



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년01월29일
(11) 등록번호 10-2629972
(24) 등록일자 2024년01월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) A61K 47/68 (2017.01)
A61K 51/10 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) C07K 16/46 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2878 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2019-7027944
(22) 출원일자(국제) 2018년04월12일
심사청구일자 2021년04월12일
(85) 번역문제출일자 2019년09월24일
(65) 공개번호 10-2019-0139851
(43) 공개일자 2019년12월18일
(86) 국제출원번호 PCT/US2018/027310
(87) 국제공개번호 WO 2018/191502
국제공개일자 2018년10월18일

(30) 우선권주장
62/485,365 2017년04월13일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
US20160244528 A1*
JP2007532095 A
Blood, Vol. 112, No. 3, pp. 699-707
(2008.08.01.)
J. Mol. Recognit., Vol. 22, pp. 242-249
(2009)

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
아게누스 인코포레이티드
미국 02421 매사추세츠주 렉싱턴 포브스 로드 3
(72) 발명자
샤오 안평
미국, 메사추세츠 02446, 브루클린, 유닛 66, 60
뱀콕 스트리트.
윌슨 니콜라스 스튜어트
미국, 캘리포니아 94070, 산 카를로스, 43 월로우
글렌 웨이
(74) 대리인
특허법인한얼

전체 청구항 수 : 총 14 항

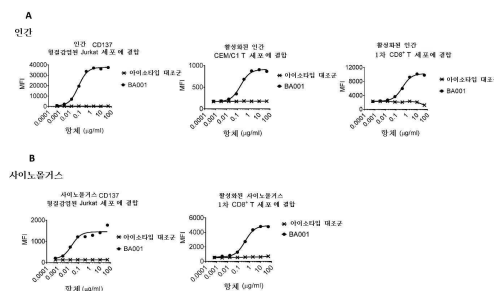
심사관 : 윤소라

(54) 발명의 명칭 항-CD137 항체 및 이의 사용 방법

(57) 요약

본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137)에 특이적으로 결합하고, CD137 기능을 증가시키는 항체를 제공한다. 또한 이들 항체를 포함하는 약제학적 조성물, 이들 항체를 암호화하는 핵산, 이들 항체의 제조를 위한 발현 벡터 및 숙주 세포, 및 이들 항체를 이용하여 대상체를 치료하는 방법이 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 47/6883 (2017.08)

A61K 51/10 (2020.05)

A61P 35/00 (2018.01)

A61P 37/00 (2018.01)

C07K 16/28 (2013.01)

C07K 16/2818 (2013.01)

C07K 16/2875 (2013.01)

C07K 16/468 (2013.01)

C07K 2317/33 (2013.01)

(72) 발명자

모린 벤자민 맥심

미국, 메사추세츠 02144, 소머빌, 아파트 2, 18 고
햄 스트리트

핀데이스 마크 아서

미국, 메사추세츠 02478, 벨몬트, 431 스쿨 스트리
트

문트 코르넬리아 앤

독일, 79539 웨어라흐, 행스트라쎄 34

반 다이크 마크

네덜란드, 3735케이지 보쉬 앤 듀인, 툴후이슬란
8에이

참 단 시드하사

미국, 메사추세츠 01801, 워번, 4 프로스펙트 스트
리트

사비츠키 데이비드 아담

미국, 메사추세츠 01921, 막스포드, 28 선라이즈
로드

언더우드 테니스 존

미국, 메사추세츠 02130, 보스턴, 2 파크 플레이스

이그나토비치 올가

영국, 씨비1 8피와이, 캠브리지, 34 보몬트 로드

명세서

청구범위

청구항 1

인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체로서, 상기 항체는 상보성 결정 영역(CDR)인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH), 및 CDR인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하며, 여기서 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 각각 서열번호 1, 2, 3, 4, 5 및 6; 1, 2, 59, 4, 5 및 6; 1, 2, 3, 4, 5 및 60; 1, 2, 3, 4, 5 및 61; 또는 1, 2, 3, 4, 5 및 62에 제시된 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 2

제1항에 있어서,

- (a) 상기 VH는 서열번호 7의 아미노산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (b) 상기 VH는 서열번호 7, 63, 64 또는 65의 아미노산 서열을 포함하거나;
- (c) 상기 VL은 서열번호 8의 아미노산 서열과 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하거나;
- (d) 상기 VL은 서열번호 8, 66, 67 또는 68의 아미노산 서열을 포함하거나;
- (e) 상기 VH는 (a) 또는 (b)의 특징을 갖고, VL은 (c) 또는 (d)의 특징을 갖거나; 또는
- (f) 상기 VH 및 VL은 각각 서열번호 7 및 8; 63 및 8; 64 및 66; 7 및 67; 또는 65 및 68의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어지는, 단리된 항체.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 VH 및 VL은 각각 서열번호 7 및 8의 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 항체는

- (a) 인간 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 불변 영역,
 - (b) 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역, 또는
 - (c) (a) 및 (b) 둘 다
- 를 포함하는, 단리된 항체.

청구항 5

제4항에 있어서,

- (a) 상기 항체는 IgG₁ 중쇄 불변 영역을 포함하거나,
- (b) 상기 항체는 IgG₁ 중쇄 불변 영역을 포함하되, 여기서
 - (i) 상기 IgG₁ 중쇄 불변 영역은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함하거나;
 - (ii) 상기 IgG₁ 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 N297A 돌연변이를 포함하거나;

- (iii) 상기 IgG₁ 중쇄 불변 영역은 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하거나;
- (iv) 상기 IgG₁ 중쇄 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 S267E 및 L328F 돌연변이를 포함하거나; 또는
- (v) 상기 중쇄 불변 영역은 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하거나,
- (c) 상기 항체는 IgG₂ 중쇄 불변 영역을 포함하거나,
- (d) 상기 항체는 IgG₂ 중쇄 불변 영역을 포함하되, 여기서
 - (i) 상기 IgG₂ 중쇄 불변 영역은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함하거나;
 - (ii) 상기 IgG₂ 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 N297A 돌연변이를 포함하거나; 또는
 - (iii) 상기 IgG₂ 중쇄 불변 영역은 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하거나;
- (e) 상기 항체는 IgG₄ 중쇄 불변 영역을 포함하거나,
- (f) 상기 항체는 IgG₄ 중쇄 불변 영역을 포함하되, 여기서
 - (i) 상기 IgG₄ 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 S228P 돌연변이를 포함하거나;
 - (ii) 상기 IgG₄ 중쇄 불변 영역은 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는
- (g) 상기 항체는 야생형 중쇄 불변 영역의 변이체인 중쇄 불변 영역을 포함하되, 상기 변이체 중쇄 불변 영역은 상기 야생형 중쇄 불변 영역이 Fc γ R에 결합하는 것보다 더 큰 친화도로 Fc γ R에 결합하는, 단리된 항체.

청구항 6

제1항에 있어서,

- (a) 서열번호 9 내지 14, 49 내지 54, 및 73 내지 78로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄,
- (b) 서열번호 21 및 79 내지 81로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄;
- (c) (a) 및 (b) 둘 다; 또는
- (d) 각각 서열번호 9 및 21; 10 및 21; 11 및 21; 12 및 21; 13 및 21; 14 및 21; 49 및 21; 50 및 21; 51 및 21; 52 및 21; 53 및 21; 54 및 21; 73 및 21; 74 및 21; 75 및 79; 76 및 79; 9 및 80; 49 및 80; 77 및 81; 또는 78 및 81의 아미노산 서열을 포함하거나 또는 이로 이루어진 중쇄 및 경쇄를 포함하는, 단리된 항체.

청구항 7

제6항에 있어서, 각각 서열번호 9 및 21의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 경쇄를 포함하는, 단리된 항체.

청구항 8

제1항에 있어서, 하기 특징 중 적어도 하나를 갖는, 단리된 항체:

- (a) 상기 항체는 인간 항체임;
- (b) 상기 항체는 다중특이성 항체임;
- (c) 상기 항체는 세포독성제, 세포정지제, 독소, 방사성핵종 또는 검출 가능한 표지에 접합됨; 및
- (d) 상기 항체는 제2 항체에 접합됨.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 단리된 항체의 VH 및 VL, 또는 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드.

청구항 10

제9항의 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터.

청구항 11

하기를 포함하는 단리된 재조합 숙주 세포:

- (a) 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 항체의 VH 및 VL, 또는 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드;
- (b) 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터; 또는
- (c) 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 단리된 항체의 VH 또는 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드, 및 제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 단리된 항체의 VL 또는 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드.

청구항 12

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항의 단리된 항체; 상기 항체의 VH 및 VL, 또는 중쇄 및 경쇄를 암호화하는, 폴리뉴클레오타이드; 상기 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터; 또는 상기 폴리뉴클레오타이드, 상기 벡터, 또는 상기 항체의 VH 또는 중쇄를 암호화하는 제1 폴리뉴클레오타이드 및 상기 항체의 VL 또는 경쇄를 암호화하는 제2 폴리뉴클레오타이드를 포함하는, 단리된 재조합 숙주 세포를 포함하고, 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는,

암의 치료, 감염성 질환의 치료, 또는 면역 반응의 증가를 위한 약제학적 조성물.

청구항 13

인간 CD137에 특이적으로 결합하는 항체의 생산 방법으로서, 제11항의 단리된 재조합 숙주 세포를, 폴리뉴클레오타이드가 발현되고 항체가 생산되기에 적합한 조건 하에 배양시키는 단계를 포함하는, 항체의 생산 방법.

청구항 14

제12항에 있어서, 하기 특징 중 적어도 하나를 갖는, 약제학적 조성물:

- (a) 상기 약제학적 조성물은
 - (i) 전신으로 투여되거나;
 - (ii) 피하로, 종양 내로 투여되거나, 또는 종양 배수 림프절(drainage lymph node)에 전달되거나;
- (b) 상기 약제학적 조성물은 대상체에게 추가적인 치료제와 병용하여 투여되고, 여기서
 - (i) 상기 추가적인 치료제는 화학치료제이거나;
 - (ii) 상기 추가적인 치료제는 관문 표적화제이거나,
 - (iii) 상기 추가적인 치료제는 길항제 항-PD-1 항체, 길항제 항-PD-L1 항체, 길항제 항-PD-L2 항체, 길항제 항-CTLA-4 항체, 길항제 항-TIM-3 항체, 길항제 항-LAG-3 항체, 길항제 항-VISTA 항체, 길항제 항-CD96 항체, 길항제 항-CEACAM1 항체, 길항제 항-TIGIT 항체, 작용제 항-GITR 항체 및 작용제 항-OX40 항체로 이루어진 군으로부터 선택되거나;
 - (iv) 상기 추가적인 치료제는 펙트롤리주맵 및 니볼루맵으로부터 선택되는 항-PD-1 항체이거나;
 - (v) 상기 추가적인 치료제는 에파카도스타트(epacadostat), F001287, 인독시모드(indoximod) 및 NLG919로 이루어진 군으로부터 선택되는 인돌아민-2,3-다이옥시게나제(IDO)의 저해제이거나;
 - (vi) 상기 추가적인 치료제는 백신이거나;
 - (vii) 상기 추가적인 치료제는 항원성 펩타이드와 복합체화된 열 충격 단백질을 포함하는 열 충격 단백질

질 펩타이드 복합체(heat shock protein peptide complex: HSPPC)를 포함하는 백신인, 약제학적 조성물.

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

삭제

청구항 20

삭제

청구항 21

삭제

청구항 22

삭제

청구항 23

삭제

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

청구항 108

삭제

청구항 109

삭제

청구항 110

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2017년 4월 13일자로 출원된 미국 가출원 특허 제62/485,365호의 유익을 주장하며, 이 기초출원은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다.

[0003] 1. 기술분야

[0004] 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체 및 이의 사용 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0005] TNFRSF9 또는 4-1BB로서도 알려진 CD137은 종양 괴사 인자(Tumor Necrosis Factor: TNF) 수용체 슈퍼패밀리에서 막관통 단백질이다. 이는 시스테인-풍부 모티프를 함유하는 N-말단의 세포외 도메인, 막관통 도메인 및 잠재적 인산화 부위를 함유하는 짧은 C-말단의 세포질 세포질 도메인을 가진다. CD137은 활성화된 CD4⁺ T 림프구, 활성화된 CD8⁺ T 림프구, 활성화된 자연 살해(natural killer: NK) 세포, 단핵구, 수지상 세포, B 세포, 호중구 및 비만세포 상에서 발현된다(Vinay et al. (2011) Cellular & Molecular Immunology 8:281-84). TNFSF9 또는 4-1BB로서도 알려진 CD137L은 CD137의 리간드이다. CD137L 결합 시, CD137은 세포 생존, 증식, 사이토카인 생산, 및 효과기 기능의 활성화를 촉진시키는 공자극 신호를 전달한다. CD137에 대한 CD137L 결합은 또한 CD4⁺ T 세포보다 더 큰 정도로 CD8⁺ T 세포를 공자극하는 것으로 나타났다.

[0006] 동물 모델에서 연구는 CD137L 또는 작용성 항체 중 하나를 이용하는 CD137의 결합이 T 세포 활성을 촉진시킴으로써 종양 성장을 억제하는 것으로 나타났다(Vinay et al. (2012) Mol. Cancer. Ther. 11:1062-70). CD137은 또한 백신접종 후 인간 면역결핍 바이러스(human immunodeficiency virus: HIV) 및 C형 간염 바이러스(hepatitis C virus: HCV)에 대한 T 세포 면역을 향상시키는 것으로 나타났다(Munks et al. (2004) Immunology 112:559-66; Arribillaga et al. (2005) Vaccine 23:3493-99). 추가적으로, CD137 작용제는 루푸스, 콜라겐-유도 관절염 및 실험적 자가면역 뇌수막염의 동물 모델에서 자가면역을 개선시키는 것으로 나타났다.

[0007] 면역 반응을 조절함에 있어서 인간 CD137의 분명한 역할을 고려하면, CD137 신호전달을 촉진시키도록 설계된 치료제는 면역 억제를 수반하는 질환의 치료를 위한 큰 잠재성을 보유한다.

발명의 내용

[0008] 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고 CD137 기능, 예를 들어, CD137-매개 면역 활성화를 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체를 제공한다. 또한 이들 항체, 이들 항체를 암호화하는 핵산, 이들 항체의 제조를 위한 발현 벡터 및 숙주 세포 및 이들 항체를 이용하여 대상체를 치료하는 방법을 포함하는, 약제학적 조성물이 제공된다. 본 명세서에 개시된 항체는 항원(예를 들어, 종양 항원 또는 감염성 질환 항원)에 대해 T 세포 활성화를 증가시키고/시키거나 Treg-매개 면역 억제를 감소시키는 데, 그리고 그에 따라 대상체에서 암을 치료하거나 또는 대상체에서 감염성 질환을 치료 또는 예방하는 데 특히 유용하다.

[0009] 따라서, 일 양상에서, 본 개시내용은 상보성 결정 영역(상보성 결정 영역: CDR)인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 상보성 결정 영역인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역(VL)을 포함하는 항체 또는 단리된 항체를 제공하되, 여기서:

[0010] (a) CDRH1은 X₁X₂X₃X₄H(서열번호 82)의 아미노산 서열을 포함하되,

[0011] X₁은 G, A, D, E, L, N, Q, R, S 또는 W이고;

[0012] X₂는 Y, F, H, N, R 또는 S이며;

[0013] X₃은 Y 또는 H이고; 그리고

[0014] X₄는 M, I, T 또는 V이고;

- [0015] (b) CDRH2는 WINPNSGGTNYAQKFQG(서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0016] (c) CDRH3은 $X_1PX_2YX_3GX_4GLX_5X_6$ (서열번호 83)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0017] X_1 은 E 또는 G이고;
- [0018] X_2 는 G, A, R 또는 S이며;
- [0019] X_3 은 Y, F, H 또는 S이고;
- [0020] X_4 는 S, A 또는 T이며;
- [0021] X_5 는 D 또는 G이고; 그리고
- [0022] X_6 은 Y 또는 H이며;
- [0023] (d) CDRL1은 GGGDIGDKRVH(서열번호 4)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0024] (e) CDRL2는 EDRYRPS(서열번호 5)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는
- [0025] (f) CDRL3은 $QX_1WX_2X_3X_4X_5X_6X_7PGV$ (서열번호 84)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0026] X_1 은 V 또는 I이고;
- [0027] X_2 는 D, A, E, G, H, N 또는 Y이며;
- [0028] X_3 은 S, A, E, F, L, P, R, T, W 또는 Y이고;
- [0029] X_4 는 S, A, L, M 또는 R이며;
- [0030] X_5 는 S, A, F, G, L, P, Q, R 또는 T이고;
- [0031] X_6 은 D, E, H, V 또는 Y이며; 그리고
- [0032] X_7 은 H 또는 Y이다.
- [0033] 소정의 실시형태에서,
- [0034] (a) CDRH1은 $X_1X_2YX_3H$ (서열번호 85)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0035] X_1 은 G, A, D, L, R, S 또는 W이고;
- [0036] X_2 는 Y, F, H 또는 N이며; 그리고
- [0037] X_3 은 M 또는 V이고;
- [0038] (b) CDRH3은 EPGYX₁GX₂GLDX₃(서열번호 86)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0039] X_1 은 Y 또는 F이고;
- [0040] X_2 은 S 또는 T이며; 그리고
- [0041] X_3 은 Y 또는 H이고; 그리고/또는
- [0042] (c) CDRL3은 $QVWX_1X_2X_3X_4X_5X_6PGV$ (서열번호 87)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0043] X_1 은 D, A, E, H, N 또는 Y이고;
- [0044] X_2 는 S, A, E, L, R 또는 T이며;

- [0045] X_3 은 S, A, L 또는 R이고;
- [0046] X_4 는 S, A, F, G, L, P, Q 또는 R이며;
- [0047] X_5 는 D, E 또는 V이고; 그리고
- [0048] X_6 은 H 또는 Y이다.
- [0049] 소정의 실시형태에서,
- [0050] (a) CDRH1은 GYYMH(서열번호 1)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0051] (b) CDRH3은 EPGYYGSGLDY(서열번호 3) 또는 EPGYYGTGLDY(서열번호 59)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는
- [0052] (c) CDRL3은 QVWDSSSDHPGV(서열번호 6), QVWNSSSDHPGV(서열번호 60), QVWDSSSDYPGV(서열번호 61) 또는 QVWYSSPDHPGV(서열번호 62)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0053] 소정의 실시형태에서, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 각각 서열번호 1, 2, 3, 4, 5, 및 6; 1, 2, 59, 4, 5, 및 6; 1, 2, 3, 4, 5, 및 60; 1, 2, 3, 4, 5, 및 61; 또는 1, 2, 3, 4, 5, 및 62에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0054] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 7의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH는 서열번호 7, 63, 64 또는 65의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH의 아미노산 서열은 서열번호 7, 63, 64 또는 65의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, VH의 아미노산 서열은 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, X는 글루타민(Q)이다. 소정의 실시형태에서, X는 파이로글루타메이트(pE)이다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 8의 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 100% 동일한 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VL은 서열번호 8, 66, 67 또는 68의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VL은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VL의 아미노산 서열은 서열번호 8, 66, 67 또는 68의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, VL의 아미노산 서열은 서열번호 8의 아미노산 서열로 이루어진다.
- [0055] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 서열번호 7, 63, 64 또는 65의 아미노산 서열을 포함하는 VH를 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH의 아미노산 서열은 서열번호 7, 63, 64 또는 65의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, VH의 아미노산 서열은 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, X는 글루타민(Q)이다. 소정의 실시형태에서, X는 파이로글루타메이트(pE)이다.
- [0056] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 서열번호 8, 66, 67 또는 68의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VL은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VL의 아미노산 서열은 서열번호 8, 66, 67 또는 68의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, VL의 아미노산 서열은 서열번호 8의 아미노산 서열로 이루어진다.
- [0057] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 각각 서열번호 7 및 8; 63 및 8; 64 및 66; 7 및 67; 또는 65 및 68의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 VL을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH 및 VL의 아미노산 서열은 각각 서열번호 7 및 8; 63 및 8; 64 및 66; 7 및 67; 또는 65 및 68의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 서열번호 7, 63, 64 또는 65에서 X는 글루타민(Q)이다. 소정의 실시형태에서, 서열번호 7, 63, 64 또는 65에서 X는 파이로글루타메이트(pE)이다.
- [0058] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 인간 IGHV1-2*02 생식계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 VH를 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH는 서열번호 3 또는 59에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

- [0059] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 인간 IGLV3-21*02 생식계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VL은 서열번호 6, 60, 61 또는 62에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0060] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 인간 IGHV1-2*02 생식계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 VH 및 인간 IGLV3-21*02 생식계열 서열로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 VL을 포함한다. 소정의 실시형태에서, VH는 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 VL은 서열번호 6, 60, 61 또는 62에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0061] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 이루어진 군으로부터 선택된 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0062] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 IgG1 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 중쇄 불변 영역은 서열번호 15의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, IgG1 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 N297A 돌연변이를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 16의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, IgG1 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 S267E 및 L328F 돌연변이를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 17의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0063] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 IgG2 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 중쇄 불변 영역은 서열번호 18의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, IgG2 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 N297A 돌연변이를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0064] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 IgG4 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, IgG4 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 S228P 돌연변이를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0065] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 야생형 중쇄 불변 영역의 변이체인 중쇄 불변 영역을 포함하되, 변이체 중쇄 불변 영역은 야생형 중쇄 불변 영역이 Fc γ R에 결합하는 것보다 더 큰 친화도로 Fc γ R에 결합한다. 소정의 실시형태에서, Fc γ R은 Fc γ RIIB이다.
- [0066] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0067] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 (a) 서열번호 9 내지 14, 49 내지 54 및 73 내지 78로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및/또는 (b) 서열번호 21 및 79 내지 81로 이루어진 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 및 경쇄는 각각 서열번호 9 및 21; 10 및 21; 11 및 21; 12 및 21; 13 및 21; 14 및 21; 49 및 21; 50 및 21; 51 및 21; 52 및 21; 53 및 21; 54 및 21; 73 및 21; 74 및 21; 75 및 79; 76 및 79; 9 및 80; 49 및 80; 77 및 81; 또는 78 및 81의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 및 경쇄는 각각 서열번호 9 및 21; 또는 49 및 21의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 각각 서열번호 9 및 21; 10 및 21; 11 및 21; 12 및 21; 13 및 21; 14 및 21; 49 및 21; 50 및 21; 51 및 21; 52 및 21; 53 및 21; 54 및 21; 73 및 21; 74 및 21; 75 및 79; 76 및 79; 9 및 80; 49 및 80; 77 및 81; 또는 78 및 81의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열은 각각 서열번호 9 및 21; 또는 49 및 21의 아미노산 서열로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, X는 글루타민(Q)이다. 소정의 실시형태에서, X는 파이로글루타메이트(pE)이다.
- [0068] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, 상기 CD137에 대한 상기 항체의 결합은 상기 항체의 부재하의 이량체화 수준에 비해 상기 CD137과 제2 인간 CD137 분자 사이의 이량체화 수준을 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, CD137에 대한 항체의 결합은 상기 항체의 부재하의 2개의 CD137 분자의 상기 PLAD 도메인 사이의 쌍별 결합 수준에 비해 2개의 CD137 분자의 PLAD 도메인 사이의 쌍별 결합 수준을 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, CD137에 대한 항체의 결합은, 상기 CD137 분자의 제1 영역과 제2 인간 CD137 분자의 제2 영역 사이의 쌍별 결합 수준을, 상기 항체의 부재하의 상기 제1 영역과 상기 제2 영역 사이의 쌍별 결합 수준에 비해 증가시키되, 상기 제1 영역 및/또는 상기 제2

영역은 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0069] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, CD137에 대한 항체의 결합은 항체의 부재하의 CD137 다량체화(예를 들어, 이량체화) 수준에 비해 CD137 다량체화(예를 들어, 이량체화) 수준을 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, CD137 다량체화(예를 들어, 이량체화) 수준의 증가는 2개의 CD137 분자의 PLAD 도메인 사이의 쌍별 결합 수준의 증가를 포함한다. 소정의 실시형태에서, CD137 다량체화(예를 들어, 이량체화) 수준의 증가는 제1 CD137 분자의 제1 영역과 제2 분자의 제2 영역 사이의 쌍별 결합 수준의 증가를 포함하되, 제1 영역 및/또는 제2 영역은 서열번호 34의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0070] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 다가 항체이고, 동시에 CD137의 2개 이상의 분자에 결합할 수 있다.
- [0071] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 인간 CD137이 인간 CD137L에 결합하는 것을 실질적으로 저해하지 않는다.
- [0072] 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 인간 CD137이 인간 CD137L에 결합하는 것을 실질적으로 저해하지 않는다.
- [0073] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 인간 CD137의 가용성 단편이 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것을 실질적으로 저해하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137-발현 세포가 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것을 실질적으로 저해하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137-발현 세포가 CD137L-발현 세포에 결합하는 것을 실질적으로 저해하지 않는다.
- [0074] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 인간 CD137의 가용성 단편이 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것을 저해하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137-발현 세포가 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것을 저해하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137-발현 세포가 CD137L-발현 세포에 결합하는 것을 저해하지 않는다.
- [0075] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 인간 CD137에 대해 작용성이다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시킨다. 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 능력은 항체의 가교결합에 의존한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 가교결합의 부재하에 인간 CD137의 활성을 실질적으로 증가시키거나 또는 촉진시키지 않는다.
- [0076] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하고, 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키되, 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 능력은 항체의 가교결합에 의존한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 가교결합의 부재하에 인간 CD137의 활성을 실질적으로 증가시키거나 또는 촉진시키지 않는다.
- [0077] 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 능력은 CD137L의 존재에 의존한다.
- [0078] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137)에 특이적으로 결합하고 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키는 단리된 항체를 제공하되, 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 능력은 CD137L의 존재에 의존한다.
- [0079] 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 능력은 CD137L의 농도와 양의 상관관계가 있다(positively correlate). 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 능력은 CD137L의 농도의 실질적으로 증가하는 함수이다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137L의 부재하에 인간 CD137의 활성을 실질적으로 증가시키거나 또는 촉진시키지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137L의 부재하에 인간 CD137의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키지 않는다.
- [0080] 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성은 인간 CD137을 발현시키는 T-세포를 활성화시키는 것을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성은 스타필로코커스 엔테로톡신 A(staphylococcal enterotoxin A: SEA)로 자극된 말초혈액 단핵구 세포(peripheral blood mononuclear cell: PBMC)에 의해 IL-2 생산을 유도하는 것을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성은 인간 CD137을 발현시키는 자연 살해(NK) 세포를 활성화시키는 것을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성은 CD137L을 발현시키는 항원-제시 세포(antigen-presenting cell: APC)를 활성화시키는 것을 포함한다.

- [0081] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항체와 동일한 인간 CD137의 에피토프에 결합한다.
- [0082] 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 VH 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 VL을 포함하는 항체와 동일한 인간 CD137의 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 인간 CD137의 CRD4 도메인 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 CRD4 도메인은 서열번호 42에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0083] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 서열번호 26 내지 31 및 43 중 임의의 하나의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 43의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다.
- [0084] 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 26 내지 31 및 43 중 임의의 하나의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 43의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다.
- [0085] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 실질적으로 결합하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합하고, 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 실질적으로 결합하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 45의 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진 단백질에 실질적으로 결합하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 46의 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진 단백질에 특이적으로 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 46의 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진 단백질에 특이적으로 결합하고, 서열번호 45의 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진 단백질에 실질적으로 결합하지 않는다.
- [0086] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, (a) VH 및 VL 중 각각의 둘을 포함하는 F(ab')₂는 서열번호 27의 아미노산으로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합하고; 그리고/또는 (b) VH 및 VL을 포함하는 Fab는 서열번호 26의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137 영역 내에 위치한 에피토프 및, 선택적으로 서열번호 28 또는 29의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다.
- [0087] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, (a) 항체가 VH 및 VL 중 각각의 둘을 포함하는 F(ab')₂로서 형식화된다면, 상기 F(ab')₂는 서열번호 27의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합하고; 그리고/또는 (b) 항체가 VH 및 VL을 포함하는 Fab로서 형식화된다면, Fab는 서열번호 26의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프 및 선택적으로 서열번호 28 또는 29의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다.
- [0088] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, (a) 상기 VH 및 상기 VL 중 각각의 둘을 포함하는 F(ab')₂는, 수소/중수소 교환 분석에 의해 측정하여, 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 상기 F(ab')₂의 부재하에 동일한 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 실질적으로 감소시키고; 그리고 (b) VH 및 VL을 포함하는 Fab는, 수소/중수소 교환 분석에 의해 측정하여, 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 상기 Fab의 부재하에 동일한 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 실질적으로 감소시키지 않는다.
- [0089] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, (a) 상기 항체가 상기 VH 및 상기 VL 중 각각의 둘을 포함하는 F(ab')₂로서 형식화된다면, F(ab')₂는 수소/중수소 교환 분석에 의해 측정하여, 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 상기 F(ab')₂의 부재하에 동일한 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 실질적으로 감소시키고; 그리고 (b) 상기 항체가 상기 VH 및 상기 VL을 포함하는 Fab로서 형식화된다면, Fab는, 수소/중수소 교환 분석에 의해 측정하여, 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 상기 Fab의 부재하에 동일한 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 실질적으로 감소시키지 않는다.

- [0090] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합하고, 항체는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합하지 않는다.
- [0091] 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 항체는 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합하고; 그리고 항체는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합하지 않는다.
- [0092] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 인간 항체이다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 다중특이성 항체이다.
- [0093] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 세포독성제, 세포정지제, 독소, 방사성핵종 또는 검출 가능한 표지에 접합된다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 제2 항체에 접합된다.
- [0094] 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체의 VH 및/또는 VL, 또는 중쇄 및/또는 경쇄를 암호화하는 단리된 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 제공한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 폴리뉴클레오타이드 또는 벡터를 포함하는 재조합 숙주 세포를 제공한다.
- [0095] 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터 또는 숙주 세포; 및 약제학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제를 포함하는 약제학적 조성물을 제공한다.
- [0096] 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 항체의 생산 방법을 제공하며, 상기 방법은 폴리뉴클레오타이드가 발현되고 항체가 생산되기에 적합한 조건하에 본 명세서에 개시된 바와 같은 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함한다.
- [0097] 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서 면역 반응을 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0098] 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서 항원에 반응하여 T 세포 활성화 및/또는 NK 세포 활성화를 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0099] 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.
- [0100] 소정의 실시형태에서, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포, 또는 약제학적 조성물은 전신으로 투여된다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포, 또는 약제학적 조성물은 정맥내로 투여된다. 소정의 실시형태에서, 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포, 또는 약제학적 조성물은 피하로, 종양내로 투여되거나, 또는 종양 배수 림프절에 전달된다.
- [0101] 소정의 실시형태에서, 대상체에서 면역 반응을 증가시키는 방법, 대상체에서 항원에 반응하여 T 세포 활성화 및/또는 NK 세포 활성화를 증가시키는 방법, 또는 본 명세서에 개시된 대상체에서 암을 치료하는 방법은 대상체에 추가적인 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 화학치료제이다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 관문 표적화제이다. 소정의 실시형태에서, 관문 표적화제는 길항제 항-PD-1 항체, 길항제 항-PD-L1 항체, 길항제 항-PD-L2 항체, 길항제 항-CTLA-4 항체, 길항제 항-TIM-3 항체, 길항제 항-LAG-3 항체, 길항제 항-VISTA 항체, 길항제 항-CD96 항체, 길항제 항-CEACAM1 항체, 길항제 항-TIGIT 항체, 작용제 항-GITR 항체 및 작용제 항-OX40 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 항-PD-1 항체이되, 선택적으로 항-PD-1 항체는 펩브롤리주맵 또는 니볼루맵이다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 인돌아민-2,3-다이옥시게나제(IDO)의 저해제이다. 소정의 실시형태에서, 저해제는 에파카도스타트, F001287, 인독시모드 및 NLG919로 이루어진 군으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 백신이다. 소정의 실시형태에서, 백신은 항원성 펩타이드와 복합체화된 열 충격 단백질을 포함하는 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(heat shock protein peptide complex: HSPPC)를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 열 충격 단백질은 hsc70이고, 종양-연관 항원성 펩타이드와 복합체화된다. 소정의 실시형태에서, 열 충격 단백질은 gp96 단백질이고, 종양-연관 항원성 펩타이드와 복합체화되되, HSPPC는 대상체로부터 얻은 종양으로부터 유래된다.
- [0102] 다른 양상에서, 본 개시내용은 대상체에서 감염성 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게

유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항체, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 숙주 세포, 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

도면의 간단한 설명

[0103]

도 1A 및 도 1B는 항-CD137 항체 BA001 또는 IgG1 아이소타입 대조군 항체가 그들의 세포 표면 상에서 인간 CD137(도 1A) 또는 사이노몰거스 CD137(도 1B)을 발현시키는 세포에 결합하는 것을 나타내는 일련의 유세포분석 그래프를 도시한 도면. 도 1A에서, 인간 CD137에 대한 결합은 인간 CD137을 세포 표면 상에서 발현시키도록 조작된 Jurkat 세포(좌측 패널), 내인성 CD137을 발현시키는 활성화된 인간 CEM/C1 T 세포(중간 패널), 또는 활성화된 인간 1차 CD8+ T 세포(우측 패널)에 대해 평가하였다. 도 1B에서, 사이노몰거스 CD137에 대한 결합은 사이노몰거스 CD137을 세포 표면 상에서 발현시키도록 조작된 Jurkat 세포(좌측 패널) 또는 활성화된 사이노몰거스 1차 CD8+ T 세포(우측 패널)에 대해 평가하였다.

도 2a 및 도 2b는 CD137 /BA001-F(ab')₂ 복합체와 관련하여 인간 CD137에 대한 인간 CD137L의 결합을 나타내는 표면 플라즈몬 공명 그래프를 도시한 도면. 도 2a에서, BA001-F(ab')₂는 유세포에 결합되고, 이어서, CD137은 유세포에 대해 실행됨으로써, CD137/BA001-F(ab')₂ 복합체를 형성한다. 이어서, CD137L을 유세포에 대해 실행하였고, 복합체에 결합하는 것으로 나타났다. 도 2b에서, 수행된 CD137 /BA001-F(ab')₂ 복합체를 유세포에 처음 결합시켰다. 이어서, CD137L을 유세포에 대해 실행하였고, 복합체에 결합하는 것으로 나타났다.

도 3a 내지 도 3C는 항-인간 CD137 항체 BA001이 CD137에 대한 CD137L 결합을 차단하지 않는다는 것을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 도 3a는 세포 표면 상에서 CD137을 발현시키는 세포에 대해 세포 표면 상에서 BA001이 CD137L을 발현시키는 세포의 결합을 차단시키지 않는다는 것을 나타내는 일련의 유세포분석 플롯이다. 플롯의 상부 행은 각각의 항체에 대한 측방 산란(side scatter: SSC) 및 전방 산란(forward scatter: FSC) 신호를 나타내는 한편, 플롯의 하부 행은 각각의 항체에 대한 Jurkat-CD137(PE) 및 Jurkat-CD137L(FITC) 신호를 나타낸다. 도 3B 및 도 3C는 항-CD137L-발현 세포와 CD137-발현 세포의 공동 배양물(세포의 총 수 중의 접합 세포의 백분율)을 나타내는 그래프이되, 2가지 유형의 세포가 혼합 배양물에서 합쳐지기 전에(도 3B) 또는 후에(도 3C) 항-CD137 항체 또는 아이소타입 대조군 항체가 첨가되었다.

도 4A 내지 도 4B는 항-CD137 항체 BA001의 가교결합 의존도를 나타내는 그래프를 도시한 도면. 도 4A는 1 μ g/ml CD137L의 부재하에 2 μ g/ml의 가교결합된 BA001, 아이소타입 대조군, 또는 기준 항-CD137 항체 #2와 함께 인큐베이션된 인간 CD137을 발현시키는 Jurkat 세포에서 NF κ B-루시페라제 리포터 활성을 도시한 도면. 리포터 활성은 루미네센스 수준으로 나타내고, 가교제(애피니퓨어(AffiniPure) F(ab')₂ 단편 염소 항-인간 IgG) 대 항체의 log 몰비에 대해 플롯팅한다. 도 4B는 CD16-발현 CHO 세포와 함께 공동발현시킨 인간 CD137을 발현시키는 Jurkat 세포에서의 NF κ B-루시페라제 리포터 활성을 나타낸다.

도 5는 스타필로코커스 엔테로톡신 A(SEA) 자극 시 인간 말초혈액 단핵구 세포(PBMC)에서 항-CD137 항체(즉, BA001 및 2개의 기준 항-CD137 항체) 또는 대응하는 아이소타입 대조군 항체(즉, 각각 IgG1, IgG2 및 IgG4 아이소타입 대조군 항체)에 의해 유도된 IL-2의 생산을 나타내는 그래프를 도시한 도면.

도 6A 내지 도 6C는 항-CD3 항체로 자극된 정제된 인간 T 세포에서 항-CD137에 의해 유도된 IL-2의 생산을 나타내는 그래프를 도시한 도면(도 6A 및 6B). CD137L 발현은 유세포분석에 의해 이들 실험에서 사용되는 정제된 인간 T 세포에서 평가하였다. 이들 세포 상에서 검출 가능한 CD137L 발현은 관찰되지 않았다(도 6C).

도 7A는 1 μ g/ml CD137L의 존재 또는 부재하에 측정된 Jurkat 리포터 세포에서 항-CD137 항체 BA001의 가교결합-및 리간드-의존도를 나타내는 그래프를 도시한 도면. **도 7B**는 Jurkat 리포터 세포의 표면 상에서 CD137 및 CD137L의 발현(또는 이의 결여)을 나타내는 히스토그램이다. 새로 해동한 세포("0h")로부터 발현을 분석하였고, 세포를 해동 후 4시간 동안 배양시키고("4h"), 그리고 세포를 해동 후 24시간 동안 배양시켰다("24h").

도 8A 내지 도 8D는 인간 CD137(도 8A 및 도 8B) 또는 사이노몰거스 CD137(도 8C 및 도 8D) 중 하나를 발현시키고 항-CD137 항체 BA001 또는 아이소타입 대조군 항체의 일련의 희석물과 함께 인큐베이션시킨 Jurkat 세포에서 NF κ B-루시페라제 리포터 활성을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 샘플의 하나의 세트에서, 세포는 또한 인간 CD137L의 존재(도 8B 및 도 8D) 또는 부재(도 8A 및 도 8C)하에 인큐베이션시켰다.

도 9A 내지 도 9C는 인간 CD137을 발현시키고 (i) 2 μ g/ml의 항-CD137 항체(BA001 또는 2개의 기준 항-CD137 항체 중 하나) 또는 적절한 아이소타입 대조군 항체, 및 (ii) 인간 CD137L(리간드)의 일련의 희석물과 함께 인큐

베이션시킨 Jurkat 세포에서 NF κ B-루시퍼라제 리포터 활성을 나타내는 일련의 그래프를 도시한 도면. 샘플의 제1 세트에서, 항-CD137 항체 또는 아이소타입 대조군 항체를 CD137L 전에 첨가하였다(도 9A). 샘플의 제2 세트에서, 항-CD137 항체 또는 아이소타입 대조군 항체를 CD137L과 동시에 첨가하였다(도 9B). 샘플의 제3 세트에서, CD137L을 항-CD137 항체 또는 아이소타입 대조군 항체 전에 첨가하였다(도 9C).

도 10a는 스타필로코커스 엔테로톡신 A(SEA) 자극 시 인간 말초혈액 단핵구 세포(PBMC)에서 BA001의 Fc 변이체 또는 대응하는 아이소타입 대조군 항체에 의해 유도된 IL-2의 생산을 나타내는 그래프를 도시한 도면.

도 10b는 스타필로코커스 엔테로톡신 A(SEA) 자극 시 인간 말초혈액 단핵구 세포(PBMC)에서 BA001의 Fc 변이체 또는 대응하는 아이소타입 대조군 항체의 일련의 희석에 의해 유도된 IL-2의 생산을 나타내는 그래프를 도시한 도면.

도 11은 인간 또는 사이노몰거스 CD137 중 하나를 발현시키고 BA001 또는 적절한 아이소타입 대조군 항체의 Fc 변이체의 연속 희석물과 함께 인큐베이션시킨 Jurkat 세포에서의 일련의 NF κ B-루시퍼라제 리포터 활성을 도시한 도면. 샘플의 하나의 세트에서, 세포를 또한 인간 CD137L의 존재(우측 열) 또는 부재(좌측 열)하에 인큐베이션시켰다.

도 12A 및 도 12B는 스타필로코커스 엔테로톡신 A(SEA) 자극 시 인간 말초혈액 단핵구 세포(PBMC)에서 항체에 의해 유도되는 IL-2의 생산을 나타내는 그래프를 도시한 도면. 도 12A에서 처리한 항체는 항-CD137 항체 BA001, 아이소타입 대조군 항체, 항-PD-1 항체 및 BA001과 항-PD-1 항체의 조합물을 포함한다. 도 12B에서 시험한 항체는 항-CD137 항체 BA001, 아이소타입 대조군 항체, 항-OX40 항체 및 BA001과 항-OX40 항체의 조합물을 포함한다.

도 13은 인간 CD137 및 사이노몰거스 원숭이 CD137에 대한 서열 정렬을 도시한 도면. "*" (별표)는 단일의, 완전히 보존된 잔기를 갖는 위치를 나타낸다. ":" (콜론)은 강하게 유사한 특성의 그룹 사이의 보존을 나타낸다. "." (마침표)는 약하게 유사한 특성의 그룹 사이의 보존을 나타낸다. 점선으로 박스 표시한 영역(DPSCNPCAGTFCNDRNRQICSPCPNSFSSAGGQRTCD, 서열번호 34)은 인간 CD137이 BA001-F(ab')₂에 결합될 때 중수소 흡수의 약한 감소를 나타내었는데, 이는 이 영역에서의 CD137 동중이량체화에 기인할 가능성이 있다. 실선으로 박스 표시한 영역(FNDQKRGICRPWTNCSL, 서열번호 26)은 인간 CD137이 BA001-Fab에 결합될 때 중수소 흡수의 강한 감소를 나타내었다.

도 14a 및 도 14b는 FACS에 의한 BA001의 에피토프 맵핑을 나타내는 일련의 다이어그램을 도시한 도면. 도 14a에서, CD137의 일련의 인간-대-뮤린 서열 전환 돌연변이체를 나타낸 영역 각각에 대해 생성하였다(즉, 5014, 5015, 5016, 5017 및 5018, 이하의 표 5 참조). 이어서, 이들 돌연변이체 작제물을 FACS에 의한 항-CD137 항체의 분석을 위해 Jurkat 세포에 대해 형질감염시켰다. 도 14b는 BA001, 기준 항-CD137 항체 #1 및 #2(각각 "기준 #1" 및 "기준 #2"), 및 본 명세서에 기재된 전환 돌연변이체 각각을 발현시키는 조작된 Jurkat 세포에 대한 아이소타입 대조군 항체에 대한 세포 결합 데이터를 도시한 도면.

도 15a 내지 도 15C는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정에 의한 CD137 에피토프의 양호한 맵핑을 도시한 도면. 도 15a는 인간 CD137 및 뮤린 CD137에 대한 서열 절렬이다. "*" (별표)는 단일, 완전히 보존된 잔기를 갖는 위치를 나타낸다. ":" (콜론)은 강하게 유사한 특성의 그룹 사이의 보존을 나타낸다. "." (마침표)는 약하게 유사한 특성의 그룹 사이의 보존을 나타낸다. 실선으로 박스 표시한 영역(FNDQKRGICRPWTNCSL, 서열번호 26)은 도 13에 도시한 바와 같은 수소/중수소 교환 검정에 의해 동정되는 에피토프 영역이다. 점선으로 박스 표시한 영역(LTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNC, 서열번호 30)은 도 14a 및 도 14b에 도시한 바와 같은 인간-마우스 융합 작제물을 이용하여 결합 검정으로부터 동정한 5017 영역이다. 실선으로 강조한 영역(KRGI, 서열번호 43)은 키메라 단백질을 생성하기 위해 인간과 뮤린 CD137 사이에 전환된 아미노산 서열을 나타낸다. 도 15B는 SPR 검정에 의해 인간 CD137 및 키메라 단백질 "인간 대 마우스" 및 "마우스 대 인간"에 대한 BA001의 결합을 나타내는 센소그램(sensorgram)이다. 도 15C는 유사한 SPR 검정에서 동일한 CD137 단백질에 대한 기준 항-CD137 항체 #1("기준 #1")의 결합을 나타내는 센소그램이다.

도 16A 내지 도 16D는 판독으로서 형광 표지를 이용하는 효소-결합 면역흡착 검정(ELISA)에 의해 측정하여, 인간 CD137(도 16A), 사이노몰거스 CD137(도 16B), 마우스-인간 융합 작제물 5017("mCD137-인간112-139")(도 16C) 및 마우스-인간 융합 작제물 5015("mCD137-인간53-80")(도 16D)의 세포의 도메인에 대한 4가지 BA001 변이체, 즉, BA049, BA050, BA051 및 BA052의 결합을 나타내는 일련의 그래프를 도시한 도면. 중위 형광 강도 수준을 항-CD137 항체의 농도에 플롯팅하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0104] 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고 CD137 기능, 예를 들어, CD137-매개 면역 활성화를 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체를 제공한다. 또한 이들 항체를 포함하는 약제학적 조성물, 이들 항체를 제조하기 위해 이들 항체를 암호화하는 핵산, 발현 벡터 및 숙주 세포, 및 이들 항체를 이용하여 대상체를 치료하는 방법이 제공된다. 본 명세서에 개시된 항체는 항원(예를 들어, 종양 항원 또는 감염성 질환 항원)에 반응하여 T 세포 활성화를 증가시키는 데, 그리고 그에 따라 대상체에서 암을 치료하거나 또는 대상체에서 감염성 질환을 치료 또는 예방하는 데 특히 유용하다. 본 명세서에 기재된 "단리된 항체"의 모든 예는 추가적으로 단리될 수 있지만, 단리될 필요는 없는 항체로서 상정된다. 본 명세서에 기재된 "단리된 폴리뉴클레오타이드"의 모든 예는 추가적으로 단리될 수 있지만, 단리될 필요는 없는 폴리뉴클레오타이드로서 상정된다. 본 명세서에 기재된 "항체"의 모든 예는 추가적으로 단리될 수 있지만, 단리될 필요는 없는 항체로서 상정된다. 본 명세서에 기재된 "폴리뉴클레오타이드"의 모든 예는 추가적으로 단리될 수 있지만, 단리될 필요는 없는 항체로서 상정된다.
- [0105] **5.1 정의**
- [0106] 본 명세서에서 사용되는 용어 "약" 및 "대량"은 수치적 값 또는 수치적 범위를 변형시키기 위해 사용될 때, 값 또는 범위의 5% 내지 10% 초과(예를 들어, 5% 내지 10% 초과까지의) 및 5% 내지 10% 미만의(예를 들어, 5% 내지 10% 미만까지의) 편차가 인용된 값 또는 범위의 의도된 의미 내에 남아있다는 것을 나타낸다.
- [0107] 본 명세서에서 사용되는 용어 "CD137"은 인간에서 TNFRSF9 유전자에 의해 암호화된 TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 9(또한 4-1BB로서 알려짐)를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 용어 "인간 CD137"은 야생형 인간 CD137 유전자(예를 들어, 젠뱅크(GenBank)(상표명) 수탁 번호 NM_001561.5)에 의해 암호화된 CD137 단백질 또는 이러한 단백질의 세포외 도메인을 지칭한다. 미숙 인간 CD137 단백질의 예시적인 아미노산 서열은 서열번호 25로서 제공된다. 성숙 인간 CD137 단백질의 예시적인 아미노산 서열은 서열번호 33으로서 제공된다. 성숙 인간 CD137 단백질의 세포외 도메인의 예시적인 아미노산 서열은 서열번호 24로서 제공된다.
- [0108] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항체" 및 "항체들"은 전장 항체, 전장 항체의 항원-결합 단편, 및 항체 CDR, VH 영역 및/또는 VL 영역을 포함하는 분자를 포함한다. 항체의 예는 단클론성 항체, 재조합적으로 생산된 항체, 단일특이성 항체, 다중특이성 항체(이중특이성 항체를 포함), 인간 항체, 인간화된 항체, 키메라 항체, 면역글로불린, 면역글로불린, 2개의 중쇄 및 2개의 경쇄 분자를 포함하는 사량체 항체, 항체 경쇄 단량체, 항체 중쇄 단량체, 항체 경쇄 이량체, 항체 중쇄 이량체, 항체 경쇄-항체 중쇄쌍, 인트라마디, 이형접합체 항체, 항체-약물 접합체, 단일 도메인 항체, 1가 항체, 단일쇄 항체 또는 단일쇄 Fv(scFv), 낙타 항체, 애피바디, Fab 단편, F(ab')₂ 단편, 이항화-연결된 Fv(sdFv), 항-유전자형(항-Id) 항체(예를 들어, 항-항-Id 항체를 포함), 및 상기 중 어떤 것의 항원-결합 단편을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 다클론성 항체 집단을 지칭한다. 항체는 면역글로불린 분자의 임의의 유형(예를 들어, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY), 임의의 부류(예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 또는 IgA₂), 또는 임의의 하위 부류(예를 들어, IgG_{2a} 또는 IgG_{2b})를 가질 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 IgG 항체, 또는 이의 부류(예를 들어, 인간 IgG₁ 또는 IgG₄) 또는 하위부류이다. 구체적 실시형태에서, 항체는 인간화된 단클론성 항체이다. 다른 구체적 실시형태에서, 항체는 인간 단클론성 항체이다.
- [0109] 본 명세서에 사용되는 용어 "VH 영역" 및 "VL 영역"은 각각 FR(프레임워크 영역) 1, 2, 3 및 4 및 CDR(상보성 결정 영역) 1, 2 및 3(본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Kabat *et al.*, (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (NIH Publication No. 91-3242, Bethesda)] 참조)을 포함하는 단일 항체 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 지칭한다.
- [0110] 본 명세서에 사용되는 용어 "CDR" 또는 "상보성 결정 영역"은 중쇄와 경쇄 폴리펩타이드 둘 다의 가변 영역 내에서 발견되는 비인접 항원 조합 부위를 의미한다. 이들 특정 영역은 문헌[Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991)]에 의해, 문헌[Chothia *et al.*, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)], 그리고 문헌[MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)]에 의해 기재되었으며, 이들 모두는 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 편입되며, 정의는 서로에 대해 비교할 때 아미노산 잔기의 중복 또는 서브셋을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 용어 "CDR"은 문헌[MacCallum *et al.*, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) 및 Martin A. "Protein Sequence and Structure

Analysis of Antibody Variable Domains," in *Antibody Engineering*, Kontermann and **Dübel**, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)]에 정의된 바와 같은 CDR이다. 소정의 실시형태에서, 용어 "CDR"은 문헌[Kabat *et al.*, J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat *et al.*, Sequences of protein of immunological interest. (1991)]에 의해 정의되는 CDR이다. 소정의 실시형태에서, 항체의 중쇄 CDR 및 경쇄 CDR은 상이한 관례를 이용하여 정의된다. 예를 들어, 소정의 실시형태에서, 중쇄 CDR은 맥칼럼 (MacCallum)(상기 참조)에 따라 정의되며, 경쇄 CDR은 카바트(상기 참조)에 따라 정의된다. CDRH1, CDRH2 및 CDRH3은 중쇄 CDR을 정하고, 그리고 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3은 경쇄 CDR을 정한다.

