(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년09월28일
(11) 등록번호 10-1783058
(24) 등록일자 2017년09월22일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/18 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2011-7029577
(22) 출원일자(국제) 2010년05월11일
심사청구일자 2015년05월11일
(85) 번역문제출일자 2011년12월09일
(65) 공개번호 10-2012-0096950
(43) 공개일자 2012년08월31일
(86) 국제출원번호 PCT/FR2010/050915
(87) 국제공개번호 WO 2010/130946
국제공개일자 2010년11월18일
(30) 우선권주장
0953133 2009년05월12일 프랑스(FR)
(56) 선행기술조사문헌
WO2007108756 A1*
(뒷면에 계속)

(73) 특허권자
사노피
프랑스 75008 파리 뤼 라 보에티에 54
(72) 발명자
보레, 니콜라
프랑스 에프-75013 파리 아브니 드 프랑스 174 데 파르트멍 브르베 사노피-아벤티스 내
블랑쉬, 프란시스
프랑스 에프-75013 파리 아브니 드 프랑스 174 데 파르트멍 브르베 사노피-아벤티스 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
양영준, 양영환, 심미성

전체 청구항 수 : 총 36 항 심사관 : 조경주

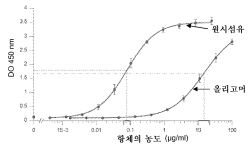
(54) 발명의 명칭 **원시섬유 형태의 베타-아밀로이드 펩티드에 대해 특이적인 인간화 항체**

(57) 요 약

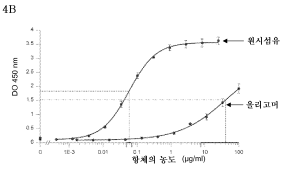
본 발명은 원시섬유 형태의 베타-아밀로이드 펩티드에 대해 특이적인 인간화 항체, 및 알츠하이머병 분야에서의 상기 항체의 용도에 관한 것이다.

대 표 도 - 도4

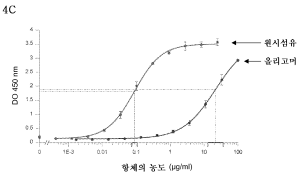
도 4A



도 4B



도 4C



(72) 발명자

카메론, 베아트리체

프랑스 에프-75013 파리 아브니 드 프랑스 174 데 파르트멍 브르베 사노피-아벤티스 내

뒤센, 마르크

프랑스 에프-75013 파리 아브니 드 프랑스 174 데 파르트멍 브르베 사노피-아벤티스 내

미콜, 뱅상

프랑스 에프-75013 파리 아브니 드 프랑스 174 데 파르트멍 브르베 사노피-아벤티스 내

나이미, 수아드

프랑스 에프-75013 파리 아브니 드 프랑스 174 데 파르트멍 브르베 사노피-아벤티스 내

프라디에, 로랑

프랑스 에프-75013 파리 아브니 드 프랑스 174 데 파르트멍 브르베 사노피-아벤티스 내

쉬, 이

프랑스 에프-75013 파리 아브니 드 프랑스 174 데 파르트멍 브르베 사노피-아벤티스 내

(56) 선행기술조사문헌

WO2006081171 A1

WO1999027944 A1

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2008 Sep 16; 105(37): 14052-14057(2008.09.08. 인터넷 공지)*

WO2007108756 A1*

KR1020100074297 A*

KR1020140141671 A*

KR1020130051021 A*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

명 세 서

청구범위

청구항 1

(i) 서열번호 10, 12, 14, 16, 18 및 20의 서열의 CDR들,

(ii) 서열번호 10, 12, 14, 32, 18 및 20의 서열의 CDR들, 또는

(iii) 서열번호 10, 12, 30, 32, 18 및 20의 서열의 CDR들

을 포함하고,

원시섬유(protofibrillar) 형태의 펩티드 A-β에 대한 친화력이 이러한 펩티드의 다른 형태에 대한 친화력보다 100배 이상 더 큰 것을 특징으로 하는, 원시섬유 형태의 A-β 펩티드에 대해 특이적인 인간화 항체로서,

여기서 서열번호 10, 12, 14, 16, 18 및 20의 서열의 CDR들을 포함하는 항체의 경우, 그 중쇄의 가변부가 서열번호 6의 서열과 80% 이상의 동일성을 갖는 서열을 포함하거나, 그 경쇄의 가변부가 서열번호 8의 서열과 80% 이상의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것인, 인간화 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 노인성 플라크 내에 응집된 A-β 펩티드에 결합하고 A-β 펩티드의 미만성 침착물에는 결합하지 않는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 3

제1항에 있어서, 서열번호 9, 11, 13, 15, 17 및 19의 서열들 중 하나와 동일한 서열을 갖는 뉴클레오티드 서열, 또는 이러한 서열들로부터 뉴클레오티드 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개만큼 각각 상이한 서열에 의해 코딩되는 하나 이상의 CDR을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 4

제1항에 있어서, 서열번호 9, 11, 13, 15, 17 및 19의 뉴클레오티드 서열, 또는 이러한 서열들로부터 뉴클레오티드 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개만큼 각각 상이한 서열에 의해 코딩되는 CDR들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 5

제1항에 있어서, 서열번호 9, 11, 13, 31, 17 및 19의 뉴클레오티드 서열, 또는 이러한 서열들로부터 뉴클레오티드 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개만큼 각각 상이한 서열에 의해 코딩되는 CDR들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 6

제1항에 있어서, 서열번호 9, 11, 29, 31, 17 및 19의 뉴클레오티드 서열, 또는 이러한 서열들로부터 뉴클레오티드 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개만큼 각각 상이한 서열에 의해 코딩되는 CDR들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 7

제1항에 있어서, 항체의 중쇄의 가변부가 서열번호 5 및 서열번호 27의 서열들 중 하나와 80% 이상의 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩되는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 8

제1항에 있어서, 항체의 중쇄의 가변부가 서열번호 6 및 서열번호 28의 서열들 중 하나와 80% 이상의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 9

제1항에 있어서, 항체의 경쇄의 가변부가 서열번호 7 및 서열번호 23의 서열들 중 하나와 80% 이상의 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩되는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 10

제1항에 있어서, 항체의 경쇄의 가변부가 서열번호 8 및 서열번호 24의 서열들 중 하나와 80% 이상의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 11

제1항에 있어서, 서열번호 5 및 서열번호 27의 뉴클레오티드 서열들 중 하나에 의해 코딩되는 가변부를 포함하는 중쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 12

제1항에 있어서, 서열번호 6 또는 서열번호 28의 폴리펩티드 서열의 가변부를 포함하는 중쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 13

제1항에 있어서, 서열번호 7 및 서열번호 23의 뉴클레오티드 서열들 중 하나에 의해 코딩되는 가변부를 포함하는 경쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 14

제1항에 있어서, 서열번호 8 또는 서열번호 24의 폴리펩티드 서열의 가변부를 포함하는 경쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 15

제1항에 있어서, 서열번호 5 및 서열번호 7의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 16

제1항에 있어서, 항체의 서열이 서열번호 6 및 서열번호 8의 폴리펩티드 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 17

제1항에 있어서, 서열번호 1 및 서열번호 25의 뉴클레오티드 서열들 중 하나와 80% 이상의 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩되는 중쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 18

제1항에 있어서, 서열번호 2 및 서열번호 26의 폴리펩티드 서열들 중 하나와 80% 이상의 동일성을 갖는 중쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 19

제1항에 있어서, 서열번호 3 및 서열번호 21의 뉴클레오티드 서열들 중 하나와 80% 이상의 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩되는 경쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 20

제1항에 있어서, 서열번호 4 및 서열번호 22의 폴리펩티드 서열들 중 하나와 80% 이상의 동일성을 갖는 경쇄를 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 21

제1항에 있어서, 서열번호 1 및 서열번호 3의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 22

제1항에 있어서, 항체의 서열이 서열번호 2 및 서열번호 4의 폴리펩티드 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 23

제1항에 있어서, 서열번호 5 및 서열번호 23의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 24

제1항에 있어서, 항체의 서열이 서열번호 6 및 서열번호 24의 폴리펩티드 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 25

제1항에 있어서, 서열번호 27 및 서열번호 23의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 26

제1항에 있어서, 항체의 서열이 서열번호 28 및 서열번호 24의 폴리펩티드 서열들을 포함하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 27

제1항에 있어서, 아밀로이드 플라크의 감소를 유도하는 것을 특징으로 하는 항체.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 따른 항체를 유효성분으로서 포함하는, 알츠하이머병을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 29

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 따른 항체 및 부형제를 포함하는, 알츠하이머병을 치료하기 위한 제약 조성물.

청구항 30

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 따른 항체를 생산하는 세포.

청구항 31

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 따른 항체를 생산하는 세포의 배양을 포함하는 것을 특징으로 하는, 제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 따른 항체의 제조 방법.

청구항 32

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 따른 항체를 포함하는, 알츠하이머병을 치료하기 위한 의약품.

청구항 33

서열번호 2, 4, 6, 8, 22, 24, 26 또는 28의 서열의 폴리펩티드를 코딩하는, 제1항에 따른 항체의 중쇄 또는 경쇄를 발현하기 위한 폴리뉴클레오티드.

청구항 34

서열번호 1, 3, 5, 7, 21, 23, 25 또는 27의 서열을 갖는 것을 특징으로 하는, 제1항에 따른 항체의 중쇄 또는 경쇄를 발현하기 위한 폴리뉴클레오티드.

청구항 35

제33항 또는 제34항에 따른 폴리뉴클레오티드를 포함하는 재조합 벡터.

청구항 36

제35항에 따른 벡터를 포함하는 숙주 세포.

