는 SHMT (25-45) 5.9mg의 펩티드를 얻었다.

[0498] (7-3) C. difficile iPGM(486-509)의 발현과 정제(결정 구조 해석용)

[0499] Clostridium difficile 유래 iPGM(486-509)(C. difficile iPGM(486-509))의 cDNA의 pGEX 벡터로의 클로닝은 SHMT와 거의 마찬가지의 수법으로 행하였다. 이 때, C. difficile iPGM(486-509)에는 티로신이나 트립토판이 존재하지 않고 정제 과정에 있어서 280nm의 파장으로 흡광을 관찰할 수 없기 때문에, N 말단에 티로신 1잔기를 부가하여 클로닝 하였다. 이 iPGM(486-509)은, N 말단에 HRV 3C 프로테아제의 인식 배열의 일부를 포함하는 GPY 배열이 여분으로 부가된다. 최종 정제 산물이 되는 C. difficile iPGM(486-509)의 아미노산 배열은, GPYAPTVLDMMKLEKPEEMTG HSLISK이다. 형질 전환, 배양, 정제에 관한 순서는 SHMT (25-45)와 마찬가지로 행하고, 4L 배양의 균체로부터 결정화에 이용하는 iPGM(486-509) 48.52mg을 얻었다.

[0500] (7-4) RS_H000_L000GR Fab-E. coli SHMT (25-45) 복합체의 결정화 스크리닝

[0501] 정제한 RS_H000_L000GR Fab와 E. coli SHMT (25-45)를 이용하여 몰비 1:5(0.2mM:1.0 mM)로 혼합액을 작성하여 결정화 스크리닝을 행하였다.

[0502] 결정화 조건의 스크리닝은, 시판의 결정화 스크리닝 키트인 JCSG core suite I-IV, PACT suite(Qiagen)와 결정화 로봇 mosquito(TTP Labtech)를 이용하여 행하였다. 결정화 플레이트(VIOLAMO)에 평형화용의 침전제를 충전하

고, 침전제와 단백질 용액 1:1의 체적비(0.2μl:0.2μl)로 혼합한 액적(液滴)(드롭)을 작성하여, 시팅 드롭 증기 확산법으로 결정화 조건의 탐색을 하였다. 결정화 스크리닝에 사용한 단백질 용액은, 미리 원심 분리로 불용성 획분을 없앤 것을 사용하였다. 온도 조건은 4℃와 20℃에서 인큐베이트하였다.

[0503] (7-5) RS_H000_L000GR Fab-E. coli SHMT (25-45) 복합체의 결정화 조건의 최적화

[0504] 결정화 스크리닝에 의하여 얻어진 결정의 조건을 기초로 pH와 PEG의 농도를 각각 변화시킨 침전제를 조제하여, 시팅 드롭 증기 확산법으로 행하였다.

[0505] 결정화 조건은 0.2M Magnesium Acetate, 0.1M Sodium Cacodylate pH6.3, 22% PEG10000을 리저버 용액으로 하였다. RS_H000_L000GR Fab:0.2mM, E. coli SHMT (25-45):0.6mM로 혼합한 단백액과 리저버를 0.2μl:0.2μl로 혼합한 후, 온도 조건은 20℃, 시팅 드롭 증기 확산법에 의한 결정화로 7일 후에 관찰하였다. 스케일 바는 100μm를 나타낸다(도 9).

[0506] (7-6) RS_H000_L000GR Fab-E. coli SHMT (25-45) 복합체의 X선 회절 실험과 삼차원 구조 결정

[0507] 상기의 결정화 조건의 최적화에 있어서 얻어진 RS_H000_L000GR Fab-E. coli SHMT (25-45) 복합체 결정은, 0.2M Magnesium Acetate, 0.1M Sodium Cacodylate pH6.3, 22.0% PEG10000, 20.0% Glycerol을 항동결제(크라이오프로텍턴트)로서, 액체 질소 중에서 동결하였다.

[0508] 그 후, 효고켄(兵庫縣)의 대형 방사광 시설 Spring-8의 BL44XU에서 측정을 행하였다. 취득한 회절 데이터를 XDS 프로그램으로 처리한 후, RS_H000_L000GR Fab의 구조 정보를 이용하여 분자 치환법에 의하여 위상 결정을 행하였다.

[0509] 공간군은 $P2_12_12_1$, 격자 정수는 a=60.4Å, b=140.7Å, c=180.7Å, α=90°, β=90°, γ=90°, 비대칭 단위 중에 RS_H000_L000GR Fab-E. coli SHMT (25-45)가 3분자 존재하고 있었다. 구조의 정밀화는, 프로그램 refmac 5, phenix refine, coot를 조합하여 사용하여 행한, R_{work}/R_{free}는 각각 22.8%, 25.7%로 정밀화를 종료하였다. 구조도는 프로그램 PyMOL을 이용하여 작성하였다.

[0510] (7-7) RS_H000_L000GR Fab-C. difficile iPGM(486-509) 복합체의 결정화 조건의 최적화

[0511] IgG W27 Fab C. difficile iPGM(486-509)의 결정화는, 구조 해석된 IgG W27 Fab-E. coli SHMT (25-45) 결정화 조건(0.2M Magnesium Acetate, 0.1M Sodium Cacodylate pH6.3, 22% PEG10000)을 기초로 pH, PEG10000의 농도를 각각 변화시킨 침전제를 조제하여, 시팅 드롭 증기 확산법으로 행하였다.

[0512] 결정화 조건은 0.2 M Magnesium Acetate, 0.1 M Sodium Cacodylate pH6.5, 23% PEG10000을 리저버 용액으로 하였다. RS_H000_L000GR Fab:0.25mM, C. difficile iPGM(486-509):1.0mM로 혼합한 단백액과 리저버의 혼합비는 0.2μl:0.2μl, 온도 조건은 20℃, 스케일 바는 100μm, 시팅 드롭 증기 확산법에 의한 결정화로 10일 후에 관찰하였다(도 10).

[0513] (7-8) RS_H000_L000GR Fab-C. difficile iPGM(486-509) 복합체의 X선 회절 실험과 삼차원 구조 결정

[0514] 결정화 조건의 최적화에 있어서 얻어진 RS_H000_L000GR Fab-C. difficile iPGM(486-509) 복합체 결정은 0.2M Magnesium Acetate, 0.1M Sodium Cacodylate pH6.5, 23.0% PEG10000, 20.0% Glycerol을 항동결제(크라이오프로텍턴트)로서, 액체 질소 중에서 동결하였다. 그 후, 효고켄의 대형 방사광 시설 Spring-8의 BL41XU에서 측정을 행하였다. 취득한 회절 데이터를 XDS 프로그램으로 처리한 후, IgG W27 Fab의 구조 정보를 이용하여 분자 치환법에 의하여 위상 결정을 행하였다. 공간군은 $P2_12_12_1$, 격자 정수는 a=60.423Å, b=140.185Å, c=185.956Å, α=90°, β=90°, γ=90°, 비대칭 단위 중에 RS_H000_L000GR Fab-C. difficile iPGM(486-509)이 3분자 존재하고 있었다. 구조의 정밀화는, 프로그램 refmac 5, phenix refine, coot를 조합하여 사용하여 행한, R_{work}/R_{free}는 각각 22.2%, 25.2%로 정밀화를 종료하였다. 구조도는 프로그램 PyMOL을 이용하여 작성하였다.

[0515] 이상의 일련의 실험의 결과, 에피토프 펩티드와 RS_H000_L000GR 항체의 상호 작용의 상세가 밝혀졌다(도 11, 12).

[0516] 구체적으로는, SHMT와 iPGM의 에피토프 펩티드는, 서로 역방향으로 결합하고, 그 에피토프의 아미노산 배열은 하기와 같은 유사성을 나타내고 있었다.

[0517] *E.coli* SHMT(N→C): RQEEH-IELIAS-
C. difficile iPGM(C→N): --EPKELKNMDLV

[0518] 이것들의 정보를 기초로, 아미노산 잔기의 종류뿐만이 아니라, 아미노산 측쇄가 상호 작용에 미치는 효과도 판단 가능하게 되었다. 구조 해석으로부터 얻어진 이것들의 정보를 기초로, 항원 결합에 영향을 주지 않는 아미노산 변이를 선택하여, 일련의 RS 변이형 항체를 작성한 바, 하기에 상술하도록, 그 모든 것이 W27G2 항체와 동등한 활성을 보지하는 것이 밝혀졌다. 따라서, 본 발명의 구조 해석 결과를 이용하여, W27G2 항체와 동등한 활성을 보지하는 다양한 RS 변이형 리컴비넌트 항체의 작성이 가능하게 되었다.

[0519] 실시예 8: 유전자 개변 리컴비넌트 항체의 제작

[0520] RS 변이체 제작은 H쇄 발현 벡터와 L쇄 벡터를 주형으로서, 각각의 변이에 따라 염기 배열을 포함한 mutagenesis용 프라이머를 이용하고, PCR를 행하고, 벡터 전체 길이를 증폭하였다. 그 후, 주형 벡터 DNA를 DpnI 처리 후, 이소프로판올 침전에 의하여 DNA를 정제하고, DH5α 컴피턴트 세포에 형질 전환을 행하였다. 얻어진 클론으로부터 플라스미드를 추출하고, 목적의 변이가 도입된 클론을 선택하고, ExpiCHO에 유전자 도입하여 변이형 리컴비넌트 항체를 얻었다.

[0521] 작성한 변이형 리컴비넌트 항체의 일부에 관하여, 이것들의 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역의 아미노산 배열을 도 13, 14에 도시한다.

[0522] 각각의 RS 변이형 리컴비넌트 정제 항체를 비환원형 SDS-PAGE와 쿠마시 블루 염색에 의하여, 2량체가 주로 산생되어 있는 것을 확인하였다(도 15).

[0523] 실시예 9: 리컴비넌트 RS 개변 항체의 항원 인식 활성

[0524] 리컴비넌트 RS 개변 항체에 관하여, W27G2 항체의 항원 분자인 대장균의 serine hydroxymethyltransferase(SHMT)에 대한 결합력을 ELISA로 측정하였다.

[0525] (재료와 방법)

[0526] 대장균의 야생형 SHMT와 SHMTmutant를 GST 융합 단백질로서 대장균에 과잉 발현시켜 정제하였다. 이것들을 2μg/ml가 되도록 0.05M Na_2CO_3 버퍼에 현탁하고, ELISA 플레이트에 고착시키고, 각 변이형 정제 항체의 희석 계열을 제작하여 더하고, 상기의 세균에 대한 결합력을 측정하는 ELISA와 같은 방법으로 결합력을 검출하였다.

[0527] (결과)

[0528] 대표예로서 6종(RS_H00_L001, RS_H007_L001, RS_H007_L002, RS_H00_L005, RS_H007_L005 및 RS_H007_L004)의 변이형 정제 항체에 관하여 시험한 바, 이것들의 항체는 하이브리도마 유래 W27G2 항체(겔 여과 정제)와 거의 동일한 정도로 대장균 야생형 SHMT에 결합하는 것, 나아가 SHMTmutant에는 결합하지 않는 것이 확인되었다(도 16).

[0529] W27G2 항체는 복수의 세균이 다른 항원 분자를 인식하는 항체인 것을 알고 있다. 도 17에 도시하는 웨스턴 해석이 나타내는 바와 같이, 복수의 세균(병원균을 포함한다)으로부터 총 단백질을 추출하고, 환원 SDS-PAGE 후에 니트로셀룰로오스막에 단백질을 전사하였다. 일차 항체로서, W27G2CHT(W27G2 하이브리도마 배양 상청을 하이드록시아파타이트 컬럼으로 조정제), W27G2GF(W27G2CHT를 한층 더 겔 여과 컬럼으로 다량체 획분을 정제), 3종의 리컴비넌트 정제 항체(RS_H000_L001, RS_H000_L005, RS_H007_L005)를 각각 2μg/ml의 농도로 반응시켰다. 2차 항체는 Goat anti-mouse IgA(Southern Biotech), 한층 더 3차 항체로서 IR800-conjugated anti-goat IgG(LI-COR)를 반응시키고, Odyssey scanner로 시그널을 검출하였다. 각 웰에 로드한 샘플의 단백 질량의 측정을 위하여 SDS-PAGE 영동 후의 겔을 Coomassie brilliant blue(Nacalai)를 사용하여 염색하였다. 하이브리도마 유래 W27G2 항체와 리컴비넌트 정제 항체는 같은 패턴의 항원 분자를 인식하고 있는 것으로부터, 변이 도입 후의 항원 인식에 변화가 없는 것을 확인하였다.