[0111] 본 명세서에서 사용되는 용어 "프레임워크(framework: FR) 아미노산 잔기"는 면역글로불린 쇄의 프레임워크 영역 내 해당 아미노산을 지칭한다. 본 명세서에서 사용되는 용어 "프레임워크 영역" 또는 "FR 영역"은 가변 영역의 부분이지만, CDR의 부분이 아닌 아미노산 잔기를 포함한다(예를 들어, CDR의 카바트(Kabat) 또는 맥칼럼 정의를 이용).

[0112] 본 명세서에서 사용되는 용어 "가변 영역" 및 "가변 도메인"은 상호 호환적으로 사용되고, 당업계에서 통상적이다. 가변 영역은 전형적으로 항체 중에서 서열이 광범위하게 상이하고 그의 특정 항원에 대한 특정 항체의 결합 및 특이성에서 사용되는 항체의 일부, 일반적으로, 경쇄 또는 중쇄의 일부, 전형적으로 성숙 중쇄 내 약 아미노-말단의 110 내지 120개의 아미노산 또는 110 내지 125개의 아미노산 및 성숙 경쇄 내 약 90 내지 115개의 아미노산을 지칭한다. 서열의 가변성은 상보성 결정 영역(CDR)으로 불리는 해당 영역에 집중되지만, 가변 도메인에서 더 고도로 보존된 영역은 프레임워크 영역(FR)으로 불린다. 임의의 특정 메커니즘 또는 이론에 의해 구속되는 일 없이, 경쇄 및 중쇄의 CDR은 항원과 항원의 상호작용 및 특이성을 주로 초래하는 것으로 여겨진다. 소정의 실시형태에서, 가변 영역은 인간 가변 영역이다. 소정의 실시형태에서, 가변 영역은 설치류 또는 무린 CDR 및 인간 프레임워크 영역(FR)을 포함한다. 특정 실시형태에서, 가변 영역은 영장류(예를 들어, 비-인간 영장류) 가변 영역이다. 소정의 실시형태에서, 가변 영역은 설치류 또는 무린 CDR 및 영장류(예를 들어, 비-인간 영장류) 프레임워크 영역(FR)을 포함한다.

[0113] 용어 "VL" 및 "VL 도메인"은 항체의 경쇄 가변 영역을 지칭하기 위해 상호 호환적으로 사용된다.

[0114] 용어 "VH" 및 "VH 도메인"은 항체의 중쇄 가변 영역을 지칭하기 위해 상호 호환적으로 사용된다.

[0115] 본 명세서에서 사용되는 용어 "불변 영역" 및 "불변 도메인"은 상호 호환적으로 사용 가능하고, 당업계에서 통상적이다. 불변 영역은 항체 부분, 예를 들어, 항원에 대한 항체의 결합에 직접적으로 연루되지 않지만, 다양한 효자기 기능, 예컨대 Fc 수용체(예를 들어, Fc 감마 수용체)와의 상호작용을 나타낼 수 있는 경쇄 및/또는 중쇄의 카복실 말단 부분이다. 면역글로불린 분자의 불변 영역은 일반적으로 면역글로불린 가변 도메인에 비해 더 보존된 아미노산 서열을 가진다.

[0116] 본 명세서에서 사용되는 용어 "중쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때, IgG의 하위부류, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4를 비롯한, 항체의 IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM을 각각 생기게 하는, 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반한 임의의 별개의 유형, 예를 들어, 알파(α), 델타(δ), 엡실론(ϵ), 감마(γ) 및 뮤(μ)를 지칭할 수 있다.

[0117] 본 명세서에서 사용되는 용어 "경쇄"는 항체와 관련하여 사용될 때 불변 도메인의 아미노산 서열에 기반하여 임의의 별개의 유형, 예를 들어, 카파(κ) 또는 람다(λ)를 지칭할 수 있다. 경쇄 아미노산 서열은 당업계에 잘 공지되어 있다. 구체적 실시형태에서, 경쇄는 인간 경쇄이다.

[0118] 본 명세서에서 사용되는 용어 "EU 넘버링 시스템"은 문헌[Edelman, G.M. *et al.*, Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969) 및 Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Dept. Health and Human Services, 5th edition, 1991]에 기재된 바와 같은 항체의 불변 영역에 대한 EU 넘버링 관례를 지칭하며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다.

[0119] "결합 친화도"는 일반적으로 분자의 단일 결합 부위(예를 들어, 항체)와 그의 결합 상대(예를 들어, 항원) 사이의 비공유 상호작용의 총 합의 강도를 지칭한다. 달리 표시되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는, "결합 친화도"는 결합쌍의 구성원(예를 들어, 항체 및 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 본래의 결합 친화도를 지칭한다. 분자 X의 그의 상대 Y에 대한 친화도는 일반적으로 해리 상수(K_D)로 나타낼 수 있다. 친화도는 평형 해리 상수(K_D), 및 평형 결합 상수(K_A)를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 당업계에 공지된 다수의 방법으로 측정되고/되거나 발현될 수 있다. K_D 는 k_{off}/k_{on} 의 몫으로부터 계산된 반면, K_A 는 k_{on}/k_{off} 의 몫으로부터 계산된다. k_{on} 은,

예를 들어, 항원에 대한 항체의 결합 속도 상수를 지칭하고, 그리고 k_{off} 는, 예를 들어, 항원에 대한 항체의 해리 속도 상수를 지칭한다. k_{on} 및 k_{off} 는 당업자에게 공지된 기법, 예컨대 비아코어(BIAcore)(등록상표) 또는 KinExA에 의해 결정될 수 있다. 본 명세서에서 사용되는 "더 낮은 친화도"는 더 큰 K_D 를 지칭한다.

[0120] 본 명세서에서 사용되는 용어 "특이적으로 결합한다", "특이적으로 인식한다", "면역특이적으로 결합한다" 및 "면역특이적으로 인식한다"는 항체와 관련하여 유사한 용어이며, 항원(예를 들어, 에피토프 또는 면역 복합체)에 결합하는(이러한 결합은 당업자에 의해 이해되는 바와 같음) 분자를 지칭한다. 예를 들어, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 일반적으로, 예를 들어, 면역분석, BIAcore(등록상표), KinExA 3000 기기(아이다호주 보이시에 소재한 사피다인 인스트루먼트즈(Sapidyne Instruments)) 또는 당업계에 공지된 다른 분석에 의해 결정된 바와 같은 더 낮은 친화도를 갖는 다른 펩타이드 또는 폴리펩타이드에 결합할 수 있다. 구체적 실시형태에서, 분자가 다른 항원에 비특이적으로 결합할 때 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 K_A 보다 적어도 $2 \log$ (예를 들어, 10배), $2.5 \log$, $3 \log$, $4 \log$ 이상인 K_A 로 항원에 결합한다.

[0121] 다른 구체적 실시형태에서, 항원에 특이적으로 결합하는 분자는 유사한 결합 조건하에 다른 단백질과 교차 반응하지 않는다. 다른 구체적 실시형태에서, CD137에 특이적으로 결합하는 분자는 다른 비-CD137 단백질과 교차 반응하지 않는다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에서 다른 비관련 항원보다 더 큰 친화도로 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 결합하는 항체가 제공된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서, 예를 들어, 방사면역측정법, 표면 플라즈몬 공명 또는 역학 배제 검정에 의해 측정하여, 다른, 관련없는 항원보다 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 더 큰 친화도로 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 결합하는 항체가 제공된다. 구체적 실시형태에서, 관련없는, 비-CD137 단백질에 대한 본 명세서에 기재된 항-CD137 항체의 결합 정도는, 예를 들어, 방사면역측정법에 의해 측정하여, CD137 단백질에 대한 항체 결합의 10%, 15% 또는 20% 미만이다.

[0122] 본 명세서에 사용되는 바와 같은 A는 B를 "실질적으로 저해하지 않는다"는 A의 부재하의 B에 비해 A의 존재하에서 B가 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 초과만큼 감소되지 않는다는 것을 의미한다.

[0123] 본 명세서에서 사용되는, B는 A값의 구체화된 영역에 걸쳐 B가 A의 "실질적으로 증가하는 함수이다"는 A가 구체화된 영역에 걸쳐, 예를 들어 주어진 실험에서 또는 다중 실험으로부터의 평균값을 이용하여 증가함에 따라 B가 증가하는 경우이다. 이 정의는 A의 구체화된 값에 대응하는 B 값이 A의 임의의 더 낮은 값에 대응하는 B 값에 비해 (1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15% 또는 20%까지) 더 낮아지는 것을 허용한다.

[0124] 본 명세서에서 사용되는, "에피토프"는 당업계의 용어이며, 항체가 특이적으로 결합될 수 있는 항원의 국소화된 영역을 지칭한다. 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩타이드의 인접한 아미노산(선형 또는 인접한 에피토프)일 수 있거나 또는 에피토프는, 예를 들어, 폴리펩타이드 또는 폴리펩타이드들의 2 이상의 비인접 영역(입체배좌, 비선형, 불연속 또는 비인접 에피토프)으로부터 함께 유래될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 항체가 결합하는 에피토프는, 예를 들어, NMR 분광학, X-선 회절 결정학 연구, ELISA 분석, 질량분석법과 결합된 수소/중수소 교환(예를 들어, 액체 크로마토그래피 전기분무 질량분석법), 어레이 기반 올리고-펩타이드 주사 분석(예를 들어, 불연속적 또는 입체배좌적 에피토프를 맵핑하기 위해 CLIPS(스캐폴드 상의 펩타이드의 화학적 결합)을 이용하여 펩타이드를 제한함), 및/또는 돌연변이유발 맵핑(예를 들어, 부위-지정 돌연변이유발 맵핑)에 의해 결정될 수 있다. X-선 결정학에 대해, 결정학은 당업계에서 임의의 공지된 방법을 이용하여 달성될 수 있다(예를 들어, 문헌

[Giegé R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303] 참조, 이들 각각은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입됨). 항체-항원 결정은 잘 공지된 X-선 회절 기법을 이용하여 연구될 수 있고, 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 X-PLOR(Yale University, 1992, 몰레큘러 시뮬레이션 인코포레이티드(Molecular Simulations, Inc.)에 의해 배포됨; 예를 들어, 문헌[Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*,] 참조; 미국 특허 제2004/0014194호 참조), 및 BUSTER(문헌[Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323], 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입됨)를 이용하여 정제될 수 있으며, 이들 모두는 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다. 돌연변이유발 맵핑 연구는 당업자에게 공지된 임의의 방법을 이용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 알려진 주사 돌연변이유발 기법을 비롯한 돌연변이유발 기법의 설명을 위해, 각각 본 명세서에 전문이 참고로 편입되는 문헌[Champe M *et al.*, (1995) *J Biol Chem* 270: 1388-1394 및

Cunningham BC & Wells JA (1989) Science 244: 1081-1085]을 참조한다. CLIPS(스캐폴드 상의 펩타이드의 화학적 결합)은 복잡한 단백질 도메인의 기능적 모방체로서 거동하는 구조적으로 제한된 입체배치에서 하나 이상의 펩타이드를 제공하는 기술이다. 예를 들어, 미국 특허 제2008/0139407 A1호 및 미국 특허 제2007/099240 A1호 및 미국 특허 제7,972,993호를 참조하며, 이들 각각은 그의 전문이 본 명세서에 참고로 편입된다. 구체적 실시형태에서, 항체의 에피토프는 알려진 스캐닝 돌연변이유발 연구를 이용하여 결정된다. 구체적 실시형태에서, 항체의 에피토프는 질량분석법과 함께 수소/중수소 교환 결합을 이용하여 결정된다. 구체적 실시형태에서, 항체의 에피토프는 펩스칸 세라퓨틱스사(Pepscan Therapeutics)로부터의 CLIPS 에피토프 맵핑 기술을 이용하여 결정된다. 구체적 실시형태에서, 항체의 에피토프는 단백질 돌연변이유발에 의해, 예를 들어 다른 종으로부터의 항원의 오솔로그의 일부로 항원의 스위치 돌연변이체를 생성하고, 이어서 항체 결합의 상실에 대해 (예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 FACS-기반 세포 결합 검정에 의해) 스위치 돌연변이체를 시험함으로써 결정된다.

[0125] 본 명세서에 사용되는 인간 CD137 영역 "내에 위치한 에피토프"라는 용어는 구체화된 영역의 아미노산 잔기 중 하나 이상을 포함하는 에피토프를 지칭한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 구체화된 영역 내에 위치한 아미노산 잔기 중 각각의 하나를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는 구체화된 영역 내에 위치한 아미노산 잔기 중 각각의 하나로 이루어진다. 소정의 실시형태에서, 구체화된 영역 밖에서 인간 CD137의 하나 이상의 추가적인 아미노산 잔기는 구체화된 영역 내에 위치한 에피토프와 함께 항체에 결합한다.

[0126] 본 명세서에 사용되는 용어 "T 세포 수용체" 및 "TCR"은 상호 호환적으로 사용되고, 전장 이형이량체 $\alpha\beta$ 또는 $\gamma\delta$ TCR, 전장 TCR의 항원-결합 단편 및 TCR CDR 또는 가변 영역을 포함하는 분자를 지칭한다. TCR의 예는 전장 TCR, 전장 TCR의 항원-결합 단편, 막관통 및 세포질 영역이 없는 가용성 TCR, 가요성 링커에 의해 부착되는 TCR의 가변 영역을 함유하는 단일쇄 TCR, 조작된 이황화 결합에 의해 연결되는 TCR, 단일특이성 TCR, 다중특이성 TCR(이중특이성 TCR을 포함), TCR 융합, 인간 TCR, 인간화된 TCR, 키메라 TCR, 재조합적으로 생산된 TCR 및 합성 TCR을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 상기 용어는 야생형 TCR 및 유전자 조작된 TCR(예를 들어, 제 1 종의 TCR로부터의 제1 부분 및 제2 종의 TCR로부터의 제2 부분을 포함하는 키메라 TCR 쌍을 포함하는 키메라 TCR)을 포함한다.

[0127] 본 명세서에 사용되는 용어 "CD137 다량체화 수준"은 CD137 분자의 집단(예를 들어, 하나 이상의 세포 표면 상에서 발현된 CD137 분자의 집단)에서의 단량체 CD137에 대한 다량체(예를 들어, 이량체) CD137의 상대적 양을 지칭한다.

[0128] 본 명세서에 사용되는 용어 "구조적 적합 복합체" 및 "MHC"는 상호 호환적으로 사용되고, MHC 클래스 I 분자 및/또는 MHC 클래스 II 분자를 지칭한다.

[0129] 본 명세서에 사용되는 용어 "펩타이드-MHC 복합체"는 MHC의 당업계에 인식된 펩타이드 결합 포켓에서 결합된 펩타이드를 갖는 MHC 분자(MHC 클래스 I 또는 MHC 클래스 II)를 지칭한다.

[0130] 본 명세서에서 사용되는 용어 "치료하다", "치료하는" 및 "치료"는 본 명세서에 기재된 치료적 또는 예방적 측정을 지칭한다. "치료" 방법은 질환 또는 장애 또는 질환 또는 장애의 재발의 증증도를 예방하거나, 치유하거나, 지연시키거나, 감소시키거나 또는 이의 하나 이상의 증상을 개선시키기 위해, 또는 이러한 치료의 부재하에서 예상된 것 이상으로 대상체의 생존을 연장시키기 위해 질환 또는 장애를 갖거나 또는 이러한 질환 장애를 갖는 경향이 있는 대상체에게 항체의 투여를 사용한다.

[0131] 대상체에 대한 투여 요법과 관련하여 본 명세서에서 사용되는 용어 "유효량"은 목적하는 예방적 또는 치료적 효과를 달성하는 요법의 양을 지칭한다.

[0132] 본 명세서에 사용되는 용어 "대상체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 일 실시형태에서, 대상체는 인간 또는 비인간 포유류이다. 일 실시형태에서, 대상체는 인간이다.

[0133] 두 서열(예를 들어, 아미노산 서열 또는 핵산 서열) 사이의 "동일성 백분율"의 결정은 또한 수학적 알고리즘을 이용하여 달성될 수 있다. 두 서열의 비교를 위해 이용되는 수학적 알고리즘의 특정, 비제한적 예는 각각 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Karlin S & Altschul SF (1993) PNAS 90: 5873-5877]에서와 같이 변형된 문헌[Karlin S & Altschul SF (1990) PNAS 87: 2264-2268]의 알고리즘이다. 이러한 알고리즘은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Altschul SF *et al.*, (1990) J Mol Biol 215: 403]의 NBLAST 및 XBLAST 프로그램에 편입된다. BLAST 뉴클레오타이드 검색은 본 명세서에 기재된 핵산 분자에 상동성인 뉴클레오타이드 서열을 얻기 위해, 예를 들어, 스코어=100, 단어 길이=12에 대해, NBLAST 뉴클레오타이드 프로그램 매개변수 세트로 수행될 수 있다. BLAST 단백질 검색은 본 명세서에 기재된 단백질 분자에 상동성인 아미노산 서열을 얻기 위해, 예를

들어, 스코어 50, 단어 길이=3에 대해 XBLAST 프로그램 매개변수로 수행될 수 있다. 비교 목적을 위해 갭핑된 정렬을 얻기 위해, 갭핑된 BLAST는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Altschul SF *et al.*, (1997) *Nuc Acids Res* 25: 3389-3402]에 기재된 바와 같이 이용될 수 있다. 대안적으로, PSI BLAST는 분자 사이의 원거리 관계를 검출하는 반복된 검색을 수행하기 위해 사용될 수 있다(이하 참조). BLAST를 이용할 때, 갭화된 BLAST, 및 PSI Blast 프로그램, 각각의 프로그램의(예를 들어, XBLAST 및 NBLAST의) 디폴트 매개변수가 사용될 수 있다(예를 들어, 월드와이드웹, ncbi.nlm.nih.gov 상에서 생물정보센터(National Center for Biotechnology Information: NCBI)). 서열의 비교를 위해 이용되는 수학적 알고리즘의 다른 특이적, 비제한적 예는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Myers and Miller, 1988, *CABIOS* 4:11-17]의 알고리즘이다. 이러한 알고리즘은 GCG 서열 정렬 소프트웨어 패키지의 부분인 ALIGN 프로그램(버전 2.0)에 편입된다. 아미노산 서열을 비교하기 위해 ALIGN 프로그램을 이용할 때, PAM120 가중치 잔기 표, 갭 길이 페널티 12, 및 갭 페널티 4가 사용될 수 있다.

[0134] 두 서열 사이의 동일성 백분율은 허용되는 갭과 함께 또는 갭 없이 상기 기재한 것과 유사한 기법을 이용하여 결정될 수 있다. 동일성 백분율을 계산함에 있어서, 전형적으로 정확한 매칭만이 계수된다.

[0135] 5.2 항-CD137 항체

[0136] 일 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고 CD137 기능을 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체를 제공한다. 예시적인 항체의 아미노산 서열은 본 명세서에서 표 1에 제시한다.

표 1

예시적인 항-CD137 항체의 아미노산 서열.

설명	아미노산 서열	서열번호
CDRH1 공통 서열 1	X ₁ X ₂ X ₃ X ₄ H, 여기서 X ₁ 은 G, A, D, E, L, N, Q, R, S, 또는 W 이고; X ₂ 는 Y, F, H, N, R, 또는 S 이며; X ₃ 은 Y 또는 H 이고; 그리고 X ₄ 는 M, I, T, 또는 V 이다	82
CDRH3 공통 서열 1	X ₁ PX ₂ YX ₃ GX ₄ GLX ₅ X ₆ , 여기서 X ₁ 은 E 또는 G 이고; X ₂ 는 G, A, R 또는 S 이며; X ₃ 은 Y, F, H 또는 S 이고; X ₄ 는 S, A, 또는 T 이며; X ₅ 는 D 또는 G 이고; 그리고 X ₆ 은 Y 또는 H 이다	83
CDRL3 공통 서열 1	QX ₁ WX ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ X ₇ PGV, 여기서 X ₁ 은 V 또는 I 이고; X ₂ 는 D, A, E, G, H, N 또는 Y 이며; X ₃ 은 S, A, E, F, L, P, R, T, W 또는 Y 이고; X ₄ 는 S, A, L, M, 또는 R 이며; X ₅ 는 S, A, F, G, L, P, Q, R 또는 T 이고; X ₆ 은 D, E, H, V 또는 Y 이며; 그리고 X ₇ 은 H 또는 Y 이다	84
CDRH1 공통 서열 2	X ₁ X ₂ YX ₃ H, 여기서 X ₁ 은 G, A, D, L, R, S 또는 W 이고; X ₂ 는 Y, F, H, 또는 N 이며; 그리고 X ₃ 은 M 또는 V 이다	85

[0137]

설명	아미노산 서열	서열번호
CDRH3 공통 서열 2	EPGYX ₁ GX ₂ GLDX ₃ , 여기서 X ₁ 은 Y 또는 F 이고; X ₂ 는 S 또는 T 이며; 그리고 X ₃ 은 Y 또는 H 이다	86
CDRL3 공통 서열 2	QVWX ₁ X ₂ X ₃ X ₄ X ₅ X ₆ PGV, 여기서 X ₁ 은 D, A, E, H, N, 또는 Y 이고; X ₂ 는 S, A, E, L, R, 또는 T 이며; X ₃ 은 S, A, L, 또는 R 이고; X ₄ 는 S, A, F, G, L, P, Q, 또는 R 이며; X ₅ 는 D, E, 또는 V 이고; 그리고 X ₆ 은 H 또는 Y 이다	87
BA001 CDRH1	GYVMH	1
BA001 CDRH2	WINPNSGGTNYAQKFQG	2
BA001 CDRH3	EPGYYGSGLDY	3
BA001 CDRL1	GGDDIGDKRVH	4
BA001 CDRL2	EDRYRPS	5
BA001 CDRL3	QVWDSSSDHPGV	6
BA001 VH	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTILTVSS, 여기서 X = 글루타민(Q) 또는 파이로글루타메이트(pE)	7
BA001 VL	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSR VEAGDEADYYCQVWDSSSDHPGVFGGGTQLIL	8

[0138]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 전장 중쇄 (IgG1) (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	9
BA001 전장 중쇄 (IgG1) (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGILVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	49

[0139]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 IgG1 N297A 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	10
BA001 IgG1 N297A 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGITLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	50

[0140]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 IgG1 S267E L328F 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLS PG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	11
BA001 IgG1 S267E L328F 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVEHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLS PGK, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	51

[0141]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 IgG2 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRIRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERK CCVECPGPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSIVLVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGSFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	12
BA001 IgG2 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRIRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERK CCVECPGPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSIVLVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSGGSFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG K, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	52

[0142]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 IgG2 N297A 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGITQYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERK CCVECPAPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFA STFRVVSIVLVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDINVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSVMSMHEALHNHYTQKSLSLSPG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	13
BA001 IgG2 N297A 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSNFGITQYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERK CCVECPAPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFA STFRVVSIVLVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK TISKTKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDINVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSVMSMHEALHNHYTQKSLSLSPG K, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	53

[0143]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 IgG4 S228P 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	14
BA001 IgG4 S228P 변이체 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTILTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKY GPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	54

[0144]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 불변 영역 (IgG1)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	15
BA001 IgG1 N297A 변이체 불변 영역	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYASTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP REPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	16
BA001 IgG1 S267E L328F 변이체 불변 영역	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSL GTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVEHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAFAPAPIEKTISKAKGQP REPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	17

[0145]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 IgG2 변이체 불변 영역	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG TQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN GQPENNYKTTTPMLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	18
BA001 IgG2 N297A 변이체 불변 영역	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFG TQTYTCNVDHKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPV AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFASTFRVVSVLTVV HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDINVEWESN GQPENNYKTTTPMLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG	19
BA001 IgG4 S228P 변이체 불변 영역	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG TKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFL GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQ VYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG QPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	20

[0146]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA001 전장 경쇄	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSR VEAGDEADYYCQVWDSSSDHPGVFGGGTQLIILGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	21
BA001 경쇄 불변 영역	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVT VAWKADSSPVKAGVETTTTPSKQSNKYAASSYLSLTP EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	22
BA001 scFv	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTILVTVSSGGGGSGGGGSGGGGASSYVLTQPPS VSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLV VYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSRVEAGDEAD YYCQVWDSSSDHPGVFGGGTQLIIL	55
BA001 CDRH1 (볼드체) + N- 말단의 측접 잔기	TFT GYMH	56
BA050 CDRH1 (볼드체) + N- 말단의 측접 잔기	SFT GYMH	57
BA052 CDRH1 (볼드체) + N- 말단의 측접 잔기	NFS GYMH	58
BA049 CDRH3	EPGYGTGLDY	59

[0147]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA050 CDRL3	QVWNSSSDHPGV	60
BA051 CDRL3	QVWDSSSDYPGV	61
BA052 CDRL3	QVWYSSPDHPGV	62
BA049 VH	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGTGLD YWGQGTLVTVSS, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	63
BA050 VH	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLVTVSS, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	64
BA052 VH	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFSGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTITR DTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLDY WGQGTLVTVSS, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	65
BA050 VL	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSR VEAGDEADYYCQVWNSSSDHPGVFGGGTQLIIL	66
BA051 VL	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSR VEAGDEADYYCQVWDSSSDYPGVFGGGTQLIIL	67
BA052 VL	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSR VEAGDEADYYCQVWYSSPDHPGVFGGGTQLIIL	68

[0148]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA049 scFv	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGTGLD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGASSYVLTQPPS VSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLV VYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSRVEAGDEAD YYCQVWDSSSDHPGVFGGGTQLIIL, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	69
BA050 scFv	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGASSYVLTQPPS VSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLV VYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSRVEAGDEAD YYCQVWNSSSDHPGVFGGGTQLIIL, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	70
BA051 scFv	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSRLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGASSYVLTQPPS VSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLV VYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSRVEAGDEAD YYCQVWDSSSDYPGVFGGGTQLIIL, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	71

[0149]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA052 scFv	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFSGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTITR DTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGYYGSLDY WGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGASSYVLTQPPSV SVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQKKPDQAPVLVV YEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLRVEAGDEADY YCQVWYSSPDHPGVFGGGTQLIL, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	72
BA049 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGYYGTGLD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	73

[0150]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA049 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGYYGTGLD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	74
BA050 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISISTAYMELSLRSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLS PG, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	75

[0151]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA050 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSTGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMT RDTISITAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLD YWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALG CLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLY SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLS PGK, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	76
BA052 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 없음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFSGYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTITR DTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLDY WGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP G, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	77

[0152]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA052 전장 중쇄 (C-말단의 라이신이 있음)	XVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYNFSGYMHWR VRQAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTITR DTSISTAYMELSRLSDDTAVYYCAREPGYYGSGLDY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK, 여기서 X = 글루타민 (Q) 또는 파이로글루타메이트 (pE)	78
BA050 전장 경쇄	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSR VEAGDEADYYCQVWNSSSDHPGVFGGGTQLIILGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	79
BA051 전장 경쇄	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSR VEAGDEADYYCQVWDSSSDYPGVFGGGTQLIILGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	80

[0153]

설명	아미노산 서열	서열번호
BA052 전장 경쇄	SYVLTQPPSVSVAPGETARITCGGDDIGDKRVHWYQK KPDQAPVLVYEDRYRPSGIPERISGSNSGNTATLTLSR VEAGDEADYYCQVWYSSPDHPGVFGGGTQLIILGQPK AAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAW KADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQW KSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS	81

[0154]

표 2

예시적인 항-CD137 항체의 VH, VL, scFv 및 전장 중쇄 및 경쇄 서열.

항체	서열번호				
	VH	VL	scFv	전장 중쇄	전장 경쇄
BA001	7	8	55	9	21
BA049	63	8	69	74	21
BA050	64	66	70	76	79
BA051	7	67	71	49	80
BA052	65	68	72	78	81

[0155]

표 3

BA001 에 가장 가까운 생식계열 유전자.

가장 가까운 생식계열 유전자	아미노산 서열	서열번 호
IGHV1-2*02 중쇄 가변 영역	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVR QAPGQGLEWMGWINPNSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSIS TAYMELSRLRSDDTAVYYCAR	40
IGLV3-21*02 경쇄 가변 영역	SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKSVHWYQQKPG QAPVLVYDDSDRPSGIPERFSGSNSGNTATLTISRVEAGD EADYYCQVWDSSSDH	41

[0156]

표 4

인간 CD137 의 예시적인 서열.

설명	아미노산 서열	서열번호
CD137 신호 펩타이드	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRS	23
예시적인 CD137 세포외 도메인 서열	LQDPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSV TPPAPAREPGHSPQ	24
예시적인 미숙 CD137 전장 서열	MGNSCYNIVATLLLVLNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCD NNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFRTRK ECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELT KKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNG TKERDVVCGPSPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIISF FLALTSTALLFLFLTLRFSVVKRGRKKLLYIFKQPFM RPVQITTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL	25
CD137 세포외 에피토프 서열 #1	FNDQKRGICRPWTNCSL	26
CD137 세포외 에피토프 서열 #2	FNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERD	27
CD137 세포외 에피토프 서열 #3	TPGFHCLGAG	28
CD137 세포외 에피토프 서열 #4	KQGQEL	29
CD137 세포외 에피토프 서열 #5	LTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNC	30
CD137 세포외 에피토프 서열 #6	FNDQKRGICRPWTNC	31

[0157]

설명	아미노산 서열	서열번호
예시적인 성숙 CD137 전장 서열	LQDPCSNCPAGTFCDNRRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSV TPPAPAREPGHSPQIISFFLALTSTALLFLLFLLTLRFSSV KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEG GCEL	33
CD137 단편	DPCSNCPAGTFCDNRRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCD	34
CD137 CRD4 서열	CCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDV VC	42
CD137 단편	KRGI	43

[0158]

[0159]

소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 본 명세서의 표 1에 제시된 VH 도메인의 CDR 중 1, 2 또는 모두 3 개를 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 1에 제시된 VH 도메인 중 하나의 CDRH1을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 1에 제시된 VH 도메인 중 하나의 CDRH2를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 1에 제시된 VH 도메인 중 하나의 CDRH3을 포함한다.

[0160]

소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 본 명세서의 표 1에 개시된 VL 도메인의 CDR 중 1, 2 또는 모두 3 개를 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 1에 제시된 VL 도메인 중 하나의 CDRL1을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 1에 제시된 VL 도메인 중 하나의 CDRL2를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 항체는 표 1에 제시된 VL 도메인 중 하나의 CDRL3을 포함한다.

[0161]

소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 문헌[Kabat et al., J. Biol. Chem. 252, 6609-6616 (1977) 및 Kabat et al., Sequences of protein of immunological interest (1991)]에 따라 결정될 수 있고, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다. 소정의 실시형태에서, 항체의 경쇄 CDR은 카바트에 따라 결정되고, 항체의 중쇄 CDR은 맥칼럼에 따라 결정된다(상기 참조).

[0162]

소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 면역글로불린 구조적 루프의 위치를 지칭하는 코티아 넘버링 계획에 따라 결정될 수 있다(예를 들어, 문헌[Chothia C & Lesk AM, (1987), J Mol Biol 196: 901-917; Al-Lazikani B et al., (1997) J Mol Biol 273: 927-948; Chothia C et al., (1992) J Mol Biol 227: 799-817; Tramontano A et al., (1990) J Mol Biol 215(1): 175-82]; 및 미국 특허 제7,709,226호, 이들 모두는 그의 전문이 본 명세서에 참고로 편입됨). 전형적으로, 카바트 넘버링 관례를 이용할 때, 코티아 CDRH1 루프는 중쇄 아미노산 26 내지 32, 33 또는 34에 존재하고, 코티아 CDRH2 루프는 중쇄 아미노산 52 내지 56에 존재하며, 코티아 CDRH3 루프는 중쇄 아미노산 95 내지 102에 존재하는 반면, 코티아 CDRL1 루프는 경쇄 아미노산 24 내지 34에 존재하고, 코티아 CDRL2 루프는 경쇄 아미노산 50 내지 56에 존재하고, 코티아 CDRL3 루프는 경쇄 아미노산 89 내지 97에 존재한다. 카바트 넘버링 관례를 이용하여 넘버링할 때 코티아 CDRH1 루프의 말단은 루프의 길이에 따라서 H32와 H34 사이에서 변한다(이는 카바트 넘버링 계획이 H35A 및 H35B에서 일어나기 때문이며; 35A도 35B도 존재하지 않는다면, 루프는 32에서 종결되고; 35A만이 존재한다면, 루프는 33에서 종결되고; 35A와 35B가 둘 다 존재한다면, 루프는 34에서 종결된다).

[0163]

소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 본 명세서의 표 1에 개시된 VH의 코티아 VH CDR을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 본 명세서의 표 1에 개시된 VL의 코티아 VL CDR을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하며, 상기 항체는 본 명세서의 표 1에 개시된 항체의 코티아 VH CDR 및 코티아 VL CDR을 포

함한다. 소정의 실시형태에서, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체는 하나 이상의 CDR을 포함하되, 이때 코티아 및 카바트 CDR은 동일한 아미노산 서열을 가진다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고 카바트 CDR 및 코티아 CDR의 조합을 포함하는 단리된 항체를 제공한다.

[0164] 소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 전문이 본 명세서에 참고로 편입된 문헌[MacCallum RM et al., (1996) J Mol Biol 262: 732-745]에 결정될 수 있다. 또한, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Martin A, "Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains," in *Antibody Engineering*, Kontermann 및 **Dübel**, eds., Chapter 31, pp. 422-439, Springer-Verlag, Berlin (2001)] 참조.

[0165] 소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 문헌[Lefranc M-P, (1999) The Immunologist 7: 132-136 및 Lefranc M-P et al., (1999) Nucleic Acids Res 27: 209-212]에 기재된 바와 같은 IMGT 넘버링 시스템에 따라 결정될 수 있으며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다. IMGT 넘버링 계획에 따르면, CDRH1은 위치 26 내지 35에 있고, CDRH2는 위치 51 내지 57에 있으며, CDRH3은 위치 93 내지 102에 있고, CDRL1은 위치 27 내지 32에 있으며, CDRL2는 위치 50 내지 52에 있고, 그리고 CDRL3은 위치 89 내지 97에 있다.

[0166] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 문헌[Lefranc M-P (1999) 상기 참조 및 Lefranc M-P et al., (1999) 상기 참조]에 기재된 바와 같은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고 본 명세서의 표 1에 개시된 항체의 CDR을 포함한다.

[0167] 소정의 실시형태에서, 항체의 CDR은 카바트 CDR과 코티아 구조적 루프 사이의 절충을 나타내는 AbM 초가변 영역을 지칭하며, 본 명세서에 전체가 참고로 편입된 옥스퍼드 몰레큘러사의 AbM 항체 모델링 소프트웨어(옥스퍼드 몰레큘러 그룹, 인코포레이티드)에 의해 사용되는 AbM 넘버링 계획에 따라 결정될 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고, AbM 넘버링 계획에 의해 결정되는 본 명세서의 표 1에 개시된 항체의 CDR을 포함하는 항체를 제공한다.

[0168] 특정 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 VH의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 영역 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 VL의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하되, VH 및 VL의 아미노산 서열은 각각 서열번호 7 및 8; 63 및 8; 64 및 66; 7 및 67; 또는 65 및 68에 제시되어 있고, 각각의 CDR은 CDR의 맥칼럼 정의, 카바트 정의, 코티아 정의, 카바트 정의와 코티아 정의의 조합, IMGT 넘버링 시스템 또는 AbM 정의에 따라 정의된다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 7에 제시된 VH 도메인의 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 영역 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 8에 제시된 VL 도메인의 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 각각의 CDR은 CDR의 맥칼럼 정의, 카바트 정의, 코티아 정의, 카바트 정의와 코티아 정의의 조합, IMGT 넘버링 시스템 또는 AbM 정의에 따라 정의된다.

[0169] 다른 양상에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 상보성 결정 영역(CDR)인 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3을 포함하는 중쇄 가변 영역(VH) 및 CDR인 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3을 포함하는 경쇄 가변 영역(L)을 포함하되,

[0170] (a) CDRH1은 $X_1X_2X_3X_4H$ (서열번호 82)의 아미노산 서열을 포함하되,

[0171] X_1 은 G, A, D, E, L, N, Q, R, S 또는 W이고;

[0172] X_2 는 Y, F, H, N, R 또는 S이며;

[0173] X_3 은 Y 또는 H이고; 그리고

[0174] X_4 는 M, I, T 또는 V이고;

[0175] (b) CDRH2는 WINPNSGGTNYAQKFQG(서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하며;

[0176] (c) CDRH3은 $X_1PX_2YX_3GX_4GLX_5X_6$ (서열번호 83)의 아미노산 서열을 포함하되,

- [0177] X_1 은 E 또는 G이고;
- [0178] X_2 는 G, A, R 또는 S이며;
- [0179] X_3 은 Y, F, H 또는 S이고;
- [0180] X_4 는 S, A 또는 T이며;
- [0181] X_5 는 D 또는 G이고; 그리고
- [0182] X_6 은 Y 또는 H이며;
- [0183] (d) CDRL1은 GGDDIGDKRVH(서열번호 4)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0184] (e) CDRL2는 EDRYRPS(서열번호 5)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는
- [0185] (f) CDRL3은 QX₁WX₂X₃X₄X₅X₆X₇PGV(서열번호 84)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0186] X_1 은 V 또는 I이고;
- [0187] X_2 는 D, A, E, G, H, N 또는 Y이며;
- [0188] X_3 은 S, A, E, F, L, P, R, T, W 또는 Y이고;
- [0189] X_4 는 S, A, L, M 또는 R이며;
- [0190] X_5 는 S, A, F, G, L, P, Q, R 또는 T이고;
- [0191] X_6 은 D, E, H, V 또는 Y이며; 그리고
- [0192] X_7 은 H 또는 Y이다.
- [0193] 소정의 실시형태에서, CDRH1은 X₁X₂X₃X₄H(서열번호 82)의 아미노산 서열을 포함하되, X_1 은 G, A, D, E, L, N, Q, R, S 또는 W이고; X_2 는 Y, F, H, N, R 또는 S이며; X_3 은 Y 또는 H이고; 그리고 X_4 는 M, I, T 또는 V이다. 소정의 실시형태에서, CDRH3은 X₁PX₂YX₃GX₄GLX₅X₆(서열번호 83)의 아미노산 서열을 포함하되, X_1 은 E 또는 G이고; X_2 는 G, A, R 또는 S이며; X_3 은 Y, F, H 또는 S이고; X_4 는 S, A 또는 T이며; X_5 는 D 또는 G이고; 그리고 X_6 은 Y 또는 H이다. 소정의 실시형태에서, CDRL3은 QX₁WX₂X₃X₄X₅X₆X₇PGV(서열번호 84)의 아미노산 서열을 포함하되, X_1 은 V 또는 I이고; X_2 는 D, A, E, G, H, N 또는 Y이며; X_3 은 S, A, E, F, L, P, R, T, W 또는 Y이고; X_4 는 S, A, L, M 또는 R이며; X_5 는 S, A, F, G, L, P, Q, R 또는 T이고; X_6 은 D, E, H, V 또는 Y이며; 그리고 X_7 은 H 또는 Y이다. 소정의 실시형태에서,
- [0194] (a) CDRH1은 X₁X₂X₃X₄H(서열번호 82)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0195] X_1 은 G, A, D, E, L, N, Q, R, S 또는 W이고;
- [0196] X_2 는 Y, F, H, N, R 또는 S이며;
- [0197] X_3 은 Y 또는 H이고; 그리고
- [0198] X_4 는 M, I, T 또는 V이며;
- [0199] (b) CDRH2는 WINPNSGGTNYAQKFQG(서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하며;
- [0200] (c) CDRH3은 X₁PX₂YX₃GX₄GLX₅X₆(서열번호 83)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0201] X_1 은 E 또는 G이고;

- [0202] X_2 는 G, A, R 또는 S이며;
- [0203] X_3 은 Y, F, H 또는 S이고;
- [0204] X_4 는 S, A 또는 T이며;
- [0205] X_5 는 D 또는 G이고; 그리고
- [0206] X_6 은 Y 또는 H이며;
- [0207] (d) CDRL1은 GGDDIGDKRVH(서열번호 4)의 아미노산 서열을 포함하고;
- [0208] (e) CDRL2는 EDRYRPS(서열번호 5)의 아미노산 서열을 포함하며; 그리고
- [0209] (f) CDRL3은 QX₁WX₂X₃X₄X₅X₆X₇PGV(서열번호 84)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0210] X_1 은 V 또는 I이고;
- [0211] X_2 는 D, A, E, G, H, N 또는 Y이며;
- [0212] X_3 은 S, A, E, F, L, P, R, T, W 또는 Y이고;
- [0213] X_4 는 S, A, L, M 또는 R이며;
- [0214] X_5 는 S, A, F, G, L, P, Q, R 또는 T이고;
- [0215] X_6 은 D, E, H, V 또는 Y이며; 그리고
- [0216] X_7 은 H 또는 Y이다.
- [0217] 소정의 실시형태에서,
- [0218] (a) CDRH1은 X₁X₂YX₃H(서열번호 85)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0219] X_1 은 G, A, D, L, R, S 또는 W이고;
- [0220] X_2 는 Y, F, H 또는 N이며; 그리고
- [0221] X_3 은 M 또는 V이고;
- [0222] (b) CDRH3은 EPGYX₁GX₂GLDX₃(서열번호 86)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0223] X_1 은 Y 또는 F이고;
- [0224] X_2 은 S 또는 T이며; 그리고
- [0225] X_3 은 Y 또는 H이고; 그리고/or
- [0226] (c) CDRL3은 QVWX₁X₂X₃X₄X₅X₆PGV(서열번호 87)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0227] X_1 은 D, A, E, H, N 또는 Y이고;
- [0228] X_2 는 S, A, E, L, R 또는 T이며;
- [0229] X_3 은 S, A, L 또는 R이고;
- [0230] X_4 는 S, A, F, G, L, P, Q 또는 R이며;
- [0231] X_5 는 D, E 또는 V이고; 그리고

- [0232] X_6 은 H 또는 Y이다.
- [0233] 소정의 실시형태에서, CDRH1은 $X_1X_2YX_3H$ (서열번호 85)의 아미노산 서열을 포함하되, X_1 은 G, A, D, L, R, S 또는 W이며; X_2 는 Y, F, H 또는 N이며; 그리고 X_3 은 M 또는 V이다. 소정의 실시형태에서, CDRH3은 EPGYX₁GX₂GLDX₃(서열번호 86)의 아미노산 서열을 포함하되, X_1 은 Y 또는 F이고; X_2 는 S 또는 T이며; 그리고 X_3 은 Y 또는 H이다. 소정의 실시형태에서, CDRL3은 QVWX₁X₂X₃X₄X₅X₆PGV(서열번호 87)의 아미노산 서열을 포함하되, X_1 은 D, A, E, H, N 또는 Y이고; X_2 는 S, A, E, L, R 또는 T이며; X_3 은 S, A, L 또는 R이고; X_4 는 S, A, F, G, L, P, Q 또는 R이며; X_5 는 D, E 또는 V이고; 그리고 X_6 은 H 또는 Y이다. 소정의 실시형태에서,
- [0234] (a) CDRH1은 $X_1X_2YX_3H$ (서열번호 85)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0235] X_1 은 G, A, D, L, R, S 또는 W이고;
- [0236] X_2 는 Y, F, H 또는 N이며; 그리고
- [0237] X_3 은 M 또는 V이고;
- [0238] (b) CDRH3은 EPGYX₁GX₂GLDX₃(서열번호 86)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0239] X_1 은 Y 또는 F이고;
- [0240] X_2 는 S 또는 T이며; 그리고
- [0241] X_3 은 Y 또는 H이고; 그리고
- [0242] (c) CDRL3은 QVWX₁X₂X₃X₄X₅X₆PGV(서열번호 87)의 아미노산 서열을 포함하되,
- [0243] X_1 은 D, A, E, H, N 또는 Y이고;
- [0244] X_2 는 S, A, E, L, R 또는 T이며;
- [0245] X_3 은 S, A, L 또는 R이고;
- [0246] X_4 는 S, A, F, G, L, P, Q 또는 R이며;
- [0247] X_5 는 D, E 또는 V이고; 그리고
- [0248] X_6 은 H 또는 Y이다.
- [0249] 소정의 실시형태에서, CDRH1은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CDRH3은 서열번호 3 또는 59의 아미노산 서열을 포함한다. 소정의 실시형태에서, CDRL3은 서열번호 6, 61, 62 또는 63의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0250] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, 상기 항체는 각각 서열번호 1, 2 및 3; 또는 1, 2 및 59에 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, 상기 항체는 각각 서열번호 4, 5, 및 6; 4, 5, 및 60; 4, 5, 및 61; 또는 4, 5, 및 62에 제시된 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, 상기 항체는 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하되, CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은 각각 서열번호 1, 2, 3, 4, 5, 및 6; 1, 2, 59, 4, 5, 및 6; 1, 2, 3, 4, 5, 및 60; 1, 2, 3, 4, 5, 및 61; 또는 1, 2, 3, 4, 5, 및 62에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0251] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결

합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 하기를 포함한다:

- [0252] (a) CDRH1은 GYYMH(서열번호 1)의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0253] (b) CDRH2는 WINPNSGGTNYAQKFQG(서열번호 2)의 아미노산 서열을 포함하며;
 - [0254] (c) CDRH3은 EPGYYGSLDY(서열번호 3)의 아미노산 서열을 포함하고;
 - [0255] (d) CDRL1은 GGDDIGDKRVH(서열번호 4)의 아미노산 서열을 포함하며;
 - [0256] (e) CDRL2는 EDRYRPS(서열번호 5)의 아미노산 서열을 포함하고; 그리고/또는
 - [0257] (f) CDRL3은 QVWDSSSDHPGV(서열번호 6)의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0258] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, 상기 항체는 각각 서열번호 1, 2 및 3에 제시된 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 아미노산 서열을 포함하는 VH 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, 상기 항체는 각각 서열번호 4, 5, 및 6에 제시된 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 아미노산 서열을 포함하는 VL 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하되, 상기 항체는 CDRH1, CDRH2 및 CDRH3 영역을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 상기 CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3 영역은 각각 서열번호 1, 2, 3, 4, 5, 및 6에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.
- [0259] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%(예를 들어, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 63, 64 또는 65의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0260] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%(예를 들어, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 66, 67 또는 68의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0261] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 7의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 8의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 서열번호 7에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100%(예를 들어, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역, 및 서열번호 8에 제시된 아미노산 서열에 대해 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 100% (예를 들어, 적어도 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 또는 99%) 동일한 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역은 각각 서열번호 63 및 8; 64 및 66; 7 및 67; 또는 65 및 68의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0262] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 인간 IGHV1-2 생식계열 서열(예를 들어, 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖는, 예를 들어, IGHV1-2*02)로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역을 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 프레임워크 1, 프레임워크 2, 프레임워크 3, CDRH1 및 CDRH2(예를 들어, 이들 영역 중 2, 3, 4 또는 5개)로부터 선택된 하나 이상의 영역은 인간 IGHV1-2 생식계열 서열(예를 들어, 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖는, 예를 들어, IGHV1-2*02)로부터 유래될 수 있다. 일 실시형태에서, 프레임워크 1, 프레임워크 2, 프레임워크 3, CDRH1 및 CDRH2는 모두 인간

IGHV1-2 생식계열 서열(예를 들어, 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖는, 예를 들어, IGHV1-2*02)로부터 유래된다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0263] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 인간 IGLV3-21 생식계열 서열(예를 들어, IGLV3-21*02(예를 들어, 서열번호 41의 아미노산 서열을 가짐), 또는 IGLV3-21*03)로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 갖는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 프레임워크 1, 프레임워크 2, 프레임워크 3, CDRL1 및 CDRL2으로부터 선택된 하나 이상의 영역(예를 들어, 이들 영역 중 2, 3, 4 또는 5)은 인간 IGLV3-21 생식계열 서열(예를 들어, IGLV3-21*02(예를 들어, 서열번호 41의 아미노산 서열을 가짐), 또는 IGLV3-21*03)로부터 유래될 수 있다. 일 실시형태에서, 프레임워크 1, 프레임워크 2, 프레임워크 3, CDRL1 및 CDRL2는 모두 인간 IGLV3-21 생식계열 서열(예를 들어, IGLV3-21*02(예를 들어, 서열번호 41의 아미노산 서열을 가짐), 또는 IGLV3-21*03)로부터 유래된다. 소정의 실시형태에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0264] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 인간 IGHV1-2 생식계열 서열(예를 들어, 서열번호 40의 아미노산 서열을 갖는, 예를 들어, IGHV1-2*02)로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 및 인간 IGLV3-21 생식계열 서열(예를 들어, IGLV3-21*02(예를 들어, 서열번호 41의 아미노산 서열을 가짐), 또는 IGLV3-21*03)로부터 유래된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 3에 제시된 아미노산 서열을 포함하고, 그리고 경쇄 가변 영역은 서열번호 6에 제시된 아미노산 서열을 포함한다.