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 원시섬유(protofibrillar) 형태의 β-아밀로이드 펩티드에 대해 특이적인 인간화 항체에 관한 것이다. 또한 본 발명은 신경변성 장애 및/또는 아밀로이드 플라크의 침착과 관련된 질환, 특히 알츠하이머병의 유도 및 진행과 특히 관련된, 이러한 항체의 치료적, 진단적 및/또는 예방적 용도에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 알츠하이머병 (AD)은 노인 집단의 높은 비율에 영향을 미치는 진행성 신경변성 질환이다. 이러한 질환은 임상적으로는 기억 상실 및 인지 기능 감퇴를 특징으로 하고, 신경병리학적으로는 세포내 신경섬유성 침착물 및 아밀로이드 플라크를 형성하는 β-아밀로이드 펩티드 (A-β)의 세포외 침착물이 뇌 내에 존재하는 것을 특징으로 한다. (문헌 [Yanker et al. Nature Med. Vol. 2 No. 8 (1996)]). 이러한 징후들에 더하여, 면역 및 염증 시스템의 악화, 뿐만 아니라 산화 스트레스 증가, 세포자멸사 메커니즘의 활성화 및 궁극적으로 세포 사망에 이를 수 있는 미토콘드리아 기능의 악화가 포함되는 많은 또 다른 비정상적인 변화들이 있다.

[0003] 아밀로이드 플라크는 β-아밀로이드 펩티드 전구체 (APP) 단백질의 단백질분해성 프로세스 동안 생성되는 잔기 40개 또는 42개의 A-β 펩티드로 주로 구성된다. A-β 펩티드의 세포외 침착물은 가족형 (FAD)이 포함되는 모

든 형태의 AD의 일정한 초기의 특징적인 양상들을 나타낸다. FAD는 비교적 조기 (40세 내지 60세)에 나타나고, FAD 사례의 5% (> 20 가족)에서의 APP 유전자에서의 돌연변이 (6가지의 단일 또는 이중 미스센스(missense) 돌연변이가 있음); FAD 사례의 50 내지 70% (> 200 가족)에서의 프레세닐린 1 (PS 1) 유전자에서의 돌연변이 (80 가지를 초과하는 상이한 돌연변이가 현재까지 확인되어 있음); 및 소수의 FAD 사례에서의 프레세닐린 2 (PS 2) 유전자에서의 돌연변이 (8 가족에서 기술된 2가지 미스센스 돌연변이가 있음)에 기인한다. 이러한 3가지 유전자에서의 돌연변이들은 A-β의 과잉생산 및 산발성 형태의 AD와 유사한 병리학 및 증상의 조기 출현에 이르는, APP의 단백질분해에서의 변화를 유도하는 것으로 나타났다.

[0004] 아밀로이드 플라크의 신경 독성은 초기에는 가용성이고 (원시섬유 형태로 또한 칭해짐), 그 후 아밀로이드 플라크 내에 혼입된 불용성 형태로 전환되는 섬유 형태의 가용성 A-β 펩티드의 응집에 의해 형성되는 고분자량 원섬유에 있을 수 있다. 실제로, 가용성 A-β 펩티드 응집물이 고분자량 (>200 kDa)이지만 여전히 가용성인 섬유 형태 (즉, 펩티드/단백질의 베타-시트 3차 구조를 인식하는 콩고 레드(Congo Red) 또는 티오플라빈 S와 같은 작용제로 표지될 수 있음)로 점진적으로 응집되는 것으로 시험관 내에서 나타났다. 이러한 형태가 가용성이기 때문에, 이는 종종 원시섬유 형태로 칭해지는 반면, 더 큰 응집으로부터 원섬유가 유래되어, 가용성이 상실된다. 과도기적인 원시섬유 형태는 일반적으로 아밀로이드 섬유의 전구체로 간주되고, 알츠하이머병 및 단백질의 응집과 관련된 기타 질환에서의 세포성 기능이상 및 뉴런 손실을 초래할 수 있다.

[0005] 영향을 받지 않은 환자 내에 또한 널리 존재하는 A-β 펩티드의 미만성 침착물과 대조적으로 노인성 아밀로이드 플라크 (즉, 응집되었고, 성숙형 플라크로 또한 칭해짐)가 알츠하이머 환자의 인지 상태와 상관되는 것으로 나타났다. (문헌 [Duyckaerts et al., Neurobiol. Aging 1997; 18: 33-42] 및 [Jellinger et al., 1998; 54:77-95]). 이러한 노인성 아밀로이드 플라크를 특히 표적화함으로써, 알츠하이머병을 더욱 특이적 및 효과적으로 치료하는 것이 따라서 가능하다.

[0006] A-β 펩티드의 형성을 방지하기 위한 매우 많은 치료들, 예를 들어 APP의 단백질분해 프로세스의 억제제들이 시도되었다.

[0007] 플라크의 크기 및 밀도를 감소시키기 위해, 면역치료법 전략 예컨대 항-A-β 항체의 투여 (아밀로이드 침착물을 감소시키기 위해) 또는 A-β 펩티드의 항원으로의 면역화 (체액성 응답을 촉진하기 위해)가 테스트되었다.

[0008] 예를 들어, A-β 펩티드를 코딩하는 영역에서의 극지(Arctic) 돌연변이를 나타내는 원시섬유에 대해 지시된 항체를 투여하는 것으로 구성되는 알츠하이머병에 대한 치료 방법이 기술되었다 (US 7 179 463).

[0009] 항체의 예가 실제로 기술되지는 않았다. 또한, 펩티드들의 분자량의 함수로서의 펩티드들에 대한 항체들의 친화력의 비교가 수행되지 않았다. 또 다른 특허 (US 6 761 888 및 US 6 750 324)에서, 펩티드 A-β_{42}의 아미노산 서열을 따라 있는 다양한 에피토프를 인식하는 항체들이 언급되었다. 원시섬유에 대해 특이적인 항체에 관한 국제 출원 (WO 2007/108756)이 출원되었지만, 기술된 항체는 고분자량 A-β 펩티드 및 중분자량 올리고머 양쪽 모두를 인식한다. 추가로, 미만성 플라크에 대한 친화력과 비교하여 성숙형 플라크에 대한 항체의 친화력이 언급되어 있지 않다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0010] 알츠하이머병에 관한 현재의 지식 발달에도 불구하고, 2차 효과를 최소한도로 제한하는 이러한 병리학의 치료 및/또는 예방 조성물 및 방법이 여전히 요구된다. 본 출원에 기술된 바와 같은, 원시섬유 형태의 A-β 펩티드에 대해 특이적인 인간화 항체는 이러한 문제를 해결하는 것을 목적으로 한다. 노인성 아밀로이드 플라크의 인식을 허용하지만, 미만성 플라크의 인식은 허용하지 않아, 본 발명에 따른 항체는 다량으로 미만성 침착물에 부착될 또는 가용성 형태의 단량체성 또는 저분자량 A-β 펩티드에 부착될, 모든 형태의 A베타를 인식하는 항체보다 더욱 더 효과적으로 병리학적 플라크를 인식한다.

[0011] 또한, 원시섬유 형태의 A-β 펩티드만 인식되고, 알츠하이머병에 연관되지 않은 다른 단백질의 원시 섬유 형태는 인식되지 않는다는 사실은 질환에 대해 효과적인 항체의 농도를 감소시킬 수 있는 쓸모없는 결합을 방지한다.

[0012] 인간화된 뮤린(murine) 항체는 본 출원 전반에 걸쳐 항체 13C3으로 칭해질 것이다.

[0013] 본 발명에 따른 인간화 항체를 코딩하거나 구성할 수 있는 서열들이 표 2에서 제시된다.

과제의 해결 수단

[0014] 본 발명은 원시섬유 형태의 A-β 펩티드, 즉 고분자량 펩티드에 특이적으로 결합하는 인간화 항체에 관한 것이다.

[0015] 더욱 유리한 실시양태에서, 항체는 분자량이 200, 300, 400 또는 500 kDa을 초과하는 A-β 펩티드에 결합한다.

[0016] 한 실시양태에 따르면, 본 발명에 따른 항체는 노인성 플라크 내로 응집된 A-β 펩티드에 결합하고, A-β 펩티드의 미만성 침착물에는 결합하지 않는다.

[0017] 유리한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 원시섬유 형태의 A-β 펩티드에 특이적으로 결합하지만, 아밀로이드 구조의 다른 단백질 (예를 들어 IAPP (췌도 아밀로이드 폴리펩티드)에는 결합하지 않는다.

[0018] 본 발명은 이펙터 기능이 감소되어, 혈관성 부종 및 미세출혈의 발달과 같은 역효과를 제한하는 것을 가능하게 하는 인간화 항체에 또한 관련된다.

[0019] 유리한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 이펙터 기능을 더 이상 보유하지 않는다.

[0020] 보다 더 유리한 실시양태에서, 항체는 Fc 도메인에 절반-분자의 생산을 감소시키는 돌연변이가 진행된 면역글로불린 G 4이다.

[0021] 보다 더 유리한 실시양태에서, 항체는 Fc 도메인에 이펙터 활성을 감소시키는 돌연변이가 진행된 면역글로불린 G 4이다.

[0022] 본 발명은 서열 9, 11, 13, 15, 17 및 19의 서열들 중 하나와 동일한 서열을 갖는 뉴클레오티드 서열, 또는 이러한 서열들로부터 뉴클레오티드 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개만큼 각각 상이한 서열에 의해 코딩되는 하나 이상의 CDR을 포함하는 인간화 항체에 관한 것이다.

[0023] 또한 본 발명은 서열 10, 12, 14, 16, 18 및 20의 서열들 중 하나와 동일한 서열을 갖는 하나 이상의 CDR을 포함하는 인간화 항체에 관한 것이다.

[0024] 또 다른 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 항체가 이의 결합 특이성을 유지하는 한 서열 10, 12, 14, 16, 18, 20 및 32의 서열들 중 하나와 비교하여 서열이 아미노산 1개 내지 2개만큼 상이한 하나 이상의 CDR을 포함한다.

[0025] 유리한 실시양태에서, 항체는 서열 9, 11, 13, 15, 17 및 19의 뉴클레오티드 서열, 또는 이러한 서열들로부터 뉴클레오티드 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개만큼 각각 상이한 서열에 의해 코딩되는 CDR들을 포함한다.

[0026] 또 다른 유리한 실시양태에서, 항체는 서열 10, 12, 14, 16, 18 및 20의 서열의 CDR들을 포함한다.

[0027] 본 발명에 따른 항체는 서열 9, 11, 13, 31, 17 및 19의 뉴클레오티드 서열, 또는 이러한 서열들로부터 뉴클레오티드 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개만큼 각각 상이한 서열에 의해 코딩되는 CDR들을 또한 포함할 수 있다.

[0028] 유리한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열 10, 12, 14, 32, 18 및 20의 서열의 CDR들을 포함한다.

