



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2017-0040387
(43) 공개일자 2017년04월12일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 39/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2809 (2013.01)
A61K 39/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7009184(분할)
(22) 출원일자(국제) 2008년03월28일
심사청구일자 2017년04월04일
(62) 원출원 특허 10-2016-7020295
원출원일자(국제) 2008년03월28일
심사청구일자 2016년07월25일
(85) 번역문제출일자 2017년04월04일
(86) 국제출원번호 PCT/EP2008/053761
(87) 국제공개번호 WO 2008/116937
국제공개일자 2008년10월02일
(30) 우선권주장
0706070.0 2007년03월28일 영국(GB)

(71) 출원인
스캔셀 리미티드
영국 노팅햄 앤지5 1피비 헤크넬 로드 유니버시티
하스피탈 아카데미 디파트먼트 클리니컬 온콜로지
(72) 발명자
듀란트, 린다 길리언
영국, 노팅햄셔셔 앤지5 1피비, 노팅햄, 헤크넬
로드, 시티 하스피탈, 디파트먼트 오브 클리니컬
온콜로지
메터링햄, 레이첼 루이즈
영국, 노팅햄셔셔 앤지5 1피비, 노팅햄, 헤크넬
로드, 시티 하스피탈, 디파트먼트 오브 클리니컬
온콜로지
푸드니, 빅토리아 앤
영국, 노팅햄셔셔 앤지5 1피비, 노팅햄, 헤크넬
로드, 시티 하스피탈, 디파트먼트 오브 클리니컬
온콜로지
(74) 대리인
손민

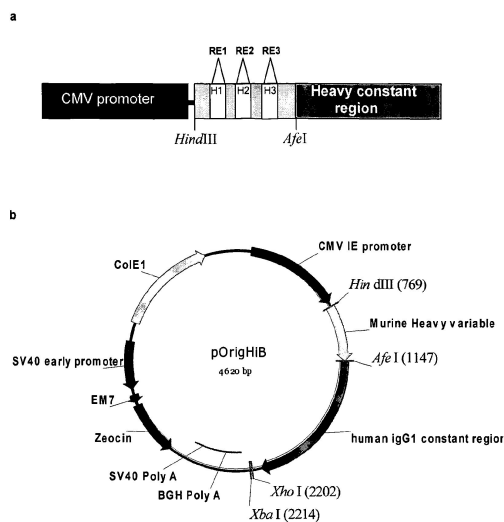
전체 청구항 수 : 총 12 항

(54) 발명의 명칭 **핵산**

(57) 요약

본 발명은 비-특이적 프로모터, 및 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 갖지만 조절 T 세포 에피토프는 갖지 않는 폴리펩타이드를 코딩하는 적어도 하나의 서열을 포함하는 핵산을 제공한다. 폴리펩타이드는 헤테로다имер의 일 체인일 수 있고, 이중 T 세포 에피토프는 헤테로다имер 체인의 붕괴를 초래하여 헤테로다имер의 나머지 하나의 체인과 결합할 수 없다. 핵산은 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프에 대한 T 세포 반응을 도출시키는 데 사용될 수 있다.

대표도 - 도1



명세서

청구범위

청구항 1

(a) 프로모터, (b) 리더 서열(leader sequence) 및 항체의 재조합 중쇄를 코딩하는 서열 및 (c) 항체의 경쇄를 코딩하는 서열을 포함하는 핵산으로서,

상기 중쇄는 그 안에, 상기 핵산이 발현될 때 상기 중쇄를 붕괴시켜 중쇄가 그의 자연입체구조를 취할 수 없게 하고 항체 경쇄와 회합할 수 없게 하는 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 갖고,

적어도 하나의 이중 세포독성 T 세포 에피토프는 항체 중쇄의 CDRH1 및/또는 CDRH2에 존재하고,

적어도 하나의 이중 헬퍼 T 세포 에피토프는 항체 경쇄에 존재하거나 항체 중쇄에 존재하고,

상기 프로모터는 (i) 발현이 촉진되는 세포에 대해 특이성을 갖지 않거나 (ii) 수지상 세포에서 핵산의 발현을 유발하는 것인, 핵산.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 경쇄는 그의 CDR 내에 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 갖는 핵산.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 CDR은 CDRL1인 핵산.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 T 세포 에피토프를 코딩하는 서열이 중쇄 또는 경쇄를 코딩하는 서열 중으로 삽입되는 핵산.

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 적어도 하나의 T 세포 에피토프를 코딩하는 서열이 중쇄 또는 경쇄를 코딩하는 서열 중으로 치환되는 핵산.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 모노클로날 항체인 핵산.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 및/또는 경쇄는 적어도 하나의 세포독성 T 세포 에피토프 및 적어도 하나의 헬퍼 T 세포 에피토프를 갖는 핵산.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 핵산 및 애주번트(Adjuvant)를 포함하는 백신.

청구항 9

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 핵산 및 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는 약학적 조성물.

청구항 10

의약에 사용하기 위한 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 핵산.

청구항 11

제8항에 있어서, T 세포 에피토프(들) 중 적어도 하나에 대한 면역반응의 자극에 사용하기 위한 핵산.

청구항 12

T 세포 에피토프(들) 중 적어도 하나에 대한 면역반응 자극용 약물의 제조에 사용하기 위한 제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 따른 핵산의 용도.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 면역반응이 도출되도록 하는 T 세포 에피토프를 코딩하는 핵산 및 백신으로서 이의 용도에 관한 것이다. 이러한 백신은 종양의 치료에 사용될 수 있다.

배경 기술

[0002] 암 백신 및 만성 바이러스 감염 분야에서, 종양-특이적 T 세포의 기능적 친화력(avidity) 및 프라이밍(priming) 경로와 같은, 빈도 이외의 요인이 백신 효능을 극대화하는 데 있어 주요 결정인자임이 자명해지고 있다. 다수의 연구 그룹은 고-친화력 CD8⁺ T 세포가 우수한 항종양활성을 나타냄을 보여주었다(Alexander-Miller, *Immunologic Research*, 2005;31: 13-24, Hodge *et al*, *J Immunol* 2005;174: 5994-6004, Valmori *et al*, *J Immunol* 2002;168: 4231-40, Zeh *et al*, *J Immunol* 1999;162: 989-94). 고-친화력 T 세포가 환자에서 종양 퇴축에 지극히 중요한 역할을 한다고 제시되었다. 이러한 점은 극적인 종양 퇴축을 보이는 환자에서 고-친화력 항원-특이적 종양 침윤 림프구(TIL)가 검출된 연구로 예증된다(Khong & Rosenberg, *J Immunol* 2002;168: 951-6). 시험관내 자극이 고-친화력 T 세포의 선별을 가능케 할 공산이 크듯이, 시험관내 자극된 자기 종양-특이적 T 세포의 양자면역전달(adoptive transfer)이 성공적임을 입증하는 증거도 출현하고 있다(Vignard *et al.*, *J Immunol* 2005;175: 4797-805, Dudley *et al.*, *J Immunother* 2001;24: 363-73, Morgan *et al*, *J Immunol* 2003;171: 3287-95, Rosenberg & Dudley, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004;101 Suppl 2: 14639-45).

[0003] 지금까지, 많은 연구진에 의해 소정의(pre-determined) 에피토프에 대한 세포성 면역반응을 그 에피토프에 대한 담체로서 항체를 사용하여 도출하려는 시도가 이루어졌다. 예를 들면, WO 96/19584(Bona 등)는 T 세포 에피토프가 항체의 상보성 결정 영역(CDR) 중으로 삽입되는 키메라 항체를 개시하고 있으며, 그러한 키메라 항체가 세포독성 T 세포(CTL) 반응을 도출시키는 데 적합하다고 주장하고 있다. 그러나, 상기 문헌은 해당 DNA가 기능성 단백질질을 코딩하여야 한다고 교시하고 있다. 따라서 해당 초록에서는, "에피토프 및 페어런트(parent) 면역글로불린의 기능이 보존된다"고 서술하고 있다. 또한, 21 페이지에서, "페어런트 면역글로불린 분자의 발현 또는 기능

에 필수적이지 않은 페어런트 면역글로불린 분자를 코딩하는 핵산의 영역에서 목적하는 에피토프의 삽입이 일어난다"고 서술하고 있다. 또한, WO 96/19584의 모든 실시예는 T 세포 에피토프의 삽입 뒤에 무손상(intact) 면역글로불린이 생성됨을 보여준다.

[0004] 미국특허 제7,067,110호는 폴리펩타이드 결합에 의해 항원과 융합된 면역글로불린 가변 영역 도메인이 결합되어 있는 항체의 융합 단백질을 사용하여 항원에 대한 면역반응을 도출하는 방법을 개시한다. 상기 융합 단백질은 Fc 결합능을 보유한다.

[0005] EP0759944는 무손상 면역글로불린 단백질로서 분비되고, 종양에 대한 CTL 에피토프를 표적화하여 이들을 CTL에 대한 더 양호한 표적이 되게 할 수 있는 항체 분자내에 T 세포 에피토프를 이입하는 방법을 개시한다.

[0006] WO 00/64488은 CTL 반응이 이중 T 세포 에피토프가 CDR에는 삽입되었지만 이의 가변 영역에는 삽입되지 않은 키메라 항체를 코딩하는 핵산에 의해 도출될 수 있지만, 단 상기 핵산은 B 세포 내에서 발현되도록 지향된다고 개시하고 있다. B 세포는 나이브(naive) T 세포 반응을 자극할 수 없으므로, WO 00/64488에 기재된 백신은 단지 기존의 T 세포 반응을 촉진하는 데 유용할 것이다.

[0007] WO 02/092126는 이중 T 세포 에피토프 및 고-친화성 CD64 수용체에 결합하는 인간 Fc 부분을 포함하는 폴리펩타이드에 의해 CTL 반응이 도출될 수 있음을 개시하고 있다. 그러나, 본 발명자들은 T 세포 에피토프를 예를 들면 부적당한 CDR내에 또는 심지어는 항체의 가변 영역내에 삽입시킴으로 인한 항체 서열의 붕괴가 중/경쇄의 회합을 방지하고 어떠한 기능성 항체도 분비되지 않음을 밝혔다. 이러한 잘못 폴딩된 항체를 코딩하는 DNA는 강력한 T 세포 반응을 예기치 않게 생성한다. 더욱이, 마우스 또는 인간 CD64에 결합하지 않는 인간 IgG2는 인간 IgG1만큼 효율적으로 작용하기 때문에 이러한 반응은 CD64를 통해 매개되지 않는다.

발명의 내용

과제의 해결 수단

[0008] 본 발명의 일 양태에서, 비-특이적 프로모터, 및 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 갖지만 어떤 조절 T 세포 에피토프도 갖지 않는 폴리펩타이드를 코딩하는 적어도 하나의 서열을 포함하는 핵산을 제공한다.

[0009] *이러한 폴리펩타이드는 바람직하게는 상동성 담체이고, 예를 들면, 인간에서 T 세포 반응을 도출하는 데 사용될 경우에 인간 단백질, 또는 모든 T 조절 에피토프가 동정되고 제거된 이중 단백질 또는 인간/이중 키메라 단백질일 수 있다.

[0010] 폴리펩타이드는 바람직하게는 헤테로다имер의 일 체인이고, 이중 T 세포 에피토프는 헤테로다имер 체인의 붕괴를 초래하여 헤테로다имер의 나머지 다른 하나의 체인과 결합 또는 회합할 수 없게 된다. 다수의 분자들은 헤테로다имер이며, 이때 일 체인은 폴딩후 분비를 위해 다른 하나의 체인에 의존한다. 이중 T 세포 에피토프의 삽입으로 인해 2차 구조가 붕괴되면, 폴딩과 분비는 억제된다. 특정 실시형태에서, 일 체인은 분비되고 또한 이중 CTL 에피토프를 포함하며, 다른 하나의 체인은 이중 헬퍼 에피토프를 포함하지만, 2차 폴딩의 붕괴로 인해 분비되지 않는다. 따라서, 핵산은 헤테로다имер의 두 체인 모두를 코딩할 수 있고, 상기 일 체인은 이중 세포독성 T 세포(CTL) 에피토프를 포함하고 발현시 분비되며, 다른 하나의 체인은 이중 헬퍼 에피토프를 포함하며 또한 발현시 분비되지 않는다. 이와 달리, 각각의 헤테로다имер 체인은 별개의 핵산 분자상에 코딩될 수 있다.

[0011] 헤테로다имер는 면역글로불린 분자일 수 있다. 면역글로불린 분자의 중쇄는 이중 세포독성 T 세포(CTL) 에피토프를 포함할 수 있고 또한 발현시 분비될 수 있으며, 면역글로불린 분자의 경쇄는 이중 헬퍼 에피토프를 포함할 수 있고 또한 발현시 분비되지 않을 수 있다.

- [0012] *본 발명의 제 1 양태의 핵산은 어떤 조절 T 세포(T reg) 에피토프도 포함하지 않는 폴리펩타이드를 코딩한다. 이들 폴리펩타이드는 T 세포 에피토프(들)을 위한 불활성 담체로 작용하고, 면역 시스템에 의해 면역반응을 자극하는 데 이용될 수 있는 분자 또는 분자의 일부일 수 있으며, 이들 분자는 정의상 경쟁성 T reg 에피토프를 발현하지 않는다. 적합한 분자로는 HLA 분자, T 세포 수용체, TOL 수용체, TOL 리간드, 사이토카인, 사이토카인 수용체, 케모카인, 케모카인 수용체를 포함한다. 분자는 항체 또는 이의 일부인 것이 바람직하다.
- [0013] 이론적으로 구속받고 싶지는 않지만, 본 발명은 적어도 부분적으로는, T 세포 에피토프는 포함하지만 조절 T 세포 에피토프는 포함하지 않는 폴리펩타이드를 코딩하는 핵산의 투여에 의해, T 세포 반응을 특정 T 세포 에피토프(예를 들면, CTL 에피토프)에 대해 생성시킬 수 있다는 개념에 기초한다. 핵산은 항원 제시 세포(Antigen Presenting Cell, APC)에 의해 포획되어, 림프절로 이동하여, 직접 제시되거나, 또는 발현되어 폴리펩타이드를 생성하고 이는 분비되고 이어서 다른 APC에 의해 포획되는 것으로 생각된다. 전자의 핵산은 헬퍼 T 세포 에피토프를 자극하는 데 적합하며, 후자는 CTL 반응을 자극하는 데 적합하다. 핵산에 의해 코딩되는 폴리펩타이드는 이상적으로는 천연 T 세포 에피토프를 갖지 않는다. 이와 관련하여 적합한 폴리펩타이드는 항체 등의 면역분자이다. 회합하지 못하여 경쇄는 APC에 잔류하고 중쇄는 분비되는 항체 중/경쇄가 본 발명의 실시예에 적합하지만, 본 발명은 T 세포 에피토프를 위한 담체로서의 항체의 사용에 제한되지 않는다.
- [0014] 억제 T 세포 집단은 대략 40여년전에 동정되었지만, 세포를 동정하기 위한 구체적 기술의 부족과 억제 현상의 존재에 대한 과학계의 회의론적인 시각으로 인해서 발전이 방해를 받았다. 그러나, Sakaguchi 등은 1995년에, $CD4^+CD25^+$ T 세포가 고갈된(depleted) 림프구를 무흉선 마우스에 전이시키면 수용 마우스에서 다양한 자가면역 질환의 발생이 유발되고, $CD4^+CD25^+$ T 세포로 재구성하면 이들 마우스에서 자가면역 반응이 예방됨을 증명함으로써 억제 세포에 대한 관심을 환기시켰다(Sakaguchi *et al.*, *J. Immunol* 1995;155:1151-1164). 뒤이어, 마우스와 인간에서의 다수의 연구는 조절 활성을 띤 다양한 T 세포 집단이 이종 항원에 대한 면역반응의 억제(Shevach, *Immunity* 2006; 25:195-201, Coleman *et al*, *J. Cell Mol. Med* 2007; 11: 1291-1325) 뿐만 아니라 자기에 대한 면역반응(선천성 및 적응성 모두)의 억제(자가면역관용의 조절)(Sakaguchi *et al.*, *J Immunol* 1995;155:1151-1164)에서 중요한 역할을 담당하고 있음을 보여주었다. 마우스의 암 모델에서 Treg-세포 고갈은 내인성 면역-매개성 종양 거부(Shimizu, *et al*, *J. Immunol.* 1999; 163: 5211-5218, Onizuka *et al*, *Cancer Research* 1999; 59: 3128-3133) 및 항원-특이적 항-종양 면역성(Tanaka, *et al*, *J. Immunother.* 2002;25:207-217)을 향상시키는 것으로 나타났다. 또한, Treg-세포 고갈은 백신접종(Tanaka, *et al*, *J. Immunother.* 2002;25:207-217, Dannull *et al*, *J. Clin. Invest.* 2005;115:3623-3633) 및 CTLA-4 봉쇄(Sutmoller *et al*, *J. Exp. Med.* 2001;194:823-832)를 포함한 종양 면역요법을 증대시킨다. 또한, Treg-세포의 수는 말초혈에서 증가하며(Woo *et al*, *Cancer Research* 2001;61:4766-4772, Curiel *et al*, *Nature Medicine* 2004;10:942-949, Wolf *et al*, *Clin. Cancer Research* 2003;9:606-612, Sasada *et al*, *Cancer* 2003;98:1089-1099), 상이한 종류의 암에 걸린 환자의 종양 미소환경과 배수 림프절에 거주한다(Curiel *et al*, *Nature Medicine* 2004;10:942-949, Sasada *et al*, *Cancer* 2003;98:1089-1099, Liyanage *et al*, *J. Immunology* 2002;169:2756-2761, Matsuura *et al*, *Cancer* 2006;106:1227-1236, Yang *et al*, *Blood* 2006;107:3639-3646, Alvaro *et al*, *Clin. Cancer Research* 2005;11:1467-1473). 위암 환자(Sasada *et al*, *Cancer* 2003;98:1089-1099, Ichihara *et al*, *Clinical Cancer Research* 2003;9:4404-4408) 및 난소암 환자(Curiel *et al*, *Nature Medicine* 2004;10:942-949)에서, 불충분한 예후 및 감소된 생존율은 더 높은 Treg-세포 빈도와 관련이 있었다. Treg-세포는 또한 종양-특이적 $CD8^+$ (Liyanage *et al*, *J. Immunology* 2002;169:2756-2761, Piccirillo *et al*, *J. Immunology* 2001;167:1137-1140, Mempel *et al*, *Immunity* 2006;25:129-141, Annacker *et al*, *J. Immunology* 2001;166:3008-3018, Woo *et al*, *J. Immunology* 2002;168:4272-4276) 및 $CD4^+$ (Liyanage *et al*, *J. Immunology* 2002;169:2756-2761, Ichihara *et al*, *Clinical Cancer Research* 2003;9:4404-4408, Nishikawa *et al*, *Blood* 2005;106:1008-1011) T 세포의 증식, 사이토카인-생성($IFN\gamma$, IL-2) 및 세포용해 활성을 억제/억제하는 것으로 나타났다. 또한, Treg-세포는 수지상 세포(Romagnani *et al*, *Eur. J. Immunol.* 2005;35:2452-2458), NK 세포(Ralainirina *et al*, *J. Leukoc. Biol.* 2007;81:144-153) 및 B 세포(Lim *et al*, *J. Immunology* 2005;175:4180-4183)의 기능을 억제할 수 있다. 종합하면, 이들 연구는 종양 면역병리학에서의 Treg-세포의 중

요한 역할을 시사하고, Treg-세포 빈도와 종양 성장간의 밀접한 연관을 나타낸다.

[0015] Treg-세포는 천연의 $CD4^+CD25^+$ T 세포와 다양한 집단의 유도성/적응성 Treg-세포로 구분된다(Shevach, *Immunity* 2006;25:195-201, Bluestone *et al*, *Nat. Immunol.* 2005;6:345-352)(표 1). 마우스와 인간에서 $CD4^+$ T 세포의 약 5% 내지 10%가 천연의 Treg-세포이다(Sakaguchi *et al*, *Nat. Immunology* 2005;6:345-352). 천연의 Treg-세포는 자기 펩타이드와의 강력한 TCR 상호작용에 의해 흉선에서 발생하고(Picca *et al*, *Current Opinion in Immunology* 2005;17:131-136, Jordan *et al*, *Nature Immunology* 2001;2(4):301-306, Picca *et al*, *Immunological Reviews* 2006;212:74-85), 반면에 유도성 Treg-세포는 말초에서 비-조절 T 세포로부터 발생한다. 이러한 흉선외(extrathymic) 전환은 저용량 항원에의 지속적인 노출, 전신성 말초성 항원에의 노출 또는 $TGF\beta$ 에의 노출과 같은 특수한 면역학적 조건을 요한다(Shevach, *Immunity* 2006;25:195-201, Akbar *et al*, *Nat. Rev. Immunol.* 2007;7:231-237). Treg-세포는 하기 메커니즘 중 하나 또는 이들의 조합에 의해 그들의 억제력을 매개할 수 있다: i) 세포-세포 접촉 의존성 메커니즘, ii) IL-10 또는 $TGF\beta$ 같은 면역억제성 사이토카인의 분비를 통해, 또는 iii) 퍼포린-그랜자임(perforin-granzyme) 경로에 의한 표적 세포의 직접 살해(von Boehmer, *Nature Immunology* 2005;6(4):338-344).

[0016] 현재까지는, 인간 Treg-세포의 항원-특이성에 대하여 거의 알려진 바 없다. Wang 등은 암 환자에서 LAGE-1-특이적 $CD4^+CD25^+GITR^+$ 기능성 Treg-세포 클론의 동정을 보고하였다(Wang *et al*, *Immunity* 2004;20:107-118). Vence 등은 전이성 흑색종 환자의 말초혈에서 종양 항원-특이적 $CD4^+$ Treg-세포의 존재를 증명하였다(Vence *et al*, *PNAS* 2007;104(52):20884-20889). 이러한 Treg-세포는 TRP1, NY-ESO-1, gp100 및 서바이빈(survivin)을 포함하여 광범위의 종양 항원을 인식하였다. 또한, Vence 등은 최초로 NY-ESO-1 분자내 NY-ESO-1-특이적 Treg-세포 에피토프의 존재를 증명하고자 하였다. 더욱이, 흑색종 환자를 합성 펩타이드 또는 종양 용해물로 로딩된 수지상 세포로 백신접종하면 종양-특이적 $CD8^+$ T 세포의 팽창과 더불어 Treg-세포의 빈도 증가를 유도하는 것으로 나타났다(Chakraborty *et al*, *Hum. Immunology* 2004;65:794-802). 이러한 결과는 백신이 $CD8^+$ T 세포 에피토프뿐만 아니라 미확인 Treg-세포 에피토프를 포함하고, 이는 Treg-세포 T 세포 수용체(T Cell Receptor, TCR)를 통한 리간드-특이적 활성화에 의해 생체내에서 Treg-세포의 팽창을 초래한다는 가능성을 시사한다. Treg-세포는 TCR 인식/관여를 통한 항원-특이적 활성화를 요하지만, 항원-비-특이적 바이스탠더(bystander) 억제를 매개한다고 널리 받아들여지고 있다(Thorton & Shevach, *J. Immunology* 2000;164:183190). 또한, Li 등은 C형 간염 바이러스 코어 단백질 내 우성 Treg 에피토프의 존재가 감염 환자에서 HCV-특이적 Treg-세포를 자극하였다고 제시하였다(Li *et al*, *Immunol. Cell Biol.* 2007;85(3):197-204). 종합하면, 이들 연구는 HHD 트랜스제닉 마우스의 항-내피 DNA 작제물 C200Fc로의 면역화가 유의미한 Tie-2₁₋₁₉₆-특이적 항-종양 면역반응을 자극하는 데 실패했다는 최근의 발견, 및 C200Fc DNA 면역화에 앞서 (400 μ g PC61 모노클로날 항체의 투여에 의한) $CD4^+CD25^+$ Treg 세포의 고갈 후 HHD 마우스의 비장 세포로부터 Tie-2₁₋₁₉₆-특이적 IFN γ 분비 세포의 증가된 빈도(Middleton, PhD Thesis. University of Nottingham, November 2007)와 함께, DNA 백신내 Tie-2₁₋₁₉₆가 $CD8^+$ 에피토프뿐만 아니라 미확인 Treg-세포 에피토프도 포함함을 시사한다. 이는 세포-매개성 항-종양 면역반응을 억제하는 풍부한 항원-특이적 팽창된 Treg-세포로 인해 HHD 마우스에서 자기 항원 Tie-2에 대한 내성을 파괴하고 항-종양 면역성을 도출하는 데 실패한 이유를 설명해준다. 따라서, 이펙터 에피토프에 대한 면역반응을 지시하기 위한 T reg 에피토프의 발현 및 우세한 T reg 반응의 자극 방식에 실패하는 불활성 면역 담체로 T 이펙터 에피토프를 발현하는 장점이 있다.

[0017] 유리하게는, 본 발명의 핵산은 리더 서열과 같이, 발현된 폴리뉴클레오타이드를 분비되도록 하는 서열을 코딩하는 서열을 포함한다. 이에 따라 폴리뉴클레오타이드가 항원 제시 세포(APC)로 이송될 수 있게 된다. 해당 서열은 폴리뉴클레오타이드로 자연적으로 발현되는 리더 서열일 수 있거나 또는 면역글로불린 리더 서열과 같이 부가되는 이중 리더 서열일 수 있다. 후자는 폴리뉴클레오타이드가 막-결합 분자를 코딩하는 경우 특히 적합하다.

- [0018] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 비-특이적 프로모터, 및 면역글로불린 분자의 재조합 중쇄를 코딩하는 적어도 하나의 서열을 포함하는 핵산으로서, 상기 중쇄는 핵산이 발현될 때 중쇄가 그의 자연입체구조를 취할 수 없도록 그 안에 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 가지는 핵산이 제공된다.
- [0019] 본 발명의 이러한 양태의 핵산은 면역글로불린 분자의 재조합 중쇄를 코딩한다. 이러한 중쇄의 구조는 당업자에 공지되어 있으며, 일반적으로는 가변 영역과 불변 영역을 포함한다. 상기 중쇄는 항체로부터 유래할 수 있다. 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체일 수 있고, IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM일 수 있지만, IgG가 바람직하다. IgG 항체는 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4, 또는 마우스 IgG1, IgG2a, IgG2b 또는 IgG3와 같은 임의의 IgG 서브클래스일 수 있다. IgG 항체는 IgG2 Fc 결합 도메인을 갖는 인간 IgG1 항체일 수 있거나, 또는 IgG1 Fc 결합 도메인을 갖는 인간 IgG2 항체일 수 있다. 중쇄는 인간 항체의 불변 영역, 및 이중 T 세포 에피토프가 삽입되는 마우스 모노클로날 항체의 가변 또는 초가변(CDR) 영역을 가질 수 있다. 초가변 영역 이외의 가변 영역은 또한 인간 항체의 가변 영역으로부터 유도될 수 있다. 항체(즉, 중쇄 및 경쇄를 포함하는)에 적용할 경우, 항체는 인간화된다고 한다. 인간화된 항체의 제조방법은 당업계에 공지되어 있다. 방법은 예를 들면 Winter의 미국특허 제5,225,539호에 기재되어 있다. 마우스 초가변 영역 외측에 있는 중쇄의 가변 영역은 또한 마우스 모노클로날 항체로부터 유도될 수 있다. 이 경우에, 전체 가변 영역은 쥐 모노클로날 항체로부터 유도되고, 항체에 적용할 경우, 항체는 키메라화된다고 한다. 키메라화된 항체의 제조방법은 당업계에 공지되어 있다. 이러한 방법은 예를 들면 Boss(Celltech) 및 Cabilly(Genentech)의 미국특허에 기재된 것들을 포함한다. 또한, 미국특허 제 4,816,397호 및 제4,816,567호를 각각 참조한다.
- [0020] 특정 실시형태에서, 본 발명의 핵산은 면역글로불린 분자의 경쇄를 코딩하는 적어도 하나의 서열을 추가로 포함한다. 이와 달리, 면역글로불린 분자의 경쇄를 코딩하는 별도의 핵산이 제공될 수 있다. 상기 경쇄는 그 안에 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 가질 수 있다. T 세포 에피토프는 핵산이 발현될 때, 경쇄가 그의 자연입체구조를 취할 수 없도록 구성될 수 있다. 경쇄는 중쇄에 관하여 본원에서 기술한 특징을 가질 수 있다. 따라서, 본 발명은 또한 면역글로불린 분자의 재조합 경쇄를 코딩하는 핵산을 제공하며, 여기에서 경쇄는 핵산이 발현될 때, 경쇄가 그의 자연입체구조를 취할 수 없도록 그 안에 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 갖는다. 핵산은 비-특이적 프로모터를 포함할 수 있다. 이러한 핵산(들)은 항체와 같은 면역글로불린 분자를 코딩한다.
- [0021] *따라서, 본 발명의 추가 양태에 따르면, 비-특이적 프로모터, 및 재조합 면역글로불린 분자를 코딩하는 적어도 하나의 서열을 포함하는 핵산으로서, 상기 면역글로불린은 핵산이 발현될 때 면역글로불린 분자가 그의 자연입체구조를 취할 수 없도록 그 안에 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 갖는 핵산을 제공한다. 바람직하게는, 재조합 면역글로불린 분자, 및 전술한 바와 같은 중쇄 및 경쇄는 어떤 조절 T 세포 에피토프도 갖지 않는다.
- [0022] 본 발명은 또한 하기의 것들을 제공한다:
- [0023] - 본 발명의 핵산 및 애드ju반트(adjuvant)를 포함하는 백신;
- [0024] - 본 발명의 핵산 및 약학적으로 허용되는 담체, 부형제 또는 희석제를 포함하는 약학 조성물;
- [0025] - 의약에 사용하기 위한 본 발명의 핵산;
- [0026] - T 세포 에피토프(들) 중 적어도 하나에 대한 면역반응을 자극하기 위한 약물의 제조에 있어서, 본 발명 핵산의 용도;
- [0027] - T 세포 에피토프(들) 중 적어도 하나에 대한 면역반응을 자극하기 위한 본 발명의 핵산; 및
- [0028] - 면역반응을 필요로 하는 대상에 치료 유효량의 본 발명의 핵산을 투여하는 것을 포함하는, T 세포 에피토프에 대한 면역반응을 자극하는 방법.
- [0029] 놀랍게도, 본 발명자들은 인간 또는 비-인간 유래일 수 있고, 1차 항체 구조를 붕괴시키고, 폴딩을 억제하고/하거나 분비를 중쇄에 제한시키거나 또는 극소량의 무손상 항체를 분비하도록 가변 영역내에 클로닝된 소정의 T 세포 에피토프를 가지는, 모노클로날 항체와 같은, 항체가 강력한 헬퍼 및 항원-특이적 T 세포 반응을 자극함을 발견하였다. 또한, 본 발명자들은 이러한 효과가 그러한 항체의 중쇄를 코딩하는 핵산을 사용하여 달성될 수 있음을 발견하였다. T 세포 에피토프는 면역프로테아좀(immunoproteasome)에 의해 프로세싱되지만 파괴되지는 않

는 것으로 생각된다. 특정 실시형태에서, 본 발명은 T 세포 반응의 빈도와 친화력을 증대시키는 변성 면역글로불린 내에 소정의 T 세포 에피토프를 제시하는 DNA 백신을 제공한다. 본 발명의 핵산에 의해 코딩된 폴리펩타이드는 본원에서 면역체(immunobody)로 언급될 수 있다.

[0030] 면역글로불린 분자가 그의 자연입체구조를 취할 수 없도록 T 세포 에피토프가 삽입되는 면역글로불린 분자의 중쇄를 최소한 코딩하는 핵산에 의해 T 세포 에피토프에 대한 면역반응이 자극될 수 있다는 발견은 항체는 기능성 형태로 발현되어야만 한다고 교시하는 당업계에서의 예상과는 대치된다. 예를 들면, 상기에서 논의된 바와 같이, WO 96/19584는 핵산이 T 세포 에피토프가 항체의 CDR에 삽입되는 항체를 코딩하는 경우, 핵산은 기능성 항체를 코딩하여야만 한다고 교시하고 있다. 마찬가지로, EP0759944는 무손상 면역글로불린 단백질로서 분비되는 항체 분자내에 T 세포 에피토프를 편입시키는 방법을 기술하고 있다. 비록 미국특허 제7,067,110호는 항체와 항원의 융합 단백질에 의해 항원에 대해 면역반응을 도출시킬 수 있다고 개시하고 있지만, 항체는 면역글로불린 가변 영역이 결여된 것으로 개시하고 있다. 또한, 이러한 융합 단백질은 항원 내에 조절 T 세포 에피토프를 가질 것이다. 따라서, 비록 단백질이 항체 반응을 자극할 수는 있지만, 항원내 조절 T 세포 에피토프로 인해 고-친화력 T 세포 반응을 자극하지는 않을 것이다.

[0031] 전술한 바와 같이, WO 00/64488은 이중 T 세포 에피토프가 CDR에는 삽입되지만 이의 가변 영역에는 삽입되지 않은 키메라 항체를 코딩하는 핵산을 개시하고 있는데, 이러한 핵산은 B 세포에서의 발현을 지향한다. 본 발명의 핵산은 B 세포에서의 발현을 지향하지 않으며, 따라서 시험관내 또는 생체내에서 B 세포를 특이적으로 표적화하지 않을 것이다. 본 발명의 핵산은 수지상 세포를 포함한 항원 제시 세포에 의해 포획될 수 있고, 이에 따라 나이브 CTL 및 헬퍼 T 세포 반응을 프라이밍할 수 있고, 반면에 WO 00/64488에 기재된 백신은 단지 기존 T 세포 반응의 촉진이나 유용할 것이다.