[0265] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 대한 결합에 대해 각각 서열번호 7 및 8에 제시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 교차 경쟁하는 단리된 항체를 제공한다.

[0266] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어, 각각 서열번호 7 및 8에 제시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열을 포함하는 항체와 동일한 또는 중복되는 CD137의 에피토프(예를 들어, 인간 CD137의 에피토프 또는 사이노몰거스 CD137의 에피토프)에 결합하는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 항체의 에피토프는, 예를 들어, NMR 분광학, 표면 플라즈몬 공명(비아코어(BIAcore)(등록상표)), X-선 회절 결정학 연구, ELISA 검정, 질량분석법(예를 들어, 액체 크로마토그래피 전기분무 질량분석법)과 결합된 수소/중수소 교환, 어레이-기반 올리고-펩타이드 스캐닝 검정, 및/또는 돌연변이유발 맵핑(예를 들어, 부위-지정 돌연변이유발 맵핑)에 의해 결정될 수 있다. X-선 결정학에 대해, 결정화는 임의의 당업계에 공지된 방법을 이

용하여 수행될 수 있다(예를 들어, 문헌[Giegé R *et al.*, (1994) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 50(Pt 4): 339-350; McPherson A (1990) *Eur J Biochem* 189: 1-23; Chayen NE (1997) *Structure* 5: 1269-1274; McPherson A (1976) *J Biol Chem* 251: 6300-6303], 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨). 항체:항원 결정은 잘 공지된 X-선 회절 기법을 이용하여 연구될 수 있고, 컴퓨터 소프트웨어, 예컨대 X-PLOR(예일 유니버시티(Yale University), 1992, 몰레큘러 시뮬레이션 인코포레이티드(Molecular Simulations, Inc.)에 의해 배포됨; 예를 들어, 문헌[Meth Enzymol (1985) volumes 114 & 115, eds Wyckoff HW *et al.*; U.S. Patent Application No. 2004/0014194], 및 BUSTER(문헌[Bricogne G (1993) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 49(Pt 1): 37-60; Bricogne G (1997) *Meth Enzymol* 276A: 361-423, ed Carter CW; Roversi P *et al.*, (2000) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56(Pt 10): 1316-1323], 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨)를 이용하여 개선될 수 있다. 돌연변이유발 맵핑 연구는 당업자에게 공지된 임의의 방법을 이용하여 달성될 수 있다. 예를 들어, 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 기법을 포함하는 돌연변이유발 기법의 설명에 대해 문헌[Champe M *et al.*, (1995) 상기 참조] 및 문헌[Cunningham BC & Wells JA (1989) 상기 참조. 구체적 실시형태에서, 항체의 에피토프는 알라닌 스캐닝 돌연변이유발 연구를 이용하여 결정된다. 추가로, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 동일 또는 중복되는 에피토프를 인식하고 이에 결합하는 항체는 일상적인 기법, 예컨대 면역검정을 이용하여, 예를 들어, 표적 항원에 대한 다른 항체의 결합을 차단하는 하나의 항체의 능력을 나타냄으로써(즉, 경쟁적 결합 검정) 동정될 수 있다. 경쟁 결합 검정은 또한 두 항체가 에피토프에 대해 유사한 결합 특이성을 갖는지의 여부를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 경쟁적 결합은 시험하의 면역글로불린이 공통 항원, 예컨대 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 대한 기준 항체의 특이적 결합을 저해하는 검정에서 결정될 수 있다. 경쟁적 결합 검정의 수많은 유형이, 예를 들어: 고체상 직접 또는 간접적 방사면역측정법(RIA), 고체상 직접적 또는 간접적 효소 면역검정(EIA), 샌드위치 경쟁 검정(문헌[Stahli C *et al.*, (1983) *Methods Enzymol* 9: 242-253] 참조); 고체상 직접적 바이오틴-아비딘 EIA(문헌[Kirkland TN *et*

al., (1986) *J Immunol* 137: 3614-9] 참조); 고체상 직접 표지된 검정, 고체상 직접 표지된 샌드위치 검정(문헌[Harlow E & Lane D, (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press] 참조); I-125 표지를 이용하는 고체상 직접 표지 RIA(문헌[Morel GA *et al.*, (1988) *Mol Immunol* 25(1): 7-15] 참조); 고체상 직접적 바이오틴-아비딘 EIA(문헌[Cheung RC *et al.*, (1990) *Virology* 176: 546-52] 참조); 및 직접 표지된 RIA(문헌[Moldenhauer G *et al.*, (1990) *Scand J Immunol* 32: 77-82] 참조)에 공지되어 있으며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다. 전형적으로, 이러한 검정은 비표지된 시험 면역글로불린 및 표지된 기준 면역글로불린 중 하나를 보유하는 고체 표면 또는 세포에 결합된 정제된 항원(예를 들어, CD137, 예컨대 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 사용을 수반한다. 경쟁적 저해는 시험 면역글로불린의 존재하에 고체 표면 또는 세포에 결합된 표지의 양을 결정함으로써 측정될 수 있다. 보통, 시험 면역글로불린은 과량으로 존재한다. 보통, 경쟁 항체가 과량으로 존재할 때, 이는 공통 항원에 대한 기준 항체의 특이적 결합을 적어도 50 내지 55%, 55 내지 60%, 60 내지 65%, 65 내지 70%, 70 내지 75% 이상만큼 저해할 것이다. 경쟁 결합 검정은 표지된 항원 또는 표지된 항체 중 하나를 이용하여 매우 다수의 상이한 형식으로 배치될 수 있다. 이 검정의 통상적인 형태에서, 항원은 96-웰 플레이트 상에 고정된다. 이어서, 표지된 항체의 항원에 대한 결합을 차단하는 비표지된 항체의 능력은 방사성 또는 효소 표지를 이용하여 측정된다. 추가적인 상세한 설명에 대해, 예를 들어, 문헌[Wagener C *et al.*, (1983) *J Immunol* 130: 2308-2315; Wagener C *et al.*, (1984) *J Immunol Methods* 68: 269-274; Kuroki M *et al.*, (1990) *Cancer Res* 50: 4872-4879; Kuroki M *et al.*, (1992) *Immunol Invest* 21: 523-538; Kuroki M *et al.*, (1992) *Hybridoma* 11: 391-407 및 *Antibodies: A Laboratory Manual*, Ed Harlow E & Lane D editors *supra*, pp. 386-389]을 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

- [0267] 다른 양상에서, 본 개시내용은 항체 또는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, (a) 상기 항체는 서열번호 37의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합하고 그리고 (b) 항체는 서열번호 38의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합하지 않는다.
- [0268] 다른 양상에서, 본 개시내용은 항체 또는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 대해서보다 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 대해 더 낮은 친화도로 특이적으로 결합한다.
- [0269] 다른 양상에서, 본 개시내용은 항체 또는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 특이적으로 결합한다.
- [0270] 다른 양상에서, 본 개시내용은 항체 또는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체와 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 단백질 사이의 결합은 항체와 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 단백질 사이의 결합에 비해 실질적으로 약화된다.
- [0271] 다른 양상에서, 본 개시내용은 항체 또는 인간 CD137에 특이적으로 결합하는 단리된 항체를 제공하되, 상기 항체는 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 대한 결합에 비해 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 대한 감소된 결합 또는 결합의 부재를 나타낸다.
- [0272] 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 발명의 임의의 항체와 동일한 인간 CD137의 에피토프에 특이적으로 결합하는 항체 또는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 대해서보다 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 대해 더 낮은 친화도로 특이적으로 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 특이적으로 결합하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체와 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 단백질 사이의 결합은 상기 항체와 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 단백질 사이의 결합에 비해 실질적으로 약화된다. 일 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 37의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 대한 결합에 비해 서열번호 38의 아미노산 서열을 갖는 단백질에 대해 감소된 결합 또는 결합의 부재를 나타낸다.
- [0273] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 26 내지 31 및 43 중 임의의 하나의 아미노산 서열을 포함하는 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 26 내지 31 및 43 중 임의의 하나의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 26 내지 31 및 43 중 임의의 하나의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 복수의 아미노산 서열을 포함하는 인간 CD137의 영역 내에 위치한 불연속 에피토프에 결합하고, 복수의 아미노산 서열 중 각각은 서열번호 26 내지 31 및 43 중 임의의 하나의 아미노산 서열로 이루어지거나, 본질적으로 이루어지거나 또는 이들을 포함한다.

- [0274] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 26에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나, 또는 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137 단백질 또는 이의 단편에 결합될 때, 수소/중수소 교환 검정에 의해 결정하여, 항체의 부재하에 서열번호 26에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환에 비해 서열번호 26에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 감소시키는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 수소/중수소 교환에서의 감소는, 예를 들어 본 명세서에서 실시예에 기재하는 바와 같은 수소-중수소 교환(hydrogen-deuterium exchange: HDX)을 이용하여 측정된다.
- [0275] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 27에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137 단백질 또는 이의 단편에 결합될 때, 수소/중수소 교환 검정에 의해 결정하여, 항체의 부재하에 서열번호 27에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환에 비해 서열번호 27에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 감소시키는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 수소/중수소 교환의 감소는, 예를 들어, 본 명세서에서 실시예에 기재한 바와 같이, 수소-중수소 교환(HDX)을 이용하여 측정된다.
- [0276] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 28에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137 단백질 또는 이의 단편에 결합될 때, 수소/중수소 교환 검정에 의해 결정하여, 항체의 부재하에 서열번호 28에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환에 비해 서열번호 28에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 감소시키는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 수소/중수소 교환의 감소는 수소-중수소 교환(HDX), 예를 들어, 본 명세서에서 실시예에 기재한 바와 같이 측정된다.
- [0277] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 29에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137 단백질 또는 이의 단편에 결합될 때, 수소/중수소 교환 검정에 의해 결정하여, 항체의 부재하에 서열번호 29에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환에 비해 서열번호 29에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 감소시키는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 수소/중수소 교환의 감소는, 예를 들어, 본 명세서에서 실시예에 기재한 바와 같은 수소-중수소 교환(HDX)을 이용하여 측정된다.
- [0278] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137 단백질 또는 이의 단편에 결합될 때, 수소/중수소 교환 검정에 의해 결정하여, 항체의 부재하에 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환에 비해 서열번호 30에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 감소시키는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 수소/중수소 교환의 감소는, 예를 들어, 본 명세서에서 실시예에 기재한 바와 같은 수소-중수소 교환(HDX)을 이용하여 측정된다.
- [0279] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 서열번호 31에 제시된 아미노산 서열을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137 단백질 또는 이의 단편에 결합될 때, 수소/중수소 교환 검정에 의해 결정하여, 항체의 부재하에 서열번호 31에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환에 비해 서열번호 31에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환을 감소시키는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 수소/중수소 교환의 감소는, 예를 들어, 본 명세서에서 실시예에 기재한 바와 같은 수소-중수소 교환(HDX)을 이용하여 측정된다.
- [0280] 소정의 실시형태에서, 단리된 항체는 KRGI(서열번호 43)의 아미노산 서열을 포함하거나, 이것으로 본질적으로 이루어지거나 또는 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 KRGI의 적어도 1, 적어도 2 또는 적어도 3개의 아미노산 잔기에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 KRGI의 모두 4개의 아미노산 잔기에 결합한다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137 단백질 또는 이의 단편에 결합될 때, 수소/중수소 교환 검정에 의해 결정하여, 항체의 부재하에 서열번호 43에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영역에서의 수소/중수소 교환에 비해 서열번호 43에 제시된 아미노산 서열로 이루어진 영

역에서의 수소/중수소 교환을 감소시키는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 수소/중수소 교환의 감소는, 예를 들어, 본 명세서에서 실시예에 기재한 바와 같은 수소-중수소 교환(HDX)을 이용하여 측정된다. 다른 양상에서, 본 개시내용은 인간 CD137에 특이적으로 결합하고, 뮤린 CD137에 실질적으로 결합하지 않는 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 46의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 특이적으로 결합하고/하거나 서열번호 45의 아미노산 서열을 포함하는 단백질에 실질적으로 결합하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 46의 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진 단백질에 특이적으로 결합하고/하거나 서열번호 45의 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진 단백질에 실질적으로 결합하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 46의 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진 단백질에 특이적으로 결합하고, 서열번호 45의 아미노산 서열로 이루어지거나 또는 본질적으로 이루어진 단백질에 실질적으로 결합하지 않는다.

[0281] 다른 양상에서, 본 개시내용은, 예를 들어, 본 발명의 항체와 동일한 인간 CD137의 에피토프에 결합하는, 예를 들어, 특이적으로 결합하는 항체 또는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 에피토프는, 예를 들어, 본 명세서에서 실시예에 기재한 바와 같은 수소-중수소 교환(HDX)에 의해, 또는, 예를 들어, 본 명세서에서 실시예에 기재한 바와 같은 단백질 돌연변이유발에 의해 결정된다.

[0282] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, 상기 항체가 VH 및 VL 중 각각의 둘을 포함하는 F(ab')₂로서 형식화된다면, F(ab')₂는 서열번호 27의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, 상기 항체가 VH 및 VL 중 각각의 둘을 포함하는 F(ab')₂로서 형식화된다면, F(ab')₂는 수소/중수소 교환 검정에 의해 측정하여 서열번호 27의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 F(ab')₂의 부재하에 동일 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 (예를 들어, 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼) 실질적으로 감소시킨다.

[0283] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, 상기 항체가 VH 및 VL을 포함하는 Fab로서 형식화된다면, Fab는 서열번호 26의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프, 및 선택적으로 서열번호 28 및/또는 29의 아미노산 서열로 이루어진 인간 CD137의 영역 내에 위치한 에피토프에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, 상기 항체가 VH 및 VL을 포함하는 Fab로서 형식화된다면, 서열번호 26의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 Fab의 부재하에 동일 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 (예를 들어, 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼) 실질적으로 감소시키고, 그리고 선택적으로, 수소/중수소 교환 검정에 의해 측정하여 서열번호 28 및/또는 서열번호 29의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 Fab의 부재하에 동일 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 (예를 들어, 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼) 실질적으로 감소시킨다.

[0284] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, 상기 항체가 쇠(각각의 쇠는 VH 및 VL을 포함함) 중 각각의 둘을 포함하는 F(ab')₂로서 형식화된다면, F(ab')₂는 수소/중수소 교환 검정에 의해 측정하여 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 F(ab')₂의 부재하에 동일 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 (예를 들어, 적어도 50%, 60%, 70%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%만큼) 실질적으로 감소시킨다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 VH 및 VL을 포함하되, 상기 항체가 VH 및 VL을 포함하는 Fab로서 형식화된다면, Fab는 수소/중수소 교환 검정에 의해 측정하여 서열번호 34의 아미노산 서열로 이루어진 CD137의 영역에서의 수소의 중수소로의 교환을 Fab의 부재하에 동일 영역에서의 수소의 중수소로의 교환에 비해 (예를 들어, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 초과만큼의 감소가 아님) 실질적으로 감소시키지 않는다.

[0285] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고, 인간 CD137이 인간 CD137L에 결합하는 것을 저해하지 않는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 인간 CD137L에 대한 결합은 항체의 부재하에 인간 CD137의 인간 CD137L에 대한 결합에 비해 항체의 존재하에 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 초과만큼 감소되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 인간 CD137의 가용성 단편이 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것을 저해하지 않는다. 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 가용성 단편이 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것은 항체의 부재하에 인간 CD137의 가용성 단편이 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것에 비해 항체의 존재하에 1%,

2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 초과만큼 감소되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137-발현 세포가 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것을 저해하지 않는다. 소정의 실시형태에서, CD137-발현 세포가 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것은 항체의 부재하에 CD137-발현 세포가 인간 CD137L의 가용성 단편에 결합하는 것에 비해 항체의 존재하에 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 초과만큼 감소되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137-발현 세포가 CD137L-발현 세포에 결합하는 것을 저해하지 않는다. 소정의 실시형태에서, CD137-발현 세포가 CD137L-발현 세포에 결합하는 것은 항체의 부재하에 CD137-발현 세포가 CD137L-발현 세포에 결합하는 것에 비해 항체의 존재하에 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 초과만큼 감소되지 않는다.

[0286] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 항체의 부재하에 CD137 다량체화 수준에 비해 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배, 100배 이상만큼 CD137 다량체화(예를 들어, 이량체화 또는 삼량체화) 수준을 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, 다량체 CD137은 CD137 및 CD137L 분자를 포함하는 복합체(예를 들어, 3개의 CD137L 분자와 2개의 CD137 분자를 포함하는 복합체, 또는 3개의 CD137L 분자 및 3개의 CD137 분자를 포함하는 복합체)에 존재한다. 소정의 실시형태에서, CD137 다량체화(예를 들어, 이량체화 또는 삼량체화) 수준은 평형상태로 CD137 및 CD137L 분자를 포함하는 시험관내 시스템에서 측정되되, 선택적으로 CD137 분자는 지질 이중층 막에 있다. 소정의 실시형태에서, CD137 다량체화(예를 들어, 이량체화 또는 삼량체화) 수준은 세포에서 또는 세포의 혈장막 상에서 측정된다. 소정의 실시형태에서, CD137 다량체화(예를 들어, 이량체화 또는 삼량체화) 수준은 CD137의 가용성 단편을 이용하여 측정된다.

[0287] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 서열번호 9, 10, 11, 12, 13, 14, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 73, 74, 75, 76, 77 또는 78에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 9에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 10에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 11에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 12에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 13에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 14에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 49에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 50에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 51에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 52에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 53에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 54에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 73에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 74에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 75에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 76에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 77에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 78에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄를 포함한다.

[0288] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 서열번호 21, 79, 80 또는 81에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 21에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 79에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 80에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 81에 제시된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다.

[0289] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 서열번호 9, 10, 11, 12, 13, 14, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 73, 74, 75, 76, 77 또는 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄; 및 서열번호 21, 79, 80 또는 81의 아미노산 서열을 포함하

[illegible]

[0290] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 9, 10, 11, 12, 13, 14, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 73, 74, 75, 76, 77 또는 78의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21, 79, 80 또는 81의 아미노산 서열로 이루어

진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 10의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 12의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 14의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 49의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 50의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 51의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 52의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 53의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 54의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 73의 아미노산 서열의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 74의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 21의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 75의 아미노산 서열의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 79의 아미노산 서열의 아미노산 서열의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 76의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 79의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 80의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 49의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 80의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 77의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 81의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 서열번호 78의 아미노산 서열로 이루어진 중쇄; 및 서열번호 81의 아미노산 서열로 이루어진 경쇄를 포함한다.

- [0291] 임의의 항체 형식은 본 명세서에 개시된 항체에서 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 단일쇄 항체 또는 단일쇄 Fv(scFv)이다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 Fc 영역(scFv-Fc)와 융합된 scFv이다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 Fab 단편이다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 F(ab')₂ 단편이다.
- [0292] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 및 제2 항원에 특이적으로 결합하는 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체)이다.
- [0293] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 제2 항원에 특이적으로 결합하는 제2 항체에 접합된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 제2 항체에 공유적으로 접합된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 제2 항체에 비공유적으로 접합된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 제2 항체에 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 제2 항원은 종양-연관 항원(예를 들어, 종양에서 과발현된 폴리펩타이드, 종양바이러스로부터 유래된 폴리펩타이드, 종양에 특이적인 번역후 변형을 포함하는 폴리펩타이드, 종양에서 특이적으로 돌연변이되는 폴리펩타이드)이다. 소정의 실시형태에서, 종양-연관 항원은 EGFR(예를 들어, 인간 EGFR), Her2(예를 들어, 인간 Her2) 또는 CD20(예를 들어, 인간 CD20)이다.
- [0294] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항체는 세포독성제, 세포정지제, 독소, 방사성핵종 또는 검출 가능한 표지에 접합된다. 소정의 실시형태에서, 세포독성제는 이와 접촉되는 세포의 사멸 또는 파괴를 유도할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 세포정지제는 이와 접촉되는 세포의 증상을 방지하거나 또는 실질적으로 감소시키고/시키거나 접촉되는 세포의 활성 또는 기능을 저해할 수 있다. 소정의 실시형태에서, 세포독성제 또는 세포정지제는 화학치료제이다. 소정의 실시형태에서, 방사성핵종은 동위원소 ³H, ¹⁴C, ³²P, ³⁵S, ³⁶Cl, ⁵¹Cr, ⁵⁷Co, ⁵⁸Co, ⁵⁹Fe, ⁶⁷Cu, ⁹⁰Y, ⁹⁹Tc, ¹¹¹In, ¹¹⁷Lu, ¹²¹I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ¹⁹⁸Au, ²¹¹At, ²¹³Bi, ²²⁵Ac 및 ¹⁸⁶Re로 이루어진 군으로부터 선택된다. 소정의 실시형태에서, 검출 가능한 표지는 형광 모이어티 또는 클릭 화학 조작을 포함한다.
- [0295] 임의의 면역글로불린(Ig) 불변 영역은 본 명세서에 개시된 항체에서 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, Ig

영역은 인간 IgG, IgE, IgM, IgD, IgA 또는 IgY 면역글로불린 분자, 임의의 부류(예를 들어, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ 및 IgA₂), 또는 임의의 하위부류(예를 들어, IgG_{2a} 및 IgG_{2b})의 면역글로불린 분자이다.

- [0296] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 서열번호 15, 16, 17, 18, 19 또는 20의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 서열번호 22의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 불변 영역을 포함한다.
- [0297] 소정의 실시형태에서, 1, 2개 이상의 돌연변이(예를 들어, 아미노산 치환)는 항체의 하나 이상의 기능적 특성, 예컨대 혈청 반감기, 상보체 고정, Fc 수용체 결합 및/또는 항원-의존적 세포의 세포독성을 변경시키기 위해 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 본 명세서에 기재된 항체의 Fc 영역(예를 들어, CH2 도메인(인간 IgG₁의 잔기 231 내지 340) 및/또는 CH3 도메인(인간 IgG₁의 잔기 341 내지 447) 및/또는 힌지 영역 내로 도입된다.
- [0298] 소정의 실시형태에서, 힌지 영역 내 시스테인 잔기의 수가, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 제5,677,425호에 기재된 바와 같이 변경(예를 들어 증가 또는 감소)되도록 1, 2개 이상의 돌연변이(예를 들어, 아미노산 치환)가 Fc 영역(CH1 도메인)의 힌지 영역 내로 도입된다. CH1 도메인의 힌지 영역 내 시스테인 잔기의 수는, 예를 들어, 경쇄 및 중쇄의 조립을 용이하게 하기 위해, 또는 항체(예를 들어, 단일특이성 또는 다중특이성 항체)의 안정성을 변경(예를 들어, 증가 또는 감소)하기 위해, 변경될 수 있다.
- [0299] 구체적 실시형태에서, 1, 2개 이상의 아미노산 돌연변이(예를 들어, 치환, 삽입 또는 결실)는 생체내 항체의 반감기를 변경(예를 들어, 감소 또는 증가)시키기 위해 IgG 불변 도메인, 또는 이의 FcRn-결합 단편(바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입된다. 예를 들어, 생체내 항체(예를 들어, 단일특이성 또는 다중특이성 항체)의 반감기를 변경(예를 들어, 감소 또는 증가)시키는 돌연변이의 예에 대해 국제 특허 출원 공개 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631; 및 미국 특허 제5,869,046호, 제6,121,022호, 제6,277,375호 및 제6,165,745호를 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다. 소정의 실시형태에서, 1, 2개 이상의 돌연변이(예를 들어, 치환, 삽입 또는 결실)는 생체내 항체의 반감기를 감소시키기 위해 IgG 불변 도메인 또는 이의 FcRn-결합 단편(바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입된다. 다른 실시형태에서, 1, 2개 이상의 아미노산 돌연변이(예를 들어, 치환, 삽입 또는 결실)는 생체내 항체의 반감기를 증가시키기 위해 IgG 불변 도메인 또는 이의 FcRn-결합 단편(바람직하게는 Fc 또는 힌지-Fc 도메인 단편) 내로 도입된다. 구체적 실시형태에서, 항체는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 제2 불변(CH2) 도메인(인간 IgG₁의 잔기 231 내지 340) 및/또는 제3 불변(CH3) 도메인(인간 IgG₁의 잔기 341 내지 447)에서 하나 이상의 아미노산 돌연변이(예를 들어, 치환)를 가질 수 있다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체의 IgG₁의 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 위치 252에서 메티오닌(M)의 타이로신(Y)으로의 치환, 위치 254에서 세린(S)의 트레오닌(T)으로의 치환 및 위치 256에서 트레오닌(T)의 글루탐산(E)으로의 치환을 포함한다. 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 제7,658,921호 참조. "YTE 돌연변이체"로서 지칭되는 이 유형의 돌연변이체 IgG는 동일한 항체의 야생형 형태에 비해 4배 증가된 반감기를 나타내는 것으로 나타났다(본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Dall'Acqua WF *et al.*, (2006) J Biol Chem 281: 23514-24] 참조). 소정의 실시형태에서, 항체는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 위치 251 내지 257, 285 내지 290, 308 내지 314, 385 내지 389 및 428 내지 436에서 아미노산 잔기의 1, 2, 3개 이상의 아미노산 치환을 포함하는 IgG 불변 도메인을 포함한다.
- [0300] 소정의 실시형태에서, 1, 2개 이상의 돌연변이(예를 들어, 아미노산 치환)는 효과기 세포 표면 상에서 Fc 수용체(예를 들어, 활성화된 Fc 수용체)에 대한 항체의 친화도를 증가 또는 감소시키기 위해 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 본 명세서에 기재된 항체(예를 들어, CH2 도메인(인간 IgG₁의 잔기 231 내지 340) 및/또는 CH3 도메인(인간 IgG₁의 잔기 341 내지 447)의 Fc 영역 및/또는 힌지 영역 내로 도입된다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 감소 또는 증가시키는 항체의 Fc 영역 내 돌연변이 및 Fc 수용체 또는 이의 단편 내로 이러한 돌연변이를 도입하기 위한 기법은 당업자에게 공지되어 있다. Fc 수용체에 대한 항체의 친화도를 변경하기 위해 생성될 수 있는 항체의 Fc 수용체 내 돌연변이의 예는, 예를 들어, 문헌[Smith P *et al.*, (2012) PNAS 109: 6181-6186], 미국 특허 제6,737,056호, 및 국제 특허 출원 공개 WO 02/060919; WO 98/23289; 및 WO 97/34631에 기재되어 있으며, 이들 모두는 본 명세서에 참고로 편입된다.
- [0301] 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 야생형 중쇄 불변 영역의 변이체인 중쇄 불변 영역을 포함하되, 야생형 중쇄

불변 영역이 Fc γ RIIB에 결합하는 것보다 더 큰 친화도로 변이체 중쇄 불변 영역이 Fc γ RIIB에 결합한다. 소정의 실시형태에서, 변이체 중쇄 불변 영역은 변이체 인간 중쇄 불변 영역, 예를 들어, 변이체 인간 IgG1, 변이체 인간 IgG2 또는 변이체 인간 IgG4 중쇄 불변 영역이다. 소정의 실시형태에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따라 다음의 아미노산 돌연변이 중 하나 이상을 포함한다: G236D, P238D, S239D, S267E, L328F 및 L328E. 소정의 실시형태에서, 변이체 인간 IgG 중쇄 불변 영역은 EU 넘버링 시스템에 따르는 S267E 및 L328F; P238D 및 L328E; P238D 및 E233D, G237D, H268D, P271G 및 A330R로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 치환; P238D, E233D, G237D, H268D, P271G 및 A330R; G236D 및 S267E; S239D 및 S267E; V262E, S267E 및 L328F; 및 V264E, S267E 및 L328F로 이루어진 군으로부터 선택되는 아미노산 돌연변이의 세트를 포함한다. 소정의 실시형태에서, Fc γ RIIB는 대식세포, 단핵구, B 세포, 수지상 세포, 내피세포 및 활성화된 T 세포로 이루어진 군으로부터 선택된 세포 상에서 발현된다.

[0302] 추가적인 실시형태에서, 1, 2개 이상의 아미노산 치환은 항체의 효과기 기능(들)을 변경시키기 위해 IgG 불변 도메인 Fc 영역 내로 도입된다. 예를 들어, 항체가 효과기 리간드에 대해 변경된 친화도를 갖지만, 모 항체의 항원-결합 능력을 보유하도록, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 아미노산 잔기 234, 235, 236, 237, 297, 318, 320 및 322로부터 선택된 하나 이상의 아미노산은 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 친화도가 변경된 효과기 리간드는, 예를 들어, Fc 수용체 또는 상보체의 C1 성분일 수 있다. 이 접근은 미국 특허 제 5,624,821호 및 제 5,648,260호에서 추가로 상세하게 기재되며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다. 소정의 실시형태에서, 불변 영역 도메인의 (점 돌연변이 또는 다른 수단을 통한) 결실 또는 비활성화는 순환 항체의 Fc 수용체 결합을 감소시킴으로써 중앙 국소화를 증가시킬 수 있다. 예를 들어, 불변 도메인을 결실시키거나 또는 비활성화시키고 이에 의해 중앙 국소화를 증가시키는 돌연변이의 설명에 대해 미국 특허 제 5,585,097호 및 제 5,591,886호를 참조하며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다. 소정의 실시형태에서, 하나 이상의 아미노산 치환은 Fc 수용체 결합을 감소시킬 수 있는 Fc 영역 상의 잠재적 글리코실화 부위를 제거하기 위해 본 명세서에 기재된 항체의 Fc 영역 내로 도입될 수 있다(예를 들어, 문헌[Shields RL *et al.*, (2001) J Biol Chem 276: 6591-604] 참조, 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨). 다양한 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체의 불변 영역에서 다음의 돌연변이 중 하나 이상이 생성될 수 있다: EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된, N297A 치환; N297Q 치환; L235A 치환 및 L237A 치환; L234A 치환 및 L235A 치환; E233P 치환; L234V 치환; L235A 치환; C236 결실; P238A 치환; D265A 치환; S267E 치환 및 L328F 치환; A327Q 치환; 또는 P329A 치환. 소정의 실시형태에서, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 D265A, P329A 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 돌연변이는 본 명세서에 기재된 항체의 불변 영역에서 생성될 수 있다.

[0303] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 N297Q 또는 N297A 아미노산 치환을 갖는 IgG₁의 불변 도메인을 포함한다. 일 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 D265A, P329A 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 돌연변이를 갖는 IgG₁의 불변 도메인을 포함한다. 다른 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 L234A, L235A 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된 돌연변이를 갖는 IgG₁의 불변 도메인을 포함한다. 소정의 실시형태에서, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 인간 IgG₁ 중쇄에서 위치 L234, L235 및 D265에 대응하는 위치에서 본 명세서에 기재된 항체의 불변 영역에서 아미노산 잔기는 각각 L, L 및 D가 아니다. 이 접근은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 국제 특허 출원 공개 WO 14/108483에 상세하게 기재되어 있다. 특정 실시형태에서, 인간 IgG₁ 중쇄에서 위치 L234, L235 및 D265에 대응하는 아미노산은 각각 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 F, E 및 A; 또는 A, A 및 A이다.

[0304] 소정의 실시형태에서, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 본 명세서에 기재된 항체의 불변 영역 내 아미노산 잔기 329, 331 및 322로부터 선택된 하나 이상의 아미노산은, 항체가 C1q 결합 및/또는 감소된 또는 제거된 상보체 의존적 세포독성(CDC)을 변경하도록 상이한 아미노산 잔기로 대체될 수 있다. 이 접근은 전문이 본 명세서에 참고로 편입된 미국 특허 제 6,194,551호(Idsogie *et al.*)에서 추가로 상세하게 기재된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체의 CH2 도메인의 N-말단 영역 내 아미노산 위치 231 내지 238 내의 하나 이상의 아미노산 잔기는 변경됨으로써, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 상보체를 고정시키는 항체의 능력을 변경시킨다. 이 접근은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 국제 특허 출원 공개 WO 94/29351에서 추가로 기재된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체의 Fc 영역은 항체 의존적 세포의 세포독성(ADCC)을 매개하고/하거나 다음의 위치에서 하나 이상의 아미노산을 돌연변이시킴으로써(예를 들어, 아미노산 치환을 도입함으로써) Fc γ 수용체에 대한 항체의 친화도를 증가시키는 항체의 친화도를 증가시키도록 변형된다: EU 넘버링 시

시스템에 따라 넘버링된 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 293, 294, 295, 296, 298, 301, 303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 또는 439. 이 접근은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 국제 특허 출원 공개 WO 00/42072에서 추가로 기재된다.

[0305] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 IgG₄ 항체의 불변 영역을 포함하고, EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 중쇄의 아미노산 잔기 228에서 세린은 프롤린을 치환한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체를 제공하며, 상기 항체는 서열번호 20의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다.

[0306] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 임의의 불변 영역 돌연변이 또는 변형은 2개의 중쇄 불변 영역을 갖는 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄 불변 영역 중 하나 또는 둘 다에 도입될 수 있다.

[0307] 서열번호 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 63, 64, 65, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77 또는 78을 인용하는 본 명세서에 개시된 임의의 양상의 소정의 실시형태에서, 서열번호 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 63, 64, 65, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77 또는 78에서 X는 글루타민(Q)이다. 서열번호 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 63, 64, 65, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77 또는 78을 인용하는 본 명세서에 개시된 임의의 양상의 소정의 실시형태에서, 서열번호 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 63, 64, 65, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77 또는 78에서 X는 파이로글루타메이트(pE)이다.

[0308] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고 작용제로서 작용하는 단리된 항체를 제공한다.

[0309] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고, 본 명세서에 기재되고/되거나 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 임의의 항체가 없는 또는 관련 없는 항체(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하지 않는 항체)가 있는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 활성화에 비해 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 활성을 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 증가시키는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고, 본 명세서에 기재되고/되거나 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 임의의 항체가 없는 또는 관련없는 항체(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137)에 특이적으로 결합하지 않는 항체)가 있는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 활성화에 비해, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 활성을 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배, 100배 이상만큼 증가시키거나 또는 촉진시키는 단리된 항체를 제공한다. CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 활성화의 비제한적 예는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 신호전달, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 리간드(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)에 대한 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 결합, T 세포의 활성화(예를 들어, 인간 CD137을 발현시키는 T 세포), 사이토카인 생산의 증가(예를 들어, IL-2, IFN- γ 및/또는 TNF- α), 자연 살해(NK) 세포의 활성화, CD137L 활성화의 증가 및 CD137L을 발현시키는 항원-제시 세포(APC)의 활성화를 포함할 수 있다. 구체적인 실시형태에서, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 활성화의 증가는 이하의 실시예에 기재하는 바와 같이 평가된다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 존재하에 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 활성을 증가시키거나 또는 촉진시킨다.

[0310] 소정의 실시형태에서, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 활성을 활성화시키거나, 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 활성은 항체의 가교결합의 존재에 의존한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 항체의 가교결합의 부재하에 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 활성을 최소로 증가시키거나 또는 촉진시킨다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 항체의 가교결합의 부재하에 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 활성을 실질적으로 증가시키거나 또는 촉진시키지 않는다. 일 실시형태에서, 상기 항체는 항체의 가교결합의 부재하에, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 실시예에서 측정하여 NF- κ B

수용체 세포주에서 NF- κ B 신호전달을 최소로 유도한다. 일 실시형태에서, 상기 항체는 항체의 가교결합의 부재 하에, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 실시예에서 측정하여 항-CD3 항체 자극하에 정제된 T 세포로부터 IL-2 및/또는 IFN γ 생산을 최소로 유도한다. 본 명세서에 상정된 항체의 가교결합은 항체의 클러스터링을 포함한다. 본 명세서에서 사용되는 가교결합 방법은 당업계에 공지되어 있다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 항체의 Fc 영역, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 실시예에서 사용되는 바와 같은 항-인간 IgG(Fab')₂를 이량체화하는 제제에 의해 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 항체의 Fc 영역에 결합하는 Fc 수용체(예를 들어, Fc γ RIIIa, Fc γ RIIIb, Fc γ RIIa, Fc γ RIIb 또는 Fc γ RI)를 발현시키는 세포와의 접촉에 의해 가교결합된다. 소정의 실시형태에서, Fc 수용체는 세포 표면 상의 클러스터에서 발현된다. 소정의 실시형태에서, 항체가 결합하는 항원의 리간드는 또한 세포 상에서 발현된다. 소정의 실시형태에서, 세포는 항원-제시 세포(예를 들어, 대식세포, 단핵구, 수지상 세포 또는 B 림프구)이다.

[0311] 소정의 실시형태에서, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 활성을 활성화시키거나, 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 능력은 CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 존재에 의존한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 부재하에 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 활성을 최소로 증가시키거나 또는 촉진시킨다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 부재하에 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 활성을 실질적으로 증가시키거나 또는 촉진시키지 않는다. 일 실시형태에서, 상기 항체는 항-CD3 항체 자극 하에, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 실시예에 측정된 바와 같이 정제된 T 세포로부터 IL-2 및/또는 IFN γ 생산을 최소로 유도한다. 일 실시형태에서, 상기 항체는, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 실시예에서 측정하여 NF- κ B 수용체 세포주에서 NF- κ B 신호전달을 최소로 유도한다. 소정의 실시형태에서, 인간 CD137의 활성을 활성화시키거나, 증가시키거나 또는 촉진시키는 항체의 능력은 CD137L의 농도와 양의 상관관계가 있다. 소정의 실시형태에서, CD137L 의존도는 항체가 가교결합될 때, 예를 들어, 항-인간 IgG (Fab')₂에 의해 약 1:1 내지 1:10(예를 들어, 약 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5 또는 더 낮음)의 가교제-대-항체비로 관찰된다.

[0312] 구체적 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고 T 세포(예를 들어, 인간 CD137를 발현시키는 T 세포)를 활성화시키는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 활성화된 T 세포는 하나 이상의 마커(예를 들어, 퍼포린, 그랜자임 A, 그랜자임 B, Bcl-X_L)의 증가된 수준(예를 들어, 적어도 약 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 증가됨)을 발현시키되, 선택적으로 마커 수준은 유세포분석에 의해 측정될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 존재하에 T 세포(예를 들어, 인간 CD137를 발현시키는 T 세포)를 활성화시킨다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 부재하에 T 세포(예를 들어, 인간 CD137를 발현시키는 T 세포)를 활성화시키지 않는다.

[0313] 구체적 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고, 본 명세서에 기재된(이하의 실시예 참조) 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여 임의의 항체가 없는 또는 관련없는 항체(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하지 않는 항체)가 있는 사이토카인 생산에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99%만큼 사이토카인 생산(예를 들어, IL-2, IFN- γ 및/또는 TNF- α)을 증가시키는 단리된 항체를 제공한다. 구체적 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고, 본 명세서에 기재된(이하의 실시예 참조) 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여 임의의 항체가 없는 또는 관련없는 항체(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하지 않는 항체)가 있는 사이토카인 생산에 비해 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 사이토카인 생산(예를 들어, IL-2, IFN- γ 및/또는 TNF- α)을 증가시키는 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백

질)의 리간드의 존재하에 사이토카인 생산(예를 들어, IL-2, IFN- γ 및/또는 TNF- α)을 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 부재하에, 상기 항체는 임의의 항체가 없는 또는 관련없는 항체(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하지 않는 항체)가 있는 사이토카인 생산에 비해 사이토카인 생산(예를 들어, IL-2, IFN- γ 및/또는 TNF- α)을 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 초과만큼 증가시키지 않는다.

[0314] 구체적 실시형태에서, 본 개시내용은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하고, 본 명세서에 기재된(이하의 실시예 참조) 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 임의의 항체가 없는 또는 관련없는 항체(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하지 않는 항체)가 있는 IL-2 및/또는 IFN γ 생산에 비해 단독으로 또는 항-PD-1 항체(예를 들어, 펌프롤리주맵 또는 니볼루맵)와 조합하여, 스타필로코커스 엔테로톡신 A(SEA) 자극에 반응한 인간 말초혈액 단핵구 세포(PBMC)의 IL-2 및/또는 IFN γ 생산을 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 증가시키는, 단리된 항체를 제공한다. 소정의 실시형태에서, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체의 존재하에 스타필로코커스 엔테로톡신 A(SEA)로 자극된 인간 말초혈액 단핵구 세포(PBMC)는 본 명세서에 기재된(이하의 실시예 참조) 또는 당업자에게 공지된 방법에 의해 평가하여, 임의의 항체가 없는 또는 관련없는 항체(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하지 않는 항체)가 있는 SEA만으로 자극된 PBMC로부터의 IL-2 및/또는 IFN γ 생산에 비해 적어도 약 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 2배, 2.5배, 3배, 3.5배, 4배, 4.5배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 15배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 IL-2 및/또는 IFN γ 생산이 증가되었다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 존재하에 SEA 자극에 반응한 인간 PBMC에서의 IL-2 및/또는 IFN γ 생산을 증가시킨다. 소정의 실시형태에서, CD137(예를 들어, CD137L(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 이의 단편 및/또는 융합 단백질)의 리간드의 부재하에, 상기 항체는 임의의 항체가 없는 또는 관련없는 항체(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하지 않는 항체)가 있는 사이토카인 생산에 비해 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25% 또는 30% 초과만큼 SEA 자극에 반응한 인간 PBMC의 IL-2 및/또는 IFN γ 생산을 증가시키지 않는다.

[0315] 5.3 약제학적 조성물

[0316] 본 명세서에서 생리적으로 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제에서 목적하는 순도를 갖는 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체를 포함하는 조성물이 제공된다(Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA). 허용 가능한 담체, 부형제 또는 안정제는 사용되는 투약량 및 농도로 수용자에 대해 비독성이고, 완충제, 예컨대 인산염, 시트르산염 및 다른 유기산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 항산화제; 보존제(예컨대 옥타데실다이메틸벤질 염화암모늄; 염화헥사메토늄; 염화벤즈알코늄, 염화벤즈에도늄; 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10개 미만의 잔기) 폴리펩타이드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 알라닌 또는 라이신; 단당류, 이당류, 및 글루코스, 만노스 또는 텍스트린을 포함하는 다른 탄수화물; 킬레이트제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대, 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 금속 복합체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 트윈(TWEEN((상표명), 플루로닉스(PLURONICS)(상표명) 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG)을 포함한다.

[0317] 구체적 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체에서 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 및 선택적으로 1종 이상의 추가적인 예방 또는 치료제를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 약제학적 조성물은 약제학적으로 허용 가능한 담체에서 유효량의 본 명세서에 기재된 항체, 및 선택적으로 1종 이상의 추가적인 예방 또는 치료제를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 상기 항체는 약제학적 조성물에 포함된 단독 활성 성분이다. 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 활성을 증가시키거나 또는 촉진시키는 데 그리고 암 또는 감염성 질환과 같은 병태를 치료하는 데 유용할 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 본 발명의 항-CD137 항체를 포함하는 본 발명의 약제학적 조성물에 관한 것이다. 다른 실시형태에서, 본 발명은 암 또는 감

염성 질환의 치료를 위한 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 약제학적 조성물에 관한 것이다.