[0029] 본 발명의 한 목적은 서열 9, 11, 29, 31, 17 및 19의 뉴클레오티드 서열, 또는 이러한 서열들로부터 뉴클레오티드 1개, 2개, 3개, 4개 또는 5개만큼 각각 상이한 서열에 의해 코딩되는 CDR들을 포함하는 인간화 항체이다.

[0030] 또한 본 발명은 서열 10, 12, 30, 32, 18 및 20의 서열의 CDR들을 포함하는 인간화 항체에 관한 것이다.

[0031] 유리한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열 5의 서열 또는 서열 27의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩되는 항체 중쇄의 가변부 (VH)를 포함한다.

[0032] 유리한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열 6의 서열 또는 서열 28의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 항체 중쇄의 가변부 (VH)를 포함한다.

[0033] 유리한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열 7의 서열 또는 서열 23의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩되는 항체 경쇄의 가변부 (VL)를 포함한다.

[0034] 유리한 실시양태에서, 본 발명에 따른 항체는 서열 8의 서열 또는 서열 24의 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 항체 경쇄의 가변부 (VL)를 포함한다.

[0035] 보다 더 유리한 실시양태에서, 항체는 서열 5 및 서열 27의 뉴클레오티드 서열들 중 하나에 의해 코딩되는 가변부 (VH)를 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0036] 보다 더 유리한 실시양태에서, 항체는 서열 6 또는 서열 28의 폴리펩티드 서열의 가변부 (VH)를 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0037] 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 7 및 서열 23의 뉴클레오티드 서열들 중 하나에 의해 코딩되는 가변부 (VL)를 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0038] 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 8 또는 서열 24의 폴리펩티드 서열의 가변부 (VL)를 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0039] 유리한 실시양태에서, 항체는 서열 5 및 7의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함한다.

[0040] 유리한 실시양태에서, 항체는 서열 6 및 8의 폴리펩티드 서열들을 포함한다.

[0041] 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 5 및 23의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함한다.

[0042] 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 6 및 24의 폴리펩티드 서열들을 포함한다.

[0043] 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 27 및 23의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함한다.

[0044] 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 28 및 24의 폴리펩티드 서열들을 포함한다.

[0045] 또한 본 발명은 서열 1 및 서열 25의 뉴클레오티드 서열들 중 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩되는 중쇄를 포함하는 항체에 관한 것이다.

[0046] 또한 본 발명은 서열 2의 폴리펩티드 서열 또는 서열 26의 폴리펩티드 서열과 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 중쇄를 포함하는 항체에 관한 것이다.

[0047] 유리한 실시양태에서, 항체는 서열 3 및 서열 21의 뉴클레오티드 서열들 중 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열에 의해 코딩되는 경쇄를 포함한다.

[0048] 또 다른 실시양태에서, 항체는 서열 4 및 서열 22의 폴리펩티드 서열들 중 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0049] 본 발명의 한 목적은 서열 1 및 3의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함하는 항체이다.

[0050] 본 발명의 또 다른 목적은 항체의 서열이 서열 2 및 4의 폴리펩티드 서열들을 포함하는 항체이다.

[0051] 본 발명의 한 목적은 서열 1 및 21의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함하는 항체이다.

[0052] 본 발명의 또 다른 목적은 항체의 서열이 서열 2 및 22의 폴리펩티드 서열들을 포함하는 항체이다.

[0053] 본 발명의 한 목적은 서열 25 및 21의 뉴클레오티드 서열들에 의해 코딩되는 서열들을 포함하는 항체이다.

[0054] 본 발명의 또 다른 목적은 항체의 서열이 서열 26 및 22의 폴리펩티드 서열들을 포함하는 항체이다.

[0055] 본 발명의 또 다른 목적은 원시섬유 형태의 펩티드 Aβ에 대한 친화력이 이러한 펩티드의 다른 형태에 대한 항체의 친화력보다 100배 이상 더 큰 인간화된 항-펩티드 Aβ 항체이다.

[0056] 본 발명의 또 다른 목적은 아밀로이드 플라크의 감소를 유도하는 것을 특징으로 하는 항체이다.

[0057] 본 발명의 또 다른 목적은 신경변성 장애와 관련된 질환의 치료, 특히 알츠하이머병의 치료에서의 인간화된 항-펩티드 Aβ 항체의 용도이다.

[0058] 본 발명의 또 다른 목적은 인간화된 항-펩티드 Aβ 항체 및 부형제를 포함하는 제약 조성물이다.

[0059] 본 발명의 또 다른 목적은 인간화된 항-펩티드-Aβ 항체를 환자에게 투여하는 것을 포함하는 알츠하이머병의 치료 방법이다.

[0060] 본 발명의 또 다른 목적은 인간화된 항-펩티드-Aβ 항체를 생산하는 세포 또는 세포들, 뿐만 아니라 이러한 세포를 배양하는 것을 포함하는 이러한 항체의 생산 방법이다. 상기 세포들은 유리하게는 하나의 세포주로부터 유래된다.

[0061] 본 발명의 한 목적은 인간화된 항-펩티드-Aβ 항체를 포함하는 의약품이다.

[0062] 본 발명의 한 목적은 서열 2, 4, 6, 8, 22, 24, 26 또는 28의 서열들 중 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드이다.

[0063] 본 발명의 또 다른 목적은 서열 1, 3, 5, 7, 21, 23, 25 또는 27의 서열들 중 하나와 적어도 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열의 폴리뉴클레오티드이다.

[0064] 본 발명의 또 다른 목적은 서열 1, 3, 5, 7, 21, 23, 25 또는 27의 서열들 중 하나를 갖는 핵산을 포함하는 재조합 벡터, 뿐만 아니라 이러한 벡터를 포함하는 숙주 세포이다.

[0065] **정의**

[0066] 특이적 결합은 하나의 수용체 대 다른 수용체의 결합 강도 사이, 본원에서는 원시섬유 형태의 A-β 펩티드에 대한 결합과 이러한 펩티드의 다른 형태에 대한 결합 사이의 적어도 약 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 또는 100배 만큼의 차이로 이해된다.

[0067] "에피토프"는 항체가 결합하는 항원 부위를 의미한다. 항원이 중합체, 예컨대 단백질 또는 다당류이면, 인접한 잔기들 또는 인접하지 않은 잔기들에 의해 에피토프가 형성될 수 있다. 본원에서, 에피토프는 형상적이고, 즉 원시섬유 A-β 펩티드의 3차원 구조에 관련된다.

[0068] "원시섬유 형태"는 시험관 내에서 가용성이고, 200 kDa, 300 kDa, 400 kDa 또는 500 kDa을 초과하는 분자량의 실체로서 단리될 수 있고 티오플라빈-S 또는 콩고 레드와 같은 작용제들을 고정할 수 있는, A-β 펩티드의 올리고머 형태를 의미한다.

[0069] "노인성 플라크"는 이영양성 신경돌기 및 아교 세포의 반응으로 둘러싸인 아밀로이드 코어(core) (티오플라빈 S 또는 콩고 레드를 고정함)로 구성된 플라크를 의미한다. 노인성 플라크는, 훨씬 더 수가 많지만 알츠하이머병과 관련되지 않는 미만성 아밀로이드 침착물 (티오플라빈 S 또는 콩고 레드를 고정시키지 않음)와 대조적으로, 알츠하이머병 환자에서 특히 발견된다.

[0070] 면역글로불린으로 또한 칭해지는 항체는 디술피드 다리로 연결된, 2개의 동일한 중쇄 ("CH") 및 2개의 동일한 경쇄 ("CL")로 구성된다. 각각의 사슬은 불변 영역 및 가변 영역을 함유한다. 각각의 가변 영역은 항원의 에피토프에 결합하는 것을 주로 담당하는, "상보성 결정 영역" ("CDR") 또는 "초가변 영역"으로 칭해지는 3개의 절편을 포함한다.

[0071] 용어 "VH"는 단편 Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab' 또는 F(ab)'의 중쇄가 포함되는, 항체의 면역글로불린의 중쇄의 가변 영역을 지칭한다.

[0072] 용어 "VL"은 단편 Fv, scFv, dsFv, Fab, Fab' 또는 F(ab)'의 경쇄가 포함되는, 항체의 면역글로불린의 경쇄의 가변 영역을 지칭한다.

[0073] "항체"는 항체의 임의의 기능성 단편을 또한 의미한다: Fab (항원 결합 단편), Fv, scFv (단일쇄 Fv), Fc (결정화될 수 있는 단편). 바람직하게는, 이러한 기능성 단편들은 Fv, scFv, Fab, F(ab')2, Fab', scFv-Fc, 디아바디(diabody), 다중특이적 항체 (특히 이중특이적), 하나 이상의 CDR의 서열을 함유하는 합성 폴리펩티드 유형의 단편일 것이고, 이들은 자신이 유래된 인간화 항체와 동일한 고정 특이성을 일반적으로 보유한다. 본 발명에 따르면, 본 발명의 항체의 단편은 효소, 예컨대 펩신 또는 파파인에 의한 소화와 같은 방법에 의해 및/또는 화학적 환원에 의한 디술피드 다리의 분해에 의해 인간화 항체로부터 수득될 수 있다.

[0074] 나노바디(nanobody) 또한 이러한 정의에 해당된다.

[0075] "CDR 또는 CDR들"은 카밧(Kabat) 등에 의해 정의된 바와 같은 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄의 초가변 영역을 지칭한다 (문헌 [Kabat et al., Sequences of proteins of immunological interest, 5th Ed., U.S. Department of Health and Human Services, NIH, 1991], 및 개정판). 3개의 중쇄 CDR 및 3개의 경쇄 CDR이 있다. 용어 CDR 또는 CDR들은 자신이 인식하는 항원 또는 에피토프에 대한 항체의 친화성 결합을 담당하는 아미노산 잔기들의 대부분을 함유하는 이러한 영역들 중 하나 이상, 또는 심지어 전체를 가리키도록 적절하게 본원에서 사용된다. 가변 도메인의 가장 보존된 영역은 "프레임워크 영역"에 대한 FR 영역 또는 서열로 칭해진다.

[0076] 본 발명은 인간화 항체에 관한 것이다.