[0032] 본 발명에 따른 핵산에 의해 유도된 반응의 기능적 친화력의 분석은 합성 펩타이드에 의한 면역화와 비교하여, 고-친화력 반응이 생성될 수 있음을 입증하였다. 이러한 결과는 또한 시험관내 및 생체내에서 종양 세포를 인식하고 살해하는 증대된 능력과 관련이 있다. 이러한 관찰 결과는 고-친화력 TRP2-특이적 CTL에 의해 좀더 양호한 항종양활성이 나타나는 다른 연구에서 서류화된 것에 필적한다(Zeh *et al*, *J Immunol* 1999;162:989-94, Harada *et al*, *Immunology* 2001;104: 67-74).

[0033] 본 발명의 핵산은 비-특이적 프로모터, 즉, 핵산의 발현을 촉진하겠지만 발현이 촉진되는 세포에 대해 특이성을 갖지 않는 프로모터를 갖는다. 바람직하게는 프로모터는 수지상 세포 및/또는 케라틴 세포에서 핵산의 발현을 유발한다. 적합한 프로모터의 예는 CMV 프로모터, SV40 프로모터, 및 당업자에게 공지된 기타 비-특이적 프로모터를 포함한다. 이와 달리, 본 발명의 핵산은 수지상 세포에서의 특이적 발현을 유도하는 프로모터(예를 들면, Cd11b 프로모터) 및 케라틴 세포에서의 특이적 발현을 유도하는 프로모터(예를 들면, MHCII 프로모터, Chin *et al*, 2001 *J. Immunol.* 167, 5549-5557)를 하나 또는 그 이상 가질 수 있다.

[0034] 본 발명의 특정 양태의 핵산은 면역글로불린 분자, 바람직하게는 항체의 주된 특징 모두, 즉, 가변 및 불변 영역을 포함하는 중/경쇄를 포함하는 항체를 코딩한다. 항체는 모노클로날 또는 폴리클로날 항체일 수 있고, IgA, IgD, IgE, IgG 또는 IgM일 수 있지만, IgG가 바람직하다. IgG 항체는 인간 IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4, 또는 마우스 IgG1, IgG2a, IgG2b 또는 IgG3와 같은 임의의 IgG 서브클래스일 수 있다. IgG 항체는 IgG2 Fc 결합 도메인을 갖는 인간 IgG1 항체일 수 있다. 항체는 인간 항체의 불변 영역, 및 이중 T 세포 에피토프가 삽입되는 마우스 모노클로날 항체의 가변 또는 초가변 영역을 가질 수 있다. 초가변 영역 이외의 가변 영역은 또한 인간 항체의 가변 영역으로부터 유도될 수 있다. 이러한 항체는 인간화된다고 말한다. 인간화된 항체의 제조방법은 당업계에 공지되어 있다. 방법은 예를 들면 Winter의 미국특허 제5,225,539호에 기재되어 있다. 마우스 초가변 영역 외측에 있는 항체의 가변 영역은 또한 마우스 모노클로날 항체로부터 유도될 수 있다. 이 경우에, 전체 가변 영역은 쥐 모노클로날 항체로부터 유도되고, 항체는 키메라화된다고 한다. 키메라화된 항체의 제조방법은 당업계에 공지되어 있다. 이러한 방법은 예를 들면 Boss(Celltech) 및 Cabilly(Genentech)의 미국특허에 기재된

것들을 포함한다. 또한, 미국특허 제4,816,397호 및 제4,816,567호를 각각 참조한다.

[0035] 본 발명의 특정 양태의 핵산은 이로부터 발현된 중쇄, 경쇄 또는 면역글로불린 분자가 그 안에 적어도 하나의 이중 T 세포 에피토프를 가져서 중쇄, 경쇄 또는 면역글로불린 분자는 그의 자연입체구조를 취할 수 없게 구성된다. T 세포 에피토프는 발현된 단백질을 붕괴시킬 수 있어서, 중쇄 또는 면역글로불린 분자는 더 이상 그의 항원에 결합할 수 없고, 중/경쇄(존재할 경우)는 더 이상 회합될 수 없으며, 또는 중쇄 또는 면역글로불린 분자는 예를 들면 적절히 분비될 수 없다. 다이설파이드 결합의 형성을 방지할 수 있는 붕괴는 면역글로불린 분자의 3차 구조에서 일어날 수 있다.

[0036] 이하에서 좀더 상세히 논의되는 바와 같이, 면역글로불린 분자가 항체인 경우, T 세포 에피토프(들)은 항체의 CDR1 및 CDR2 영역 중으로 삽입되거나 그들을 치환할 수 있다. CDR1 및 CDR2는 항체 β 시트 구조의 일부를 형성하고, 폴딩된 분자내에 부분적으로 침지된다. 그들의 길이, 아미노산 조성 또는 전하의 변화는 이러한 구조를 붕괴시키고, 중/경쇄 폴딩과 회합을 방지할 것이다. CDRH3는 면역글로불린 분자의 표면에 노출되고 따라서 변화에 더 허용가능하다. 본 발명에서는, CDR1 및/또는 CDR2는 T 세포 에피토프(들)로 치환되는 것이 바람직하다. 사실, 특정 실시형태에서, CDRH 연결부에서 프레임워크 영역의 손실은 항체 폴딩을 완전히 붕괴시키지만, 이들 영역에 에피토프의 삽입은 양호한 T 세포 반응을 부여한다. CDRH1(5 아미노산 길이) 또는 CDRH2(17 아미노산 길이)내에 임의 에피토프의 편입은 경쇄가 그의 천연 서열을 가지더라도 중쇄의 분비를 허용할 정도로 충분한 붕괴를 일으키지만 무손상 항체는 극소량만이 분비된다. 이러한 결과는 2차 구조가 중/경쇄 짝짓기에 중요함을 보여준다. 경쇄의 CDRL1 내에 임의 에피토프의 편입은 중쇄의 CDRH3 중으로 편입된 단일 에피토프만이 존재하더라도 경쇄의 낮은 수준의 분비를 초래한다.

[0037] "이중 T 세포 에피토프"란 항체에 이중인 T 세포 에피토프를 의미하는 것으로 의도된다. 예를 들면, 이중 T 세포 에피토프는 항체에 이전에는 존재하지 않았던 것일 수 있다. 이중 T 세포 에피토프는 전체로서 삽입될 수 있지만, 제 2 부분의 플랭킹 아미노산과 함께, 삽입된 아미노산 서열로부터 만들어질 수 있다. 이는 삽입된 에피토프가 오리지널 항원으로부터 기원하는 것처럼 이중 핵산에서 유사한 프로세싱 프로파일을 갖도록 보장하기 위한 것이다. 하나 또는 그 이상의 CTL/헬퍼 에피토프가 동일한 가변 영역내에 삽입될 수 있다.

[0038] T 세포 에피토프(들)은 중쇄 또는 경쇄 어느 곳에나 삽입될 수 있다. 그 또는 각각의 에피토프는 중쇄 및/또는 경쇄의 가변 영역에 삽입되는 것이 바람직하지만, 중쇄 및/또는 경쇄의 불변 영역에, 또는 불변 영역과 가변 영역에 삽입된 중쇄를 코딩하는 핵산 또는 T 세포 에피토프를 갖는 항체도 본 발명에 포함된다. 본 발명의 핵산에서, T 세포 에피토프를 코딩하는 서열(들)은 중쇄 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열 중으로 삽입(즉, 첨가)될 수 있거나, 또는 중쇄 및/또는 경쇄를 코딩하는 서열 중으로 치환될 수 있다.

[0039] 가변 영역에서, T 세포 에피토프(들)은 중쇄 및/또는 경쇄, 즉, L1, L2, L3, H1, H2, 또는 H3의 임의의 하나 또는 그 이상의 CDR에 삽입되거나 이를 치환시킬 수 있다. 이들 중에서, L1, H1 및 H2가 일반적으로 바람직하다. 특정 실시형태에서, T 세포 에피토프는 CDRL1 및/또는 H1 및/또는 H2에 삽입되거나 이들을 치환시킨다. 바람직하게는, 편입된 T 세포 에피토프 항체의 오리지널 CDR의 아미노산과 유사한 크기 및 전하를 갖지 않으므로 항체는 그의 자연입체구조를 취하지 않으며, 예를 들면, 올바르게 폴딩되지 않고 분비되지 않는다. 이와 달리 또는 부가적으로, 이들은 CDR 주변의 프레임워크 영역에 삽입되거나 이를 치환할 수 있다.

[0040] 삽입된 T 세포 에피토프는 바람직하게는 세포독성 T 세포(CTL 또는 CD8) 에피토프이다. 이와 달리 또는 부가적으로, 헬퍼 T 세포(CD4) 에피토프가 삽입될 수 있다. T 세포 에피토프는 공지된 T 세포 알고리즘을 이용하여 예측될 수 있거나 또는 펩타이드로서 합성된 다음 표준 T 세포 분석법을 이용하여 스크리닝될 수 있다. T 세포 에피토프는 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 또는 30개의 아미노산과 같이, 5 내지 50, 7 내지 40, 8 내지 30 또는 9 내지 20 아미노산 범위의 아미노산 길이를 가질 수 있다. 에피토프는 항원 에피토프를 코딩하는 상보성 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 삽입시킬 수 있으며, 이

들은 어닐링된 다음 CDR(또는 다른 영역)이 고유 제한 효소 부위로 치환되는 항체 프레임워크의 특정 부위로 클로닝된다. 재조합 항체의 헬퍼 및 세포독성 T 세포 반응 자극 능력은 본원에 예시된 바와 같이 스크리닝될 수 있다.

[0041] 본 발명에서는 다양한 조합이 가능하다. 특정 실시형태에서, 하나 또는 복수의 CD8 에피토프가 중쇄 또는 항체의 CDR H1 및/또는 H2에, 또는 비-CDR 가변 영역에 삽입되고/되거나 이들을 치환한다. 부가적으로 또는 이와 달리, 하나 또는 복수의 CD4 에피토프가 경쇄 또는 항체의 CDR L1에, 또는 비-CDR 가변 영역에 삽입되고/되거나 이들을 치환할 수 있다. 복수의 T 세포 에피토프가 존재하는 경우, T 세포 에피토프는 동일하거나 상이할 수 있다. 당업자는 하기의 것들을 포함하여 다양한 조합이 가능함을 인지할 것이다:

[0042] - CDR H1 중의 CD8 에피토프, 및 CDR L1 중의 CD4 에피토프;

[0043] - CDR H2 중의 CD8 에피토프, 및 CDR L1 중의 CD4 에피토프;

[0044] - CDR H1 및 CDR H2 중의 CD8 에피토프, 및 CDR L1 중의 CD4 에피토프;

[0045] - CDR H1 중의 2개의 CD8 에피토프, 및 CDR L1 중의 CD4 에피토프;

[0046] - CDR H2 중의 2개의 CD8 에피토프, 및 CDR L1 중의 CD4 에피토프; 등.

[0047] 본 발명의 핵산은 클래스 I 및 클래스 II MHC 분자 모두의 대부분에 결합할 수 있는 단일 표적 항원으로부터의 복수의 T 세포 에피토프를 편입시킬 수 있다. 이에 따라 광범위한 집단 백신접종에 사용될 수 있는 백신을 생성할 수 있다. 이와 달리, 본 발명에 유용한 핵산은 가장 보편적인 클래스 I 및 클래스 II 표현형에 결합할 수 있는 복수 표적 항원으로부터의 복수의 T 세포 에피토프를 편입시킬 수 있다. 이에 따라 항원 손실 변이체의 도태를 방지할 수 있는 백신이 생성될 수 있다. 표적 항원은 단일 병원체 또는 종양 타입으로부터 유래할 수 있거나 또는 각종 병원체 또는 암에 대하여 면역반응을 부여하도록 선택될 수 있다. 특정의 공통 HLA 표현형을 표적화하는 본 발명에 유용한 핵산은 광범위의 각종 암 및/또는 병원체로부터의 다수의 T 세포 에피토프를 편입시킬 수 있으며, 이에 따라 질환 예방을 위한 단일 백신이 제공된다.

[0048] 임의의 T 세포 에피토프가 삽입될 수 있으며, 단 에피토프는 헬퍼 및/또는 세포독성 T 세포 반응을 자극한다. HIV, C형 간염 및 잠복감염 제거를 위해 CTL을 요구하는 기타 감염증과 같은 병원체로부터의 T 세포 에피토프가 사용될 수 있지만, 에피토프는 "자기-에피토프(self-epitope)", 즉, 암과 같은 세포 증식과 관련된 증상/이상과 연관된 에피토프인 것이 바람직하다. 바람직하게는, T 세포 에피토프는 중쇄 또는 항체가 올바르게 폴딩되고 분비될 수 있도록 구성된다. 따라서 삽입된 에피토프는 오리지널 가변 영역과는 유사한 크기와 아미노산 조성을 갖지 않는 것이 바람직하다. 핵산은 광범위의 각종 T 세포 반응을 생성하도록 복수의 상이한 T 세포 에피토프를 가질 수 있다. 핵산은 단일 항원으로부터의 복수의 에피토프를 편입시킬 수 있으며, 이에 따라 상이한 HLA 타입을 갖는 개체의 대다수가 단일 백신에 반응하도록 보장된다. 이와 달리, HLA 타입의 제한된 스펙트럼을 표적화하는 다중 항원으로부터의 다중 T 세포 에피토프가 사용될 수도 있다. 본 발명의 핵산 분자는 단일 병원체 또는 암 종류로부터 유래하는 다양한 항원을 포함할 수 있거나, 이들은 광범위의 고형 종양 또는 병원체를 표적화하는 이중 항원을 포함할 수 있다. 본 발명의 핵산 분자는 심지어는 종양 상피 및 내피 항원과 같이, 종양내 상이한 T 세포 집단을 표적화하도록 디자인될 수 있다.

[0049] 놀랍게도, 본 발명자들은 T 세포 에피토프가 중쇄의 구조적으로 제한된 CDR 또는 비-CDR 영역 중으로 삽입되었을 때, 이들이 우수한 CTL 반응을 부여함을 발견하였다. 이러한 현상은 다량의 중쇄 분비로 인한 것으로 보이는데, 그들의 가변 영역 중으로 부피가 큰 에피토프의 삽입에 기인하여 경쇄와는 단지 미약하게 연관될 수 있다. 이는 "항원 제시 세포에 의해 내생적으로 합성된 단백질만이 MHC 클래스 I 분자상에 제시되고 CTL에 의해 인식된다"고 서술하고 있는 도그마(WO 96/19584)와는 상치된다. 외생성 항원의 흡수 및 MHC 클래스 I 상의 제시는 교차 제시로서 알려져 있는 과정이며, 통상적으로 특정 수용체를 통한 흡수를 요구한다. 이는 인간 Fcγ1 항체에 대한 CD64 수용체일 수 있다. 그러나, 다량의 무손상 항체 또는 항원-항체 복합체가 상기 수용체 표적화에 좀더 양호할 것으로 예측된다. 이와는 상반되게, 본원에서 제시되는 결과는 CD64에 결합하지 않는, 매우 낮은

수준의 무손상 항체 및 다량의 유리(free) 중쇄가 우수한 CTL 반응을 부여함을 명백히 보여준다. 실제로 본원에 서는, CD64 결합 영역이 IgG2로부터의 비-CD64 결합 영역으로 치환된 IgG2 항체 또는 IgG1 분자와 같은, CTL 에피토프가 CD64에 결합할 수 없는 항체에 삽입될 경우, 반응이 자극될 수 있음을 보여준다.

[0050]

중쇄를 코딩하는 핵산은 바람직하게는 중쇄가 분비되도록 하는 리더 서열을 포함한다. 본 발명자들은 중쇄의 리더 서열을 제거하여 분비를 막고 더 많은 내생성 단백질이 생성되도록 하면, CTL 반응을 감소시킴을 발견하였다. 이러한 발견은 예상과는 완전히 상치된다. 이론에 구애되는 것을 원치 않지만, 본 발명자들은 이러한 결과는 핵산이 비-항원 제시 세포에서 발현되고, 이들 세포는 높은 수준의 중쇄 및 소량의 천연 단백질을 분비한 다음 항원 제시 세포에 의해 포획될 수 있음을 내포하는 것으로 생각한다. 이와 달리, 핵산은 동일한 또는 인접하는 항원 제시 세포에 의해 포획되고 나이트 CTL에 대한 MHC 클래스 I상에 제시되는 다량의 중쇄 및 소량의 천연 단백질을 분비하는 장소인 배수 림프절로 이동하는 항원 제시 세포를 직접 형질감염시킬 수 있다. 따라서, 핵산 백신이 효율적인 CTL 반응을 자극하기 위해서는, 바람직하게는 매우 낮은 수준으로 분비되고/되거나 동시에 다량의 변성 단백질을 분비하는 단백질내 CTL 에피토프를 코딩하여야 한다. 그러나, CTL 반응은 헬퍼 반응의 부재하에서는 고-친화성 메모리 반응으로 성숙될 수 없다. 따라서, T 헬퍼 에피토프를 중쇄 또는 면역글로불린 분자 중으로, 바람직하게는 항체 경쇄의 가변 영역 중으로 삽입시키는 것이 바람직하다. 또한, 놀랍게도 그리고 "표적 세포에 의해 외생적으로 포획된 단백질만이 MHC 클래스 II 분자에 의해 제시되고 헬퍼 T 세포에 의해 인식된다"고 서술하고 있는 도그마와 상반되게, 경쇄는 단지 극소량으로 분비되었다. 경쇄 분비 방지를 위한 리더 서열의 제거는 헬퍼 반응에는 영향을 주지 않았다. 따라서, 본 발명의 핵산은 항체의 경쇄를 위한 리더 서열을 가질 수도 있고 갖지 않을 수도 있다. 이러한 결과는 핵산이 내생적으로 합성된 단백질로부터 아마도 자가포식 작용에 의해 MHC 클래스 II에 관해서 T 헬퍼 에피토프를 제시하는 항원 제시 세포에 의해 포획됨을 암시한다. 헬퍼 T 세포가 CTL 반응을 돕기 위해서는, 이들이 인식하는 T 세포 에피토프 양방 모두가 연관 T 세포 조력작용(linked T-cell help)으로 알려져 있는 과정으로 동일 항원 제시 세포상에 제시되어야 한다. 이는 핵산에 의해 코딩된 경쇄를 합성하는 항원 제시 세포가 또한 CTL 에피토프 자체를 합성, 분비 및 교차 제시하거나, 또는 인접하는 APC로부터 중쇄를 포획하여야 함을 내포한다.

[0051]

본 발명은 또한 내생적으로 생성된 경쇄로부터의 이중 헬퍼 T 세포 에피토프 및 교차 제시된 중쇄로부터의 이중 CTL 에피토프를 MHC 클래스 II상에 제시하는 단리된 수지상 세포를 제공한다. 이러한 수지상 세포는 본원 기재의 치료요법에 사용될 수 있다.

[0052]

본 발명의 핵산은 T 세포 반응의 빈도와 친화력 모두의 증가를 유도하는 변성 항체를 코딩함으로써 기존 T 세포 에피토프를 더욱 면역원성이 되게 할 수 있다.

[0053]

본 발명의 핵산은 클로닝에 의해 수득되거나 또는 화학적 합성에 의해 전부 또는 부분적으로 생성되는, DNA, cDNA, 또는 mRNA와 같은 RNA일 수 있다. 치료적 사용을 위해서는, 핵산은 바람직하게는 치료 대상에서 발현될 수 있는 형태로 존재한다.

[0054]

본 발명의 핵산은 재조합될 수 있거나 또는 단리 및/또는 정제된 형태의 단리체로서 제공될 수 있다. 가능하게는 발현을 위한 하나 이상의 조절 서열(들)을 제외하고는, 인간 게놈에서 유전자를 플랜킹하는 핵산을 포함하지 않거나 실질적으로 포함하지 않을 수 있다. 본 발명에 따른 핵산이 RNA를 포함하는 경우, 본원에 나타난 서열에 대한 언급은 T가 U로 치환된 RNA 등가물을 의미하는 것으로 해석되어야 한다.

[0055]

본 발명의 핵산은 핵산 서열 및 클론이 이용 가능하다면, 예를 들면 본원에 제시된 정보와 참조문헌 및 당업계 공지 기술(예를 들면, 하기 문헌 참조: Sambrook, Fritsch and Maniatis, "Molecular Cloning", A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, and Ausubel *et al*, Short Protocols in Molecular Biology, John Wiley and Sons, 1992)을 이용하여 당업자에 의해 용이하게 제조될 수 있다. 이러한 기술은 (i) 예를 들면, 게놈 공급원으로부터 그러한 핵산의 샘플을 증폭하기 위한 폴리머라제 연쇄 반응(Polymerase Chain

Reaction, PCR)의 이용, (ii) 화학적 합성, 또는 (iii) cDNA 서열의 제조를 포함한다. 폴리펩타이드를 코딩하는 DNA는 코딩 DNA를 취하고, 발현시킬 부분의 어느 일측의 적합한 제한 효소 인식 부위를 동정하고, DNA로부터 상기 부분을 절단하는 단계를 포함하는 임의의 적당한 방법으로 생성되고 사용될 수 있다. 이어서 그 부분은 표준 시판 발현 시스템에서 적합한 프로모터에 작동적으로 연결시킬 수 있다. 또 다른 재조합 접근법은 적합한 PCR 프라이머를 갖는 DNA의 적정 부분을 증폭시키는 것이다. 변형 펩타이드의 발현을 유도하거나 핵산의 발현에 사용된 숙주 세포에서의 코돈 선택을 고려에 넣기 위하여, 예를 들면 부위 특이적 돌연변이 유발을 이용하여 서열에 변형을 가할 수 있다.

[0056] 핵산 서열의 발현을 달성하기 위하여, 핵산에 작동적으로 연결된 하나 또는 그 이상의 조절 서열을 갖는 벡터 중으로 서열을 편입시켜서 발현 조절을 할 수 있다. 벡터는 삽입된 핵산의 발현을 구동하기 위한 프로모터 또는 인핸서, 폴리펩타이드가 융합체로서 생성되도록 하는 핵산 서열 및/또는 숙주 세포에서 생성된 폴리펩타이드가 세포로부터 분비되도록 하는 분비 시그널을 코딩하는 핵산과 같은 다른 서열을 포함할 수 있다. 필요에 따라, 이어서 폴리펩타이드를 벡터가 기능할 수 있는 숙주 세포 중으로 벡터를 형질전환시키고 폴리펩타이드가 생성되도록 숙주 세포를 배양한 다음, 폴리펩타이드를 숙주 세포 또는 주위 배지로부터 회수함으로써 수득할 수 있다. 당업계에서는 이러한 목적을 위하여 이.콜라이 균주, 효모, 및 곤충 세포, 및 동물 세포, 예를 들면, COS, CHO 세포, Bowes 흑색종 및 기타 적합한 인간 세포와 같은 진핵 세포를 포함한 원핵 및 진핵 세포가 사용된다. 본 발명이 항체의 중/경쇄를 코딩하는 핵산(들)에 관한 것일 경우, 각각의 핵산은 동일하거나 상이한 프로모터에 의해 구동되는 동일한 발현벡터에, 또는 분리된 발현벡터에 존재할 수 있다.

[0057] 본 발명의 핵산은 인간을 포함한 포유류와 같은 환자에서 T 세포 에피토프(들) 중 적어도 하나에 대하여 면역반응을 자극하는 데 사용할 수 있다. 헬퍼 및/또는 세포독성 T 세포 반응을 자극할 수 있다. 본 발명에 의해 수득된 특정 에피토프에 대한 T 세포 반응은 단순 펩타이드로서 동일한 에피토프로 면역화하여 수득한 것, 또는 펩타이드 또는 핵산으로서 항원내에 코딩된 동일 에피토프로 면역화하여 수득된 것보다 높은 친화력을 가질 수 있다. 본 발명의 핵산은 병용 요법으로서, 즉 경쇄-코딩 핵산 및 중쇄-코딩 핵산을 투여할 수 있다. 상기 핵산을 정맥내, 피내, 근육 내, 경구 또는 기타 경로로 투여할 수 있다. 피내 또는 근육 내 투여가 바람직하네, 그 이유는 이들 조직은 수지상 세포를 포함하고 있기 때문이다.

[0058] 본원에서 사용되는 용어 "치료"란 인간 또는 비-인간 동물에 유익할 수 있는 임의의 체제를 포함한다. 치료 대상은 선천적 또는 후천적 질환일 수 있다. 바람직하게는, 치료는 암과 같이 세포 증식과 관련된 증상/이상 또는 감염성 질환이 대상이 된다. 핵산으로 치료될 수 있는 암 유형의 병원체는 고형 종양, 결장직장암, 폐, 유방, 위, 난소, 자궁, 간, 신장, 췌장, 흑색종, 방광, 두부 및 경부, 뇌, 식도, 췌장, 및 골 종양, 및 연부 조직 암, 및 백혈병을 포함한다. 핵산으로 치료될 수 있는 감염성 질환의 병원체는 HIV 감염, C형 간염, 또는 만성 제거를 위해 T 세포 면역을 요하는 만성 감염증을 포함한다.

[0059] 핵산은 약학적으로 허용되는 담체 또는 담체와 병용될 수 있다. 이러한 담체로는 식염수, 완충 식염수, 텍스트로스, 리포솜, 물, 글리세롤, 에탄올 및 이들의 조합을 포함할 수 있지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0060] 애쥬번트(adjuvant)를 숙주 면역반응의 자극을 촉진하는 데 사용할 수 있으며, 수산화알루미늄, 라이소레시틴(lyssolecithin), 플루로닉(pluronic), 폴리올(polyols), 폴리아니온(polyanion), 펩타이드, 단백질 및 오일 에멀션을 포함할 수 있다.

[0061] 본 발명에 유용한 핵산을 약학 조성물로 조제할 수 있다. 이들 조성물은 상기 물질 중 1종 이외에도, 약학적으로 허용되는 부형제, 담체, 완충제, 안정화제 또는 당업자에게 익히 공지되어 있는 기타 물질을 포함할 수 있다. 이러한 물질은 무독성이고, 활성 성분의 효능을 방해하지 않아야 한다. 담체 또는 기타 물질의 정확한 특성은 투여 경로, 예를 들면, 피내, 경구, 정맥내, 피부 또는 피하, 비강, 근육내, 복강내 경로에 좌우될 수 있다. 제형은 바람직하게는 현미경적 사이즈 급 입자의 표면에 침전되고 유전자 총을 통한 주사용으로 적합한

안정한 건조 분말로서의 핵산이다. 제형은 전기천공법을 이용한 피내 또는 근육내 투여에 적합할 수 있다.

- [0062] 핵산을 포함하는, 또는 핵산의 전달을 위한 조성물은 바람직하게는 개체에 유익함을 나타내기에 충분한 "치료 유효량"으로 개체에 투여된다. 투여되는 실제량, 및 투여 속도와 타임 코스는 치료되는 질병의 특성과 중증도에 좌우될 것이다. 치료의 처방, 예를 들면, 용량 등에 대한 결정은 일반개업의 및 기타 의사의 책임하에 있으며, 통상적으로 치료하고자 하는 질병, 개별 환자의 컨디션, 전달 부위, 투여 방법 및 개업의에게 알려져 있는 기타 요인을 고려에 넣는다. 본 발명의 핵산은 기존 암의 치료 및 초기 치료 또는 수술 후 암의 재발 방지에 특히 적절하다. 전술한 기술 및 프로토콜의 예는 문헌[참조: Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition, Oslo, A. (ed), 1980]에서 찾을 수 있다.
- [0063] 바람직하게는, 본 발명의 핵산은 인간에 유효량으로 투여될 때 종양 세포의 성장을 현저히 억제할 수 있는 헬퍼 및/또는 세포독성 T 세포를 자극한다. 최적 용량은 예를 들면, 연령, 성별, 체중, 치료되는 증상의 중증도, 투여되는 활성 성분 및 투여 경로를 포함한 다수의 파라미터에 근거하여 의사가 결정할 수 있다. 예를 들면, 헬퍼 및 세포독성 T 세포 반응 모두를 자극하는 데에는 1 내지 1000 μ g 용량의 DNA이면 충분하다.
- [0064] 본 발명의 핵산을 부가적인 약학적으로 허용되는 성분과 함께 투여할 수 있다. 이러한 성분으로는 예를 들면 면역 시스템 자극제가 포함된다.
- [0065] 조성물을 단독으로 또는 다른 치료제와 병용하여, 치료될 증상에 따라 동시에 또는 순차적으로 투여할 수 있다. 다른 암 치료제로는 다른 모노클로날 항체, 다른 화학요법제, 다른 방사선요법 기술 또는 당업계에 공지된 다른 면역요법이 포함된다. 본 발명 조성물의 하나의 특별한 적용은 수술에 대한 보조 수단으로서, 즉 종양 제거 후 암의 재발 위험을 감소시키는 데 도움을 주기 위한 것이다.
- [0066] 주사(id)는 본 발명 핵산의 치료적 투여를 위한 1차 경로일 수 있다.
- [0067] 핵산은 종양 부위 또는 기타 목적하는 부위에 국소적인 방식으로 투여될 수 있거나, 종양 또는 다른 세포를 표적화하는 방식으로 전달될 수 있다.
- [0068] 핵산의 복용량은 충분히 의사의 역량 안에 들어오는, 사용되는 제제의 특성, 예를 들면, 그의 결합 활성 및 생체내 혈중농도반감기, 제형내 폴리펩타이드 농도, 투여 경로, 투여 부위 및 속도, 관련 환자의 임상적 내성, 환자가 앓고 있는 병리상태 등에 좌우될 것이다. 예를 들면, 환자당 1회 투여당 100 μ g의 핵산 복용량이 바람직하지만, 복용량은 매회 투여당 약 10 μ g 내지 1mg 범위일 수 있다. 일련의 순차적인 접종 동안 상이한 복용량이 사용된다; 개업의는 초기 접종을 투여한 다음, 상대적으로 좀더 적은 복용량의 핵산으로 부스팅할 수 있다.
- [0069] 특정의 다른 실시형태에서, 본 발명은 표적 항원으로부터의 T 세포 에피토프를 항체의 가변 영역 중으로 공학처리하는 방법 및 헬퍼 및 세포독성 T 세포 반응 모두를 자극하기 위한 백신으로서 상기 공학처리된 항체의 용도에 관한 것이다.
- [0070] 본 발명의 다른 양태는 본원에 개시되는 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 본 발명의 핵산은 숙주 세포의 게놈(예를 들면, 염색체) 중으로 통합될 수 있다. 통합은 표준 기술에 따라 게놈과의 재조합을 촉진하는 서열을 포함시킴으로써 촉진될 수 있다. 핵산은 세포 내 염색체외(extra-chromosomal) 벡터상에 존재할 수 있거나, 또는 세포에 대해 동정가능하게 이중일 수 있다.