- [0318] 비경구 제제에서 사용되는 약제학적으로 허용 가능한 담체는 수성 비히클, 비수성 비히클, 항미생물제, 등장제, 완충제, 항산화제, 국소 마취제, 현탁제 및 분산제, 유화제, 봉쇄제 또는 킬레이트제 및 다른 약제학적으로 허용 가능한 물질을 포함한다. 수성 비히클의 예는 염화나트륨 주사액, 링거 주사액, 등장성 텍스트로스 주사액, 멸균수 주사액, 텍스트로스 및 젖산 링거 주사액을 포함한다. 비수성 비경구 비히클은 식물성 유래의 고정유, 면실유, 옥수수유, 참깨유 및 땅콩유를 포함한다. 정균 또는 정진균 농도의 항미생물제가 페놀 또는 크레졸, 수은, 벤질 알코올, 클로로부탄올, 메틸 및 프로필 p-하이드록시벤조산 에스터, 티메로살, 염화벤즈알코늄 및 염화벤즈에토늄을 포함하는 다회 용량 용기로 패키징된 비경구 제제에 첨가될 수 있다. 등장성 제제는 염화나트륨 및 텍스트로스를 포함한다. 완충제는 인산염 및 시트르산염을 포함한다. 항산화제는 황산수소나트륨을 포함한다. 국소 마취제는 염산프로카인을 포함한다. 현탁제 및 분산제는 카복시메틸셀룰로오스나트륨, 하이드록시프로필 메틸셀룰로오스 및 폴리비닐피롤리돈을 포함한다. 유화제는 폴리솔베이트 80(트윈(등록상표) 80)을 포함한다. 금속 이온의 봉쇄제 또는 킬레이트제는 EDTA를 포함한다. 약제학적 담체는 또한 수 혼화성 비히클에 대해 에틸 알코올, 폴리에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜; 및 pH 조절을 위해 수산화나트륨, 염산, 시트르산 또는 락트산을 포함한다.
- [0319] 약제학적 조성물은 대상체에 대한 임의의 투여 경로에 대해 제형화될 수 있다. 투여 경로의 구체적 예는 비경구, 경구, 폐, 경피, 진피내 및 비경구를 포함한다. 피하, 근육내 또는 정맥내 주사를 특징으로 하는 비경구 투여는 또한 본 명세서에 상정된다. 주사액은 액체 용액 또는 현탁액으로서, 주사 전 액체 중의 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태, 또는 에멀션으로서 통상적인 형태로 제조될 수 있다. 주사 가능한, 용액 및 에멀션은 또한 1종 이상의 부형제를 함유한다. 적합한 부형제는, 예를 들어, 물, 식염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올이다. 추가로, 요망된다면, 투여될 약제학적 조성물은 또한 소량의 비독성 보조 물질, 예컨대 습윤 또는 유화제, pH 완충제, 안정제, 용해도 향상제, 및 기타 제제, 예를 들어, 아세트산나트륨, 솔비탄 모노라우레이트, 트라이에탄올아민 올레이트 및 사이클로덱스트린을 함유할 수 있다.
- [0320] 항체의 비경구 투여를 위한 제제는 바로 주사할 수 있는 멸균 용액, 피하 정제를 비롯하여 사용 직전에 용매와 바로 조합되어 사용되는 멸균 건조 가용성 제품, 예컨대 동결건조된 분말, 바로 주사할 수 있는 멸균 현탁액, 사용 직전에 비히클과 바로 조합되는 멸균 건조 불용성 제품 및 멸균 에멀션을 포함한다. 용액은 수성 또는 비수성일 수 있다.
- [0321] 정맥내로 투여된다면, 적합한 담체는 생리 식염수 또는 인산염 완충 식염수(PBS) 및 농조화제 및 가용화제, 예컨대 글루코스, 폴리에틸렌 글리콜 및 폴리프로필렌 글리콜 및 이들의 혼합물을 함유하는 용액 포함한다.
- [0322] 항체를 포함하는 국소 혼합물은 국소 및 전신 투여에 대해 기재된 바와 같이 제조된다. 얻어진 혼합물은 용액, 현탁액, 에멀션 등일 수 있고, 크림, 젤, 연고, 에멀션, 용액, 엘릭시르, 로션, 현탁액, 탱크제, 페이스트, 폼(foam), 에어로졸, 관류, 스프레이, 좌약, 봉대, 진피 패치 또는 국소 투여에 적합한 임의의 다른 제형으로서 제형화될 수 있다.
- [0323] 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 국소 적용을 위한, 예컨대 흡입에 의한 에어로졸로서 제형화될 수 있다(예를 들어, 염증성 질환, 특히 천식의 치료에 유용한 스테로이드의 전달을 위한 에어로졸을 기재하고, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 제4,044,126호, 제4,414,209호 및 제4,364,923호 참조). 호흡관에 투여를 위한 이들 제형은 단독으로 또는 락토스와 같은 비활성 담체와 조합하여 네블라이저용 에어로졸 또는 용액의 형태로 또는 흡입제용 마이크로핀 분말로서의 형태일 수 있다. 이러한 경우에, 제형의 입자는 일 실시형태에서 50 마이크론 미만, 일 실시형태에서 10 마이크론 미만의 직경을 가질 것이다.
- [0324] 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 국소 또는 국부 적용을 위해, 피부 및 점막, 예컨대 눈에 대한 국부 적용을 위해, 젤, 크림 및 로션의 형태로, 눈에 대한 적용을 위해 또는 낭내 또는 척추내 적용을 위해 제형화될 수 있다. 국소 투여는 경피 전달을 위해 그리고 또한 눈 또는 점막에 대한 투여를 위해, 또는 흡입 요법에 대해 상정된다. 단독으로 또는 다른 약제학적으로 허용 가능한 부형제와 조합한 항체의 비강 용액이 또한 투여될 수 있다.
- [0325] 이온영동 및 전기영동 장치를 포함하는 경피 패치는 당업자에게 잘 공지되어 있으며, 항체를 투여하기 위해 사용될 수 있다. 예를 들어, 이러한 패치는 미국 특허 제6,267,983호, 제6,261,595호, 제6,256,533호, 제6,167,301호, 제6,024,975호, 제6,010,715호, 제5,985,317호, 제5,983,134호, 제5,948,433호 및 제5,860,957호

에 개시되어 있으며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

[0326] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체를 포함하는 약제학적 조성물은 용액, 에멀션 및 다른 혼합물로서 투여를 위해 재구성될 수 있는 동결건조 분말이다. 이는 또한 재구성될 수 있고, 고체 또는 겔로서 제형화될 수 있다. 동결건조 분말은 본 명세서에 기재된 항체, 또는 이의 약제학적으로 허용 가능한 유도체를 적합한 용매 중에 용해시킴으로써 제조된다. 소정의 실시형태에서, 동결건조 분말은 멸균이다. 용매는 안정성을 개선시키는 부형제 또는 분말 또는 분말로부터 제조되는 재구성 용액의 다른 약학적 성분을 함유할 수 있다. 사용될 수 있는 부형제는 텍스트로스, 솔비톨, 프럭토스, 옥수수 시럽, 자일리톨, 글리세린, 글루코스, 수크로스 또는 다른 적합한 제제를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 용매는 또한 완충제, 예컨대 시트르산염, 인산나트륨 또는 인산칼륨 또는 일 실시형태에서 중성 pH에서 당업자에게 공지된 다른 완충제를 함유할 수 있다. 용매의 후속적 멸균 여과 다음에 당업자에게 공지된 표준 조건하의 동결건조는 목적하는 제형을 제공한다. 일 실시형태에서, 얻어진 용액은 동결건조를 위해 바이알 내로 배분될 것이다. 각각의 바이알은 화합물의 단일 투약량 또는 다회 투약량을 함유할 것이다. 동결건조된 분말은 적절한 조건하에, 예컨대 약 4℃ 내지 실온에서 저장될 수 있다. 주사용수에 의한 이 동결건조 분말의 재구성은 비경구 투여에서 사용하기 위한 제형을 제공한다. 재구성을 위해, 동결건조 분말은 멸균수 또는 다른 적합한 담체에 첨가된다. 정확한 양은 선택된 화합물에 의존한다. 이러한 양은 경험적으로 결정될 수 있다.

[0327] 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 및 다른 조성물은 또한 치료될 대상체 신체의 특정 조직, 수용체 또는 다른 면적에 대해 표적화되도록 제형화될 수 있다. 다수의 이러한 표적화 방법은 당업자에게 잘 공지되어 있다. 모든 이러한 표적화 방법은 본 조성물에서 사용하기 위해 본 명세서에서 상정된다. 표적화 방법의 비제한적 예에 대해, 예를 들어, 미국 특허 제6,316,652호, 제6,274,552호, 제6,271,359호, 제6,253,872호, 제6,139,865호, 제6,131,570호, 제6,120,751호, 제6,071,495호, 제6,060,082호, 제6,048,736호, 제6,039,975호, 제6,004,534호, 제5,985,307호, 제5,972,366호, 제5,900,252호, 제5,840,674호, 제5,759,542호 및 제5,709,874호를 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다. 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 종양에 대해 표적화된다.

[0328] 생체내 투여를 위해 사용될 조성물은 멸균일 수 있다. 이는, 예를 들어, 멸균 여과막을 통한 여과에 의해 용이하게 달성된다.

[0329] 5.4 사용 방법

[0330] 다른 양상에서, 본 개시내용은 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체를 이용하여 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 기능의 저해가 유리한 대상체에서 임의의 질환 또는 장애는 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체를 이용하여 치료될 수 있다. 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137) 항체는 종양에 대한 면역계 내약성을 저해하는 데 특히 유용하며, 따라서, 암을 갖는 대상체에 대한 면역요법으로서 사용될 수 있다. 예를 들어, 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 항원에 반응하여 T-세포 활성화를 증가시키는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 암을 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 항체 또는 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다.

[0331] 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 약제학적 조성물로 치료될 수 있는 암은 고형 종양, 혈액학적 암(예를 들어, 백혈병, 림프종, 골수종, 예를 들어, 다발성 골수종) 및 전이성 병변을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 일 실시형태에서, 암은 고형 종양이다. 고형 종양의 예는 악성종양, 예를 들어, 육종 및 암종, 예를 들어, 다양한 기관계의 선암종, 예컨대 폐, 유방, 난소, 림프구, 위장(예를 들어, 결장), 항문, 생식기 및 비뇨생식관(예를 들어, 신장, 요로상피, 방광 세포, 전립선), 인두, CNS(예를 들어, 뇌, 신경 또는 신경아교세포), 두경부, 피부(예를 들어, 흑색종), 및 뼈에 영향을 미치는 것뿐만 아니라 결장암, 직장암, 신장-세포 암종, 간암, 폐암(예를 들어, 비소세포 폐암 또는 소세포 폐암), 소장 암 및 식도의 암과 같은 악성종양을 포함하는 선암종을 포함한다. 암은 초기, 중기, 후기 또는 전이성 암일 수 있다.

[0332] 일 실시형태에서, 암은 폐암(예를 들어, 폐 선암종 또는 비소세포 폐암(NSCLC)(예를 들어, 편평세포 및/또는 비편평세포 이력이 있는 NSCLC, 또는 NSCLC 선암종)), 흑색종(예를 들어, 진행된 흑색종), 신장암(예를 들어, 신장 세포 암종), 간암(예를 들어, 간세포 암종), 골수종(예를 들어, 다발성 골수종), 전립선암, 유방암(예를 들어,

어, 에스트로젠 수용체, 프로게스테론 수용체 또는 Her2/neu 중 1, 2 또는 모두를 발현시키지 않는 유방암, 예를 들어, 삼중 음성 유방암), 난소암, 결장직장암, 췌장암, 두경부암(예를 들어, 두경부 편평 세포 암종(HNSCC), 항문암, 위-식도암(예를 들어, 식도 편평 세포 암종), 중피종, 비인두암, 갑상선암, 자궁경부암, 상피암, 복막암 또는 림프증식성 질환(예를 들어, 이식후 림프증식성 질환)으로부터 선택된다. 구체적인 실시형태에서, 암은 자궁경부암이다.

[0333] 일 실시형태에서, 암은 혈액학적 암, 예를 들어, 백혈병, 림프종 또는 골수종이다. 일 실시형태에서, 암은 백혈병, 예를 들어, 급성 림프아구성 백혈병(ALL), 급성 골수성 백혈병(AML), 급성 골수아구성 백혈병(AML), 만성 림프구성 백혈병(CLL), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수성 백혈병(CML), 만성 골수단핵구성 백혈병(CMML), 만성 림프구성 백혈병(CLL) 또는 모발세포 백혈병이다. 일 실시형태에서, 암은 림프종, 예를 들어, B 세포 림프종, 미만성 거대 B-세포림프종(DLBCL), 활성화된 B-세포 유사(ABC) 미만성 거대 B 세포 림프종, 배종심 B 세포(GCB) 미만성 거대 B 세포 림프종, 맨틀세포 림프종, 호지킨 림프종, 비-호지킨 림프종, 재발 비-호지킨 림프종, 난치성 비-호지킨 림프종, 재발 여포성 비-호지킨 림프종, 버킷 림프종, 소림프구성 림프종, 여포성 림프종, 림프형질세포성 림프종 또는 외부 결절성 가장자리구역 림프종이다. 일 실시형태에서, 암은 골수종, 예를 들어, 다발성 골수종이다.

[0334] 다른 실시형태에서, 암은 암종(예를 들어, 진행된 또는 전이성 암종), 흑색종 또는 폐 암종, 예를 들어, 비소세포 폐 암종으로부터 선택된다.

[0335] 일 실시형태에서, 암은 폐암, 예를 들어, 폐 선암종, 비소세포 폐암 또는 소세포 폐암이다.

[0336] 일 실시형태에서, 암은 흑색종, 예를 들어, 진행된 흑색종이다. 일 실시형태에서, 암은 다른 요법에 반응하지 않는 진행된 또는 절제 가능하지 않은 흑색종이다. 다른 실시형태에서, 암은 BRAF 돌연변이(예를 들어, BRAF V600 돌연변이)를 갖는 흑색종이다. 또 다른 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 약제학적 조성물은 BRAF 저해제(예를 들어, 베무라페닙(vemurafenib) 또는 다브라페닙(dabrafenib))과 함께 또는 이것 없이 항-CTLA-4 항체(예를 들어, 이필리무맙)에 의한 치료 후에 투여된다.

[0337] 다른 실시형태에서, 암은 바이러스 감염, 예를 들어, 만성 바이러스 감염이 있는 또는 이것이 없는 간암종, 예를 들어, 진행된 간암종이다.

[0338] 다른 실시형태에서, 암은 전립선암, 예를 들어, 진행된 전립선암이다.

[0339] 또 다른 실시형태에서, 암은 골수종, 예를 들어, 다발성 골수종이다.

[0340] 또 다른 실시형태에서, 암은 신장암, 예를 들어, 신장 세포 암종(RCC)(예를 들어, 전이성 RCC, 투명 세포 신장 세포 암종(CCRCC) 또는 신장 유두상 세포 암종)이다.

[0341] 또 다른 실시형태에서, 암은 폐암, 흑색종, 신장암, 유방암, 결장직장암, 백혈병 또는 암의 전이성 병변으로부터 선택된다.

[0342] 소정의 실시형태에서, 본 개시내용은 대상체에서 감염성 질환을 예방하거나 또는 치료하는 방법을 제공하며, 상기 방법은 대상체에게 유효량의 본 명세서에 개시된 바와 같은 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 약제학적 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, 본 명세서에서 감염(예를 들어, 바이러스 감염, 박테리아 감염, 진균 감염, 원생동물 감염 또는 기생충 감염)을 예방하고/하거나 치료하기 위한 방법이 제공된다. 상기 방법에 따라 예방되고/되거나 치료되는 감염은 본 명세서에서 확인된 감염체에 의해 야기될 수 있다. 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 조성물은 대상체에게 투여되는 유일한 활성제이다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 조성물은 감염성 질환의 치료를 위해 항-감염적 개입(예를 들어, 항바이러스, 항박테리아, 항진균 또는 항-기생충제)과 조합하여 사용된다. 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명은 감염성 질환을 예방하고/하거나 치료하는 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이되, 선택적으로 항체 또는 약제학적 조성물은 대상체에게 활성제만 투여되거나 또는 항체 또는 약제학적 조성물은 항-감염 개재와 조합하여 사용된다.

[0343] 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 약제학적 조성물에 의해 치료되고/되거나 예방될 수 있는 감염성 질환은 박테리아, 기생충, 진균, 원생동물 및 바이러스를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 전염성 제제에 의해 야기된다. 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-

CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 약제학적 조성물에 의해 치료되고/되거나 예방되는 감염성 질환은 바이러스에 의해 야기된다. 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방되고/되거나 치료될 수 있는 바이러스 질환 또는 바이러스 감염은 A형 간염, B형 간염, C형 간염, 인플루엔자(예를 들어, 인플루엔자 A 또는 인플루엔자 B), 수두, 아데노바이러스, I형 단순 포진(HSV-I), II형 단순 포진(HSV-II), 우역, 리노바이러스, 에코바이러스, 로타바이러스, 호흡기 세포융합 바이러스, 유두종 바이러스, 파포바바이러스, 거대세포바이러스, 에키노바이러스, 아르보바이러스, 한타바이러스, 콕사키 바이러스, 뎀프스 바이러스, 홍역 바이러스, 풍진 바이러스, 폴리오 바이러스, 두창, 엡스타인 바 바이러스, I형 인간 면역결핍 바이러스(HIV-I), II형 인간 면역결핍 바이러스(HIV-II), 및 바이러스 질환의 제제, 예컨대 바이러스 뇌수막염, 뇌염, 탕기열 또는 두창에 의해 야기되는 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0344] 예방되고/되거나 치료될 수 있는 박테리아 감염은 에스케리키아 콜라이(*Escherichia coli*), 클렙시엘라 뉴모니아(*Klebsiella pneumoniae*), 스탕필로코커스 아우레우스(*Staphylococcus aureus*), 엔테로코커스 파에칼리스(*Enterococcus faecalis*), 프로테우스 볼가리스(*Proteus vulgaris*), 스탕필로코커스 비리단스(*Staphylococcus viridans*) 및 슈도모나스 아에루기노사(*Pseudomonas aeruginosa*)에 의해 야기된 감염을 포함한다. 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방되고/되거나 치료될 수 있는 박테리아(예를 들어, 에스케리키아 콜라이, 클렙시엘라 뉴모니아, 스탕필로코커스 아우레우스, 엔테로코커스 파에칼리스, 프로테우스 볼가리스, 스탕필로코커스 비리단스 및 슈도모나스 아에루기노사)에 의해 야기되는 박테리아 질환은 마이코박테리아 리케차(*Mycobacterium rickettsia*), 마이코플라즈마(*Mycoplasma*), 네이세리아(*Neisseria*), 슈도모나스 뉴모니아(*S. pneumonia*), 보렐리아 부르그도페리(*Borrelia burgdorferi*) (라임병), 바실러스 안트라시스 (탄저균), 파상풍, 스트렙토코커스, 스탕필로코커스, 마이코박테륨, 백일해, 콜레라, 흑사병, 디프테리아, 클라미디아, 스탕필로코커스 아우레우스(*S. aureus*) 및 레지오넬라를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0345] 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방되고/되거나 치료될 수 있는 원생동물에 의해 야기되는 원생동물 질환 또는 원생동물 감염은 리슈마니아, 콕시디아증, 트리파노소마 주혈흡충 또는 말라리아를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방되고/되거나 치료될 수 있는 기생충에 의해 야기된 기생충 질환 또는 기생충 감염은 클라미디아 및 리케차를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0346] 본 명세서에 기재된 방법에 따라 예방되고/되거나 치료될 수 있는 진균 질환 또는 진균 감염은 칸디다(*Candida*) 감염, 접합진균증, 칸디다 유선염, 잠복성 트리코스포론에 의한 진행성의 파종성 트리코스포로니증, 파종성 칸디다증, 폐 파라코시디오이테스진균증, 폐 아스페르길루스증, 폐포자충폐렴, 크립토코커스 뇌수막염, 콕시디오이테스성 수막뇌염 및 뇌척수 혈관염, 아스페릴러스 니거(*Aspergillus niger*) 감염, 푸사리움 케라티티스(*Fusarium keratitis*), 부비강 진균증, 아스페르길루스 푸미가투스(*Aspergillus fumigatus*) 심내막염, 경골연골부전증, 칸디다 글라브라타(*Candida glabrata*) 질염, 구강인두 칸디다증, X-연관 만성 육아종병, 발 백선, 피부 칸디다증, 진균성 태반염, 파종성 트리코스포론증, 알레르기성 기관지폐 아스페르길루스증, 진균각막염, 크립토코커스 네오포르만스(*Cryptococcus neoformans*) 감염, 진균 복막염, 쿠르부랄리아 게니쿨라타(*Curvularia geniculata*) 감염, 스탕필로코커스 엔도프탈미티스(*staphylococcal endophthalmitis*), 스포로트릭스증 및 피부 사상균증에 의해 야기되는 것을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다.

[0347] 소정의 실시형태에서, 이들 방법은 대상체에게 추가적인 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 화학치료제, 방사선치료제 또는 관문 표적화제이다. 소정의 실시형태에서, 화학치료제는 저메틸화제(예를 들어, 아자시티딘)이다. 소정의 실시형태에서, 관문 표적화제는 길항제 항-CTLA-4 항체, 길항제 항-PD-L1 항체, 길항제 항-PD-L2 항체, 길항제 항-PD-1 항체, 길항제 항-TIM-3 항체, 길항제 항-LAG-3 항체, 길항제 항-VISTA 항체, 길항제 항-CD96 항체, 길항제 항-CEACAM1 항체, 항체 항-TIGIT 항체, 작용제 항-GITR 항체 및 작용제 항-OX40 항체로 이루어진 군으로부터 선택된다.

[0348] 일 실시형태에서, 본 발명은 본 발명의 방법에서 사용하기 위한 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이되, 상기 방법은 대상체에게 추가적인 치료제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다. 일 실시형태에서, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 추가적인 치료제에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물, 및 (b) 암의 치료를 위한 방법에서 사용하기 위한 추가적인 치료제에 관한 것이다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 추가적인 치료제를 포함하는 약제학적 조성물, 키트 또는 키트의 부품에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 추가적인 치료제는 화학치료제, 방사선치료제 또는 관문 표적화제이다.

[0349] 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 본 명세서에 기재된 방법에서 사용된다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1

항체는 브리스톨-마이어스 스킵사(Bristol-Myers Squibb)에 의해 개발된 BMS-936558 또는 MDX1106으로서도 알려진 니볼루맙이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 머크 앤드 컴퍼니(Merck & Co)에 의해 개발된 램브롤리주맙 또는 MK-3475로서도 알려진 펌브롤리주맙이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 큐어테크(CureTech)에 의해 개발된 CT-011로서도 알려진 피딜리주맙이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 메디문에 의해 개발된 AMP-514로서도 알려진 MEDI0680이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 노바티스 파마슈티컬스(Novartis Pharmaceuticals)에 의해 개발된 PDR001이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 리제네론 파마슈티컬스(Regeneron Pharmaceuticals)에 의해 개발된 REGN2810이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 화이자(Pfizer)에 의해 개발된 PF-06801591이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 베이젠(BeiGene)에 의해 개발된 BGB-A317이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 아냅티스바이오 및 테사로(AnaptysBio and Tesaro)에 의해 개발된 TSR-042이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-1 항체는 헨루이(Hengrui)에 의해 개발된 SHR-1210이다.

[0350] 본 명세서에 개시된 치료 방법에서 사용될 수 있는 항-PD-1 항체의 추가적인 비제한적 예는 본 명세서에 모두 모든 목적을 위하여 전문이 참고로 편입된 다음의 특허 및 특허 출원에 개시되어 있다: 미국 특허 제6,808,710호; 미국 특허 제7,332,582호; 미국 특허 제7,488,802호; 미국 특허 제8,008,449호; 미국 특허 제8,114,845호; 미국 특허 제8,168,757호; 미국 특허 제8,354,509호; 미국 특허 제8,686,119호; 미국 특허 제8,735,553호; 미국 특허 제8,747,847호; 미국 특허 제8,779,105호; 미국 특허 제8,927,697호; 미국 특허 제8,993,731호; 미국 특허 제9,102,727호; 미국 특허 제9,205,148호; 미국 특허 공개 제2013/0202623 A1호; 미국 특허 공개 제2013/0291136 A1호; 미국 특허 공개 제2014/0044738 A1호; 미국 특허 공개 제2014/0356363 A1호; 미국 특허 공개 제2016/0075783 A1; 및 국제 특허 출원 공개 WO 2013/033091 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2015/036394 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2014/179664 A2; 국제 특허 출원 공개 WO 2014/209804 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2014/206107 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2015/058573 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2015/085847 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2015/200119 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2016/015685 A1; 및 국제 특허 출원 공개 WO 2016/020856 A1.

[0351] 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 본 명세서에 기재된 방법에서 사용된다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 제네테크에 의해 개발된 아테졸리주맙이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 아스트라제네카, 쉐링 및 메디문에 의해 개발된 두루발루맙이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 머크 세로노 및 화이자에 의해 개발된 MSB0010718C로서도 알려진 아벨루맙이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 브리스톨-마이어스 스킵에 의해 개발된 MDX-1105이다. 소정의 실시형태에서, 항-PD-L1 항체는 앰플리온 및 GSK에 의해 개발된 AMP-224이다.

[0352] 본 명세서에 기재된 치료 방법에서 사용될 수 있는 항-PD-L1 항체의 비제한적 예는 모든 목적을 위해 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 다음의 특허 및 특허 출원에서 개시된다: 미국 특허 제7,943,743호; 미국 특허 제8,168,179호; 미국 특허 제8,217,149호; 미국 특허 제8,552,154호; 미국 특허 제8,779,108호; 미국 특허 제8,981,063호; 미국 특허 제9,175,082호; 미국 특허 공개 제2010/0203056 A1호; 미국 특허 공개 제2003/0232323 A1호; 미국 특허 공개 제2013/0323249 A1호; 미국 특허 공개 제2014/0341917 A1호; 미국 특허 공개 제2014/0044738 A1호; 미국 특허 공개 제2015/0203580 A1호; 미국 특허 공개 제2015/0225483 A1호; 미국 특허 공개 제2015/0346208 A1호; 미국 특허 공개 제2015/0355184 A1호; 및 국제 특허 출원 공개 WO 2014/100079 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2014/022758 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2014/055897 A2; 국제 특허 출원 공개 WO 2015/061668 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2015/109124 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2015/195163 A1; 국제 특허 출원 공개 WO 2016/000619 A1; 및 국제 특허 출원 공개 WO 2016/030350 A1.

[0353] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 대상체에게 면역조절 효소(들), 예컨대 IDO(인돌아민-(2,3)-다이옥시게나제) 및/또는 TDO(트립토판 2,3-다이옥시게나제)를 표적화하는 화합물과 조합하여 투여된다. 따라서, 일 실시형태에서, 추가적인 치료제는 면역조절제(들), 예컨대 인돌아민-(2,3)-다이옥시게나제(IDO)의 저해제를 표적화하는 화합물이다. 소정의 실시형태에서, 이러한 화합물은 에파카도스맷(인사이트 코포레이션(Incyte Corp)); 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 WO 2010/005958 참조), F001287(플렉서스 바이오사이언시즈(Flexus Biosciences)), 인독시모드(뉴링크 제네틱스(NewLink Genetics)) 및 NLG919(뉴링크 제네틱스)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 일 실시형태에서, 화합물은 에파카도스맷이다. 다른 실시형태에서, 화합물은 F001287이다. 다른 실시형태에서, 화합물은 인독시모드이다. 다른 실시형태에서, 화합물은 NLG919이다. 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137) 항체는 암을 치료하기 위한 IDO 저해제와 조합하여 대상체에게 투여된다. 암을 치료하는 데 사용하

기 위한 본 명세서에 기재된 바와 같은 IDO 저해제는 약제학적 조성물의 고체 투약 형태, 예컨대 정제, 알약 또는 캡슐로 제공되며, 약제학적 조성물은 IDO 저해제 및 약제학적으로 허용 가능한 부형제를 포함한다. 이렇게 해서, 본 명세서에 기재된 항체 및 본 명세서에 기재된 IDO 저해제는 별개로, 순차적으로 또는 별개의 투약 형태로서 동시에 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, 항체는 비경구로 투여되고, IDO 저해제는 경구로 투여된다. 특정 실시형태에서, 저해제는 에파카도스탯(인사이트 코퍼레이션(Incyte Corporation)), F001287(플렉서스 바이오사이언시즈(Flexus Biosciences)/브리스톨-마이어스 스킵), 인독시모드(뉴링크 제네틱스) 및 NLG919(뉴링크 제네틱스)로 이루어진 군으로부터 선택된다. 에파카도스탯은 본 명세서에 모든 목적을 위하여 전문이 참고로 편입된 국제 특허 출원 공개 WO 2010/005958에 기재되었다. 일 실시형태에서, 저해제는 에파카도스탯이다. 다른 실시형태에서, 저해제는 F001287이다. 다른 실시형태에서, 저해제는 인독시모드이다. 다른 실시형태에서, 저해제는 NLG919이다.

[0354] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 대상체에게 백신과 조합하여 투여된다. 백신은, 예를 들어, 펩타이드 백신, DNA 백신 또는 RNA 백신일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 백신은 열 충격 단백질 기반 종양 백신 또는 열 충격 단백질 기반 병원체 백신이다. 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 열 충격 단백질 기반 종양-백신과 조합하여 대상체에게 투여된다. 열 충격 단백질(HSP)은 모든 종에 걸쳐 편재하여 발견되는 고도로 보존된 단백질의 패밀리이다. 그들의 발현은 열충격의 결과 또는 다른 스트레스 형태(독소에 대한 노출, 산화적 스트레스 또는 글루코스 결핍을 포함)의 결과로서 훨씬 더 고수준으로 강력하게 유도될 수 있다. 분자량에 따라 5개의 패밀리로 분류되었다: HSP-110, -90, -70, -60 및 -28. HSP는 항원 제시 세포(APC), 예컨대 대식세포 및 수지상 세포(DC)에서 교차-제시 경로를 통해 면역원성 펩타이드를 전달하여, T 세포 활성화를 야기한다. HSP는 종양 특이적 면역을 유도할 수 있는 복합체를 형성하는 종양-관련 항원 펩타이드의 사페론 담체로서 작용한다. 사멸 종양 세포로부터의 방출 시, HSP-항원 복합체는 항원-제시 세포(APC)에 의해 취해지되, 항원은 MHC 클래스 I 및 클래스 II 분자에 결합하는 펩타이드로 가공되어 항-종양 CD8+ 및 CD4+ T 세포의 활성화를 야기한다. 종양 세포로부터 유래된 HSP 복합체에 의해 유발된 면역은 구체적으로는 각각의 대상체의 암에 의해 발현된 독특한 항원 펩타이드 레퍼토리로 지향된다. 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 의약으로서 사용하기 위한, 예를 들어 암 치료를 위한 방법에서 사용하기 위한 백신에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 본 발명은 (a) 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물 및 (b) 백신을 포함하는 약제학적 조성물, 키트 또는 키트의 부품에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 백신은 열 충격 단백질 기반 종양 백신이다. 일 실시형태에서, 백신은 열 충격 단백질 기반 병원체 백신이다. 소정의 실시형태에서, 백신은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 WO 2016/183486에 기재된 바와 같다.

[0355] 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)는 항원 펩타이드와 비공유적으로 복합체화된 열 충격 단백질로 이루어진 단백질 펩타이드 복합체이다. HSPPC는 선천성과 적응 면역 반응을 둘 다 유발한다. 구체적인 실시형태에서, 항원 펩타이드(들)는 치료될 암에 대한 항원성을 나타낸다. HSPPC는 막 수용체(주로 CD91)를 통해 또는 Toll-유사 수용체에 대한 결합에 의해 APC에 의해 효율적으로 점유된다. HSPPC 내재화는 자연 살해 세포(NK), 단핵구 및 Th1 및 Th-2-매개 면역 반응의 활성화를 야기하는 케모카인 및 사이토카인 생산에 의해 APC의 기능적 성숙을 초래한다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 방법에서 사용된 HSPPC는 항원 펩타이드와 복합체화된 스트레스 단백질의 hsp60, hsp70 또는 hsp90 패밀리로부터의 하나 이상의 열 충격 단백질을 포함한다. 소정의 실시형태에서, HSPPC는 hsc70, hsp70, hsp90, hsp110, grp170, gp96, 칼레티쿨린 또는 이들의 둘 이상의 조합을 포함한다.

[0356] 구체적인 실시형태에서, 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)는 재조합 항원성 펩타이드와 복합체화된 재조합 열 충격 단백질(예를 들어, hsp70 또는 hsc70) 또는 이의 펩타이드-결합 도메인을 포함한다. 재조합 열 충격 단백질은, 예를 들어, 각각 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Dworniczak and Mirault, Nucleic Acids Res. 15:5181-5197 (1987) 및 젠뱅크 수탁 번호 P11142 및/또는 Y00371]에 기재된 바와 같은 인간 hsc70 서열을 이용하는 재조합 DNA 기술에 의해 생산될 수 있다. 소정의 실시형태에서, Hsp70 서열은 문헌[Hunt and Morimoto Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82 (19), 6455-6459 (1985) 및 젠뱅크 수탁 번호 PODMV8 및/또는 M11717]에 기재된 바와 같고, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다. 항원성 펩타이드는 또한 당업계에 공지된 재조합 DNA 방법에 의해 제조될 수 있다.

[0357] 소정의 실시형태에서, 항원성 펩타이드는 변형된 아미노산을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변형된 아미노산은 번역후 변형을 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변형된 아미노산은 번역후 변형의 모방체를 포함한다. 소정의 실시형태에서, 변형된 아미노산은 측쇄 하이드록실 또는 아민 상에서 인산화된 Tyr, Ser, Thr, Arg, Lys 또

는 His이다. 소정의 실시형태에서, 변형된 아미노산은 측쇄 하이드록실 또는 아민 상에서 인산화된 Tyr, Ser, Thr, Arg, Lys 또는 His 아미노산의 모방체이다.

[0358] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 암을 치료하기 위해 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC), 예를 들어, 열 충격 단백질 펩타이드 복합체-96(HSPPC-96)과 조합하여 대상체에게 투여된다. HSPPC-96는 항원 펩타이드와 복합체화되는 96kDa 열 충격 단백질(Hsp)인 gp96를 포함한다. HSPPC-96은 대상체의 종양으로부터 제조된 암 면역요법이고, 암의 항원성 "지문(fingerprint)"을 함유한다. 소정의 실시형태에서, 이 지문은 특정 대상체의 특정 암세포 및 백신의 주사가 단지 특정 암 지문을 갖는 임의의 세포를 인식하고 공격하는 대상체의 면역계를 자극하도록 의도된다는 점에서 존재하는 독특한 항원을 함유한다. 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명은 의약으로서 사용하기 위한 그리고/또는 암의 치료를 위한 방법에서 사용하기 위한 열 충격 단백질 펩타이드 복합체(HSPPC)와 조합하여 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0359] 소정의 실시형태에서, HSPPC, 예를 들어, HSPPC-96는 대상체의 종양 조직으로부터 생산된다. 구체적 실시형태에서, HSPPC(예를 들어, HSPPC-96)는 치료 중인 암 또는 이의 전이의 유형의 종양으로부터 생산된다. 다른 구체적 실시형태에서, HSPPC(예를 들어, HSPPC-96)는 치료 중인 대상체에 대해 자가(autologous)이다. 소정의 실시형태에서, 종양 조직은 비-괴사성 종양 조직이다. 소정의 실시형태에서, 비-괴사성 종양 조직의 적어도 1그램(예를 들어, 적어도 1, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9 또는 적어도 10그램)은 백신 요법을 생산하기 위해 사용된다. 소정의 실시형태에서, 수술적 절제 후에, 비-괴사성 종양 조직은 백신 제제에서 사용 전에 냉동된다. 일부 실시형태에서, HSPPC, 예를 들어, HSPPC-96은 정제 기법에 의해 종양 조직으로부터 단리되고, 여과 후, 주사 가능한 백신용으로 제조된다. 소정의 실시형태에서, 대상체는 HSPPC, 예를 들어, HSPCC-96의 6 내지 12 용량으로 투여된다. 이러한 실시형태에서, HSPPC, 예를 들어, HSPPC-96 용량은 처음 4회 용량에 대해 매주 투여될 수 있고, 이어서, 2 내지 8회의 추가적인 용량에 대해 2주마다 투여될 수 있다.

[0360] 본 명세서에 기재된 방법에 따라 사용될 수 있는 HSPPC의 추가적인 예는 본 명세서에 모두 전문이 참고로 편입된 다음의 특허 및 특허 출원, 미국 특허 제6,391,306호, 제6,383,492호, 제6,403,095호, 제6,410,026호, 제6,436,404호, 제6,447,780호, 제6,447,781호 및 제6,610,659호에서 개시된다.

[0361] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 아쥘반트(adjuvant)와 병용하여 대상체에게 투여된다. 다양한 아쥘반트는 치료 내용에 따라서 사용될 수 있다. 적절한 아쥘반트의 비제한적 예는 완전 프로인트 아쥘반트(CFA), 불완전 프로인트 아쥘반트(IFA), 몬타나이드 ISA(불완전 세픽(Seppic) 아쥘반트), 리비(Ribi) 아쥘반트 시스템(RAS), 타이터 맥스(Titer Max), 뮤라밀 펩타이드, 신텍스 아쥘반트 제형(Syntex Adjuvant Formulation: SAF), 명반(수산화알루미늄 및/또는 인산알루미늄), 알루미늄염 아쥘반트, Gerbu(등록상표) 아쥘반트, 나이트로셀룰로스 흡수 항원, 캡슐화된 또는 갇힌(entrapped) 항원, 3 De-O-아실화된 모노포스포릴 지질 A(3 D-MPL), 면역자극 올리고뉴클레오타이드, toll-유사 수용체(TLR) 리간드, 만난-결합 렉틴(MBL) 리간드, STING 작용제, 면역-자극 복합체, 예컨대 사포닌, Quil A, QS-21, QS-7, ISCOMATRIX 및 기타를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 다른 아쥘반트는 CpG 올리고뉴클레오타이드 및 이중 가닥 RNA 분자, 예컨대 폴리(A) 및 폴리(U)를 포함한다. 상기 아쥘반트의 조합이 또한 사용될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제6,645,495호; 제7,029,678호; 및 제7,858,589호를 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 본 명세서에 참고로 편입된다. 일 실시형태에서, 본 명세서에서 사용되는 아쥘반트는 QS-21 STIMULON이다.

[0362] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 TCR을 포함하는 추가적인 치료제와 병용하여 대상체에게 투여된다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 가용성 TCR이다. 소정의 실시형태에서, 추가적인 치료제는 TCR을 발현시키는 세포이다. 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명은 암 치료를 위한 의약으로서 사용하기 위해 그리고/또는 암 치료를 위한 방법에서 사용하기 위해 TCR을 포함하는 추가적인 치료제와 병용하는 본 발명의 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다.

[0363] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현시키는 세포와 병용하여 대상체에게 투여된다. 소정의 실시형태에서, 세포는 T 세포이다.

[0364] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 TCR 모방 항체와 병용하여 대상체에게 투여된다. 소정의 실시형태에서, TCR 모방 항체는 펩타이드-MHC 복합체

특이적으로 결합하는 항체이다. TCR 모방 항체의 비제한적 예에 대해, 예를 들어, 미국 특허 제9,074,000호 및 미국 특허 공개 제2009/0304679 A1호 및 미국 특허 제2014/0134191 A1호를 참조하며, 이들 모두는 그들의 전문이 참고로 편입된다.

[0365] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 개시된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 이중특이성 T-세포 관여자(BiTE)(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 WO2005061547A2에 기재된 바와 같음) 및/또는 이중-친화도 재표적화 항체(DART)(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 WO2012162067A2)와 병용하여 대상체에게 투여된다. 소정의 실시형태에서, BiTE 및/또는 DART은 종양-연관 항원(예를 들어, 종양에서 과발현된 폴리펩타이드, 종양바이러스로부터 유래된 폴리펩타이드, 종양에 특이적인 번역 후 변형을 포함하는 폴리펩타이드, 종양에서 특이적으로 돌연변이된 폴리펩타이드) 및 효과기 세포 상의 분자(예를 들어, CD3 또는 CD16)에 특이적으로 결합한다. 소정의 실시형태에서, 종양-연관 항원은 EGFR(예를 들어, 인간 EGFR), Her2(예를 들어, 인간 Her2) 또는 CD20(예를 들어, 인간 CD20)이다.

[0366] 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 및 추가적인 치료제(예를 들어, 화학치료제, 방사선치료제, 관문 표적화제, IDO 저해제, 백신, 아췌반트, 가용성 TCR, TCR을 발현시키는 세포, 키메라 항원 수용체를 발현시키는 세포 및/또는 TCR 모방 항체)는 별개로, 순차적으로 또는 별개의 투약 형태와 동시에 투여될 수 있다. 일 실시형태에서, 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 비경구로 투여되고, IDO 저해제는 경구로 투여된다.

[0367] 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 다양한 경로에 의해 대상체에게 전달될 수 있다. 이들은 비경구, 비강내, 기관내, 경구, 진피내, 국소, 근육내, 복강내, 경피, 정맥내, 종양내, 결막, 동맥내 및 피하 경로를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 예를 들어, 흡입기 또는 네블라이저의 사용 및 스프레이로서 사용하기 위한 에어로졸화제를 이용하는 제형에 의한 폐 투여가 또한 사용될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 피하로 또는 정맥내로 전달된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 동맥내로 전달된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 종양내로 전달된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 또는 약제학적 조성물은 종양 배수 림프절에 전달된다.

[0368] 병태의 치료 및/또는 예방에서 유효한 항체 또는 약제학적 조성물의 양은 질환의 특성에 의존하며, 표준 임상 기법에 의해 결정될 수 있다.

[0369] 조성물 중에서 사용될 정확한 용량은 또한 투여 경로, 그에 의해 야기된 감염 또는 질환의 심각성에 의존할 것이며, 실행자의 판단 및 각각의 대상 환경에 따라 결정되어야 한다. 예를 들어, 유효 용량은 또한 투여 수단, 표적 부위, 환자의 생리적 상태(연령, 체중 및 건강 상태를 포함), 환자가 인간인지 또는 동물인지의 여부, 투여되는 다른 의약 또는 치료가 예방적인지 또는 치료적인지의 여부에 따라 다를 수 있다. 보통, 환자는 인간이지만, 유전자이식 포유류를 포함하는 비인간 포유류가 또한 치료될 수 있다. 치료 투약량은 안전성 및 효능을 최적화하도록 최적으로 적정된다.

[0370] 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 또한 면역검정, 예컨대 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA), 면역침전 또는 웨스턴 블롯을 포함하는, 당업자에게 공지된 고전적 면역조직학적 방법을 이용하여 생물학적 샘플에서 검정 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 단백질 수준을 검정하는 데 사용될 수 있다. 적합한 항체 검정 표지는 당업계에 공지되어 있으며, 효소 표지, 예컨대, 글루코스 옥시다제; 방사성동위원소, 예컨대 아이오딘(¹²⁵I, ¹²¹I), 탄소(¹⁴C), 황(³⁵S), 삼중수소(³H), 인듐(¹²¹In) 및 테크네튬(⁹⁹Tc); 발광 표지, 예컨대 루미놀; 및 형광 표지, 예컨대 플루오레세인 및 로다민 및 바이오틴을 포함한다. 이러한 표지는 본 명세서에 기재된 항체를 표지하기 위해 사용될 수 있다. 대안적으로, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체를 인식하는 제2 항체는 표지되고, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 단백질을 검출하기 위해 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체와 조합하여 사용된다. 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명은 생물학적 샘플에서 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 단백질의 시험관내 검출을 위한 본 발명의 항체의 용도에 관한 것이다. 추가적인 실시형태에서, 본 발명은 시험관내 생물학적 샘플에서 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 단백질을 검정하고/하거나 검출하기 위한 본 발명의 항-CD137 항체의 용도에 관한 것이되, 선택적으로 항-CD137 항체는 방사성핵종 또는 검출 가능한 표지에 접합되고/되거나 본 명세서에 기재된 표지를 운반하고, 그리고/또는 면역조직학적 방법이 사용된다.

- [0371] CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 단백질의 발현 수준에 대해 검정하는 것은 직접적으로(예를 들어, 절대 단백질 수준을 결정하거나 또는 추정함으로써) 또는 상대적으로(예를 들어, 제2 생물학적 샘플에서 질환 관련 단백질 수준에 비교함으로써) 제1 생물학적 샘플 내 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 단백질 수준을 정성적으로 또는 정량적으로 측정하거나 또는 추정하는 것을 포함하도록 의도된다. 제1 생물학적 샘플에서 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 폴리펩타이드 발현 수준은 측정되거나 또는 추정될 수 있고, 표준 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 단백질 수준, 취한 표준, 예를 들어, 장애를 갖지 않는 개체로부터 얻은 제2 생물학적 샘플로부터 취하거나 또는 장애를 갖지 않는 개체의 집단으로부터의 수준을 평균함으로써 결정된 표준에 비교될 수 있다. 당업계에 인식될 바와 같이, 일단 "표준" CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 폴리펩타이드 수준은 공지되며, 이는 비교를 위한 표준으로서 반복적으로 사용될 수 있다. 따라서, 추가 실시형태에서, 본 발명은 면역조직화학적 방법에 의해 생물학적 샘플에서 CD137 단백질, 예를 들어 인간 CD137 단백질의 수준을 정성적으로 또는 정량적으로 측정하거나 또는 추정하는 단계를 포함하는, 생물학적 샘플에서 CD137 단백질 수준, 예를 들어 인간 CD137 단백질 수준을 검정하고/하거나 검출하기 위한 시험관내 방법에 관한 것이다.
- [0372] 본 명세서에 사용되는 용어 "생물학적 샘플"은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)을 잠재적으로 발현시키는 대상체, 세포주, 조직 또는 세포의 다른 공급원으로부터 얻은 임의의 생물학적 샘플을 지칭한다. 동물(예를 들어, 인간 또는 사이노몰거스 원숭이)로부터 조직 생검 및 체액을 얻기 위한 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다. 생물학적 샘플은 말초 혈액 단핵구 혈액 세포를 포함한다.
- [0373] 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 잘 공지된 시험관내 및 생체내 적용 및 당업자에 대한 그리고 본 설명에 기반한 표준을 포함하는 예후적, 진단적, 모니터링 및 선별 적용을 위해 사용될 수 있다. 면역계 상태 및/또는 면역 반응의 시험관내 평가 및 사정을 위한 예후적, 진단적, 모니터링 및 선별 검정 및 키트는 면역계 기능장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 또는 예상되거나 또는 목적하는 면역계 반응, 항원 반응 또는 백신 반응에 관해 알려진 것을 포함하는 환자 샘플을 평가하기 위해 예측, 진단 및 모니터링하는 데 이용될 수 있다. 면역계 및/또는 면역 반응의 평가 및 사정은 상이한 체제 또는 항체에 비해, 약물의 임상 시험을 위해 또는 또한 특정 화학치료제, 방사선치료제 또는 항체(이들의 조합물을 포함)의 투여를 위해 환자의 적합성을 결정하는 데 유용하다. 이 유형의 예후적 및 진단적 모니터링 및 평가는 유방암(HerceptTest(상표명), 다코사(Dako))에서 HER2 단백질에 대해 항체를 이용하는 실험 중이며, 검정은 또한 허셉틴(Herceptin)(등록상표)을 이용하여 항체 요법에 대해 환자를 평가하는 데 사용된다. 생체내 적용은 지시된 세포 요법 및 면역계 조절 및 면역 반응의 방사선 영상화를 포함한다. 따라서, 일 실시형태에서, 본 발명은 진단제로서 사용하기 위한 본 발명의 항-CD137 항체 및/또는 약제학적 조성물에 관한 것이다. 일 실시형태에서, 본 발명은 면역계 기능장애를 갖거나 또는 갖는 것으로 의심되는 또는 예상되거나 또는 목적하는 면역계 반응, 항원 반응 또는 백신 반응에 관해 대상체의 예측, 진단 및/또는 모니터링을 위한 본 발명의 항-CD137 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0374] 일 실시형태에서, 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 생검 샘플의 면역조직화학에서 사용될 수 있다. 일 실시형태에서, 상기 방법은 시험관내 방법이다. 다른 실시형태에서, 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 그들의 막 표면 상에 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 수준, 또는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)을 함유하는 세포의 수준을 검출하기 위해 사용될 수 있으며, 이 수준은, 이어서, 소정의 질환 증상과 연관될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 검출 가능한 또는 기능성 표지를 운반할 수 있고/있거나 방사성핵종 또는 검출 가능한 표지에 접합될 수 있다. 형광 표지가 사용될 때, 상업적으로 입수 가능한 현미경 및 형광-활성화 세포 분류 분석(FACS) 또는 당업계에 공지된 방법 절차 둘 다의 조합은 특정 결합 구성원을 동정하기 위해 그리고 정량화하기 위해 이용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 형광 표지를 운반하거나 또는 이에 접합될 수 있다. 예시적인 형광 표지는, 예를 들어, 반응성 및 접합된 프로브, 예를 들어, 아미노쿠마린, 플루오레세인 및 텍사스 레드(Texas red), 알렉사 플루오르(Alexa Fluor) 염료, Cy 염료 및 DyLight 염료를 포함한다. 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 방사성 표지 또는 방사성핵종, 예컨대 동위원소 ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{51}Cr , ^{57}Co , ^{58}Co , ^{59}Fe , ^{67}Cu , ^{90}Y , ^{99}Tc , ^{111}In , ^{117}Lu , ^{121}I , ^{124}I , ^{125}I , ^{131}I , ^{198}Au , ^{211}At , ^{213}Bi , ^{225}Ac 및 ^{186}Re

를 운반하거나 또는 이에 접합될 수 있다. 방사성 표지가 사용될 때, 당업계에 공지된 현재 입수 가능한 계수 절차는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 대한 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체의 특이적 결합을 동정하고 정량화하기 위해 이용될 수 있다. 표지가 효소인 예에서, 검출은 당업계에 공지된 바와 같은 임의의 현재 이용되는 비색, 분광광도법적, 형광분광광도법적, 전류적정 또는 가스분석 기법에 의해 달성될 수 있다. 이는 항체와 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 사이에 복합체의 형성을 허용하는 조건하에 샘플 또는 대조군 샘플을 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체와 접촉시킴으로써 달성될 수 있다. 항체와 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 사이에 형성된 임의의 복합체는 검출되며, 샘플 및 대조군에서 비교된다. CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 대해 본 명세서에 기재된 항체의 특정 결합에 비추어, 항체는 세포 표면 상에서 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 발현을 특이적으로 검출하기 위해 사용될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체는 또한 면역친화도 정제를 통해 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)을 정제하는 데 사용될 수 있다. 또한 본 명세서에서, 예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 또는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)/CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 리간드 복합체의 존재 전도의 정량적 분석을 위한 시험 키트, 키트 또는 키트의 부품의 형태로 제조될 수 있는 검정 시스템이 포함된다. 시스템, 시험 키트, 키트 또는 키트의 부품은 표지된 성분, 예를 들어, 표지된 항체 및 하나 이상의 추가적인 면역화학적 시약을 포함할 수 있다.