[0077] "인간화 항체"는 인간 면역글로불린 서열을 주로 함유하는 항체를 의미한다. 이러한 용어는 인간 서열 또는 인

간 서열에서 발견되는 잔기를 혼입시킴으로서 변형된 비-인간 면역글로불린을 일반적으로 지칭한다.

[0078] 일반적으로, 인간화 항체는 1개 또는 전형적으로는 2개의 가변 도메인을 포함하고, 이때 CDR 영역들 모두 또는 일부는 비-인간 어버이 서열로부터 유래된 부분에 상응하고 FR 영역들 모두 또는 일부는 인간 면역글로불린 서열로부터 유래된다. 인간화 항체는 면역글로불린의 불변 영역 (Fc)의 적어도 일부분, 특히 선택된 기준 인간 면역글로불린의 것을 포함할 수 있다.

[0079] 따라서 본 발명가들은 인간에서 최소로 면역원성인 항체를 수득하기 위해 노력하였다. 따라서, 고분자량의 A-β 펩티드에 대한 항체의 결합 특이성을 실질적으로 감소시키지 않으면서, 하나 이상의 CDR의 아미노산 1개 또는 2개가 인간 숙주에 대해 덜 면역원성인 아미노산으로 변형되는 것이 가능하다. 또한, 프레임워크 영역의 잔기들이 인간의 것일 필요가 없고, 이들이 변형되지 않는 것이 가능한데, 이는 이들이 항체의 면역원성 잠재력에 기여하지 않기 때문이다.

[0080] 여러 인간화 방법이 비-인간 어버이 항체를 인간에서 덜 면역원성인 항체로 변형시키기 위해 당업자에게 공지되어 있다. 인간 항체와의 완전한 서열 동일성이 필수적이지 않다. 실제로, 완전한 서열 동일성이 반드시 감소된 면역원성의 예측적인 지표이지 않고, 제한된 개수의 잔기의 변형이 인간에서 매우 약독화된 면역원성 잠재력을 나타내는 인간화 항체에 이를 수 있다 (문헌 [Molecular Immunology (2007) 44, 1986-1998]).

[0081] 일부 방법은, 예를 들어, CDR 포함 (그래프팅(grafting)) (EPO 0 239 400; WO 91/09967; 및 미국 특허 번호 5,530,101 및 5,585,089), 재포장(resurfacing) (EPO 0 592 106; EPO 0 519 596; 문헌 [Padlan, 1991, Molec Imm 28(4/5):489-498]; [Studnicka et al., 1994, Prot Eng 7(6):805-814]; 및 [Roguska et al., 1994, PNAS 91:969-973]) 또는 사슬 혼합 (미국 특허 번호 5,565,332)이다.

[0082] 특히 본 발명은 국제 특허 출원 WO 2009/032661에 설명된 기술에 따라 가변부가 변형된 인간화 항체에 관한 것이다.

[0083] 이러한 기술은 항체의 3차원 모델을 기초로 하는 분자 동역학 시뮬레이션을 특히 사용하고, 상기 모델은 상동성에 의해 구축된다.

[0084] 또한 본 발명은 이펙터 기능이 감소된 임의 형태의 항체, 예컨대 면역 시스템의 수용체에 대한 친화력을 감소시키는 Fc 도메인의 돌연변이가 있는 면역글로불린, 또는 나노바디에 관한 것이다.

[0085] "이펙터 기능"은 면역 응답을 유도하는 수용체 또는 단백질에 대한 항체의 Fc 도메인의 임의의 고정을 의미한다. 이러한 이펙터 기능을 감소시키는 것은 미세출혈의 유도와 같은 역효과를 감소시키는 것을 가능하게 한다 (문헌 [Racke et al. J Neurosci 2005, 25:629]).

[0086] 당업자에게 공지된 임의의 기술에 의해 친화력이 측정될 수 있다. 이는 문헌 [Ratkovsk DA and Reedy TJ, Biometrics, 1986, 42, 575-82]에 기술된 알고리즘을 기초로 개발된 바이오스탯 스피드(Biostat Speed) 기술에 의해 유리하게 측정된다.

[0087] 본 발명에 따른 항체의 중쇄 및/또는 경쇄의 발현을 허용하기 위해, 상기 사슬들을 코딩하는 폴리뉴클레오티드들이 발현 벡터에 삽입된다. 이러한 발현 벡터는 플라스미드, YAC, 코스미드, 레트로바이러스, EBV로부터 유래된 에피솜, 및 당업자가 상기 사슬들의 발현에 적절한 것으로 판단할 수 있는 모든 벡터일 수 있다.

[0088] 이러한 벡터는 유리하게는 하나의 세포주로부터 유래된 세포들을 형질전환시키는데 사용될 수 있다. 보다 더 유리하게는 상기 세포주가 포유동물로부터 유래된다.

[0089] 이는 유리하게는 CHO 세포주 또는 이러한 세포주로부터 유래된 세포주, 또는 HEK293 세포주 또는 이러한 세포주로부터 유래된 세포주이다.

[0090] 세포의 형질전환은 폴리뉴클레오티드를 숙주 세포 내로 도입하기 위한 당업자에게 공지된 임의의 방법에 의해 수행될 수 있다. 상기 방법은 덱스트란에 의한 형질전환, 인산칼슘에 의한 침전, 폴리브렌에 의한 형질감염, 원형질체 융합, 전기천공, 리포솜 내의 폴리뉴클레오티드의 캡슐화, 바이오리스틱(biolistic) 주입, 및 핵 내로의 DNA의 직접적인 미세주입일 수 있다.

[0091] 본 발명에 따른 항체는 국소, 경구, 비경구, 비강내, 정맥내, 근육내, 피하, 안내 또는 기타 경로에 의한 투여를 위해 제약 조성물 내에 포함될 수 있다. 바람직하게는, 제약 조성물은 주사 제형을 위한 제약상 허용되는 비히클을 함유한다. 특히 이는 무균성의 등장성 식염수 (인산일나트륨, 인산이나트륨, 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 염화마그네슘 등, 또는 상기 염들의 혼합물), 또는 멸균수 또는 생리학적 혈청을 적합하게 첨가하는

것에 의해 주사 용액이 구성되도록 하는 건조 조성물, 특히 동결건조물일 수 있다.

[0092] 예를 들어, 제약 조성물은 (1) 1 mg/mℓ 내지 25 mg/mℓ의 인간 혈청 알부민을 임의적으로 함유하는, 둘베코(Dulbecco) 포스페이트 완충제 (pH ~ 7.4), (2) 0.9% w/v의 염화나트륨 (NaCl), 및 (3) 5% (w/v)의 덱스트로스를 포함한다. 이는 항산화제 예컨대 트립타민 및 안정화제 예컨대 트윈(Tween) 20을 또한 포함할 수 있다.

[0093] 당해 병리학은 아밀로이드 플라크의 침착과 관련된 임의의 질환일 수 있다. 특히, 당해 병리학은 알츠하이머병이다.

[0094] 용량은 원하는 효과, 치료 기간 및 사용된 투여 경로에 좌우된다; 이는 일반적으로 성인에 대해 5 mg 내지 1000 mg의 항체/일이다. 일반적으로, 의사는 질환의 단계, 환자의 연령 및 체중, 또는 고려되어야 하는 임의의 기타 환자-관련 요인과 관련하여 적합한 투여량을 결정할 것이다.

[0095] 하기에 제공된 실시예에 의해 본 발명이 설명되지만, 이에 의해 한정되지는 않는다.

도면의 간단한 설명

[0096] **도면의 간단한 설명:**

도 1A: 항-Aβ 항체 13C3-VH1VL1의 경쇄 LC1의 발현을 허용하는 플라스미드 pXL4973의 지도.

도 1B: 항-Aβ 항체 13C3-VH1VL1의 중쇄 HC1의 발현을 허용하는 플라스미드 pXL4979의 지도.

도 2A 및 2B: 수퍼덱스(Superdex) 75 상에서의 젤 여과에 의한 원시섬유 및 저분자량 올리고머의 분리 (각각 t=0 및 t=16h).

도 3: 원시섬유의 분자량의 결정.

도 4A, 4B 및 4C: 원시섬유에 대한 인간화 항체 (각각 항체 LP09027 (4A), LP09026 (4B) 및 LP09028 (4C))의 친화력의 결정 (3회의 실험으로부터의 평균값 ± sem).

도 5: Aβ의 원섬유에 대한 인간화 항체 LP09027의 특이성.

도 6A 및 6B: 각각 마우스의 전두 피질 (6A) 및 해마 (6B)의 성숙형 노인성 플라크에 대한 인간화 항체 (LP09027)의 특이성. 화살표는 노인성 플라크를 가리킨다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0097] **실시예:**

[0098] **실시예 1: 인간화 항체의 수득**

[0099] 뮤린 항체 13C3이 인간화되었다.

[0100] 본 실시예는 프리스타일(FreeStyle) 293-F로 명시된 포유류 세포주 HEK293에서의 일시적인 발현에 의한 생산에 의한 인간화된 항-펩티드 Aβ 항체 VH1VL1 (LP09027)의 서열 및 생산을 기술한다.

[0101] 인간화된 가변 사슬 VL1 및 VH1을 코딩하는 cDNA가 각각 인간 불변 영역 C카파 및 IgG4를 코딩하는 cDNA와 융합되었다. 불변 영역 IgG4의 서열은 절반-분자의 생산 (문헌 [Angla et al., 1993, Mol. Immunol., 30: 105-108]) 및 이펙터 기능 (WO 97/09351)에서의 유의한 감소를 위해 카밧 명명법에서의 S241P 및 L248E 치환이 있는 변이체의 것이었다.

[0102] CH1 (서열 1) 및 CL1 (서열 3)을 코딩하는 핵산 서열들이 독립적으로 발현 벡터 내로 클로닝되어 각각 플라스미드 pXL4973 (도 1A) 및 pXL4979 (도 1B)가 생성되었다.