[0530] 실시예 10: 리컴비넌트 유전자 개변 항체의 대장균 증식 억제 효과의 확인

[0531] 대장균 BW38029주를 LB 배지에서 16시간, 37℃ 정치 혐기 배양하였다. 8,000g로 5분간 원심을 행하여 집균하였다. 멸균 혐기 LB로 세정 후, 플로우 사이트 미터로 생균수를 계측하였다.

[0532] 상기의 측정 결과를 기초로 세균을 300개/5μl가 되도록 LB 배지에서 희석하고, 각 항체 또는 PBS를 25μl 더하고, 한층 더 M9 최소 배지를 30μl 더하여 20시간 후에 플로우 사이트 미터에 의하여 상기의 방법으로 세균수를

계측하였다. 항체의 최종 농도는 0.42mg/ml로 하였다.

[0533] (결과)

[0534] 각종의 변이형 리컴비넌트 항체는 모두, 음성 대조(PBS 첨가) 샘플에 비하여 대장균의 증식을 억제하였다(도 18).

[0535] 이상의 모든 실험으로부터, 상기 3차원 구조 해석 결과에 기초하여 제작한 RS 변이형 리컴비넌트 항체는, 원래의 하이브리도마 W27G2 항체와 마찬가지의 성질을 보지하는 것이 밝혀졌다.

[0536] 실시예 11: C. difficile 감염 마우스에 대한 리컴비넌트 IgA 항체의 효과

[0537] 실시예 3에 있어서, 하이브리도마 유래의 항체의 C. difficile 감염 마우스에 대한 효과를 조사하였지만, 리컴비넌트 IgA 항체에 관하여도, 마찬가지의 C. difficile 감염 마우스에 대한 효과 확인 실험을 행하였다. 리컴비넌트 IgA 항체로서, 항체 RS_H000_L001(도 19에 있어서 rW27로서 도시한다) 및 항체 SNK0002AR를 이용하였다. C. difficile 감염 마우스에 대하여, 리컴비넌트 IgA 항체, 항체 RS_H000_L001(rW27) 및 SNK0002AR를 각각 투여한 바, 양자 모두 C. difficile 감염 마우스의 체중 감소를 유의하게 억제하였다(도 19). 흥미롭게도, 항체 대신에 Vancomycin이 투여된 마우스는, 투여 중은 전혀 체중의 감소가 볼이지 않았지만, 투여 종료 후에 현저한 체중 감소가 보이고, 생존율도 저하하였다(도 19). 당해 감소의 원인의 하나로서, 그램 양성 세균이 감수성을 나타내는 Vancomycin의 투여에 의하여, 그램 음성 세균이 선택적으로 장관 내에서 증가하여 dysbiosis의 상태가 일어나, Vancomycin 투여 중지 후에 잔존하고 있던 C. difficile균이 증식하여 상기의 병태를 나타낸 가능성이 생각되었다.

[0538] C. difficile균의 증식 상태를 확인하기 위하여, 투여 후의 각 시점에 있어서의 변의 현탁 희석액을 C. difficile 선택 배지에 파종하고, 혐기 배양을 행하고, 콜로니를 계측하였다. 그 결과, 도 20에 도시하는 바와 같이, 예상대로, Vancomycin 투여 마우스에서는 투여 중지 후의 Day14에 C. difficile가 증가하고 있었다. 한편으로, 2종의 IgA 항체를 각각 투여한 마우스에서는 Day14에서는 변 중에 C. difficile는 검출되지 않고, C. difficile 배제에 성공한 것이 확인되었다.

[0539] 다음으로, 실제로 Vancomycin 투여에 의하여 dysbiosis가 생겼는지 여부를 16S rRNA 해석으로 검토하였다. 도중에 사망한 마우스는 사망 시에 변을 채취하였다. 생존한 마우스는 Day14의 시점의 변을 채취하여 해석하였다. 또한, rW27 IgG 항체도 제작하여 마우스에 투여하고, 균총을 비교하였다. 그 결과를 도 21과 도 22에 도시한다. 도 21은 order level의 상대적 존재 비율의 해석 결과이다. 본 해석에서는, 대조로서 리컴비넌트 IgG 항체 rW27 IgG 항체(중쇄 H000 및 경쇄 L001의 가변 영역의 배열과 마우스의 IgG1 및 마우스의 Igk(kappa)의 배열을 연결한 리컴비넌트 IgG 항체)를 투여한 결과 얻어진 데이터도 해석에 더하였다.

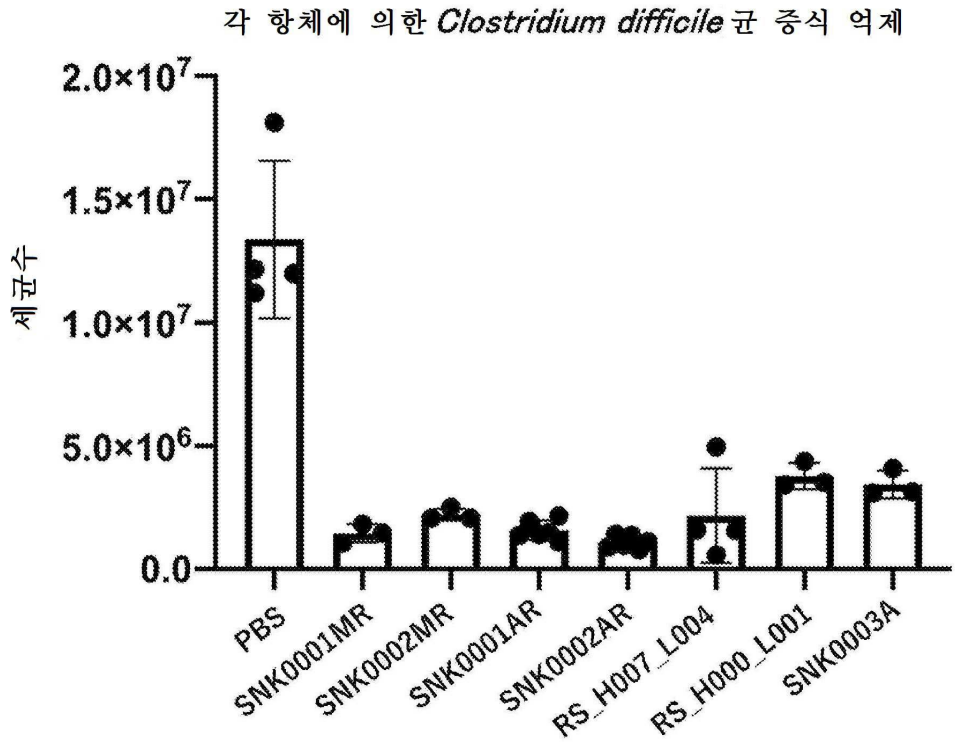
[0540] 제일 큰 변화는 rW27 IgG 항체와 Vancomycin 투여군에서는 Enterobacterales가 상당히 증가하고 있는 것이다. 상술과 같이 Vancomycin 투여에 의하여, 그램 음성균이 증가하였다고 생각된다. 그에 대하여, 항체 투여 없거나, 혹은 2종의 리컴비넌트 IgA 항체를 각각 투여한 군에서는 큰 세균총 변화는 없고, 원래의 우위 균종인 Lachnospirales가 우위의 균총이 유지되어 있었다. 이 변화를 β-diversity로 나타낸 결과가 도 22이다. Vancomycin과 rW27IgG군은 PBS, 리컴비넌트 IgA 항체 RS_H000_L001(rW27) 및 SNK0002AR군과 비교하여, 명확하게 균총이 변화하고 있는 것을 알 수 있다. 인간의 C. difficile 장염의 제일 선택약인 Vancomycin은 증상 완화에 유효한 것은 명백하지만, 이와 같이 dysbiosis의 원인으로도 되고, 그것에 의하여 장염을 반복할 가능성이 생각된다. C. difficile 장염으로의 IgA 항체와 Vancomycin의 병용 요법은, 근치 요법이 되는 것이 기대된다.

산업상 이용가능성

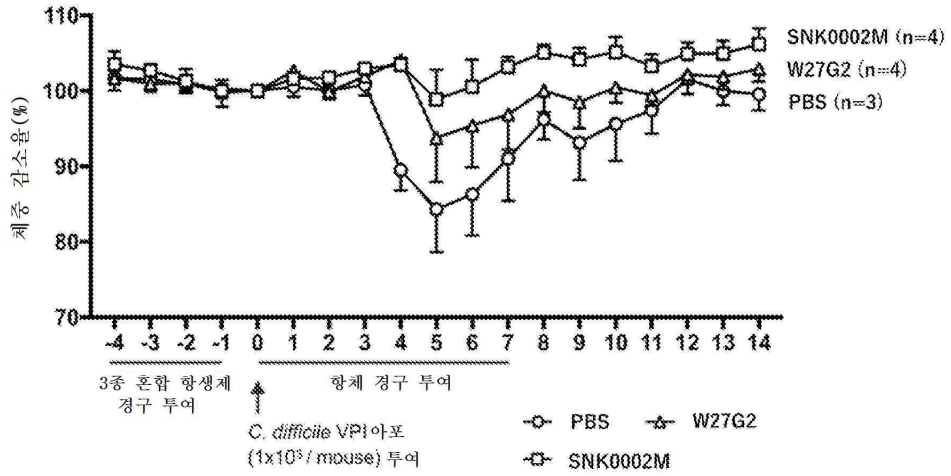
[0542] 본 발명은, C. difficile 세균에 결합하고, 그 증식을 억제하는 항체를 제공하는 것에 의하여, C. difficile 세균에 관련하는 질환의 치료에 이용되는 것 외에, 생체 시료 등에 있어서 C. difficile 세균을 검출하기 위한 시험 등에도 이용하는 것이 가능하다.

도면

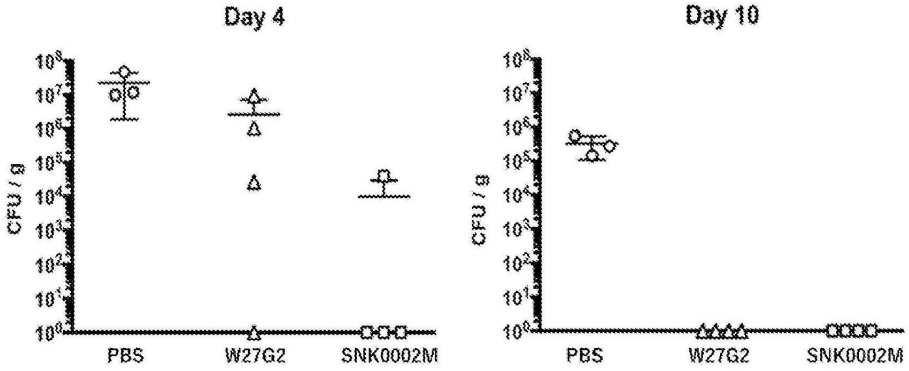
도면1


각 항체에 의한 Clostridium difficile 균 증식 억제
세균수
2.0×10^7
1.5×10^7
1.0×10^7
5.0×10^6
0.0
PBS
SNK0001MR
SNK0002MR
SNK0001AR
SNK0002AR
RS_H007_L004
RS_H000_L001
SNK0003A