- [0071] 본 발명의 또 다른 양태는 본 발명의 핵산을 숙주 세포 중으로 도입하는 것을 포함하는 방법을 제공한다. 도입은 (특히 시험관내 도입의 경우) 일반적으로 제한 없이 "형질전환"을 의미할 수 있으며, 임의의 이용가능한 기술을 활용할 수 있다. 진핵 세포의 경우, 적합한 기술로는 인산칼슘 형질감염, DEAE-텍스트란, 전기천공법, 리포좀-매개성 형질감염 및 레트로바이러스 또는 기타 바이러스, 예를 들면, 백시니아 또는, 곤충 세포의 경우, 배콜로바이러스를 이용한 형질도입이 포함될 수 있다.
- [0072] 박테리아 세포의 경우, 적합한 기술로는 염화칼슘 형질전환, 전기천공법 및 박테리오파지를 이용한 형질감염이 포함될 수 있다. 대안으로는, 핵산의 직접 주사가 이용될 수 있다.
- [0073] 당업계에 익히 알려져 있는 바와 같이, 항생제 내성 또는 감수성 유전자와 같은 마커 유전자가 해당 핵산을 포함하는 클론의 동정에 사용될 수 있다.
- [0074] 도입 뒤에는, 예를 들면, 코딩된 폴리펩타이드(또는 펩타이드)가 생성되도록, 숙주 세포(심중팔구는 세포는 형질전환된 세포의 자손이었지만 실제로 형질전환된 세포를 포함할 수 있다)를 유전자의 발현을 위한 조건하에서 배양함으로써 핵산으로부터 발현을 유도하거나 허용할 수 있다. 폴리펩타이드가 적당한 시그널 리더 펩타이드와 커플링되어 발현될 경우, 폴리펩타이드는 세포로부터 배양 배지 중으로 분비될 수 있다. 발현에 의해 생성된 다음, 폴리펩타이드 또는 펩타이드는 경우에 따라 숙주 세포 및/또는 배양 배지로부터 단리 및/또는 정제될 수 있으며, 이어서 목적하는 대로, 예를 들면, 하나 또는 그 이상의 약학적으로 허용되는 부형제, 비히클 또는 담체 (예를 들면, 하기 참조)를 포함하는 약학 조성물과 같은, 하나 또는 그 이상의 부가적인 성분을 포함할 수 있는 조성물의 제형에 사용될 수 있다.
- [0075] 본 발명은 하기의 단계를 포함하는, 후보 항원 중의 T 세포 에피토프를 동정하는 방법을 제공한다:
- [0076] 비-인간 동물에서 T 조절 세포를 고갈시키는 단계;
- [0077] 비-인간 동물을 후보 항원으로 면역화시키는 단계; 및
- [0078] 후보 항원내 예상된 에피토프에 대한 펩타이드 또는 후보 항원내 모든 가능한 중첩 펩타이드에 대해 T 세포 반응이 도출되는지를 알아보기 위한 스크리닝 단계.
- [0079] 상기 방법은 마우스 또는 래트와 같은 비-인간 동물에서 수행될 수 있다. T 조절 세포는 임의로 Ontak과 같은 독소와 접합시킬 수 있는 항-CD25 항체를 사용하거나, T 조절 세포를 선택적으로 살해하는 사이클로포스파미드와 같은 화학요법에 의해 비-인간 동물에서 고갈시킬 수 있다. 일단 T 조절 세포가 고갈되면, 비-인간 동물은 후보 항원을 코딩하는 DNA로, 또는 후보 항원 자체로 면역화시킬 수 있다. 후보 항원은 항원-Fc 융합 단백질로서 제공되는 것이 바람직하다. 상기 스크리닝 단계에서, 비-인간 동물에서 임의의 T 세포 반응이 자극되는 펩타이드가 동정된다. 이러한 과정은 ELISPOT과 같은 기술을 이용하여 시험관 내에서 수행될 수 있다. T 세포 반응이 후보 에피토프에 대하여 도출되면, 이 에피토프는 비-인간 동물의 면역화에 사용될 수 있다. 이 펩타이드가 T 세포 반응을 도출하면, 친화력과 빈도는 본 발명에 따른 핵산 내에서 에피토프를 코딩함으로써 증강될 수 있다. 이러한 방법은 면역프로테아좀에 의해 프로세싱되는 T 세포 에피토프의 동정을 가능하게 해준다.
- [0080] 본 발명의 각 양태의 바람직한 특징은 다른 양태의 각각에 대하여 준용된다. 본원에서 언급되는 종래기술 문서는 법이 허용하는 최대 범위까지 편입된다.
- [0081] 이하, 본 발명을 하기 비-제한 실시예로 좀더 상세히 설명하기로 한다. 하기 도면을 참조한다:

도면의 간단한 설명

[0082]

도 1: 중쇄 벡터 pOrigHIB의 특징을 묘사하는 지도

항체 SC100의 야생형 면역제거 중쇄 가변 영역을 HindIII/AfeI을 사용하여 인간 IgG1 Fc 불변 영역과 인 프레임(in frame)으로 클로닝하였다. Fc 영역은 CH1, CH2, CH3 도메인 및 힌지 영역을 포함한다. 포유동물 세포에서의 높은 수준의 발현은 인간 사이토메갈로바이러스 즉시 초기 프로모터(cytomegalovirus immediate early promoter)로부터 구동된다. Orig HIB 인간 IgG1 체인의 하류에는 BGH 폴리아데닐화 시그널이 위치하여 mRNA 안정성 및 효과적인 종결을 보장한다. EM7는 이.콜라이에서 항생제 선별을 허용하는 제오신(zeocin) 내성 유전자의 발현을 조절하는 박테리아 프로모터이고, 반면에 내성 유전자의 상류에 위치하는 SV40 초기 프로모터는 포유동물 세포에서의 선별을 가능하게 해준다. zeo^r mRNA의 3' 말단의 적당한 프로세싱을 지시하기 위하여 내성 유전자의 하류에는 SV40 폴리아데닐화 시그널이 위치한다. 벡터는 또한 그의 골격 내에 박테리아에서의 증식을 위하여 ColE1 복제 기점을 포함한다. 상보성 결정 DNA 서열을 효과적으로 제거하였고, 제한 부위인 RE1, RE2 및 RE3(각각 *FspI*, *MscI* 및 *SrfI*)로 단독으로 및 조합하여 교체하였다.

도 2: 중쇄 벡터 pOrigLIB의 특징을 묘사하는 지도

항체 SC100의 야생형 면역제거 경쇄 가변 영역을 BamHI/BsiWI을 사용하여 인간 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝하였다. 포유동물 세포에서의 높은 수준의 발현은 인간 사이토메갈로바이러스 즉시 초기 프로모터로부터 구동된다. Orig LIB 체인의 하류에는 BGH 폴리아데닐화 시그널이 존재하여 mRNA 안정성 및 효과적인 종결을 보장한다. 벡터는 또한 ColE1 복제 기점 및 박테리아에서의 증식과 선별을 가능하게 하는 엠퍼실린에 대한 항생제 내성 유전자를 포함한다. 상보성 결정 영역을 효과적으로 제거하였고, 제한 부위 RE4, RE5 및 RE6(각각 *EcoRV*, *SspI* 및 *HpaI*)로 단독으로 및 조합하여 교체하였다.

도 3: 야생형 면역체 키메라 중쇄의 서열

전장 키메라 igG1 중쇄에 대한 뉴클레오타이드 및 번역시 아미노산 서열을 도시하였다. CDR의 위치를 카бат(Kabat) 넘버링법으로 정의한 박스 안에 나타냈다. 종결 코돈을 적색 별표로 표시하였다. 가변 중쇄 영역의 전달에 사용된 HindIII/AfeI 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 4: 야생형 면역체 키메라 카파 체인의 서열

전장 키메라 카파 체인에 대한 뉴클레오타이드 및 번역시 아미노산 서열을 도시하였다. CDR의 위치를 카бат 넘버링법으로 정의한 박스 안에 나타냈다. 종결 코돈을 별표로 표시하였다. 가변 경쇄 영역의 전달에 사용된 BamHI/BsiWI 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 5: 중첩 연장 PCR(Overlapping Extension PCR)

CDR를 제거하였고 중첩 PCR에 의해 고유 제한 부위로 치환하였다. 정방향 프라이머 H1, H2, H3, L1, L2 및 L3(표 2)를 디자인하여 중/경쇄 가변 영역내 CDR1, 2 및 3를 각각 치환하였다. 각각의 프라이머는 중앙에 위치한, 제거될 CDR 서열이 결여되고 야생형 서열의 10-20 bp로 플랭킹되는 선택된 고유 효소 인식 서열(녹색 부분)을 포함하였다. 정방향 프라이머는 각각 야생형 작제물 pOrigHIB 및 pOrigLIB내 인간 중쇄 및 경쇄 불변 도메인과 어닐링되는 범용 역방향 프라이머 huHeClonR 또는 huLiClonR(표 2)와 함께 PCR의 제 1 라운드에 사용하였다. 생성된 단편은 야생형 CDR 서열(적색 부분)을 포함하지는 않지만, 제한 부위와 효과적으로 교체된다. 전체 가변 중쇄 및 경쇄 영역을 증폭하기 위하여, 단일 플라스미드내 CMV 프로모터와 어닐링되는 범용 CMV 정방향 프라이머를 갖는 역방향 프라이머로서 제 1 라운드로부터 생성된 PCR 산물을 사용하는 PCR의 제 2 라운드가 요구된다. 제 2 라운드 PCR 산물을 pCR2.1(Invitrogen)에 서브클로닝하고, 서열 확인 후, H1, H2, H3, L1, L2 및 L3 버전을 단독으로, 조합하여 및 함께 포함하는 중쇄/경쇄(VH 및 VL) 가변 영역을 단일 작제물 pOrigHIB 및 pOrigLIB에 다시 삽입하여, 각각 HindIII/AfeI 및 BamHI/BsiWI를 사용하여 야생형 영역을 교체하였다.

도 6: 면역체 중쇄 가변 영역의 서열

CDR이 이들의 상응하는 효소 부위 H1, H2 및 H3로 단독으로 또는 조합하여 및 함께 치환된 중쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 고유 제한 효소 부위는 강조 표시하였다. CDR1, 2 및 3를 *FspI*, *MscI* 및 *SrfI*로 각각 치환하였다.

도 7: 면역체 카파 체인 가변 영역의 서열

CDR이 이들의 상응하는 효소 부위 L1, L2 및 L3로 단독으로 또는 조합하여 및 함께 치환된 중쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 고유 제한 효소 부위는 강조 표시하였다. CDR1, 2 및 3을 *EcoRV*, *SspI* 및 *HpaI* 로 각각 치환하였다.

도 8: 이중 발현벡터(double expression vector) pDCOrig의 특징을 묘사하는 지도

일단 모든 에피토프가 단일 벡터내의 가변 중쇄 및 가변 경쇄 부위 중으로 편입되면, 이들은 그들의 각각의 인간 불변 영역과 인 프레임으로 강조 표시한 바와 같이 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI*를 사용하여 이중 발현벡터 중으로 전달된다. 중쇄의 Fc 영역은 CH1, CH2, CH3 도메인 및 힌지 영역을 포함한다. 포유동물 세포에서 중/경쇄 모두의 높은 수준의 발현은 인간 사이토메갈로바이러스 즉시 초기 프로모터로부터 구동된다. 양 도메인의 하류에는 BGH 폴리아데닐화 시그널이 위치하여 mRNA 안정성 및 효과적인 종결을 보장한다. EM7는 이.콜라이에서 항생제 선별을 가능하게 하는 zeocin 내성 유전자의 발현을 조절하는 박테리아 프로모터이고, 반면에 내성 유전자의 상류에 위치하는 SV40 초기 프로모터는 포유동물 세포에서의 선별을 가능하게 해준다. *zeo^r* mRNA의 3' 말단의 적당한 프로세싱을 지시하기 위하여 내성 유전자의 하류에는 SV40 폴리아데닐화 시그널이 위치한다. 벡터는 또한 그의 골격내에 박테리아에서의 증식을 위하여 *ColE1* 복제 기점을 포함한다.

도 9: FC 영역의 합성을 방지하는 종결 코돈을 포함하는 번역체 IB15 중쇄의 서열

키메라 중쇄, pDCOrig IB15 CH1 stop의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 종결 코돈을 별표로 표시한 바와 같이 인간 *igG1* Fc 불변 영역의 CH1 도메인 뒤에 부위-특이적 돌연변이유발에 의해 삽입하였다. 볼드체로 표시한 뉴클레오타이드 및 아미노산은 CH1 도메인을 나타낸다. 박스 안의 아미노산은 H1내 GP100210M 에피토프 (TIMDQVPFSV) 및 H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFVWL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 영역의 전달에 이용된 *HindIII/AfeI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 10: 리더를 갖지 않는 DCIB15 중쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열

리더는 리더를 갖지 않는 정방향 프라이머 pOrig heavy와, 인간 *IgG1* CH1 도메인에 결합하는 역방향 프라이머 huHeClonR(표 2)를 사용하여 PCR로 제거하였고, 중쇄 가변(V_H) 영역을 효과적으로 재증폭하였다. 서열 확인 후, 리더-결여 V_H 영역(V_H region minus leader)을 *HindIII/AfeI*을 사용하여 인간 *IgG1* 불변 영역과 인 프레임으로 이중 발현 작제물 DCIB15 중으로 다시 클로닝하였다. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프 (TIMDQVPFSV) 및 H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFVWL)를 나타낸다. 가변 중쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 제한 부위는 강조 표시하였다.

도 11: 리더를 갖지 않는 DCIB15 카파 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열

리더는 리더를 갖지 않는 정방향 프라이머 pOrig light와, 역방향 프라이머 huLiClonR(표 2)를 사용하여 PCR로 제거하였고 경쇄 가변(V_L) 영역을 재증폭하였다. 서열 확인 후, 리더-결여 V_L 영역을 *BamHI/BsiWI*을 사용하여 인간 카파 불변 영역과 인 프레임으로 이중 발현 작제물 DCIB15 중으로 다시 클로닝하였다. 박스 안의 아미노산은 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 가변 경쇄 영역의 전달에 사용된 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 12: 인간 *IgG2* 불변 영역의 서열

증폭된 중쇄 인간 *IgG2* 불변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 이중 발현벡터 DCIB15에서 huigG1 불변 영역의 전달 및 치환에 사용된 *AfeI* 및 *SapI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 13: 인간 *igG3* 불변 영역의 서열

증폭된 중쇄 인간 *igG2* 불변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 이중 발현벡터 DCIB15에서 huigG1 불변 영역의 전달 및 치환에 사용된 *AfeI* 및 *SapI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 14: 번역체 이중 발현벡터의 인간 아이소타입(isotype)

A. 이중 발현벡터 pDCOrigIB15 huigG2의 지도.

B. 이중 발현벡터 pDCOrigIB15 huigG3의 지도.

가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 15: G2 모티프를 포함하는 DCIB66 중쇄의 서열

키메라 중쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 고-친화성 Fc γ R1(CD64)과의 상호작용을 위한 결정적인 결합 모티프내 아미노산 E233 L234 L235를 박스 안에 볼드체로 강조 표시한 인간 igG2로부터의 P233 V234 A235로 치환하였다. 박스 안의 다른 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프(TIMDQVPFSV) 및 H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFVWL)를 나타낸다.

강조 표시한 *AgeI/AhdI* 부위를 pDCOrigIB15 huigG1 중으로의 치환-포함 섹션의 전달에 사용하였다. 가변 중쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 제한 부위를 볼드체로 나타내었다.

도 16: G1 결합 모티프를 포함하는 DCIB67 중쇄의 서열

키메라 중쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 인간 IgG2 불변 영역 내 아미노산 P233 V234 A235를 박스 안에 볼드체로 강조 표시한 인간 IgG1로부터의 고-친화성 Fc γ R1(CD64) E233 L234 L235 G236과의 상호작용을 위한 결정적인 결합 모티프로 치환하였다. 박스 안의 다른 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프(TIMDQVPFSV) 및 H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFVWL)를 나타낸다.

강조 표시한 *AgeI/AhdI* 부위를 pDCOrigIB15 huigG1 중으로의 치환-포함 섹션의 전달에 사용하였다. 가변 중쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 제한 부위를 볼드체로 나타내었다.

도 17: 쥐 IgG2a 번역체 발현벡터

(A) 단일 체인 pMoOrigHIB 벡터, (B) H1 내 GP100210M 에피토프(TIMDQVPFSV), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFVWL) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 포함하는 이중 발현벡터 DCIB53 및 (C) H1내 HLA-DR7 제한 gp100 CD4 에피토프(GTGRAMLGTHTMEVTYH), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFVWL) 및 H3 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프(WNRQLYPEWTEAQRDL)를 포함하는 이중 발현벡터 DCIB63의 지도. 사용된 제한 부위를 표시하였다.

도 18: 조절 컴플라이언트(compliant) 플라스미드 pVAXDCIB54의 작제를 묘사하는 개략도

단일 중쇄 벡터 pVaxIB54 HIB(A)를 *NruI*를 사용하여 선형화하였다. pOrigLIB(B)로부터의 경쇄 발현 카세트를 *NruI* 및 *HpaI*를 사용하여 절단한 다음, 선형화된 플라스미드에 클로닝하여 이중 발현벡터 pVaxDCIB54(C)를 생성하였다. 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 19: DCIB15의 서열

발현벡터 pDCOrig 내에 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 DCIB15 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프(TIMDQVPFSV), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFVWL) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 20: 번역체 작제물은 낮은 수준의 무손상 단백질을 생성한다

A. gp100/H1, TRP2/H2 및 HepB CD4/L1을 포함하는 번역체(DCIB15)로 형질감염된 CHO-S 세포의 상등액으로부터 샌드위치 ELISA에 의한 번역체 중쇄의 수준 정량. 상등액을 그대로 사용하여 매질에 1:3, 1:10 및 1:30으로 희석한 다음, 인간 IgG 양성 대조군과 비교하였다.

B. 양성 대조군과 비교한, gp100/H1, TRP2/H2 및 HepB help/L1를 포함하는 정제된 번역체(DCIB15)의 샌드위치 ELISA 분석.

C 및 D. CHO-S 형질감염체의 상등액으로부터 중쇄 및 무손상 번역체의 샌드위치 ELISA에 의한 발현 측정. 플레이트를 항-인간 Fc-특이적 항체로 코팅하였다. 중쇄를 검출하기 위하여, 항-인간 IgG Fc-특이적 HRP 항체를 사용하였고, 무손상 번역체를 검출하기 위하여, 항-인간 카파 체인-특이적 HRP 항체를 사용하였다. E. CHO-S 형질감염체의 상등액으로부터 중쇄, 경쇄 및 무손상 번역체(DCIB15, DCIB31, DCIB32, DCIB36, DCIB48, DCIB49, DCIB52, DCIB54)의 샌드위치 ELISA에 의한 측정. 플레이트를 항-인간 Fc-특이적 항체 또는 항-인간 카파 체인 항체로 코팅하였다. 중쇄를 검출하기 위하여, 항-인간 IgG Fc-특이적 HRP 항체를 항-인간 Fc-특이적 코팅 항체와 병용하였다. 무손상 번역체를 검출하기 위하여, 항-인간 카파 체인-특이적 HRP 항체를 항-인간 Fc-특이적 코팅 항체와 병용하였다. 경쇄를 검출하기 위하여, 항-인간 카파 체인-특이적 HRP 항체를 항-인간 카파 체인-특이적 항체와 병용하였다.

도 21: DCIB24의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H2 내 난알부민(ovalbumin) 에피토프(SIINFEKL) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 22: DCIB25의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프(TIMQVPFSV), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFWL) 및 L3 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 23: DCIB31의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H3 내 TRP2 에피토프(SVYDFFWL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 24: DCIB32의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H3 내 TRP2 에피토프(SVYDFFWL) 및 L3 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 25: DCIB36의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 L3 내 TRP2 에피토프(SVYDFFWL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 26: DCIB48의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFWL) 및 H3 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프(WNRQLYPEWTEAQRDL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 27: DCIB49의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H3 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 28: DCIB52의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFWL) 및 H3 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 29: DCIB54의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 HLA-DR7 제한 gp100 CD4 에피토프(GTGRAMLGHTMEVTVYH), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFWL) 및 H3 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프(WNRQLYPEWTEAQRDL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI*

및 *Bam*HI/*Bsi*WI 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 30: DCIB18의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFFVWL) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *Hind*III/*Afe*I 및 *Bam*HI/*Bsi*WI 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 31: 면역체 프레임워크(framework) 중으로 편집된 CTL 에피토프는 프로세싱되고 제시되어 생체 내에서 면역 반응을 도출한다.

A. C57Bl/6 마우스를 CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DFCIB18)로 0, 7, 및 14일째에 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드, HepB 헬퍼 펩타이드 및 배지 대조군에 대해 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. 면역화된 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 TRP2 에피토프에 대한 친화력을 분석하였다. 반응은 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정되고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

C. 면역화된 마우스로부터의 비장세포에서 CD8 T 세포를 고갈시키고, IFN γ ELISPOT 분석법으로 에피토프 특이적 반응에 관하여 TRP2 펩타이드, HepB 헬퍼 펩타이드 및 배지 대조군을 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

D. B16F10, B16F10 IFN α 및 B16F10 siKb 흑색종 세포주에 대해 6일간의 시험관내 TRP2 펩타이드 자극 후 행한 4시간 ⁵¹Cr-방출 분석에서 면역화된 마우스로부터의 비장세포의 세포독성

E. C57Bl/6 또는 HLA-DR4 트랜스제닉 마우스를 면역체 DNA(DCIB15, DCIB31, DCIB32, DCIB36, DCIB48, DCIB52 및 DCIB54)로 0, 7, 및 14일째에 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 TRP2 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

F. 면역화된 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 TRP2 에피토프에 대한 친화력을 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

G. C57Bl/6 또는 HLA-DR4 트랜스제닉 마우스를 면역체 DNA(DCIB15, DCIB48, DCIB49, DCIB52 및 DCIB54)로 0, 7, 및 14일째에 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 HepB 헬퍼 펩타이드(DCIB15, DCIB49 및 DCIB52) 또는 gp100DR4 헬퍼 펩타이드(DCIB48 및 DCIB54) 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

도 32: 면역체 DNA 면역화는 펩타이드 면역화 또는 완전 항원(whole antigen)으로의 면역화보다 우수하다.

A. 면역체 DNA 면역화(DCIB18)를 프로인트 불완전 애쥬번트(Incomplete Freund adjuvant)중의 펩타이드 에피토프로의 피하주사 면역화 또는 TRP2 항원을 발현하는 DNA로의 면역화와 비교하였다. C57Bl/6 마우스를 0, 7, 및 14일째에 면역화시켰고, 19일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드(■), HepB 헬퍼 펩타이드(▨) 및 배지 대조군(□)에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. 면역체 DNA(◇) 및 펩타이드(◆)-면역화 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 TRP2 에피토프에 대한 친화력을 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

C. B16F10(■), B16F10 IFN α (▨) 및 B16F10 siKb(□) 흑색종 세포주에 대해 6일간의 시험관내 TRP2 펩타이드 자극 후 행한 4시간 ⁵¹Cr-방출 분석에서 면역화된 마우스로부터의 비장세포의 세포독성

D. 면역체 DNA 면역화(DCIB18)를 TRP2 펩타이드-펄스(peptide-pulsed) DC로의 면역화와 비교하였다. C57Bl/6 마우스를 0, 7, 및 14일째에 면역화시키고, 19일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드의 적정량(titrating quantity)

에 대해 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

E. 면역체 DNA 면역화(DCIB18)를 TRP2 펩타이드-펄스 DC로의 면역화와 비교하였다. C57Bl/6 마우스를 0, 7, 및 14일째에 면역화시키고, 19일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드-펄스 LPS 블라스트(blast)로 시험관내에서 자극하였다. 자극 6일 후 CTL 세포주를 B16F10 또는 B16F10 siKb 흑색종 세포주 용해능에 대하여 크롬 방출 분석법으로 평가하였다. 반응을 % 세포독성으로서 측정한다.

F. 면역체 DNA 면역화(DCIB24)를 SIINFEKL 펩타이드로의 면역화와 비교하였다. C57Bl/6 마우스를 0, 7, 및 14일째에 면역화시키고, 19일째에 비장세포를 SIINFEKL 펩타이드 및 대조군 펩타이드에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 측정하였다. 반응은 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정된다.

G. 면역체 DNA 면역화(DCIB15)를 gp100 210M 펩타이드로의 면역화와 비교하였다. HHDII 마우스를 0, 7, 및 14일째에 면역화시키고, 19일째에 비장세포를 gp100 210M 펩타이드 및 대조군의 적정량에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로 측정한다.

H. 면역체 DNA 면역화(DCIB24)를 SIINFEKL 펩타이드로의 면역화와 비교하였다. C57Bl/6 마우스를 0, 7, 및 14일째에 면역화시키고, 19일째에 비장세포를 SIINFEKL 펩타이드의 적정량에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 측정하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

I. 면역체 DNA 면역화(DCIB15)를 gp100 210M 펩타이드로의 면역화와 비교하였다. HHDII 마우스를 0, 7, 및 14일째에 면역화시키고, 19일째에 비장세포를 gp100 210M 펩타이드의 적정량에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 측정하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

도 33: DCIB21의 서열

발현벡터 pDCOrig내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H2 내 HepB S Ag 에피토프(IPQSLDSWWTSL) 및 L1 내 I-Ad 제한 Flu HA CD4 에피토프(FERFEIFPKE)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 HindIII/AfeI 및 BamHI/BsiWI 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 34: 다중 에피토프가 CDR H2 부위로부터 프로세싱될 수 있다.

A. C57Bl/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR H2 내 SIINFEKL 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB24)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 SIINFEKL 펩타이드, 무관련(irrelevant) 펩타이드, HepB CD4 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 측정하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. Balb/c 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR H2 내 HepB CD8 에피토프 및 CDR L1 내 Flu HA CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB21)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 HepB CD8 펩타이드, 무관련 펩타이드, Flu HA CD4 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 측정하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

도 35: DCIB17의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프(TIMDQVPFSV) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 HindIII/AfeI 및 BamHI/BsiWI 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 36: DCIB26의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 Tie-2 Z84 에피토프(FLPATLTMV) 및 L1 내 HepB

CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 37: 다중 CTL 에피토프가 가변 영역으로부터 프로세싱될 수 있다.

A. HHDII 마우스를 0, 7 및 14일째에 프레임워크의 일부를 제거한 CDR H1 내 gp100 IMDQVPFSV 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB17)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 gp100 IMDQVPFSV 펩타이드, HepB CD4 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 측정하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. HHDII 마우스를 0, 7 및 14일째에 프레임워크의 일부를 제거한 CDR H1 내 Tie2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB26)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 Tie2 펩타이드, HepB CD4 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 측정하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

도 38: 다중 CTL 반응이 동일한 면역체 작제물내의 상이한 에피토프로부터 생성될 수 있다.

HLA-A2 제한 gp100 에피토프 IMDQVPFSV를 CDR H2 내 TRP2 에피토프 SVYDFVWL와 나란히 CDR H1 부위 중으로 공학처리하였으며, HepB CD4 에피토프는 CDR L1 부위에 존재하였다(DCIB15).

A. HHDII 마우스를 0, 7, 및 14일째에 면역체 DNA로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 gp100 펩타이드, TRP2 펩타이드, HepB 헬퍼 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. 면역화된 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 gp100 변형 IMDQVPFSV 에피토프(◆), gp100 wt ITDQVPFSV 에피토프(▲) 및 TRP2 에피토프(■)에 대한 친화력에 대하여 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

C. gp100 IMDQVPFSV 펩타이드, TRP2 펩타이드 또는 대조군으로 펄스처리된 T2 세포 및 B16F10 및 B16F10 HHD 흑색종 세포주에 대하여 수행한 4시간 ⁵¹Cr-방출 분석법에서의 면역화된 마우스로부터의 비장세포의 세포독성

D. HHDII 마우스를 0, 7, 및 14일째에 i) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA(DCIB15) 또는 ii) CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA(DCIB18)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 gp100 펩타이드(■), TRP2 펩타이드(▨), HepB 헬퍼 펩타이드(▩) 및 배지 대조군(□)에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

E. C57Bl/6 마우스를 10 μ g DNA 용액과 전기천공법을 병용하여 i.m. 주사로 면역화시켰다. 면역화는 경골근에서 1주 간격으로 3회 수행하였다. 마우스를 DCIB24 또는 DCIB18 단독으로, 이를 병용하여 동일 부위에 또는 양자를 동시에 개별 부위에 투여하여 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 TRP2, SIINFELK 펩타이드 특이적 면역반응의 존재에 대하여 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

도 39: DCIB37의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100 F7L 에피토프(TITDQVPLSV) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 40: DCIB40의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100 F7I 에피토프(TITDQVPLSV) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 41: DCIB41의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100 야생형 에피토프(TITDQVPFSV) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 42: DCIB42의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100 F7Y 에피토프(TITDQVPYSV) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 43: DCIB43의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100 V5L 에피토프(TITDQLPFSV) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 44: 비-앵커(non-anchor) 잔기에서의 변형은 에피토프 면역원성을 증진시킬 수 있다.

HHDII 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR H1 영역 내 변형된 gp100 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB37, DCIB40, DCIB41, DCIB42 및 DCIB43)로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 gp100 야생형 에피토프 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

도 45: DCIB35의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프(TIMDQVPFSV), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFVWL) 및 L1 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프(WNRQLYPEWTEAQRDL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 46: 다중 CD4 헬퍼 반응은 프로세싱되고 제시되어 생체 내에서 면역반응을 도출할 수 있다.

A. HHDII 또는 C57B1/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR L1 영역 내 I-Ab 제한 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB15)로 면역화시켰다.

B. Balb/c 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR L1 영역 내 I-Ad 제한 Flu HA CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB21)로 면역화시켰다.

C. HLA-DR4 트랜스제닉 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR L1 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB35)로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 상응하는 펩타이드, 무관한 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

D. HLA-DR4 트랜스제닉 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR L1 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB35), CDR H3 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB54) 및 CDR L3 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB50)로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 상응하는 펩타이드, 무관한 펩타이드 및 배지 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

도 47: DCIB50의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프(TIMDQVPFSV), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFVWL) 및 L3 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프(WNRQLYPEWTEAQRDL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 48: CD8 T 세포 반응은 부분적으로는 분비된 중쇄에 좌우되지만, 헬퍼 반응은 분비된 경쇄를 요하지 않는다.

A. HHDII 마우스를 0, 7 및 14일째에 i) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB15), ii) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2내 TRP2 에피토프 및 중쇄에 대한 리더 서열이 없는 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물, iii) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 경쇄에 대한 리더 서열이 없는 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 gp100(■) 및 HepB CD4(▨) 펩타이드 및 배지 대조군(□)에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. CHO-S 형질감염체의 상등액으로부터 중쇄, 경쇄 및 무손상 면역체의 샌드위치 ELISA에 의한 측정. 플레이트를 항-인간 Fc-특이적 항체 또는 항-인간 카파 체인 항체로 코팅하였다. 중쇄를 검출하기 위하여, 항-인간 IgG Fc-특이적 HRP 항체를 항-인간 Fc-특이적 코팅 항체와 병용하였다. 무손상 면역체를 검출하기 위하여, 항-인간 카파 체인-특이적 HRP 항체를 항-인간 Fc-특이적 코팅 항체와 병용하였다. 경쇄를 검출하기 위하여, 항-인간 카파 체인-특이적 HRP 항체를 항-인간 카파 체인-특이적 항체와 병용하였다.

C. C57B1/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 i) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB15), ii) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 중쇄에 대한 리더 서열을 갖지 않는 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

D. C57B1/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 i) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB15), ii) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 중쇄에 대한 리더 서열을 갖지 않는 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 HepB 헬퍼 펩타이드에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

도 49: 면역체 Fc 영역은 효율적인 면역반응 확립에 유익하다.

A. C57B1/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 i) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB15), ii) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 Fc 영역이 결여된 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 TRP2(▨) 펩타이드, 배지 대조군(□), B16F10 흑색종 세포주(■) 및 B16F10 siKb 음성 대조군 세포주(▨)에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. C57B1/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 i) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB15), ii) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 Fc 영역이 결여된 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

C. 동일종의 마우스를 HepB 헬퍼 펩타이드에 특이적인 반응에 대하여 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

D. DCIB15 또는 Fc 영역이 결여된 DCIB15(DCIB15 FcStop)로 면역화시킨 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 TRP2 에피토프에 대한 친화력을 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

E. C57B1/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 i) CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 인간 IgG1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB15), ii) 인간 IgG2 불변 영역을 갖는 동일한 작제물(DCIB33), iii) 인간 IgG3 불변 영역을 갖는 동일한 작제물(DCIB65), iv) 인간 IgG2로부터의 결합 모티프로 치환된 인간 IgG1 결합 모티프를 갖는 동일한 작제물(DCIB66) 및 v) 인간 IgG1로부터의 결합 모티프로

치환된 결합 모티프를 갖는 동일한 작제물(DCIB67)로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드(■), 배지 대조군(□) 및 HepB 헬퍼 펩타이드(▨)에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

F. CHO-S 형질감염체(DCIB15, DCIB33, DCIB65, DCIB66 및 DCIB67)의 상등액으로부터 중쇄, 경쇄 및 무손상 면역체의 샌드위치 ELISA에 의한 측정. 플레이트를 항-인간 Fc-특이적 항체 또는 항-인간 카파 체인 항체로 코팅하였다. 중쇄를 검출하기 위하여, 항-인간 IgG Fc-특이적 HRP 항체를 항-인간 Fc-특이적 코팅 항체와 병용하였다. 무손상 면역체를 검출하기 위하여, 항-인간 카파 체인-특이적 HRP 항체를 항-인간 Fc-특이적 코팅 항체와 병용하였다. 경쇄를 검출하기 위하여, 항-인간 카파 체인-특이적 HRP 항체를 항-인간 카파 체인-특이적 항체와 병용하였다.

G. DCIB53으로 형질감염된 CHO-S의 상등액으로부터 중쇄 면역체의 샌드위치 ELISA에 의한 측정. 플레이트를 항-마우스 Fc 특이적 항체로 코팅하였다. 중쇄를 검출하기 위하여, 항-마우스 IgG2a-특이적 HRP 항체를 사용하였다.

도 50: 면역체 면역화는 면역반응을 증진시키고 완전 항원으로부터 관찰되는 조절을 극복한다.

A. HLA-A2 트랜스제닉 마우스(HHDII)를 0, 7 및 14일째에 pcDNA3 벡터 중 면역체 DNA 작제물 DCIB15 또는 완전 gp100 항원으로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 gp100 펩타이드 또는 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. 항-CD25 항체(PC61) 400 μ g i.p 주사로 C57Bl/6 마우스에서 CD25 양성 세포를 고갈시켰다. 이어서, CD25-고갈 마우스 및 비-고갈 동물 모두를 4, 11 및 18일째에 pOrig 벡터 중 면역체 DNA 작제물 DCIB15 또는 완전 TRP2 항원으로 면역화시켰다. 23일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드 또는 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

C 및 D. HHDII 마우스를 비-처리하거나(c) 또는 400 μ g PC61 mAb i.p. 처리하였다(d). 4일 후, 모든 마우스를 Tie2 C200HFc DNA 작제물로 면역화시켰다. DNA 면역화는 총 3회의 면역화 동안 7일 간격으로 반복하였다. 최종 면역화 6일 후, 비장세포를 수거하고 생체의 IFN γ ELISPOT 분석법에서 Tie-2로부터 예상된 CTL 에피토프 각각의 1 μ g/ml로 재자극시켰다. 바는 백그라운드 대조군에 대해 표준화한, 각각의 개별 마우스에 대한 3회 측정값의 평균을 나타내고, 에러 바는 평균으로부터의 표준편차를 나타낸다.

E 및 F. HHDII 마우스를 비-처리하거나(e) (n = 3) 또는 400 μ g PC61 항체 i.p.로 처리하였다(f) (n = 2). 4일 후, 모든 마우스를 IFA에 1:1로 혼합한, 100 μ g Z12 펩타이드 및 100 μ g Z48 펩타이드로 면역화시켰다(s.c). 1차 펩타이드 면역화 7일 후 반복 펩타이드 면역화를 수행하였다. 최종 면역화 14일 후에 비장세포를 수거하고, IFN γ ELISPOT 분석법에서 1 μ g/ml Z12 펩타이드로(흑색 바) 또는 배지 단독으로(오픈 바) 재자극하였다. 바는 3회 측정값의 평균을 나타내고, 에러 바는 평균으로부터의 표준편차를 나타낸다.