[0375] **5.5 항-CD137 항체를 생산하는 폴리뉴클레오타이드, 벡터 및 방법**

[0376] 다른 양상에서, 본 명세서에서 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원 및 벡터, 예를 들어, 숙주 세포(예를 들어, 이콜라이 및 포유류 세포)에서 재조합 발현을 위해 이러한 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역)을 암호화하는 뉴클레오타이드를 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 본 명세서에서 본 명세서에 제공된 임의의 항체의 중쇄 및/또는 경쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드뿐만 아니라 이러한 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 벡터, 예를 들어, 숙주 세포, 예를 들어, 포유류 세포에서 그들의 충분한 발현을 위한 발현 벡터가 제공된다.

[0377] 본 명세서에서 "단리된" 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산 분자는 핵산 분자의 천연 공급원에(예를 들어, 마우스 또는 인간에) 존재하는 다른 핵산 분자로부터 분리된 것이다. 게다가, "단리된" 핵산 분자, 예컨대 cDNA 분자는 재조합 기법에 의해 생산될 때 다른 세포 물질 또는 배양물 배지가 실질적으로 없을 수 있거나, 또는 화학적으로 합성될 때 화학적 전구체 또는 다른 화학물질이 실질적으로 없을 수 있다. 예를 들어, 언어 "실질적으로 없음"은 다른 물질, 예를 들어, 세포의 물질, 배양물 배지, 다른 핵산 분자, 화학적 전구체 및/또는 다른 화학물질이 약 15%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1% 미만인(특히, 약 10% 미만인) 폴리뉴클레오타이드 또는 핵산 분자의 제제를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 핵산 분자(들)는 단리되거나 또는 정제된다.

[0378] 특정 양상에서, 본 명세서에서 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 폴리펩타이드에 특이적으로 결합하고 그리고 본 명세서에 기재된 바와 같은 아미노산 서열을 포함하는 항체뿐만 아니라 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 폴리펩타이드에 결합하기 위해(예를 들어, 용량 의존적 방식으로) 이러한 항체와 경쟁하거나, 또는 이러한 항체와 동일한 에피토프에 결합하는 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다.

[0379] 소정의 양상에서, 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 항체의 경쇄 또는 중쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 기재된(예를 들어, 표 1 참조) 항체의 VL FR 및 CDR을 포함하는 경쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 또는 본 명세서에 기재된(예를 들어, 표 1 참조) 항체의 VH FR 및 CDR을 포함하는 중쇄를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함할 수 있다.

[0380] 또한 본 명세서에서, 예를 들어, 코돈/RNA 최적화, 이중성 신호 서열로 대체 및 mRNA 불안정 요소의 제거에 의해 최적화된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. mRNA에서 코돈 변화를 도입하고/하거나 저해 영역을 제거함으로써 재조합 발현을 위한 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 단편(예를 들어, 경쇄, 중쇄, VH 도메인 또는 VL 도메인)을 암호화하는 최적화된 핵산을 생성하는 방법은, 예를 들어, 미국 특허 제5,965,726호; 제6,174,666호; 제6,291,664호; 제6,414,132호; 및 제6,794,498호(따라서 이들 모두 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨)에 기재된 최적화 방법을 적용함으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, RNA 내에서 잠재적 스플라이스 부위

및 불안정 요소(예를 들어, A/T 또는 A/U 풍부 요소)는 재조합 발현을 위해 RNA의 안정성을 증가시키기 위하여 핵산 서열에 의해 암호화된 아미노산을 변경시키는 일 없이 돌연변이될 수 있다. 변경은, 예를 들어, 동일한 아미노산에 대한 대안의 코돈을 이용하는 유전자 암호의 축퇴를 이용한다. 소정의 실시형태에서, 보존적 돌연변이, 예를 들어, 본래의 아미노산과 유사한 화학적 구조 및 특성 및/또는 기능을 갖는 유사한 아미노산을 암호화하기 위해 하나 이상의 코돈을 변경하는 것이 바람직할 수 있다. 이러한 방법은 최적화되지 않은 폴리뉴클레오타이드에 의해 암호화된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체의 발현에 비해 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 단편의 발현을 적어도 1배, 2배, 3배, 4배, 5배, 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 또는 100배만큼 증가시킬 수 있다.

[0381] 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 단편(예를 들어, VL 도메인 및/또는 VH 도메인)을 암호화하는 최적화된 폴리뉴클레오타이드 서열은 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 단편(예를 들어, VL 도메인 및/또는 VH 도메인)을 암호화하는 비최적화된 폴리뉴클레오타이드 서열의 안티센스(예를 들어, 상보성) 폴리뉴클레오타이드에 혼성화될 수 있다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 단편을 암호화하는 최적화된 뉴클레오타이드 서열은 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 비최적화된 폴리뉴클레오타이드 서열의 안티센스 폴리뉴클레오타이드에 대해 높은 엄격 조건하에 혼성화된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 최적화된 뉴클레오타이드 서열은 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 단편을 암호화하는 비최적화된 뉴클레오타이드 서열의 안티센스 폴리뉴클레오타이드에 대해 높은 엄중, 중간 또는 더 낮은 엄중 혼성화 조건하에 혼성화한다. 혼성화 조건에 관한 정보는, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 출원 공개 제2005/0048549호(예를 들어, 단락 72 내지 73)에 기재된 것을 참조한다.

[0382] 폴리뉴클레오타이드는 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 얻어지고, 폴리뉴클레오타이드 서열이 결정된다. 본 명세서에 기재된 항체, 예를 들어, 표 1에 기재된 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열 및 이들 항체의 변형된 형태는 당업계에 잘 공지된 방법을 이용하여 결정될 수 있고, 즉, 특정 아미노산을 암호화하도록 공지된 뉴클레오타이드 코돈은 항체를 암호화하는 핵산을 생성하기 위해 이러한 방법으로 조립된다. 항체를 암호화하는 이러한 폴리뉴클레오타이드는 화학적으로 합성된 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Kutmeier G *et al.*, (1994), *BioTechniques* 17: 242-6]에 기재된 바와 같음)로부터 조립될 수 있는데, 이는 간략하게는 항체를 암호화하는 서열의 일부를 함유하는 중복 올리고뉴클레오타이드의 합성, 해당 올리고뉴클레오타이드의 어닐링 및 결합, 및 PCR에 의한 결합된 올리고뉴클레오타이드의 증폭을 수반한다.

[0383] 대안적으로, 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드는 당업계에 잘 공지된 방법(예를 들어, PCR 및 다른 분자 클로닝 방법)을 이용하여 적합한 공급원(예를 들어, 하이브리도마)으로부터의 핵산으로부터 생성될 수 있다. 예를 들어, 공지된 서열의 3' 및 5' 단부에 혼성화 가능한 합성 프라이머를 이용하는 PCR 증폭은 관심 대상의 항체를 생산하는 하이브리도마 세포로부터 얻어진 게놈 DNA를 이용하여 수행될 수 있다. 이러한 PCR 증폭 방법은 항체의 경쇄 및/또는 중쇄를 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 얻기 위해 사용될 수 있다. 이러한 PCR 증폭 방법은 항체의 가변 경쇄 영역 및/또는 가변 중쇄 영역을 암호화하는 서열을 포함하는 핵산을 얻기 위해 사용될 수 있다. 증폭된 핵산은 숙주 세포에서의 발현을 위해 그리고 추가적인 클로닝을 위해, 예를 들어, 키메라 및 인간화된 항체를 생성하기 위해 벡터에 클로닝될 수 있다.

[0384] 특정 항체를 암호화하는 핵산을 함유하는 클론이 이용 가능하지 않지만, 항체 분자의 서열이 공지된다면, 면역글로불린을 암호화하는 핵산은 서열의 3' 및 5' 단부에 혼성화 가능한 합성 프라이머를 이용하는 PCR 증폭에 의해 또는, 예를 들어, 항체를 암호화하는 cDNA 라이브러리로부터의 cDNA 클론을 동정하기 위해 특정 유전자 서열에 특이적인 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용하는 클로닝에 의해 적합한 공급원(예를 들어, 항체를 발현시키는 임의의 조직 또는 세포, 예컨대 본 명세서에 기재된 항체를 발현시키도록 선택된 하이브리도마 세포로부터 생성된 항체 cDNA 라이브러리 또는 cDNA 라이브러리 또는 단리된 핵산, 바람직하게는 폴리 A⁺ RNA)으로부터 화학적으로 합성되거나 또는 얻어질 수 있다. 이어서, PCR에 의해 생성되는 증폭된 핵산은 당업계에 잘 공지된 임의의 방법을 이용하여 복제 가능한 클로닝 벡터에 클로닝될 수 있다.

[0385] 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체를 암호화하는 DNA는 통상적인 절차를 이용하여 (예를 들어, 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써) 용이하

게 단리되고 서열분석될 수 있다. 하이브리도마 세포는 이러한 DNA의 공급원으로서 작용할 수 있다. 일단 단리되면, DNA는 발현 벡터에 위치될 수 있고, 이어서, 이는 재조합 숙주 세포에서 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체의 합성을 얻기 위해 숙주 세포, 예컨대 이콜라이 세포, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소(CHO) 세포(예를 들어, CHO GS 시스템(CHO GS System)(상표명)(론자(Lonza))로부터의 CHO 세포) 또는 면역글로불린 단백질을 달리 생산하지 않는 골수종 세포에 형질감염된다.

[0386] 전체 항체를 생성하기 위해, VH 또는 VL 뉴클레오타이드 서열, 제한 부위 및 제한 부위를 보호하기 위한 측접 서열을 포함하는 PCR 프라이머를 사용하여 scFv 클론에서 VH 또는 VL 서열을 증폭시킬 수 있다. 당업자에게 공지된 클로닝 기법을 이용하여, PCR 증폭된 VH 도메인은 중쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 감마 4 불변 영역을 발현시키는 벡터에 클로닝될 수 있고, PCR 증폭된 VL 도메인은 경쇄 불변 영역, 예를 들어, 인간 카파 또는 람다 불변 영역을 발현시키는 벡터에 클로닝될 수 있다. 소정의 실시형태에서, VH 또는 VL 도메인을 발현시키기 위한 벡터는 EF-1 α 프로모터, 분비 신호, 가변 영역에 대한 클로닝 부위, 불변 도메인 및 선택 마커, 예컨대 네오마이신을 포함한다. VH 및 VL 도메인은 또한 필수 불변 영역을 발현시키는 하나의 벡터에 클로닝될 수 있다. 이어서, 중쇄 전환 벡터 및 경쇄 전환 벡터는 당업자에게 공지된 기법을 이용하여 전장 항체, 예를 들어, IgG를 발현시키는 안정한 또는 일시적 세포주를 생성하기 위해 세포주에 공동형질감염된다.

[0387] DNA는 또한, 예를 들어, 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인에 대한 암호화 서열을 무린 서열 대신 치환함으로써, 또는 비-면역글로불린 폴리펩타이드에 대한 암호 서열의 모두 또는 일부를 면역글로불린 암호화 서열에 공유 결합시킴으로써, 변형될 수 있다.

[0388] 또한 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 대해 높은 엄중, 중간 또는 낮은 엄중 혼성화 조건하에 혼성화 가능한 폴리뉴클레오타이드가 제공된다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 폴리뉴클레오타이드는 본 명세서에 제공된 VH 도메인 및/또는 VL 도메인을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드에 대해 높은 엄중, 중간 또는 낮은 엄중 혼성화 조건하에 혼성화한다.

[0389] 혼성화 조건은 당업계에 기재되어 있고, 당업자에게 공지되어 있다. 예를 들어, 엄중 조건하의 혼성화는 약 45°C에서 6x 염화나트륨/시트르산나트륨(SSC) 중에서 필터-결합된 DNA에 대한 혼성화 다음에 약 50 내지 65°C에서 0.2xSSC/0.1% SDS 중에서 1회 이상의 세척; 고도로 엄중한 조건하의 혼성화는 약 45°C에서 6xSSC 중에서 필터-결합된 DNA에 대한 혼성화 다음에 약 68°C에서 0.1xSSC/0.2% SDS 중에서 1회 이상의 세척을 수반할 수 있다. 다른 엄중 혼성화 조건하의 혼성화는 당업자에게 공지되어 있고, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편집된 문헌[Ausubel FM *et al.*, eds., (1989) Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc. 및 John Wiley & Sons, Inc., New York, 페이지 6.3.1-6.3.6 및 2.10.3]에 기재되어 있다.

[0390] 소정의 양상에서, 본 명세서에서 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 및 관련된 폴리뉴클레오타이드 및 발현 벡터에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체를 (예를 들어, 재조합적으로) 발현시키는 세포(예를 들어, 숙주 세포)가 제공된다. 본 명세서에서 숙주 세포, 바람직하게는 포유류 세포(예를 들어, CHO 세포)에서 재조합 발현을 위해 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 단편을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터(예를 들어, 발현 벡터)가 제공된다. 또한 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체(예를 들어, 인간 또는 인간화된 항체)를 재조합적으로 발현시키기 위해 이러한 벡터를 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 특정 양상에서, 본 명세서에서 숙주 세포로부터 이러한 항체를 발현시키는 단계를 포함하는, 본 명세서에 기재된 항체를 생산하는 방법이 제공된다.

[0391] CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체(예를 들어, 본 명세서에 기재된 전장 항체, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 또는 단일쇄 항체)의 재조합 발현은 일반적으로 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 발현 벡터의 구성을 수반한다. 일단, 본 명세서에 기재된 항체 분자, 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 또는 이의 단편(예를 들어, 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역)이 얻어지면, 항체 분자의 생산을 위한 벡터는 당업계에 잘 공지된 기법을 이용하는 재조합 DNA 기법에 의해 생산될 수 있다. 따라서, 뉴클레오타이드 서열을 암호화하는 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 경쇄 또는 중쇄)을 함유하는 폴리뉴클레오타이드를 발현시킴으로써 단백질을 제조하기 위한 방법이 본 명세서에 기재된다. 당업자에게 잘 공지된 방법은 항체 또는 항체 단편(예를 들어, 경쇄 또는 중쇄) 암호화 서열 및 적절한 전사 및 번역 제어 신호를 함유하는 발현 벡터를 작성하기 위해 사용될 수 있다. 이들 방법은, 예를 들어, 시험관내 재조합 DNA 기법, 합성 기법 및 생체내 유전자 재조합을 포함한다. 또한 프로모터에 작동 가능하게 연결된, 본 명세서에 기재된 항체 분자, 항체의 중쇄 또는 경쇄, 항체 또는 이의 단편의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 또는 경쇄 CDR를 암

호화하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 복제 가능한 벡터가 제공된다. 이러한 벡터는, 예를 들어, 항체 분자의 불변 영역을 암호화하는 뉴클레오타이드 서열(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 국제 특허 출원 공개 WO 86/05807 및 WO 89/01036; 및 미국 특허 제5,122,464호 참조)을 포함할 수 있고, 항체의 가변 영역은 전체 중쇄, 전체 경쇄, 또는 전체 중쇄와 경쇄 둘 다의 발현을 위해 이러한 벡터에 클로닝될 수 있다.

[0392] 발현 벡터는 통상적인 기법에 의해 세포(예를 들어, 숙주 세포)에 전달될 수 있고, 이어서, 얻어진 세포는 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편을 생산하기 위해 통상적인 기법에 의해 배양될 수 있다. 따라서, 본 명세서에서 숙주 세포에서 이러한 서열의 발현을 위해 프로모터에 작동 가능하게 연결된 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편, 또는 이의 중쇄 또는 경쇄, 또는 이의 단편, 또는 본 명세서에 기재된 단일쇄 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 함유하는 숙주 세포가 제공된다. 소정의 실시형태에서, 이중쇄 항체의 발현을 위해, 중쇄와 경쇄를 둘 다 암호화하는 벡터는 개개로 이하에 상술하는 바와 같이 전체 면역글로불린 분자의 발현을 위해 숙주 세포에서 공동 발현될 수 있다. 소정의 실시형태에서, 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편의 중쇄와 경쇄를 둘 다 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 벡터를 함유한다. 구체적인 실시형태에서, 숙주 세포는 두 상이한 벡터, 즉, 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편의 중쇄 또는 중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제1 벡터, 및 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편의 경쇄 또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제2 벡터를 함유한다. 다른 실시형태에서, 제1 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 항체 또는 이의 단편의 중쇄 또는 중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제1 벡터를 포함하고, 제2 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 항체 의 경쇄 또는 경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제2 벡터를 포함한다. 구체적인 실시형태에서, 제1 세포에 의해 발현된 중쇄/중쇄 가변 영역은 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체를 형성하기 위해 제2 세포의 경쇄/경쇄 가변 영역과 회합된다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에서 이러한 제1 숙주 세포 및 이러한 제2 숙주 세포를 포함하는 숙주 세포의 집단이 제공된다.

[0393] 특정 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체의 경쇄/경쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제1 벡터, 및 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체의 중쇄/중쇄 가변 영역을 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 제2 벡터를 포함하는, 벡터의 집단이 제공된다.

[0394] 다양한 숙주-발현 벡터 시스템은 본 명세서에 기재된 항체 분자를 발현시키기 위해 이용될 수 있다(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 제5,807,715호 참조). 이러한 숙주-발현 시스템은 관심 대상의 암호화 서열이 생산될 수 있고 후속될 수 있는 비히클을 나타내지만, 또한 적절한 뉴클레오타이드 암호화 서열로 형질전환되거나 또는 형질감염될 때, 본 명세서에서 인시츄로 기재된 항체 분자를 발현시킬 수 있는 세포를 나타낸다. 이들은 미생물, 예컨대 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 박테리오파지 DNA, 플라스미드 DNA 또는 코스미드 DNA 발현 벡터로 형질전환된 박테리아(예를 들어, 이콜라이 및 바실러스 서브틸리스); 효모(예를 들어, 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 효모 발현 벡터로 형질전환된 사카로마이세스 피키아(*Saccharomyces Pichia*)); 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 바콜로바이러스)로 감염된 곤충 세포 시스템; 재조합 바이러스 발현 벡터(예를 들어, 콜리플라워 모자이크 바이러스, CaMV; 담배 모자이크 바이러스, TMV)로 감염되거나 또는 항체 암호화 서열을 함유하는 재조합 플라스미드 발현 벡터(예를 들어, Ti 플라스미드)로 형질전환된 식물 세포 시스템(예를 들어, 녹조류, 예컨대 클라미도모나스 레인하르티(*Chlamydomonas reinhardtii*)); 또는 포유류 세포(예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터)의 계능으로부터 또는 포유류 바이러스로부터 유래된 프로모터(예를 들어, 아데노바이러스 후기 프로모터; 백시니아 바이러스 7.5K 프로모터)를 함유하는 재조합 발현 작제물을 보유하는 포유류 세포 시스템(예를 들어, COS(예를 들어, COS1 또는 COS), CHO, BHK, MDCK, HEK 293, NSO, PER.C6, VERO, CRL7030, HsS78Bst, HeLa 및 NIH 3T3, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20 및 BMT10 세포)을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 구체적인 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체를 발현시키기 위한 세포는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, 예를 들어, CHO GS 시스템(상표명)(론자)으로부터의 CHO 세포이다. 소정의 실시형태에서, CHO 세포에 의해 생산된 항체의 중쇄 및/또는 경쇄는 파이로글루타메이트로 대체되는 N-말단의 글루타민 또는 글루타메이트를 가질 수 있다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체를 발현시키기 위한 세포는 인간 세포, 예를 들어, 인간 세포주이다. 구체적인 실시형태에서, 포유류 발현 벡터는 pOptiVEC(상표명) 또는 pcDNA3.3이다. 특정 실시형태에서, 특히 전체 재조합 항체 분자의 발현을 위한 박테리아 세포, 예컨대 에스케리키아 콜라이 또는 진핵 세포(예를 들어, 포유류 세포)는 재조합 항체 분자의 발현을 위해 사용된다. 예를 들어, 인간 거대세포 바이러스로부터의 주요 중간 초기 유전자 프로모터 요소와 같은 벡터와 함께 포유류 세포, 예컨대 CHO 세포는 항체에 대한 효과적인 발현 시스템이다(Foecking MK & Hofstetter H (1986) Gene 45: 101-5; 및 Cockett MI *et al.*, (1990) Biotechnology

8(7): 662-7, 이들 각각은 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨). 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 CHO 세포 또는 NS0 세포에 의해 생산된다. 구체적 실시형태에서, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 뉴클레오타이드 서열의 발현은 구성적 프로모터, 유도성 프로모터 또는 조직 특이적 프로모터에 의해 조절된다.

[0395] 박테리아 시스템에서, 다수의 발현 벡터는 발현 중인 항체 분자에 대해 의도되는 용도에 따라서 유리하게 선택될 수 있다. 예를 들어, 다량의 이러한 항체가 생산될 때, 항체 분자의 약제학적 조성물의 생성을 위해, 용이하게 정제되는 고수준의 융합 단백질 산물의 발현을 지시하는 벡터가 바람직할 수 있다. 이러한 벡터는 융합 단백질이 생산되도록 항체 암호화 서열이 lac Z 암호화 영역을 갖는 프레임 내 벡터에 개개로 결합될 수 있는 이콜라이 발현 벡터 pUR278(Ruether U & Mueller-Hill B (1983) EMBO J 2: 1791-1794); pIN 벡터(Inouye S & Inouye M (1985) Nuc Acids Res 13: 3101-3109; Van Heeke G & Schuster SM (1989) J Biol Chem 24: 5503-5509); 등을 포함하지만, 이들로 제한되지 않으며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다. 예를 들어, pGEX 벡터는 또한 글루타티온 5-트랜스퍼라제(GST)를 갖는 융합 단백질로서 외래 폴리펩타이드를 발현시키기 위해 사용될 수 있다. 일반적으로, 이러한 융합 단백질은 가용성이고, 매트릭스 글루타티온 아가로스 비드에 대한 흡수 및 결합 다음에 유리 글루타티온의 존재하의 용리에 의해 용해된 세포로부터 용이하게 정제될 수 있다. 클로닝된 표적 유전자 산물이 GST 모이어티로부터 방출될 수 있도록 pGEX 벡터는 트롬빈 또는 인자 Xa 프로테아제 절단 부위를 포함하도록 설계된다.

[0396] 곤충 시스템에서, 아우토그라파 칼리포니카(*Autographa californica*) 핵다면체 형성 바이러스(AcNPV)는, 예를 들어, 외래 유전자를 발현시키기 위한 벡터로서 사용될 수 있다. 상기 바이러스는 스포도페라 프루기페르다(*Spodoptera frugiperda*) 세포에서 성장한다. 항체 암호 서열은 바이러스의 비필수 영역(예를 들어, 폴리헤드린 유전자)에 개개로 클로닝될 수 있고, AcNPV 프로모터(예를 들어, 폴리헤드린 프로모터)의 제어하에 위치된다.

[0397] 포유류 숙주 세포에서, 다수의 바이러스 기반 발현 시스템이 이용될 수 있다. 아데노바이러스가 발현 벡터로서 사용되는 경우에, 관심대상의 항체 암호화 서열은 아데노바이러스 전사/번역 제어 복합체, 예를 들어, 후기 프로모터 및 삼중 리더 서열에 결합될 수 있다. 이어서, 이 키메라 유전자는 시험관내 또는 생체내 재조합에 의해 아데노바이러스 게놈에 삽입될 수 있다. 바이러스 게놈(예를 들어, 영역 E1 또는 E3)에서 삽입은 생존 가능하고 감염된 숙주에서 항체 분자를 발현시킬 수 있는 재조합 바이러스를 초래할 것이다(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Logan J & Shenk T (1984) PNAS 81(12): 3655-9] 참조). 삽입된 항체 암호화 서열의 효율적인 번역에 특정 개시 신호가 필요할 수 있다. 이들 신호는 ATG 개시 코돈 및 인접한 서열을 포함한다. 더 나아가, 개시 코돈은 전체 삽입의 번역을 보장하기 위해 목적하는 암호화 서열의 관독 프레임에 맞게 작동하여야 한다. 이들 외인성 번역 제어 신호 및 개시 코돈은 천연과 합성 둘 다의 다양한 유래를 가질 수 있다. 발현 효율은 적절한 전사 인핸서 요소, 전사 종결자 등의 포함에 의해 향상될 수 있다(예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Bitter G *et al.*, (1987) Methods Enzymol. 153: 516-544] 참조).

[0398] 추가로, 삽입된 서열의 발현을 조절하거나 또는 목적하는 특정 방식으로 유전자 산물을 변형시키고 처리하는 숙주 세포 군주가 선택될 수 있다. 단백질 산물의 이러한 변형(예를 들어, 글리코실화) 및 가공(예를 들어, 절단)은 단백질의 기능에 중요할 수 있다. 상이한 숙주 세포는 단백질 및 유전자 산물의 번역후 가공 및 변형에 대한 특징적이고 구체적인 메커니즘을 가진다. 적절한 세포주 또는 숙주 시스템은 발현되는 외래 유전자의 정확한 변형 및 가공을 보장하도록 선택될 수 있다. 이를 위하여, 유전자 산물의 1차 전사체, 글리코실화 및 인산화의 적절한 가공을 위한 세포 기작을 갖는 진핵 숙주 세포가 사용될 수 있다. 이러한 포유류 숙주 세포는 CHO, VERO, BHK, HeLa, MDCK, HEK 293, NIH 3T3, W138, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 및 T47D, NS0(임의의 면역글로불린 채를 내인성으로 생산하지 않는 무린 골수종 세포주), CRL7030, COS(예를 들어, COS1 or COS), PER.C6, VERO, HsS78Bst, HEK-293T, HepG2, SP210, R1.1, B-W, L-M, BSC1, BSC40, YB/20, BMT10 및 HsS78Bst 세포를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는다. 소정의 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체는 포유류 세포, 예컨대 CHO 세포에서 생산된다.

[0399] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 감소된 푸코스 함량을 갖거나 또는 푸코스 함량이 없다. 이러한 항체는 당업자에게 공지된 기법을 이용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 항체는 푸코실레이트의 능력이 결핍되거나 또는 결여하는 세포에서 발현될 수 있다. 구체적 예에서, α1,6-푸코실트랜스퍼라제의 대립유전자 둘 다의 녹아웃을 갖는 세포주는 감소된 푸코스 함량을 갖는 항체를 생산하기 위해 사용될 수 있다. 포텔리전트(Potelligent)(등록상표) 시스템(론자)은 감소된 푸코스 함량을 갖는 항체를 생산하기 위해 사용될 수 있는 이러한 시스템의 예이다.

- [0400] 재조합 단백질의 장기간, 고수율의 생산을 위해, 안정적인 발현 세포가 생성될 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체를 안정하게 발현시키는 세포주가 조작될 수 있다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 세포는 본 명세서에 기재된 항체를 형성하기 위해 회합되는 경쇄/경쇄 가변 영역 및 중쇄/중쇄 가변 영역을 안정하게 발현시킨다.
- [0401] 소정의 양상에서, 바이러스 복제기점을 함유하는 발현 벡터를 이용하기보다는, 숙주 세포는 적절한 발현 제어 요소(예를 들어, 프로모터, 인핸서, 서열, 전사 종결자, 폴리아데닐화 부위 등), 및 선택 가능한 마커에 의해 제어된 DNA로 형질전환될 수 있다. 외래 DNA/폴리뉴클레오타이드의 도입 후에, 조작된 세포는 농축 배지에서 1 내지 2일 동안 성장하도록 허용될 수 있고, 이어서, 선택 배지로 전환된다. 재조합 플라스미드에서 선택 가능한 마커는 선택에 대한 내성을 부여하며, 세포가 플라스미드를 그들의 염색체에 안정하게 통합하도록 그리고 결국 세포주로 클로닝되고 확장될 수 있는 초점을 형성하기 위해 성장하도록 허용한다. 이 방법은 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체 또는 이의 단편을 발현시키는 세포주를 조작하기 위해 유리하게 사용될 수 있다. 이러한 조작된 세포주는 항체 분자와 직접적으로 또는 간접적으로 상호작용하는 조성물의 선별 및 평가에 특히 유용할 수 있다.
- [0402] 각각 tk-, hgp^{rt}- 또는 ap^{rt}-세포에서, 단순포진바이러스 티미딘 키나제(Wigler M *et al.*, (1977) Cell 11(1): 223-32), 하이포크산틴구아닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Szybalska EH & Szybalski W (1962) PNAS 48(12): 2026-2034) 및 아데닌 포스포리보실트랜스퍼라제(Lowy I *et al.*, (1980) Cell 22(3): 817-23) 유전자를 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 다수의 선택 시스템이 사용될 수 있으며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다. 또한, 대사길항물질 내성은 다음의 유전자에 대한 선택 기초로서 사용될 수 있다: 메토폭세이트에 대한 내성을 부여하는 *dhfr*(Wigler M *et al.*, (1980) PNAS 77(6): 3567-70; O'Hare K *et al.*, (1981) PNAS 78: 1527-31); 마이코페놀산에 대한 내성을 부여하는 *gpt*(Mulligan RC & Berg P (1981) PNAS 78(4): 2072-6); 아미노글리코사이드 G-418에 대한 내성을 부여하는 *neo*(Wu GY & Wu CH (1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev P (1993) Ann Rev Pharmacol Toxicol 32: 573-596; Mulligan RC (1993) Science 260: 926-932; 및 Morgan RA & Anderson WF (1993) Ann Rev Biochem 62: 191-217; Nabel GJ & Feigler PL (1993) Trends Biotechnol 11(5): 211-5); 및 하이그로마이신에 대한 내성을 부여하는 *hygro*(Santerre RF *et al.*, (1984) Gene 30(1-3): 147-56)(이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨). 재조합 DNA 기법의 당업계에 통상적으로 공지된 방법은 목적하는 재조합 클론을 선택하기 위해 관례적으로 적용될 수 있고, 이러한 방법은, 예를 들어, 문헌[Ausubel FM *et al.*, (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993); Kriegler M, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990); 및 Chapters 12 and 13, Dracopoli NC *et al.*, (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994); Colbère-Garapin F *et al.*, (1981) J Mol Biol 150: 1-14]에 기재되어 있으며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.
- [0403] 항체 분자의 발현 수준은 벡터 증폭에 의해 증가될 수 있다(검토를 위해, 문헌[Bebbington CR & Hentschel CCG, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987)] 참조, 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨). 항체를 발현시키는 벡터 시스템에서 마커가 증폭 가능할 때, 숙주 세포의 배양물에 존재하는 저해제 수준의 증가는 마커 유전자의 복제물 수를 증가시킬 것이다. 증폭된 영역이 항체 유전자와 회합되기 때문에, 항체의 생산은 또한 증가할 것이다(본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Crouse GF *et al.*, (1983) Mol Cell Biol 3: 257-66] 참조).
- [0404] 숙주 세포는 본 명세서에 기재된 2 이상의 발현 벡터, 즉, 중쇄 유래된 폴리펩타이드를 암호화하는 제1 벡터 및 경쇄 유래 폴리펩타이드를 암호화하는 제2 벡터로 공동 형질감염될 수 있다. 두 벡터는 중쇄와 경쇄 폴리펩타이드의 동일한 발현을 가능하게 하는 동일한 선택 가능한 마커를 함유할 수 있다. 숙주 세포는 상이한 양의 2 이상의 발현 벡터로 공동 형질감염될 수 있다. 예를 들어, 숙주 세포는 제1 발현 벡터 및 제2 발현 벡터의 다음의 비 중 임의의 하나로 형질감염될 수 있다: 약 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9, 1:10, 1:12, 1:15, 1:20, 1:25, 1:30, 1:35, 1:40, 1:45 또는 1:50.
- [0405] 대안적으로, 중쇄와 경쇄 폴리펩타이드를 둘 다 암호화하고 발현시킬 수 있는 단일 벡터가 사용될 수 있다. 이러한 상황에서, 경쇄는 과량의 무 독성 중쇄를 회피하기 위해 중쇄 앞에 놓여야 한다(문헌[Proudfoot NJ (1986) Nature 322: 562-565; 및 Köhler G (1980) PNAS 77: 2197-2199], 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이

참고로 편집됨). 중쇄와 경쇄에 대한 암호화 서열은 cDNA 또는 게놈 DNA를 포함할 수 있다. 발현 벡터는 단일시트로성 또는 다중시트로성일 수 있다. 다중시트로성 핵산 작제물은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 이상의 유전자/뉴클레오타이드 서열을, 또는 2 내지 5, 5 내지 10, 또는 10 내지 20개의 유전자/뉴클레오타이드 서열 범위로 암호화할 수 있다. 예를 들어, 이시트로성 핵산 작제물은 다음의 순서로 프로모터, 제1 유전자(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체의 중쇄), 및 제2 유전자(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체의 경쇄)를 포함할 수 있다. 이러한 발현 벡터에서, 유전자 둘 다의 전사는 프로모터에 의해 유도될 수 있는 반면, 제1 유전자로부터의 mRNA의 번역은 캡-의존적 스캐닝 메커니즘에 의할 수 있고, 제2 유전자로부터의 mRNA의 번역은, 예를 들어, IRES에 의한 캡-독립적 메커니즘에 의할 수 있다.

[0406] 일단 본 명세서에 기재된 항체 분자가 재조합 발현에 의해 생산되었다면, 이는 면역글로불린 분자의 정제를 위해 당업계에서 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어, 크로마토그래피(예를 들어, 이온 교환, 친화도, 특히 단백질 A 다음에 특정 항원에 대한 친화도, 및 크기결정 칼럼 크로마토그래피에 의해), 원심분리, 분별적 용해도에 의해 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준 기법에 의해 정제될 수 있다. 추가로, 본 명세서에 기재된 항체는 본 명세서에 기재된 이중성 폴리펩타이드 서열 또는 정제를 용이하게 하기 위한 당업계에서 공지된 다른 것에 융합될 수 있다.

[0407] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 단리되거나 또는 정제된다. 일반적으로, 단리된 항체는 단리된 항체와 상이한 항원 특이성을 갖는 다른 항체가 실질적으로 없는 것이다. 예를 들어, 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체의 제조는 세포 물질 및/또는 화학적 전구체가 실질적으로 없다. 언어 "세포 물질이 실질적으로 없는"은 항체가 단리되거나 또는 재조합적으로 생산된 세포의 세포 성분으로부터 항체가 분리된 항체의 제제를 포함한다. 따라서, 세포 물질이 실질적으로 없는 항체는 이중성 단백질(또한 본 명세서에서 "오염 단백질"로서 지칭됨) 및/또는 항체의 변이체, 예를 들어, 항체 또는 항체의 다른 상이한 형태(예를 들어, 항체 단편)의 상이한 번역후 변형 형태의 약 30%, 20%, 10%, 5%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1%(건조 중량으로) 미만을 갖는 항체의 제제를 포함한다. 항체가 재조합적으로 생산될 때, 이는 또한 일반적으로 배양물 배지가 실질적으로 없으며, 즉, 배양물 배지는 단백질 제제 용적의 약 20%, 10%, 2%, 1%, 0.5% 또는 0.1% 미만을 나타낸다. 항체가 화학적 합성에 의해 생산될 때, 이는 일반적으로 화학적 전구체 또는 다른 화합물질이 실질적으로 없고, 즉, 이는 화학적 전구체 또는 단백질의 합성에 연루된 다른 화합물질로부터 분리된다. 따라서, 항체의 이러한 제제는 관심 대상의 항체 이외의 화학적 전구체 또는 화합물의 약 30%, 20%, 10% 또는 5%(건조 중량으로) 미만을 가진다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 단리되거나 또는 정제된다.

[0408] CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이의 단편은 항체의 합성을 위한 당업계에서 공지된 임의의 방법에 의해, 예를 들어, 화학적 합성에 의해 또는 재조합 발현 기법에 의해 생산될 수 있다. 본 명세서에 기재된 방법은, 달리 표시되지 않는 한, 분자 생물학, 미생물학, 유전자 분석, 재조합 DNA, 유기 화학, 생화학, PCR, 올리고뉴클레오타이드 합성 및 변형, 핵산 혼성화 및 당업계의 기술 내의 관련 분야에서 통상적인 기법을 사용한다. 이들 기법은, 예를 들어, 본 명세서에 인용된 참고문헌에 기재되어 있으며, 문헌에서 완전하게 설명된다. 예를 들어, 문헌[Maniatis T *et al.*, (1982) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (1989), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Sambrook J *et al.*, (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel FM *et al.*, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (1987 및 매년의 업데이트); *Current Protocols in Immunology*, John Wiley & Sons (1987 및 매년의 업데이트) Gait (ed.) (1984) *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press; Eckstein (ed.) (1991) *Oligonucleotides and Analogues: A Practical Approach*, IRL Press; Birren B *et al.*, (eds.) (1999) *Genome Analysis: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press]을 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편집된다.

[0409] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체는 생성을 수반하는 임의의 수단에 의해, 예를 들어, DNA 서열의 합성, 유전자 조작을 통해 제조되거나, 발현되거나, 생성되거나 또는 단리된 항체(예를 들어, 재조합 항체)이다. 소정의 실시형태에서, 이러한 항체는 생체내 동물 또는 포유류(예를 들어, 인간)의 항체 생체계열 레퍼토리 내에서 자연적으로 존재하지 않는 서열(예를 들어, DNA 서열 또는 아미노산 서열)을 포함한다.

[0410] 일 양상에서, 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 세포 또는 숙주 세포를 배양시키는 단계를 포함하는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체의 제조 방법이 제공된다. 일 실시형태에서, 상기 방법은 시험관내에서 수행된다. 소정의 양상에서, 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 세포 또는

숙주 세포(예를 들어, 본 명세서에 기재된 항체를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 세포 또는 숙주 세포)를 이용하여 항체를 발현시키는(예를 들어, 재조합적으로 발현시키는) 단계를 포함하는, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 항체의 제조 방법이 제공된다. 특정 실시형태에서, 세포는 단리된 세포이다. 특정 실시형태에서, 외인성 폴리뉴클레오타이드는 세포 내로 도입되었다. 특정 실시형태에서, 상기 방법은 세포 또는 숙주 세포로부터 얻어진 항체를 정제하는 단계를 추가로 포함한다.

[0411] 다클론성 항체를 생산하는 방법은 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Chapter 11: Short Protocols in Molecular Biology, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, eds., John Wiley and Sons, New York]).

[0412] 단클론성 항체는 하이브리도마, 재조합 및 파지 디스플레이 기법, 또는 이들의 조합의 사용을 포함하는, 매우 다양한 당업계에 공지된 기법을 이용하여 제조될 수 있다. 예를 들어, 단클론성 항체는 당업계에 공지되고, 예를 들어, 각각 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Harlow E & Lane D, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling GJ *et al.*, in: *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas* 563 681 (Elsevier, N.Y., 1981)]에 교시된 것을 포함하는 하이브리도마 기법을 이용하여 생산될 수 있다. 본 명세서에 사용된 바와 같은 용어 "단클론성 항체"는 하이브리도마 기법을 통해 생산된 항체이지만, 이것으로 제한되지 않는다. 예를 들어, 단클론성 항체는 본 명세서에 기재된 항체를 외인성으로 발현시키는 숙주 세포 또는 이의 단편, 예를 들어, 이러한 항체의 경쇄 및/또는 중쇄로부터 재조합적으로 생산될 수 있다.

[0413] 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 사용된 바와 같은 "단클론성 항체"는 단일 세포(예를 들어, 재조합 항체를 생산하는 하이브리도마 또는 숙주 세포)에 의해 생산된 항체이되, 항체는, 예를 들어, ELISA 또는 당업계에 공지된 다른 항원-결합 또는 경쟁적 결합 분석에 의해 또는 본 명세서에 제공된 예에서 결정된 바와 같은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합한다. 특정 실시형태에서, 단클론성 항체는 키메라 항체 또는 인간화된 항체일 수 있다. 소정의 실시형태에서, 단클론성 항체는 1가 항체 또는 다가(예를 들어, 2가) 항체이다. 특정 실시형태에서, 단클론성 항체는 단일특이성 또는 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체)이다. 본 명세서에 기재된 단클론성 항체는, 예를 들어, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Kohler G & Milstein C (1975) *Nature* 256: 495]에 기재된 바와 같은 하이브리도마 방법에 의해 생성될 수 있거나, 또는, 예를 들어, 본 명세서에 기재된 바와 같은 기법을 이용하여 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다. 이에 의해 발현된 클론 세포주의 그리고 단클론성 항체의 제조를 위한 다른 방법은 당업계에 잘 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Chapter 11 in: *Short Protocols in Molecular Biology*, (2002) 5th Ed., Ausubel FM *et al.*, 상기 참조] 참조).

[0414] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 항체가 적어도 2(예를 들어, 2 이상의) 1가 결합 도메인을 포함할 때, 항체는 다가로(예를 들어, 2가로) 항원에 결합하고, 각각의 1가 결합 도메인은 항원 상의 에피토프에 결합할 수 있다. 각각의 1가 결합 도메인은 항원 상에서 동일 또는 상이한 에피토프에 결합할 수 있다.

[0415] 하이브리도마 기법을 이용하여 특정 항체에 대해 생산 및 선별하는 방법은 일상적이며, 당업계에 잘 공지되어 있다. 예를 들어, 하이브리도마 방법에서, 면역화를 위해 사용되는 단백질(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137))에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하거나 또는 생산할 수 있는 림프구를 유발하기 위해 마우스 또는 다른 적절한 숙주 동물, 예컨대, 양, 염소, 토끼, 래트, 햄스터 또는 마카크 원숭이가 면역화된다. 대안적으로, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다. 이어서, 림프구는 적합한 융합제, 예컨대 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여 골수종 세포와 융합되어 하이브리도마 세포를 형성한다(본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Goding JW (Ed), *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)]). 추가적으로, RIMMS(반복 면역화 다중 부위) 기법은 동물을 면역화하기 위해 사용될 수 있다(본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Kilpatrick KE *et al.*, (1997) *Hybridoma* 16:381-9] 참조).

[0416] 소정의 실시형태에서, 마우스(또는 다른 동물, 예컨대 래트, 원숭이, 당나귀, 돼지, 양, 햄스터 또는 개)는 항원(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137))으로 면역화될 수 있고, 일단 면역 반응이 검출되면, 예를 들어, 항원에 특이적인 항체는 마우스 혈청에서 검출되고, 마우스 비장이 채취되며, 비장세포는 단리된다. 이어서, 비장세포는 임의의 적합한 골수종 세포, 예를 들어, 미국 미생물 보존센터(American Type Culture Collection: ATCC(등록상표))(버지니아주 매너서스에 소재)로부터 입수 가능한 세포주 SP20로부터의 세포에 잘 공지된 기법에 의해 융합되어 하이브리도마를 형성한다. 하이브리도마가 선택되며, 제한된 희석에 의해 클로닝된다. 소정의 실시형태에서, 면역화된 마우스의 림프절이 채취되고, NSO 골수종 세포와

융합된다.

- [0417] 이렇게 제조된 하이브리도마 세포는 과증되고, 비융합, 비경구 골수종 세포의 성장 또는 생존을 저해하는 하나 이상의 물질을 바람직하게 함유하는 적합한 배양 배지에서 성장된다. 예를 들어, 모 골수종 세포가 효소 하이포크산틴 구아닌 포스포리보실 트랜스퍼라제(HGPRT 또는 HPRT)를 결여한다면, 하이브리도마에 대한 배양 배지는 전형적으로 하이포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘(HAT 배지)을 포함하며, 이들 물질은 HGPRT-결핍 세포의 성장을 방지한다.
- [0418] 구체적 실시형태는 효율적으로 융합하고, 선택된 항체-생산 세포에 의해 안정한 고수준의 항체 생산을 뒷받침하며, HAT 배지와 같은 배지에 대해 민감성인, 골수종 세포를 사용한다. 이들 골수종 세포주 중에 뮤린 골수종 계통, 예컨대 NS0 세포주 또는 미국 캘리포니아주 샌디에이고에 소재한 소크 인스티튜트 세포 배포 센터(Salk Institute Cell Distribution Center)로부터 입수 가능한 MOPC-21 및 MPC-11 마우스 종양으로부터 유래된 것, 및 미국 매릴랜드주 락빌에 소재한 미국 미생물 보존센터로부터 입수 가능한 SP-2 또는 X63-Ag8.653 세포가 있다. 인간 골수종 및 마우스-인간 이형골수종 세포주는 또한 인간 단클론성 항체의 생산에 대해 기재되었다(문헌 [Kozbor D (1984) J Immunol 133: 3001-5; Brodeur *et al.*, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)] 참조, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입됨).
- [0419] 하이브리도마 세포가 성장하는 배양 배지는 단클론성 항체 지향 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 생산에 대해 분석된다. 하이브리도마 세포에 의해 생산된 단클론성 항체의 결합 특이성은 당업계에 공지된 방법, 예를 들어, 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 분석, 예컨대 방사면역측정법(RIA) 또는 효소-결합 면역흡착 분석(ELISA)에 의해 결정된다.
- [0420] 목적하는 특이성, 친화도 및/또는 활성의 항체를 생산하는 하이브리도마 세포가 동정된 후에, 클론은 희석 절차를 제한함으로써 서브클로닝되고 표준 방법에 의해 성장될 수 있다(Goding JW (Ed), Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, 상기 참조). 이 목적을 위한 적합한 배양 배지는, 예를 들어, D-MEM 또는 RPMI 1640 배지를 포함한다. 추가로, 하이브리도마 세포는 동물에서 복수종양으로서 생체내에서 성장될 수 있다.
- [0421] 서브클론에 의해 분비된 단클론성 항체는, 예를 들어, 단백질 A-세파로스, 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전기영동, 투석 또는 친화도 크로마토그래피와 같은 통상적인 면역글로불린 정제 절차에 의해 배양 배지, 복수액 또는 혈청으로부터 적합하게 분리된다.
- [0422] 본 명세서에 기재된 항체는 특이적 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)을 인식하고, 당업자에게 공지된 임의의 기법에 의해 생성될 수 있는, 예를 들어, 항체 단편을 포함한다. 예를 들어, 효소, 예컨대 파파인(Fab 단편을 생성) 또는 펩신(F(ab')₂ 단편을 생성)을 이용하는 면역글로불린 분자의 단백질 분해 절단에 의해 본 명세서에 기재된 Fab 및 F(ab')₂ 단편이 생산될 수 있다. Fab 단편은 항체 분자의 두 동일한 아암(arm) 중 하나에 대응하고, 중쇄의 VH 및 CH1 도메인과 짝지어진 완전한 경쇄를 함유한다. F(ab')₂ 단편은 힌지 영역 내 이황화 결합에 의해 연결된 항체 분자의 두 항원-결합 아암을 함유한다.
- [0423] 추가로, 본 명세서에 기재된 항체는 또한 당업계에 공지된 다양한 파지 디스플레이 방법을 이용하여 생성될 수 있다. 파지 디스플레이 방법에서, 기능성 항체 도메인은 이를 암호화하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 운반하는 파지 입자의 표면 상에 나타난다. 특히, VH 및 VL 도메인을 암호화하는 DNA 서열은 동물 cDNA 라이브러리(예를 들어, 영향받은 조직의 인간 또는 뮤린 cDNA 라이브러리)로부터 증폭된다. VH 및 VL 도메인을 암호화하는 DNA는 PCR에 의해 scFv 링커와 함께 재조합되고, 파지미드 벡터 내로 클로닝된다. 벡터는 이콜라이에서 전기천공되고, 이콜라이는 헬퍼 파지로 감염된다. 이들 방법에서 사용되는 파지는 전형적으로 fd 및 M13을 포함하는 사상파지이고, VH 및 VL 도메인은 보통 파지 유전자 III 또는 유전자 VIII 중 하나에 재조합적으로 융합된다. 특정 항원에 결합하는 항원 결합 도메인을 발현시키는 파지는 항원으로, 예를 들어, 표지된 항원 또는 고체 표면 또는 비드에 결합 또는 포획된 항원을 이용하여 선택되거나 또는 동정될 수 있다. 본 명세서에 기재된 항체를 제조하기 위해 사용될 수 있는 파지 디스플레이 방법의 예는 문헌[Brinkman U *et al.*, (1995) J Immunol Methods 182: 41-50; Ames RS *et al.*, (1995) J Immunol Methods 184: 177-186; Kettleborough CA *et al.*, (1994) Eur J Immunol 24: 952-958; Persic L *et al.*, (1997) Gene 187: 9-18; Burton DR & Barbas CF (1994) Advan Immunol 57: 191-280; 국제 특허 출원 PCT/GB91/001134; 국제 특허 출원 공개 WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/1 1236, WO 95/15982, WO 95/20401, 및 WO 97/13844; 및 미국 특허 제 5,698,426호, 제5,223,409호, 제5,403,484호, 제5,580,717호, 제5,427,908호, 제5,750,753호, 제5,821,047호,

제5,571,698, 제5,427,908호, 제5,516,637호, 제5,780,225호, 제5,658,727호, 제5,733,743호 및 제 5,969,108호에 개시된 것을 포함하며, 이들 모두는 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다.