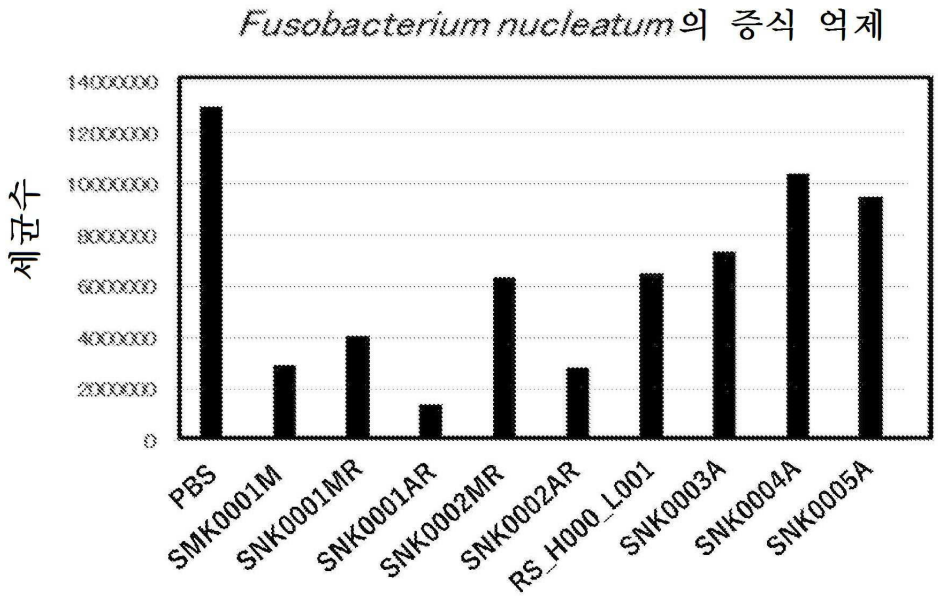
도면2


체중 감소율(%)
110
100
90
80
70
-4 -3 -2 -1 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14
3종 혼합 항생제 경구 투여
항체 경구 투여
C. difficile VPI 아포 (1x10^5 / mouse) 투여
SNK0002M (n=4)
W27G2 (n=4)
PBS (n=3)
PBS
W27G2
SNK0002M

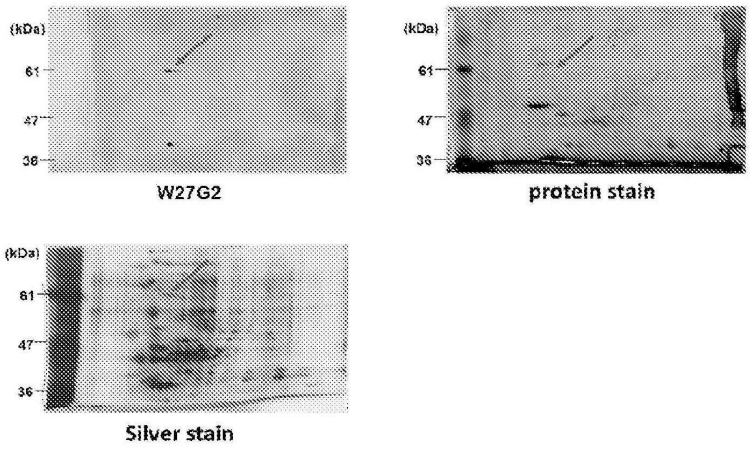
도면3


Day 4
Day 10
CFU / g
PBS
W27G2
SNK0002M

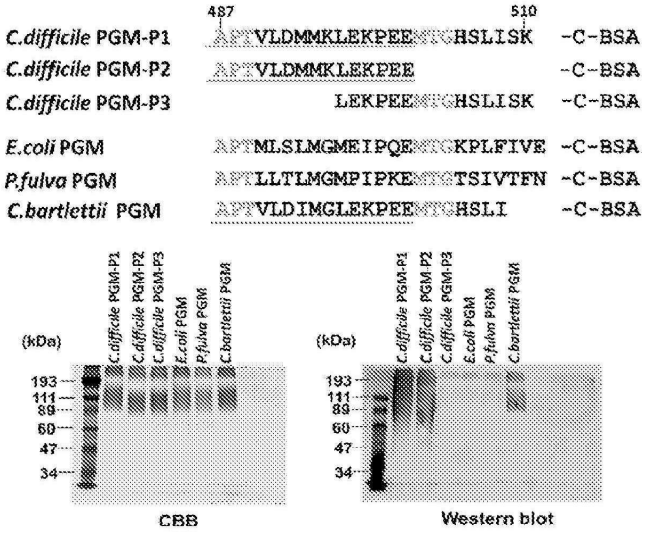
도면4


Fusobacterium nucleatum의 증식 억제
세균수
PBS
SMK0001M
SNK0001MR
SNK0001AR
SNK0002MR
SNK0002AR
RS_H000_L001
SNK0003A
SNK0004A
SNK0005A

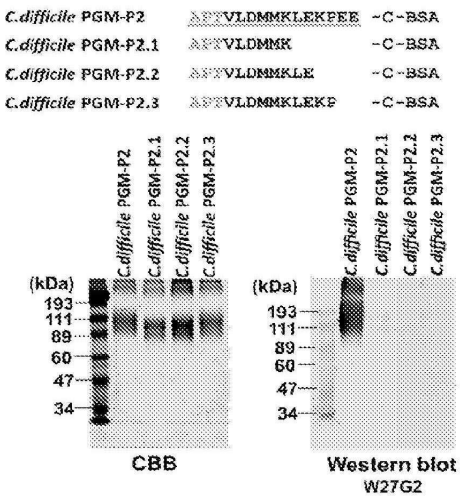
도면5


(kDa)
61
47
36
W27G2
protein stain
Silver stain

도면6


487
510
C.difficile PGM-P1 APTVLDMMKLEKPEEMTGHSLISK -C-BSA
C.difficile PGM-P2 APTVLDMMKLEKPEE -C-BSA
C.difficile PGM-P3 LEKPEEMTGHSLISK -C-BSA
E.coli PGM APTMLSLMGMEIPQEMTGKPLFIVE -C-BSA
P.fulva PGM APTLLTLMGMPIPKEMTGTSIVTFN -C-BSA
C.bartlettii PGM APTVLDIMGLEKPEEMTGHSLI -C-BSA
(kDa)
C.difficile PGM-P1
C.difficile PGM-P2
C.difficile PGM-P3
E.coli PGM
P.fulva PGM
C.bartlettii PGM
193
111
89
60
47
34
CBB
Western blot

도면7


C.difficile PGM-P2 APTVLDMMKLEKPEE -C-BSA
C.difficile PGM-P2.1 APTVLDMMK -C-BSA
C.difficile PGM-P2.2 APTVLDMMKLE -C-BSA
C.difficile PGM-P2.3 APTVLDMMKLEKP -C-BSA
(kDa)
C.difficile PGM-P2
C.difficile PGM-P2.1
C.difficile PGM-P2.2
C.difficile PGM-P2.3
193
111
89
60
47
34
CBB
Western blot
W27G2

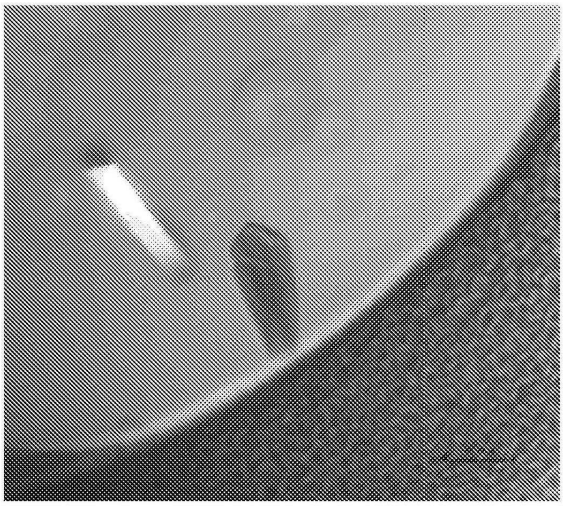
도면8

SHMT 에피토프 영역의 배열의 얼라인먼트

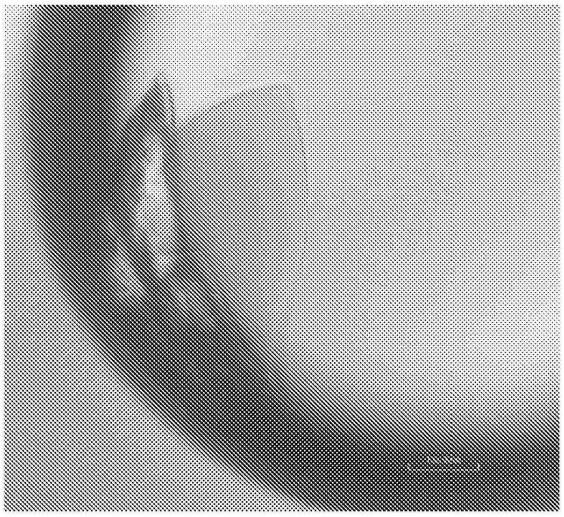
		전자 밀도 있음														전자 밀도 없음									
결정에 사용(대장균)	25	-	-	G	P	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
대장균	21	Q	E	K	V	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
페스트균	21	Q	E	V	V	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
결핵균	21	D	E	D	K	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	E	45
녹농균	21	Q	E	A	Q	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	A	V	M	E	45
인플루엔자균	21	D	E	N	K	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	A	S	P	K	V	M	E	45
폐렴간균	21	Q	E	K	V	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
레지오넬라균	21	D	E	K	K	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	V	S	P	K	V	L	E	45
파라티푸스균	21	Q	E	K	V	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
티푸스균	21	Q	E	K	V	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
이질균	21	Q	E	K	V	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
비저균	22	Q	E	N	V	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	A	V	M	A	46
콜레라균	21	E	E	T	L	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
시트로박터균	21	Q	E	K	V	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
파스퇴렐라균	21	D	E	N	K	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	A	S	P	K	V	M	E	45
프로테우스균	21	G	E	V	T	K	Q	E	E	K	I	E	L	I	A	S	E	N	Y	T	S	P	K	V	M	Q	45
유산균	16	K	E	E	E	K	Q	E	H	N	I	E	L	I	A	S	E	N	I	I	S	P	A	V	K	A	39
인간	39	K	E	S	N	K	Q	K	V	G	L	E	L	I	A	S	E	N	F	A	S	K	A	V	L	E	62