G. HHDII 마우스를 IFA에 1:1로 혼합한 100 μ g Z12 펩타이드로 면역화시켰다(s.c). 반복 펩타이드 면역화는 1차 펩타이드 면역화 7일 및 14일 후 수행하였다. 비장세포를 최종 면역화 7일 후 수거하고, IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 에피토프 특이적 반응의 존재를 분석하였다. 반응을 개별 마우스로부터 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

H. HHDII 마우스를 0, 7 및 14일째에 유전자 총을 통해 면역체 DNA 작제물 DCIB71로 면역화시켰다. 비장세포를 최종 면역화 7일 후 수거하고, IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 에피토프 특이적 반응의 존재를 분석하였다. 반응을 개별 마우스로부터 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력은 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

도 51: DCIB71의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 Tie-2 Z12 에피토프(ILINSLPLV) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 HindIII/AfeI 및 BamHI/BsiWI 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 52: DCIB72의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H2 내 Tie-2 Z12 에피토프(ILINSLPLV) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 53: T 세포 조력작용의 제공에서 이중 Fc의 역할 및 항원 특이적 T 세포 조력작용을 위한 요건

A. C57B1/6 또는 HHDII 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR H1 내 gp100 에피토프 또는 CDR H2 내 TRP2 에피토프를 포함하는 중쇄 면역체 DNA 작제물(각각 IB17 및 IB18)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 gp100 펩타이드 또는 TRP2 펩타이드 및 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. CDR H2 내 TRP2 에피토프를 포함하는 면역체 중쇄로 면역화된 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 TRP2 에피토프에 대한 친화력에 대해 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

C. C57B1/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 인간 IgG1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB15) 또는 CDR H1 내 gp100 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 쥐 IgG2a 불변 영역을 갖는 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB53)로 면역화시켰다. 19일째에 비장세포를 TRP2 펩타이드, HepB 헬퍼 펩타이드 및 대조군에 대해 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

D. DCIB15 또는 DCIB53으로 면역화시킨 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 TRP2 에피토프에 대한 친화력을 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

E. HLA-DR4 트랜스제닉 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR H1 내 gp100DR4 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR H3 인간 IgG1 내 gp100DR7 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB54) 또는 CDR H1 내 gp100DR4 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 쥐 IgG2a 불변 영역을 갖는 CDR H3 내 gp100DR7 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB64)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 TRP2 펩타이드, gp100DR4 헬퍼 펩타이드 및 대조군에 대해 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

F. DCIB54 또는 DCIB64로 면역화시킨 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 TRP2 에피토프에 대한 친화력을 분석하였다. 반응은 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정되고, 친화력은 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현된다.

도 54: DCIB53의 서열

발현벡터 pDCOrig moigG2a 내 쥐 전장 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 내 GP100210M 에피토프(TIMDQVPFSV), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFVWL) 및 L1 내 HepB CD4 에피토프(TPPAYRPPNAPIL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/HpaI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 55: DCIB64의 서열

발현벡터 pDCOrig moigG2a 내 쥐 전장 중쇄 및 경쇄의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 종결 코돈을 별표로 표시하였다. 박스 안의 아미노산은 H1 내 HLA-DR7 제한 gp100 CD4 에피토프(GTGRAMLGTHMEVTYH), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFVWL) 및 H3 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프(WNRQLYPEWTEAQRDL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/HpaI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 56: 면역프로테아좀 프로세싱은 면역체 작제물 내 에피토프로부터의 반응 생성에 중요하다.

HHDII 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR H1 내 gp100²⁰⁹⁻²¹⁷ 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB41) 또는 CDR H1 내 변형체 gp100210M를 포함하는 면역체 작제물(DCIB15)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 gp100²⁰⁹⁻²¹⁷

펩타이드 또는 gp100210M 펩타이드 및 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

도 57: 상이한 면역화 방법이 면역체 백신으로부터의 면역반응 도출에 효율적이다.

A. C57B1/6 마우스를 유전자 총, i.m. +/- 전기천공법 또는 i.d. +/- 전기천공법을 통해 0, 7 및 14일째에 면역체 DNA(DCIB15)로 면역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 TRP2 펩타이드, HepB 헬퍼 펩타이드 및 대조군에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

B. 상이한 경로에 의해 면역화시킨 마우스로부터의 비장세포를 IFN γ ELISPOT 분석법으로 증가하는 펩타이드 농도에 대한 반응을 측정함으로써 TRP2 에피토프에 대한 친화력을 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정하고, 친화력을 50% 최대 이펙터 기능을 부여하는 농도로서 표현한다.

도 58: 면역체 면역화는 백반-유사 탈색을 유도하고 종양 접종(tumor challenge)으로부터 보호한다.

A. CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR L1 내 HepB CD4 에피토프를 포함하는 면역체 DNA(DCIB18)로 면역화시킨 C57B1/6 마우스는 면역화 부위에서의 체모 성장에서 탈색을 입증한다.

B. 면역화된 C57B1/6 마우스를 3차 및 4차 면역화 사이에 2×10^4 B16F10 IFN α 세포(i.v)로 접종하였다. 폐에서의 종양조직량(tumor burden)을 종양 접종 49일 후 평가하였다. 종양조직량을 전체 폐 면적의 백분율로서 평균 종양 면적으로 표현한다. 면역화된 마우스를 최종 면역화 7일 후 2×10^4 B16F10 IFN α 세포로 접종하였다(s.c.). 종양 크기를 3 내지 4일 간격으로 측정하였고, 일단 종양 성장이 한계를 초과하면 마우스를 안락사시켰다.

C. 종양 크기는 종양 주입 46일 후 평가하였다.

D. 생존.

도 59: 면역체 면역화는 종양 성장을 현저히 지연시킨다.

A. C57B16 마우스에 2×10^4 B16F10 세포를 주사하였다(s.c.). 종양 주사 4일 후, 마우스를 DCIB52 면역체 DNA로 면역화시켰다. 종양 주사 후 11일 및 18일째에 반복 면역화를 수행하였다. 종양조직량을 3-4일 간격으로 분석하였고, 일단 종양 성장이 최대 허용 한계를 초과하면 마우스를 안락사시켰다. 시간에 따른 종양 부피를 작도하였다.

B. C57B16 마우스에 2×10^4 B16F10 IFN α 세포를 주사하였다(s.c.). 종양 주사 14일 후, 마우스를 DCIB52 면역체 DNA로 면역화시켰다. 종양 주사 21일 및 28일째에 반복 면역화를 수행하였다. 종양조직량을 3-4일 간격으로 분석하였고, 일단 종양 성장이 최대 허용 한계를 초과하면 마우스를 안락사시켰다. 종양 부피를 종양 이식 후 47일째에 나타내었다.

C. 경우에 따라, C57B16 마우스에 2×10^4 B16F10 세포(s.c) 및 항-CD25 항체(i.p.)를 주사하였다. 종양 주사 4일 후, 마우스를 DCIB52 면역체 DNA 또는 대조군 면역체 DNA로 면역화시켰다. 종양 주사 후 11일 및 18일째에 반복 면역화를 수행하였다. 경우에 따라, 11일째에서의 면역화를 항-CTLA-4 항체의 주사(i.p.)와 병용하였다. 종양조직량을 3-4일 간격으로 분석하였고, 일단 종양 성장이 최대 허용 한계를 초과하면 마우스를 안락사시켰다. 시간에 따른 종양 부피를 작도하였다.

도 60: DCIB68의 서열

발현벡터 pDCOrig 내 인간 IgG1 Fc 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오타이드 및 아미노산 서열. 박스 안의 아미노산은 H1 및 L3 내 HLA-DR7 제한 gp100 CD4 에피토프 (GTGRAMLGHTMEVTVYH), H2 내 TRP2 에피토프(SVYDFVWL) 및 H3 및 L1 내 HLA-DR4 제한 gp100 CD4 에피토프 (WNRQLYPEWTEAQRDL)를 나타낸다. 단일 작제물로부터의 가변 중쇄 및 경쇄 영역의 전달에 사용된 *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsriWI* 제한 부위를 강조 표시하였다.

도 61: 상이한 벡터 골격으로부터 발현된 면역체 작제물로부터 면역반응이 생성될 수 있다.

C57B1/6 마우스를 0, 7 및 14일째에 CDR H1 내 gp100DR4 에피토프, CDR H2 내 TRP2 에피토프 및 CDR H3 인간 IgG1 내 gp100DR7 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 작제물(DCIB54, B1-3), 및 pVax 벡터 내 등가 작제물

(VaxDCIB54, C1-3)로 번역화시켰다. 19일째에, 비장세포를 TRP2 펩타이드 및 대조군에 대해 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 스팟/10⁶ 비장세포로서 측정한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

방법

DNA 벡터의 생성

벡터 pSVgptHuigG1 및 pSVhygHuCh(Biovation Ltd) 내 SC100 클론 Vhd VKb(W001/88138)의 탈면역된 쥐 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 PCR로 증폭시켰다. V_H 및 V_L 영역 PCR 산물을 *Hind*III/*Afe*I 및 *Bam*HI/*Bs*WI 부위를 사용하여 인간 IgG1 및 카파 불변 영역과 인 프레임으로 클로닝시켜 단일 체인 작제물 pOrigHIB 및 pOrigLIB를 생성하였다(도 1 및 2 참조). 전장 키메라 중쇄 및 카파 체인의 서열을 디데옥시 체인 종결법(Sanger *et al*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1977;74: 5463-7)으로 확인하였다. 키메라 중/경쇄에 대한 DNA 및 번역된 단백질 서열을 도 3 및 4에 각각 나타내었다. 상보성 결정 영역(CDR)의 위치를 표시하였다.

6개의 아미노산을 보유하는 중쇄 CDR2 영역을 제외하고는, 중/경쇄의 CDR을 완전히 제거하고 고유 제한 효소 부위와 교체하였다. 이러한 과정은 제한 효소 부위가 생성되도록 허용하는 제거를 위한 서열의 어느 일측에서 영역들의 신중한 검사에 의해 달성되었다. 이러한 고유 제한 부위는 항원 에피토프를 코딩하는 올리고뉴클레오타이드가 삽입될 수 있도록 DNA를 개봉하는 데 사용된다. 제한 부위의 생성시에 상실되는 대부분의 프레임워크 서열은 에피토프 프라이머에 포함시킴으로써 치환되어 번역시에 아미노산이 보유되고, 서열이 프레임에 잔류하도록 보장한다. 모든 CDR에 대해 선택된 효소 부위 및 에피토프 올리고뉴클레오타이드 서열을 표 1에 수록하였다.

도 5에 도시된 바와 같이, CDR 영역을 제거하고 중첩연장 PCR(Overlap Extension PCR)에 의해 고유 제한 부위로 치환시켰다. 중쇄 가변 영역에 대해서는, 올리고뉴클레오타이드 H1, H2 및 H3(표 2 참조)를 3개의 CDR 각각을 치환하도록 디자인하였다. 각각의 특이적 프라이머는 편입될 효소 부위의 어느 일측에 10-20bp의 서열을 포함한다. 인간 IgG1 불변 영역에 결합하는 범용 역방향 프라이머 huHeClonR(표 2 참조)과 함께 사용되는, 1 μ l 주형 플라스미드 pOrigHIB, 2 μ l dNTPS(2.5mM), 5 μ l 10 x taq 폴리머라제 완충제, 1 μ l 정방향 및 역방향 프라이머 (25pmol), 5 단위 taq 폴리머라제(New England Biolabs)로 이루어지고 멸균 증류수로 최종 부피를 50 μ l가 되게 한 제 1 라운드 PCR을 셋업하였다. 반응은 다음의 순서로 수행하였다: 95 $^{\circ}$ C에서 5분간 초기 변형 후, 95 $^{\circ}$ C에서 30초, 55 $^{\circ}$ C에서 1분(어닐링) 및 72 $^{\circ}$ C에서 1분(연장)으로 이루어지는 35 사이클. 최종 사이클은 Techne PHC-1 프로그램 가능한 사이클릭 반응기를 사용한 10분 연장을 포함하였다. 마찬가지로, 경쇄 가변 영역에 대해서는, 올리고뉴클레오타이드 L1, L2, 및 L3를 3개의 CDR 각각을 치환하도록 디자인하였다(표 2 참조). 제 1 라운드 PCR은 전술한 바와 같이 셋업하되 인간 카파 체인의 불변 영역에 결합하는 역방향 프라이머 huLiClonR(표 2 참조) 및 주형 pOrigLIB를 사용하였다.

표 1

CDR 치환 효소 및 에피토프 올리고뉴클레오타이드 서열 목록

CDR	RE 부위	에피토프 올리고
H1	<i>Fsp</i> I	5' NNNNNNTGGGTCG3' 3' NNNNNNACCCAAGC5'
H2	<i>Msc</i> I	5' TNNNNNCGATTCA3' 3' A NNNNNNGCTAAGT5'
H3	<i>Srf</i> I	5' GANNNNNTG3' 3' CTNNNNNNAC5'
L1	<i>Eco</i> RV	5' CTCTGCGNNNNNTGGT3' 3' GAGAACGNNNNNNACCA5'
L2	<i>Ssp</i> I	5' CTACNNNNNAG3' 3' GATGNNNNNNNTC5'

L3	<i>HpaI</i>	5' TATTACTGCNNNNNTTCGGTGGAGG3' 3' ATAATGACGNNNNNAAGCCACCTCC5'
N은 에피토프 DNA 서열을 나타낸다. 나머지 문자는 편집된 프레임워크 뉴클레오타이드를 나타낸다.		

[0089] 이어서, 1 μ l의 생성되는 PCR 산물을 역방향 프라이머로서 후속 PCR에 전술한 바와 같이 셋업한 CMV 정방향 프라이머와 함께 사용하였다. 450bp 증폭 DNA 단편을 TA TOPO 벡터 pCR2.1(Invitrogen) 중으로 직접 클로닝하였고, 클론을 서열분석하여 CDR이 결합된 V_H 및 V_L 영역의 증폭 및 제한 부위의 치환을 확인하였다.

[0090] 가변 중쇄 및 경쇄 내 CDR을 그들의 상응하는 효소 부위 H1, H2, H3, L1, L2 및 L3로 단독으로, 조합하여 및 전체적으로 치환하였다(도 6 및 7). 이어서 상이한 버전을 페어런트(parent) 야생형 탈면역된 SC100 V_H 및 V_L 영역이 직접 치환된 HindIII/AfeI 및 BamHI/BsiWI를 사용하여 pOrig HIB 및 pOrigLIB에 삽입시켰다. 이에 따라 단일 또는 다중 에피토프(동일 또는 상이한 항원으로부터 유래)를 포함하는 분자가 생성된다.

표 2

프라이머

올리고뉴클레오타이드	서열
H1	<i>FspI</i> 5' -CCT GAG AAT GTC CTG CTG CGC AGG CTC CGG GGA AG-3'
H2	<i>MscI</i> 5' -CAT TGG TAG TGG TGG CCA TTT CCA GAG AC-3'
H3	<i>SrfI</i> 5' -CCG TGT ATT ACT GTG CCC GGG CCA AGG AAC CAC GGT C-3'
L1	<i>EcoRV</i> 5' -GGA GCC AGC CTC GAT ATC TGC AGA AAC CAG GC-3'
L2	<i>SspI</i> 5' -CCA CAG CTC CTA ATA TTC AGT GGC AGT GGA TC-3'
L3	<i>HpaI</i> 5' -GCT GAG GAT ACC GGA GTT AAC CAA GGT GGA AAT C-3'
huHeClonR	5' -CGC CTG AGT TCC ACG ACA CC-3'
huLiClonR	5' -CAG GCA CAC AAC AGA GGC-3'
CMV Forward	5' -GGC GTG GAT AGC GGT TTG AC-3'
OrigstophuHeCH1 For	5' -CCA AGG TGG ACA AGA AAG TTT GAC CCA AAT CTT GTG ACA AAA CTC-3'
OrigstophuHeCH1 Rev	5' -GAG TTT TGT CAC AAG ATT TGG GTC AAA CTT TCT TGT CCA CCT TGG-3'
pOrig light no leader For	5' -AGG ATC CAC CAT GGA TGT GTT GAT GAC CC-3'
pOrig heavv no leader For	5' -AAA GCT TAT GCA GGT GCA GCT GGT G-3'
huigG3rev2	5' -ATC GAT ATC ATT TAC CCG GAG ACA GG-3'
IgG3hufor2	5' -ACT GTC TCC AGC GCT TCC ACC AAG-3'
IgG2 for	5' -AGT CAC CGT TTC CAG CGC TTC CAC-3'
IgG2 rev	5' -AGT GGA TAT CAT TTA CCC GGA GAC AGG-3'
HIBF	5' -AAC AGT CTG AGG GCT GAG GA-3'
huigG1PVA REV	5' -A GAC TGA CGG TCC CCC CGC GAC TGG AGG TGC TGG-3'
HuigG2ELLGRev	5' -A GAC TGA CGG TCC TCC TAA CAG TTC TGG TGC TGG-3'
SV40premFOR	5' -A GCT AGC ATC AGC ACG TGT TGA CAA TTA ATC ATC-3'
SV40premREV	5' -AAC GAT TCC GAA GCC CAA CCT TTC ATA G-3'
migG2aC1AfeIF2	5' -TTT ACA GCG CTA AAA CAA CAG CCC CAT CGG TC-3'
migG2aXbaRA	5' -TCT AGA TCA TTT ACC CGG AGT CCG GGA GAA GCT C-3'
MolCl1BsiF1	5' -TTT CGT ACG GAT GCT GCA CCA ACT GTA TCC-3'
MolCXhoR1	5' -TTT CTC GAG TCA ACA CTC ATT CCT GTT GAA GC-3'
MoIgG2BamHI For	5' -CC TTG ACC TGG AAC TCT GGT TCC CTG TCC AGT GGT G-3'
MoigG2BamHI Rev	5' -C ACC ACT GGA CAG GGA ACC AGA GTT CCA GGT CAA GG-3'
MoigG2XhoI For	5' -GC AGC TCA GTG ACT GTA ACT TCG AGC ACC TGG CCC AGC-3'
MoigG2XhoI Rev	5' -GCT GGG CCA GGT GCT CGA AGT TAC AGT CAC TGA GCT GC-3'
wtkappavarLlfor	5' -C TCT TGC AGA TCT AGT CAG AGC CTG GTA CAT AGT AAT GGA AAC ACC TAT TTA GAA TGG T-3'
wtkappavarLlrev	5' -A CCA TTC TAA ATA GGT GTT TCC ATT ACT ATG TAC CAG GCT CTG ACT AGA TCT GCA AGA G-3'
쥐 TRP2 Forward	5' -TTT CTA AGC TTA TGG GCC TTG TGG GAT GGG GGC TTC-3'
쥐 TRP2 Reverse	5' -TTT CTG ATA TCT CAG GCT TCC TCC GTG TAT CTC TTG C-3'
GP100 Forward	5' -TTT CTG ATA TCA TGG GTG TCC AGA GAA GGA GCT TC-3'
Gp100 Reverse	5' -TTT CTC TCG AGT CAG ACC TGC TGT CCA CTG AGG AGC-3'

[0091]

[0092]

단일 체인 벡터의 CDR 부위 중으로 항원 에피토프의 삽입

[0093]

다수의 CD8 CTL 및 CD4 헬퍼 에피토프가 표 3에 수록되어 있지만, 임의의 에피토프가 단일 체인 벡터 내 임의의 부위 중으로 용이하게 삽입될 수 있다. 예를 들면, pOrigHIB 벡터의 H2 부위 중으로 TRP2 에피토프의 삽입을 다음과 같이 달성하였다.

[0094]

번역시에 에피토프를 발현하는 뉴클레오타이드를 코딩하도록 상보성 올리고뉴클레오타이드를 디자인하였다. 번역시에 아미노산이 보유하고 서열이 프레임에 잔류하도록 보장하기 위하여, 에피토프를 코딩하는 DNA 서열을 상응하는 CDR 뉴클레오타이드로 플랭킹하였다(표 1 참조). 합성(MWG)을 위해 프라이머를 보내고, 5' 말단을 인산화시켰다.

[0095]

S V Y D F F V W L

[0096] 5'-인산화-T AGT GTT TAT GAT TTT TTT GTG TGG CTC CGA TTC A-3'

[0097] 3'- A TCA CAA ATA CTA AAA AAA CAC ACC GAG GCT AAG T-인산화-5'

[0098] 상보성 올리고뉴클레오타이드를 멸균 이차 증류수에 1 mg/ml의 최종 농도로 재현탁시킨 다음, TE 완충제로 50 μ l의 최종 부피까지 만든 각각의 프라이머 10 μ l와의 반응을 셋업하여 함께 어닐링하였다. 반응은 95 $^{\circ}$ C-5분(0.1 $^{\circ}$ C/초), 72 $^{\circ}$ C-20분(0.1 $^{\circ}$ C/초), 55 $^{\circ}$ C-20분으로 순환시킨 다음, 4 $^{\circ}$ C에서 유지시켰다.

[0099] H2 부위에 삽입하기 위하여, 벡터 pOrigHIB H2 및/또는 pOrigHIB H1H2를 MscI 제한 분해(에피토프의 삽입을 위해 사용될 CDR에 좌우됨)를 셋업하여 선형화한 다음, 37 $^{\circ}$ C에서 밤새 인큐베이션하였다. 상기 분해물을 1.5% 아가로스 겔상에서 전기영동한 다음 절단 벡터를 겔 추출에 의해 정제하였다. 선형화된 벡터의 자기 연결을 방지하기 위하여, 벡터의 5' 말단으로부터 인산기를 37 $^{\circ}$ C에서 송아지 장 알칼라인 포스파타제(Calf Intestinal Alkaline Phosphatase, CIAP) 5 단위, 멸균 증류수로 최종 부피 100 μ l로 만든 10 μ l 10 x NEB 완충제 3으로 처리하고 밤새 인큐베이션하여 제거하였다. 탈인산화 벡터를 정제하고, 그대로 연결한 다음, 어닐링된 올리고뉴클레오타이드의 1/100 및 1/200 희석액을 표준 기술을 이용하여 H2 부위 중으로 직접 클로닝하였다. 유니버설(universal) 프라이머 CMV forward를 사용하여 단일 벡터 내 서열분석에 의해 에피토프 삽입을 확인하였다.

표 3

[0100] CTL 및 헬퍼 에피토프

단백질	좌표	서열	HLA 제한
TRP2	180-188	SVYDFVWL agtgtttatgattttttgtgtggctc	A2, Kb
GP100	209-217	ITDQVPFSV accattactgaccaggtgcctttctccgtg	A2
GP100 (210M)	209-217(M)	IMDQVPFSV accattatggaccaggtgcctttctccgtg	A2
GP100 (F7L)	209-217	ITDQVPLSV accattactgaccaggtgcctttgtccgtg	A2
GP100	44-59	wnrqlypewteaqrld tggaacaggcagctgtatccagagtggacagaagcccagagacttgac	DR0401
HEPB S Ag	28-39	IPQSLDSWWTSL ataccgcagagtctagactcgtgggtgacttctctc	Kd (CTL)
HepB 핵단백질	128-140	TPPAYRPPNAPIL actcctccagcttatagaccaccaaagccctatccta	I-Ab (헬퍼)
MAGE3	271-279	FLWGPRLV ttcctgtgggtccaaggccctcgtt	A2
Tie2 (Z83)	124-132	FLPATLTMT ttcctaccagctactttaactatgact	A2
Tie2 (Z84)	124-132	FLPATLTMV ttcctaccagctactttaactatggtt	A2
Tie2 (Z9)	431-439	GMVEKPFNI gggatggtggaaaagcccttcaacatt	A2
Tie2 (mZ9)	431-439	GMVEKPFNV gggatggtggaaaagcccttcaacgtt	A2
FLU HA	111-120	FERFEIFPKE tttgaaaggtttgagatatccccaaggaa	I-Ad (헬퍼)
난알부민	258-265	SIINFEKL agtataatcaactttgaaaaactg	Kb

트리오스포스페이트 이소머라제 (wt)	23-37	GELIGTLNAAKVPAD ggggagctcatcggcattctgaacgcggccaaggtgccggccgac	DR0101
트리오스포스페이트 이소머라제 (mI)	23-37	GELIGILNAAKVPAD ggggagctcatcggcactctgaacgcggccaaggtgccggccgac	DR0101
VEGFR2	773-781	VIAMFFWLL gtgattgccatgttcttctggctactt	A2
mVEGFR2	773-781	VLAMFFWLL gtgcttgccatggttcttctggctactt	A2

[0101] 이중 발현벡터 pDCOrig중으로의 전달

[0102] 일단 모든 에피토프가 단일 벡터 내 VH 및 VL 부위 중으로 편입되면, *HindIII/AfeI* 및 *BamHI/BsiWI*를 사용하여 이들은 그들 각각의 인간 불변 영역과 인 프레임으로 이중 발현벡터 pDCOrig 중으로 전달된다. 면역체™ 이중 발현벡터 pDCOrig를 생성하기 위하여, pOrigHIB를 CMV 프로모터에 인접하여 위치한 평활 말단 제한 엔도뉴클레아제 *NruI*를 사용하여 선형화하였다. pOrigLIB를 평활 말단 *NruI* 및 *HpaI* 엔도뉴클레아제로 분해시켜 CMV 프로모터, 탈면역화된 인간 카파 체인 및 BGH polyA 시그널로 구성되는 완전한 경쇄 발현 카세트를 절단하였다. 선형화된 벡터 pOrigHIB 및 경쇄 발현 카세트의 겔 전기영동, 단리 및 겔 추출 후, 벡터를 탈인산화시키고, 경쇄 발현 카세트를 연결하여 작제물 pDCOrig를 형성하였다(도 8). pDCOrig 내 경쇄 카세트의 배향을 제한 분석으로 확인하였다.

[0103] pDCOrig는 동일 작제물 내에 병합된 중/경쇄 유전자 코딩 서열 모두를 포함하여, 인트론 서열 및 2 벡터 시스템을 제거한다. 발현은 높은 수준 CMV 즉시 초기 프로모터 및 소 성장 호르몬 폴리아데닐화 시그널과 같은 기타 DNA 조절 요소에 의해 구동된다. 발현 및 생산 효율을 극대화하기 위하여 선별 마커 Zeocin 또한 포함된다. 이러한 벡터를 신중히 디자인하여 가변 및 불변 영역의 연결부에 고유 제한 효소 부위를 존속시키고, 가변 영역의 상이한 조합(에피토프 삽입, 도 8 참조)을 생성하기 위한 신속하고 용이한 방법을 제공한다. 생성된 pDCOrig IB 작제물의 일부를 표 4에 수록하였다.

표 4

[0104] pDCOrig 작제물

	H1	H2	H3	L1	L3
DCIB15	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB17	Gp100 210M TIMDQVPFSV			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB18		TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB21		HepB S Ag IPQSLDSWWTSZ		Flu HA FERFEIFPKE	
DCIB24		난알부민 SIINFEKL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB25	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL
DCIB26	Tie-2 Z84 FLPATLTMV			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB30	Gp100 F7L TITDQVPLSV	TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB31			TRP2 SVYDFFVWL		
DCIB32			TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL

DCIB33 huigG2	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB35	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL		Gp100 WNRQLYPEWTEAQRD	
DCIB36					TRP2 SVYDFFVWL
DCIB37	Gp100 F7L TITDQVPLSV			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB40	Gp100 F7I TITDQVPISV			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB41	Gp100 wt TITDQVPFSV			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB42	Gp100 F7Y TITDQVPYSV			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB43	Gp100 V5L TITDQLPFSV			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB48		TRP2 SVYDFFVWL	Gp100 WNRQLYPEWTEAQRD		
DCIB49			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL		
DCIB50	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL			Gp100 wnrqlypew teaqrld
DCIB52		TRP2 SVYDFFVWL	HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL		
DCIB53 MoigG2a	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB54	Gp100 GTGRAMLGHTMEVTYH	TRP2 SVYDFFVWL	Gp100 WNRQLYPEWTEAQRD		
DCIB64 MoigG2a	Gp100 GTGRAMLGHTMEVTYH	TRP2 SVYDFFVWL	Gp100 WNRQLYPEWTEAQRD		
DCIB65 huigG3	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB66 huigG1 + G2 모티프	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB67 huigG2 + G1 모티프	Gp100 210M TIMDQVPFSV	TRP2 SVYDFFVWL		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB68	Gp100 GTGRAMLGHTMEVTYH	TRP2 SVYDFFVWL	Gp100 WNRQLYPEWTEAQRD	Gp100 WNRQLYPEWTEAQRD	Gp100 GTGRAMLGHTMEVTYH
DCIB69 MoigG2a	Gp100 GTGRAMLGHTMEVTYH	TRP2 SVYDFFVWL	Gp100 WNRQLYPEWTEAQRD	Gp100 WNRQLYPEWTEAQRD	Gp100 GTGRAMLGHTMEVTYH
DCIB71	Tie-2 Z12 ILINSLPLV			HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	
DCIB72		Tie-2 Z12 ILINSLPLV		HepB 핵단백질 TPPAYRPPNAPIL	

[0105] pDcOrig IB15 CH1 stop의 생성

[0106] 제조업자의 지시에 따라 Quik change 부위-특이적 돌연변이유발 키트(Stratagene) 및 상보성 올리고뉴클레오타

이드 origstophuHeCH1 정방향 및 OrigstophuHeCH1 역방향 프라이머(표 2 참조)를 사용하여 작제물 pDCOrig IB15 내 인간 IgG1 불변 영역의 CH1 도메인 뒤에 종결 코돈을 편입하였다. 종결 코돈의 편입을 DNA 서열분석으로 확인하였다(도 9).

[0107] pDCOrig IB15로부터 리더 서열의 제거

[0108] 벡터 pDCOrig IB15의 중/경쇄로부터 리더 서열을 제거하기 위하여, 리더를 갖지 않는 정방향 프라이머 pOrig light 및 리더를 갖지 않는 pOrig heavy를 포함하는 주형 pDCOrig IB15를 각각 역방향 프라이머 huHeClonR 및 hiLiClonR와 함께 사용하여 PCR을 셋업하였다(표 2). 증폭된 단편을 벡터 pCR2.1(Invitrogen) 중으로 TA TOPO 연결시키고, 서열분석으로 클론을 확인하였다. 리더가 결여된 IB15 V_H 및 V_L 영역 모두를 HindIII/AfeI 및 BamHI/BsiWI 부위를 각각 사용하여 pDCOrig IB15 중으로 다시 클로닝시켰다. V_H 및 V_L 영역에 대한 DNA 서열 및 변역을 각각 도 10 및 11에 나타내었다.

[0109] 면역체™ 이중 발현벡터 pDCOrig의 인간 IgG2 및 IgG3 아이소타입(isotype) 작제

[0110] 인간 IgG3 불변 영역을 각각 AfeI 및 EcoRV를 편입시키는 huigg3 정방향 및 역방향 프라이머(표 2)와 주형 pOTB7huigG3(Image clone 4566267 MGC 45809)를 함께 사용하여 PCR로 증폭하였다. 마찬가지로, 인간 IgG2 불변 영역을 igG2For 및 igG2Rev 프라이머(표 2)와 주형 pTOB7 huigG2(Image clone 6281452 MGC 71314)를 함께 사용하여 증폭하였다.

[0111] 두 단편 모두를 pCR2.1 중으로 TOPO 연결하였고, 서열을 확인하였다(도 12 및 13). 작제물 pDCOrigIB15 내 huigG1 불변 영역을 AfeI 및 SapI 부위를 사용하여 중쇄 가변 영역과 인 프레임으로 클로닝된 huigG2 및 huigG3로 효과적으로 치환하여 pDCOrigIB15 huigG2 및 pDCOrigIB15 huigG3를 생성하였다(도 14). 상기 두 벡터 모두가 변/불변 영역 연결부에 동일한 고유의 제한 부위를 보유한다. 이에 따라 모든 인간 아이소타입 단일 체인 및 이중 체인 면역체 벡터간의 가변 영역의 용이한 교환이 허용된다.

[0112] 인간 IgG1 Fc γ 및 인간 IgG2 수용체 결합 도메인의 돌연변이

[0113] CH2 도메인 내 huigG1 결합 모티프의 아미노산 E233 L234 L235를 huigG2의 P233 V234 A235로 치환하기 위하여, 짧은 섹션을 PCR로 재증폭하여 돌연변이를 편입시켰다. 치환 및 구성적 제한 부위 AhdI를 포함하는 역방향 프라이머 huigG1PVA Rev를 정방향 프라이머 HIBF(표 2) 및 주형 pDCOrig IB15와 함께 사용하였다. 생성되는 단편을 벡터 pCR2.1(Invitrogen)에 연결하였다. 서열 확인 후, 야생형 서열을 플라스미드 pDCOrig IB15 huigG1의 싱글 커터 AgeI/AhdI 부위 중으로 삽입함으로써 돌연변이를 포함하는 섹션으로 효과적으로 치환하였다(도 15).

[0114] 작제물 pDCOrig IB15 huigG2의 huigG2 불변 도메인 내 아미노산 P233 V234 A235 또한 huigG1 결합 모티프 ELLG로 치환하였다. 전술한 바와 같이, 치환 및 구성적 제한 부위 AhdI를 포함하는 역방향 프라이머 huigG2ELLGRev(표 2)를 정방향 프라이머 HIBF 및 주형 pDCOrig IB15 인간 igG2와 함께 사용하였다. 단편을 벡터 pCR2.1에 TA TOPO 연결하였다. 서열 확인 후, 야생형 서열을 플라스미드 pDCOrig IB15 huigG2의 AgeI/AhdI 부위를 사용하여 huigG1 결합 모티프를 포함하는 섹션으로 치환하였다(도 16).