[0424] 상기 참고문헌에 기재된 바와 같이, 파지 선택 후에, 파지로부터의 항체 암호 영역은 단리되고, 인간 항체 또는 임의의 다른 목적하는 항원 결합 단편을 포함하는 전체 항체를 생성하는데 사용될 수 있으며, 예를 들어, 이하에 기재하는 바와 같이, 포유류 세포, 곤충 세포, 식물 세포, 효모 및 박테리아를 포함하는 임의의 목적하는 숙주에서 발현된다. 항체 단편, 예컨대 Fab, Fab' 및 F(ab')₂ 단편을 재조합적으로 생산하는 기법은 또한 당업계에 공지된 방법, 예컨대 국제 특허 출원 공개 WO 92/22324; 문헌[Mullinax RL *et al.*, (1992) *BioTechniques* 12(6): 864-9; Sawai H *et al.*, (1995) *Am J Reprod Immunol* 34: 26-34; 및 Better M *et al.*, (1988) *Science* 240: 1041-1043]에 개시된 것을 이용하여 사용될 수 있으며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

[0425] 소정의 실시형태에서, 전체 항체를 생성하기 위해, VH 또는 VL 뉴클레오타이드 서열, 제한 부위 및 제한 부위를 보호하기 위한 측접 서열을 포함하는 PCR 프라이머는 주형, 예를 들어, scFv 클론으로부터의 VH 또는 VL 서열을 증폭시키는 데 사용될 수 있다. 당업자에게 공지된 클로닝 기법을 이용하여, PCR 증폭된 VH 도메인은 VH 불변 영역을 발현시키는 벡터 내로 클로닝될 수 있고, PCR 증폭된 VL 도메인은 VL 불변 영역, 예를 들어, 인간 카파 또는 람다 불변 영역을 발현시키는 벡터 내로 클로닝될 수 있다. VH 및 VL 도메인은 또한 필수 불변 영역을 발현시키는 하나의 벡터 내로 클로닝될 수 있다. 이어서, 중쇄 전환 벡터 및 경쇄 전환 벡터는 당업자에게 공지된 기법을 이용하여 전장 항체, 예를 들어, IgG를 발현시키는 안정한 또는 일시적 세포주를 생성하기 위해 세포주 내로 공동 형질감염된다.

[0426] 키메라 항체는 항체의 상이한 부분이 상이한 면역글로불린 분자로부터 유래된 분자이다. 예를 들어, 키메라 항체는 인간 항체의 불변 영역에 융합된 마우스 또는 래트 단클론성 항체의 가변 영역을 함유할 수 있다. 키메라 항체를 생산하는 방법은 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 문헌[Morrison SL (1985) *Science* 229: 1202-7; Oi VT & Morrison SL (1986) *BioTechniques* 4: 214-221; Gillies SD *et al.*, (1989) *J Immunol Methods* 125: 191-202]; 및 미국 특허 제5,807,715호, 제4,816,567호, 제4,816,397호 및 제6,331,415호를 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

[0427] 인간화된 항체는 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 실질적으로 갖는 프레임워크 영역 및 비-인간 면역글로불린(예를 들어, 무린 면역글로불린)의 아미노산 서열을 실질적으로 갖는 CDR을 포함하는 사전결정된 항원에 결합할 수 있다. 특정 실시형태에서, 인간화된 항체는 또한 면역글로불린 불변 영역(Fc), 전형적으로 인간 면역글로불린 불변 영역의 적어도 일부를 포함한다. 항체는 또한 중쇄의 CH1, 힌지, CH2, CH3, 및 CH4 영역을 포함할 수 있다. 인간화된 항체는 IgM, IgG, IgD, IgA 및 IgE, 및 IgG₁, IgG₂, IgG₃ 및 IgG₄를 비롯한 임의의 아이소타입을 포함하는, 면역글로불린의 임의의 부류로부터 선택될 수 있다. 인간화된 항체는 CDR-접합(유럽 특허 제 239400호; 국제 특허 출원 공개 WO 91/09967; 및 미국 특허 제5,225,539호, 제5,530,101호 및 제5,585,089호), 베니어링(veneering) 또는 리서페이싱(resurfacing)(유럽 특허 제592106호 및 제519596호; 문헌[Padlan EA (1991) *Mol Immunol* 28(4/5): 489-498; Studnicka GM *et al.*, (1994) *Prot Engineering* 7(6): 805-814; 및 Roguska MA *et al.*, (1994) *PNAS* 91: 969-973]), 쇠 셔플링(chain shuffling)(미국 특허 제5,565,332호), 및, 예를 들어, 미국 특허 제6,407,213호, 미국 특허 제5,766,886호, 국제 특허 출원 공개 WO 93/17105; 문헌[Tan P *et al.*, (2002) *J Immunol* 169: 1119-25; Caldas C *et al.*, (2000) *Protein Eng.* 13(5): 353-60; Morea V *et al.*, (2000) *Methods* 20(3): 267-79; Baca M *et al.*, (1997) *J Biol Chem* 272(16): 10678-84; Roguska MA *et al.*, (1996) *Protein Eng* 9(10): 895-904; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res.* 55 (23 Supp): 5973s-5977s; Couto JR *et al.*, (1995) *Cancer Res* 55(8): 1717-22; Sandhu JS (1994) *Gene* 150(2): 409-10 및 Pedersen JT *et al.*, (1994) *J Mol Biol* 235(3): 959-73]에 개시된 기법을 포함하지만, 이들로 제한되지 않는 당업계에 공지된 다양한 기법을 이용하여 생산될 수 있으며, 이들 모두는 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 편입된다. 또한 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 미국 특허 출원 공개 제2005/0042664 A1호(2005년 2월 24일)를 참조한다.

[0428] 다중특이성(예를 들어, 이중특이성 항체)을 제조하는 방법은 기재되어 있으며, 예를 들어, 미국 특허 제 7,951,917호; 제7,183,076호; 제8,227,577호; 제5,837,242호; 제5,989,830호; 제5,869,620호; 제6,132,992호 및 제8,586,713호를 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

[0429] 단일 도메인 항체, 예를 들어, 경쇄가 결여된 항체는 당업계에 잘 공지된 방법에 의해 생산될 수 있다. 문헌[Riechmann L & Muyldermans S (1999) *J Immunol* 231: 25-38; Nuttall SD *et al.*, (2000) *Curr Pharm Biotechnol* 1(3): 253-263; Muyldermans S, (2001) *J Biotechnol* 74(4): 277-302]; 미국 특허 제6,005,079호;

및 국제 특허 출원 공개 WO 94/04678, WO 94/25591 및 WO 01/44301을 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

[0430] 추가로, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원에 특이적으로 결합된 항체는 결국 당업자에게 잘 공지된 기법을 이용하여 항원을 "모방하는" 항-이디오타입(anti-idiotypic) 항체를 생성하는 데 이용될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Greenspan NS & Bona CA (1989) FASEB J 7(5): 437-444; 및 Nissinoff A (1991) J Immunol 147(8): 2429-2438]을 참조하며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다.

[0431] 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항체와 동일한 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 에피토프에 결합하는 본 명세서에 기재된 항체는 인간 항체이다. 특정 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 항체 중 임의의 하나를 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 대한 결합으로부터 경쟁적으로 차단시키는(예를 들어, 용량 의존적 방식으로) 본 명세서에 기재된 항체는 인간 항체이다. 인간 항체는 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 기능성 내인성 면역글로불린을 발현시킬 수 없지만, 인간 면역글로불린 유전자를 발현시킬 수 있는 유전자이식 마우스가 사용될 수 있다. 특히, 인간 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자 복합체는 무작위로 또는 상동성 재조합에 의해 마우스 배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 대안적으로, 인간 가변 영역, 불변 영역, 및 다양성 영역은 인간 중쇄 및 경쇄 유전자에 추가로 마우스 배아 줄기 세포 내로 도입될 수 있다. 마우스 중쇄 및 경쇄 면역글로불린 유전자는 상동성 재조합에 의해 인간 면역글로불린 좌위의 도입과 별개로 또는 동시에 비기능성으로 제공될 수 있다. 특히, J_H 영역의 동형접합적 결실은 내인성 항체 생산을 방지한다. 변형된 배아 줄기 세포는 확장되고, 키메라 마우스를 생산하기 위해 배반포 내로 마이크로주사된다. 이어서, 키메라 마우스는 인간 항체를 발현시키는 동형접합 자손을 생산하도록 사육된다. 유전자이식 마우스는 선택된 항원, 예를 들어, 항원(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137))의 모두 또는 일부로 정상적 방식으로 면역화된다. 항원으로 향하는 단클론성 항체는 통상적인 하이브리도마 기법을 이용하여 면역화된, 유전자이식 마우스로부터 얻을 수 있다. 유전자이식 마우스에 의해 보유된 인간 면역글로불린 이식유전자는 B 세포 분화 동안 재배열하며, 후속적으로 종류 변환(class switching) 및 체세포 돌연변이를 겪는다. 따라서, 이러한 기법을 이용하여, 치료적으로 유용한 IgG, IgA, IgM 및 IgE 항체를 생성할 수 있다. 인간 항체를 생산하기 위한 기법의 검토를 위해, 본 명세서에 전문이 참고로 편입된 문헌[Lonberg N & Huszar D (1995) Int Rev Immunol 13:65-93]을 참조한다. 인간 항체 및 인간 단클론성 항체를 생산하기 위한 이러한 기법 및 이러한 항체를 생산하기 위한 프로토콜의 상세한 논의를 위해, 예를 들어, 국제 특허 출원 공개 WO 98/24893, WO 96/34096 및 WO 96/33735; 및 미국 특허 제5,413,923호, 5,625,126호, 5,633,425호, 제5,569,825호, 5,661,016호, 제5,545,806호, 5,814,318호 및 5,939,598호를 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다. 인간 항체를 생산할 수 있는 마우스의 예는 제노마우스(Xenomouse)(상표명)(압지닉스 인코포레이티드; 미국 특허 제 6,075,181호 및 제6,150,184호), HuAb-마우스(상표명)(메다렉스 인코포레이티드(Medarex, Inc.)/젠 팜(Gen Pharm); 미국 특허 제5,545,806호 및 제5,569,825호), 트랜스 크로모 마우스(Trans Chromo Mouse)(상표명)(기린(Kirin)) 및 KM 마우스(상표명)(메다렉스/기린)를 포함하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

[0432] CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)에 특이적으로 결합하는 인간 항체는 인간 면역글로불린 서열로부터 유래된 항체 라이브러리를 이용하여 상기 기재한 파지 디스플레이 방법을 포함하는 다양한 당업계에 공지된 방법에 의해 생성될 수 있다. 또한 미국 특허 제4,444,887호, 제4,716,111호 및 제5,885,793호; 및 국제 특허 출원 공개 WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO 98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735 및 WO 91/10741을 참조하며, 이들 모두는 본 명세서에 전문이 참고로 편입된다.

[0433] 소정의 실시형태에서, 인간 항체는 마우스-인간 하이브리도마를 이용하여 생산될 수 있다. 예를 들어, 엡스타인-바 바이러스(EBV)로 형질전환된 인간 말초 혈액 림프구는 인간 단클론성 항체를 분비하는 마우스-인간 하이브리도마를 생산하기 위해 마우스 골수종 세포와 융합될 수 있고, 이들 마우스-인간 하이브리도마는 표적 항원(예를 들어, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137))에 특이적으로 결합하는 인간 단클론성 항체를 분비하는 것을 결정하도록 선별될 수 있다. 이러한 방법은 공지되어 있으며, 당업계에 기재되어 있고, 예를 들어, 문헌[Shinmoto H *et al.*, (2004) Cytotechnology 46: 19-23; Naganawa Y *et al.*, (2005) Human Antibodies 14: 27-31]을 참조하며, 이들 각각은 본 명세서에 그의 전문이 참고로 편입된다.

[0434] 5.6 키트

[0435] 또한 본 명세서에 기재된 하나 이상의 항체 또는 이의 약제학적 조성물 또는 접합물을 포함하는 키트가 제공된

다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에서 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물의 성분 중 하나 이상, 예컨대 본 명세서에 제공된 하나 이상의 항체로 채워진 하나 이상의 용기를 포함하는 약제학적 팩 또는 키트가 제공된다. 소정의 실시형태에서, 상기 키트는 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물 및 임의의 예방적 또는 치료적 제제, 예컨대 본 명세서에 기재된 것을 함유한다. 소정의 실시형태에서, 키트는 T-세포 미토겐, 예를 들어, 피토헤마글루티닌(PHA) 및/또는 포볼 미리스테이트 아세테이트(PMA), 또는 TCR 복합체 자극 항체, 예컨대 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체를 함유할 수 있다. 선택적으로 약제 또는 생물학적 제품의 제조, 사용 또는 판매를 규제하는 정부 기관에 의해 지시된 형태의 주의사항이 이러한 용기(들)에 부착될 수 있으며, 이러한 주의사항은 인간 투여를 위한 제조, 사용 또는 판매의 기관에 의한 승인을 반영한다.

[0436] 또한 상기 방법에서 사용될 수 있는 키트가 제공된다. 일 실시형태에서, 키트는 하나 이상의 용기에서 본 명세서에 기재된 항체, 바람직하게는 정제된 항체를 포함한다. 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 키트는 대조군으로서 실질적으로 단리된 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원을 함유한다. 다른 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 키트는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원과 반응하지 않는 대조군 항체를 추가로 포함한다. 다른 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 기재된 키트는 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원에 대한 항체의 결합을 검출하기 위해 하나 이상의 요소를 함유한다(예를 들어, 항체는 검출 가능한 기질, 예컨대 형광 화합물, 효소 기질, 방사성 화합물 또는 발광 화합물에 접합될 수 있거나 또는 제1 항체를 인식하는 제2 항체는 검출 가능한 기질에 접합될 수 있다). 구체적 실시형태에서, 본 명세서에 제공된 키트는 재조합적으로 생산되거나 또는 화학적으로 합성된 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원을 포함할 수 있다. 키트에 제공된 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원은 또한 고체 지지체에 부착될 수 있다. 더 구체적인 실시형태에서, 상기 기재한 키트의 검출 수단은 CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원이 부착되는 고체 지지체를 포함한다. 이러한 키트는 또한 비부착 리포터-표지 항-인간 항체 또는 항-마우스/랫 항체를 포함할 수 있다. 이 실시형태에서, CD137(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137) 항원에 대한 항체의 결합은 상기 리포터-표지된 항체의 결합에 의해 검출될 수 있다. 일 실시형태에서, 본 발명은 생물학적 샘플에서 CD137 항원(예를 들어, 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137)의 시험관내 검정 및/또는 검출을 위한 본 발명의 키트의 용도에 관한 것이다.

[0437] 6. 실시예

[0438] 본 문서의 실시예(즉, 부분 6)는 예시로서 제공되고, 제한의 방법에 의하지 않는다.

[0439] 6.1 실시예 1: 항-CD137 항체의 특성규명.

[0440] 본 실시예는 인간 CD137에 결합하는 항체의 특성규명을 기재한다. 특히, 인간 CD137에 특이적으로 결합하고 이의 기능을 자극하는 BA001 항체를 특성규명하였다. BA001의 가변 영역의 서열 정보를 표 1에 제공한다.

[0441] 6.1.1 항-인간 CD137 항체는 CD137을 발현시키는 세포에 결합한다.

[0442] 인간 CD137 또는 사이노몰거스 원숭이 CD137을 발현시키는 세포에 결합하는 인간 항-CD137 IgG1 항체 BA001의 능력을 도 1A 및 도 1B에 나타난 바와 같이, 다양한 세포 유형에서 시험하였다.

[0443] 조작된 Jurkat 세포

[0444] 일 예에서, Jurkat 세포를 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137 중 하나를 구성적으로 발현시키기 위해 조작하고, 항체 BA001의 결합을 분석하기 위해 사용하였다. 간략하게, 형질감염시킨 Jurkat 세포를 96-웰 둥근 바닥 플레이트에서 5×10^4 개의 세포/웰로 플레이트하고 나서, 25분 동안 4°C에서 항체의 연속 희석물(즉, 표시된 농도에서 BA001 또는 아이소타입 대조군)과 함께 인큐베이션시켰다(도 1A 및 도 1B의 좌측 패널). 세포를 2회 세척하고 나서, 항-인간 람다-PE 2차 항체(라이프 테크놀로지스(Life Technologies), 카탈로그 번호 MH10614)와 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 세척하고 나서, PBS 중에서 제조한 80 μ l의 2% 파라폼알데하이드(Electron Microscopy Sciences) 중에서 현탁시켰다. 데이터를 BD FACS 칸토(Canto)로 수집하였고, BD FACSDiva 소프트웨어를 이용하여 분석하였다.

[0445] 도 1A 및 도 1B(좌측 패널)에 나타난 바와 같이, BA001 항체를 인간 CD137 또는 사이노몰거스 CD137 중 하나를 발현시키는 Jurkat 세포에 결합시켰다.

[0446] 활성화된 CEM/C1 T 세포

- [0447] 두 번째 실시예에서, 내인성 인간 CD137을 발현시키는 활성화된 인간 CEM/C1 T 세포에 결합하는 BA001의 능력을 시험하였다. 간략하게, CEM/C1 세포를 37℃에서 18시간 동안 10ng/ml 포볼(Phorbol) 12-미리스테이트 13-아세테이트(PMA) 및 1μg/ml 이오노마이신과 함께 인큐베이션에 의해 자극하였다. 자극된 세포를 1×10⁵ 개의 세포/웰로 96-웰 둥근 바닥 플레이트에서 플레이트팅하고 나서, 25분 동안 4℃에서 항체의 연속 희석물(즉, 도 1A의 중간 패널에 나타난 농도에서 BA001 또는 아이소타입 대조군)과 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 2회 세척하였고, 항-인간 람다-PE 2차 항체(라이프 테크놀로지스, 카탈로그 번호 MH10614)와 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 세척하고 나서, PBS 중에서 제조한 80μl의 2% 파라폼알데하이드 중에서 현탁시켰다. 데이터를 BD FACS 칸토로 수집하였고, BD FACSDiva 소프트웨어를 이용하여 분석하였다.
- [0448] 도 1A의 중간 패널에 나타난 바와 같이, BA001 항체를 내인성 CD137을 발현시키는 활성화된 CEM/C1 세포에 결합시켰다.
- [0449] *활성화된 1차 CD8+ T 세포*
- [0450] 세번째 실시예에서, 활성화된 인간 또는 사이노몰거스 CD8+ T 세포에 결합하는 BA001의 능력을 시험하였다. 간략하게, 인간 또는 사이노몰거스 PBMC를 37℃에서 18시간 동안 10ng/ml PMA 및 1μg/ml 이오노마이신과 함께 인큐베이션에 의해 자극하였다. 자극된 세포를 1×10⁵ 개의 세포/웰로 96-웰 둥근 바닥 플레이트에서 플레이트팅하고 나서, 25분 동안 4℃에서 항체의 연속 희석물(즉, 도 1A 및 도 1B의 우측 패널에 나타난 농도에서 BA001 또는 아이소타입 대조군) 및 항-인간 CD8-APC(바이올레전드(Biolegend), 카탈로그 번호 311049)와 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 2회 세척하였고, F(ab')₂ 염 항-인간 IgG-PE 2차 항체(잭슨 이뮤노리서치(Jackson ImmunoResearch), 카탈로그 번호 109-116-098)와 함께 인큐베이션시켰다. 세포를 세척하고 나서, PBS 중에서 제조한 80μl의 2% 파라폼알데하이드 중에서 현탁시켰다. 데이터를 BD FACS 칸토로 수집하였고, 이어서, Flowjo V10를 이용하여 분석하였다(CD8+ T 세포 상에서 개폐).
- [0451] 도 1A 내지 도 1B의 우측 패널에 나타난 바와 같이, BA001 항체를 내인성 CD137을 발현시키는 활성화된 인간 또는 사이노몰거스 CD8+ T 세포에 결합시켰다.
- [0452] **6.1.2 항-CD137 항체는 dCD137에 대한 CD137L 결합을 차단시키지 않았다.**
- [0453] *CD137/BA001-F(ab')₂ 복합체에 대한 CD137L의 결합*
- [0454] BA001의 F(ab')₂ 단편(BA001-F(ab')₂)에 복합체화된 CD137에 결합하는 CD137L의 능력을 평가하기 위해 표면 플라즈몬 공명을 사용하였다. FragIT(상표명) 키트, 제노비스사(Genovis)(카탈로그 번호 A2-FR2-100)를 이용하여 BA001-F(ab')₂를 생성하였다. 모든 상호작용을 실행 완충제로서 BIAcore(등록상표) T200(GE 헬스케어(GE Healthcare)) 및 1X HBS-P+(GE 헬스케어, BR-1006-71)를 이용하여 25℃에서 분석하였다.
- [0455] 일 예에서, BA001-F(ab')₂를 칩 상에서 고정시키고, 이어서, CD137에 결합시키고, 이후에, CD137L를 CD137/BA001-F(ab')₂ 복합체에 결합시켰다. 처음에, 항-인간 Fab 포획 항체(GE 헬스케어, Fab 포획 키트, 28-9583-25)를 CM5 시리즈 S 센서 칩(GE 헬스케어, 29-1496-03)의 유세포 2 상에서 고정시켰다. 이어서, BA001-F(ab')₂를 실행 완충제에서 6.75μg/ml로 희석시키고, 10μl/분으로 120초 동안 유세포 1에 고정시켰다. CD137 또는 CD137L의 비특이적 상호작용에 대한 대조군으로서, 칩의 유세포 1을 항-인간 Fab 포획 항체와 단독으로 결합시켰다. BA001-F(ab')₂의 포획 후에, 100nM의 CD137(아크로 바이오시스템(Acro Biosystem), 41B-H5227)을 칩의 유세포 둘 다에 대해 90초 동안 30μl/분으로 실행한 다음에, 400초의 해리를 실행하였다. 이어서, 200nM의 CD137L(알앤디 시스템즈(R&D Systems), # 2295-4L-025)를 유세포 둘 다에 대해 90초 동안 30μl/분으로 실행한 다음에, 400초의 해리를 실행하였다.
- [0456] 유세포 2에 대해 얻은 반응 - 유세포 1에 대해 얻은 반응을 도 2a에 나타낸다. CD137을 유세포 2에 대해 실행하였을 때, 반응 신호의 증가를 검출하였는데, 이는 BA001-F(ab')₂에 대한 CD137의 결합을 나타낸다. CD137은 BA001-F(ab')₂로부터 매우 느리게 해리되는 것으로 보였다. 이어서, CD137L을 유세포 2에 대해 실행하였고, 신호 반응의 증가가 관찰되었는데, 이는 CD137/ BA001-F(ab')₂ 복합체에 대한 CD137의 결합을 나타낸다. 이들 결과는 CD137에 대한 BA001-F(ab')₂의 결합이 CD137에 대한 CD137L의 결합을 차단시키지 않는다는 것을 나타낸다.

- [0457] 다른 예에서, 과량의 CD137(110nM)을 BA001-F(ab')₂(6μg/ml, 54 nM)와 사전 혼합하여 CD137/ BA001-F(ab')₂ 복합체를 형성한다. 이어서, 복합체를 10μl/분으로 180초 동안 CM5 시리즈 S 센서 칩(GE 헬스케어, 29-1496-03)의 유세포 3 상에 고정시킨 다음, 60초 해리시켰다. 이어서, 60nM의 CD137L을 모든 유세포에 대해 50μl/분으로 90초 동안 실행한 후에, 400초 동안 해리시켰다. CD137 또는 CD137L의 비특이적 상호작용을 측정하기 위한 대조군으로서, 칩의 유세포 1을 항-인간 Fab 포획 항체 단독에 결합시켰다.
- [0458] 유세포 3에 대해 얻은 반응 - 유세포 1에 대해 얻은 반응을 도 2b에 나타낸다. 이들 데이터는 BA001-F(ab')₂가 고친화도를 갖는 CD137에 결합되었지만, 이 상호작용은 CD137에 대한 CD137L의 결합을 손상시키지 않는다는 것을 입증하였다.
- [0459] BA001 및 BA001로부터 유래된 Fab 단편(BA001-Fab; 데이터 미제시)에 대해 본 실시예에 기재한 것과 유사한 결과를 또한 관찰하였다. 따라서, BA001은 비-리간드 차단 항-CD137 항체이다.
- [0460] BA001은 세포 표면 CD137에 대한 세포 표면 CD137L 결합을 차단시키지 않는다
- [0461] BA001이 세포 표면 상에서 발현되는(즉, 더 많은 생리학적 상황에서) CD137L과 CD137 사이의 결합을 차단시킬 수 있는지의 여부를 결정하기 위해, 세포 접합 검정을 샤오(Xiao) 등의(*JEM* 211(5):943-959, 2014; 본 명세서에 전문이 참고로 편입됨)에 기재된 방법을 이용하여 수행하였다. 간략하게, Jurkat 세포의 하나의 세트를 인간 CD137(Jurkat-CD137)로 형질감염시키고 나서, Jurkat 세포의 다른 세트를 인간 CD137L(Jurkat-CD137L)로 형질감염시켰다. CD137-발현 Jurkat 세포를 적색 염료 PKH26(시그마(Sigma) 카탈로그 번호 PKH26GL-1KT)로 염색하였고, CD137L-발현 Jurkat 세포를 녹색 염료 PKH67(시그마 카탈로그 번호 PKH67GL-1KT)로 염색하였다. 적색 염료-표지된 Jurkat-CD137 세포(1×10^5 개/웰)를 실온에서 30분 동안 둥근바닥 96-웰 플레이트에서 50μg/ml의 BA001, 기준 항-CD137 항체 #1, 기준 항-CD137 항체 #2, 또는 아이소타입 대조군과 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 녹색 염료-표지된 Jurkat-CD137L 세포(1×10^5 개/웰)를 첨가하고 나서, 45분 동안 37°C에서 인큐베이션시켰다. 세포 대 세포 결합/접합체 형성을 BD FACS 칸토 및 BD FACSDiva 소프트웨어를 이용하여 유세포분석에 의해 분석하였다. 적색 염료에 대해 PE 통로를 사용하였고, 녹색 염료에 대해 FITC 통로를 사용하였다. 이렇게 해서, CD137-발현 세포와 CD137L-발현 세포 사이의 결합은 증가된 검출된 세포 크기를 나타내는 이중-양성 신호(즉, 적색+녹색)를 초래하였다. 이 효과는 리간드 차단 항-CD137 항체에 의해 감소되거나 또는 없어질 것이다.
- [0462] 도 3a는 BA001 및 기준 항-CD137 항체 #2는 세포 상의 CD137에 대한 결합으로부터 세포 상의 CD137L을 차단시키지 않았다는 것을 나타낸다. 대조적으로, 기준 항-CD137 항체 #1은 리간드 결합을 차단시켰다.
- [0463] 유사한 상황에서, CD137L-발현 및 CD137-발현 세포를 각각 PKH26 적색 형광 세포 링커 또는 PKH67 녹색 형광 세포 링커로 염색하였고, 행크스 균형 염 용액(Hanks' balanced salt solution: HBSS) 중에서 4×10^6 개의 세포/ml의 농도로 현탁시켰다. BA001, 기준 항-CD137 항체 #1, 기준 항-CD137 항체 #2, 또는 각각의 아이소타입 대조군 항체의 3배 연속 희석물을 3X 작업 농도로 HBSS에서 제조하였다. U-바닥 96-웰 플레이트에서, 25μl의 Jurkat-CD137 세포를 30분 동안 실온에서 25μl의 항-CD137 항체와 함께 인큐베이션시켰고, CD137L-발현 세포를 첨가하였다. 대안적으로, 25μl의 Jurkat-CD137 세포를 실온에서 30분 동안 25μl의 CD137L-발현 세포와 함께 인큐베이션시키고, 항-CD137 항체를 첨가하였다. 플레이트를 45분 동안 37°C에서 그리고 5% CO₂에서 인큐베이션시켰고, CD137L-발현 세포와 CD137-발현 세포의 접합물을 BD 포르테사 세포분류기(BD Fortessa cytometer)를 이용하는 유세포분석에 의해 PE 및 FITC 이중 명확성으로서 동정하였다.
- [0464] 도 3B 및 도 3C에 나타난 바와 같이, 항-CD137 항체를 세포의 공동 배양물 전에(도 3B) 또는 후에(도 3C) 후에 첨가하였을 때, BA001 및 기준 항-CD137 항체 #2는 CD137L-발현 세포와의 CD137-발현 세포의 접합에 영향을 미치지 않았다. 대조적으로, 기준 항-CD137 항체 #1은 세포 접합을 저해하였는데, 이 항체는 세포 표면 CD137에 대한 세포 표면 CD137L 결합을 차단하였다는 것을 나타낸다.
- [0465] 6.2 실시예 2: 항-CD137 항체의 작용 활성은 가교결합- 및 리간드-의존적이다.
- [0466] 6.2.1 항-CD137 항체는 항체 가교결합의 존재하에서만 NF-κB-유도 유전자 발현을 유도한다.
- [0467] CD137 신호전달을 활성화하는 BA001의 능력을 특성규명하기 위해, (i) NF-κB-루시퍼라제 리포터 작제물, 및 (ii) 인간 또는 사이노몰거스 CD137 중 하나에 대한 발현 작제물을 혼입한, Jurkat 리포터 세포를 생성하였다. 이렇게 해서, 리포터 세포 표면 상에서 CD137의 활성화는 NF-κB- 프로모터의 제어하에 루시퍼라제의 발현을 유도하는 하류의 신호전달을 유도하였다.

- [0468] CD137을 활성화시키는 BA001의 능력은 BA001 가교결합에 의존한다는 것을 발견하였다. 사실, 비가교결합된 BA001은 CD137 및 NF- κ B 루시퍼라제 리포터 작제물을 발현시키도록 조작된 Jurkat 세포에서 리포터 활성을 자극할 수 없었다(데이터 미제시). 가교결합 의존도를 특성구명하기 위해, BA001, 아이소타입 대조군 항체 및 기준 항-CD137 항체 #2를 가교제(애피니퓨어(AffiniPure) F(ab')₂ 단편 염소 항-인간 IgG, Fc γ 단편 특이적(잭슨 이뮤노리서치, 109-006-098))의 용량 적정물과 함께 인큐베이션시켰다. Jurkat 리포터 세포를 50,000개의 세포/웰의 밀도로 파종하였고, 4시간 동안 2 μ g/ml BA001, 아이소타입 대조군 항체, 또는 기준 항-CD137 항체 #2와 함께 인큐베이션시켰다. 나노-글로(Nano-Glo)(등록상표) 루시퍼라제 검정 시스템(프로메가(Promega) N1120)에 의해 NF- κ B 활성을 측정하였다.
- [0469] 도 4A에 나타난 바와 같이, 1:1 초과와 가교제-대-항체 비로 가교결합되었을 때, 이 검정에서 BA001은 활성을 획득하였다. 대조적으로, 기준 항-CD137 항체 #2는 가교제 없이 활성이었고, 증가된 양의 가교제에 의해 점진적으로 활성을 상실하였다.
- [0470] 추가로 BA001이 인공 항체 가교제의 부재하에 항체 클러스터링 시 CD137을 작용화할 수 있었다는 것을 평가하였다. Fc γ RIIIa(CD16)를 발현시키도록 조작된 CHO 세포에 의해 항체 클러스터링을 유도하였다. 간략하게, 2 μ g/ml의 BA001, 아이소타입 대조군 항체 또는 Fc 영역에서 N297A 돌연변이를 갖는 BA001 변이체의 존재하에 CD16 또는 대조군 CHO 세포를 발현시키도록 조작된 CHO 세포의 용량 적정물과 함께 50,000개의 세포/웰의 밀도로 Jurkat 리포터 세포를 공동 배양시켰다. 나노-글로(등록상표) 루시퍼라제 검정 시스템(프로메가 N1120)에 의해 NF- κ B 활성을 4시간의 인큐베이션 후에 측정하였다.
- [0471] 도 4B에 나타난 바와 같이, BA001 단독은 CD137 신호전달을 활성화시키지 않았고, 그리고 CD16-발현 CHO 세포 단독은 제한된 효과를 가졌다. 그러나, BA001과 CD16-발현 CHO 세포의 조합은 리포터 세포를 상승적으로 활성화시켰다. N297A 돌연변이는 CD137 신호전달을 자극하는 BA001의 능력을 없앴는데, 이는 N297A Fc 변이체가 CHO 세포 상에서 발현되는 CD16과 맞물릴 수 없고, 따라서 항체 클러스터링을 겪을 수 없기 때문일 가능성이 있다. 이 결과는 BA001이 미세환경에서 선택적으로 활성일 수 있되, CD16-발현 세포(예를 들어, 항원-제시 세포 또는 NK 세포)가 존재한다는 것을 시사한다.
- [0472] **6.2.2 항-CD137 항체는 전체 PBMC에 의해 T 세포 기능을 향상시키지만, 정제된 T 세포에 의해서는 향상되지 않는다.**
- [0473] BA001은 CD137L의 존재하에 인간 T 세포에 의해 IL-2 분비를 촉진시킨다
- [0474] 스타필로코커스 엔테로톡신 A(SEA) 자극 후에 1차 인간 PBMC에 대한 BA001의 작용 활성을 평가하였다. 간략하게, 5일동안 37°C에서 항체의 연속 회석물(즉, 도 5에 나타난 농도에서 BA001, 기준 항-CD137 항체 #1 또는 #2, 또는 아이소타입 대조군 항체)의 존재하에 동결보존된 PBMC를 200ng/ml의 SEA 초항원(독신 테크놀로지스(Toxin Technologies), 카탈로그 번호 AT101red)로 자극하였다. 배양물 상청액 중의 IL-2 농도를 AlphaLISA(퍼킨 엘머(Perkin Elmer), 카탈로그 번호 AL221F)에 의해 분석하였다. 각각의 조건을 5개 복제물로 시험하였다.
- [0475] 도 5에 나타난 바와 같이, 항-CD137 항체 BA001(IgG1)은 기준 항-CD137 항체와 비슷하거나 또는 더 큰 수준에서 용량-의존적 방식으로 인간 PBMC의 IL-2 생산을 증가시켰다.
- [0476] BA001은 CD137L의 부재하에 정제된 인간 T 세포에 의해 IL-2 분비를 촉진시키지 않았다
- [0477] CD137L을 발현시키는 항원-제시 세포의 부재하에 정제되고, 자극된 인간 T 세포 상의 BA001의 작용 활성을 평가하였다. 간략하게, 제조업자의 설명서에 따라 autoMACS 칼럼이 있는 MACS Pan T 세포 분리 키트(인간)를 이용하여 T 세포를 동결보존된 PBMC로부터 정제하였다. 정제된 T 세포를 2 μ g/ml로 낮은 내독소, 무 아자이드(azide-free)(LEAF) 항-CD3 항체(바이올레전드(Biolegend) 카탈로그 번호 300432)로 사전 코팅된 96-웰 배양물 플레이트에 1 \times 10⁶ 개 세포/웰로 플레이팅하였다. 5 μ g/ml로 항-CD137 항체(BA001, 기준 항-CD137 항체 #1, 또는 기준 항-CD137 항체 #2) 또는 아이소타입 대조군을 F(ab')₂ 단편 염소 항-인간 IgG(잭슨 이뮤노리서치, 카탈로그 번호 109-006-098)와 가교결합시켰고, 이어서, 플레이트에 첨가하였다. 세포를 37°C에서 3일 동안 인큐베이션시켰다. 이어서, 배양물 상청액에서 IL-2 농도를 AlphaLISA(퍼킨 엘머, 카탈로그 번호 AL221F)에 의해 분석하였다. 각각의 조건을 6회 중복해서 시험하였다.
- [0478] 도 6A 내지 도 6B에 나타난 바와 같이, BA001은 아이소타입 대조군에 비해 정제된 T 세포에 의해 증가된 IL-2 분비를 촉진시키지 않았다. 대조적으로, 기준 항-CD137 항체는 둘 다 정제된 T 세포에 의해 상승된 IL-2 분비를

유도하였다. 도 6C는 정제된 T 세포는 CD137L의 검출 가능한 수준을 발현시키지 않는다는 것을 나타낸다.

[0479] 종합하면, 부문 6.2.2의 데이터는 BA001의 작용 활성이 전체 PBMC에서와 같이 CD137L의 존재하에 상승된다(예를 들어, CD137L-발현 세포에 의해 생산된다)는 것을 나타낸다. BA001의 작용 활성은 사용되는 조건하에 CD137L의 존재를 필요로 할 수 있다는 것이 상정된다. 따라서, 이들 데이터는 CD137-발현 세포를 활성화시키는 BA001의 활성은 리간드-의존적일 수 있다는 것이 입증되었다.

[0480] **6.2.3 항-CD137 항체는 CD137L의 존재하에 NF- κ B-유래 유전자 발현만을 유도한다.**

[0481] *NF- κ B-루시퍼라제 리포터 세포에서 BA001의 리간드 의존도*

[0482] 부문 6.2.1에서 BA001 활성은 CD137L의 부재하에 가교결합에 의존한다는 것을 나타내었다. CD137L의 존재하에 가교제의 효과를 추가로 평가하였다. 간략하게, 1 μ g/ml CD137L(재조합 인간 4-1BB 리간드/TNFSF9(His-태그), R&D 시스템, 2295-4L-025/CF)을 상기 기재한 배양물 시스템에 선택적으로 첨가하였고, NF- κ B 활성을 유사하게 측정하였다.

[0483] 도 7A에 나타난 바와 같이, CD137L의 존재하에, BA001은 리포터 검정에서 활성을 위해 여전히 가교제가 필요하며, CD137L 및 가교결합의 효과는 부가적이었다. 가교제-대-항체비가 약 1:10 내지 1:1일 때, BA001은 CD137L의 존재하에서만 활성을 나타내었다.

[0484] 외인성 CD137L이 이 실험 시스템에서 CD137L의 유일한 공급원이라는 것을 확인하기 위해, Jurkat 리포터 세포를 유세포분석에 의해 분석하였다. 간략하게, CD137-발현 및 CD137L-발현 Jurkat 세포를 해동시켰고, 4 또는 24시간 동안 10% 소 태아 혈청 및 1 μ g/ml 퓨로마이신으로 보충한 RPMI 배지에서 배양시켰다. 유세포분석에 의한 분석을 위해, 3 X 10⁴개의 세포를 96 웰 U-바닥 플레이트에서 플레이트팅하고 나서, 2% 소 태아 혈청이 있는 차가운 인산염 완충제 식염수 보충물로 2회 세척하고, 피코에리트린(PE)으로 접합된 항-CD137 항체, 알로피코사이아닌(APC), 및 근적외선(near-IR) 생/사멸 염료와 접합된 항-CD137L 항체로 표지하였다. 염색 대조군에서, 세포를 PE에 접합된 부적절한 아이소타입 대조군 항체, APC에 접합된 부적절한 아이소타입 대조군 항체 및 생/사멸 염료로 표지하였다.

[0485] 도 7B에 나타난 바와 같이, CD137-발현 Jurkat 리포터 세포는 고수준의 CD137을 발현시키지만, CD137L을 발현시켰다. 비교하면, CD137L-발현 Jurkat 세포는 고수준의 CD137L을 발현시켰지만, CD137을 발현시키지 않았다.

[0486] Jurkat 리포터 세포를 이용하는 이하의 모든 NF- κ B 활성화 검정에서, 항-CD137 항체 및 그들의 아이소타입 대조군 항체를 1:2의 비로 가교결합시켰다.

[0487] 일 예에서, 인간 CD137(50,000개의 세포/웰)을 발현시키는 Jurkat NF- κ B-루시퍼라제 리포터 세포를 4시간 동안 37°C에서 가용성 인간 CD137L(125ng/ml)의 존재 또는 부재하에 BA001 또는 아이소타입 대조군의 연속 희석물과 함께 인큐베이션시켰다. 나노-글로(등록상표) 루시퍼라제 검정 시스템(프로메가 카탈로그 번호 N1120) 및 엔비전(EnVision) 플레이트 판독기를 이용하여 루시퍼라제 발현을 검출하였다. 도 8A에 나타난 바와 같이, BA001은 CD137L의 부재하에 NF- κ B-루시퍼라제 발현을 유도하지 않았다. CD137L의 존재하에, BA001은 용량 의존적 방식으로 NF- κ B-루시퍼라제 발현을 유도할 수 있었다(도 8B).

[0488] 다른 예에서, 사이노물거스 CD137(50,000개의 세포/웰)을 발현시키는 Jurkat NF- κ B-루시퍼라제 리포터 세포를 4시간 동안 37°C에서 가용성 인간 CD137L(150ng/ml)의 존재 또는 부재하에 BA001 또는 아이소타입 대조군의 연속 희석물과 함께 인큐베이션시켰다. 나노-글로(등록상표) 루시퍼라제 검정 시스템(프로메가 카탈로그 번호 N1120) 및 엔비전 플레이트 판독기를 이용하여 루시퍼라제 발현을 검출하였다. 도 8C에 나타난 바와 같이, BA001은 CD137L의 부재하에 NF- κ B-루시퍼라제 발현을 유도하지 않았다. CD137L의 존재하에, BA001은 용량 의존적 방식으로 NF- κ B-루시퍼라제 발현을 유도할 수 있었다(도 8D).

[0489] 따라서, 이들 데이터는 BA001이 사용한 조건하에 대응하는 CD137L의 존재에서 NF- κ B 단독을 통해 인간 또는 사이노물거스 CD137 신호전달을 유도한다는 것을 나타낸다.

[0490] *BA001은 CD137 신호전달을 촉진하도록 CD137L과 공동 작동하였다*

[0491] 추가적인 실시예에서, 인간 CD137(50,000개의 세포/웰)을 발현시키는 Jurkat NF- κ B-루시퍼라제 리포터 세포를 4시간 동안 37°C에서 가용성 인간 CD137L(0-1000ng/ml, 도 9A 내지 도 9C에 나타난 바와 같음)의 연속 희석물의 존재하에 2 μ g/ml의 항-CD137 항체(BA001, 기준 항-CD137 항체 #1, 또는 기준 항-CD137 항체 #2) 또는 아이소타입 대조군과 함께 인큐베이션시켰다. 샘플의 하나의 세트에서, 항-CD137 항체를 CD137L 전에 첨가하였다(도

9A). 샘플의 제2 세트에서, 항-CD137 항체 및 CD137L을 동시에 첨가하였다(도 9B). 샘플의 제3 세트에서, CD137L을 항-CD137 항체 전에 첨가하였다(도 9C). 나노-글로(등록상표) 루시퍼라제 검정 시스템(프로메가 카탈로그 번호 N1120) 및 엔비전 플레이트 판독기를 이용하여 루시퍼라제 발현을 검출하였다.

[0492] 도 9A 내지 도 9C에 나타난 바와 같이, CD137L은 용량-의존적 방식으로 NF κ B-루시퍼라제 발현을 유도하였다. BA001은 리간드-의존적 방식으로 NF κ B-루시퍼라제 발현을 유도하였고, 더 높은 리간드 농도에서 아이소타입 대조군에 대해 검출된 것 이상으로 리포터 발현을 실질적으로 증가시켰다. 이 효과는 항체 및 리간드가 첨가된 순서와 상관없이 관찰되었다(도 9A 내지 도 9C, 좌측 패널). 대조적으로, 리간드-차단 기준 항-CD137 항체 #1은 존재하는 CD137L의 농도와 상관없이(예를 들어, CD137L의 부재하에) 그리고 항체 및 리간드가 첨가된 순서와 상관없이 거의 동일한 수준의 리포터 발현을 유도하였다(도 9A 내지 도 9C, 중간 패널). 부분적/비-리간드 차단 기준 항-CD137 항체 #2는 또한 항체가 리간드 전에 첨가될 때 존재하는 CD137L의 농도와 상관없이(예를 들어, CD137L의 부재하에) 유사한 수준의 리포터 발현을 유도하였지만(도 9A, 우측 패널), 항체 및 리간드를 함께 첨가할 때(도 9B, 우측 패널) 또는 리간드를 항체 전에 첨가할 때(도 9C, 우측 패널) 더 높은 CD137L 농도에서 리포터 발현의 실질적인 감소를 나타내었다.

[0493] 6.3 상이한 Fc 영역을 갖는 항-CD137 항체의 특성규명

[0494] 본 실시예는 항-CD137 항체 BA001의 기능성 활성에 대한 Fc/Fc 수용체 상호작용의 영향을 분석한다. 특히, IgG2 및 IgG4를 포함하는 다양한 Fc 골격뿐만 아니라 Fc 영역이 EU 넘버링 시스템에 따라 넘버링된 N297A 또는 S267E/L328F(SELF) 돌연변이를 포함하는 IgG1 골격, 및 Fc 영역이 N297A 돌연변이를 포함하는 IgG2 골격을 갖는 BA001의 VH 영역을 발현시켰다. 당업계에 공지된 바와 같이, IgG1 N297A 및 IgG2 N297A 변이체는 Fc γ R의 맞물림을 없애고, 따라서 ADCC/ADCP 전위 또는 Fc γ R를 통한 항체의 가교를 차단하는 Fc 침묵 돌연변이를 운반한다. IgG1 SELF Fc 변이체는 감소된 Fc γ RIIIa 결합 및 향상된 Fc γ RIIb 결합을 나타내며, 따라서 ADCC/ADCP 전위를 감소시키지만, Fc γ RIIb를 통한 항체의 가교결합을 향상시킨다. 일부 예에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137 항체의 중쇄 서열의 N-말단 잔기는 글루타민이다. 일부 예에서, 본 명세서에 기재된 항-CD137 항체의 중쇄 서열의 N-말단의 잔기는 파이로글루타메이트이다(예를 들어, 번역후 가공에 기인).

[0495] 항체 BA001(IgG1)는 서열번호 9의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 항체 BA001 IgG1 N297A(즉, BA001의 IgG1 N297A 변이체)는 서열번호 10의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 항체 BA001 IgG1 SELF(즉, BA001의 IgG1 S267E/L328F 변이체)는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 항체 BA001 IgG2(즉, BA001의 IgG2 변이체)는 서열번호 12의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 항체 BA001 IgG2 N297A(즉, BA001의 IgG2 N297A 변이체)는 서열번호 13의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 항체 BA001 IgG4(즉, BA001의 IgG4 변이체)는 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열번호 21의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함한다. 일부 예에서, IgG4 Fc 영역(예를 들어, 항체 BA001 IgG4)을 포함하는 항체는 중쇄 안정성을 증가시킬 수 있는 S228P 돌연변이를 포함한다. 이어서, BA001의 이들 Fc 변이체는 이하에 기재한 바와 같은 기능성 검정에서 시험하였다.

[0496] 6.3.1 1차 인간 PBMC에서의 Fc 변이체 기능성.

[0497] 1차 인간 PBMC 상에서 상기 기재한 BA001 Fc 변이체의 기능성 활성을 SEA 자극 후에 평가하였다. 간략하게, 동결보존된 PBMC를 5일 동안 37°C에서 BA001 Fc 변이체 또는 대응하는 아이소타입 대조군 항체의 연속 희석물의 존재하에 200ng/ml의 SEA 초항원(독신 테크놀로지스, 카탈로그 번호 AT101red)으로 자극하였다. 배양물 상청액에서 IL-2 농도를 AlphaLISA(퍼킨 엘머, 카탈로그 번호 AL221F)에 의해 분석하였다. 각각의 조건을 5회 중복해서 시험하였다.