[0103] 인비트로젠(Invitrogen)이 기술한 프로토콜 (카탈로그 레퍼런스(reference) K9000-01)에 따른 플라스미드 pXL4973 및 pXL4979의 공동-형질감염 후 프리스타일 293-F (인비트로젠) 세포주에서의 일시적인 발현에 의한 생산에 의해 항체의 뱃치(batch)가 생산되었다. 그 후, 이러한 뱃치 (LP09027)를 공급자의 권고사항에 따라 맵셀렉트(MabSelect) 젤 (아머샴(Amersham))의 칼럼 상에서의 친화성 크로마토그래피에 의해 정제하고, PBS 완충제 (둘베코(Dulbecco) 레퍼런스 14190-094) 내에 제형하고, 무균 여과하였다 (0.2 ㎛). 1 ℓ의 배양물에서 출발하여, 33 mg의 항체가 변성 조건에서의 SDS-PAGE 및 입체 배제 크로마토그래피에 의해 97%의 순도로 수득되었다. 변성 조건에서의 SDS-PAGE 및 LC/MS에 의해 수득된 질량은 1차 아미노산 서열 및 Fc 도메인 상의 N-글리칸의 존

재, 즉 GOF 형태의 N-글리칸을 고려하여 LC1에 대해서는 23969 Da, HC1에 대해서는 49650 Da의 질량과 일치하였다. 비-변성 조건에서의 SDS-PAGE 및 크기 배제 크로마토그래피에 의해 수득된 질량은 150 kDa의 항체의 이종사량체성 구조와 일치하였다 (도 4A).

[0104] 동일한 방법에 따라, 인간화 항체 LP09026 및 LP09028의 뱃치가 LP09026 (도 4B)에 대해서는 서열 25 및 서열 21, LP09028 (도 4C)에 대해서는 서열 1 및 서열 21의 뉴클레오티드 서열에서 출발하여 생산되었다.

[0105] **실시예 2: 펩티드 Aβ (1-42)로부터의 원시섬유의 제조**

[0106] 문헌 [Johansson et al., FEBS, 2006, 2618-2630]에 기술된 방법에 따라 합성 펩티드 Aβ (1-42)로부터 원시섬유를 제조하였다. 동결건조된 펩티드 (아나스펙(Anaspec) 레퍼런스 24224)를 10 mM NaOH에 100 μM의 농도로 용해시킨 후, 1분 동안 교반하고, 얼음 상에서 10분 동안 인큐베이션하였다. 그 후, 펩티드의 용액을 100 mM 인산나트륨, 200 mM NaCl pH=7.4의 완충제에서 50 μM의 농도로 희석하고 나서, 1분 동안 교반하였다. 원시섬유의 형성을 위해 제제를 하룻밤 동안 37℃에서 인큐베이션한 후, 16℃에서 15분 동안 17900g에서 원심분리하여 불용성 응집물을 제거하였다. 저분자량의 올리고머성 형태의 Aβ로부터 원시섬유를 분리하기 위해, 상등액을 50 mM 아세트산암모늄 완충제 pH=8.5에서 평형화된 수퍼덱스 75 젤 여과 칼럼 상에 로딩하였다. 원시섬유 및 저분자량 올리고머에 상응하는 분획들을 수집하고, 4℃에서 보관하였다. 도 2는 원시섬유의 전형적인 분리 프로파일을 나타낸다. 분자량 마커로서 바이오래드(Biorad) 보정 키트 (레퍼런스 150-1901)를 사용하여 수퍼덱스 200 젤 여과에 의해 원시섬유의 분자량을 결정하였다. 도 3은 원시섬유의 분자량이 200 kDa을 초과한다는 것을 나타낸다.

[0107] **실시예 3: 원시섬유에 대한 인간화 항체의 특이성 및 친화력**

[0108] PBS (깁코(Gibco), 레퍼런스 70011) 내의 1 ㎍/㎖ 농도의 원시섬유 및 저분자량 올리고머 50 ㎕를 ELISA 플레이트 (눈크(Nunc), 레퍼런스 442404)의 웰에 침착시키고, 하룻밤 동안 4℃에서 인큐베이션하였다. 과량의 항원을 제거한 후, 200 ㎕의 완충제 PBS + 5% 분유 (중량/부피)를 각각의 웰에 침착시켜 비-특이적 흡착을 제거하고, 2시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 그 후, 웰을 300 ㎕의 완충제 PBS 트윈 0.02%로 4회 세정하였다. 50 ㎕의 1차 항체 용액 (올리고머에 대해서는 100 ㎍/㎖의 농도에서, 원시섬유에 대해서는 25 ㎍/㎖에서 출발하여 PBS 트윈에서 3중으로 3배 희석)을 각각의 웰에 첨가하고, 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 웰을 300 ㎕의 완충제 PBS 트윈으로 4회 세정하였다. 완충제 PBS 트윈에서 1/10000 희석된, 과산화효소에 커플링된 2차 항-Fc 인간 항체 (과산화효소가 접합된 염소 항-인간 IgG (Fc), 피어스(Pierce), 레퍼런스 31413)를 각각의 웰에 첨가하고, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 300 ㎕의 PBS 트윈으로 4회 세정한 후, 100 ㎕의 TMB (인터킴(Interchim), 레퍼런스 UP664782)를 각각의 웰에 첨가하고, 약 10분 동안 인큐베이션하고 나서, 1M HCl (인터킴, 레퍼런스 UPS29590)의 용액으로 반응을 정지시키고, 플레이트를 450 nm의 파장에서 측정되는 OD로 판독하였다. 바이오스탯 스피드(BioStat Speed)로 EC50 값을 결정하였다. 수득된 결과가 표 1 및 도 4에서 제시되고, 저분자량 올리고머와 비교하여 원시섬유에 대한 항체의 매우 높은 특이성을 나타낸다 (184배).

[0109] <표 1>

EC50 (μg/ml)	LMW	PF	LMW/PF
LP09026	41.4 ± 40.1	0.0587 ± 0.004	705.3
LP09027	14.7 ± 2.7	0.0798 ± 0.007	184.2
LP09028	21.8 ± 5.3	0.0892 ± 0.007	244.4

[0110]

[0111] 동결건조된 펩티드 Aβ1-42 (아나스펙 레퍼런스 24224)를 공급자의 권고사항에 따라 용해시켰다: 40 ㎕의 1% NH_4OH를 500 ㎍의 Aβ1-42에 첨가하였다. 완전한 용해 후, 460 ㎕의 PBS를 첨가하여 1 ㎎/㎖의 농도를 수득하였다. 10 ㎕의 분취량을 제조하고, -80℃에서 보관하였다.

[0112] 카르보네이트 완충제 ($NaHCO_3$ 0.025 M (아크로스 오르가닉스(Acros Organics), 레퍼런스 217120010), Na_2CO_3 0.025 M (아크로스 오르가닉스, 레퍼런스 207810010), pH 9.7 내의 1 ㎍/㎖ 농도의 펩티드 Aβ1-42의 용액 50 ㎕를 ELISA 플레이트의 웰에 침착시키고, 실온에서 하룻밤 동안 인큐베이션하였다. 앞서와 같이, 웰을 완충제 PBS 트윈으로 세정하고, 완충제 PBS + 5% 분유 (중량/부피)의 존재 하에 인큐베이션하고, 완충제 PBS 트윈으로

세정하였다. 0.02 ㎍/㎖ 농도의 인간화 항체를 특정 농도 범위 (1 ㎍/㎖에서 출발)의 펩티드 Aβ1-28 (바켐(Bachem), 레퍼런스 H7865), Aβ1-16 (아나스펙, 레퍼런스 24225), Aβ25-35 (아나스펙, 레퍼런스 24227), 저분자량 올리고머 또는 원시섬유 (상기 기술된 바와 같이 제조됨)와 함께 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 그 후, 항체/항원 혼합물이 각각의 웰에서 침착되었고, 미량역가 플레이트를 1시간 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 복합체를 형성하지 않은 유리 항체가 앞서 기술된 바와 동일한 ELISA 프로토콜에 따라 결정되었다. 이러한 경쟁 실험은 저분자량 올리고머보다 친화력이 훨씬 더 높은 원시섬유만 인간화 항체가 펩티드 Aβ1-42와 상호작용하는 것을 방지함으로써 인간화 항체를 중화할 수 있음을 나타냈다; 펩티드들은 항체를 중화할 수 없었다.

[0113] **실시예 4: Aβ1-42의 원섬유에 대한 인간화 항체 LP09027의 특이성**

[0114] 펩티드 Aβ1-42 (아나스펙, 20276)를 200 ㎕의 10 mM NaOH에 5 mg/㎖의 농도로 용해시켰다. 펩티드 IAPP (아나스펙, 60804)를 200 ㎕의 50% DMSO에서 5 mg/㎖의 농도로 희석하였다. 각각의 제제 100 ㎕를 400 ㎕의 PBS 1.25×에서 희석하였다. 펩티드의 최종 농도는 500 ㎕ 내의 1 mg/㎖였다. 샘플을 72시간 동안 37℃에서 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 샘플을 4℃에서 30분 동안 17900g에서 원심분리하였다. 상등액을 제거하고, 펠렛을 PBS 1×로 3회 세정하였다. 마지막 세정 후, 원섬유의 펠렛을 150 ㎕의 PBS에 용해시켰다. 아밀로이드 유형의 원섬유의존재를 점검하기 위해, 티오플라빈 T 형광 테스트 (아나스펙, 88306)를 수행하였다. 20 ㎕의 티오플라빈 T (20 μM 최종), 10 ㎕의 샘플 및 70 ㎕의 PBS 1× (최종 부피 100 ㎕)를 흑색 플레이트 (코닝(Corning), 3792)의 웰에서 혼합하였다. 티오플라빈 T는 450 nm에서 여기되고, 아밀로이드 유형의 구조의 존재하에 482 nm에서 형광을 방출한다. 1 ㎍/㎖의 Aβ1-42 및 0.5 ㎍/㎖의 IAPP의 원섬유 50 ㎕가 미량역가 플레이트의 각각의 웰에 침착되었다. 10 ㎍/㎖에서 출발하는 인간화 항체의 일련의 희석물을 사용하여 ELISA 프로토콜을 적용하였다. 도 5는 인간화 항체 LP09027이 Aβ1-42의 원섬유를 특이적으로 인식하지만, IAPP의 원섬유에 대해서는 그렇지 않다는 것을 나타낸다.