- W27의 에피토프 영역은, 병원균에서는 고도로 보존
- W27은, 유익균의 유산균 SHMT에 대하여 결합이 약하다

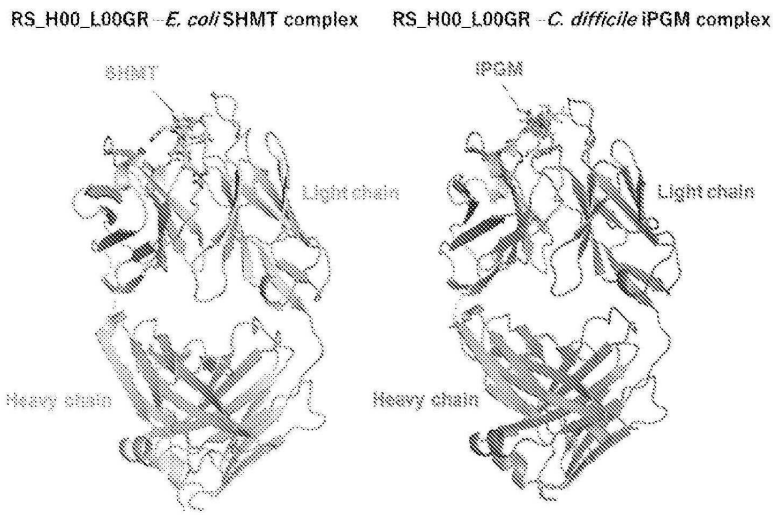
도면9



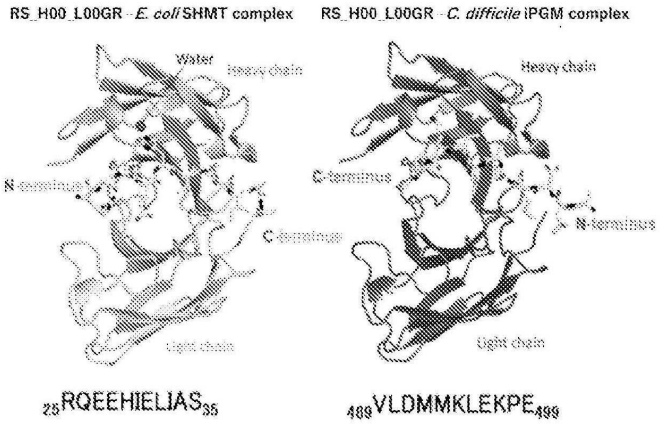
도면10



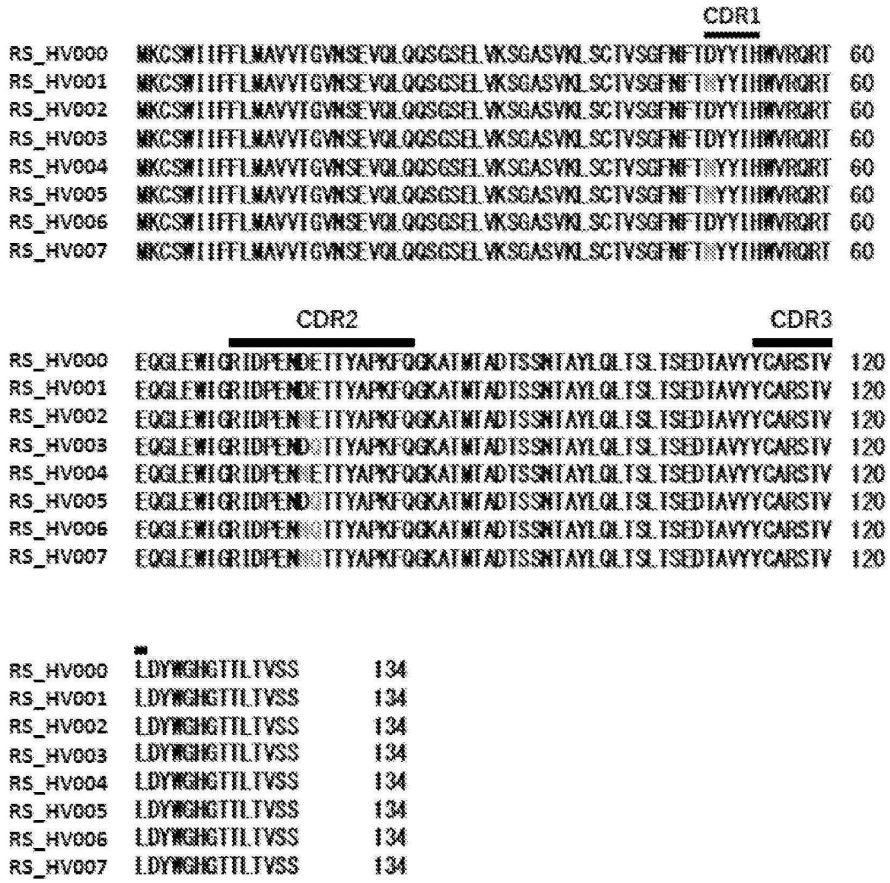
도면11



도면12



도면13


CDR1
CDR2
CDR3
RS_HV000
RS_HV001
RS_HV002
RS_HV003
RS_HV004
RS_HV005
RS_HV006
RS_HV007

도면14

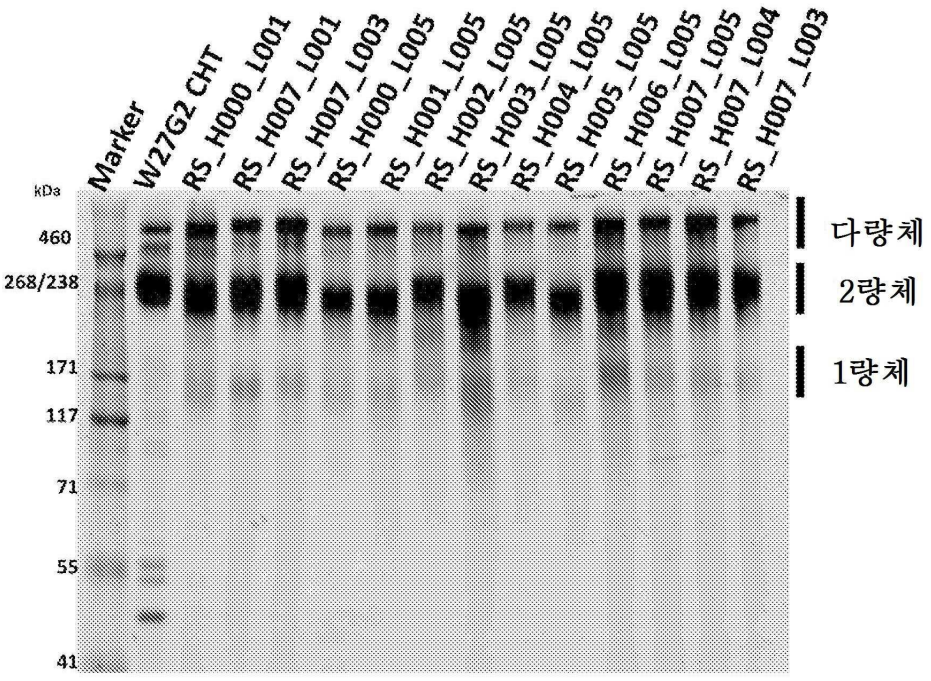
```
                                                                CDR1
RS_LV000  MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQTPLSLPVSLGDQASISCRASQSIVHTNGNTYLEWY  60
RS_LV001  MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISCRASQSIVHTNGNTYLEWY  60
RS_LV002  MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRVTISCRASQSIVHTNGNTYLEWY  60
RS_LV003  MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRVTISCRSSQSIVHTNGNTYLEWY  60
RS_LV004  MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISCRSSQSIVHTNGNTYLEWY  60
RS_LV005  MKLPVRLLVLMFWIPGFSSDVLMTQSPASLSVSLGDRATISCRSSQSIVHTNGNTYLEWY  60

                    CDR2                                        CDR3
RS_LV000  LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPP  120
RS_LV001  LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPP  120
RS_LV002  LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPP  120
RS_LV003  LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPP  120
RS_LV004  LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPP  120
RS_LV005  LQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFILKISRVEAEDLGVYYCFQGSHVPP  120

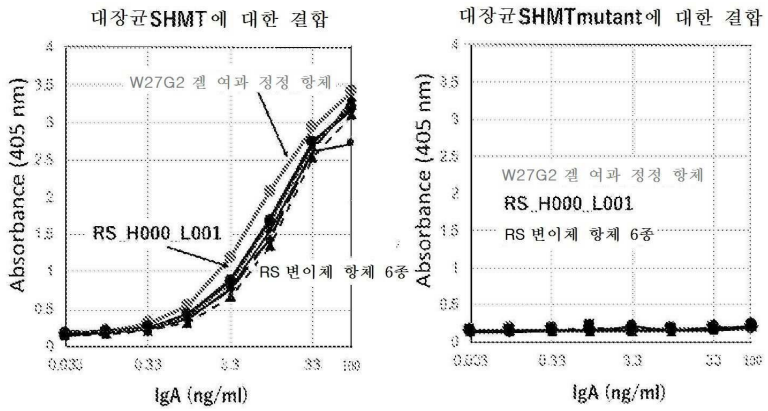
RS_LV000  TFGGGTKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ  180
RS_LV001  TFGGGTKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ  180
RS_LV002  TFGGGTKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ  180
RS_LV003  TFGGGTKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ  180
RS_LV004  TFGGGTKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ  180
RS_LV005  TFGGGTKLEVKRADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSERQ  180

RS_LV000  NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC  238
RS_LV001  NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC  238
RS_LV002  NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC  238
RS_LV003  NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC  238
RS_LV004  NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC  238
RS_LV005  NGVLNSWTDQDSKDSTYSMSSTLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRNEC  238
```

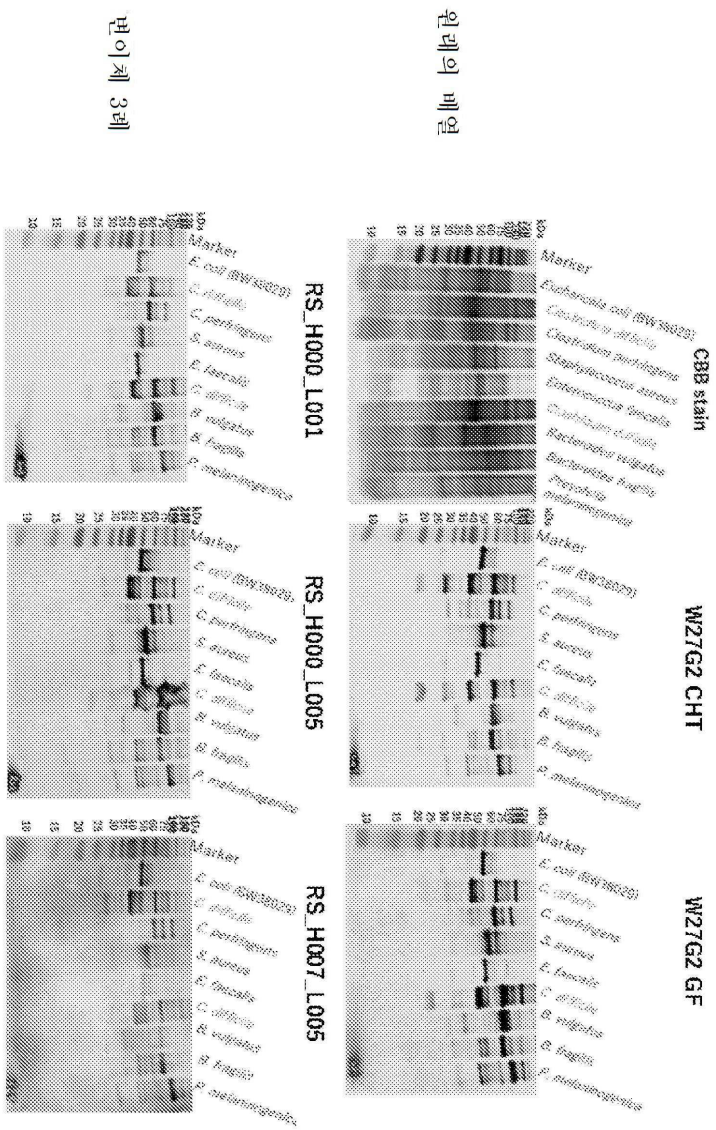
도면15



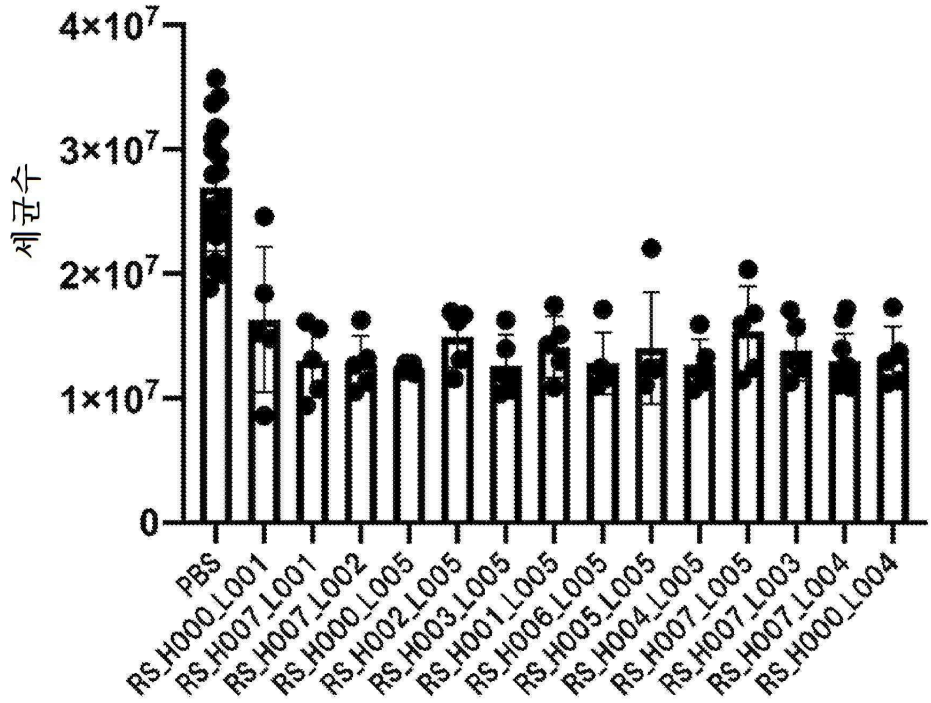
도면16


대장균SHMT에 대한 결합
Absorbance (405 nm)
W27G2 겔 여과 정정 항체
RS_H000_L001
RS 변이체 항체 6종
IgA (ng/ml)
대장균SHMTmutant에 대한 결합
Absorbance (405 nm)
W27G2 겔 여과 정정 항체
RS_H000_L001
RS 변이체 항체 6종
IgA (ng/ml)