[0498] 도 10a에 나타난 바와 같이, BA001 IgG1 및 BA001 IgG1 SELF는 각각 SEA-자극된 1차 인간 PBMC에서 강한 IL-2 발현을 유도하였는데, 이는 이들 변이체의 향상된 항체 가교결합에 기인할 수 있다. 대조적으로, 항체 가교결합을 형성하지 않는 BA001 IgG1 N297A 및 BA001 IgG2 N297A 변이체는 검출 가능한 기능을 거의 나타내지 않거나 또는 전혀 나타내지 않았다. 이들 데이터는 항체 가교결합이 1차 인간 T 세포 상에서 CD137을 작용화함에 있어서 BA001의 기능을 향상시켰다는 것을 나타내었다. BA001 IgG2 및 BA001 IgG4는 또한 중간 수준의 IL-2 발현을 유도하였다.

[0499] 도 10b는 SEA-자극된 1차 인간 T 세포에 의해 IL-2 발현을 향상시키는 데 있어서, N297A 돌연변이체를 제외한

BA001 Fc 변이체의 용량-의존적 활성을 나타낸다. BA001 IgG1 SELF 및 BA001 IgG1은 가장 강한 효과 다음에 BA001 IgG4 및 BA001 IgG2를 유도하였다.

[0500] **6.3.2 Fc 변이체는 리간드 의존도를 유지한다**

[0501] BA001 Fc 변이체의 리간드 의존도는 부문 2.2에 기재한 NF κ B-루시퍼라제 리포터 시스템을 이용하여 시험하였다. 간략하게, 인간 CD137(50,000개의 세포/웰)을 발현시키는 Jurkat NF κ B-루시퍼라제 리포터 세포를 부문 6.2.3에 기재한 방법에 의해 4시간 동안 37℃에서 가용성 인간 CD137L(125ng/ml)의 존재 또는 부재하에 가 교결합된 BA001 Fc 변이체 또는 대응하는 아이소타입 대조군의 연속 희석물과 함께 인큐베이션시켰다. 나노-글로(등록상표) 루시퍼라제 검정 시스템(프로메가 카탈로그 번호 N1120) 및 엔비전 플레이트 판독기를 이용하여 루시퍼라제 발현을 검출하였다.

[0502] 도 11에 나타난 바와 같이, BA001 Fc 변이체 모두는 리간드-의존적 CD137 아고니즘(agonism)을 나타내었다. CD137L의 부재하에, 시험한 임의의 Fc 변이체에 대해 리포터 활성은 검출되지 않은 반면(도 11, 좌측 열), CD137L의 존재하에, BA001 Fc 변이체는 모두 용량-의존적 방식으로 리포터 발현을 유도하였다(도 11, 우측 열). 이와 관련하여 가교결합 결핍 Fc 변이체가 CD137을 작용화할 수 있다는 것은 1차 T 세포에서의 CD137 발현 수준에 비해 리포터 세포에 의해 발현되는 극도로 고수준의 CD137에 기인할 가능성이 있다.

[0503] **6.4 병용 요법**

[0504] **6.4.1 항-PD-1 항체와의 조합**

[0505] 항-CD137 항체 BA001을, 항-PD-1 항체 또는 항-OX40 항체 단독으로 또는 조합하여 활성화된 T 세포에 의해 사이토카인 생산을 자극하는 그의 능력에 대해 추가로 평가하였다. 일 예에서, 동결보존된 1차 인간 PBMC는 BA001(5 μ g/ml) 및 아이소타입 대조군(10 μ g/ml), 항-PD-1 항체(10 μ g/ml) 및 아이소타입 대조군(5 μ g/ml), BA001(5 μ g/ml)과 항-PD-1 항체(10 μ g/ml)의 조합, 또는 아이소타입 대조군 단독(15 μ g/ml)의 존재하에 상기 기재한 바와 같이 SEA로 자극하였다. 다른 예에서, 동결보존된 1차 인간 PBMC를 BA001(5 μ g/ml) 및 아이소타입 대조군(10 μ g/ml), 항-OX40 항체(10 μ g/ml) 및 아이소타입 대조군(5 μ g/ml), BA001(5 μ g/ml)과 항-OX40 항체(10 μ g/ml)의 조합, 또는 아이소타입 대조군 단독(15 μ g/ml)의 존재하에, 상기 기재한 바와 같이 SEA로 자극하였다. 배양물 상청액에서 IL-2 농도를 AlphaLISA(퍼킨 엘머, 카탈로그 번호 AL221F)에 의해 분석하였다. 각각의 조건을 6회 중복하여 시험하였다.

[0506] 도 12A에 나타난 바와 같이, BA001과 항-PD-1 항체의 조합은 항체 단독보다 더 큰 IL-2 분비를 초래하였다. 유사하게는, 도 12B에 나타난 바와 같이, BA001과 항-OX40 항체의 조합은 항체 단독 중 하나보다 더 큰 IL-2 분비를 유도하였다.

[0507] **6.5 에피토프 맵핑**

[0508] BA001의 Fab 단편(BA001-Fab) 또는 BA001의 F(ab')₂ 단편(BA001-F(ab')₂)과 인간 CD137의 상호작용을 HDX 질량 분석법에 의해 연구하였다. 이들 데이터를 사용하여 인간 CD137의 세포외 도메인 상에서 BA001-Fab 및 BA001-F(ab')₂에 의해 결합되는 에피토프 영역을 동정하였다.

[0509] **6.5.1 수소-중수소 교환(HDX)에 의한 항-CD137 항체의 에피토프 맵핑**

[0510] 이하의 방법을 이용하여 항-인간 CD137 F(ab')₂ 및 항-인간 CD137 Fab와 CD137의 상호작용을 평가하였다.

[0511] (A) CD137의 항-인간 CD137 F(ab')₂와의 상호작용

[0512] 20 μ l 인간 CD137(5.48 μ g) 또는 20 μ l 인간 CD137 및 BA001-F(ab')₂ 혼합물(5.48 μ g: 22.36 μ g)을 20℃에서 0초, 60초, 300초, 1800초, 7200초 및 14400초 동안 105 μ l 산화중수소 표지 완충제(pH 7.4에서 50mM 인산나트륨, 100mM 염화나트륨)와 함께 인큐베이션시켰다. 125 μ l의 4 M 구아니딘염산, 0.85M TCEP 완충제(최종 pH는 2.5임)를 첨가함으로써 그리고 5분 동안 20℃에서 인큐베이션시킴으로써 수소/중수소 교환을 퀀칭시켰다. 후속적으로, 퀀칭된 샘플에 이하에 기재하는 바와 같은 칼럼 펩신/프로테아제 XIII 분해 및 LC-MS 분석을 실시하였다. 질량 스펙트럼을 MS 단독 모드에 기록하였다.

[0513] (B) CD137의 항-인간 CD137 Fab와의 상호작용

[0514] 15 μ l 인간 CD137(5.0 μ g) 또는 15 μ l 인간 CD137 및 BA001-Fab 혼합물(5.0 μ g 인간 CD137 + 15.0 μ g Fab)을 0초,

60초, 300초 및 1800초 동안 25℃에서 110 μ l 산화중수소 표지 완충제(pH 7.4에서 50mM 인산나트륨, 100mM 염화나트륨)와 함께 인큐베이션시켰다. 125 μ l의 4M 구아니딘염산, 0.85M TCEP 완충제(최종 pH는 2.5임)를 첨가함으로써 그리고 3분 동안 25℃에서 인큐베이션시킴으로써 수소/중수소 교환을 퀀칭시켰다. 후속적으로, 퀀칭된 샘플에 이하에 기재하는 바와 같은 칼럼 펩신/프로테아제 XIII 분해 및 LC-MS 분석을 실시하였다. 질량 스펙트럼을 MS 단독 모드에 기록하였다.

[0515] HDX 데이터 분석

[0516] H/D 교환 MS 데이터에 대해 HDX WorkBench 소프트웨어를 이용하여 원 MS 데이터를 처리하였다. 중수소화된 펩타이드와 그의 천연 형태(t_0) 사이의 평균 질량 차이를 이용하여 중수소 수준을 계산하였다. 중수소 혼입의 계산을 위해, 주어진 펩타이드에 대한 질량 스펙트럼을 추출된 이온 크로마토그램 피크에 걸쳐 합하고 나서, 가중치 부여된 평균 m/z 를 계산하였다. 천연 펩타이드(0분)로부터 가중치 부여된 평균 질량까지의 질량 증가는 중수소 혼입 수준에 대응한다.

[0517] 펩신/프로테아제 XIII 분해 및 LC-MS

[0518] 펩신/프로테아제 XII 분해에 의해 HDX에서 사용하기 위해 His-태그된 인간 CD137(아크로바이오시스템즈 인코퍼레이티드(AcroBiosystems Inc.))을 단편화하였다. 125 μ l의 4M 구아니딘 염산, 0.85M TCEP 완충제(최종 pH는 2.5임)를 첨가함으로써 그리고 5분 동안 20℃에서 혼합물을 인큐베이션시킴으로써 125 μ l 대조군 완충제(pH 7.4에서 50mM 인산염, 100mM 염화나트륨) 중의 5.48 μ g의 인간 CD137을 변성시켰다. 내부 패키징된 펩신/프로테아제 XIII(w/w, 1:1) 칼럼을 이용하여 혼합물에 칼럼 상의 펩신/프로테아제 XIII 분해를 실시하고, 큐 이그젝티브(Q Exactive)(상표명) 혼성 사중극자-오비트랩 질량 분석기(Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometer)(써모(Thermo))에 결합된 워터스 액유티(Waters Acquity) UPLC를 포함한 UPLC-MS 시스템을 이용하여 얻어진 펩타이드를 분석하였다. 마스콧(Mascot)을 이용하여 인간 CD137 서열에 대한 MS/MS 데이터를 검색함으로써 펩타이드 동정을 수행하였다. 전구체 및 생성물 이온에 대한 질량 공차는 각각 10ppm 및 0.05Da이었다.

[0519] 항-인간 CD137 F(ab')₂의 에피토프 결합

[0520] 대부분의 CD137 펩타이드는 BA001-F(ab')₂가 존재하거나 또는 이것이 없이 동일한 또는 유사한 중수소 수준을 나타내었다. 그러나, 몇몇 펩타이드 세그먼트는 F(ab')₂ 결합 시 상당히 감소된 중수소 혼입을 갖는 것을 발견하였다. 이 단락에서 모든 잔기는 서열번호 25에 따라 넘버링한다. 하나의 영역은 잔기 125 내지 155(FNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERD, 서열번호 27)로 이루어지고, 인간 CD137이 BA001-F(ab')₂에 결합될 때, 강한 중수소 보호를 경험하였다. 따라서, 이 영역은 CD137 상에서 BA001의 에피토프 또는 이의 일부에 대응한다. 인간 및 사이노몰거스 원숭이 CD137(이들 둘 다 BA001이 강하게 결합함)의 서열 조사(도 1A 및 도 1B)는 상기 기재한 영역에서 완전한 서열 동일성을 나타내었다(도 11). 대조적으로, BA001은 이 영역에서 인간 CD137에 대해 다수의 아미노산 치환 및 삽입을 포함하는 뮤린 CD137(데이터 미제시)에 대해 임의의 상당한 정도로 결합하지 않는다(도 14a). 마지막으로, CD137의 단편인 잔기 26 내지 63(DPCSNCPAGTFCDDNNRQICSPCPNFSFSSAGQRTCD, 서열번호 34)은 또한 중수소 보호를 나타내었다. 임의의 이론으로 구속되는 일 없이, 이 신호는 PLAD-PLAD 상호작용을 통해 CD137 이량체화를 반영하는데, 이는, 예를 들어, 2개의 별개의 CD137 분자 중 하나에 대한 BA001-F(ab')₂ 결합의 각각의 아암(arm)에 의해 향상되어, PLAD-PLAD 상호작용을 허용하기에 충분히 가깝게 CD137 분자의 PLAD 도메인을 가져올 수 있다는 것이 상정된다.

[0521] 항-인간 CD137 Fab의 에피토프 결합

[0522] 대부분의 CD137 펩타이드는 존재하는 BA001-Fab가 존재하거나 또는 이것이 없이 동일한 또는 유사한 중수소 수준을 나타내었다. 그러나, 몇몇 펩타이드 세그먼트는 BA001-Fab 결합 시 상당히 감소된 중수소 혼입을 갖는 것을 발견하였다. 이 단락에서 모든 잔기는 서열번호 25에 따라 넘버링한다. 잔기 125 내지 141(FNDQKRGICRPWTNCSL, 서열번호 26)로 정한 영역은 인간 CD137이 BA001-Fab에 결합할 때 강한 중수소 보호를 경험하였다. 따라서, 이 영역은 CD137 상에서 BA001의 에피토프 또는 이의 일부에 대응한다. 잔기 89 내지 98(TPGFHCLGAG, 서열번호 28), 및 잔기 107 내지 112(KQGQEL, 서열번호 29)로 이루어진 두 추가적인 영역은 또한 실질적인 중수소 보호를 나타내었고, 따라서 선택적으로 CD137 상에서 BA001의 추가적인 에피토프 또는 이의 일부에 대응한다. 인간 및 사이노몰거스 원숭이 CD137(이들 둘 다 BA001이 강하게 결합함)의 서열 조사(도 1A 및 도 1B)는 상기 기재한 바와 같이 서열번호 26 및 29에 대응하는 영역에서 완전한 서열 동일성을 나타내었다(도 13). BA001은 뮤린 CD137과 임의의 정도로 결합하지 않는데(데이터 미제시), 이는 이들 영역에서 인간

CD137과 실질적으로 상이하다(도 14a). 4개의 아미노산 치환은 서열번호 28에 대응하는 사이노몰거스 원숭이 서열의 영역(즉, T82I, P83S, F85Y 및 G91E)에서 발견되었다. 잔기 26 내지 63(서열번호 34)으로 이루어진 CD137의 영역은 이 실험에서 임의의 중수소 보호를 나타내지 않았다. 이론에 의해 구속되는 일 없이, CD137의 단일 분자에 대한 개개 BA001-Fab 단편의 결합은 PLAD-PLAD 이량체화를 촉진시키지 않는다는 것이 상정된다.

6.5.2 인간/마우스 키메라 단백질을 이용하는 항-CD137 항체의 에피토프 맵핑

항-CD137 항체 BA001에 의해 인식되는 인간 CD137 상의 에피토프는 Jurkat 세포에 형질감염된 일련의 뮤린 스위치 돌연변이체 작제물을 이용하여 추가로 연구하였고, 이를 이어서, FACS에 의해 분석할 수 있었다. 세포의 도메인 내에 단일 돌연변이된 영역을 함유하는 인간 CD137을 각각 구성적으로 발현시킨 Jurkat 스위치 돌연변이체를 생성하였고, 이때, 인간 CD137 서열의 일부를 뮤린 CD137로부터의 대응하는 서열(즉, 도 14a에 나타낸 돌연변이체 5014 내지 5018; 서열을 이하의 표 5에 제공함)로 전환시켰다.

표 5

CD137에 대한 인간-마우스 융합 작제물 서열의 세포의 도메인.

설명	아미노산 서열*	서열번호
인간-마우스 융합 작제물 5014의 세포의 도메인	LQDPCSNCPAGTFCRKYNPVCKSCPPSTFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSV TPPAPARPGHSPQ	35
인간-마우스 융합 작제물 5015의 세포의 도메인	LQDPCSNCPAGTFCDDNNRNQICSPCPPNSFSSIGGQPNC NICRVCAGYFRFKKFCSSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASSV TPPAPAREPGHSPQ	36
인간-마우스 융합 작제물 5016의 세포의 도메인	LQDPCSNCPAGTFCDDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTHNAECECIEGFHCLGPQ CTRCEKDCRPGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICR PWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASS VTPPAPAREPGHSPQ	37
인간-마우스 융합 작제물 5017의 세포의 도메인	LQDPCSNCPAGTFCDDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKQGCKTCSLGTNDQNGTGVC RPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGAS SVTPPAPAREPGHSPQ	38
인간-마우스 융합 작제물 5018의 세포의 도메인	LQDPCSNCPAGTFCDDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTSNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGRSVLKTGTTEKDVVCGPSPADLSPGASS VTPPAPAREPGHSPQ	39

*인간 CD137 서열을 보통의 텍스트로 표시한다. 뮤린 CD137 서열은 볼드체이다.

이들 조작된 돌연변이체 세포주를 사용하여 항-CD137 항체가 특정 스위치 돌연변이체에 결합할 수 있는지의 여부를 시험하였다. 이에 의해 결합의 부재는 가능한 에피토프 위치를 나타낸다. 세포 결합 검정을 일반적으로 부문 1.1에 기재한 바와 같이 수행하였다. 간략하게, 형질감염시킨 Jurkat 세포를 96-웰 플레이트에서 25분 동안 4℃에서 항-CD137 항체(즉, BA001, 기준 항-CD137 항체 #1, 또는 기준 항-CD137 항체 #2)의 연속 희석물을 이

용하여 5×10^4 개의 세포/웰로 염색하였다. 세포를 2회 세척하였고, F(ab')₂ 염소 항-인간 IgG-PE 2차 항체(잭슨 이뮤노리서치, 카탈로그 번호 109-116-098)와 함께 인큐베이션시켰다. 이어서, 세포를 세척하고 나서, PBS 중에서 제조한 80 μ l의 2% 파라폼알데하이드(일렉트론 마이크로스코피 사이언시즈(Electron Microscopy Sciences))에서 현탁시켰다. 데이터를 BD FACS 칸토로 수집하였고, BD FACSDiva 소프트웨어를 이용하여 분석하였다.

[0527]

도 14b에 나타낸 바와 같이, 항체 BA001을 돌연변이체 5017을 제외하고 무린 스위치 돌연변이체 모두를 발현시키는 Jurkat 세포에 결합시킬 수 있으며, 이때 인간 CD137에서 서열 LTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNC(서열번호 30)를 무린 CD137에서 대응하는 영역으로 대체하였다. BA001에 의해 나타내는 결합 패턴은 기준 항-CD137 항체 #1 및 #2로 나타내는 것과 별개이다(도 14b). 기준 항-CD137 항체 #1은 더 낮은 항체 농도에서 돌연변이체 5017에 대해 최소 결합을 나타내었지만, 10 μ g/ml 이상의 농도에서 결합이 분명하게 검출되었다. 추가로, BA001과 상이하게, 기준 항-CD137 항체 #1은 돌연변이체 5016에 대한 결합을 나타내지 않았다.

[0528]

무린 스위치 돌연변이체로부터 동정된 인간 CD137에서 BA001 에피토프는 부문 6.5.1에 기재한 HDX 에피토프 맵핑 실험에서 동정된 BA001 에피토프와 실질적으로 중복되었다. 중복 영역에서, KRGI(서열번호 43)의 서열을 갖는 인간 CD137의 4개의 연속적 아미노산 잔기는 무린 CD137의 대응하는 영역에서 발견되는 NGTGV(서열번호 44)의 서열과 상이하였다(도 15a). 이 차이는 무린 CD137에 대한 BA001의 실질적인 친화도의 결여를 설명할 수 있었다. KRGI(서열번호 43)의 서열이 BA001에 의해 인식되는 에피토프인지의 여부를 결정하기 위해, 키메라 CD137 세포의 도메인을 포함하는 2개의 단백질을 생성하였다: "4-aa 인간 대 마우스" CD137 단백질은 NGTGV로 대체되는 KRGI 서열을 갖는 인간 CD137 세포의 도메인이었고; "4-aa 마우스 대 인간" CD137 단백질은 KRGI로 대체된 NGTGV 서열을 갖는 무린 CD137 세포의 도메인이었다. 이들 키메라 단백질은 C-말단에서 Gly-Ser 링커 및 6 \times His 태그를 추가로 포함하였다. 세포의 도메인의 서열을 표 6에 제공한다.

표 6

키메라 CD137 단백질 및 이의 단편의 세포의 도메인

설명	아미노산 서열*	서열번호
무린 CD137 단편	NGTGV	44
"4-aa 인간 대 마우스" CD137의 세포의 도메인	LQDPCSNCPAGTFCDDNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTNAECDCTPGFHCLGAGC SMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQNGTGVCR PWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGASS VTPPAPAREPGHSPQ	45
"4-aa 마우스 대 인간" CD137의 세포의 도메인	VQNSCDNCQPGTFCRKYNPVCKSCPPSTFSSIGGQPNC NICRVACAGYFRKKFCSSSTHNAECECIEGFHCLGPQCT RCEKDCRPGQELIKQGCKTCSLGTNDQKRGICRPWT NCSLDGRSVLKTGTTEKDVVCGPPVVSFSPSTTISVTPE GGPGGHSLQVL	46

[0529]

상기 기재한 키메라 CD137 단백질을 표면 플라즈몬 공명(SPR) 검정에서 시험하였다. 간략하게, 아민 결합 키트를 이용하여 CM5 센서 칩을 항-인간 Fab 항체로 처음 코팅시켰다. 6 μ g/ml의 BA001 및 기준 항-CD137 항체 #1을 각각 유세포 2 및 3 상에서 10 μ l/분의 유속으로 포획하여, 기준으로서 유세포 1을 유지하였다. 이어서, 완전한 인간 CD137 단백질, "인간 대 마우스" CD137 키메라 단백질 및 "마우스 대 인간" CD137 키메라 단백질을 30 μ l/분으로 90초 동안 유세포에 대해 60M의 농도로 독립적으로 실행한 후에 400초 동안 해리시켰다. 회합과 해리상 동안의 센소그램을 기록하였다.

[0530]

도 15B에 나타낸 바와 같이, 인간 CD137의 KRGI(서열번호 43) 서열을 무린 CD137의 NGTGV(서열번호 44) 서열로 대체하였을 때, 키메라 단백질은 BA001에 결합하는 그의 능력을 상실하였다. 대조적으로, 무린 CD137의 NGTGV(서열번호 44) 서열을 인간 CD137의 KRGI(서열번호 43) 서열로 대체하였을 때, 키메라 단백질은 BA001에 결합하는 능력을 획득하였다. 이들 데이터는 KRGI(서열번호 43) 서열이 BA001에 대한 결합에 연루된 인간 CD137의 중

요한 에피토프 영역을 나타내었다는 것을 시사하였다.

[0532] 비교하면, 도 15C에 나타난 바와 같이, 인간 CD137의 KRGI(서열번호 43) 서열을 뮤린 CD137의 NGTGV(서열번호 44) 서열로 대체하였을 때, 키메라 단백질은 기준 항-CD137 항체 #1에 결합하는 그의 능력을 상실하였다. 그러나, 뮤린 CD137의 NGTGV(서열번호 44) 서열을 인간 CD137의 KRGI(서열번호 43) 서열로 대체하였을 때, 키메라 단백질은 기준 항-CD137 항체 #1에 결합하는 능력을 획득하지 못하였다. 이들 데이터는 KRGI(서열번호 43) 서열이 기준 항-CD137 항체 #1의 결합에 필수적임에도 불구하고, 뮤린 CD137 내용에서 충분하지 않았다는 것을 시사하였다.

[0533] 6.6 항-CD137 항체 변이체의 특성규명.

[0534] 본 실시예는 BA001 항체의 변이체인 항-CD137 항체의 특징을 기재한다. 이들 항체 중 넷의 가변 영역의 서열 정보를 표 1 및 표 2에 제공한다.

[0535] 6.6.1 BA001 변이체는 인간 및 사이노물거스 CD137에 결합한다.

[0536] BA001의 CDRH1, CDRH3 및 CDRL3에서 아미노산 치환을 함유하는 아미노산 치환을 함유하는 scFv 파지 디스플레이 라이브러리를 선별함으로써 BA001의 변이체를 생성하였다. 간략하게, 서열번호 55의 아미노산 서열을 포함하는 BA001의 scFv를 생성하였고, scFv의 돌연변이유발을 수행하였으며, 친화도-기반 선택에 의해 양성 클론을 농축시켰다. 인간 CD137에 결합된 총 347개의 클론을 동정하였다. 347개 클론의 아미노산 서열의 분석으로부터 작제 한 공통 CDRH1, CDRH3 및 CDRL3 서열을 각각 서열번호 82, 83 및 84에 제시한다. 347개의 클론 중에서, 233개는 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 미만의 해리 속도를 가졌다. 이들 233개의 클론으로부터 작제 한 공통 CDRH1, CDRH3 및 CDRL3 서열을 각각 서열번호 85, 86 및 87에 제시한다.

[0537] CD137에 대한 BA001 변이체 중 넷의 결합 친화도를 추가로 특성규명하였다. BA049, BA050, BA051 및 BA052로 명명되는 이들 4개의 변이체는 표 1에서 제공하는 바와 같은 서열번호 69, 70, 71 및 72에 각각 제시된 scFv 아미노산 서열을 포함하였다. 4개의 변이체를 IgG1 형식으로 전환하였고, 그들의 중쇄 및 경쇄 서열을 표 1 및 2에 제공한다. 결합 친화도를 측정하기 위해, Gly-Ser 링커 다음에 6×His 태그를 각각 포함하는, 인간 CD137, 사이노물거스 CD137, 마우스-인간 융합 작제물 5015(인간 CD137의 대응하는 서열로 대체한 아미노산 잔기 53 내지 81을 갖는 뮤린 CD137), 및 마우스-인간 융합 작제물 5017(인간 CD137의 대응하는 서열로 대체한 아미노산 잔기 112 내지 140을 갖는 뮤린 CD137)의 세포외 도메인을 항원으로서 사용하였다. 2개의 키메라 단백질(링커 및 6×His 태그를 제외)의 세포외 도메인 서열을 표 7에 제공한다.

표 7

키메라 CD137 단백질의 세포외 도메인.

설명	아미노산 서열*	서열번호
마우스-인간 융합 작제물 5015의 세포외 도메인	VQNCDNCQPGTFCRKYNPVCKSCPPSTFSSAGGQRT CDICRQCKGVFRTRKECSSTHNAECECIEGFHCLGPQ CTRCEKDCRPGQELTKQGCKTCSLGTNDQNGTGVC PWTNCSLDGRSVLKTGTTEKDVVCGPPVVSFSPSTTIS VTPEGGPGGHSLSQVL	47
마우스-인간 융합 작제물 5017의 세포외 도메인	VQNCDNCQPGTFCRKYNPVCKSCPPSTFSSIGGQPNC NICRVCAGYFRKKFCSSTHNAECECIEGFHCLGPQCT RCEKDCRPGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRP WTNCSLDGRSVLKTGTTEKDVVCGPPVVSFSPSTTISV TPEGGPGGHSLSQVL	48

[0538]

[0539] 항원에 대한 BA001 변이체의 (IgG1 형식으로) 친화도를 ELISA에 의해 측정하였다. 구체적으로, 1×PBS pH 7.4 (깁코(Gibco)(상표명), 카탈로그 번호 10010056)로 희석한 50μl의 5μg/ml의 각각의 항원을 써모 사이언티픽(Thermo Scientific)(상표명) 블랙 96-웰 이뮤노 플레이트(Black 96-Well Immuno Plate)(써모피셔 사이언티픽

(Thermofisher Scientific), 카탈로그 번호 437111)에서 각각의 웰에 첨가하였고, 밤새 4℃에서 인큐베이션시켰다. 바이오스택3 마이크로플레이트 스택커(Biostack3 microplate stacker)가 있는 바이오텍(Biotek) 405TS 마이크로플레이트를 이용하여 플레이트를 PBS로 3회 세척하였다. 1시간 동안 실온에서 PBS(마블 건조된 탈지분유)에서 300 μ l/웰의 3% 분유와 함께 인큐베이션시킴으로써 플레이트를 차단하고, 1×PBS로 3회 세척하였다. 3% M-PBS(1×PBS 중의 분유) 중에서 적절한 항체를 플레이트에 첨가하였고, 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 플레이트를 0.1% 트윈20(시그마 알드리치(Sigma Aldrich), 카탈로그 번호 P1379)과 함께 1×PBS로 3회 세척하고 나서, 플레이트 세척기를 이용하여 1×PBS로 3회 세척하였다. 3%M-PBS 중에서 1:2000으로 희석시킨 50 μ l 바이오틴-SP(Biotin-SP)(긴 스페이서) 애피니티 염소 항-인간 IgG, Fc γ 프래그먼트 사이언티픽(Fragment Specific)(잭슨 이뮤노 리서치, 코드: 109-065-098, 로트 번호 123909)을 각각의 웰에 첨가하고 나서, 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 플레이트를 0.1% 트윈20과 함께 1×PBS로 3회 세척하고, 플레이트 세척기를 이용하여 1×PBS로 3회 세척하였다. 검출을 위해, DELFIA(등록상표) 검정 완충제(퍼킨엘머, 파트 번호 4002-0010, 로트 번호 646702)에서 1:500로 희석시킨 50 μ l의 DELFIA(등록상표) 유로폼-표지 스트렙타비딘(퍼킨엘머, 파트 번호 1244-360, 로트 번호 2195997)에 각각의 웰에 첨가하였고, 1시간 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 플레이트를 0.1% 트윈20과 함께 1×PBS로 3회 세척하였고, 플레이트 세척기를 이용하여 PBS로 3회 세척하였다. 50 μ l의 DELFIA(등록상표) 항상 용액(퍼킨엘머, 파트 번호 4001-0010, 로트 번호 650872)를 각각의 웰에 첨가하고 나서, 부드럽게 진탕시키면서 5분 동안 실온에서 인큐베이션시켰다. 테칸 인피니트(Tecan Infinite) M1000 프로 플레이트 판독기를 이용하여 여기 340nm 및 방출 615nm에서 형광을 판독하였다. Tecan iControl 소프트웨어 버전 1.11.1.0로 데이터를 획득하고 나서, 그래프패드 프리즘(Graphpad Prism) 버전 7.02로 분석하였다.

[0540] 도 16A 및 도 16B에 나타난 바와 같이, 4개의 BA001 변이체는 인간 및 사이노몰거스 CD137에 대한 결합을 나타내었다. 추가적으로, 그들은 마우스-인간 융합 작제물 5017("mCD137-인간112-139")에 결합하였지만(도 16C) 마우스-인간 융합 작제물 5015("mCD137-인간53-80")에는 결합하지 않았는데(도 16D), 이는 그들이 아미노산 잔기 112 내지 139의 영역 내 인간 CD137의 에피토프에 결합하였다는 것을 나타낸다. 이들 데이터는 이들 4가지 변이체가 BA001과 동일 또는 유사한 에피토프에 결합된다는 것을 시사한다.

[0541] * * *

[0542] 본 발명은 본 명세서에 기재된 특정 실시형태에 의해 범주가 제한되어서는 안 된다. 사실, 기재된 것에 추가로 본 발명의 다양한 변형은 앞서 언급한 설명 및 수반하는 도면으로부터 당업자에게 명백할 것이다. 이러한 변형은 첨부하는 청구범위의 범주 내에 속하는 것으로 의도된다.

[0543] 본 명세서에 인용된 모든 참고문헌(예를 들어, 간행물 또는 특허 또는 특허 출원)은 본 명세서에 그들의 전문이 참고로 그리고 각각의 개개 참고문헌(예를 들어, 간행물 또는 특허 또는 특허 출원)이 모든 목적을 위해 그의 전문이 참고로 편입되는 것으로 구체적이고 개별적으로 표시되는 것과 동일한 정도로 편입된다.

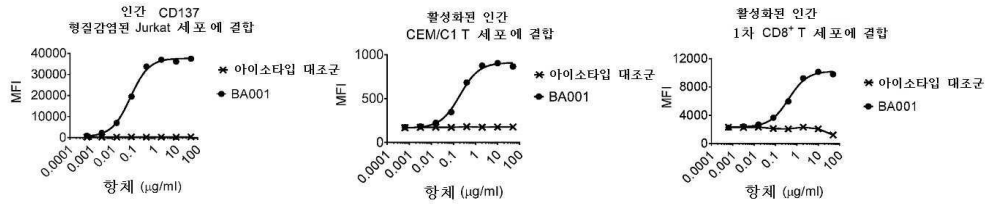
[0544] 다른 실시형태는 다음의 청구범위 내이다.