[0115] **실시예 5: 미만성 플라크에 대해서는 특이적이지 않은 인간화 항체 LP09027의 성숙형 노인성 플라크에 대한 특이성**

[0116] 디곡시제닌 (디곡시제닌-3-O-메틸카르보닐-ε-아미노카프로산-N-히드록시숙신이미드 에스테르: 로슈(Roche) 11333054001; 11418165001)과 접합된 인간화 항체 (LP09027)가 마우스 APP PS1 (문헌 [Schmitz C. et al., Am. J. Pathol, 2004, 164, 1495-1502]에 기술된 알츠하이머 모델)로부터의 뇌 절편, 뿐만 아니라 알츠하이머병 환자로부터 유래된 인간 뇌 절편 (대뇌 피질) 상에서의 면역조직화학 (벤타나 로봇(Ventana Robot))에서 사용되었다. 미리 샘플이 포르말린에 고정되고, 파라핀에 매립되었다.

[0117] 마우스로부터 수득된 결과 (도 6A 및 6B)는 인간화 항체가 조밀한 성숙형 노인성 플라크를 배타적으로 인식하지만, 펩티드 Aβ의 미만성 침착물에 대해서는 그렇지 않다는 것을 명확하게 나타낸다.

[0118] 이러한 데이터는 원시섬유 A베타 형태에 대해 특이적이고, 따라서 가용성의 단량체 또는 올리고머 형태의 이러한 펩티드를 인식하지 않는 이러한 항체의 성질과 상관된다.

[0119] <표 2>

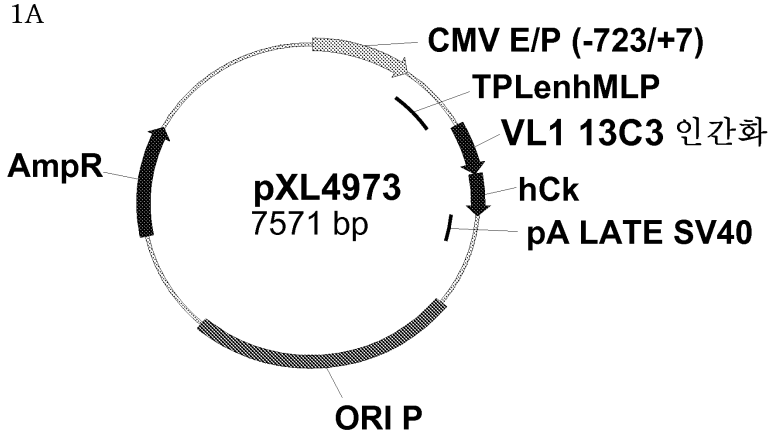
	뉴클레오티드 서열	단백질 서열
항체 1 VH1VL1		
$VH_1 + CH_1$	서열 1	서열 2
$VL_1 + CL_1$	서열 3	서열 4
VH_1	서열 5	서열 6
VL_1	서열 7	서열 8
CDR VH_1	서열 9, 11, 13	서열 10, 12, 14
CDR VL_1	서열 15, 17, 19	서열 16, 18, 20
항체 2 VH1 VL2		
$VH_1 + CH_1$	서열 1	서열 2
$VL_2 + CL_2$	서열 21	서열 22
VH_1	서열 5	서열 6
VL_2	서열 23	서열 24
CDR VH_1	서열 9, 11, 13	서열 10, 12, 14
CDR VL_2	서열 31, 17, 19	서열 32, 18, 20
항체 3 VH2 VL2		
$VH_2 + CH_2$	서열 25	서열 26
$VL_2 + CL_2$	서열 21	서열 22
VH_2	서열 27	서열 28
VL_2	서열 23	서열 24
CDR VH_2	서열 9, 11, 29	서열 10, 12, 30
CDR VL_2	서열 31, 17, 19	서열 32, 18, 20

[0120]