도면17

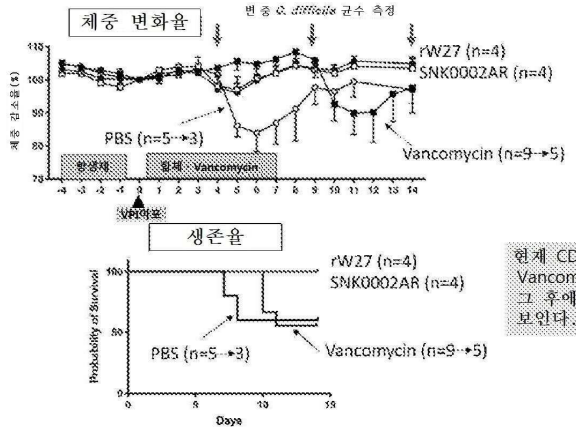

변이체 3종
원래의 IgA
CBB stain
W27G2 CHT
W27G2 GF
RS_H000_L001
RS_H000_L005
RS_H007_L005
Marker

도면18



도면19

항체 (100g/mouse) 1일 1회 7일간 경구 투여에 의한 *C. d ifficile* 감염 장염의 억제와 균의 배제



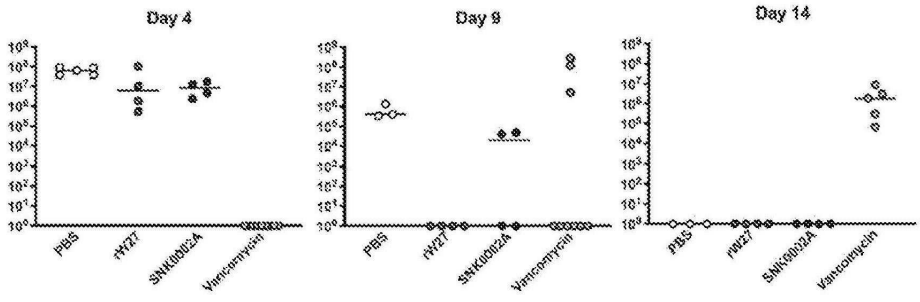
CHO세포 유래 항체에 의한 마우스 실험 결과

현재 CDI에 대한 제1 선택약인 Vancomycin은 투약 중에만 균을 억제한다. 그 후에 dysbiosis에 수반하는 리바운드가 보인다. (균이 포아화하고 있는 가능성)

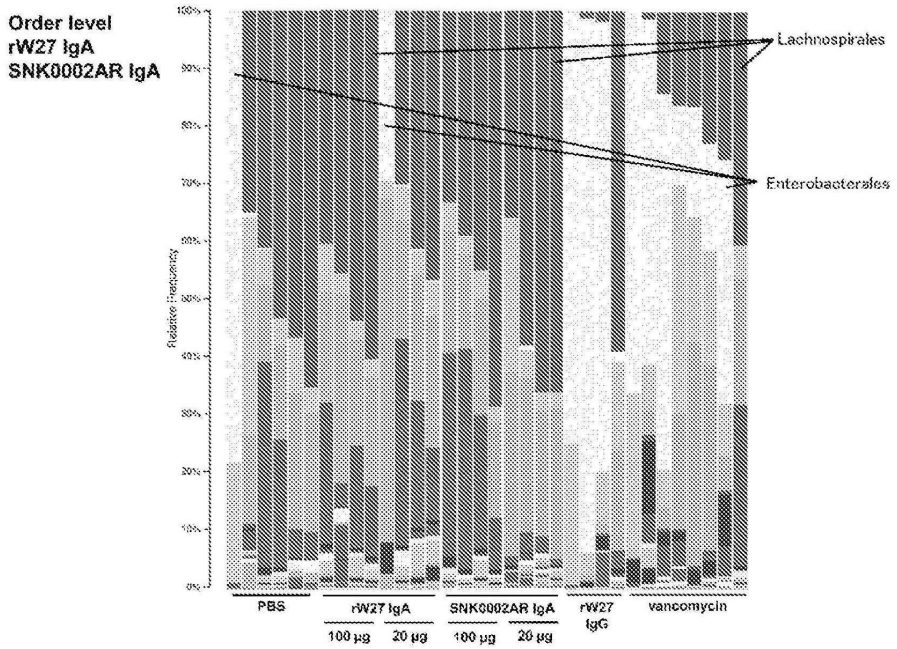
도면20

항체(100 μg/mouse) 1일 1회 경구 투여에 의한 *C. difficile* 감염 장염의 억제와 균의 배제

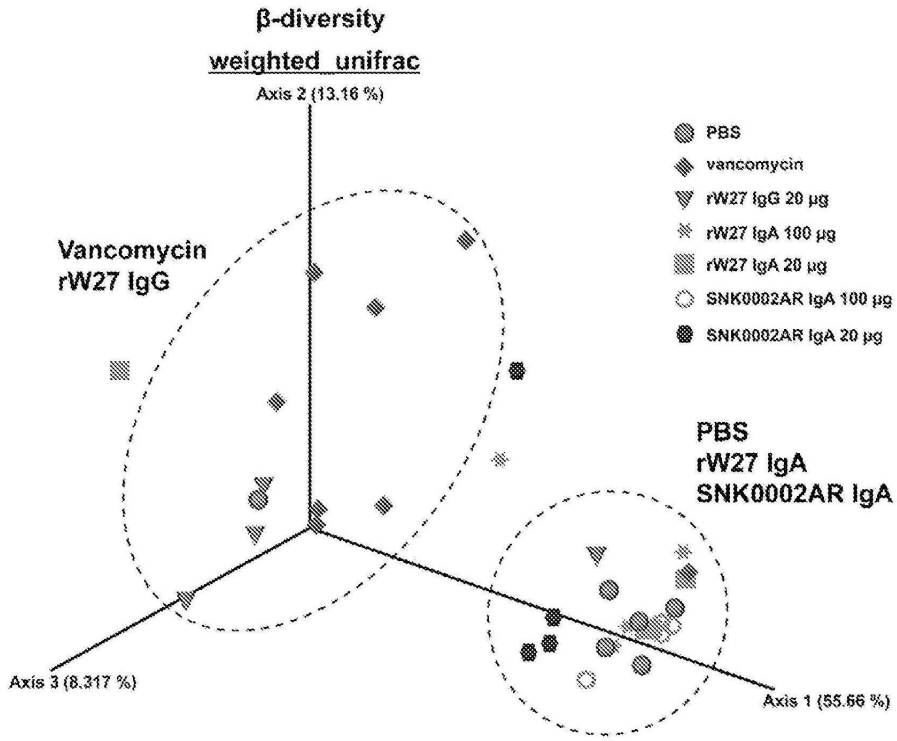
변 1g당의 *C. difficile* 생균수



도면21



도면22



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> The University of Tokyo

<120> Composition for controlling growth of Clostridium difficile

comprising a monoclonal antibody

<130> U217-1381-PCT

<150> JP2021-110423

<151> 2021-07-02

<160> 82

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 1

Ser Tyr Gly Ile Ser

1 5

<210> 2

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400>

2

Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

<210> 3

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 3

Phe Cys Ala Arg Leu Ala Ser Ser

1 5

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 4

Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asn Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 5

Arg Ala Asn Arg Leu Val Asp

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 6

Leu Gln Tyr Asp Glu Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 7

<211> 144

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 7

Met Glu Trp Ile Trp Ile Phe Leu Phe Ile Leu Ser Gly Thr Ala Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Thr Ser Tyr Gly Ile Ser Trp Val Lys Gln Arg Thr Gly Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Glu Ile Tyr Pro Arg Ser Gly Asn Thr Tyr Tyr Asn
65 70 75 80

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

<210> 8
<211> 127
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 8
Met Arg Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp Phe Pro
1 5 10 15
Gly Ile Lys Cys Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr
20 25 30
Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp
35 40 45
Ile Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro

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

115 120 125

<210> 9

<211> 488

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 9

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

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

Tyr Phe Cys Ala Arg Leu Ala Ser Ser Tyr Tyr Gly Ser Ser Tyr Asp
115 120 125
Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Thr Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135 140
Glu Ser Ala Arg Asn Pro Thr Ile Tyr Pro Leu Thr Leu Pro Arg Ala
145 150 155 160
Leu Ser Ser Asp Pro Val Ile Ile Gly Cys Leu Ile His Asp Tyr Phe
165 170 175

Pro Ser Gly Thr Met Asn Val Thr Trp Gly Lys Ser Gly Lys Asp Ile
180 185 190
Thr Thr Val Asn Phe Pro Pro Ala Leu Ala Ser Gly Gly Gly Tyr Thr

195 200 205

Met Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Val Glu Cys Pro Glu Gly Glu

210 215 220

Ser Val Lys Cys Ser Val Gln His Asp Ser Asn Ala Val Gln Glu Leu

225 230 235 240

Asp Val Lys Cys Ser Gly Pro Pro Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro

245 250 255

Ser Cys His Pro Ser Leu Ser Leu Gln Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu

260 265 270

Leu Leu Gly Ser Asp Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Asn Gly Leu Arg

275 280 285

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

290 295 300

Ala Val Gln Lys Lys Ala Val Gln Asn Ser Cys Gly Cys Tyr Ser Val

305 310 315 320

Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys Ala Glu Arg Trp Asn Ser Gly Ala Ser

325 330 335

Phe Lys Cys Thr Val Thr His Pro Glu Ser Asp Thr Leu Thr Gly Thr

340 345 350

Ile Ala Lys Ile Thr Val Asn Thr Phe Pro Pro Gln Val His Leu Leu

355 360 365

Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu Ala Leu Asn Glu Leu Val Ser Leu Thr

370 375 380

Cys Leu Val Arg Ala Phe Asn Pro Lys Glu Val Leu Val Arg Trp Leu

385 390 395 400

His Gly Asn Glu Glu Leu Ser Pro Glu Ser Tyr Leu Val Phe Glu Pro

405 410 415

Leu Lys Glu Pro Gly Glu Gly Ala Thr Thr Tyr Leu Val Thr Ser Val

420 425 430

Leu Arg Val Ser Ala Glu Leu Trp Lys Gln Gly Asp Gln Tyr Ser Cys

435 440 445

Met Val Gly His Glu Ala Leu Pro Met Asn Phe Thr Gln Lys Thr Ile
450 455 460
Asp Arg Leu Ser Gly Lys Pro Thr Asn Val Ser Val Ser Val Ile Met
465 470 475 480
Ser Glu Gly Asp Gly Ile Cys Tyr
485

<210> 10
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment
<400> 10
Met Arg Thr Pro Ala Gln Phe Leu Gly Ile Leu Leu Leu Trp Phe Pro
1 5 10 15
Gly Ile Lys Cys Asp Ile Lys Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Met Tyr
20 25 30
Ala Ser Leu Gly Glu Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp
35 40 45
Ile Asn Ser Tyr Leu Ser Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ser Pro
50 55 60

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

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln
130 135 140
Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr
145 150 155 160

Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln
165 170 175
Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
180 185 190

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg
195 200 205
His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
210 215 220
Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
225 230

<210> 11
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 11
Thr Phe Gly Met Gly
1 5

<210> 12
<211> 16

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 12
Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ala Leu
1 5 10 15

<210> 13
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 13
Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Ala Gly