[0115] pDCOrig 쥐 IgG2a 플라스미드 DCIB53 및 DCIB63의 생성

[0116] 이중 발현벡터 pDCOrig의 쥐 igG2a 버전을 작제하기 위하여, 하이브리도마 세포주 337로부터 단리된 총 RNA로부터 cDNA를 합성하였다. 쥐 igG2a 불변 영역의 증폭을 위해, 제한 부위 AfeI를 포함하는 정방향 프라이머 migG2aC1AfeF2를 종결 코돈 뒤에 XbaI 부위를 포함하는 역방향 프라이머 migG2aXbaRA와 함께 사용하였다. PCR 단편을 벡터 pCR2.1에 TOPO 연결하였다. 서열 확인 후, 쥐 igG2a 불변 영역을 절단하고, 벡터 pOrigHIB의 AfeI/XbaI 부위 중으로 쥐 중쇄 가변 영역과 인 프레임으로 클로닝하여 인간 igG1을 효과적으로 치환하였다. 순차적으로 Quik change 부위-특이적 돌연변이유발 키트(Stratagene) 및 상보성 프라이머 MoigG2BamHIFOR 및

REV, MoigG2XhoIFOR 및 REV를 각각 사용하는 부위-특이적 돌연변이유발에 의해, 번역시 쥐 igG2a 불변 영역으로부터 아미노산 서열을 변경하지 않으면서 BamHI 및 XhoI 부위를 제거하였다. 이에 따라 단일 체인 면역체 벡터 pMoOrigHIB를 생성하였다(도 17A). MoigG2a 불변 영역을 포함하는 pMoOrigHIB의 섹션을 AfeI 및 SV40 프로모터에 위치하는 단일 절단자 AvrII를 사용하여 단일 작제물로부터 이중 발현벡터 pDCOrig IB15 중으로 쥐 중쇄 가변 영역과 인 프레임으로 전달하여 여전히 인간 카파 영역을 포함하는 중간체 벡터 pDCOrigIB15MoigG2a hukappa를 생성하였다.

[0117] 쥐 카파 영역의 증폭을 위하여, cDNA를 주형으로, BsiWI 부위를 포함하는 프라이머 MoLCIBsiF1 및 종결 코돈 뒤에 XhoI 부위를 편입시키는 MoLCXhoI와 함께 사용하였다. 증폭된 단편을 전술한 바와 같이 벡터 pCR2.1에 TOPO 클로닝하였다. 쥐 카파 영역을 절단하였고, 면역체 벡터 pOrigLIB L1 및 pOrigLIB hepB help/L1에 연결함으로써 BsiWI/XhoI를 사용하여 인간 카파 불변 영역을 치환시켜 중간체 벡터 pMoLIBL1Bsi 및 pMoLIB HepB help/L1Bsi를 생성하였다. 면역체 시스템은 가변 및 불변 영역의 연결부에 고유의 제한 부위를 사용하는 가변 영역의 전달을 수반하면서 쥐 중쇄 가변 영역과 moigG2a 불변 영역간의 연결부는 AfeI 부위(모든 인간 면역체 벡터 내에 존재)를 수용할 수 있고 번역시 아미노산 서열을 변경하지 않으며, 쥐 가변 및 카파 간의 영역은 문제를 안고 있다. 이 연결부에서 서열의 분석시, 아미노산 서열을 변경하지 않을 어떠한 고유의 제한 부위도 편입될 수 없다. 연결부에서의 BsiWI 부위를 제거하여 야생형 서열로 복귀시켰다. 이러한 과정은 Overlap PCR에 의해 완전한 쥐 전장 체인을 증폭함으로써 달성하였다. 1차 PCR을 연결부에 야생형 서열 및 BsiWI를 효과적으로 제거하는 플랭킹 영역을 포함하는 정방향 프라이머 MoKappaSDMfor, BGH 역방향 프라이머 및 주형으로서 중간체 경쇄 벡터 pMoLIBL1Bsi 및 pMoLIB hepB help/L1Bsi를 각각 사용하여 셋업하였다. PCR 제 1 라운드로부터의 약 430bp 증폭 단편을 역방향 프라이머로서 BamHI 부위를 포함하는 정방향 프라이머 ImmunoLikozFor와 함께 사용하였다. 증폭된 전장 쥐 카파 체인을 pCR2.1에 TOPO 연결한 다음, 서열을 확인하였다. pCR2.1 내 L1 부위에 hepB help를 포함하는 전장 쥐 카파 체인을 절단하였고, 중간체 이중 발현벡터 pDCOrigIB15MoigG2a hukappa의 BamHI/XhoI 부위 중으로 클로닝하여 인간 카파 체인을 치환하여 쥐 이중 발현벡터 pDCOrigIB GP100210m/H1 TRP2/H2 HepB help/L1 molgG2a(DCIB 53, 도17 B 및 54)을 생성하였다.

[0118] 마찬가지로, L1 부위를 포함하는 전장 쥐 카파 체인을 절단한 다음, 중간체 이중 발현벡터 pDCOrigIB15MoigG2a hukappa의 BamHI/XhoI 부위 중으로 클로닝하여 인간 카파 체인을 치환하여 공(empty) L1 부위를 갖는 중간체 쥐 이중 발현벡터 pDCOrigIB15molgG2a를 생성하였다. 야생형 경쇄 가변 영역을 갖는 작제물을 생성하기 위하여, 상보성 5' 인산화 프라이머 wtkappavarL1for 및 rev(표 2)를 어닐링한 다음, 전술한 바와 같이 EcoRV로 선형화한 후 L1 부위 중으로 삽입하였다. 최종적으로, GP100DR7/H1 TRP2/H2 및 GP100DR4/H3를 포함하는 DCIB 54으로부터의 중쇄 가변 영역을 HindIII/AfeI를 사용하여 전달하여 pDCOrig GP100DR7/H1 TRP2/H2 GP100DR4/H3 moigG2a 야생형 카파(DCIB68, 도 17C 및 60)를 생성하였다.

[0119] 조절 DNA 백신 요건을 위한 면역체 이중 발현벡터 pDCOrig로부터 진행 SV40 프로모터의 제거

[0120] EM7 박테리아 프로모터 및 zeocin 유전자를 NheI 부위를 편입시키는 SV40remREV 역방향 프라이머 및 정방향 프라이머 SV40PremFOR(표 2)와 주형 pOrigHIB를 함께 사용하여 증폭하였다. 생성되는 511bp PCR 단편을 pCR2.1에 TOPO 연결한 다음 서열분석으로 확인하였다. EM7 프로모터 및 zeocin 유전자의 섹션을 NheI 및 FseI를 사용하여 pCR2.1으로부터 절단한 다음, pOrigHIB H1 중으로 직접 클로닝하여 SV40 프로모터를 효과적으로 제거하였다. NheI 부위는 SV40 프로모터의 앞에 위치하는 반면에, FseI 인식 서열은 벡터의 zeocin 유전자내의 단일 절단자이다. 서열 확인 후, 좀더 큰 섹션을 단일 벡터로부터 huigG1의 테일 말단, BGH polyA, EM7 및 zeocin 유전자 부분을 코딩하는 pDCOrig IB68 벡터 중으로 전달한 다음, SapI 및 FseI으로 분해하여 이중 발현벡터로부터 SV40 프로모터를 효과적으로 제거하였다.

[0121] pVaxi(Invitrogen)의 FDA 조절 컴플라이언트를 위한 pDCOrig 골격의 변형

[0122] HindIII 및 XbaI를 사용하여 작제물 DCIB54로부터 면역체 전장 인간 igG1 중쇄를 절단하여, 벡터 pVax1(도 18A)의 MCS 내 이들 부위로 삽입하였다. 이중 체인 발현벡터의 pVax 버전을 생성하기 위하여, pVaxIB54HIB를 CMV 프로모터에 인접하여 위치한 평활 말단 제한 엔도뉴클레아제 NruI를 사용하여 선형화하였다. pOrigLIB(도

18B)를 평활 말단 NruI 및 HpaI 엔도뉴클레아제로 분해시켜 CMV 프로모터, 면역체 인간 카파 체인 및 BGH polyA 시그널로 이루어지는 완전한 경쇄 발현 카세트를 절단하였다. 선형화된 벡터 pVaxIB54HIB 및 경쇄 발현 카세트의 겔 전기영동, 단리 및 겔 추출 후, 벡터를 탈인산화하고 경쇄 발현 카세트를 연결하여 작제물 pVaxDCIB54를 형성하였다(도 18C). pVaxDCIB54 내 경쇄 카세트의 배향은 제한 분석으로 확인하였다. pVaxDCIB54는 가변/불변 영역 연결부에 동일한 고유의 제한 부위를 보유하여 모든 인간 아이소타입 단일 체인 및 이중 체인 면역체 벡터 간 가변 영역의 용이한 교환을 허용한다. 예를 들면, pVaxDCIB68(도 60)을 생성하기 위하여, BamHI/BsiWI를 사용하여 Gp100DR4/L1 및 Gp100DR7/L3를 포함하는 쥐 경쇄 가변 영역을 DCIB68로부터 절단한 다음, pVaxDCIB54에 클로닝하여 경쇄 야생형 가변 영역을 효과적으로 치환하였다.

[0123] pOrig 쥐 TRP2 및 pCDNA3 GP100의 생성

[0124] pOrig 쥐 TRP2를 작제하기 위하여, 세포주 B16F10으로부터 단리된 5 μ g의 총 RNA로부터 합성된 cDNA를 각각 HindIII 또는 EcoRV 부위가 편입된 프라이머 쥐 TRP2 forward 및 reverse(표 2)를 사용하는 전장 쥐 타이로시나제(tyrosinase) 관련 단백질 2(TRP2)의 증폭을 위한 주형으로 사용하였다. 전장 TRP2를 벡터 pOrigHIB의 HindIII/EcoRV 다중 클로닝 부위에 연결하였다. 각각 EcoRV 및 XhoI 부위를 포함하는 디자인된 쥐 GP100 정방향 및 역방향 프라이머(표 1)를 사용하여 전장 쥐 GP100를 cDNA로부터 또한 증폭하였다. 상기 PCR 산물을 포유동물 발현벡터 pCDNA3(Invitrogen)의 EcoRV/XhoI 부위에 클로닝하였다. 두 플라스미드 모두 제한 분석으로 동정하고 DNA 서열분석으로 확인하였다.

[0125] *

[0126] 샌드위치 ELISA

[0127] Falcon 96-웰 가요성 플레이트를 50 μ l의 항-인간 IgG, Fc 특이적 항체(Sigma 12136) 또는 항-인간 카파 경쇄 항체(Dako A0191)로 PBS중 10 μ g/ml의 농도로 4°C에서 밤새 코팅하였다. 플레이트를 Skan Washer 400(Molecular Devices)를 사용하여 200 μ l/웰 PBS-Tween 20(0.05%)로 3회 세척하였고, 웰을 PBS중 1% 어피 젤라틴(Sigma, 1% FSG/PBS)으로 블로킹하였다. 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션한 다음 1% FSG/PBS로 세척하였다. 발현된 면역체 또는 정제된 면역체 단백질(50 μ l)을 포함하는 조직 배양 상등액을 웰에 트리플리케이트(triplicate)로 가하고, 플레이트를 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 상기 플레이트를 1% FSG/PBS로 세척하고, 50 μ l/웰의 퍼옥시다제-접합 항-인간 IgG, Fc 특이적 항체(Sigma A0170) 또는 항-인간 카파 경쇄 항체(Sigma A7164)를 첨가하여 결합된 면역체를 검출하였고, 1% FSG/PBS에 1/2000으로 희석한 다음, 실온에서 1시간 동안 인큐베이션하였다. 플레이트를 1% FSG/PBS로 세척하고, TMB 기질(R&D Systems)을 50 μ l/웰의 농도로 첨가하여 전개시켰다. VERSA max 마이크로플레이트 리더(Molecular Devices)를 사용하여 650nm에서 흡광도를 측정하였다.

[0128] 마우스 및 면역화

[0129] 동물 작업은 Home Office approved project licence하에 수행하였다. 6 내지 12주령의 암수 C57Bl/6(Harlan) 또는 HLA-A2 트랜스제닉(HHDII)(Pasteur Institute, Paris)을 사용하였다. 합성 펩타이드(John Keyte 제조, Department of Biomedical Sciences, Nottingham University, UK)를 프로인트 불완전 애주번트로 유화시킨 다음, 피하 경로를 통해 주사하였다. 각각의 마우스는 10 μ g 펩타이드/면역화를 투여받았다. 제조업자의 지시에 따라 DNA를 1.0 μ m 금 입자(BioRad, Hemel Hempstead, UK)에 코팅한 다음, Helios 유전자 총(BioRad)으로 피내 투여하였다. 각각의 마우스는 1 μ g DNA/면역화를 투여받았다. 단기 전기 펄스로 주사 직후 병행하여 네이키드 DNA 용액을 또한 i.d. 또는 i.m 투여하였다(10 μ g/면역화). 마우스를 0, 1 및 2주째에 면역화시킨 다음, 3주째에 비장을 적출하였다. 생체내에서 T 세포 서브세트의 고갈은 면역화 4일전 400 μ g 항-CD25 항체(PC61)의 주사(i.p.) 또는 2차 면역화와 동시에 200 μ g 항-CTLA-4 항체의 주사(i.p.)에 의하여 수행하였다.

[0130] 시험관내 재자극

[0131] 최종 면역화 5일 후, 비장세포(5x10⁶/ml)를 10% FBS, 2mM 글루타민, 20mM HEPES 완충제, 100 단위/ml 페니실린,

$100\mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ 스트렙토마이신 및 10^{-5}M 2-머캅토에탄올을 포함하는 2ml의 RPMI-1644 중 24-웰 플레이트, 37°C 에서 동계(syngeneic)의, 조사된(20Gy), 펩타이드-펄스 리포폴리사카라이드(LPS) 블라스트(0.5 내지 1×10^6 세포/ml)와 함께 배양하였다. LPS 블라스트를 비장세포(1.5×10^6 세포/ml)를 $25\mu\text{g}/\text{ml}$ LPS(Sigma) 및 $7\mu\text{g}/\text{ml}$ 텍스트란 셀 페이트(Pharmacia, Milton Keynes, UK)로 3일간 37°C 에서 활성화함으로써 수득하였다. 사용 전에, 2×10^7 LPS 블라스트를 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 합성 펩타이드와 1시간 동안 배양하였다. 배양액을 ^{51}Cr -방출 분석법으로 6일째에 세포독성활성에 대하여 분석하였다.

[0132] ^{51}Cr -방출 분석법

[0133] 표적 세포를 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 펩타이드 존재 또는 부재하에 1.85MBq 나트륨(^{51}Cr) 크로메이트(Amersham, Essex, UK)로 1시간 동안 표지하였다. 인큐베이션 후, 이들을 RPMI에서 3회 세척한 다음, 추가로 1시간 동안 $100\mu\text{g}/\text{ml}$ 펩타이드와 인큐베이션하였다. 96-웰 V-바텀 플레이트의 5×10^3 표적/웰을 셋업하여, $200\mu\text{l}$ 의 최종 부피에서 상이한 밀도의 이펙터 세포와 함께 인큐베이션하였다. 37°C 에서 4시간 후, $50\mu\text{l}$ 의 상등액을 각각의 웰로부터 제거하여 Lumaplate(Packard, Rigaweg, the Netherlands)로 전달하였다. 플레이트를 Topcount Microplate Scintillation Counter(Packard)상에서 관독하였다. 하기 공식을 이용하여 백분율 특이적 용해를 계산하였다:

[0134] 특이적 용해 = $100 \times [(\text{실험 방출} - \text{자연 방출}) / (\text{최대 방출} - \text{자연 방출})]$

[0135] 생체의 ELISPOT 분석법

[0136] 제조업자(Mabtech, Sweden)의 지시에 따라 쥐 IFN γ 포획 및 검출 시약을 사용하여 ELISPOT 분석법을 수행하였다. 간략히 말해서, 항-IFN γ 항체를 96-웰 Immobilon-P 플레이트의 웰에 코팅한 다음, 5×10^5 비장세포를 레플리케이트(replicate) 웰에 심었다. 합성 펩타이드(다양한 농도) 또는 5×10^4 표적 흑색종 세포를 이들 웰에 첨가한 다음, 37°C 에서 40시간 동안 인큐베이션하였다. 인큐베이션 후, 포획된 IFN γ 는 바이오틴 처리 항-IFN γ 항체 및 스트렙타비딘 알칼라인 포스파타제와 발색 기질에 의한 전개로 검출하였다. 자동 플레이트 판독기(CTL)를 이용하여 스팟을 분석하고 계수하였다. 기능성 친화력을 이펙터 기능 vs 펩타이드 농도 그래프를 이용하여 50% 최대 이펙터 기능을 매개하는 농도로서 계산하였다. 비장세포 집단으로부터 CD8 T 세포의 고갈을 제조업자의 지시에 따라 CD8 Dynabeads(Dynal)를 사용하여 수행한 다음, 생체의 ELISPOT 분석법에 투입하였다.

[0137] 종양 연구

[0138] C57B1/6 마우스를 무작위로 처리 그룹으로 나누고 1주 간격으로 5주동안 면역화시켰다. 3차 및 4차 면역화 사이에, 이들을 i.v. 주사에 의해 미동맥에 1×10^4 B16F10 IFN α 흑색종 세포로 접종하였다. i.v. 주사하면, B16F10 세포가 폐로 이동하여 전이를 형성한다. 마우스를 종양 성장의 징후 및 고통에 대하여 모니터링하였다. 종양 접종 49일 후, 마우스를 안락사시키고, 폐를 전이의 존재에 대하여 분석하였다. 비장을 에피토프 및 종양-특이적 면역반응의 존재에 대하여 생체의 ELISPOT 분석법으로 분석하였다.

[0139] HHDII 마우스를 1주 간격으로 3주간 면역화시킨 다음, 면역화 7일 후 우측 옆구리에 2×10^4 B16F10 HHD 흑색종 세포로 s.c. 접종하였다. 종양 성장을 3-4일 간격으로 모니터링하고, 종양의 크기를 캘리퍼를 사용하여 측정하였다.

[0140] 실시예 1 - 면역체 작제물은 저수준의 무손상 항체를 생성한다

[0141] 각각 CDR H1 및 CDR H2 내 gp100 에피토프 IMDQVPFSV 및 TRP2 에피토프 SVYDFFVWL를 CDR L1 내 HepB CD4 에피

토프 TPPAYRPPNAPIL를 포함하는 면역체 작제물(DCIB15; 도 19)로 안정한 CHO-S 세포 형질감염체를 제조하였다.

- [0142] 이들 형질감염체로부터의 상등액을 샌드위치 ELISA로 면역체 단백질의 발현에 대하여 분석하였다. 플레이트를 항-인간 IgG Fc-특이적 항체로 코팅하고, 상등액을 첨가하였다. 결합된 면역체를 항-인간 Fc-특이적 HRP 항체를 사용하여 검출하여 중쇄를 검출하였다. 중쇄는 상등액에서 대조군 대비 대략 $1 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 검출되었다(도 20a). 단백질 A 친화성 칼럼을 이용하여 상등액으로부터 면역체를 정제하고, 면역체의 존재를 분석하였다. 면역체 정제 결과 대조군과 비교하여 이전에 예상하였던 것보다 훨씬 더 적은 양의 단백질을 수득하였다(도 20b). 이러한 낮은 수율의 무손상 단백질을 정제할 수 있었으므로, 면역체 작제물 형질감염 세포의 상등액내 중쇄 및 무손상 항체의 발현에 대하여 샌드위치 ELISA로 분석하였다. CDR L1 내 HepB CD4 에피토프 및 CDR H2 내 SIINFEKL 에피토프를 포함하는 작제물(DCIB24; 도 21) 또는 각각 CDR H1 및 CDR H2 내 gp100 에피토프 IMDQVPFSV 및 TRP2 에피토프 SVYDFVWL를 CDR L3 내 HepB CD4 에피토프 TPPAYRPPNAPIL를 함께 포함하는 작제물(DCIB25; 도 22)도 시험하였다. 플레이트를 항-인간 IgG Fc-특이적 항체로 코팅하고 상등액을 첨가하였다. 결합된 면역체를 항-인간 Fc-특이적 HRP 항체를 사용하여 검출하여 중쇄 또는 항-인간 카파 체인-특이적 HRP 항체를 검출함으로써 무손상 면역체를 검출하였다. 면역체 형질감염체는 높은 수준의 중쇄 분비를 보이지만 매우 낮은 수준의 무손상 면역체를 나타낸다(도 20c 및 d).
- [0143] 이러한 데이터는 중/경쇄 가변 영역 중으로 CD8 및 CD4 T 세포 에피토프의 편입이 면역체의 전체 구조를 붕괴시켜 무손상 항체의 형성을 방지함을 시사한다.
- [0144] 형질감염된 CHO-S 세포로부터의 상등액 분석에 대한 부가적인 데이터는 CTL 에피토프가 CDRH3 또는 CDRL3 중으로 편입된 작제물만이 무손상 항체로서 분비됨을 입증한다(도 20e). 이와는 상반되게, CDRH1 또는 CDRH2 내 임의 에피토프의 편입은 비록 경쇄에 아무것도 편입되지 않았고 분비되었음에도 중쇄의 분비를 허용하였지만 무손상 항체는 소량만을 생성하였다. 중쇄의 CDRH3 중으로 편입된 에피토프만이 존재하더라도, 경쇄중 CDRL1 내 임의 에피토프의 편입은 경쇄의 낮은 수준의 분비를 초래하였다.
- [0145] **실시예 2 - 면역체 프레임워크 중으로 편입된 CTL 에피토프는 생체내에서 면역반응을 도출하도록 프로세싱되고 제시된다**
- [0146] TRP2로부터의 이전에 발표된 CTL 에피토프, aa280-288(Bloom *et al*, *The Journal of Experimental Medicine* 1997;185:453-9)를 CDR L1내 B형 간염 유니버설 CD4 에피토프와 나란히 면역체 작제물의 CDR H2 영역 중으로 공학처리하였다(DCIB18; 도 30). C57B1/6 마우스를 유전자 총을 통해 면역체 DNA로 피내 주사에 의해 1주 간격으로 3회 면역화시켰다. 이어서, 비장세포를 TRP2 특이적 반응에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 면역체 DNA로 면역화시킨 마우스는 대조군에 비하여 상당한 TRP2 펩타이드 특이적-반응을 보였지만 HepB CD4 펩타이드에 특이적인 반응은 낮은 수준이었다(도 31a). TRP2 특이적 반응의 친화력 또한 IFN γ ELISPOT 분석법으로 펩타이드 적정에 의해 연구하였다. 5가지 상이한 실험에서 시험된 15마리의 마우스에 대하여, 반응의 친화력은 10^{-9} M 내지 10^{-11} M 펩타이드 범위이다. 대표적인 예를 도 31b에 나타내었다.
- [0147] 이러한 TRP2-특이적 반응이 CD8 T 세포에 의해 매개되었는지 확인하기 위하여, C57B1/6 마우스를 1주 간격으로 면역체 DNA로 3회 면역화시켰다. 최종 면역화 6일 후, 비장세포를 분리하고, IFN γ ELISPOT 분석법으로 특이적 반응을 시험관 내에서 분석하였다. TRP-2 특이적 반응이 CD8 T 세포에 의해 매개되었는지 확인하기 위하여, ELISPOT 분석법으로 분석하기에 앞서 CD8 T 세포를 고갈시켰다. CD8 T 세포의 고갈은 TRP2-특이적 반응의 폐지를 초래하였다; 그러나 CD8 고갈은 HepB CD4 펩타이드 반응에 영향을 주지 않았는데, 이는 반응이 집중할구 CD4 T 세포에 의해 매개됨을 시사한다(도 31 c).
- [0148] 면역체 DNA 면역화에 의해 생성된 반응이 시험관내에서 표적 세포를 사멸시킬 수 있는지를 측정하기 위하여, 비장세포를 TRP2 펩타이드-펄스 LPS 블라스트로 시험관내에서 6일간 자극시킨 다음, B16F10 흑색종 세포에 대하여

크롬 방출 분석법으로 분석하였다. 면역체 DNA-면역화 마우스로부터의 비장세포는 H-2Kb 분자를 발현하지 않는 B16F10 세포주(B16F10 siKb)의 것과 비교하여, 낮은 수준의 표면 MHC 클래스 I를 갖는 B16F10 세포, 및 표면 MHC 클래스 I을 높은 수준으로 발현하는 B16F10 I FNa 세포 모두의 우수한 용해를 보였다. B16F10 siKb 세포주에 대한 사멸의 폐지는 사멸이 CD8-의존성이며 H-2Kb를 통해 제한됨을 입증한다(도 31d).

[0149] 이들 결과는 면역체 프레임워크의 CDR H2 영역 중으로 편입된 TRP2(SVYDFVWL) CD8 에피토프가 프로세싱되어 MHC 클래스 I를 통해 매개된 고-빈도 반응을 도출하도록 제시됨을 보여준다. HepB CD4 에피토프 역시 프로세싱되어 MHC 클래스 II에 관하여 DNA 면역화로부터 양호한 CD4 매개 반응을 도출하도록 제시된다.

[0150] TRP2 에피토프-특이적 반응을 또한 동일한 방법을 이용하여 다른 TRP2 에피토프-포함 작제물로부터도 분석하였다. 중쇄 내 CDR 중으로 TRP2 에피토프의 편입은 고-빈도 펩타이드 특이적 반응을 초래하였다(도 31e). 이와는 반대로, 경쇄 내에 CTL 에피토프의 편입은 CTL 빈도의 현저한 감소를 초래하였다(DCIB36). TRP2 에피토프 특이적 반응의 친화력에 대한 분석은 중쇄 내 에피토프로부터 생성될 경우 이들은 고-친화력을 띠지만, 경쇄로부터 에피토프가 발현되는 경우에는 상당히 더 낮음을 보여준다(도 31f). 모든 작제물에 대하여 고-빈도 고-친화력 헬퍼 반응이 관찰되었다(도 31g). 이러한 결과는 중쇄의 분비가 CTL 반응의 자극에는 유리하지만 헬퍼 반응에는 그렇지 않음을 시사한다.

[0151] **실시예 3 - 면역체 DNA 면역화는 펩타이드 면역화 또는 완전 항원에 의한 면역화보다 양호하다**

[0152] 면역체 DNA 면역화의 효율을 분석하기 위하여, 프로인트 불완전 애쥬번트 내 펩타이드 에피토프의 s.c. 면역화 또는 TRP2 항원을 발현하는 DNA로의 면역화와 비교하였다.

[0153] C57B1/6 마우스를 IFA 내 유니버설 헬퍼 에피토프와 결합된 TRP2 에피토프를 포함하는 DNA 또는 펩타이드로 3주간 면역화시켰다. 면역체-면역화 마우스에서 생성된 TRP2 및 헬퍼 펩타이드 특이적 반응은 펩타이드 면역화 또는 완전 TRP2 항원으로의 면역화에 의해 도출된 반응에 비해 크기에 있어 훨씬 더 우수하였다(도 32a). 이러한 펩타이드 특이적 반응의 친화력에 대한 추가 분석은 면역체 DNA로 면역화시킨 마우스에 의해 생성된 반응이 펩타이드-면역화 개체로부터의 반응보다 로그 스케일의 더 높은 친화력을 가짐을 보여주었다(도 32b). 이어서, C57B1/6 마우스에서 생성된 반응을 B16F10 세포주, 및 음성 대조군으로서 B16F10 siKb 세포주에 대하여 시험관 내에서 세포독성능을 분석하였다. 도 32c는 면역체 DNA-면역화된 마우스가 H-2Kb 제한되는 항종양활성을 시험관 내에서 나타낼 수 있고, 펩타이드-면역화 마우스 및 완전 항원-면역화 마우스 모두가 동일한 흑색종 세포주의 사멸에 성공적이지 않음을 보여준다.

[0154] 또한 면역체 면역화를 DC + 펩타이드로의 면역화와 비교하였다. C57B1/6 마우스는 DNA 또는 DC + 펩타이드로 3주간 면역화 처리를 받았다. TRP2 펩타이드 특이적 반응은 필적할만한 빈도를 나타내었지만, 면역체-면역화 마우스는 DC + 펩타이드로 면역화시킨 반응에 비해 더 높은 친화력 반응을 생성하였다(도 32d). 이러한 결과는 또한 이들 반응을 시험관내에서 B16F10 흑색종 세포 사멸능에 대해 분석하였을 때에도 입증되었다(도 32e). 면역체 면역화에 의해 생성된 반응은 DC + 펩타이드-면역화 마우스로부터의 반응보다 더 낮은 이펙터:표적비로 B16F10 흑색종의 더 많은 사멸을 나타내었다. 이들은 또한 H-2Kb의 녹다운 수준을 갖는 B16F20 siKb 흑색종 세포주의 더 높은 특이적 용해를 나타내었다.

[0155] H-2Kb 제한 난알부민 에피토프, SIINFEKL, 및 앵커-변형 HLA-A2 제한 gp100 에피토프, IMDQVPFSV(210M)를 포함하는 면역체 작제물을 각각 C57B1/6 또는 HHDII 마우스에서의 상응하는 에피토프 펩타이드 면역화와 비교하였다. 마우스는 IFA 중의 DNA 또는 펩타이드로 3주 동안 면역화 처리를 받았다. 최종 면역화 후 반응의 분석은 면역체 DNA-면역화 마우스가 펩타이드-면역화 마우스에 비하여 더 높은 빈도의 펩타이드 특이적 반응을 생성함을 보여준다(도 32f 및 g). 이들 반응도 펩타이드 적정에 의해 친화력을 분석하였다. 면역체 면역화는 펩타이드 면역화보다 현저히 더 높은 친화력 반응을 도출한다(도 32h 및 i).

[0156] 면역체 DNA 백신에 의해 생성된 TRP2 특이적 반응의 크기는 합성 펩타이드 또는 완전 TRP2 항원에 의해 생성된 것보다 훨씬 우수하다. 그러나, 임상 시험으로부터의 증거는 고-빈도의 종양-특이적 CD8 T 세포의 존재가 항상 종양 퇴축을 유도하는 것은 아니며, 일반적으로 백신 시험에서 객관적인 임상 반응 속도는 매우 낮음을 시사한다(Rosenberg *et al*, *J Immunol* 2005;175:6169-76; Rosenberg *et al*, *Nature Medicine* 2004;10:909-15). 종양-특이적 T 세포의 기능성 친화력 및 프라이밍 경로와 같은, 빈도 이외의 요인이 백신 효능 극대화에 있어 주요 결정인자임이 분명해지고 있다. 다수의 그룹이 고-친화력 CD8 T 세포가 우수한 항종양활성을 나타냄을 보여주었다(Alexander-Miller, *Immunologic research*, 2005;31:13-24; Hodge *et al*, *J Immunol* 2005;174:5994-6004; Valmori *et al*, *J Immunol* 2002;168:4231 -40; Zeh *et al*, *J Immunol* 1999;162:989-94; Alexander-Miller *et al*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1996;93:4102-7). 본 발명자들의 연구에서, 면역체-유도 TRP2 특이적 반응의 기능성 친화력 분석은 합성 펩타이드로의 면역화와 비교시 고-친화력 반응이 생성될 수 있음을 입증하였다. 이러한 고-친화력 반응은 또한 시험관내에서 종양 세포를 인식하고 사멸시키는 증가된 능력과 상관이 있다. APC로부터의 시그널 또는 반응의 프라이밍 경로도 고-친화력 면역반응의 유도에 중요하다(Oh *et al*, *J Immunol* 2003;170: 2523-30).

[0157] **실시예 4 - 다중 에피토프는 CDR H2 부위로부터 프로세싱될 수 있다**

[0158] 다중 에피토프가 면역반응 도출을 위해 CDR H2로부터 프로세싱되고 제시될 수 있음을 증명하기 위하여, 난알부민으로부터의 H-2Kb 제한 에피토프 SIINFEKL(DCIB24; 도 21) 및 H-2Kd 제한 B형 간염 에피토프 IPQSLDSWWTSL(DCIB21; 도 33)를 중쇄 가변 영역 내 H2 부위 중으로 공학처리하였다. 이들 면역체 작제물 또한 경쇄 가변 영역의 CDR L1 부위에 I-Ab 제한(TPPAYRPPNAPIL) 에피토프 B형 간염 CD4 에피토프 또는 I-Ad 제한 인플루엔자 헤마글루티닌(FERFEIFPKE) 에피토프를 포함하였다.

[0159] C57B1/6 또는 Balb/c 마우스를 유전자 총을 통해 면역체 DNA로 피내 주사에 의해 1주 간격으로 3회 면역화시켰다. 이어서, 비장세포를 에피토프 특이적 CD8 및 CD4 반응의 존재에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다.

[0160] C57B1/6 면역화 마우스는 고-빈도 SIINFEKL 특이적 반응을 나타내었지만, 헬퍼 에피토프에 특이적인 반응은 낮았다(도 34a). Balb/c 마우스 또한 헬퍼 에피토프에 대해서는 유사한 반응 수준을 보이면서 고-빈도 B형 간염 에피토프 특이적 CD8 반응을 생성하였다(도 34b).

[0161] 이러한 데이터는 CDR H2 부위로부터의 CD8 에피토프의 프로세싱 및 제시가 특이적 에피토프 서열 또는 길이에 의해 제한되지 않음을 시사한다.