도면

도면1

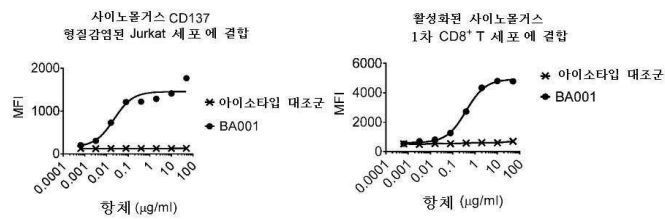
A

인간

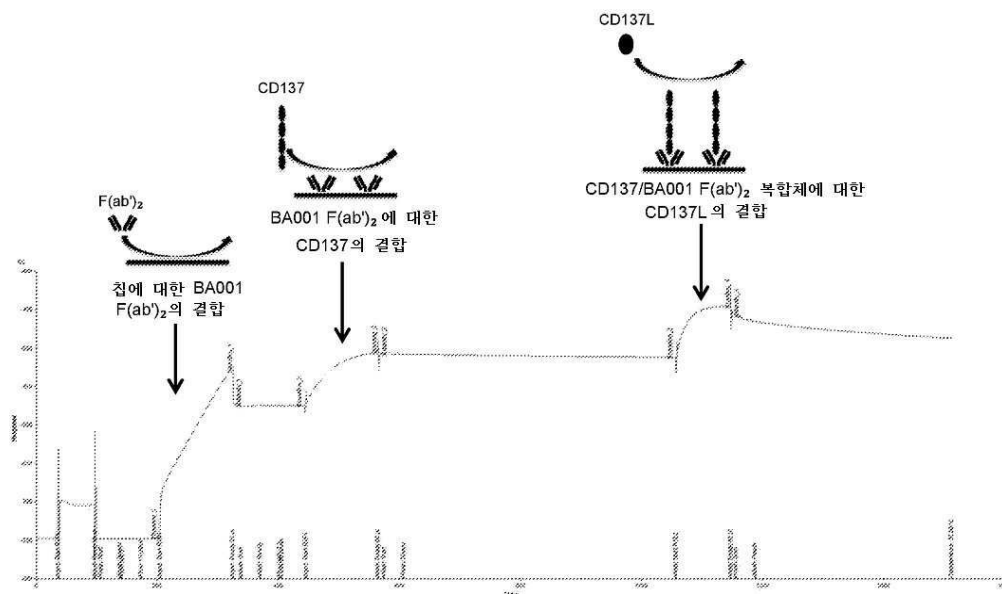


B

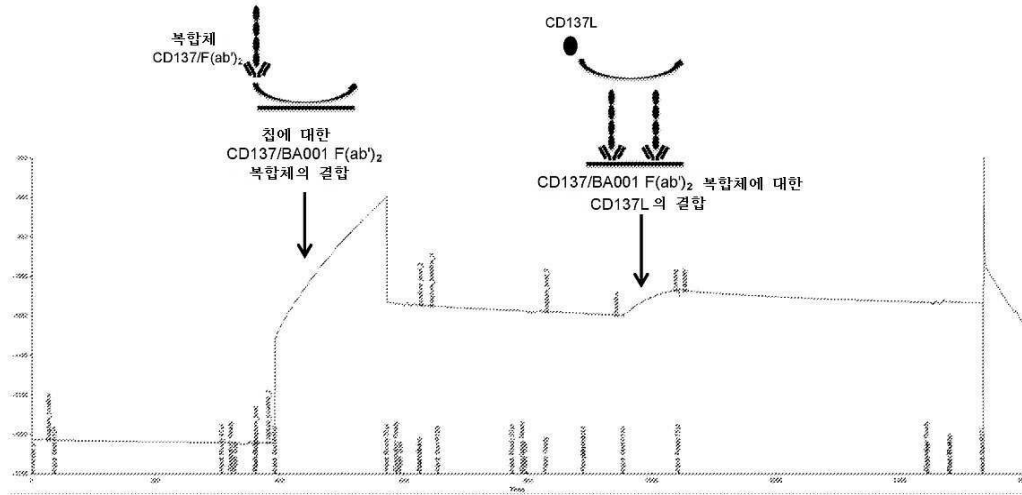
사이노몰거스



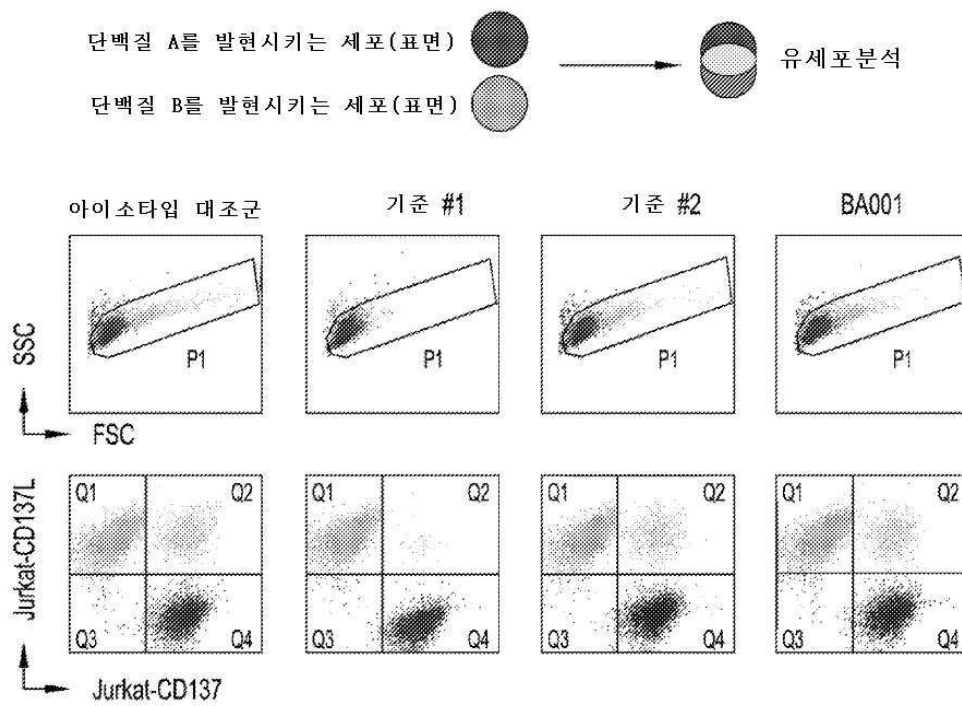
도면2a



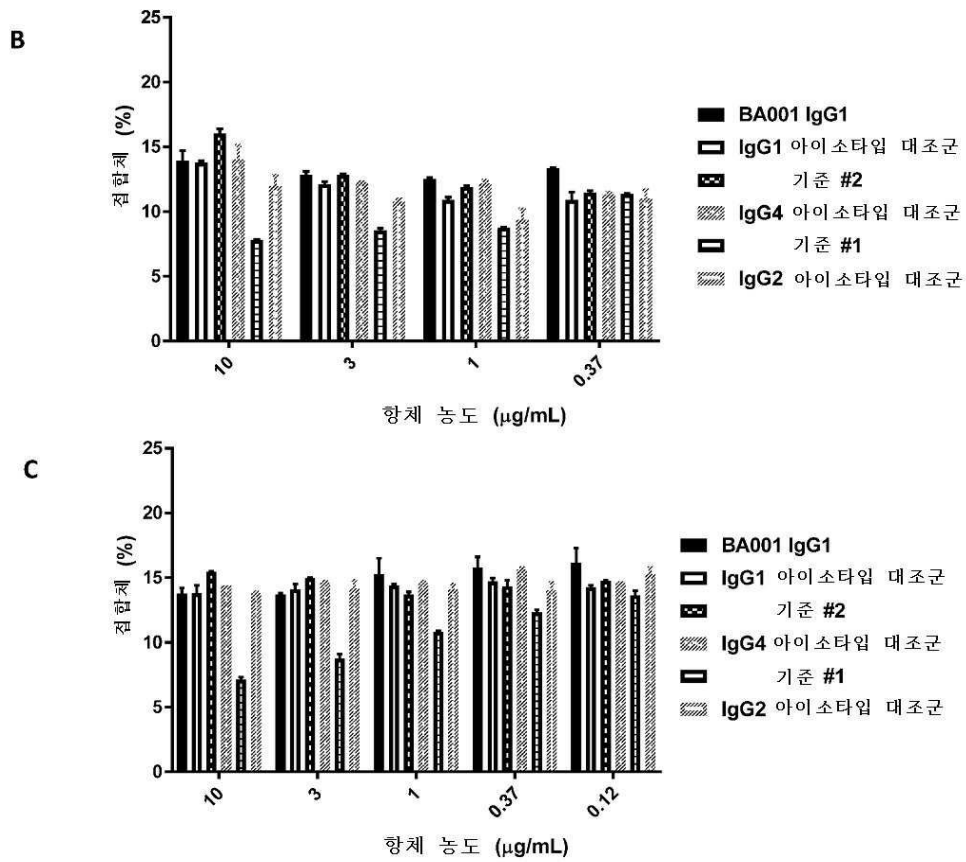
도면2b



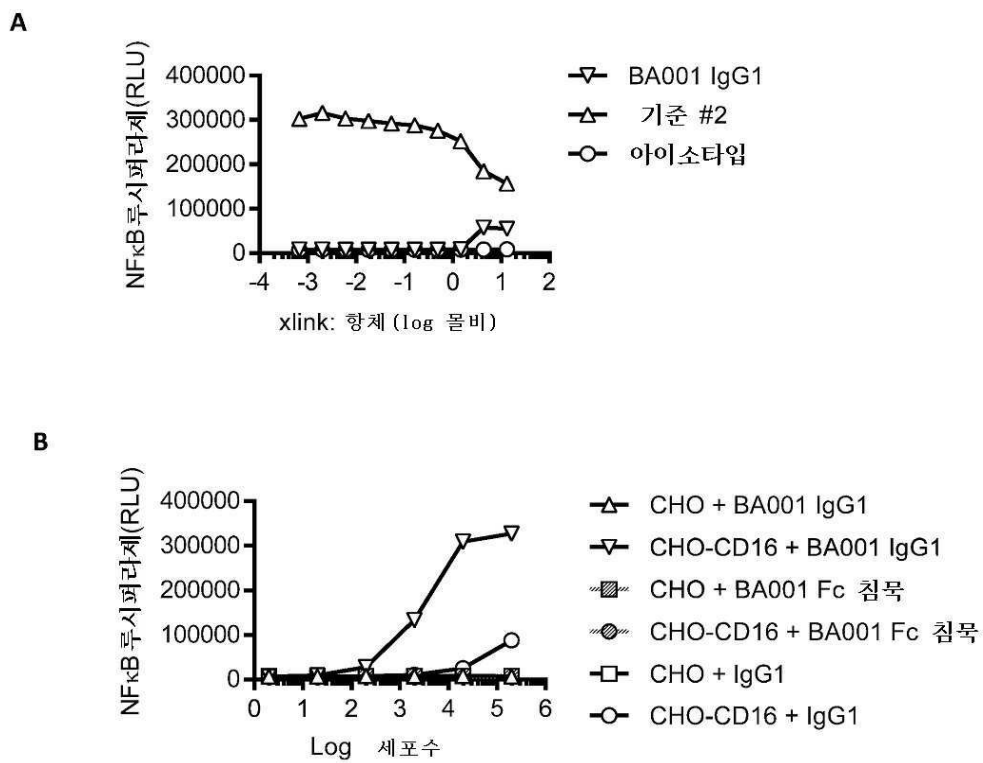
도면3a



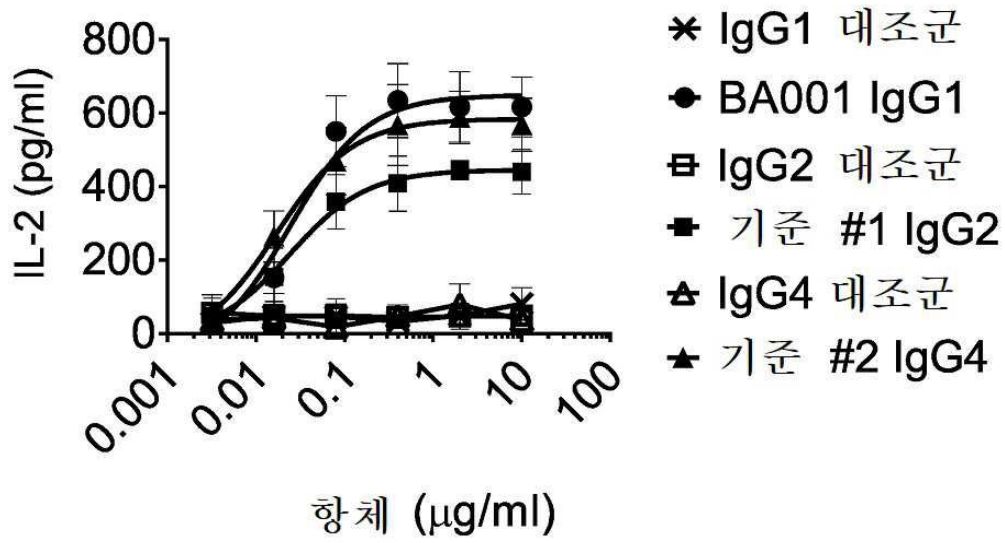
도면3bc



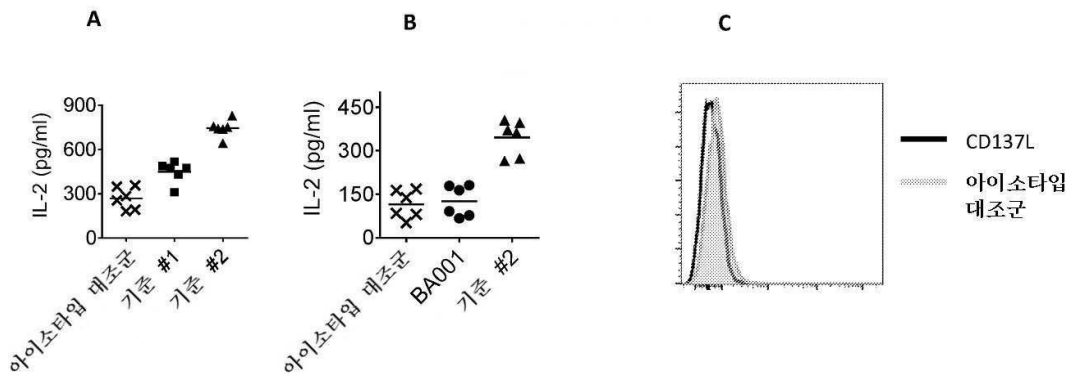
도면4



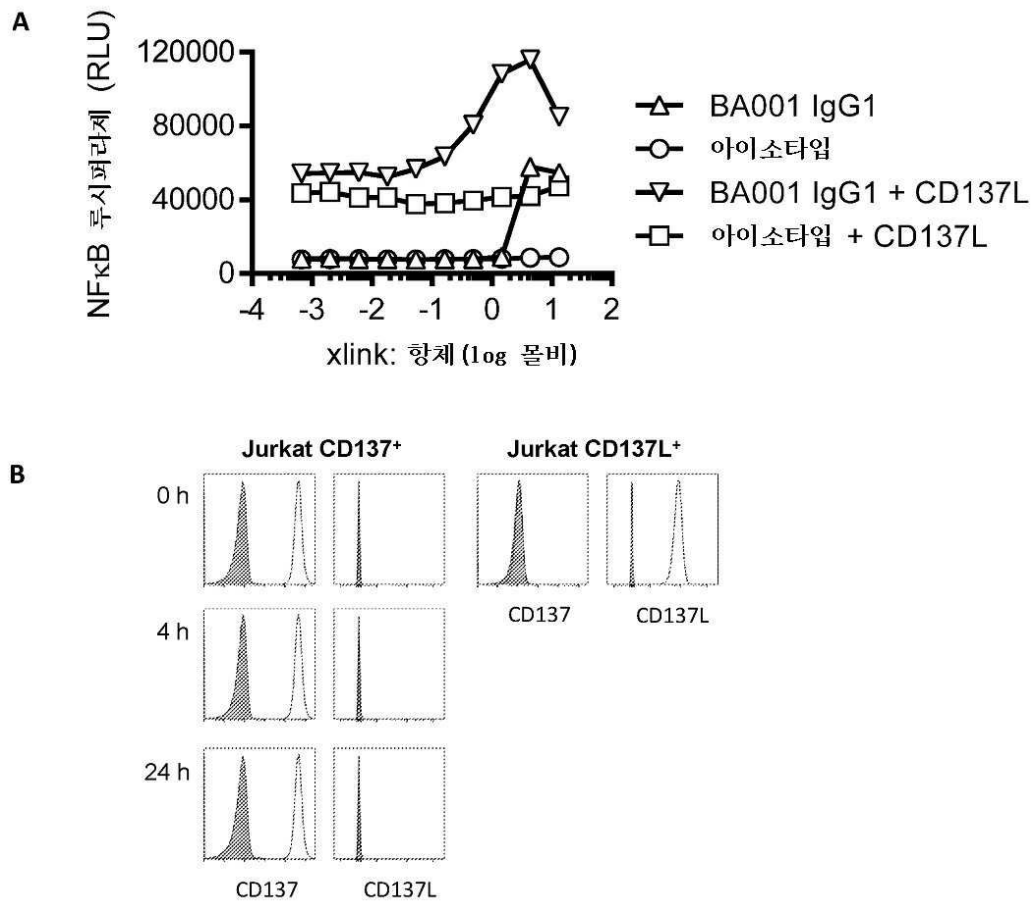
도면5



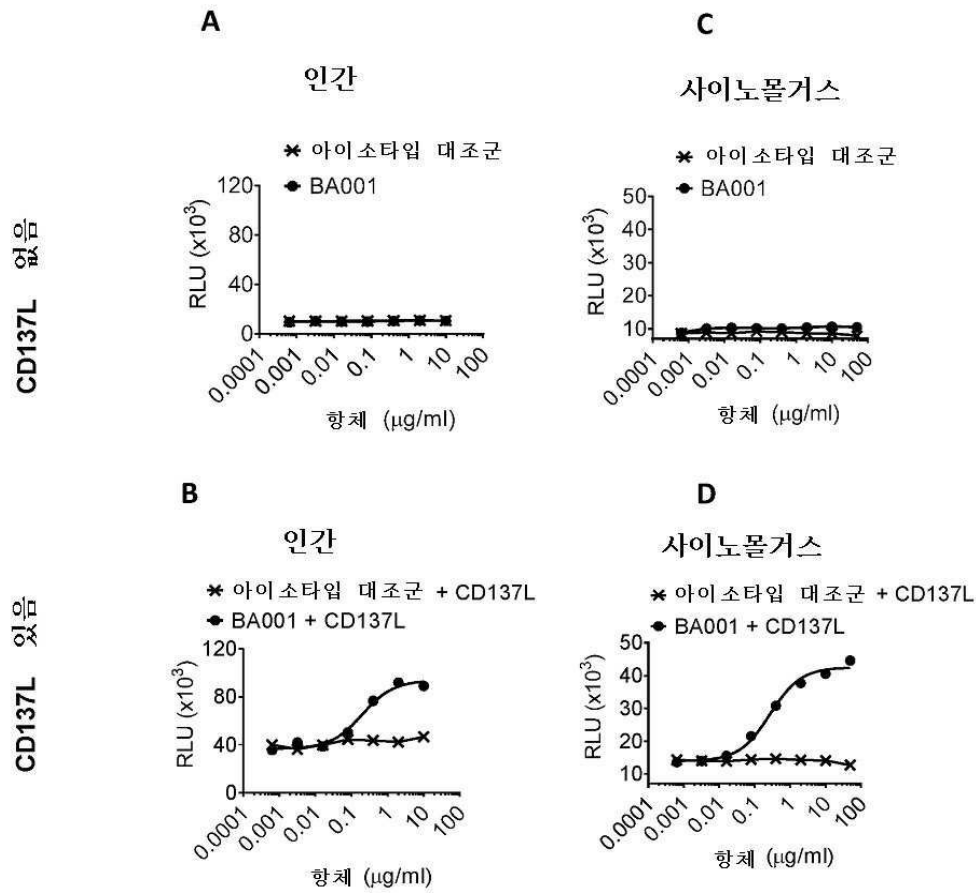
도면6



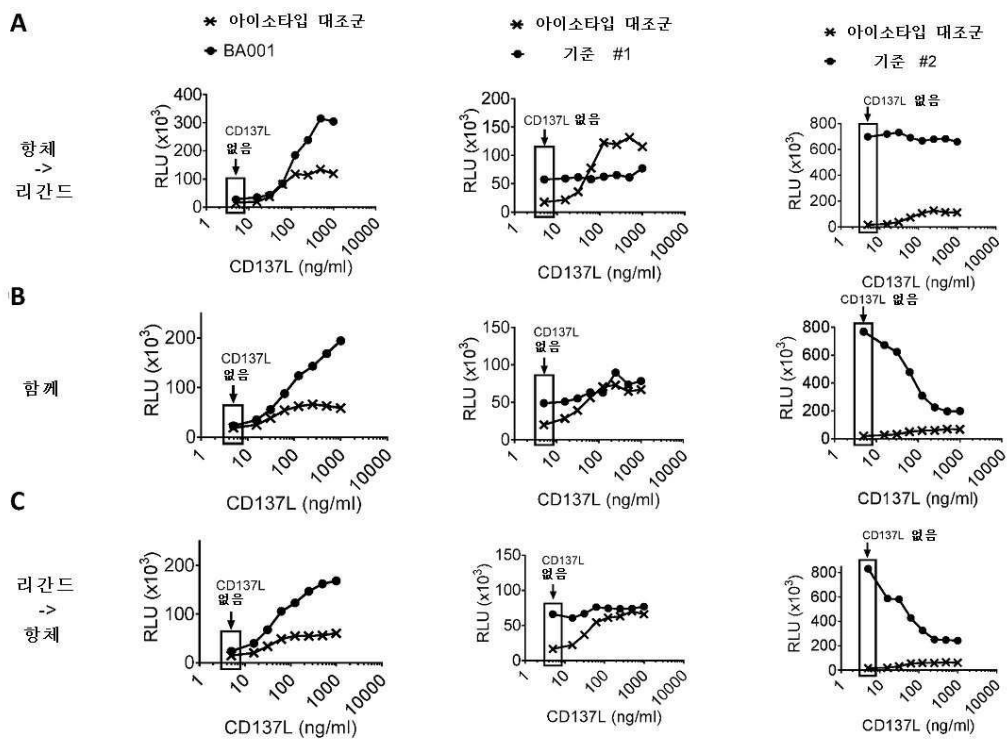
도면7



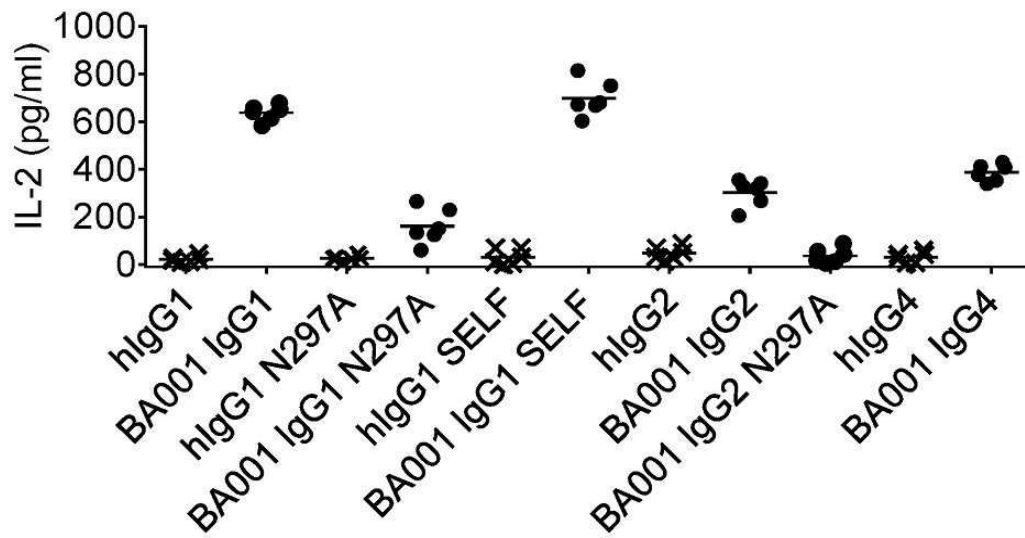
도면8



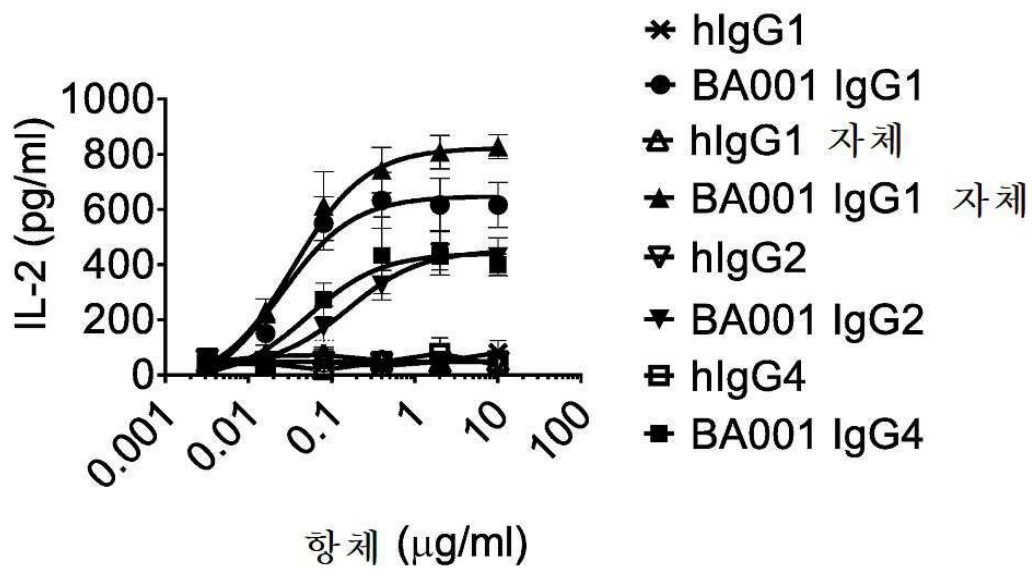
도면9



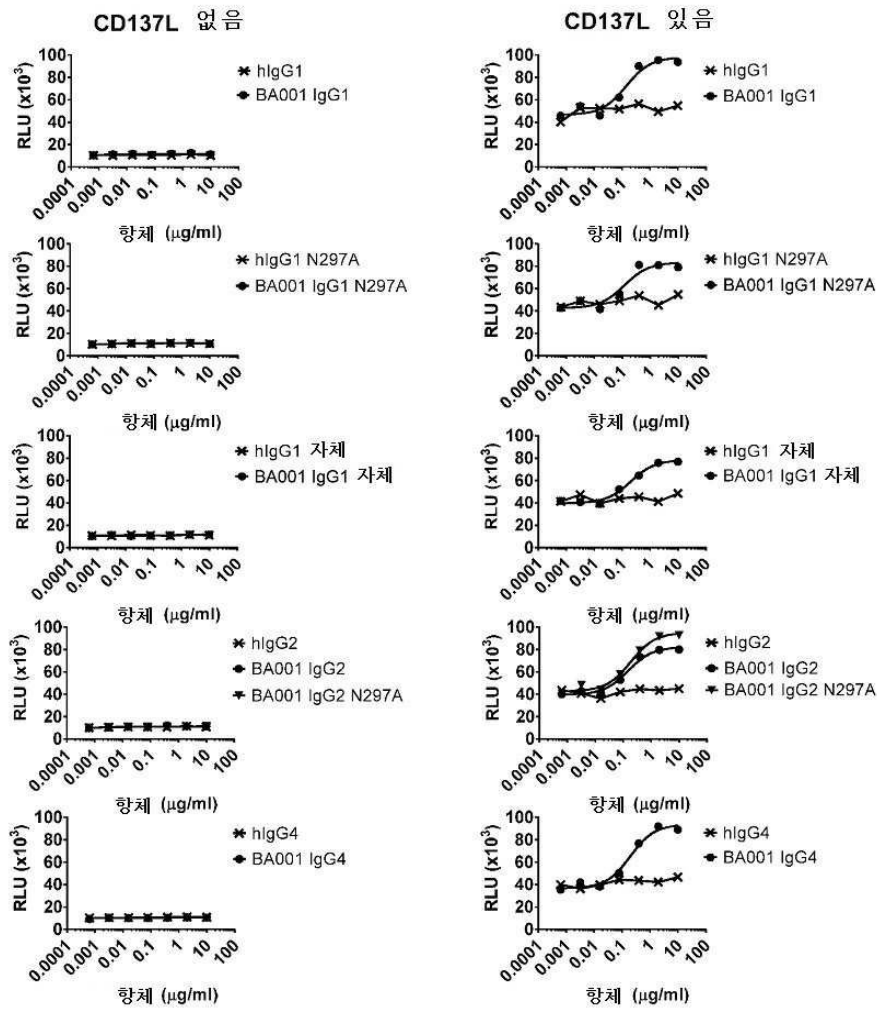
도면10a



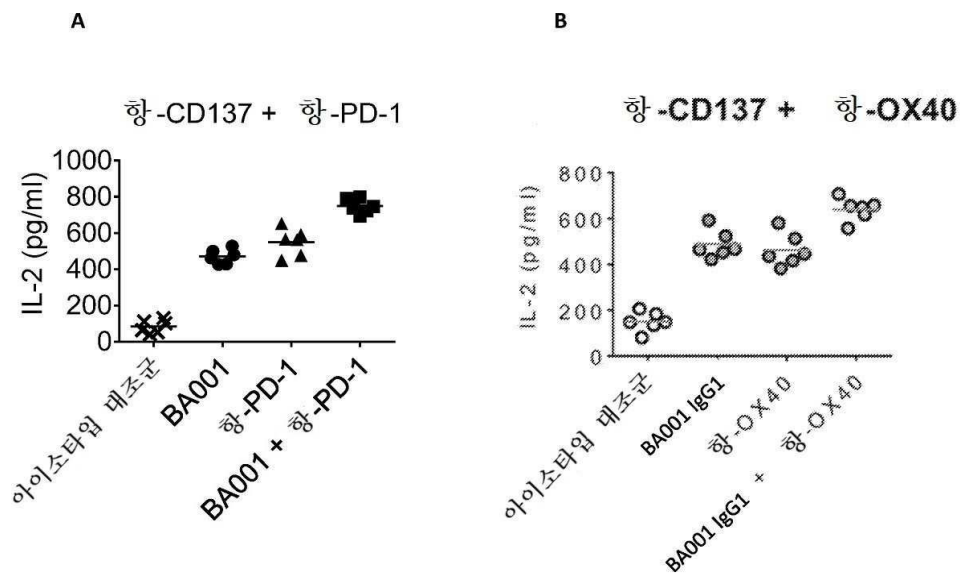
도면10b



도면11



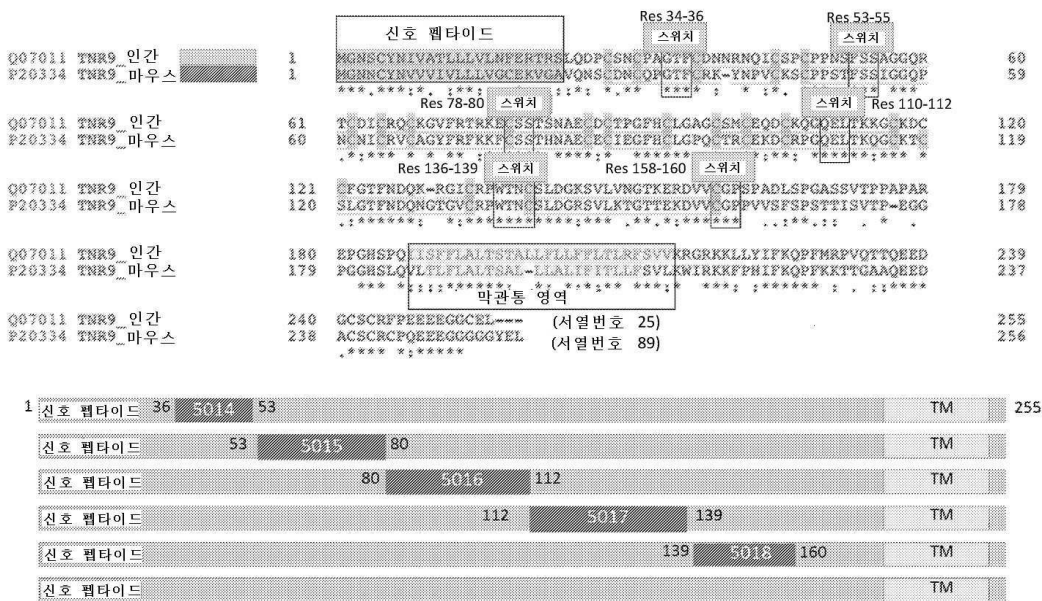
도면12



도면13

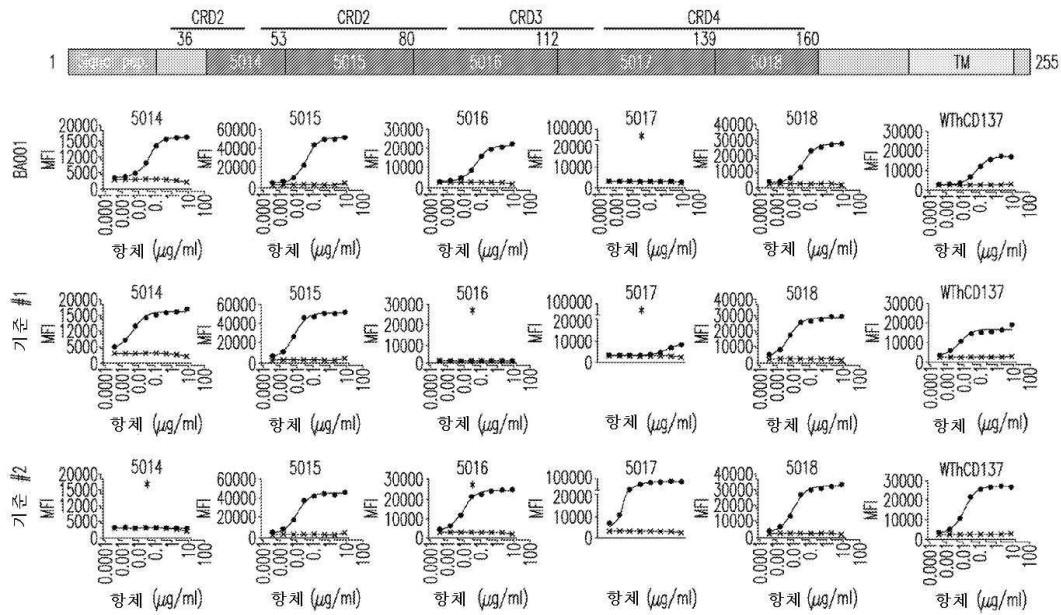
NP_001552.2_CD137_HUMAN	MGNSCYNIVATLLLVNLFERTRSLQPCSNCPAGTFCDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFTRKECSS	80
XP_005544946.1_CD137_MACFA	MGNSCYNIVATLLLVNLFERTRSLQPCSNCPAGTFCDNNRSQICSPCPPNSFSSAGGQRTCDICRQCKGVFKTRKECSS	80
*****.*:*****		
NP_001552.2_CD137_HUMAN	TSNAECDCTPGFHCAGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGP	160
XP_005544946.1_CD137_MACFA	TSNAECDCTPGFHCAGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDCCFGTFNDQKRGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGP	160
*****.*:*****		
NP_001552.2_CD137_HUMAN	SPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIIISFFLALTSTALLFLFLFLTLRFVSVKRGKRLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG	240
XP_005544946.1_CD137_MACFA	SPADLSPGASSVTPPAPAREPGHSPQIIIFLALTSTVVLFLFLFLVLRFSVVKRSRKLKLYIFKQPFMRPVQTTQEEDG	239
*****.*:*****		
NP_001552.2_CD137_HUMAN	CSCRFPEEEEGGCEL (서열번호 25)	255
XP_005544946.1_CD137_MACFA	CSCRFPEEEEGGCEL (서열번호 88)	254

도면14a



5014 = 작제물 ID

도면14b



도면15a

인간
마우스

MGNSCYNIVATLLLVLFNFERTRSLQDPCSNCPAGTFCDDNNRNQICSPCPPNSFSSAGGQR
MGNNCYNVVIVLLLVGCEKVGAVQNSCDNCQPGTFC-RKYNPVCKSCPSTFSSIGGQP
.. :***. *.. :*:***.***** : : * :*.***.*** **

인간
마우스

TCDICRQCKGVFRTRKESSTNAECDCTPGFHCLGAGCSMCEQDCKQGQELTKKGCKDC
NCNICRVCAGYFRFKFCSSTHNAECECIEGFHCLGPQCTRCEKDCRPGQELTKQGCKTC
.*:*** *

인간
마우스

CFGTFNDQK-RGICRPWTNCSLDGKSVLVNGTKERDVVCGPSPADLSPGAS-SVTPPAPA
SLGTFNDQNGTGVCRPWTNCSLDGRSVLKTGTTEKDVVCGPPVVSFSPSTTISVTP----
.:*****: :*****:***.***.***.*****. ..:***.: ****

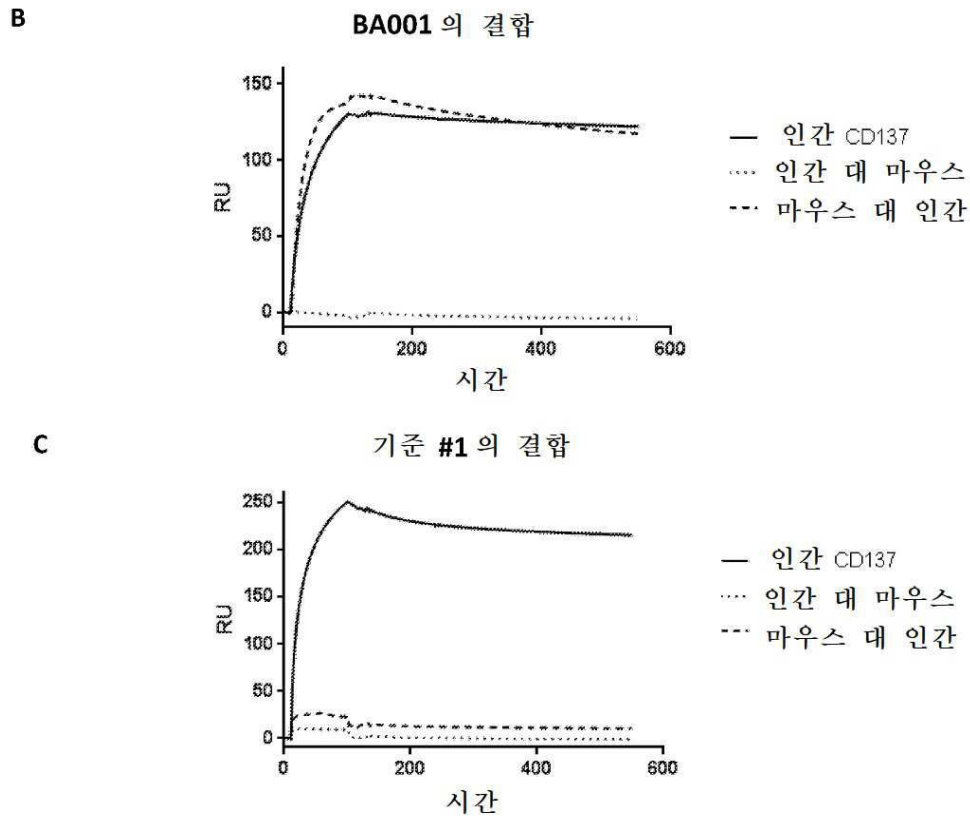
인간
마우스

REPGHSPQIIISFFLALTSTALLFLLFFLTLRFVSVKGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEE
-EGGPA-----FKKTTGAAQEE
* * : * ... :****

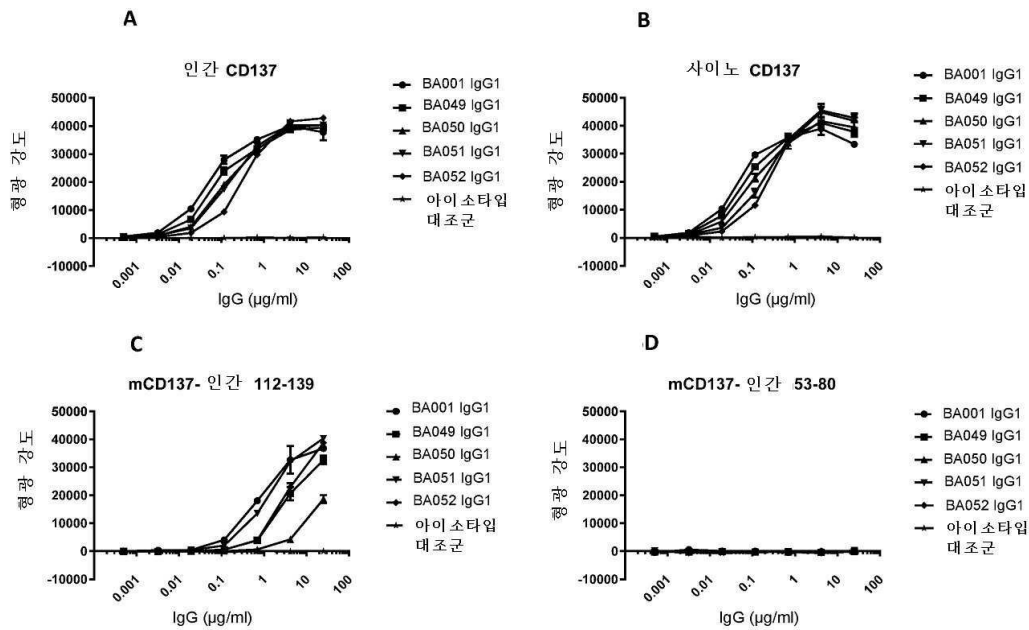
인간
마우스

DGCSCRFPEEEE---GGCEL (서열번호 25)
DACSCRCPEEEGGGGYEL (서열번호 89)
*.**** *:*** ** **

도면15bc



도면16



서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> AGENUS INC.

<120> ANTI-CD137 ANTIBODIES AND METHODS OF USE THEREOF

<130> IPA191197-US

<150> US 62/485,365

<151> 2017-04-13

<160> 89

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

Gly Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 3

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 3

Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 4

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

Gly Gly Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val His

1 5 10

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser

1 5

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 6

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Pro Gly Val

```

1             5             10
<210> 7
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Pyroglutamate"
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(120)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
        preference with respect to those in the annotations

        for variant positions"
<400> 7
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1             5             10             15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
        20             25             30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35             40             45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
        50             55             60

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

```



```

<210> 8
<211> 109
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"
<400> 8
Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Glu
1           5           10           15
Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val
        20           25           30
His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
        35           40           45
Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser

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

```

```

<210> 9
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221>
> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Pyroglutamate"

```

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(449)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210

215

220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225

230

235

240

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

245

250

255

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

260

265

270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275

280

285

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

290

295

300

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

305

310

315

320

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

325

330

335

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

340

345

350

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

355

360

365

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

370

375

380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385

390

395

400

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

405

410

415

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

420

425

430

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

435

440

445

Gly

```

<210> 10
<211> 449
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"
<220>
><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Pyroglutamate"
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(449)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
        preference with respect to those in the annotations
        for variant positions"
<400> 10
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
        20           25           30

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

Ala Arg Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
        100          105          110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val

```

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

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

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

<210> 11

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(449)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
 preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"

<400> 11

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

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

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

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

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

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

<210> 12

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(445)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 12

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
 210 215 220
 Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
 385 390 395 400
 Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
 405 410 415
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
 420 425 430
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly

435 440 445

<210> 13

<211> 445

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(445)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

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

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

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

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

435 440 445

<210> 14

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221>

source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(446)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 14

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

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

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

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

 275 280 285
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
 290 295 300

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

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

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

<210> 15

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 15

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

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

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

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

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

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

 260 265 270
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 275 280 285
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

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

<210> 16

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

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

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

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

145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

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

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

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

325

<210> 17

<211> 329

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

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

1	5	10	15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr			
	20	25	30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser			
	35	40	45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser			
	50	55	60
Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr			
65	70	75	80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys			
	85	90	95
Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys			
	100	105	110
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro			
	115	120	125
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys			
130	135	140	
Val Val Val Asp Val Glu His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp			
145	150	155	160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu			
	165	170	175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu			
	180	185	190
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn			
195	200	205	
Lys Ala Phe Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly			
210	215	220	
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu			
225	230	235	240
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr			
	245	250	255

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

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

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

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

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
325

<210> 18

<211> 325

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

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

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

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

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

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

100	105	110	
Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp			
115	120	125	
Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp			
130	135	140	
Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly			
145	150	155	160
Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn			
165	170	175	
Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp			
180	185	190	
Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro			
195	200	205	
Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu			
210	215	220	
Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn			
225	230	235	240
Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile			
245	250	255	
Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr			
260	265	270	
Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys			
275	280	285	
Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys			
290	295	300	
Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu			
305	310	315	320
Ser Leu Ser Pro Gly			
325			

<210> 19

<211> 325

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 19

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly

145 150 155 160

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala

165 170 175

Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp

180 185 190

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro

195 200 205

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

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

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

<210> 20

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 20

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

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

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

Leu Ser Leu Ser Leu Gly
325

<210> 21

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Leu Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His
85 90 95

Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu Gly Gln Pro

100 105 110

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

Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro
130 135 140

Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala
145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg

180 185 190

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

195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 22

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<400> 22

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

1 5 10 15

Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys

65 70 75 80

Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val

85 90 95

Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 23

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu

1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser

20

<210> 24

<211> 163

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 24

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

1 5 10 15

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser

20 25 30

Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val

35 40 45

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp

50 55 60

Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu

65 70 75 80

Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp

85 90 95

Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro

100 105 110

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

115 120 125

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro

130 135 140

Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His

145 150 155 160

Ser Pro Gln

<210> 25

<211> 255

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys

35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile

50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser

65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly

85 90 95

Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu

100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln

115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys

130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro

145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala

165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu

180 185 190

Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu

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

<210> 26

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400

> 26

Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser
 1 5 10 15
 Leu

<210> 27

<211> 31

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

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

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213>

> Homo sapiens

<400> 28

Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly

1 5 10

<210> 29

<211> 6

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 29

Lys Gln Gly Gln Glu Leu

1 5

<210> 30

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 30

Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp

1 5 10 15

Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys

20 25

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 31

Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys

1 5 10 15

<210> 32

<400> 32

000

<210> 33

<211> 232

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 33

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

1 5 10 15

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser
20 25 30

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

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp
50 55 60

Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu
65 70 75 80

Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp
85 90 95

Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro
100 105 110

Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys Ser Val Leu Val Asn Gly Thr
115 120 125

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro
130 135 140

Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His
145 150 155 160

Ser Pro Gln Ile Ile Ser Phe Phe Leu Ala Leu Thr Ser Thr Ala Leu
165 170 175

Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Thr Leu Arg Phe Ser Val Val Lys Arg
180 185 190

Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met Arg Pro
195 200 205

Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe Pro Glu
210 215 220

Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu
225 230

<210> 34

<211> 38

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 34

Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg

1 5 10 15

Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly

20 25 30

Gly Gln Arg Thr Cys Asp

35

<210> 35

<211> 161

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro Ala Gly Thr Phe Cys Arg Lys

1 5 10 15

Tyr Asn Pro Val Cys Lys Ser Cys Pro Pro Ser Thr Phe Ser Ser Ala

20 25 30

Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe

35 40 45

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

50 55 60

Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu Gln

65 70 75 80

Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys

85 90 95

Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp

100 105 110

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

115 120 125

Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly
 130 135 140
 Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Pro Gly His Ser Pro
 145 150 155 160
 Gln

<210> 36

<211> 163

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400

> 36

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

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

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro
 130 135 140

Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His
 145 150 155 160
 Ser Pro Gln

<210> 37

<211> 163

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

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

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

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

130 135 140
 Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His
 145 150 155 160

Ser Pro Gln

<210> 38

<211> 164

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

Leu Gln Asp Pro Cys Ser Asn Cys Pro Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn
1 5 10 15

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser
20 25 30

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

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp
50 55 60

Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu
65 70 75 80

Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Gln Gly Cys Lys Thr
85 90 95

Cys Ser Leu Gly Thr Phe Asn Asp Gln Asn Gly Thr Gly Val Cys Arg
100 105 110

Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys Ser Val Leu Val Asn Gly
115 120 125

Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro Ser Pro Ala Asp Leu Ser
130 135 140

Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly
145 150 155 160

His Ser Pro Gln

<210> 39

<211> 163

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

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

1 5 10 15

Asn Arg Asn Gln Ile Cys Ser Pro Cys Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser

20 25 30

Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val

35 40 45

Phe Arg Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp

50 55 60

Cys Thr Pro Gly Phe His Cys Leu Gly Ala Gly Cys Ser Met Cys Glu

65 70 75 80

Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp

85 90 95

Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro

100 105 110

Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Arg Ser Val Leu Lys Thr Gly Thr

115 120 125

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

130 135 140

Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly His

145 150 155 160

Ser Pro Gln

<210> 40

<211> 98

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 40

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg

<210> 41

<211> 96

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 41

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Ser Lys Ser Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His

85

90

95

<210> 42

<211> 39

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 42

Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro

1

5

10

15

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

20

25

30

Lys Glu Arg Asp Val Val Cys

35

<210> 43

<211> 4

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 43

Lys Arg Gly Ile

1

<210> 44

<211> 5

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 44

Asn Gly Thr Gly Val

1

5

<210> 45

<211> 164

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

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

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

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

130 135 140
Pro Gly Ala Ser Ser Val Thr Pro Pro Ala Pro Ala Arg Glu Pro Gly
145 150 155 160
His Ser Pro Gln

<210> 46

<211> 163

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

Val Gln Asn Ser Cys Asp Asn Cys Gln Pro Gly Thr Phe Cys Arg Lys

1 5 10 15

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

20 25 30

Gly Gly Gln Pro Asn Cys Asn Ile Cys Arg Val Cys Ala Gly Tyr Phe

35 40 45

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

50 55 60

Ile Glu Gly Phe His Cys Leu Gly Pro Gln Cys Thr Arg Cys Glu Lys

65 70 75 80

Asp Cys Arg Pro Gly Gln Glu Leu Thr Lys Gln Gly Cys Lys Thr Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Arg Ser Val Leu Lys Thr Gly Thr Thr

115 120 125

Glu Lys Asp Val Val Cys Gly Pro Pro Val Val Ser Phe Ser Pro Ser

130 135 140

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

145 150 155 160

Gln Val Leu

<210> 47

<211> 164

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

Val Gln Asn Ser Cys Asp Asn Cys Gln Pro Gly Thr Phe Cys Arg Lys

1 5 10 15

Tyr Asn Pro Val Cys Lys Ser Cys Pro Pro Ser Thr Phe Ser Ser Ala

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

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

145 150 155 160
Leu Gln Val Leu

<210> 48

<211> 163

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 48

Val Gln Asn Ser Cys Asp Asn Cys Gln Pro Gly Thr Phe Cys Arg Lys
1 5 10 15
Tyr Asn Pro Val Cys Lys Ser Cys Pro Pro Ser Thr Phe Ser Ser Ile

20 25 30

Gly Gly Gln Pro Asn Cys Asn Ile Cys Arg Val Cys Ala Gly Tyr Phe
35 40 45

Arg Phe Lys Lys Phe Cys Ser Ser Thr His Asn Ala Glu Cys Glu Cys
50 55 60

Ile Glu Gly Phe His Cys Leu Gly Pro Gln Cys Thr Arg Cys Glu Lys
65 70 75 80

Asp Cys Arg Pro Gly Gln Glu Leu Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys
85 90 95

Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp
100 105 110

Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Arg Ser Val Leu Lys Thr Gly Thr Thr
115 120 125

Glu Lys Asp Val Val Cys Gly Pro Pro Val Val Ser Phe Ser Pro Ser
130 135 140

Thr Thr Ile Ser Val Thr Pro Glu Gly Gly Pro Gly Gly His Ser Leu
145 150 155 160

Gln Val Leu

<210> 49

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(450)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 49

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

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

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

35 40 45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

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

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

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

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

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

180 185 190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys

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

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 225 230 235 240
 Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
 245 250 255
 Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu
 260 265 270
 Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
 275 280 285
 Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
 290 295 300
 Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
 305 310 315 320
 Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
 325 330 335
 Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
 355 360 365
 Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
 370 375 380
 Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 50
 <211> 450

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(450)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130	135	140	
Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser			
145	150	155	160
Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val			
	165	170	175
Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro			
	180	185	190
Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys			
195	200	205	
Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp			
210	215	220	
Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly			
225	230	235	240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile			
	245	250	255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu			
260	265	270	
Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His			
275	280	285	
Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr Arg			
290	295	300	
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys			
305	310	315	320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu			
	325	330	335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr			
340	345	350	
Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu			
355	360	365	
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp			
370	375	380	

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly Lys

450

<210> 51

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

polypeptide"

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(450)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

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

 Ala Arg Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 115 120 125
 Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala
 130 135 140
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

Gly Lys

450

<210> 52

<211> 446

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(446)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 52

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

435 440 445

<210> 53

<211> 446


```

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Pyroglutamate"
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(446)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

        preference with respect to those in the annotations
        for variant positions"
<400> 53
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
        20           25           30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35           40           45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

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

        115          120          125
Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
        130          135          140

```

Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 145 150 155 160
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 165 170 175
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 180 185 190
 Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 195 200 205
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
 210 215 220
 Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 225 230 235 240
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 245 250 255
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 260 265 270
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 275 280 285
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Ala Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 290 295 300
 Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 305 310 315 320
 Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
 325 330 335
 Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
 340 345 350
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
 355 360 365
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Asn Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
 370 375 380
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp

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

 435 440 445
 <210> 54
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 polypeptide"
 <220><221> VARIANT
 <222> (1)..(1)
 <223> /replace="Pyroglutamate"
 <220><221> MISC_FEATURE
 <222> (1)..(447)
 <223> /note="Variant residues given in the sequence have no
 preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"
 <400> 54

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

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

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

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 55

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

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

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

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

245

<210

> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 56

Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 57

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 57

Ser Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 58

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

Asn Phe Ser Gly Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 59

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Thr Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 60


```

<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221
> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 60
Gln Val Trp Asn Ser Ser Ser Asp His Pro Gly Val
1           5           10
<210> 61
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 61
Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Pro Gly Val
1           5           10
<210> 62
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<400> 62
Gln Val Trp Tyr Ser Ser Pro Asp His Pro Gly Val
1           5           10
<210> 63
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      polypeptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Pyroglutamate"
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(120)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

      preference with respect to those in the annotations
      for variant positions"
<400> 63
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
      20           25           30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
      35           40           45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

      50           55           60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65           70           75           80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85           90           95
Ala Arg Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
      100          105          110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115          120

<210> 64
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

```

```

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      polypeptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Pyroglutamate"
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(120)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
      preference with respect to those in the annotations
      for variant positions"
<400> 64
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15

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

Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85           90           95
Ala Arg Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln
      100          105          110
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115          120
<210> 65
<211> 120
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(120)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 66

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 66

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asn Ser Ser Ser Asp His

85 90 95

Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu

100 105

<210> 67

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 67

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser

50 55 60
 Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Leu Ser Arg Val Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr

85 90 95
 Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu
 100 105

<210> 68

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

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

20 25 30
 His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
 35 40 45

Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser
 50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Leu Ser Arg Val Glu Ala Gly
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Tyr Ser Ser Pro Asp His

85 90 95
 Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu
 100 105

<210> 69

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(245)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 69

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

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

115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ser Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro
 130 135 140
 Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Glu Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly

145 150 155 160
 Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp
 165 170 175
 Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly

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

245

<210

> 70

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(245)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
 preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"

<400> 70

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

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

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

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

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

Thr Leu Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln
210 215 220
Val Trp Asn Ser Ser Ser Asp His Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr
225 230 235 240
Gln Leu Ile Ile Leu
245

<210> 71

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<

223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(245)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 71

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

115 120 125

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

130 135 140

Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Glu Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly

145 150 155 160
Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp

 165 170 175
Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly

 180 185 190
Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu

 195 200 205
Thr Leu Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln

 210 215 220
Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr

225 230 235 240
Gln Leu Ile Ile Leu

245

<210> 72

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(245)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 72

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

1 5 10 15

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

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

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

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

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

<210> 73

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(449)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 73

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Thr Gly Leu Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

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

 405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His

 420 425 430
Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

 435 440 445
Gly

<210> 74

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220

><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(450)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 74

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

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

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

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

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

Gly Lys

450

<210> 75

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(449)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 75

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Gly

<210> 76

```

<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        polypeptide"
<220><221> VARIANT
<222> (1)..(1)
<223> /replace="Pyroglutamate"
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(450)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

        preference with respect to those in the annotations
        for variant positions"
<400> 76
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1           5           10           15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Gly Tyr
        20           25           30
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
        35           40           45
Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

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

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

```

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

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

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

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

 370 375 380

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

435 440 445
 Gly Lys

450

<210> 77

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(449)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
 preference with respect to those in the annotations
 for variant positions"

<400> 77

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

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

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu
325 330 335

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

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

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380

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

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430

Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

Gly

<210> 78

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Pyroglutamate"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(450)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 78

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Ile Asn Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

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

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

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

 385 390 395 400
 Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp
 405 410 415
 Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
 420 425 430
 Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
 435 440 445
 Gly Lys
 450
 <210> 79

<211> 215

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asn Ser Ser Ser Asp His

85 90 95

Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu Gly Gln Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg

180 185 190

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

195 200 205

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

210 215

<210> 80

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 80

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

1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr

35 40 45

Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp Tyr

85 90 95

Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu Gly Gln Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala
165 170 175

Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg
180 185 190

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

Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser
210 215

<210> 81
<211> 215
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
polypeptide"
<400> 81

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Glu
1 5 10 15

Thr Ala Arg Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asp Ile Gly Asp Lys Arg Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Lys Lys Pro Asp Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Glu Asp Arg Tyr Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Ile Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Leu Ser Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Tyr Ser Ser Pro Asp His
85 90 95

Pro Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Ile Ile Leu Gly Gln Pro
100 105 110

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

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

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

<210> 82

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Ala" or "Asp" or "Glu" or "Leu" or "Asn"
 or "Gln" or "Arg" or "Ser" or "Trp"

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Phe" or "His" or "Asn" or "Arg" or Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="His"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Ile" or "Thr" or "Val"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 82

Gly Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 83

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Gly"

<220><221> VARIANT

<222> (3)..(3)

<223> /replace="Ala" or "Arg" or "Ser"

<220>

><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Phe" or "His" or "Ser"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Ala" or "Thr"

<220><221> VARIANT

<222> (10)..(10)

<223> /replace="Gly"

<220><221> VARIANT

<222> (11)..(11)

<223> /replace="His"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(11)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no preference with respect to those in the annotations for variant positions"

<400> 83

Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 84

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Ile"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Ala" or "Glu" or "Gly" or "His" or "Asn" or "Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Ala" or "Glu" or "Phe" or "Leu" or "Pro" or "Arg" or "Thr" or "Trp" or "Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Ala" or "Leu" or "Met" or "Arg"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Ala" or "Phe" or "Gly" or "Leu" or "Pro" or "Gln" or "Arg" or "Thr"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Glu" or "His" or "Val" or "Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(12)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations

for variant positions"

<400> 84

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Pro Gly Val

1 5 10

<210> 85

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> VARIANT

<222> (1)..(1)

<223> /replace="Ala" or "Asp" or "Leu" or "Arg" or "Ser"
or "Trp"

<220><221> VARIANT

<222> (2)..(2)

<223> /replace="Phe" or "His" or "Asn"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Val"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(5)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no

```

        preference with respect to those in the annotations
        for variant positions"
<400> 85
Gly Tyr Tyr Met His
1           5
<210> 86
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        peptide"
<220><221> VARIANT
<222> (5)..(5)
<223> /replace="Phe"

<220><221> VARIANT
<222> (7)..(7)
<223> /replace="Thr"
<220><221> VARIANT
<222> (11)..(11)
<223> /replace="His"
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(11)
<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
        preference with respect to those in the annotations
        for variant positions"
<400> 86
Glu Pro Gly Tyr Tyr Gly Ser Gly Leu Asp Tyr
1           5           10
<210> 87
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

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

peptide"

<220><221> VARIANT

<222> (4)..(4)

<223> /replace="Ala" or "Glu" or "His" or "Asn" or "Tyr"

<220><221> VARIANT

<222> (5)..(5)

<223> /replace="Ala" or "Glu" or "Leu" or "Arg" or "Thr"

<220><221> VARIANT

<222> (6)..(6)

<223> /replace="Ala" or "Leu" or "Arg"

<220><221> VARIANT

<222> (7)..(7)

<223> /replace="Ala" or "Phe" or "Gly" or "Leu" or "Pro"
or "Gln" or "Arg"

<220><221> VARIANT

<222> (8)..(8)

<223> /replace="Glu" or "Val"

<220><221> VARIANT

<222> (9)..(9)

<223> /replace="Tyr"

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(12)

<223> /note="Variant residues given in the sequence have no
preference with respect to those in the annotations
for variant positions"

<400> 87

Gln Val Trp Asp Ser Ser Ser Asp His Pro Gly Val

1 5 10

<210> 88

<211> 254

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<400> 88

Met Gly Asn Ser Cys Tyr Asn Ile Val Ala Thr Leu Leu Leu Val Leu
1 5 10 15

Asn Phe Glu Arg Thr Arg Ser Leu Gln Asp Leu Cys Ser Asn Cys Pro
20 25 30

Ala Gly Thr Phe Cys Asp Asn Asn Arg Ser Gln Ile Cys Ser Pro Cys
35 40 45

Pro Pro Asn Ser Phe Ser Ser Ala Gly Gly Gln Arg Thr Cys Asp Ile
50 55 60

Cys Arg Gln Cys Lys Gly Val Phe Lys Thr Arg Lys Glu Cys Ser Ser
65 70 75 80

Thr Ser Asn Ala Glu Cys Asp Cys Ile Ser Gly Tyr His Cys Leu Gly
85 90 95

Ala Glu Cys Ser Met Cys Glu Gln Asp Cys Lys Gln Gly Gln Glu Leu
100 105 110

Thr Lys Lys Gly Cys Lys Asp Cys Cys Phe Gly Thr Phe Asn Asp Gln
115 120 125

Lys Arg Gly Ile Cys Arg Pro Trp Thr Asn Cys Ser Leu Asp Gly Lys
130 135 140

Ser Val Leu Val Asn Gly Thr Lys Glu Arg Asp Val Val Cys Gly Pro
145 150 155 160

Ser Pro Ala Asp Leu Ser Pro Gly Ala Ser Ser Ala Thr Pro Pro Ala
165 170 175

Pro Ala Arg Glu Pro Gly His Ser Pro Gln Ile Ile Phe Phe Leu Ala
180 185 190

Leu Thr Ser Thr Val Val Leu Phe Leu Leu Phe Phe Leu Val Leu Arg
195 200 205

Phe Ser Val Val Lys Arg Ser Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys
210 215 220

Gln Pro Phe Met Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys
225 230 235 240

Ser Cys Arg Phe Pro Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

245

250

<210> 89

<211> 256

<212> PRT

<213> Mus Musculus

<400> 89

Met Gly Asn Asn Cys Tyr Asn Val Val Val Ile Val Leu Leu Leu Val

1 5 10 15
Gly Cys Glu Lys Val Gly Ala Val Gln Asn Ser Cys Asp Asn Cys Gln

20 25 30
Pro Gly Thr Phe Cys Arg Lys Tyr Asn Pro Val Cys Lys Ser Cys Pro

35 40 45
Pro Ser Thr Phe Ser Ser Ile Gly Gly Gln Pro Asn Cys Asn Ile Cys

50 55 60
Arg Val Cys Ala Gly Tyr Phe Arg Phe Lys Lys Phe Cys Ser Ser Thr

65 70 75 80
His Asn Ala Glu Cys Glu Cys Ile Glu Gly Phe His Cys Leu Gly Pro

85 90 95
Gln Cys Thr Arg Cys Glu Lys Asp Cys Arg Pro Gly Gln Glu Leu Thr

100 105 110
Lys Gln Gly Cys Lys Thr Cys Ser Leu Gly Thr Phe Asn Asp Gln Asn

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

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

145 150 155 160
Pro Val Val Ser Phe Ser Pro Ser Thr Thr Ile Ser Val Thr Pro Glu

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

180

185

190

Leu Thr Ser Ala Leu Leu Leu Ala Leu Ile Phe Ile Thr Leu Leu Phe

195

200

205

Ser Val Leu Lys Trp Ile Arg Lys Lys Phe Pro His Ile Phe Lys Gln

210

215

220

Pro Phe Lys Lys Thr Thr Gly Ala Ala Gln Glu Glu Asp Ala Cys Ser

225

230

235

240

Cys Arg Cys Pro Gln Glu Glu Glu Gly Gly Gly Gly Gly Tyr Glu Leu

245

250

255