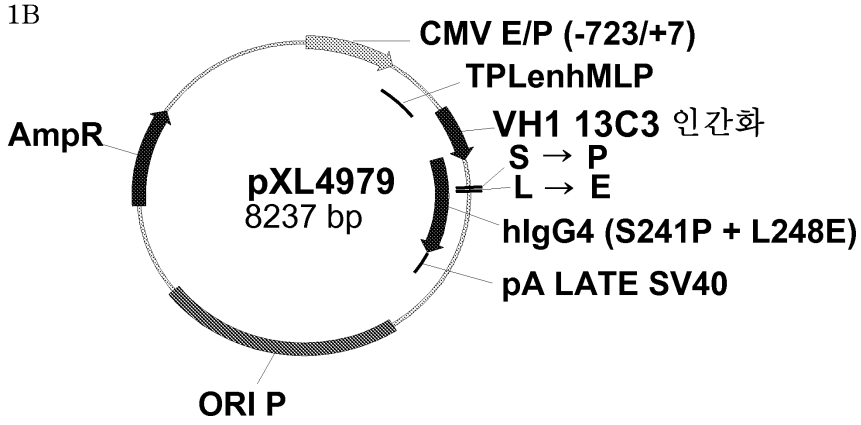
도면

도면1

도 1A

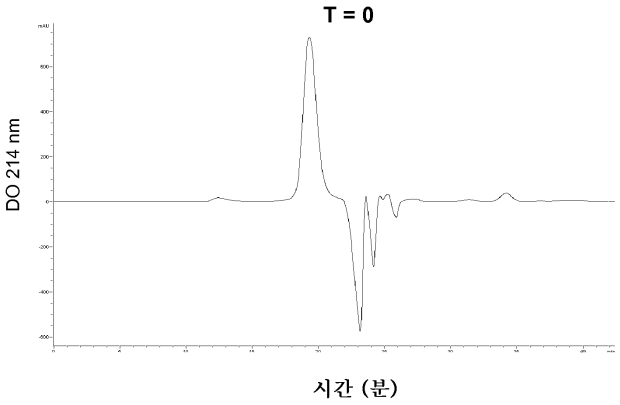


도 1B

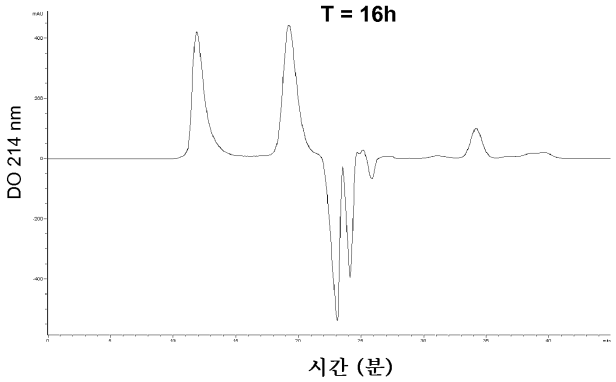


도면2

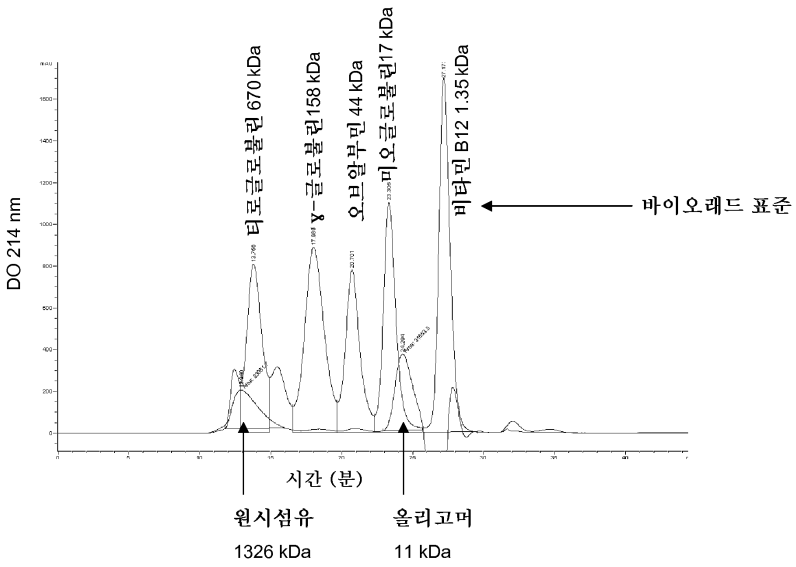
도 2A



도 2B

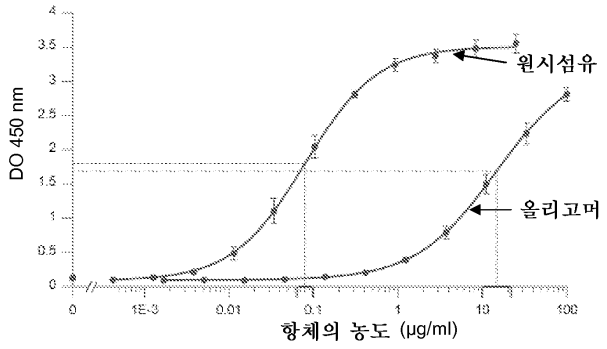


도면3

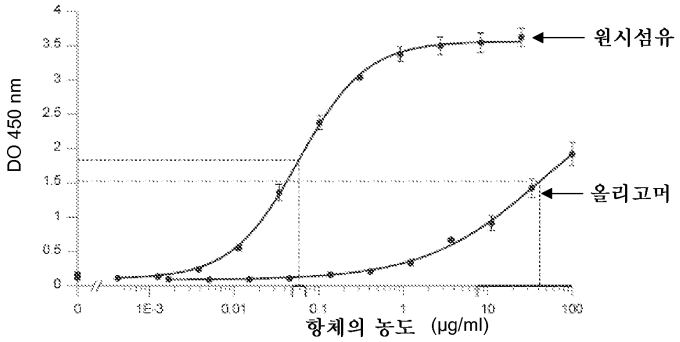


도면4

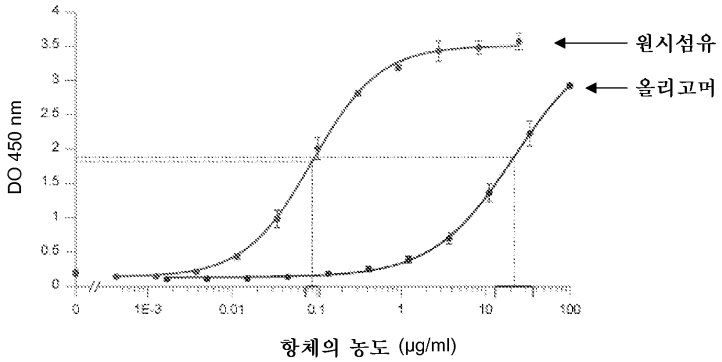
도 4A



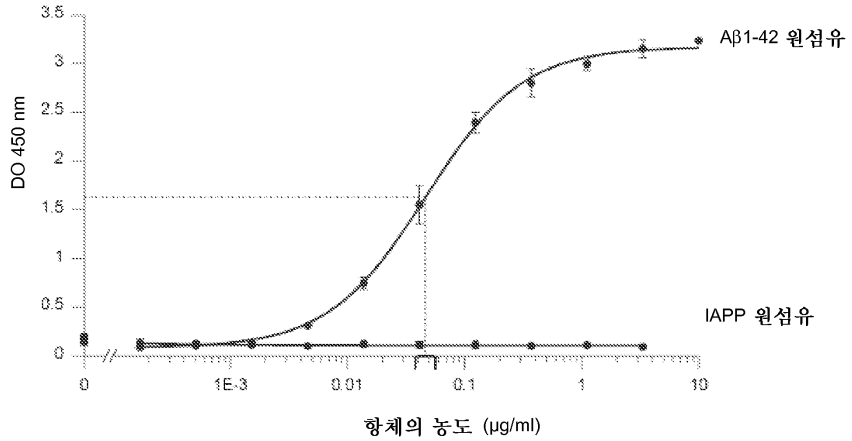
도 4B



도 4C

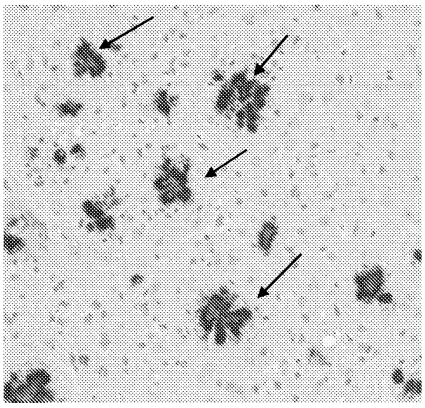


도면5

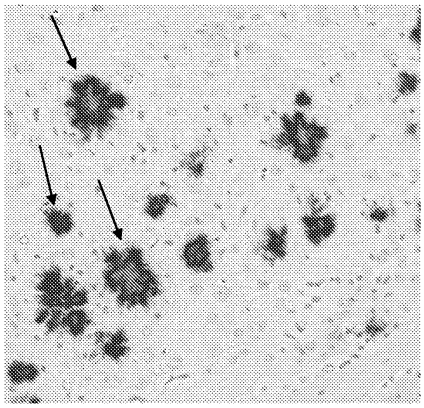


도면6

도 6A



도 6B



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> SANOFI-AVENTIS

<120> Anticorps humanis? sp?ifiques de la forme protofibrillaire du peptide b?a-amylo?e

<130> FR2009-054

<160> 32

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1326

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> S?uence humanis?

<220><221> CDS

<222> (1)..(1326)

<400> 1

gag gtc cag ctg cag cag tct ggg cct gag gtg gtg aag cct ggg gtc 48
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Val

1 5 10 15

tca gtg aag att tcc tgc aag ggt tcc ggc tac aca ttc act gat tat 96
Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

gct atg cac tgg gtg aag cag agt cct ggc aag agt ctg gag tgg att 144
Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

gga gtt att agt act aag tat ggt aag aca aac tac aac ccc agc ttt 192
Gly Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe

50 55 60

cag ggc cag gcc aca atg act gtt gac aaa tcc tcc agc aca gcc tat 240
Gln Gly Gln Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

atg gag ctt gcc agc ttg aag gcc tcc gat tct gcc atc tat tac tgt 288
Met Glu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ser Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

```
                85                  90                  95
gca aga ggg gac gat ggt tat tcc tgg ggt caa gga acc tca gtc acc      336
Ala Arg Gly Asp Asp Gly Tyr Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
            100                 105                 110
gtc tcc agc gct tct acc aag ggc cct tcc gtg ttc cct ctg gcc cct      384
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro

        115                 120                 125
tgc tcc cgg tcc acc tcc gag tcc acc gcc gct ctg ggc tgc ctg gtg      432
Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
    130                 135                 140
aag gac tac ttc cct gag cct gtg acc gtg tcc tgg aac tct ggc gcc      480
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145                 150                 155                 160

ctg acc tcc ggc gtg cac acc ttc cct gcc gtg ctg cag tcc tcc ggc      528
Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly
                165                 170                 175
ctg tac tcc ctg tcc tcc gtg gtg acc gtg cct tcc tcc tcc ctg ggc      576
Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly
            180                 185                 190
acc aag acc tac acc tgt aac gtg gac cac aag cct tcc aac acc aag      624

Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys
        195                 200                 205
gtg gac aag cgg gtg gag tcc aag tac ggc cct cct tgc cct ccc tgc      672
Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys
    210                 215                 220
cct gcc cct gag ttc gag ggc gga cct agc gtg ttc ctg ttc cct cct      720
Pro Ala Pro Glu Phe Glu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro

225                 230                 235                 240
aag cct aag gac acc ctg atg atc tcc cgg acc cct gag gtg acc tgt      768
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
                245                 250                 255
```

gtg gtg gtg gac gtg tcc cag gag gac cct gag gtc cag ttc aac tgg 816
Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp
260 265 270

tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag acc aag cct cgg gag 864
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
275 280 285
gag cag ttc aat tcc acc tac cgg gtg gtg tct gtg ctg acc gtg ctg 912
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
290 295 300
cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gaa tac aag tgt aag gtc tcc aac 960
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
305 310 315 320
aag ggc ctg ccc tcc tcc atc gag aaa acc atc tcc aag gcc aag ggc 1008
Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
325 330 335
cag cct agg gag cct cag gtg tac acc ctg cct cct agc cag gaa gag 1056
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu
340 345 350
atg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg aag ggc ttc tac 1104
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
355 360 365
cct tcc gac atc gcc gtg gag tgg gag tcc aac ggc cag cct gag aac 1152
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
370 375 380

aac tac aag acc acc cct cct gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 1200
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
385 390 395 400
ctg tac tcc agg ctg acc gtg gac aag tcc cgg tgg cag gag ggc aac 1248
Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn
405 410 415

gtc ttt tcc tgc tcc gtg atg cac gag gcc ctg cac aac cac tac acc 1296

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

cag aag tcc ctg tcc ctg tct ctg ggc tga 1326

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly
435 440

<210> 2

<211> 441

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic Construct

<400> 2

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ser Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

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

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435 440

<210> 3

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> S?uence humanis?

<220><221> CDS

<222> (1)..(660)

<400> 3

gag atc gtg atg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga 48

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

1 5 10 15

gat aga gcc tcc atc tct tgc aga tct ggt cag agc ctt gtg cac agt 96

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

20 25 30

aat gga aac acc tat ctg cat tgg tac ctg cag aag cca ggc cag tct 144

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

35 40 45

cca aag ctc ctg atc tat aca gtt tcc aac cga ttt tct ggg gtc ccg 192

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

50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg tca gat ttc aca ctc acc atc 240

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

65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat ctg gga gtt tat ttc tgc tct caa aat 288

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

85 90 95

aca ttt gtt cct tgg acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa 336
Thr Phe Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 384
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125
cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 432
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140
tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 480

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160
tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 528
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175
acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 576
Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180 185 190
aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 624
Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205
ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 660
Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 4
<211> 219
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic Construct
<400> 4
Glu Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 5

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> S?uence humanis?

<220><221> CDS

<222> (1)..(345)

<400> 5

gag gtc cag ctg cag cag tct ggg cct gag gtg gtg aag cct ggg gtc 48

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

1 5 10 15

tca gtg aag att tcc tgc aag ggt tcc ggc tac aca ttc act gat tat 96

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

gct atg cac tgg gtg aag cag agt cct ggc aag agt ctg gag tgg att 144

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

gga gtt att agt act aag tat ggt aag aca aac tac aac ccc agc ttt 192

Gly Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe

50 55 60

cag ggc cag gcc aca atg act gtt gac aaa tcc tcc agc aca gcc tat 240

Gln Gly Gln Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

atg gag ctt gcc agc ttg aag gcc tcc gat tct gcc atc tat tac tgt 288

Met Glu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ser Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

gca aga ggg gac gat ggt tat tcc tgg ggt caa gga acc tca gtc acc 336

Ala Arg Gly Asp Asp Gly Tyr Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr

100 105 110

gtc tcc agc 345

Val Ser Ser

115

<210> 6

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic Construct

<400> 6

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
20 25 30

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ser Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Val Ser Ser
115

<210> 7

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> S?uence humanis?

<220><221> CDS

<222> (1)..(339)

<400> 7

gag atc gtg atg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga 48
Glu Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

gat aga gcc tcc atc tct tgc aga tct ggt cag agc ctt gtg cac agt 96
Asp Arg Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Gly Gln Ser Leu Val His Ser
20 25 30

aat gga aac acc tat ctg cat tgg tac ctg cag aag cca ggc cag tct 144
Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45
cca aag ctc ctg atc tat aca gtt tcc aac cga ttt tct ggg gtc ccg 192
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg tca gat ttc aca ctc acc atc 240
Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80
agc aga gtg gag gct gag gat ctg gga gtt tat ttc tgc tct caa aat 288
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn
85 90 95
aca ttt gtt cct tgg acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa 336

Thr Phe Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
cgt 339
Arg

<210> 8
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial
<220><223> Synthetic Construct
<400> 8
Glu Ile Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Pro Val Ser Leu Gly

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

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Phe Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

Arg

<210> 9

<211> 33

<212> DNA

<213> Mus sp.

<220><221> CDS

<222> (1)..(33)

<400> 9

tcc ggc tac aca ttc act gat tat gct atg cac 33

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ala Met His

1 5 10

<210> 10

<211> 11

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 10

Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ala Met His

1 5 10

<210> 11

<211> 30

<212> DNA

<213> Mus sp.

<220><221> CDS

<222> (1)..(30)

<400> 11

gtt att agt act aag tat ggt aag aca aac 30

Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn

1 5 10

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 12

Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn

1 5 10

<210> 13

<211> 18

<212> DNA

<213> Mus sp.