1 5

<210> 14

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 14

Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp

1 5 10

<210> 15

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 15

Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly

1 5

<210> 16

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 16

Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe

1 5

<210> 17

<211> 135

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 17

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

1 5 10 15

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

65 70 75 80
Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys
85 90 95
Asn Gln Val Phe Leu Lys Ile Ala Asn Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala
100 105 110
Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Ala Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
115 120 125
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 18
<211> 128
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 18
Met His Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser
1 5 10 15
Val Ile Met Ser Arg Gly Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile
20 25 30
Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser
35 40 45
Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser

50 55 60
Pro Lys Leu Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro
65 70 75 80

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

115 120 125

<210> 19
<211> 479
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 19
Met Gly Arg Leu Thr Ser Ser Phe Leu Leu Leu Ile Val Pro Ala Tyr
1 5 10 15
Val Leu Ser Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln
20 25 30
Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu
35 40 45

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

Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ile Ala Gly Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
115 120 125
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Glu Ser Ala Arg Asn Pro Thr Ile Tyr
130 135 140
Pro Leu Thr Leu Pro Arg Ala Leu Ser Ser Asp Pro Val Ile Ile Gly
145 150 155 160

Cys Leu Ile His Asp Tyr Phe Pro Ser Gly Thr Met Asn Val Thr Trp
165 170 175

Gly Lys Ser Gly Lys Asp Ile Thr Thr Val Asn Phe Pro Pro Ala Leu
180 185 190
Ala Ser Gly Gly Gly Tyr Thr Met Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala
195 200 205
Val Glu Cys Pro Glu Gly Glu Ser Val Lys Cys Ser Val Gln His Asp
210 215 220
Ser Asn Ala Val Gln Glu Leu Asp Val Lys Cys Ser Gly Pro Pro Pro
225 230 235 240

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

Ser Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys Ala Glu
305 310 315 320
Arg Trp Asn Ser Gly Ala Ser Phe Lys Cys Thr Val Thr His Pro Glu
325 330 335
Ser Asp Thr Leu Thr Gly Thr Ile Ala Lys Ile Thr Val Asn Thr Phe
340 345 350
Pro Pro Gln Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu Ala Leu
355 360 365

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

405 410 415

Thr Tyr Leu Val Thr Ser Val Leu Arg Val Ser Ala Glu Leu Trp Lys

420 425 430

Gln Gly Asp Gln Tyr Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu Pro Met

435 440 445

Asn Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ser Gly Lys Pro Thr Asn

450 455 460

Val Ser Val Ser Val Ile Met Ser Glu Gly Asp Gly Ile Cys Tyr

465 470 475

<210> 20

<211> 235

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 20

Met His Phe Gln Val Gln Ile Phe Ser Phe Leu Leu Ile Ser Ala Ser

1 5 10 15

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

20 25 30

Met Ser Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Ser Ala Ser

35 40 45

Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ser

50 55 60

Pro Lys Leu Trp Ile Tyr Ser Thr Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro

65 70 75 80

Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile

85 90 95

Ser Arg Met Glu Ala Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg

100 105 110

Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

115 120 125

Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu

130 135 140

Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe

145 150 155 160

Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg

165 170 175

Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser

180 185 190

Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu

195 200 205

Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser

210 215 220

Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

225 230 235

<210> 21

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 21

Ser Tyr Asn Ile His

1 5

<210> 22

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 22

Ala Ile Tyr Ser Gly Asn Gly Ala Thr Ser His Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

<210> 23

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 23

Phe Cys Thr Arg Val Gly Leu Arg

1 5

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 24

Lys Ala Ser Gln Ser Val Gly Thr Ser Val Ala

1 5 10

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 25

Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser

1 5

<210> 26

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 26

Gln Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Tyr Thr

1 5

<210> 27

<211> 137

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 27

Met Gly Phe Ser Arg Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

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

Pro Gly Ala Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Tyr Asn Ile His Trp Val Lys Gln Thr Pro Arg Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Ser Gly Asn Gly Ala Thr Ser His Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Thr Arg Val Gly Leu Arg Ser Pro Phe Asp Phe Trp Gly
115 120 125

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 28

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 28

Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser
1 5 10 15

Gly Val Asp Gly Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Leu Lys Phe Met Ser
20 25 30

Thr Ser Gly Gly Asp Arg Val Ser Val Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser
35 40 45

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

50 55 60

Lys Pro Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Tyr Ser Gly Val Pro Asp
65 70 75 80

Arg Phe Thr Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ser Leu Thr Ile Ser
85 90 95

Asn Val Gln Ser Glu Asp Leu Ala Glu Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Asn
100 105 110

Asn Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

115 120 125

<210> 29

<211> 481

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 29

Met Gly Phe Ser Arg Ile Phe Leu Phe Leu Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

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

Pro Gly Ala Ser Val Arg Met Ser Cys Lys Ala Ser Asp Tyr Thr Phe
35 40 45

Thr Ser Tyr Asn Ile His Trp Val Lys Gln Thr Pro Arg Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Ala Ile Tyr Ser Gly Asn Gly Ala Thr Ser His Asn
65 70 75 80

Gln Lys Phe Lys Gly Arg Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser
85 90 95

Thr Ala Tyr Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val
100 105 110

Tyr Phe Cys Thr Arg Val Gly Leu Arg Ser Pro Phe Asp Phe Trp Gly

115 120 125

Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Glu Ser Ala Arg Asn Pro Thr

130 135 140

Ile Tyr Pro Leu Thr Leu Pro Arg Ala Leu Ser Ser Asp Pro Val Ile

145 150 155 160

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

165 170 175

Thr Trp Gly Lys Ser Gly Lys Asp Ile Thr Thr Val Asn Phe Pro Pro

180 185 190

Ala Leu Ala Ser Gly Gly Gly Tyr Thr Met Ser Ser Gln Leu Thr Leu

195 200 205

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

210 215 220

His Asp Ser Asn Ala Val Gln Glu Leu Asp Val Lys Cys Ser Gly Pro

225 230 235 240

Pro Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Pro Ser Cys His Pro Ser Leu Ser

245 250 255

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

260 265 270

Leu Thr Cys Thr Leu Asn Gly Leu Arg Asn Pro Glu Gly Ala Val Phe

275 280 285

Thr Trp Glu Pro Ser Thr Gly Lys Asp Ala Val Gln Lys Lys Ala Val

290 295 300

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

305 310 315 320

Ala Glu Arg Trp Asn Ser Gly Ala Ser Phe Lys Cys Thr Val Thr His

325 330 335

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

340 345 350

Thr Phe Pro Pro Gln Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu

355 360 365

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

Trp Lys Gln Gly Asp Gln Tyr Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu
435 440 445
Pro Met Asn Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ser Gly Lys Pro
450 455 460
Thr Asn Val Ser Val Ser Val Ile Met Ser Glu Gly Asp Gly Ile Cys
465 470 475 480
Tyr

<210> 30
<211> 234
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 30
Met Glu Ser Gln Thr Gln Val Phe Val Tyr Met Leu Leu Trp Leu Ser

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

65 70 75 80

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

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

195 200 205
His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro
210 215 220
Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
225 230

<210> 31
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 31
Asp Tyr Tyr Ile His
1 5
<210> 32
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 32

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

1 5 10 15

<210> 33

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 33

Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu

1 5

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 34

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Val His Thr Asn Gly

1 5 10

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 35

Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val

1 5

<210> 36

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 36

Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser

1 5

<210> 37

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 37

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly

1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Thr Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr

115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser

130

<210> 38

<211> 131

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 38

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

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

Glu Val Lys
130

<210> 39

<211> 478

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 39

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

Thr Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr

115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser Glu Ser Ala Arg Asn Pro Thr Ile Tyr Pro

130 135 140

Leu Thr Leu Pro Arg Ala Leu Ser Ser Asp Pro Val Ile Ile Gly Cys

145 150 155 160

Leu Ile His Asp Tyr Phe Pro Ser Gly Thr Met Asn Val Thr Trp Gly

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Glu Cys Pro Glu Gly Glu Ser Val Lys Cys Ser Val Gln His Asp Ser

210 215 220

Asn Ala Val Gln Glu Leu Asp Val Lys Cys Ser Gly Pro Pro Pro Pro

225 230 235 240

Cys Pro Pro Cys Pro Pro Ser Cys His Pro Ser Leu Ser Leu Gln Arg

245 250 255

Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Asp Ala Ser Leu Thr Cys

260 265 270

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

275 280 285

Pro Ser Thr Gly Lys Asp Ala Val Gln Lys Lys Ala Val Gln Asn Ser

290 295 300

Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys Ala Glu Arg
305 310 315 320
Trp Asn Ser Gly Ala Ser Phe Lys Cys Thr Val Thr His Pro Glu Ser
325 330 335
Asp Thr Leu Thr Gly Thr Ile Ala Lys Ile Thr Val Asn Thr Phe Pro
340 345 350
Pro Gln Val His Leu Leu Pro Pro Pro Ser Glu Glu Leu Ala Leu Asn
355 360 365

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

Gly Asp Gln Tyr Ser Cys Met Val Gly His Glu Ala Leu Pro Met Asn
435 440 445
Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Leu Ser Gly Lys Pro Thr Asn Val
450 455 460
Ser Val Ser Val Ile Met Ser Glu Gly Asp Gly Ile Cys Tyr
465 470 475

<210> 40
<211> 238
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 40

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Gly
1 5 10 15
Phe Ser Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile

35 40 45

Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro

50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile

85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys

100 105 110

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu

115 120 125

Glu Val Lys Arg Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro

130 135 140

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

145 150 155 160

Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly

165 170 175

Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser

180 185 190

Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp

195 200 205

Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr

210 215 220

Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

225 230 235

<210> 41

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 41

Asn Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 42

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 42

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

1 5 10 15

<210> 43

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 43

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

1 5 10 15

<210> 44

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 44

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

1 5 10 15

<210> 45

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 45

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly

1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Thr Asn Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr

115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser

130

<210> 46

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 46

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly

1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Thr Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asn Glu Thr Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr
115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser
130

<210> 47

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 47

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly
1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys
20 25 30

Ser Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Phe
35 40 45

Thr Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Gln Thr Thr Tyr Ala
65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr
115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser

130

<210> 48

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 48

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly
1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys
20 25 30

Ser Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Phe
35 40 45

Thr Asn Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asn Glu Thr Thr Tyr Ala
65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr
115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser

130

<210> 49

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 49

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly

1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Thr Asn Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Gln Thr Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr

115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser

130

<210> 50

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 50

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly

1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Thr Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asn Gln Thr Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr
115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser
130

<210> 51

<211> 134

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 51

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly
1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys
20 25 30

Ser Gly Ala Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Phe
35 40 45

Thr Asn Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asn Gln Thr Thr Tyr Ala
65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn
85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr
115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser

130

<210> 52

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 52

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Thr Asn Gly

1 5 10

<210> 53

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 53

Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly Asp Arg Ala

1 5 10

<210> 54

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 54

Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Leu Gly Asp Arg Val

1 5 10

<210> 55

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 55

Ser Pro Ala Ser Met Ser Val Ser Leu Gly Asp Arg Ala

1 5 10

<210> 56

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 56

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

<210> 57

<211> 131

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 57

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Gly
1 5 10 15

Phe Ser Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val
20 25 30

Ser Leu Gly Asp Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
35 40 45

Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Val Lys
130

<210> 58

<211> 131

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 58

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Gly
1 5 10 15

Phe Ser Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val
20 25 30

Ser Leu Gly Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile
35 40 45

Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
50 55 60

Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser
65 70 75 80

Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile
85 90 95

Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys
100 105 110

Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu
115 120 125

Glu Val Lys
130

<210> 59

<211> 131

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 59

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Gly
1 5 10 15

Phe Ser Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val

20 25 30

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

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

<210> 60
<211> 131
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment
<400> 60

Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Gly
1 5 10 15

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

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

<210> 61
<211> 131
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Comment

<400> 61
Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile Pro Gly
1 5 10 15
Phe Ser Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val
20 25 30
Ser Leu Gly Asp Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile
35 40 45
Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro
50 55 60

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

Glu Val Lys
130

<210> 62

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 62

Xaa Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 63

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(8)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 63

Arg Ile Asp Pro Glu Asn Xaa Xaa Thr Thr Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 64