[0162] **실시예 5 - 다중 CTL 에피토프는 가변 영역으로부터 프로세싱될 수 있다**

[0163] 에피토프가 CDR 영역으로부터만이 아니라 가변 영역으로부터도 프로세싱되고 제시될 수 있음을 증명하기 위하여, 에피토프를 프레임워크 영역의 일부가 제거된 CDR H1 부위 중으로 편입시켰다.

[0164] 실시예 에피토프는 gp100으로부터의 변형된 HLA-A2 제한 에피토프 IMDQVPFSV(DCIB17; 도 35) 및 Tie-2로부터의 FLPATLTMV(DCIB26; 도 36)이다. 면역체 작제물은 또한 CDR L1 부위내 B형 간염 CD4 에피토프를 포함하였다.

[0165] HLA-A2 트랜스제닉 마우스(HHDII)를 유전자 총을 통해 면역체 DNA로 피내 주사에 의하여 1주 간격으로 3회 면역화시켰다. 이어서, 비장세포를 에피토프 특이적 CD8 및 CD4 반응의 존재에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다.

- [0166] HHDII 마우스는 HepB CD4 에피토프에 대해서는 적정 수준의 반응을 보이면서 고-빈도 gp100 210M 에피토프 특이적 반응을 도출하였다(도 37a). Tie2 에피토프-포함 작제물로 면역화시킨 HHDII 마우스에서의 반응은 고-빈도는 아니었지만, Tie2 에피토프 및 HepB CD4 에피토프 모두에 대해 특이적인 상당한 반응이 생성되었다(도 37b).
- [0167] 본 실시예에서의 데이터는 가변 영역 내에 삽입된 에피토프가 프로세싱되고 제시되어 생체내에서 면역반응을 도출할 수 있음을 시사한다. 이러한 사실이 하나의 에피토프 서열에 제한되지 않음은 자명하다.
- [0168] **실시예 6 - 다중 CTL 반응이 동일 면역체 작제물내 상이한 에피토프로부터 생성될 수 있다**
- [0169] 전술한 HLA-A2 제한 gp100 에피토프 IMDQVPFSV를 또한 동일 작제물의 CDR H2 부위 내 HLA-A2를 통해 제한되는 TRP2 에피토프 SVYDFVWL와 나란히 CDR H1 부위 중으로 공학처리하였다. HepB CD4 에피토프는 CDR L1 부위에 존재하였다(DCIB15; 도 19).
- [0170] HHDII 마우스를 유전자 총을 통해 면역체 DNA로 피내 주사에 의해 1주 간격으로 3회 면역화시켰다. 이어서, 비장세포를 에피토프 특이적 CD8 및 CD4 반응의 존재에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다.
- [0171] 도 38a는 비록 TRP2 특이적 반응의 빈도는 낮지만, gp100 및 TRP2 에피토프 모두에 대해 특이적인 반응이 생성됨을 보여준다. 또한, HepB CD4 펩타이드에 대한 반응도 생성되었다. TRP2 특이적 반응의 친화력도 IFN γ ELISPOT 분석법으로 펩타이드 적정에 의해 연구하였다. 반응의 친화력은 gp100 에피토프에 대해서는 10^{-10} M 내지 10^{-11} M 펩타이드 범위이고, TRP2 에피토프에 대해서는 10^{-9} M 내지 10^{-10} M 펩타이드 범위이다. 대표적인 예를 도 38b에 나타내었다. 시험관내에서 표적 세포를 사멸시킬 수 있는지를 측정하기 위하여, 비장세포를 TRP2 및 gp100 펩타이드-펄스 LPS 블라스트로 시험관내에서 6일 동안 자극시키고, 펩타이드-표지 T2 세포 및 B16F10 HHD 흑색종 세포를 크롬 방출 분석법으로 분석하였다. B16F10 HHD 흑색종 세포주의 특이적 사멸을 대조군 B16F10 흑색종 세포주와 비교하였다. 반응은 또한 대조군과 비교시 펩타이드-표지 T2 세포의 특이적 용해를 보였다(도 38c).
- [0172] *단일 면역체 작제물에서 두 CD8 에피토프의 조합은 에피토프간의 소정의 면역우세를 초래하는 것으로 보인다. 면역우세 에피토프는 MHC 클래스 I에 대해 최대 친화성을 띠는 에피토프이다. gp100 및 TRP2 CD8 에피토프 모두를 포함하는 작제물로 면역화시킨 마우스를 TRP2 CD8 에피토프만을 포함하는 작제물로 면역화시킨 마우스와 비교하였을 때, TRP2 반응의 빈도는 감소한다(도 38d).
- [0173] 이러한 데이터는 에피토프 특이적 면역반응이 두 상이한 CD8 에피토프에 특이적인 동일한 DNA 작제물로부터 생성될 수 있음을 입증한다. 이들은 또한 시험관내에서 항종양활성을 나타낼 수 있다. 그러나, 준우성(subdominant) 에피토프에 대한 반응의 빈도를 지배하는 소정의 면역우세가 존재한다.
- [0174] 별도의 면역체 작제물, 즉 CDRH2 내 TRP2 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB18) 또는 CDRH2내 SIINFELK 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB24)을 가지고 유사한 연구를 수행하였다. 마우스를 DCIB18 또는 DCIB24 단독으로, DCIB18과 DCIB24를 병용하여 동일 부위에 또는 DCIB18과 DCIB24를 동시에, 별도의 부위에 투여하여 면역화시켰다. 면역화는 1주 간격으로 3회 수행하였으며, DNA는 전기천공법과 병행하여 경골근에 i.m. 주사하였다. 생성된 면역반응의 분석은 마우스를 DCIB18 또는 DCIB24 단독으로 면역화시켰을 때 고-빈도 펩타이드 특이적 반응이 도출될 수 있음을 보여준다(도 38e). 마우스를 동일 부위에서 이들 작제물로 면역화시키면 TRP2 펩타이드 특이적 반응의 현저한 소실이 유도된다. 이러한 결과는 SIINFELK 에피토프가 TRP2 에피토프보다 우세함을 시사한다. 마우스를 별도의 부위에서 작제물로 면역화시키면 TRP2 특이적 반응이 회복될 수 있다($p=0.0026$). 이러한 데이터는 면역우세가 IB 면역화에 의해 생성된 면역반응에 영향을 주지만, 이는 공간적으로 분리된 부위에

서의 면역화에 의해 해결될 수 있음을 시사한다.

[0175] 실시예 7 - 비-앵커 잔기 변형은 T 세포 인식을 증진시킬 수 있다

[0176] 선행 실시예는 변형된 gp100 에피토프 IMDQVPFSV가 면역우세하고, HLA-A2에 대해 고-친화성을 띠는 것을 보여준다 (SYFPEITHI 알고리즘을 사용하여 예측되고, T2 안정화 분석법으로 입증됨- 표 5). 야생형 gp100 에피토프 ITDQVPFSV는 면역원성이 아니므로, 야생형 에피토프에 대하여 유사한 HLA-A2 결합 친화성을 갖지만 아울러 면역 원성을 증진시키는 비-앵커 잔기에 변형을 가하였다. 이러한 변형된 에피토프를 면역체 작제물의 CDR H1 부위 중으로 공학처리하고, 야생형 에피토프와 나란히 시험하였다(DCIB37, DCIB40, DCIB41, DCIB42, DCIB43; 도 39-43).

[0177] HHDII 마우스를 유전자 총을 통해 면역체 중쇄 DNA 단독으로 피내 주사에 의해 1주 간격으로 3회 면역화시켰다. 이어서, 비장세포를 에피토프 특이적 CD8 반응의 존재에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. HLA-A2(표 5)에 대한 친화성을 보유하는 야생형 gp100 에피토프에의 두 변형(F7L 및 F7I; DCIB37; 도 39, DCIB40; 도 40)은 야생형 에피토프와 비교시 우수한 에피토프 특이적 면역반응 유도능을 보였다(도 44a).

표 5

항원	에피토프	T2 안정화 분석법 (m.f.i)	SYFPEITHI 스코어
Gp100 (210M)	IMDQVPFSV	23.1	22
Gp100 (wt)	ITDQVPFSV	18.5	18
Gp100 (F7L)	ITDQVPLSV	18	19
Gp100 (F7I)	ITDQVPISV	Nd	18
TRP2	SVYDFVWL	19	21
대조군		7.29	-

[0179] 실시예 8 - 다중 CD4 헬퍼 반응은 생체내에서 면역반응을 도출하도록 프로세싱되고 제시될 수 있다

[0180] CD4 헬퍼 에피토프가 생체내에서 면역반응을 도출하도록 프로세싱되고 제시될 수 있는지를 조사하기 위하여, 상이한 에피토프를 면역체 작제물의 CDR L1 부위 중으로 독립적으로 공학처리하였다. 이들은 인플루엔자 헤마글루티닌으로부터의 I-Ad 제한 에피토프 FERFEIFPKE(DCIB21; 도 33), HBcAg로부터의 I-Ab 제한 에피토프 TPPAYRPPNAPIL(DCIB15; 도 19) 및 gp100로부터의 HLA-DR4 제한 에피토프 WNRQLYPEWTEAQRDL(DCIB35; 도 45)를 포함하였다.

[0181] Balb/c, C57B1/6 또는 HHDII 및 DR4 트랜스제닉 마우스를 유전자 총을 통해 면역체 DNA로 피내 주사에 의해 1주 간격으로 3회 면역화시켰다. 이어서, 비장세포를 에피토프 특이적 CD4 반응의 존재에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 도 46a, b 및 c는 3종의 CD4 헬퍼 에피토프 모두 CDR L1 부위로부터 프로세싱되고 제시되어 생체내에서 에피토프 특이적 면역반응을 도출할 수 있음을 보여준다.

[0182] gp100 HLA-DR4 제한 에피토프도 상이한 CDR로부터의 프로세싱 및 제시에 대하여 또한 시험하였다. 에피토프를 CDRL1(DCIB35; 도 45), CDRH3(DCIB54; 도 29) 또는 CDRL3(DCIB50; 도 47) 중으로 편입시키는 작제물을 사용하여 1주 간격으로 3회 HLA-DR4 트랜스제닉 마우스를 면역화시켰다. 도 46d는 헬퍼 에피토프가 상이한 CDR로부터 효율적으로 프로세싱되어 고-빈도 헬퍼 반응을 도출할 수 있음을 보여준다.

[0183] 실시예 9 - CTL 반응은 부분적으로 분비된 중쇄에 좌우되지만, 헬퍼 반응은 분비된 경쇄를 요하지 않는다

[0184] 고전적으로, CD4 T 세포 에피토프는 외생적으로 획득되는 단백질로부터 프로세싱되고, CD8 T 세포 에피토프는 내생적으로 생산되는 단백질로부터 프로세싱된다. 외생적으로 획득되는 항원으로부터의 교차 제시에 의한 CD8 T

세포-매개성 반응 도출에 대한 증거가 존재한다. 이러한 프라이밍 경로는 또한 CD8 T 세포-매개성 면역반응의 발생에 더욱 효율적인 것으로 제안되어 왔다. 최근에 와서, CD4-매개성 반응에 대한 유사한 발견이 있어왔다. 증가하는 증거는 세포 내 단백질로부터 유도된 CD4 T 세포 에피토프가 MHC 클래스 II에 관하여 프로세싱되고 제시될 수 있음을 시사한다.

[0185] 분비된 면역체가 CD8 및 CD4 T 세포 반응의 유도에 요구되는지를 측정하기 위하여, CDR H1 부위내 HLA-A2 제한 gp100 에피토프 IMDQVPFSV 및 CDR L1 부위내 I-Ab 제한 HepB 헬퍼 에피토프 TPPAYRPPNAPIL를 포함하는 면역체 작제물을 중쇄 또는 경쇄에 대한 리더 서열 없이 만들었다(도 10 및 11).

[0186] HHDII 마우스를 유전자 총을 통해 면역체 DNA로 피내 주사에 의해 1주 간격으로 3회 면역화시켰다. 이어서, 비장세포를 에피토프 특이적 CD8 및 CD4 T 세포 반응의 존재에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다. 반응을 gp100 특이적 CD8 반응에 대하여 분석하였을 때, 면역체 작제물의 중쇄로부터 리더 서열의 제거는 에피토프 특이적 반응의 감소를 초래하였지만, CD4 반응은 영향을 받지 않았음이 관찰되었다(도 48a). 중쇄로부터 리더 서열의 제거는 형질감염된 CHO-S 세포에 의한 중쇄의 분비에 영향을 주었다(도 48b). 경쇄로부터 리더 서열의 제거, 따라서 경쇄 분비의 방지는 에피토프 특이적 CD8 또는 CD4 반응에 영향을 미치는 것으로 보이지는 않는다(도 48c). CD8 반응은 중쇄에 대한 리더 서열의 부재하에서 현저히 감소되었지만, CD4 반응은 영향을 받지 않았다(도 48c 및 d).

[0187] 이러한 데이터는 중쇄의 분비가 CD8 T 세포 반응의 효율적인 유도에 중요함을 암시하며, 이는 CD8 에피토프가 교차 제시가 진행되고 있음을 시사한다. 두 번째로, 이러한 데이터는 CD4 에피토프가 세포 내 면역체로부터 유도되어 면역반응을 도출함을 암시한다.

[0188] **실시예 10 - 단백질 분비의 결여로 인하여 Fc 없이 감소된 CTL 반응**

[0189] 본 실험은 Fc 영역의 존재가 효율적인 면역반응의 확립에 유익한지를 검사한다. Fc 앞에 종결 코돈을 편입시킴으로써, CDR H2 내 H-2Kb 제한 TRP2 에피토프 SVYDFVWL 및 CDR L1 내 I-Ab 제한 HepB CD4 에피토프 TPPAYRPPNAPIL를 포함하는 면역체 작제물(DCIB15)로부터 Fc 영역을 제거하여서, 전사 및 해독을 방지하였다(도 9).

[0190] C57B1/6 마우스를 유전자 총을 통해 면역체 DNA로 피내 주사에 의해 1주 간격으로 3회 면역화시켰다. 이어서, 비장세포를 에피토프 특이적 CD8 및 CD4 T 세포 반응의 존재에 대하여 IFN γ ELISPOT 분석법으로 분석하였다.

[0191] Fc 영역이 결여된 면역체 작제물로 면역화시킨 마우스는 Fc 영역을 포함하는 작제물과 비교하여, 종양 세포주 B16F10를 매우 낮은 수준으로 인식할 수 있었던 낮은 수준의 TRP2 펩타이드 특이적 반응을 생성하였다(도 49a). 다수의 실험으로부터 TRP2 및 HepB 헬퍼 펩타이드 특이적 반응 모두의 분석은 Fc 영역-결여 작제물이 현저히 낮은 TRP2 펩타이드 특이적 반응을 생성함을 증명한다(도 49b). 그러나, HepB 헬퍼 반응은 Fc 영역의 제거에 영향을 받지 않는다(도 49c). 이러한 결과는 분비되지 않고, 그에 따라 직접 제시에 의하여 작용하는 경쇄에서 조력 작용이 가장 잘 작용함을 보여주는 본 발명자들의 이전의 연구결과와 일치한다. 이와는 반대로, CTL 반응은 직접 및 간접 제시 모두에 의해 자극되며, 후자는 Fc 표적화에 의해 이득을 볼 수 있다. 이와 달리, Fc stop 작제물은 절단형 중쇄의 분비 저하를 초래할 수 있는데, 이는 감소된 반응을 설명해 줄 수 있다. 따라서 TRP-2를 코딩하는 면역체를 IgG2(DCIB33) 및 IgG3 불변 영역(DCIB65)으로 공학처리하였으며, 전자는 CD64에 결합하지 않지만 CD32에는 결합할 수 있으며, 또한 마우스에서 Fc 수용체 IV에 결합할 수 있다. 인간 IgG3는 CD32 및 CD64 모두에 결합할 수 있다. 두 면역체 모두 강력한 CTL 반응을 자극하였다(도 49e). 이러한 결과는 Fc 표적화가 간접 제시의 강력한 성분이 아님을 시사한다. 이러한 이슈를 좀더 구체적으로 입증하기 위하여, IgG1의 Fc 표적화 도메인을 등가의 IgG2 도메인으로 치환시켰으며, 그 반대로도 행하였다(DCIB66, 67, 도 15 및 16). 두 작제물 모두 강력한 CTL 반응을 자극하였다(도 49e). 이러한 결과는 회합하지 않고 Fc 결합을 허용할 수 있는 중쇄만을

분비하는 면역체™ 백신에 기인할 수 있다(도 49f 및 g).

- [0192] 실시예 11- 면역체 면역화는 면역반응을 증진하고, 완전 항원으로부터 관찰된 조절을 극복한다. 또한, 면역체 면역화는 새로운 이중 T 세포 에피토프의 동정을 허용한다.
- [0193] 이러한 면역체 면역화는 대부분의 자기 항원과는 상반되게, 조절 에피토프를 발현하지 않는 불활성 담체인 T 세포 에피토프를 코딩하는 인간 항체로 면역화시키는 두 번째 이점을 유도할 수 있다. gp100 에피토프 또는 TRP-2 에피토프를 발현하는 면역체™는 고-빈도, 고-친화력 T 세포 반응을 자극하였고(빈도 $1/10^3$, 친화력 10^{-10} M), 반면에 TRP-2 항원의 완전한 gp100으로의 면역화는 T 세포를 낮은 빈도와 친화력으로 자극하였다(빈도 $1/10^5$, 친화력 10^{-7} M). CD25 고갈은 항원에 대한 반응을 부분적으로 회복시켰지만, 면역체는 여전히 100배 더 우수하였다(도 50a 및 b).
- [0194] 마찬가지로, Fc에 결합된 Tie-2의 처음 200 아미노산을 코딩하는 DNA로의 면역화는 상위 10개의 예상된 에피토프에 대한 면역반응을 자극하는 데 실패하였다. Tie-2의 처음 196 아미노산의 서열을 EpiJen 및 NetCTL 온라인 예측 알고리즘에 투입하였다. 이들 두 방법 모두는 HLA-A*0201 결합 친화성의 예측 외에도, 프로테아좀성 절단 및 TAP 수송을 고려에 넣는다. MHCpred 및 Syfpeithi 알고리즘도 단지 예측된 MHC 결합 친화성을 고려에 넣는 구식 예측 알고리즘의 일례로서 사용되었다. 완전한 Tie-2 분자는 처음 196 아미노산에 존재하는 것들 이상의 면역우세 효과를 발휘할 수 있는 부가적인 CTL 에피토프를 포함할 수 있다. 따라서, Tie-2의 완전한 서열 또한 완전한 분자로부터의 각각의 예측된 에피토프의 랭크를 획득하기 위하여 동일한 알고리즘에 투입하였다. 마우스와 인간에서 상동성이 아닌 펩타이드는 고려에 넣지 않았다. 상이한 여러 예측 알고리즘에 의해 양호한 CTL 에피토프를 나타낼 것으로 일관되게 예측된 나머지 펩타이드 중 6종을 선택하였다. 이들 펩타이드 각각에 대해 상이한 알고리즘으로 획득된 상대적인 스코어를 Z83(이전에 동정된 에피토프)에 대한 결과와 함께 표 6에 요약하였다.
- [0195] 형질감염된 CHO-S 세포로부터의 상등액 분석에 대한 부가적인 데이터는, CTL 에피토프가 CDRH3 또는 CDRL3 중으로 편입된 작제물만이 무손상 항체로서 분비됨을 증명한다(도 20e). 이와는 상반되게, CDRH1 또는 CDRH2 내 임의 에피토프의 편입은 경쇄 내에 아무것도 편입되지 않고 분비되더라도 중쇄의 분비는 허용하였지만, 무손상 항체는 소량 분비되었다. 경쇄중 임의의 하나인 CDRL1 내 임의 에피토프의 편입은 중쇄의 CDRH3 중으로 편입된 에피토프만이 존재하는 경우에도 경쇄의 저-수준 분비를 초래하였다.
- [0196] Tie-2로부터의 예측된 CTL 에피토프를 인식하는 HLA-A*0201 트랜스제닉 마우스에 T 세포 레퍼토리가 존재하는지를 측정하기 위하여, 동물을 네이티브 Tie2 C200hFc DNA 작제물(Ramage *et al*, *Int. J. Cancer* 2004;110:245-250)로 면역화시키고, 비장세포를 펩타이드 특이적 IFN γ 반응에 대하여 ELISPOT 분석법으로 스크리닝하였다. 별도의 마우스 그룹을 PC61 mAb 처리 후에 전술한 바와 같이 DNA 면역화 4일 전에 C200hFc로 면역화시켰다.
- [0197] 네이티브 C200HFc DNA 작제물로 면역화시킨 마우스는, 면역화에 앞서 동물로부터 CD25⁺ 조절 T 세포를 고갈시켰는지 여부와 상관없이, Z83을 인식하는 IFN γ 반응을 증가시키지 않았다. 면역화에 앞서 조절 T 세포를 고갈시키지 않은 동물로부터 시험한 임의의 새로운 펩타이드에 대하여 유의미한 IFN γ 반응은 존재하지 않았으며, 단 예외적으로 1마리의 동물(M3)에서 Z284가 반응을 자극하는 것으로 나타났으며, 평균치는 $69 \text{ SFC}/10^6$ 비장세포였다(도 50c 및 d). DNA 면역화에 앞서 조절 T 세포를 고갈시킨 동물로부터, 2/3 동물(M1 및 M3)이 Z282 펩타이드로의 재자극에 대하여 IFN γ 반응을 보였으며, 평균치는 각각 320 및 $94 \text{ SFC}/10^6$ 비장세포였다. M1 또한 Z285로의 재자극에 대하여 부분적인 반응을 보였으며, 평균치는 $85 \text{ SFC}/10^6$ 비장세포였다.

[0198] CD25⁺ 세포의 부재하에서 네이티브 C200HFc 작제물로 면역화시킨 마우스로부터의 IFN γ 반응이 하나의 우세한 펩타이드쪽으로 기우는 것으로 보아서, Tie-2로부터의 예측된 CD8⁺ 에피토프의 생체내 스크린으로부터의 외관상 모순되는 결과는 면역우세의 결과일 수 있다. 다른 잠재적인 CD8⁺ 에피토프와의 경쟁의 부재하에, Z282 에피토프에의 반응에 이용될 수 있는 T 세포 레퍼토리를 좀더 상세히 조사하기 위하여, HHD 마우스 그룹을 CD25⁺ 조절 T 세포의 존재 또는 부재하에 IFA중의 Z282 펩타이드로 면역화시켰다.

[0199] Z282로 면역화시킨 모든 마우스는, CD25⁺ 조절 T 세포의 존재하에서 면역시켰을 경우에도, 펩타이드 특이적 IFN γ 반응을 증가시켰다. 비-고갈 동물중 마우스 3은 최대 반응으로 증가시켰으며, 평균치는 215 SFC/10⁶ 세포였다. 고갈 동물로부터의 최대 반응은 평균치가 137 SFC/10⁶ 세포인 마우스 2로부터 관찰되었다(도 50e 및 f).

[0200] 펩타이드 면역화에 의해 유도된 반응은 저-빈도로 잔류한다. 완전 항원에 의해 생성된 임의의 조절 영향으로부터 에피토프가 제거될 경우 고-빈도 반응이 생성될 수 있는지를 검사하기 위하여, z282(z12로도 알려져 있음) 에피토프를 L1내 Hep B CD4와 나란히 면역체 작제물의 H1 부위 중으로 공학처리하고(DCIB71, 도 51), 이어서 HLA-A2 트랜스제닉 마우스를 z12 펩타이드 또는 면역체 DNA로 (유전자 총을 통해) 1주 간격으로 3회 면역화시킨 다음, 에피토프 특이적 면역반응의 존재에 대하여 분석하였다. z12 펩타이드로 면역화시킨 모든 마우스는 저-빈도 및 친화력 에피토프 특이적 반응을 나타낸다(도 50g). 그러나, z12 에피토프가 면역체 작제물 중으로 공학처리될 경우, 고-빈도 및 친화력 반응이 모든 마우스에서 유도된다(도 50h).

[0201] 요약하면, 면역화에 앞서 CD25 세포를 고갈시켰을 경우, 면역반응은 Tie2 에피토프의 3/10으로 자극되었다. 마찬가지로, 이들 에피토프 중 하나가 펩타이드로서 제시될 경우, 미약한 면역반응이 생성될 수 있다. 그러나, 이 에피토프가 면역체™ 작제물 내에 제시될 경우, 고-빈도 및 고-친화력 T 세포 반응이 생성되었다. 이들 결과는 CTL 반응을 억제하는 Tie-2의 처음 200 아미노산 내에 T-reg 에피토프가 존재함을 시사한다. 이들 T-reg 또는 이들의 에피토프가 제거될 경우, 면역체 내 제시에 의해 더욱 증진될 수 있는 자기 항원에 대한 반응을 드러나게 할 수 있다.

표 6

[0202] Tie-2로부터의 예측된 HLA-A*0201 제한 CTL 에피토프

명칭 ¹	개시 ²	펩타이드 ³	EpiJen ⁴		NetCTL ⁵		Syfpeithi ⁶		MHCpred ⁷	
			스코어 (IC50 nM)	랭크	스코어	랭크	스코어	랭크	스코어 (IC50nM)	랭크
Z83	124	F L P A T L T M T	---	---	0.73	9 (27)	19	18 (55)	2978	96 (633)
Z282	27	I L I N S L P L V	0.05	1	1.39*	1	29	1 (2)	16	2 (6)
Z283	146	V L I K E E D A V	0.23	2 (5)	0.7	10 (31)	24	5 (11)	89	9 (34)
Z284	64	L M N Q H Q D P L	0.98	3 (7)	0.88*	3 (11)	21	9 (32)	113	11 (51)
Z285	8	V L C G V S L L L	1.19	4 (10)	0.94*	2 (9)	24	4 (10)	242	21 (125)
Z286	34	L V S D A E T S L	---	---	0.74	8 (26)	19	15 (52)	887	65 (349)

Z287	26	L I L I N S L P L	---	---	0.88*	4 (12)	23	7 (16)	607	57 (271)
Z18	(flu)	G I L G F V F T L	0.19	(1)	1.29	(2)	30		419	(87)

1 펩타이드의 명칭.
2 Tie-2 분자 내 아미노산 잔기 개시 위치.
3 펩타이드 서열.
4 EpiJen 웹 서버를 이용한 예측. 스코어는 IC₅₀ nM의 단위로 주어지며, 낮은 스코어는 더 높은 친화성 펩타이드를 나타낸다.
5 NetCTL 1.2 웹 서버를 이용한 예측. 스코어는 3가지 개별 예측 방법의 가중치 합을 나타내고, MHC 결합에 대한 상대적인 가중치는 1이다.
*는 공지의 에피토프에 대해 수득된 데이터 세트로부터의 CTL 에피토프에 대한 컷오프 포인트로서 확인된 역치 0.75 이상의 스코어를 나타낸다.
6 SYFPEITHI 프로그램을 이용한 예측. HLA-A*0201 결합 펩타이드에 대한 최대 스코어는 36이다.
7 MHC 및 TAP에 대한 펩타이드 친화성을 예측하기 위한 MHCpred 누증법을 이용한 예측.
스코어는 IC₅₀ nM의 단위로 주어지며, 낮은 스코어는 더 높은 친화성 펩타이드를 나타낸다. 제시된 IC₅₀ 값은 0.01 내지 5000nM이다. 모든 예측 방법에 대하여, 랭크 값은 에피토프가 196 아미노산 단편으로부터 예측되는 순서를 나타내며, 괄호 안의 값은 완전한 Tie-2 분자로부터의 랭크 예측을 나타낸다. 인플루엔자 A 바이러스의 매트릭스 단백질로부터 유도된 공지의 Z18 CTL 에피토프에 대해 수득된 값을 비교를 위해 포함시켰다.

[0203] 실시예 12 - T 세포 조력작용의 제공에서 이중 Fc의 역할 및 항원 특이적 T 세포 조력작용에 대한 요건

[0204] 고-친화력 T 세포 반응의 자극은 통상적으로 프라이밍 동안 T 세포 조력작용을 요한다. 처음에는 이러한 작용이 경쇄 내에 코딩된 Hep B 이중 헬퍼 에피토프에 의해 제공될 것으로 생각되었다. 실제로 강력한 헬퍼 반응이 이러한 에피토프에 대해 생성되었다. 그러나, 중쇄와 경쇄 모두가 동일 APC에 의해 생성된다고 할 때 비록 hep B 에피토프가 직접 제시를 위한 조력작용을 제공할 수 있었다라도 중쇄는 분비되고 경쇄는 분비되지 않음에 따라, 중쇄는 동일 항원 제시 세포에 의해 포획될 것 같지는 않으므로 간접적으로 제시된 중쇄에 대해 조력작용을 제공할 수 있을 것 같지는 않다. 따라서, 마우스를 중쇄만을 코딩하는 DNA 벡터로 면역화시켰다. 고-빈도, 고-친화력 CTL 반응이 여전히 생성되었다(도 53 a 및 b). 이러한 결과는 조력반응이 요구되지 않거나 또는 마우스에서 이중인 인간 Fc가 연관 이중 조력작용을 제공함을 내포한다. 따라서, 마우스 IgG2a 작제물을 중/경쇄의 분비에 대하여 평가하고(도 49g), 면역반응의 생성에 대하여 스크리닝하였다(DCIB53, 도 54). 비록 여전히 고-빈도, 고-친화력 T 세포 반응을 부여하였음에도 불구하고, 동등한 인간 작제물만큼 반응이 강력하지는 않았는데, 이는 이중 Fc가 연관 조력작용을 제공하였음을 시사한다(도 53c 및 d). 이어서, HLA-DR4 gp100 에피토프를 마우스 IgG2a 작제물(DCIB64, 도 55) 중으로 편입시켜 CTL 생성을 위한 연관 조력작용뿐만 아니라, 종양 환경 내 염증을 자극하기 위한 항원 특이적 T 세포 조력작용을 제공한다. 이들 작제물은 고-빈도 및 고-친화력 CTL 및 헬퍼 반응을 자극한다(도 53e 및 f). 동일 에피토프를 발현하는 hIgG1 작제물이 인간 환자에 사용될 수 있다.

[0205] 실시예 13 - 면역프로테아좀 프로세싱은 면역체 작제물 내 에피토프로부터의 반응 생성에 중요하다

[0206] 면역프로테아좀은 상이한 절단 패턴을 보유함에 따라 자기 항원으로부터 생성된 에피토프의 어레이 변경능을 가지는 것으로 제시되어 왔다. 일부 경우에, 새로운 에피토프가 면역프로테아좀의 상향조절시에 생성되고, 다른 일부 경우에는 에피토프가 파괴된다. 면역프로테아좀은 흑색종 항원, 즉 MelanA/MART-1, gp100²⁰⁹⁻²¹⁷ 및 타이로시나제³⁶⁹⁻³⁷⁷로부터 유도된 수종의 에피토프를 생성할 수 없다는 증거가 있다(Chapiro *et al* 2006. *J Immunol*; 176:1053-61). Chapiro와 그 일행은 gp100 에피토프 프로세싱 및 제시능이 면역프로테아좀의 상향조절과 관계가 있음을 제시하였다. 성숙한 DC가 면역반응의 프라이밍을 담당하는 것으로 생각되며, 면역프로테아좀을 구성적으로 발현하는 것으로 알려져 있다(Macagno *et al*. 2001. *Eur J Immunol*;31:3271-80). 따라서, gp100²⁰⁹⁻²¹⁷ 에피토프를 면역체 작제물의 CDRH1 부위 중으로 공학처리하여, HLA-A2 트랜스제닉 마우스에서의 이의 펩타이드 특이적 면역반응 유도능에 대하여 시험하였다. 이 작제물로부터는 어떠한 펩타이드 특이적 반응도 관찰되지 않았다(도 56). 그러나, 에피토프를 210 위치에 트레오닌 대신에 메티오닌을 갖도록(210 M) 변형시키면, 이러한 변형은 면역프로테아좀에 의한 그의 절단을 방지하며, 에피토프 특이적 반응이 관찰되었다(도 56).