<220><221> CDS

<222> (1)..(18)

<400> 13

ggg gac gat ggt tat tcc 18

Gly Asp Asp Gly Tyr Ser

1 5

<210> 14

<211> 6

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 14

Gly Asp Asp Gly Tyr Ser

1 5

<210> 15

<211> 48

<212> DNA

<213> Mus sp.

<220><221> CDS

<222> (1)..(48)

<400> 15

aga tct ggt cag agc ctt gtg cac agt aat gga aac acc tat ctg cat 48

Arg Ser Gly Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 16

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 16

Arg Ser Gly Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 17

<211> 24

<212> DNA

<213> Mus sp.

<220><221> CDS

<222> (1)..(24)

<400> 17

aca gtt tcc aac cga ttt tct ggg 24

Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly

1 5

<210> 18

<211> 8

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 18

Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly

1 5

<210> 19

<211> 27

<212> DNA

<213> Mus sp.

<220><221> CDS

<222> (1)..(27)

<400> 19

tct caa aat aca ttt gtt cct tgg acg 27

Ser Gln Asn Thr Phe Val Pro Trp Thr

1 5

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 20

Ser Gln Asn Thr Phe Val Pro Trp Thr

1 5

<210> 21

<211> 660

<212> DNA

<213>

Artificial

<220><223> S?uence humanis?

<220><221> CDS

<222> (1)..(660)

<400> 21

gag atc gtg atg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga 48

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

1 5 10 15

gat aga gcc tcc atc tct tgc aga tct ggt cag agc ctt gtg cac agt 96

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

20 25 30

aat acc aac acc tat ctg cat tgg tac ctg cag aag cca ggc cag tct 144

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

35 40 45

cca aag ctc ctg atc tat aca gtt tcc aac cga ttt tct ggg gtc ccg 192

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

50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg tca gat ttc aca ctc acc atc 240

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

65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat ctg gga gtt tat ttc tgc tct caa aat 288

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

85 90 95

aca ttt gtt cct tgg acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa 336

Thr Phe Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

cgt acg gtg gct gca cca tct gtc ttc atc ttc ccg cca tct gat gag 384

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

115 120 125

cag ttg aaa tct gga act gcc tct gtt gtg tgc ctg ctg aat aac ttc 432

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

130 135 140

tat ccc aga gag gcc aaa gta cag tgg aag gtg gat aac gcc ctc caa 480

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln

145 150 155 160

tcg ggt aac tcc cag gag agt gtc aca gag cag gac agc aag gac agc 528

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser

165 170 175

acc tac agc ctc agc agc acc ctg acg ctg agc aaa gca gac tac gag 576

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu

180 185 190

aaa cac aaa gtc tac gcc tgc gaa gtc acc cat cag ggc ctg agc tcg 624

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser

195 200 205

ccc gtc aca aag agc ttc aac agg gga gag tgt tga 660

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 22

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic Construct

<400> 22

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

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

Asn Thr Asn Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Thr Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asp Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Leu Gly Val Tyr Phe Cys Ser Gln Asn
85 90 95

Thr Phe Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 23

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> S?uence humanis?

<220><221> CDS

<222> (1)..(339)

<400> 23

gag atc gtg atg acc caa act cca ctc tcc ctg cct gtc agt ctt gga 48

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

1 5 10 15

gat aga gcc tcc atc tct tgc aga tct ggt cag agc ctt gtg cac agt 96

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

20 25 30

aat acc aac acc tat ctg cat tgg tac ctg cag aag cca ggc cag tct 144

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

35 40 45

cca aag ctc ctg atc tat aca gtt tcc aac cga ttt tct ggg gtc ccg 192

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

50 55 60

gac agg ttc agt ggc agt gga tca ggg tca gat ttc aca ctc acc atc 240

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

65 70 75 80

agc aga gtg gag gct gag gat ctg gga gtt tat ttc tgc tct caa aat 288

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

85 90 95

aca ttt gtt cct tgg acg ttc ggt gga ggc acc aag ctg gaa atc aaa 336

Thr Phe Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105 110

cgt 339

Arg

<210> 24

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic Construct

<400> 24

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

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

Thr Phe Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110
Arg

<210> 25

<211> 1326

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> S?uence humanis?

<220><221> CDS

<222> (1)..(1326)

<400> 25

gag gtc cag ctg cag cag tct ggg cct gag gtg gtg aag cct ggg gtc 48
Glu Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Val Val Lys Pro Gly Val

```
1               5                   10                  15
tca gtg aag att tcc tgc aag ggt tcc ggc tac aca ttc act gat tat       96

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr
            20                  25                  30
gct atg cac tgg gtg aag cag agt cct ggc aag agt ctg gag tgg att      144
Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
        35                  40                  45
gga gtt att agt act aag tat ggt aag aca aac tac aac ccc agc ttt      192
Gly Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe

    50                  55                  60
cag ggc cag gcc aca atg act gtt gac aaa tcc tcc agc aca gcc tat      240
Gln Gly Gln Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65                  70                  75                  80
atg gag ctt gcc agc ttg aag gcc tcc gat tct gcc atc tat tac tgt      288
Met Glu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ser Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

gca aga ggg gac gag ggt tat tcc tgg ggt caa gga acc tca gtc acc      336
Ala Arg Gly Asp Glu Gly Tyr Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr
            100                 105                 110
gtc tcc agc gct tct acc aag ggc cct tcc gtg ttc cct ctg gcc cct      384
Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro
        115                 120                 125
tgc tcc cgg tcc acc tcc gag tcc acc gcc gct ctg ggc tgc ctg gtg      432

Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val
    130                 135                 140
aag gac tac ttc cct gag cct gtg acc gtg tcc tgg aac tct ggc gcc      480
Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala
145                 150                 155                 160
ctg acc tcc ggc gtg cac acc ttc cct gcc gtg ctg cag tcc tcc ggc      528
```

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

165 170 175

ctg tac tcc ctg tcc tcc gtg gtg acc gtg cct tcc tcc tcc ctg ggc 576

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

180 185 190

acc aag acc tac acc tgt aac gtg gac cac aag cct tcc aac acc aag 624

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

195 200 205

gtg gac aag cgg gtg gag tcc aag tac ggc cct cct tgc cct ccc tgc 672

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys

210 215 220

cct gcc cct gag ttc gag ggc gga cct agc gtg ttc ctg ttc cct cct 720

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

225 230 235 240

aag cct aag gac acc ctg atg atc tcc cgg acc cct gag gtg acc tgt 768

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

245 250 255

gtg gtg gtg gac gtg tcc cag gag gac cct gag gtc cag ttc aac tgg 816

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

260 265 270

tac gtg gac ggc gtg gag gtg cac aac gcc aag acc aag cct cgg gag 864

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

275 280 285

gag cag ttc aat tcc acc tac cgg gtg gtg tct gtg ctg acc gtg ctg 912

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

290 295 300

cac cag gac tgg ctg aac ggc aaa gaa tac aag tgt aag gtc tcc aac 960

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

305 310 315 320

aag ggc ctg ccc tcc tcc atc gag aaa acc atc tcc aag gcc aag ggc 1008

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

325 330 335

cag cct agg gag cct cag gtg tac acc ctg cct cct agc cag gaa gag 1056

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

340 345 350

atg acc aag aac cag gtg tcc ctg acc tgt ctg gtg aag ggc ttc tac 1104

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

355 360 365

cct tcc gac atc gcc gtg gag tgg gag tcc aac ggc cag cct gag aac 1152

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

370 375 380

aac tac aag acc acc cct cct gtg ctg gac tcc gac ggc tcc ttc ttc 1200

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

385 390 395 400

ctg tac tcc agg ctg acc gtg gac aag tcc cgg tgg cag gag ggc aac 1248

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

405 410 415

gtc ttt tcc tgc tcc gtg atg cac gag gcc ctg cac aac cac tac acc 1296

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

420 425 430

cag aag tcc ctg tcc ctg tct ctg ggc tga 1326

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435 440

<210> 26

<211> 441

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic Construct

<400> 26

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

1 5 10 15

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gly Gln Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ser Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Asp Glu Gly Tyr Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly

435 440

<210> 27

<211> 345

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> S?uence humanis?

<220><221> CDS

<222> (1)..(345)

<400> 27

gag gtc cag ctg cag cag tct ggg cct gag gtg gtg aag cct ggg gtc 48

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

1 5 10 15

tca gtg aag att tcc tgc aag ggt tcc ggc tac aca ttc act gat tat 96

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr

20 25 30

gct atg cac tgg gtg aag cag agt cct ggc aag agt ctg gag tgg att 144

Ala Met His Trp Val Lys Gln Ser Pro Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile

35 40 45

gga gtt att agt act aag tat ggt aag aca aac tac aac ccc agc ttt 192

Gly Val Ile Ser Thr Lys Tyr Gly Lys Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Phe

50 55 60

cag ggc cag gcc aca atg act gtt gac aaa tcc tcc agc aca gcc tat 240

Gln Gly Gln Ala Thr Met Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

atg gag ctt gcc agc ttg aag gcc tcc gat tct gcc atc tat tac tgt 288

Met Glu Leu Ala Ser Leu Lys Ala Ser Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys

85 90 95

gca aga ggg gac gag ggt tat tcc tgg ggt caa gga acc tca gtc acc 336

Ala Arg Gly Asp Glu Gly Tyr Ser Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr

100 105 110

gtc tcc agc 345

Val Ser Ser

115

<210> 28

<211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

<220><223> Synthetic Construct

<400> 28

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

1 5 10 15

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

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

Val Ser Ser
115

<210> 29
<211> 18
<212> DNA
<213> Mus sp.
<220><221> CDS
<222> (1)..(18)
<400> 29
ggg gac gag ggt tat tcc 18
Gly Asp Glu Gly Tyr Ser
1 5

<210> 30
<211> 6
<212> PRT
<213> Mus sp.
<400> 30
Gly Asp Glu Gly Tyr Ser
1 5

<210> 31
<211> 48

<212> DNA

<213

> Mus sp.

<220><221> CDS

<222> (1)..(48)

<400> 31

aga tct ggt cag agc ctt gtg cac agt aat acc aac acc tat ctg cat 48

Arg Ser Gly Gln Ser Leu Val His Ser Asn Thr Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 32

<211> 16

<212> PRT

<213> Mus sp.

<400> 32

Arg Ser Gly Gln Ser Leu Val His Ser Asn Thr Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15