Arg Xaa Ser Gln Ser Ile Val His Thr Asn Gly

1 5 10

<210> 65

<211> 1467

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 65

atggaatgga tctggatctt tctcttcatc ctgtcaggaa ctgcaggtgt ccaatcccag 60

gttcagctgc agcagtctgg agctgagctg gcgaggcctg gggcttcagt gaagctgtcc 120

tgcaaggctt ctggctacac cttcacaagc tatggtataa gctgggtgaa gcagagaact 180

ggacagggcc ttgagtggat tggagagatt tatcctagaa gtggtaatac ttactacaat 240

gagaagttca agggcaaggc cacactgact gcagacaaat cctccagcac agcgtacatg 300

gagctccgca gcctgacatc tgaggactct gcggtctatt tctgtgcaag attggcatcg 360

agctactacg gtagtagcta cgactggtac ttcgatgtct ggggcacagg gaccacggtc 420

accgtctcct cagagtctgc gagaaatccc accatctacc cactgacact cccacgagct 480

ctgtcaagtg acccagtgat aatcggctgc ctgattcacg attacttccc ttccggcacg 540

atgaatgtga cctggggaaa gagtgggaag gatataacca ccgtaaactt cccacctgcc 600

ctggcctctg ggggagggta caccatgagc agccagttga ccctgccagc tgtcgagtgc 660

ccagaaggag aatccgtgaa atgttccgtg caacatgact ctaacgccgt ccaagaattg 720

gatgtgaagt gctctggtcc tcctcctcct tgtcctcctt gtcctccttc ctgccatccc 780

agcctgtcac tgcagcggcc agctcttgag gacctgctcc tgggttcaga tgccagcctc 840

acatgtactc tgaatggcct gagaaatcct gagggagctg tcttcacctg ggagccctcc 900

actgggaagg atgcagtgca gaagaaagct gtgcagaatt cctgcggctg ctacagtgtg 960

tccagcgtcc tgcctggctg tgctgagcgc tggaacagtg gcgcatcatt caagtgcaca 1020

gttacccatc ctgagtctga caccttaact ggcacaattg ccaaaatcac agtgaacacc 1080

ttcccacccc aggtccacct gctaccgccg ccgtcggagg agctggccct gaatgagctc 1140

gtgtccctga catgcctggt gcgagctttc aaccctaaag aagtgctggt gcgatggctg 1200

catggaaatg aggagctgtc cccagaaagc tacctagtgt ttgagcccct aaaggagcca 1260

ggcgagggag ccaccaccta cctggtgaca agcgtgttgc gtgtatcagc tgaactctgg 1320

aaacagggtg accagtactc ctgcatggtg ggccacgagg ccttgcccat gaacttcacc 1380

cagaagacca tcgaccgtct gtcgggtaaa cccaccaatg tcagcgtgtc tgtgatcatg 1440

tcagagggag atggcatctg ctactga 1467

<210> 66

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 66

atgaggaccc ctgctcagtt tcttggaatc ttgttgctct ggtttccagg tatcaaatgt 60

gacatcaaga tgacccagtc tccatcttcc atgtatgcat ctctaggaga gagagtcact 120

atcacttgca aggcgagtca ggacattaat agctatttaa gctggttcca gcagaaacca 180

gggaaatctc ctaagaccct gatctatcgt gcaaacagat tggtagatgg ggtcccatca 240

aggttcagtg gcagtggatc tgggcaagat tattctctca ccatcagcag cctggagtat 300

gaagatatgg gaatttatta ttgtctacag tatgatgagt ttccgctcac gttcggtgct 360

gggaccaagc tggagctgaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420

tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 480

cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 540

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag cacctcacg 600

ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 660

tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttga 705

<210> 67

<211> 1440

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 67

atgggcaggc ttacttcttc attcctgtta ctgattgtcc ctgcatatgt cctgtcccag 60

gttactctga aagagtctgg ccctgggata ttgcagccct cccagaccct cagtctgact 120

tgttctttct ctgggttttc actgagcact tttggtatgg gtgtaggctg gattcgtcag 180

ccttcaggga agggtctgga gtggctggca cacatttggt gggatgatga taagtactat 240

aacccagccc tgaagagtcg gctcacaatc tccaaggata cctccaaaaa ccaggtattc 300

ctcaagatcg ccaatgtgga cactgcagat actgccacat actactgtgc tcgaatagct 360

gggtttgact actggggcca aggcaccact ctcacagtct cctcagagtc tgcgagaaat 420

cccaccatct acccactgac actcccacga gctctgtcaa gtgacccagt gataatcggc 480

tgcctgattc acgattactt cccttccggc acgatgaatg tgacctgggg aaagagtggg 540

aaggatataa ccaccgtaaa cttcccacct gccctggcct ctgggggagg gtacaccatg 600

agcagccagt tgaccctgcc agctgtcgag tgcccagaag gagaatccgt gaaatgttcc 660

gtgcaacatg actctaacgc cgtccaagaa ttggatgtga agtgctctgg tcctcctcct 720

ccttgtcctc cttgtcctcc ttcctgccat cccagcctgt cactgcagcg gccagctctt 780

gaggacctgc tcctgggttc agatgccagc ctcacatgta ctctgaatgg cctgagaaat 840

cctgagggag ctgtcttcac ctgggagccc tccactggga aggatgcagt gcagaagaaa 900

gctgtgcaga attcctgcgg ctgctacagt gtgtccagcg tcctgcctgg ctgtgctgag 960

cgctggaaca gtggcgcatc attcaagtgc acagttaccc atcctgagtc tgacacctta 1020

actggcacaa ttgccaaaat cacagtgaac accttcccac cccaggtcca cctgctaccg 1080

ccgccgtcgg aggagctggc cctgaatgag ctcgtgtccc tgacatgcct ggtgcgagct 1140

ttcaacccta aagaagtgct ggtgcgatgg ctgcatggaa atgaggagct gtccccagaa 1200

agctacctag tgtttgagcc cctaaaggag ccaggcgagg gagccaccac ctacctggtg 1260

acaagcgtgt tgcgtgtatc agctgaactc tggaaacagg gtgaccagta ctcctgcatg 1320

gtgggccacg aggccttgcc catgaacttc acccagaaga ccatcgaccg tctgtcgggt 1380

aaacccacca atgtcagcgt gtctgtgatc atgtcagagg gagatggcat ctgctactga 1440

<210> 68

<211> 708

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 68

atgcattttc aagtgcagat tttcagcttc ctgctaatca gtgcctcagt cataatgtcc 60

agaggacaaa ttgttctcac ccagtctcca gcaatcatgt ctgcatctcc aggggagaag 120

gtcaccataa cctgcagtgc cagctcaagt gtaagttaca tgcactggtt ccagcagaag 180

ccaggcactt ctcccaaact ctggatttat agcacatcca acctggcttc tggagtccct 240

gctcgcttca gtggcagtgg atctgggacc tcttactctc tcacaatcag ccgaatggag 300

gctgaagatg ctgccactta ttactgccag caaaggagta gttacccgta cacgttcgga 360

gggggggacca agctggaaat aaaacgggct gatgctgcac caactgtatc catcttccca 420

ccatccagtg agcagttaac atctggaggt gcctcagtcg tgtgcttctt gaacaacttc 480

taccccaaag acatcaatgt caagtggaag attgatggca gtgaacgaca aaatggcgtc 540

ctgaacagtt ggactgatca ggacagcaaa gacagcacct acagcatgag cagcaccctc 600

acgttgacca aggacgagta tgaacgacat aacagctata cctgtgaggc cactcacaag 660

acatcaactt cacccattgt caagagcttc aacaggaatg agtgttga 708

<210> 69

<211> 1446

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 69

atgggattca gcaggatctt tctcttcctc ctgtcagtaa ctacaggtgt ccactcccag 60

gcttatctac agcagtctgg ggctgagctg gtgaggcctg gggcctcagt gaggatgtcc 120

tgcaaggctt ctgactacac atttaccagt tacaatatcc actgggtaaa gcagacacct 180

agacagggcc tggaatggat tggagctatt tattcaggaa atggtgctac ttcccacaat 240

cagaagttca agggcagggc cacactgact gtagacaaat cctccagcac agcctacatg 300

caactcagca gcctgacatc tgaagactct gcggtctatt tctgtacaag agtgggactc 360

cggtcccctt ttgacttctg gggccaaggc accactctca cagtctcctc agagtctgcg 420

agaaatccca ccatctaccc actgacactc ccacgagctc tgtcaagtga cccagtgata 480

atcggctgcc tgattcacga ttacttccct tccggcacga tgaatgtgac ctggggaaag 540

agtgggaagg atataaccac cgtaaacttc ccacctgccc tggcctctgg gggagggtac 600

accatgagca gccagttgac cctgccagct gtcgagtgcc cagaaggaga atccgtgaaa 660

tgttccgtgc aacatgactc taacgccgtc caagaattgg atgtgaagtg ctctggtcct 720

cctcctcctt gtcctccttg tcctccttcc tgccatccca gcctgtcact gcagcggcca 780

gctcttgagg acctgctcct gggttcagat gccagcctca catgtactct gaatggcctg 840

agaaatcctg agggagctgt cttcacctgg gagccctcca ctgggaagga tgcagtgcag 900

aagaaagctg tgcagaattc ctgcggctgc tacagtgtgt ccagcgtcct gcctggctgt 960

gctgagcgct ggaacagtgg cgcatcattc aagtgcacag ttacccatcc tgagtctgac 1020

accttaactg gcacaattgc caaaatcaca gtgaacacct tcccacccca ggtccacctg 1080

ctaccgccgc cgtcggagga gctggccctg aatgagctcg tgtccctgac atgcctggtg 1140

cgagctttca accctaaaga agtgctggtg cgatggctgc atggaaatga ggagctgtcc 1200

ccagaaagct acctagtgtt tgagccccta aaggagccag gcgagggagc caccacctac 1260

ctggtgacaa gcgtgttgcg tgtatcagct gaactctgga aacagggtga ccagtactcc 1320

tgcatggtgg gccacgaggc cttgcccatg aacttcaccc agaagaccat cgaccgtctg 1380

tcgggtaaac ccaccaatgt cagcgtgtct gtgatcatgt cagagggaga tggcatctgc 1440

tactga 1446

<210> 70

<211> 705

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 70

atggagtcac agactcaggt ctttgtatac atgttgctgt ggttgtctgg tgttgatgga 60

gacattgtga tgacccagtc tctaaaattc atgtccacat cgggaggaga cagggtcagc 120

gtcacctgca aggccagtca gagtgtgggt acaagtgtag cctggtatca gcagaaacca 180

ggacaatctc ctaaaccact gatttattcg gcatcttatc ggtacagtgg agtccctgat 240

cgcttcacag gcagtggatc tgggacagat ttcagtctca ccatcagcaa tgtgcagtct 300

gaagacttgg cagaatattt ctgtcagcaa tataacaact atccgtacac gttcggaggg 360

gggaccaagc tggagataaa acgggctgat gctgcaccaa ctgtatccat cttcccacca 420

tccagtgagc agttaacatc tggaggtgcc tcagtcgtgt gcttcttgaa caacttctac 480

cccaaagaca tcaatgtcaa gtggaagatt gatggcagtg aacgacaaaa tggcgtcctg 540

aacagttgga ctgatcagga cagcaaagac agcacctaca gcatgagcag caccctcacg 600

ttgaccaagg acgagtatga acgacataac agctatacct gtgaggccac tcacaagaca 660

tcaacttcac ccattgtcaa gagcttcaac aggaatgagt gttga 705

<210> 71

<211> 1437

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 71

atgaaatgca gctggatcat cttcttcctg atggcagtgg ttacaggggt caattcagag 60

gttcagctgc agcagtctgg gtcagagctt gtgaagtctg gggcctcagt caagttgtcc 120

tgcacagttt ctgggttcaa ctttacagac tactatatac actgggtgag gcagaggact 180

gaacagggcc tggaatggat tggaaggatt gatcctgaga atgatgaaac tacatatgcc 240

ccgaaattcc agggcaaggc cactatgaca gcagacacat cttccaacac agcctacctg 300

cagctcacca gcctgacatc tgaagacact gccgtctatt actgtgctag atctacggtc 360

cttgactact ggggccacgg caccactctc acagtctcct cagagtctgc gagaaatccc 420

accatctacc cactgacact cccacgagct ctgtcaagtg acccagtgat aatcggctgc 480

ctgattcacg attacttccc ttccggcacg atgaatgtga cctggggaaa gagtgggaag 540

gatataacca ccgtaaactt cccacctgcc ctggcctctg ggggagggta caccatgagc 600

agccagttga ccctgccagc tgtcgagtgc ccagaaggag aatccgtgaa atgttccgtg 660

caacatgact ctaacgccgt ccaagaattg gatgtgaagt gctctggtcc tcctcctcct 720

tgtcctcctt gtcctccttc ctgccatccc agcctgtcac tgcagcggcc agctcttgag 780

gacctgctcc tgggttcaga tgccagcctc acatgtactc tgaatggcct gagaaatcct 840

gagggagctg tcttcacctg ggagccctcc actgggaagg atgcagtgca gaagaaagct 900

gtgcagaatt cctgcggctg ctacagtgtg tccagcgtcc tgcctggctg tgctgagcgc 960

tggaacagtg gcgcatcatt caagtgcaca gttacccatc ctgagtctga caccttaact 1020

ggcacaattg ccaaaatcac agtgaacacc ttcccacccc aggtccacct gctaccgccg 1080

ccgtcggagg agctggccct gaatgagctc gtgtccctga catgcctggt gcgagctttc 1140

aaccctaaag aagtgctggt gcgatggctg catggaaatg aggagctgtc cccagaaagc 1200

tacctagtgt ttgagcccct aaaggagcca ggcgagggag ccaccaccta cctggtgaca 1260

agcgtgttgc gtgtatcagc tgaactctgg aaacagggtg accagtactc ctgcatggtg 1320

ggccacgagg ccttgcccat gaacttcacc cagaagacca tcgaccgtct gtcgggtaaa 1380

cccaccaatg tcagcgtgtc tgtgatcatg tcagagggag atggcatctg ctactga 1437

<210> 72

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 72

atgaagttgc ctgttaggct gttggtgctg atgttctgga ttcctggatt cagcagtgat 60

gttttgatga cccaaactcc actctccctg cctgtcagtc ttggagatca agcctccatc 120

tcttgtagag ctagtcagag cattgtacac actaatggga acacctattt agaatggtac 180

ctgcagaaac caggccagtc tccaaagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240

ggggtcccag acaggttcag tggcagtgga tctgggacag atttcatact caagatcagc 300

agagtggagg ctgaggatct gggagtttat tactgctttc aaggttcaca tgttcctccg 360

acgttcggtg gaggcaccaa gctggaagtc aaacgggctg atgctgcacc aactgtatcc 420

atcttcccac catccagtga gcagttaaca tctggaggtg cctcagtcgt gtgcttcttg 480

aacaacttct accccaaaga catcaatgtc aagtggaaga ttgatggcag tgaacgacaa 540

aatggcgtcc tgaacagttg gactgatcag gacagcaaag acagcaccta cagcatgagc 600

agcaccctca cgttgaccaa ggacgagtat gaacgacata acagctatac ctgtgaggcc 660

actcacaaga catcaacttc acccattgtc aagagcttca acaggaatga gtgttag 717

<210> 73

<211> 1374

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 73

atgaaatgca gctggatcat cttcttcctg atggcagtgg ttacaggggt caattcagag 60

gttcagctgc agcagtctgg gtcagagctt gtgaagtctg gggcctcagt caagttgtcc 120

tgcacagttt ctgggttcaa ctttacagac tactatatac actgggtgag gcagaggact 180

gaacagggcc tggaatggat tggaaggatt gatcctgaga atgatgaaac tacatatgcc 240

ccgaaattcc agggcaaggc cactatgaca gcagacacat cttccaacac agcctacctg 300

cagctcacca gcctgacatc tgaagacact gccgtctatt actgtgctag atctacggtc 360

cttgactact ggggccacgg caccactctc acagtctcct caaaaacgac acccccatct 420

gtctatccac tggcccctgg atctgctgcc caaactaact ccatggtgac cctgggatgc 480

ctggtcaagg gctatttccc tgagccagtg acagtgacct ggaactctgg atccctgtcc 540

agcggtgtgc acaccttccc agctgtcctg cagtctgacc tctacactct gagcagctca 600

gtgactgtcc cctccagcac ctggcccagc gagaccgtca cctgcaacgt tgcccacccg 660

gccagcagca ccaaggtgga caagaaaatt gtgcccaggg attgtggttg taagccttgc 720

atatgtacag tcccagaagt atcatctgtc ttcatcttcc ccccaaagcc caaggatgtg 780

ctcaccatta ctctgactcc taaggtcacg tgtgttgtgg tagacatcag caaggatgat 840

cccgaggtcc agttcagctg gtttgtagat gatgtggagg tgcacacagc tcagacgcaa 900

ccccgggagg agcagttcaa cagcactttc cgctcagtca gtgaacttcc catcatgcac 960

caggactggc tcaatggcaa ggagttcaaa tgcagggtca acagtgcagc tttccctgcc 1020

cccatcgaga aaaccatctc caaaaccaaa ggcagaccga aggctccaca ggtgtacacc 1080

attccacctc ccaaggagca gatggccaag gataaagtca gtctgacctg catgataaca 1140

gacttcttcc ctgaagacat tactgtggag tggcagtgga atgggcagcc agcggagaac 1200

tacaagaaca ctcagcccat catggacaca gatggctctt acttcgtcta cagcaagctc 1260

aatgtgcaga agagcaactg ggaggcagga aatactttca cctgctctgt gttacatgag 1320

ggcctgcaca accaccatac tgagaagagc ctctcccact ctcctggtaa ataa 1374

<210> 74

<211> 1407

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 74

atgaaatgca gctggatcat cttcttcctg atggcagtgg ttacaggggt caattcagag 60

gttcagctgc agcagtctgg gtcagagctt gtgaagtctg gggcctcagt caagttgtcc 120

tgcacagttt ctgggttcaa ctttacagac tactatatac actgggtgag gcagaggact 180

gaacagggcc tggaatggat tggaaggatt gatcctgaga atgatgaaac tacatatgcc 240

ccgaaattcc agggcaaggc cactatgaca gcagacacat cttccaacac agcctacctg 300

cagctcacca gcctgacatc tgaagacact gccgtctatt actgtgctag atctacggtc 360

cttgactact ggggccacgg caccactctc acagtctcct cagcatcccc gactagttcc 420

accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 480

gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 600

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 660

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagttga gcccaaatct 720

tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctg aactcctggg gggaccgtca 780

gtcttcctct tccccccaaa acccaaggac accctcatga tctcccggac ccctgaggtc 840

acatgcgtgg tggtggacgt gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 960

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020

aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca gcccctatcg agaaaaccat ctccaaagcc 1080

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc 1140

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1200

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260

tccgacggct ccttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1320

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gagggtctgc acaaccacta cacgcagaag 1380

agcctctccc tgtctccggg taaatga 1407

<210> 75

<211> 723

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 75

atggacatga agttgcctgt taggctgttg gtgctgatgt tctggattcc tggattcagc 60

agtgatgttt tgatgaccca aactccactc tccctgcctg tcagtcttgg agatcaagcc 120

tccatctctt gtagagctag tcagagcatt gtacacacta atgggaacac ctatttagaa 180

tggtacctgc agaaaccagg ccagtctcca aagctcctga tctacaaagt ttccaaccga 240

ttttctgggg tcccagacag gttcagtggc agtggatctg ggacagattt catactcaag 300

atcagcagag tggaggctga ggatctggga gtttattact gctttcaagg ttcacatgtt 360

cctccgacgt tcggtggagg caccaagctg gaagtcaaac gggctgatgc tgcaccaact 420

gtatccatct tcccaccatc cagtgagcag ttaacatctg gaggtgcctc tgttgtgtgc 480

ctgctgaata acttctatcc tcgagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc 540

caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc 600

ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc 660

gaagtcaccc atcagggcct gagctcgccc gtcacaaaga gcttcaacag gggagagtgt 720

tag 723

<210> 76

<211> 457

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 76

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly

1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Thr Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr

115 120 125

Thr Leu Thr Val Ser Ser Lys Thr Thr Pro Pro Ser Val Tyr Pro Leu

130 135 140

Ala Pro Gly Ser Ala Ala Gln Thr Asn Ser Met Val Thr Leu Gly Cys

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Asp Leu Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Pro Ser Ser Thr Trp

195 200 205

Pro Ser Glu Thr Val Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr

210 215 220

Lys Val Asp Lys Lys Ile Val Pro Arg Asp Cys Gly Cys Lys Pro Cys

225 230 235 240

Ile Cys Thr Val Pro Glu Val Ser Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys

245 250 255

Pro Lys Asp Val Leu Thr Ile Thr Leu Thr Pro Lys Val Thr Cys Val

260 265 270

Val Val Asp Ile Ser Lys Asp Asp Pro Glu Val Gln Phe Ser Trp Phe

275 280 285

Val Asp Asp Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu

290 295 300

Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Ser Val Ser Glu Leu Pro Ile Met His

305 310 315 320

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Phe Lys Cys Arg Val Asn Ser Ala

325 330 335

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

340 345 350

Pro Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met

355 360 365

Ala Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro

370 375 380

Glu Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn

385 390 395 400

Tyr Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asp Thr Asp Gly Ser Tyr Phe Val

405 410 415

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

420 425 430

Phe Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu

435 440 445

Lys Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys

450 455

<210> 77

<211> 468

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 77

Met Lys Cys Ser Trp Ile Ile Phe Phe Leu Met Ala Val Val Thr Gly

1 5 10 15

Val Asn Ser Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ser Glu Leu Val Lys

20 25 30

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

35 40 45

Thr Asp Tyr Tyr Ile His Trp Val Arg Gln Arg Thr Glu Gln Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Gly Arg Ile Asp Pro Glu Asn Asp Glu Thr Thr Tyr Ala

65 70 75 80

Pro Lys Phe Gln Gly Lys Ala Thr Met Thr Ala Asp Thr Ser Ser Asn

85 90 95

Thr Ala Tyr Leu Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Thr Val Leu Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

165 170 175

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

180 185 190

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

290 295 300

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

305 310 315 320

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

385 390 395 400

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

405 410 415

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

420 425 430

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

435 440 445

Met His Glu Gly Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

450 455 460

Ser Pro Gly Lys

465

<210> 78

<211> 240

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Comment

<400> 78

Met Asp Met Lys Leu Pro Val Arg Leu Leu Val Leu Met Phe Trp Ile

1 5 10 15

Pro Gly Phe Ser Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu

20 25 30

Pro Val Ser Leu Gly Asp Gln Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln

35 40 45

Ser Ile Val His Thr Asn Gly Asn Thr Tyr Leu Glu Trp Tyr Leu Gln

50 55 60

Lys Pro Gly Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg

65 70 75 80

Phe Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val

165 170 175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln

180 185 190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser

195 200 205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His

210 215 220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235 240

<210> 79

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Artificial sequence

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa represents a neutral and polar amino acid or a acidic polar amino acid

<400> 79

Xaa Tyr Tyr Ile His

1 5

<210> 80

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Artificial sequence

<220><221> misc_feature

<222> (7)..(7)

<223> Xaa represents a neutral and polar amino acid or a acidic polar amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(8)

<223> Xaa represents a neutral and polar amino acid or a acidic polar amino acid

<400> 80

Arg Ile Asp Pro Glu Asn Xaa Xaa Thr Thr Tyr Ala Pro Lys Phe Gln

1 5 10 15

<210> 81

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Artificial sequence

<220><221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa represents a non-polar amino acid or a neutral polar amino

acid

<400> 81

Arg Xaa Ser Gln Ser Ile Val His Thr Asn Gly

1 5 10

<210> 82

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Artificial sequence

<220><221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa represents a non-polar amino acid

<

220><221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> Xaa represents a non-polar amino acid

<400> 82

Ser Pro Ala Ser Xaa Ser Val Ser Leu Gly Asp Arg Xaa

1 5 10