- [0207] VEGFR2로부터 유도된 HLA-A2 제한 펩타이드(aa 773-781 VIAMFFWLL) 및 두 변형된 hTERT 펩타이드(aa 572-580 YLFFYRKSV 및 aa 988-997 YLQVNSLQTV)도 면역체 작제물로부터의 반응 생성에 대하여 시험하였다. 이들 에피토프는 인 실리코(*in silico*) 에피토프 예측에 의해 처음으로 발견되었으며, 따라서 펩타이드 면역화는 프로테아좀 프로세싱을 위한 요건을 무효화시킨다. 그러나, 이들은 숙주 내피/종양 세포의 표면에 제시되는데, 이는 이들이 구성적 프로테아좀을 통해 완전 항원으로부터 프로세싱됨을 시사한다. 면역체 작제물 중으로 공학처리되었을 때 이들 에피토프 중 어느 것도 반응을 생성하지 않았으며, 이는 면역프로테아좀을 통한 프로세싱이 면역반응의 효율적인 생성에 요구될 수 있음을 시사한다.
- [0208] **실시예 14 - 상이한 면역화 방법이 면역체 백신으로부터의 면역반응 도출에 효율적이다**
- [0209] 면역체 백신은 유전자 총을 통해 투여시 고-빈도 및 친화력 CD8 및 CD4 반응의 도출에 효과적인 것으로 나타났다. 이어서, 면역체 백신을 다른 면역화 방법을 이용하여 T 세포 반응의 생성에 대해 시험하였다.
- [0210] C57B1/6 마우스를 CDRH2 내 TRP2 에피토프를 포함하는 면역체 DNA로 i.d. 또는 i.m. 경로를 통해 면역화시켰다. 면역화는 전기천공법과 병행하거나 병행하지 않았으며, 1주 간격으로 3회 수행하였다.
- [0211] 유전자 총으로 면역화시킨 마우스는 고-빈도 TRP2 펩타이드 특이적 반응을 나타낸다. 이들은 전기천공법과 병행하여 i.m. 또는 i.d. 경로를 통해 면역화시킨 마우스에서와 필적한다. 전기천공법의 부재하에서 i.m. 또는 i.d. 경로를 통한 면역화는 저-빈도 TRP2 펩타이드 특이적 반응을 생성하였다(도 57a). 모든 TRP2 펩타이드 특이적 반응은 펩타이드 적정에 의해 측정하였을 때 고-친화력을 띤다(도 57b).
- [0212] **실시예 15 - 면역체 면역화는 백반-유사 탈색을 유도하고, 종양 접종으로부터 보호한다**
- [0213] 면역체 DNA로 면역화시킨 마우스는 고-전이성, 불충분한 면역원성 종양 세포주 B16F10에 대하여 세포독성활성을 나타낼 수 있는 면역반응을 생성하므로, 백신을 생체내에서의 보호 효능에 대하여 시험하였다.
- [0214] 마우스를 유전자 총을 통해 IB DNA(DCIB18; 도 30)로 복부의 제모된 피부에 5주 간격으로 면역화시켰다. 면역화 스케줄 도중, 마우스를 폐에서 전이성 종양을 형성하는 IFN α 를 발현하는 1×10^4 B16F10 세포로 i.v 주사하였다. 최종 면역화 후 다시 털이 자라도록 허용하였을 때, 면역체 DNA로 면역화시킨 마우스는 면역화 부위에서 흰 털의 성장이 관찰되었다(도 58a). 종양 세포 주사 7주 후, 마우스를 참수하고, 내/외 폐 전이의 수를 분석하였다. 면역체 DNA-면역화 마우스는 비-처리 대조군 마우스와 비교하여 폐 전이 개수의 현저한 감소를 나타내었다(도 58b).
- [0215] 마우스를 또한 유전자 총을 통해 IB DNA(DCIB18)로도 3주 간격으로 면역화시켰다. 최종 면역화 7일 후, 마우스를 IFN α 를 발현하는 2×10^4 B16F10 세포로 피하 접종하였다. 마우스를 종양 성장과 생존에 대하여 모니터링하였다. Home Office regulations에 의거 종양 크기가 최대 한계에 도달하면 마우스를 안락사시켰다. 면역체 DNA-면역화 마우스는 현저히 더딘 피하 종양 성장 및 연장된 생존을 나타내었다(도 58c 및 d).
- [0216] CD8⁺ 세포의 고갈이 반응을 폐지하므로 TRP2 특이적 반응은 CD8-매개성이다. CD8 T 세포는 항-종양 면역에서 주요 인자로서 동정되었으며, 본 발명자들의 연구결과는 면역체 DNA 면역화가 마우스 모델에서 생체내 항-종양 면역성을 도출함을 보여준다. 병증을 보이지 않는 모든 면역화된 마우스는 면역화 부위에서 털의 백반-유사 탈색을 나타내었다. 이전에 백반은 종종 마우스에서 종양 보호와 관련이 있고, 전이성 흑색종 환자에서는 성공적인 IL-2 면역요법과 고도로 상관 관계가 있어 왔다(Overwijk *et al*, *Proceedings of the National Academy of*

Sciences of the United States of America 1999;96:2982-7; Lane *et al*, *Cancer Research* 2004;64: 1509-14; Steitz *et al*, *Cancer Immunol Immunother* 2006;55:246-53; Rosenberg & White, *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 1996;19: 81-4).

[0217] **실시예 16 - 면역체 면역화는 종양 성장을 현저히 지연시킨다**

[0218] 면역체 면역화는 이전에 종양 접종으로부터 현저히 보호하는 것으로 나타났다. 이어서, 백신을 치료 세팅에서의 효능에 대하여 시험하였다.

[0219] C57B1/6 마우스에 2×10^4 B16F10 종양 세포로 s.c. 주사하였다. 주사 4일 후, 마우스를 CDRH2 내 TRP2 에피토프를 포함하는 면역체 DNA 또는 대조군 면역체 DNA로 면역화시켰다. 반복 면역화는 종양 주사 후 11일 및 18일째에 수행하였다. 종양 성장은 3-4일 간격으로 모니터링하였다. 면역체-면역화 마우스는 대조군-면역화 마우스와 비교하여, 공격적인 B16F10 흑색종의 성장에 있어 현저한 지연을 보인다(도 59a).

[0220] 또한 덜 공격적인 B16F10 IFN α 종양 세포주를 사용하여 유사한 연구를 수행하였다. C57B1/6 마우스에 2×10^4 종양 세포를 주사하고(s.c.), 14일째에 면역체 DNA 또는 대조군 DNA로 면역화시켰다. 종양 주사 후 21일 및 28일째에 반복 면역화를 수행하였다. 면역체-면역화 마우스는 종양 주사 후 47일째에서, 대조군-면역화 마우스보다 현저히 낮은 종양 성장을 보였다(도 59b). 이전의 데이터는 T 조절 세포의 고갈이 면역반응의 생성을 증진함을 제안하였으며, 따라서 항-종양 연구를 수행하였다. 본 연구에서, 마우스에 2×10^4 B16F10 종양 세포를 주사하고(s.c.), 4, 11 및 18일째에 면역체 DNA 또는 대조군 DNA로 면역화시켰다. 0일에 항-CD25 항체(PC61)의 주사를 통해 마우스에서 T 조절 세포를 고갈시켰다. CTLA-4의 봉쇄가 조절 T 세포의 억제에 유익한 것으로 밝혀졌으므로, 2차 면역화와 동시에 마우스에 항-CTLA-4 항체도 주사하였다. 종양 성장을 모니터링하고, 비록 면역체 면역화가 종양 성장을 현저히 지연시키지만($p=0.0188$) 항-CD25 및 항-CTLA-4 항체 처리로 더욱 증진되었다($p=0.001$)(도 59c). 항-CD25 항체 처리는 면역체-면역화 마우스에서 관찰된 종양 성장을 현저히 지연시키는 것 같지는 않다.

[0221] **실시예 17 - 면역반응은 상이한 벡터 골격으로부터 발현된 면역체 작제물로부터 생성될 수 있다.**

[0222] 면역체 작제물이 상이한 벡터 골격으로부터 발현되었을 때 반응을 분석하였다. CDRH1 내 gp100DR7 에피토프, CDRH2 내 TRP2 에피토프 및 야생형 경쇄를 갖는 CDRH3 내 gp100DR4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물을 이중 발현벡터 DCO_{orig} 및 DCVax 중으로 공학처리하였다(DCIB54, 도 18 및 29). HLA-DR4 트랜스제닉 마우스를 유전자 종을 통해 1주 간격으로 3회 면역화시키고, 반응을 IFN γ ELISPOT 분석법으로 생체외에서 분석하였다.

[0223] CDRH1 및 CDRL3 내 gp100DR7 에피토프, CDRH2 내 TRP2 에피토프, CDRH3 및 CDRL1 내 gp100DR4 에피토프를 포함하는 면역체 작제물(DCIB68, 도 60)을 사용하여 유사한 실험을 수행하였다. 이 작제물을 DCO_{orig}, 및 SV40 프로모터와 DCVax 벡터 골격이 결합된 DCO_{orig} 모두에 공학처리하였다.

[0224] Orig 벡터 내 면역체 작제물(B1-3)로 면역화시킨 마우스는 pVax 벡터 내 면역체 작제물(C1-3)과 비교하여 유사 빈도의 에피토프 반응을 보인다(도 61).

산업상 이용가능성

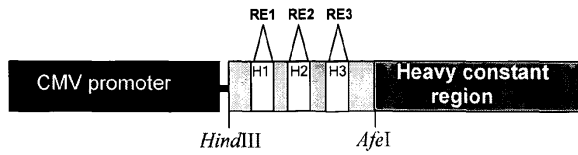
[0225] 요약하면, 면역체 기술은 생체내에서 종양 성장을 효율적으로 방지할 수 있는 비-면역원성 항체 프레임워크로부터 고-빈도 및 친화력 CD8 및 CD4 면역반응을 도출하는 우수한 능력을 지닌다. 이러한 기술은 6종까지의 상이한 항원을 동시에 표적화할 수 있고, 완전 항원 면역원이 사용될 경우 종종 발생하는 조절 T 세포의 문제를 피할

수 있다. 이 기술은 백신접종에 대한 신규 접근법을 제시하며, 면역체 시스템이 여러 다른 암 유형 및 미생물-관련 질환용 다가 백신으로서 사용될 가능성을 보여준다.

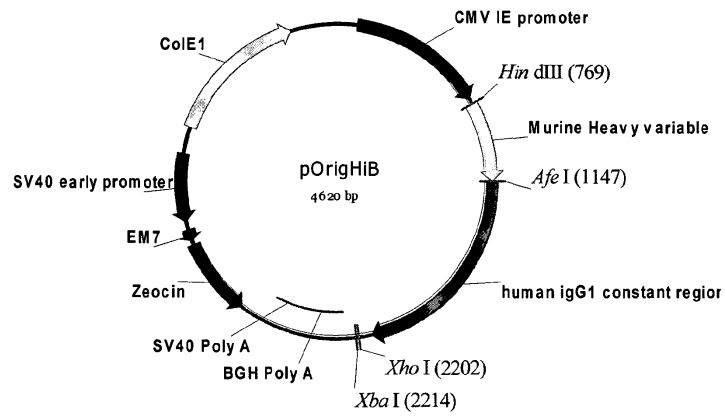
도면

도면1

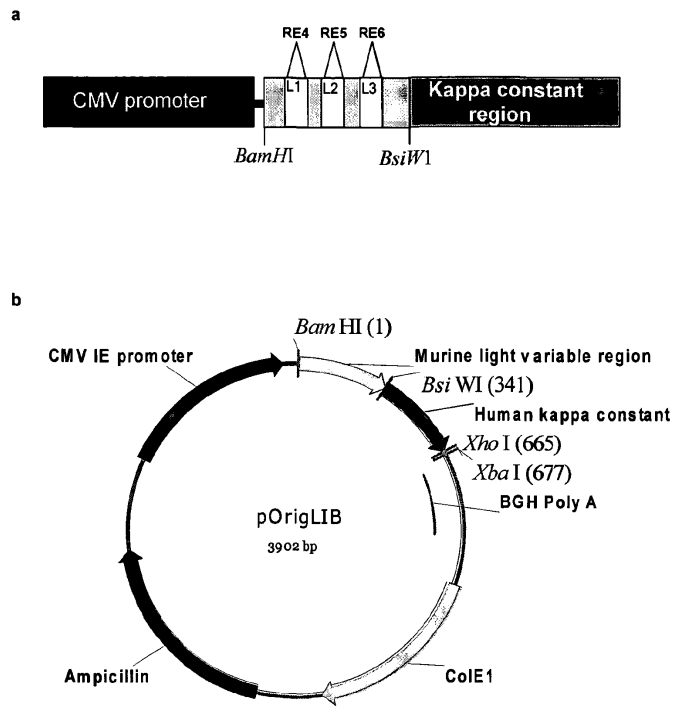
a



b



도면2



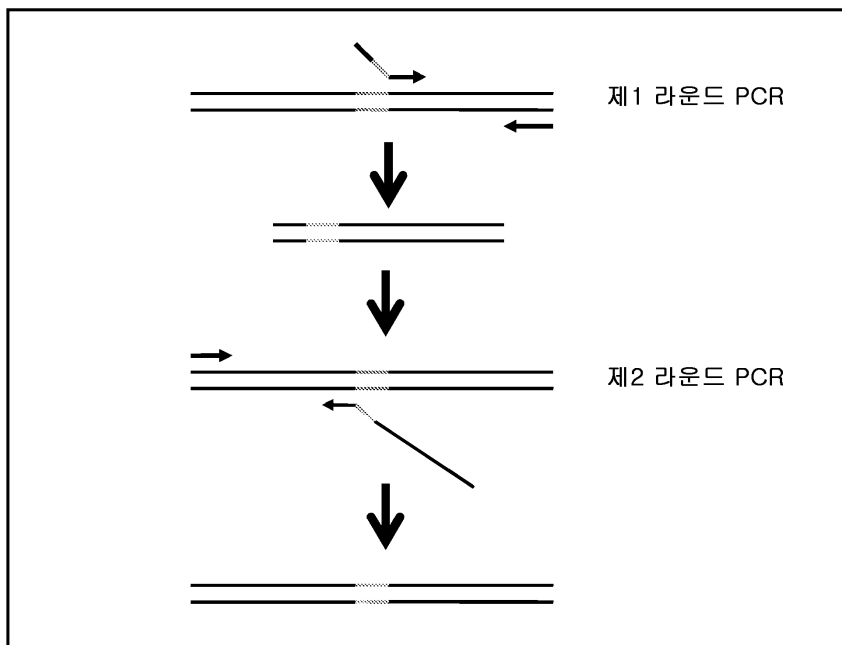
도면4

BamHI

M G W S C I L E F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGCGATGGAGCTGTATCATTCTTCTTGTTAGCAACAGCTACC GGAGTCACCTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
1 -----!
CDR1
L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
CTCTCCCTGCCTGTCACTCTCTGGGAGGCCAGCCTCCACTCTCTTGGAATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGAAACACCTATTTA
91 -----!
CDR2
E W Y L Q K P G Q S P O L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
GAATGGTAGCTCGAGA AACAGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAGTTTCCAACGATTTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCA GT
181 -----!
CDR3
G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H
GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCACAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGAGTGATTACTGCTTTTCAAAGGTTACAT
271 -----!
BsiWI
V P W T F E G G G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E
GTTCCGTGGACGTT CGGTGGAGGCACCAAGTGGAAATCAAGCGTACGGTAGCGGCCCATCTGTGTT CATCTTCCCGCATCTGATGAG
361 -----!
Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A
CAGTGTGAATCTGGA ACTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTCTTATCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGGAAGGTGGATAACGCC
451 -----!
L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K
CTCCAATCGGGTA ACTCCCCAGAGAGTGTCAAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAA
541 -----!
A D Y E K K H V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F N R G E
GCAGACTACAGAAAACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCA ACCACCAGGGCCGTGAGCTCGCCGTCACAAAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAG
631 -----!

C * XhoI
TGTTGACTCGAG
721 -----!-732

도면5



도면6

H1
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACT
G G G L I Q P G G S L R M S C Q A P G K G L E W I A
GGGGGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCT**TGCGCA**GGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCA
Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S R D N S
TACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCACTTTCCAGAGACAATAGC
K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G
AAGAACACCCCTGTATTTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGT
H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S A
CACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGTACCAGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**

H2
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACT
G G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D
GGGGGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCTGTGCAGCCTCTGGATTTCGCTTTCAATACCTATGAC
M S W V R Q A P G K G L E W I A Y I G S G I S R D
ATGCTTGGGTTCGCCAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGT**GGCCAT**TTCCAGAGAC
N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H
AATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACAT
Y G H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S A
TATGGTCACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGTACCAGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**

H3
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACT
G G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D
GGGGGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCTGTGCAGCCTCTGGATTTCGCTTTCAATACCTATGAC
M S W V R Q A P G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y
ATGCTTGGGTTCGCCAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGTAGAACCTAC
Y P D T V K G R F T I S R D N S K N T L Y L Q L N S
TATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCACTTTCCAGAGACAATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGT
L R A E D T A V Y Y C A S R F I G Q G T T V T V S S A
CTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGT**CCCCGGGCA**AGGTACCAGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**

H1/H2
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACT
G G G L I Q P G G S L R M S C Q A P G K G L E W I A
GGGGGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCT**TGCGCA**GGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCA
Y I G S G I S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E
TACATTGGTAGTGGT**GGCCAT**TTCCAGAGACAATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAG
D T A V Y Y C A R H Y V D Y A V D Y W G Q G T
GACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGTCACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGTACC
T V T V S S A
ACGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**

H1/H3
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACT
G G G L I Q P G G S L R M S C Q A P G K G L E W I A
GGGGGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCT**TGCGCA**GGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCA
Y I G S G D R T Y Y P D T V K G R F T I S R D N S
TACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCACTTTCCAGAGACAATAGC
K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A G Q G
AAGAACACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGT**CCCCGGGCA**AGGT
T T V T V S S A
ACCAGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**

H2/H3
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACT
G G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D
GGGGGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCTGTGCAGCCTCTGGATTTCGCTTTCAATACCTATGAC
M S W V R Q A P G K G L E W I A Y I G S G I S R D
ATGCTTGGGTTCGCCAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGT**GGCCAT**TTCCAGAGAC
N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A G
AATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGT**CCCCGGGCA**
Q G T T V T V S S A
CAAGGTACCAGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**

H1/H2/H3
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T
ATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACT
G G G L I Q P G G S L R M S C Q A P G K G L E W I A
GGGGGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCT**TGCGCA**GGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCA
Y I G S G I S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E
TACATTGGTAGTGGT**GGCCAT**TTCCAGAGACAATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAG
D T A V Y Y C A R H Y V D Y A V D Y W G Q G T
GACACAGCCGTGTATTACTGT**CCCCGGGCA**AGGTACCAGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**

도면7

L1
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P L
ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCACTC
S L P V T P G E P A S **EcoRV** L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S
TCCCTGCCCTGTACTCTCTGGGAGCCAGCCTC**GATATC**TGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCC
N R F S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A
AACCAGATTTCTGGGGTCCACAGATTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCT
E D T G V Y Y C F Q G S H V P W T F G G G T K V E I K
GAGGATACCGGAGTGATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAG**CGTACG**

L2
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P L
ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCACTC
S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y
TCCCTGCCCTGTACTCTCTGGGAGCCAGCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGAAACACCTAT
SspI
L E W Y L Q K P G Q S P Q L L F S G S G S G T D F T L
TTAGAAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCT**AATATT**CAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTC
K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W T F G G G
AAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCTGGACGTTCCGTGGAGGC
T K V E I K
ACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**

L3
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P L
ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCACTC
S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y
TCCCTGCCCTGTACTCTCTGGGAGCCAGCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGAAACACCTAT
L E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D
TTAGAAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGAATTTCTGGGGTCCAGAC
HpaI
R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V T K V
AGATTCAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAG**GTTAAC**CAAGGTG
E I K
GAAATCAAG**CGTACG**

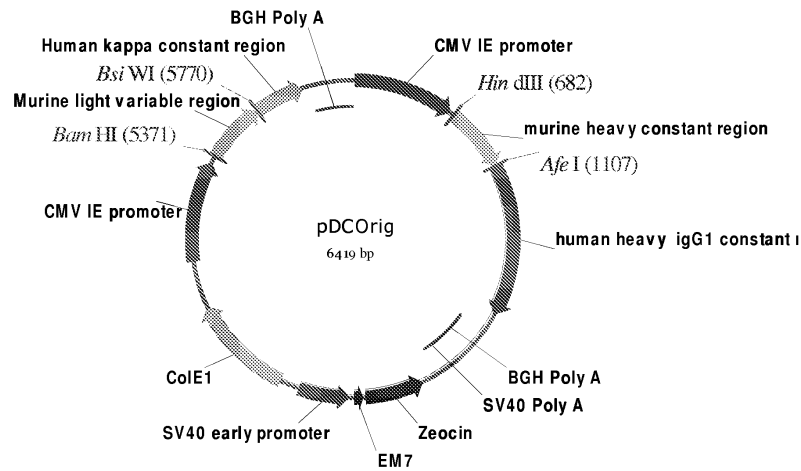
L1/L2
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P L
ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCACTC
EcoRV **SspI**
S L P V T P G E P A S L Q K P G Q S P Q L L F S G S
TCCCTGCCCTGTACTCTCTGGGAGCCAGCCTC**GATATC**TGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCT**AATATT**CAGTGGCAGT
G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H
GGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGATTACTGCTTTCAAGGTTACAT
V P W T F G G G T K V E I K
GTTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**

L1/L3
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P L
ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCACTC
EcoRV
S L P V T P G E P A S L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S
TCCCTGCCCTGTACTCTCTGGGAGCCAGCCTC**GATATC**TGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCC
N R F S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S R V E A
AACCAGATTTCTGGGGTCCACAGATTAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCT
HpaI
E D T G V T K V E I K
GAGGATACCGGAG**GTTAAC**CAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**

L2/L3
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P L
ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCACTC
S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y
TCCCTGCCCTGTACTCTCTGGGAGCCAGCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGAAACACCTAT
SspI
L E W Y L Q K P G Q S P Q L L F S G S G S G T D F T L
TTAGAAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCT**AATATT**CAGTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTC
HpaI
K I S R V E A E D T G V T K V E I K
AAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAG**GTTAAC**CAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**

L1/L2/L3
M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P L
ATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCACTC
EcoRV **SspI**
S L P V T P G E P A S L Q K P G Q S P Q L L F S G S
TCCCTGCCCTGTACTCTCTGGGAGCCAGCCTC**GATATC**TGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCT**AATATT**CAGTGGCAGT
HpaI
G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V T K V E I K
GGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAG**GTTAAC**CAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**

도면8



도면9

중쇄

[illegible]

도면12

AfeI
S A S T K G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A L G C L V
AGCGCTTCCACCAAGGCCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTC
1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90
K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S
AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGCGCTCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCC
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180
S G L Y S L S S V V T V P S S N F G T Q T Y T C N V D H K P
TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCTCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAAGCCC
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270
S N T K V D K T V E R K C C V E C P P C P A P P V A G P S V
AGCAACACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAAATGTTGTGTCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCACCTGTGGCAGGACCGTCAGTC
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360
F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D
TTCCTCTTCCCCCAAACCAAGGACACCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGAC
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 450
P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T F
CCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCAGCTTC
451 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 540
R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P A
CGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCGTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCAGCC
541 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 630
P I E K T I S K T K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K
CCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAACCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCTTGCCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAG
631 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 720
N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N
AACCAGTCCAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAAC
721 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 810
Y K T T P P M L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G
TACAAGACCACACCTCCCATGTGGAGTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGG
811 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 900

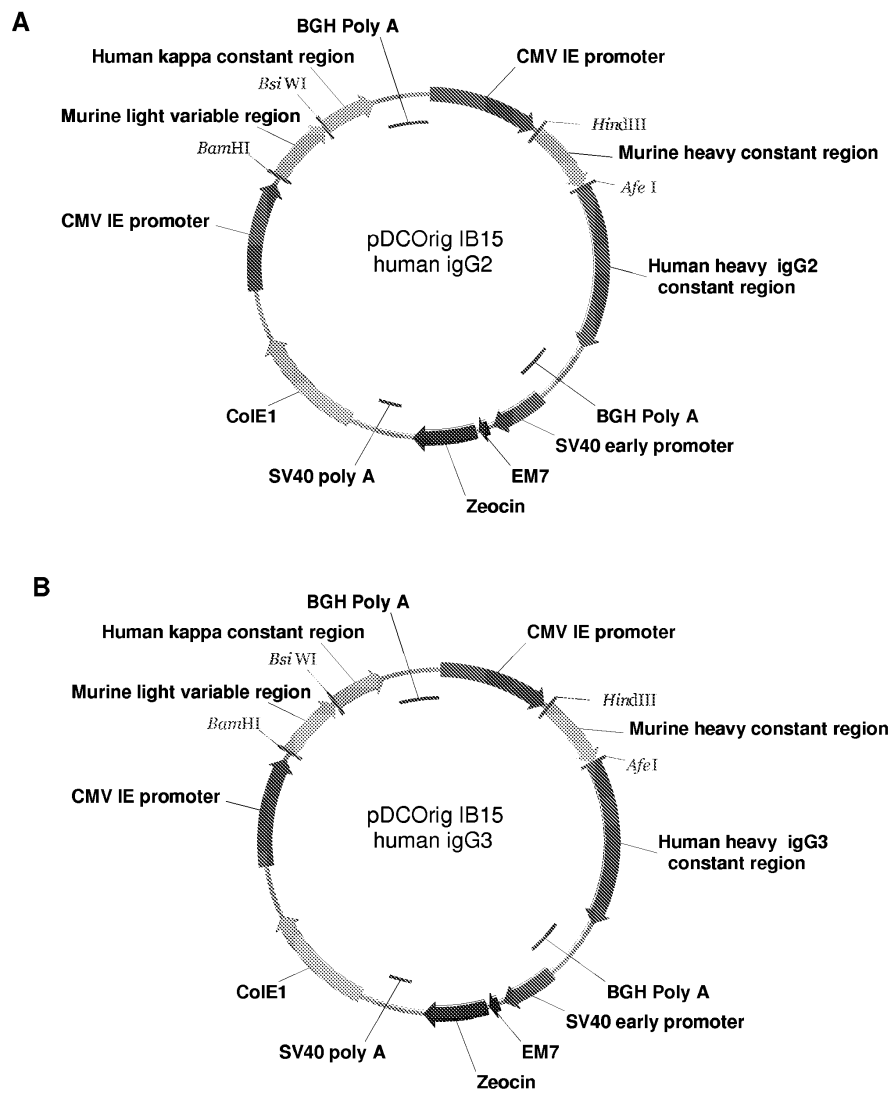
SapI
N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K *
AAGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCTAGGGCTCTGCACAACCACTACACGCA**GAGAGC**CTCTCCCTGTCTCCGGGTAAATGATATCCA
901 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 990

CTAAGGGCGAATTCTGCAGATATCCAGCACAGTGGCGGCCGCTCGAG
991 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1037

도면13

AfeI
S A S T K G P S V F P L A P C S R S T S G G T A A L G C L V
AGCGCTTCACCAAGGCCCATCGGTCTTCCCCGTGGCGCCCTGCTCCAGGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCCTGGTC
1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90
K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S
AAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCC
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180
S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y T C N V N H K P
TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGAATCACAAGCCC
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270
S N T K V D K R V E L K T P L G D T T H T C P R C P E P K S
AGCAACACCAAGGTGGACAAGAGATTGAGCTCAAAACCCCACTTGGTGACACAACCTCACACATGCCACGGTGCCAGAGCCCAATCT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360
C D T P P P C P R C P E P K S C D T P P P C P R C P E P K S
TGTGACACACCTCCCCGTGCCCACGGTGCCAGAGCCCAATCTTGTGACACACCTCCCCATGCCACGGTGCCAGAGCCCAATCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 450
C D T P P P C P R C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D
TGTGACACACCTCCCCATGCCACGGTGCCAGCAGCTGAACCTCTGGGAGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGAT
451 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 540
T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V Q F K W Y V
ACCCTTATGATTTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAAGTGGTACGTG
541 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 630
D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V L
GACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTG
631 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 720
H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K T
CACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAAC
721 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 810
K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V
AAAGGACAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTC
811 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 900
K G F Y P S D I A V E W E S S G Q P E N N Y N T T P P M L D
AAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAGCGGGCAGCGGAGAACAACTACAACACCACGCCTCCCATGTCTGGAC
901 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 990
S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N I F S C S V M H
TCCGACGGCTCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACATCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT
991 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1080
SapI
E A L H N R F T Q K S L S L S P G K *
GAGGCTCTGCACAACCGCTTCACGCA**GAAGAGC**CTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGATATCCATCACACTGGCGGCCGCTCGAG
1081 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1164

도면14



도면15

중쇄

```

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGAGTCCACTCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I M D Q V P F S V W V R Q A P
GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGTCCTGAGAAATGTCCTGACCATTATGGACCAGGTGCCTTCTCCGCTGGGTTCCGCAGGCTCCG
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W L R F T I S R D
GGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGTGTATGATTTTTTTGTGTGGCTCGATTACCATTTCCAGAGAC
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G H Y
AATAGCAAGAACACCTGTATTGCAATGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGATTACTGTGCGAGACATTATGGTCACTAC
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A
GTGGACTATGCTGGACTACTGGGTCAGGTACACGGTCACCGTCTCCAGCGCTTCCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCTCGGA
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 450

P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N
CCCTCTCCAAAGACACCTCTGGGGGCACAGCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCGCAACCGGTGACGGTGTCTGGGAAC
451 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 540

S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P
TCAGGCGCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGCTGTCTCAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCG
541 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 630

S S S L G T Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S
TCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCT
631 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 720

C D K T H T C P P C P A P P V A G G P S V F L F P P K P K D
TGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTCCAGTCCGGGGGACCGTCACTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGAC
721 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 810

T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V
ACCCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGAGCTGAGCCACGAAGACCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTC
811 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 900

D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L
GACGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTCTG
901 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 990

H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A
CACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCC
991 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1080

K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V
AAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCTGACCTGACCTGGTC
1081 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1170

K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D
AAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGAC
1171 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1260

S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H
TCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTTCTCATGCTCCGTGATGCAT
1261 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1350

E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K *
GAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAATGATCTAAAGGGCGAATTGCGCCCTTAAGGGCGAATT
1351 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1440

```

도면16

중쇄

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I M D Q V P F S V W V R Q A P
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGTCCCTGAGAATGTCCTGACCATATGGACCAGGTGCCTTCTCCGTGTGGTTCCGCAGGCTCCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W L R F T I S R D
 GGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGTGTTTATGATTTTTTTGTGGCTCGATTACCATTTCCAGAGAC
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G H Y
 AATAGCAAGAACACCTGTATTGTCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCGAGACATTATGGTCACTAC
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S A S T K G P S V F P L A
 GTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGTCAAGGTACACGGTCACCGTCTCCAGCGCTTCCACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCTCGGC
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 450

AgeI
 P C S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N
 CCTCTCCAGGAGCACCTCCGAGCACACGGCCCTGGGTGCTTGGTCAAGGACTACTCCCCGACCGGTGACGGTGTCTGGGAAAC
 451 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 540

S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P
 TCAGGCGCTCTGACAGCGCGCTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCG
 541 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 630

S S N F G T Q T Y T C N V D H K P S N T K V D K T V E R K C
 TCCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTAGATCACAAGCCAGCAACCAAGGTGGACAAGACAGTTGAGCGCAATGT
 631 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 720

AhdI
 C V E C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K D T L M
 TGTGTCCGAGTGCCACCGTGCCAGCACCAAGACTGTTAGGAGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATG
 721 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 810

I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V Q F N W Y V D G V
 ATCTCCCGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG
 811 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 900

E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V V H Q D
 GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCACGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTTCCGTGTGGTACGCTCCTCAGCGTCTGTGACCAGGAC
 901 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 990

W L N G K E Y K C K V S N K G L P A P I E K T I S K T K G Q
 TGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAGGCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAACCAAGGGCAG
 991 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1080

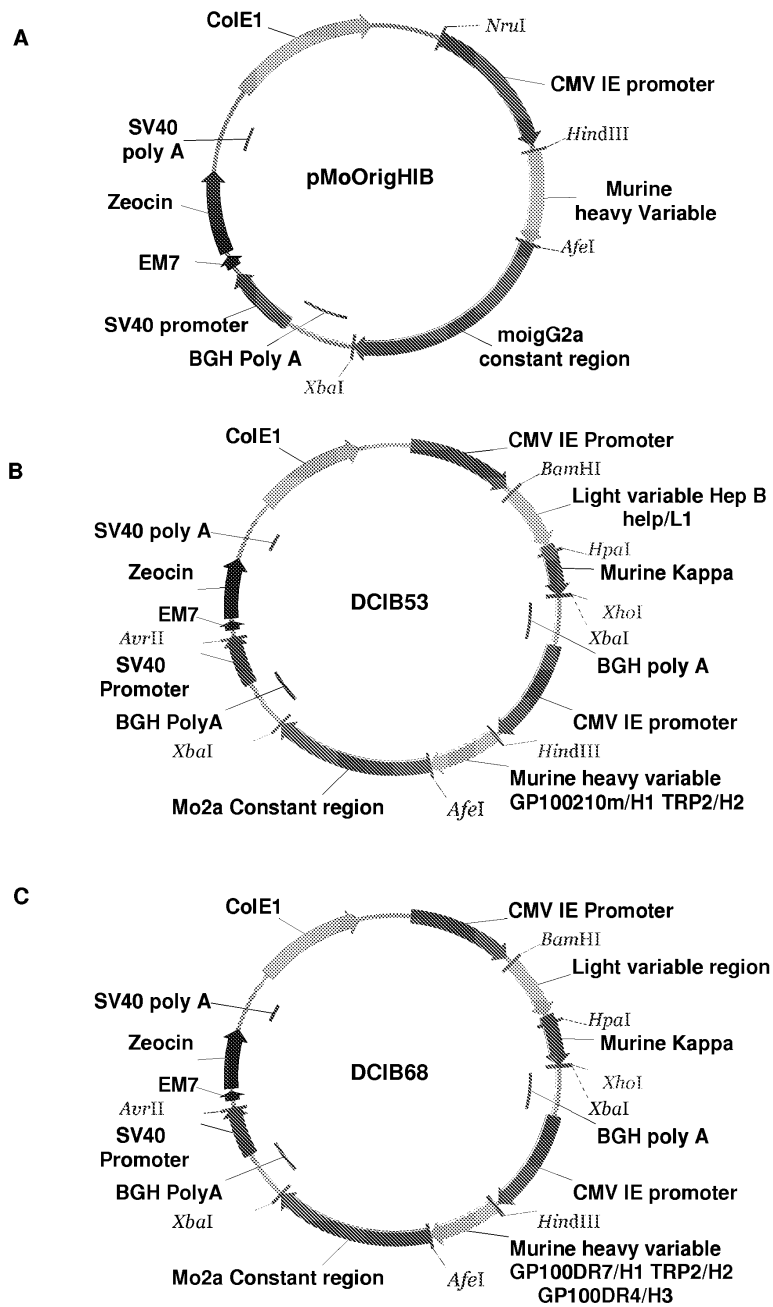
P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G F
 CCCCAGAAACACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTC
 1081 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1170

Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L D S D G
 TACCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAGCAACTACAAGACCACACCTCCCATGCTGGACTCCGACGGC
 1171 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1260

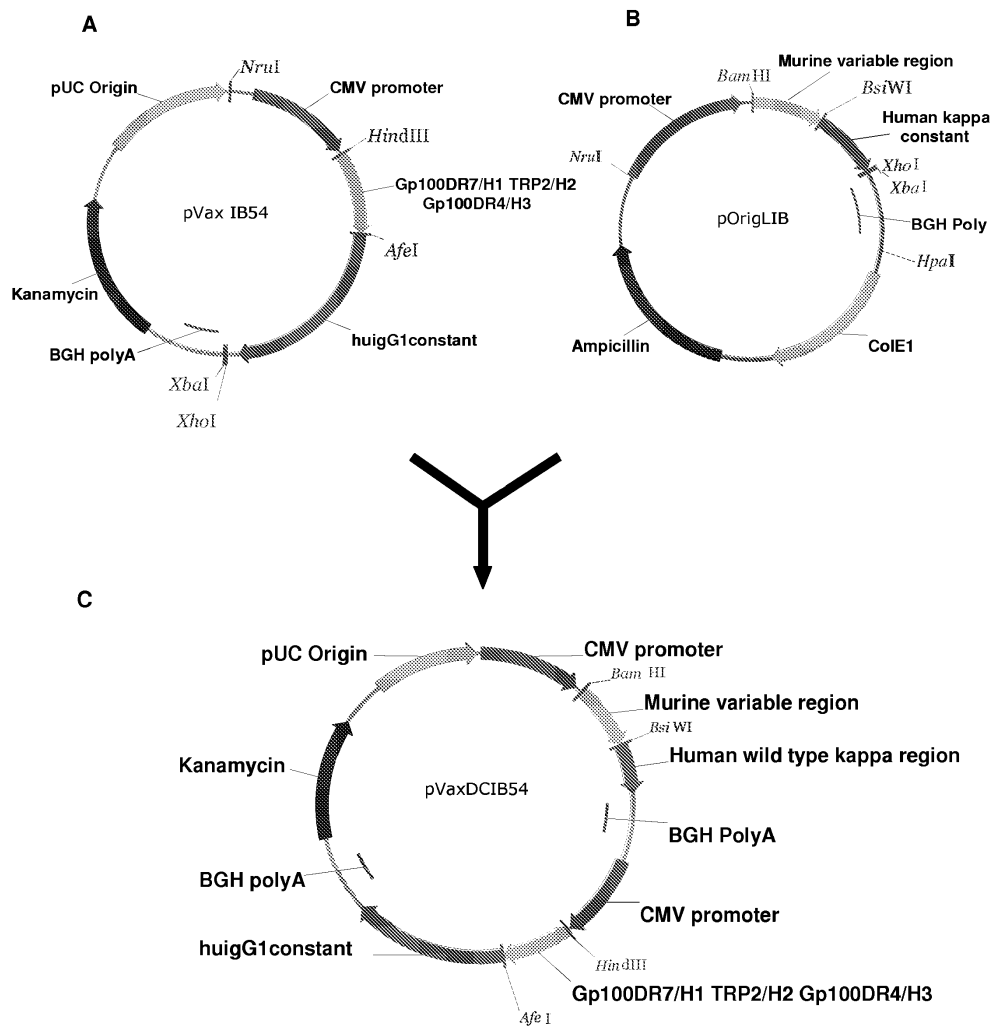
S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L
 TCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTG
 1261 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1350

H N H Y T Q K S L S L S P G K *
 CACAACCACTACACGAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATGATATCCACTAAGGGCGAATTCTGCAGATATCCAGCACAGTGGC
 1351 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 1440

도면17



도면18



도면19

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGG
1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

      G G L I Q P G G S L R M S C T I M D Q V P F S V W V R Q A P
GGAGGCTTAATCCAGCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGACCATTATGGACAGTGCCTTTCTCCGTGTGGGTTCCGCAGGCTCCG
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

      G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W L R F T I S R D
GGGAAGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGTGTTTATGATTTTTTTGTGTGGCTCCGATTCAACATTTCCAGAGAC
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

      N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G H Y
AATAGCAAGAACACCCCTGATTTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCGAGACATTATGGTCACTAC
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                AfeI
      V D Y A V D Y W G G Q G T T V T V S S
GTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGTACCACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 417
  
```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

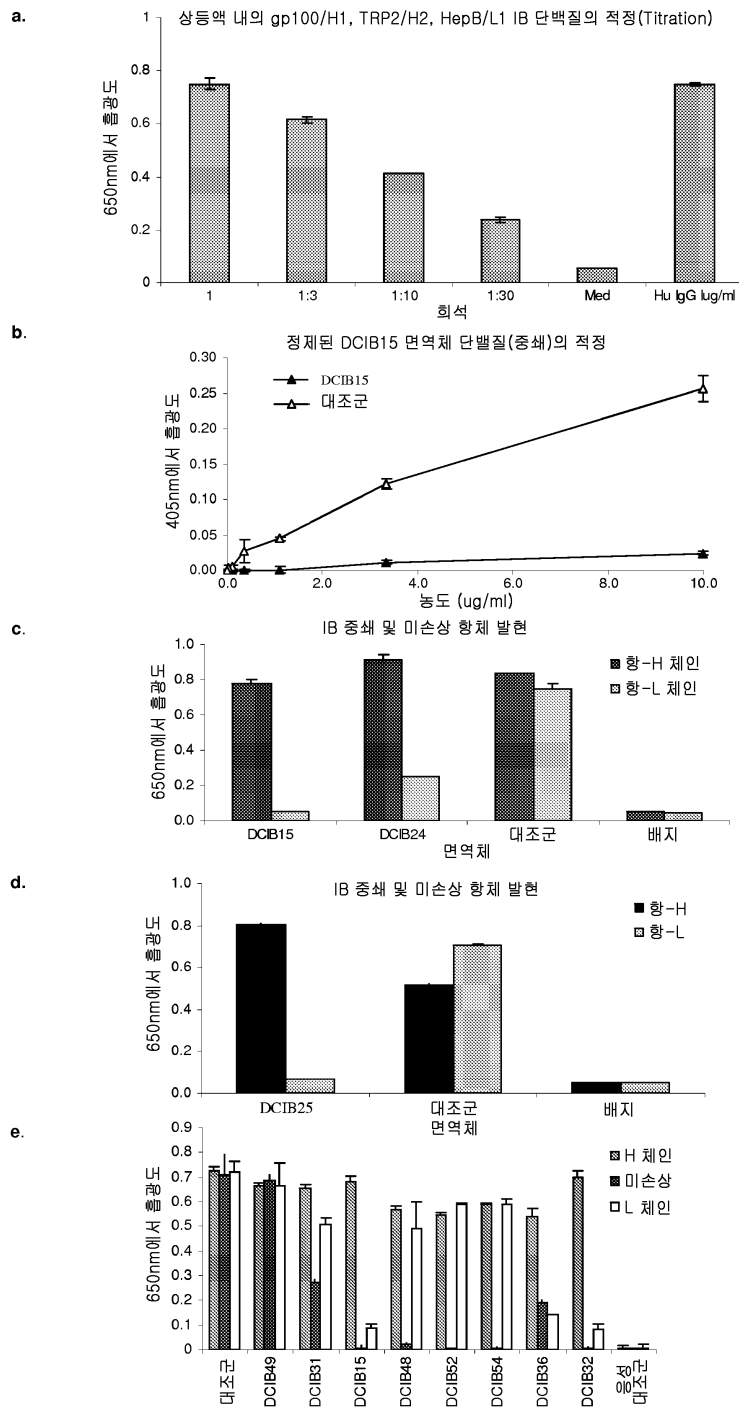
      L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
CTCTCCCTGCCTGTCACTCTGGGAGCCAGCCTCGATCTCTTGCACTCCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

      L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
CTGCAGAAACACGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTCTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGTGGCAGTGGA
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

      S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
TCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

      T F G G G T K V E I K BsiWI
ACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399
  
```

도면20



도면21

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

    G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
    GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTGCTTTCAATACCTATGACATGCTTGGGTCCG
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

    Q A P G K G L E W I A Y I G S G G S I I N F E K L R F T I S
    CAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGTATAATCAACTTTGAAAACTGCGATTCCATTTCG
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

    R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G
    AGAGACAATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGTT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                AfeI
    H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
    CACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 423

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI    M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

    L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
    CTCTCCCTGCCTGTACTCTGGGAGCCAGCCTCGATCTCTGGACTCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

    L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
    CTGCAGAAACCAGGCAGTCTCCACAGTCTCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTGAGTGGCAGTGGG
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

    S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
    TCAGGGACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

    T F G G G T K V E I K BsiWI
    ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

```

도면22

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I M D Q V P F S V W V R Q A P
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAAATGTCCTGACCATTTATGGACCAGGTGCCTTTCTCCGTGTGGGTTCCGGCAGGCTCCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W L R F T I S R D
 GGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGTGTATGATTTTTTTGTGTGGCTCCGATTACCATTTCCAGAGAC
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G H Y
 AATAGCAAGAACACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCGAGACATTATGGTCACTAC
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 GTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGTACACGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 417

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
 CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGGAGCCAGCTCCATCTCTTGCGAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAAATGGAAACACCTATTTA
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
 GAATGCTACCTGCAGAAACAGGGCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCACT
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C T P P A Y
 GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCACTCCTCCAGCTTAT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

R P P N A P I L F G G G T K V E I K **BsiWI**
 AGACCACCAAAATGCCCTATCCTATTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 420

도면24

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

  G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCCTGTCAGCCTCTGGATTTCGCTTTCAATACCTATGACATGTCTTGGGTTCGC
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

  Q A P G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F
CAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTG
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

  T I S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R
ACCATTTCCAGAGACAATAGCAAGAACACCTGTATTTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCCCCGA
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                AfeI
  S V Y D F F V W L W G Q G T T V T V S S
AGTGTTTATGATTTTTTTGTGTGGCTCTGGGGCCAAGGAACACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 423

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI    M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTGATGACCCAATCTCCA
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

  L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGAGCCAGCCTCCATCTCTTGCGAGTCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTA
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

  E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
GAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCACT
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

  G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C T P P A Y
GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCACTCCTCCAGCTTAT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

  R P P N A P I L F G G G T K V E I K BsiWI
AGACCACCAAATGCCCTATCCTATTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 420

```

도면25

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

    G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
    GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAAATGCTCTGTCAGCCTCTGGATTTCGCTTTCAATACCTATGACATGCTTTGGGTTTCGC
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

    Q A P G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F
    CAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTTC
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

    T I S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R
    ACCATTTCCAGAGACAATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGA
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                AfeI
    H Y G H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
    CATTATGGTCACTACGTGGACTACTGTGGACTACTGGGTCAGGAACCAACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 432

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI    M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

    L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
    CTCTCCCTGCCTGTCACCTCTGGGGAGCCAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTA
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

    E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
    GAATGGTACCTGCAGAAACAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTTCAGT
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

    G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C S V Y D F
    GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCAGTGTATTGATTTT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

F V W L F G G G T K V E I K BsiW1
    TTTGTGTGGCTTTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 420

```

도면26

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

    G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
    GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCTGAGAAATGTCCTGTGCAGCCTCTGGATTGCTTTCAATACCTATGACATGCTTGGGTTCCG
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

    Q A P G K G L E W I A Y I G S G G   S V Y D F F V W L R F T I
    CAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGTAGTGTATTATGATTTTTTGTGTGGCTCCGATTACCCATT
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

    S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R   W N
    TCCAGAGACAATAGCAAGAACACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCCCGTGGAAAC
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                AfeI
    R Q L Y P E W T E A Q R L D   W G Q G T T V T V S S
    AGGCAGCTGTATCCAGAGTGGACAGAAGCCAGAGACTTGACTGGGGCCAAGGAACCACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 438

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
    GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTGATGCCCAATCTCCA
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

    L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
    CTCTCCCTGCCTGCTACTCCTGGGAGGCCAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGAAACACCTATTTA
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

    E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
    GAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCACT
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

    G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H
    GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACAT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                BsiWI
    V P W T F G G G T K V E I K
    GTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 408

```


도면27

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

  G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGTGCAGCCTCTGGATTGCTTCAATACCTATGACATGTCTTGGGTCGC
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

  Q A P G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F
CAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTG
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

  T I S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R
ACCATTTCCAGAGACAATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCCGA
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                     AfeI
  T P P A Y R P P N A P I L W G Q G T T V T V S S
ACTCCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGGGCCAAGGAACACGATCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 435

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCAATCTCCA
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

  L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGAGCCAGCCTCCATCTCTTGCAAGTCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTA
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

  E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
GAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTCTTCTGGGGTCCCAGACAGATTGAGT
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

  G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H
GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACAT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                     BsiWI
  V P W T F G G G T K V E I K
GTTCCGTGGACGTTCCGTTGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 408

```

도면28

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

  G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGTGCAGCCTCTGGATTTCGCTTTCAATACCTATGACATGCTTTGGGTTTCG
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

  Q A P G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W L R F T I
CAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGIGTTTATGATTTTTTGTGTGGTCCGATTACCCATT
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

  S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R T P
TCCAGAGACAATAGACCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGCTCGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCCCGAATCCT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                     AfeI
P A Y R P P N A P I L W G Q G T T V T V S S
CCAGCTTATAGACCACCAAAATGCCCTATCCTATGGGGCCAAGGAACACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 429

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTTGTATGACCCAATCTCCA
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

  L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGGAGCCAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTA
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

  E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
GAATGGTACCTGCAGAAACAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTCCTGGGGTCCCAGACAGATTCAGT
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

  G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H
GGCAGTGGATCAGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTCAAGGTTACAT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                     BsiWI
V P W T F G G G T K V E I K
GTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 408

```

도면29

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C G T G R A M L G T H T M E V T V
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAAATGCTCTGGGGACAGGCAGGGCAATGCTGGGCACACACCATGGAAGTAAGTGTG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

Y H W V R Q A P G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W
 TACCATTGGGTTCCGGCAGGCTCCGGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGTGTTTATGATTTTTTGTGTGG
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

L R F T I S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y
 CTCCGATTACCATTTCCAGAGACAATAGCAAGAACCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTAC
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

C A R W N R Q L Y P E W T E A Q R L D W G Q G T T V T V S S
 TGTGCCCGATGGAACAGGCAGCTGTATCCAGAGTGGACAGAAAGCCAGAGACTTGAGTGGGGCCAAGGTACACGGTCACCGTCTCCAGC
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 450

AfeI

GCT

451 --- 453

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
 GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTTGATGACCCAACTCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
 CTCTCCCTGCCTGTACTCTCTGGGAGCCAGCCTCCATCTCTTGCAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGGAAACACCTATTTA
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
 GAATGGTACCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGATTGAGT
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H
 GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAGAGGTTACAT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

BsiWI

V P W T F G G G T K V E I K
 GTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGAAATCAAGCGTACG
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 408

도면30

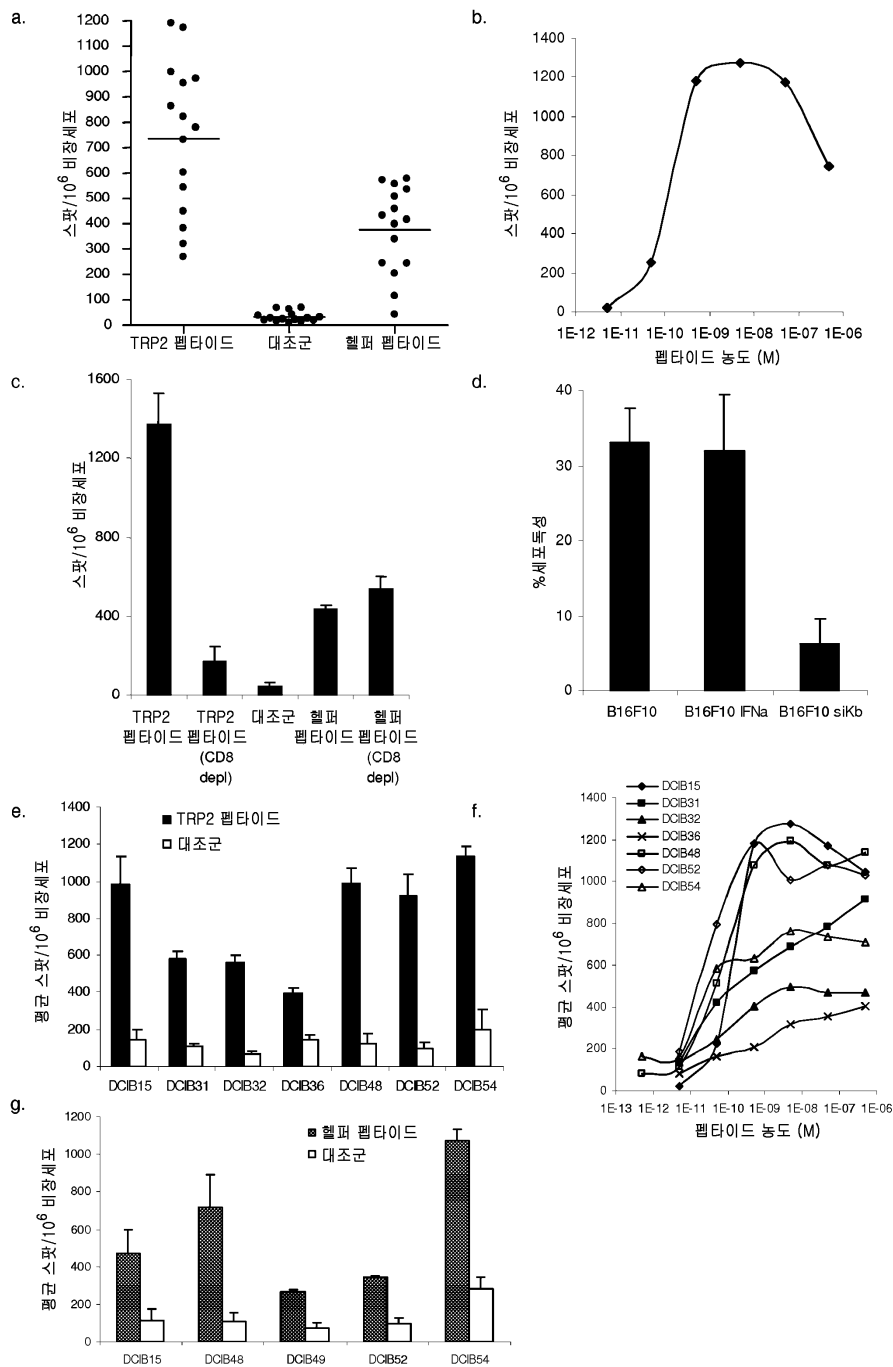
중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90
 G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGTCCTGAGAATGTCCTGTGCAGCCTCTGGATTGCGCTTTCAATACCTATGACATGTCTTGGGTTTCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180
 Q A P G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W L R F T I
 CAGGCTCCGGGAAGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGTGTATGATTATTTTGTGTGGCTCCGATTACACATT
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270
 S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y
 TCCAGAGACAATAGCAAGAACACCTGTATTGGCAATTGAACAGCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTAT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360
 G H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 GGTCACACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACACGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 426
AfeI

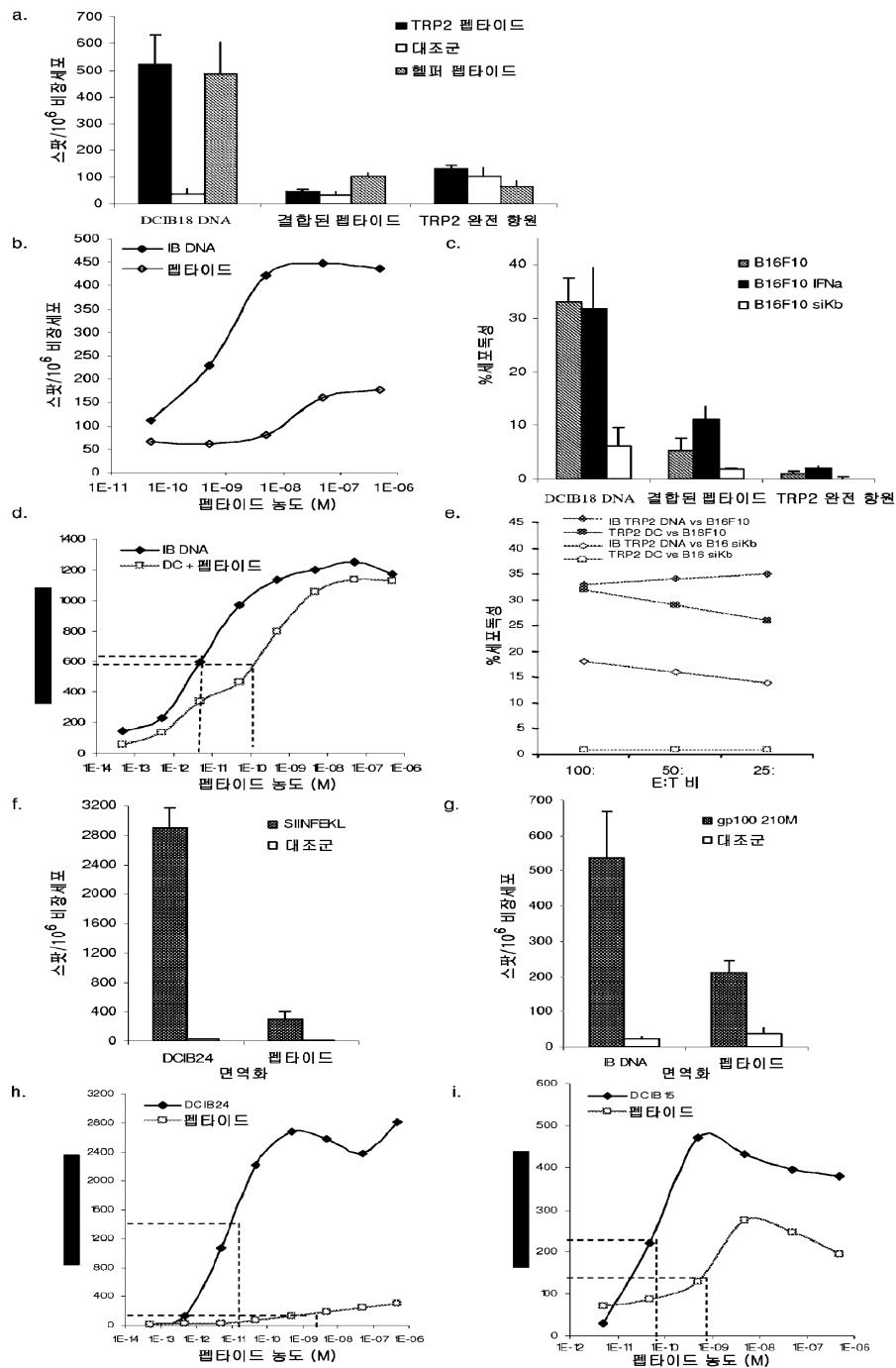
경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTGTGATGACCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90
 L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
 CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGAGCCAGCCTCGATCTCTTGCACTCCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180
 L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
 CTGCAGAAACCAAGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTCTCTGGGGTCCCAGACAGATTCACTGGCAGTGA
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270
 S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
 TCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360
 T F G G G T K V E I K **BsiWI**
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

도면31



도면32



도면33

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

1: G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCTGTGCAGCCTCTGGATTGCTTTCAATACCTATGACATGTCTTGGGTTCGC
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

1: Q A P G K G L E W I A Y I G S G G I P Q S L D S W W T S L R
 CAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTATACCGCAGAGCTAGACTCGTGGTGGACTTCTCTCCGA
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

1: F T I S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A
 TTCACCATTTCCAGAGACAATAGCAAGAACACCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGATTACTGTGCA
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 1: R H Y G H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 AGACATTATGGTCACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACACGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 435

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTGATGACCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C F E R F E I F P K E W Y L Q K
 CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGAGCCAGCCTCCATCTCTTGCTTTGAAAGGTTTGAGATATTTCCCAAGGAATGGTACCTGCAGAAA
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

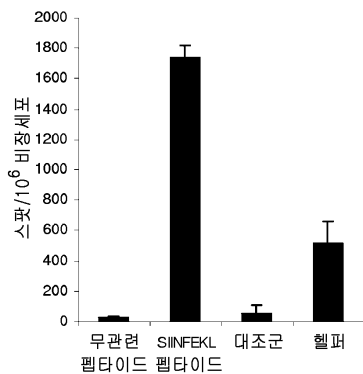
P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G S G T
 CCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTCTTCTGGGGTCCAGACAGATTCACTGGCAGTGGATCAGGGACA
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W T F G
 GATTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGGACGTTTCGGT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

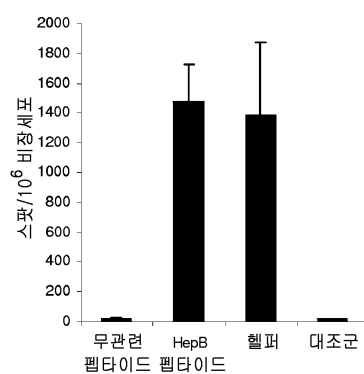
G G T K V E I K **BsiWI**
 GGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----! 390

도면34

a.



b.



도면35

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

      G G L I Q P G G S L R M S C T I M D Q V P F S V W V R Q A P
GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGCACCATTAATGGACCAGGTGCCTTCTCCGCTGTTGGTTCGGCAGGCTCCG
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

      G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S
GGGAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCAATTTC
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

      R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G
AGAGACAATAGCAAGAACACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                AfeI
      H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
CACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACCAAGGTCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 423

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI    M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCAATCTCCA
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

      L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGGAGCCAGCCTCGATCTCTTGCCTCCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

      L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
CTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGTGCAGTGGG
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

      S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
TCAGGGACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

      T F G G G T K V E I K BsiWI
ACGTTCCGTTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

```

도면36

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
 AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C F L P A T L T M V W V R Q A P G
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGCTTCCCTACCAGCTACTTTAACTATGGTTTGGGTCGGCAGGCTCCGGGG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S R
 AAGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCATTTCCAGA
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G H
 GACAATAGCAAGAACACCCCTGTATTTCGAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGTCAC
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 TACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGTCAAGGAACACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 420

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
 GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
 CTCTCCCTGCCTGTCACTCTCGGGAGCCAGCCTCGATCTCTTGCACTCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

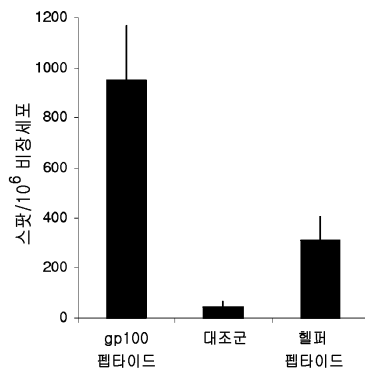
L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
 CTGCAGAAACAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGTGGCAGTGGG
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
 TCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

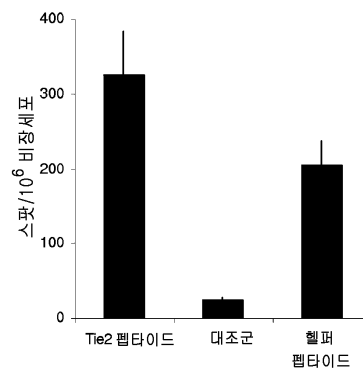
T F G G G T K V E I K **BsiWI**
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

도면37

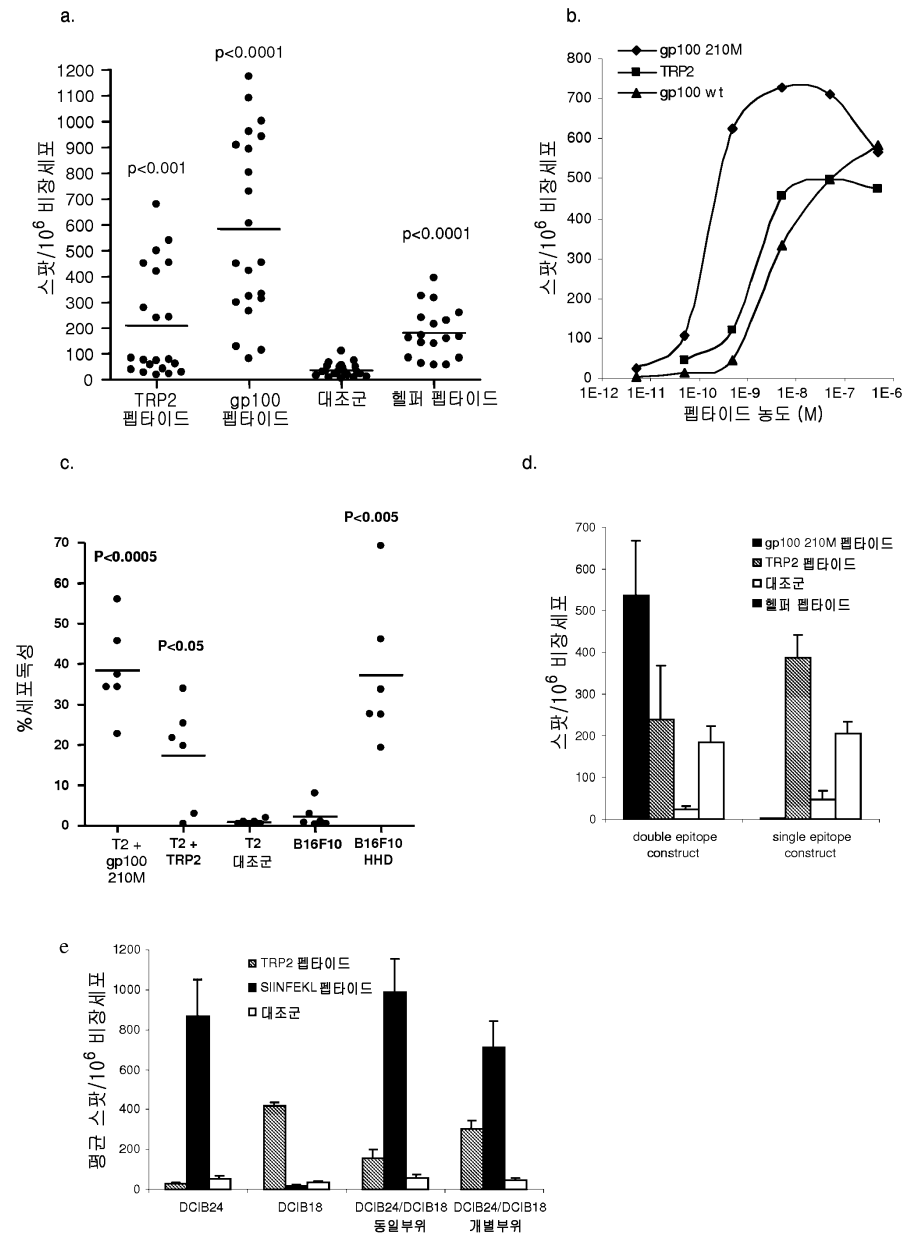
a.



b.



도면38



도면39

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I T D Q V P I S V W V R Q A P
 GGAGGCTTAATCCAGCTGGAGGCTCCCTGAGAATGCTCTGACCATTAAGTACCAGGTGCCTATCTCCGTGTGGGTTCCGGCAGGCTCCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S
 GGAAGGGGTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCATTTCC
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G
 AGAGACAATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI

H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 CACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACCCAGTCCACCGTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 423

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTGATGACCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
 CTCTCCCTGCCTGCTACTCTCTGGGAGCCAGCTCGATCTCTTGCACTCCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
 CTGAGAAACCCAGGCCAGCTCTCCAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCACTGGCAGTGGA
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
 TCAGGGACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

BsiWI

T F G G G T K V E I K **CGTACG**
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

도면40

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII   M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

      G G L I Q P G G S L R M S C T I T D Q V P I S V W V R Q A P
GGAGGCTTAATCCAGCTGGAGGCTCCCTGAGAATGTCCTGCACCATTAAGTACCAGGTGCCTATCTCCGTGTGGGTTCCGGCAGGCTCCG
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

      G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S
GGGAAGGGGTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCATTTCC
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

      R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G
AGAGACAATAGCAAGAACACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

                                     AfeI
      H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
CACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACACCGTCCCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 423

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI     M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTGATGACCAATCTCCA
1  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

      L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGGAGCCAGCTCGATCTCTTGGACTCCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
91  -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

      L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
CTGCAGAAACCCAGGCCAGCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGTGGCAGTGGA
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

      S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
TCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

      T F G G G T K V E I K BsiWI
ACGTTCCGTTGGAGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

```

도면41

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I T D Q V P F S V W V R Q A P
 GGAGGCTTAATCCAGCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGCACCATTAAGTACCAGGTGCCTTCTCCGTGTGGGTTCGGCAGGCTCCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S
 GGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCATTTCC
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G
 AGAGACAATAGCAAGAACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 CACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACCCAGCTACCGTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 423

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
 CTCTCCCTGGCTGTCACTCCTGGGGAGCCAGCTCGATCTCTTGCACCTCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
 CTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTCTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGTGGCAGTGGG
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
 TCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCTGG
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

T F G G G T K V E I K **BsiWI**
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

도면42

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I T D Q V P Y S V W V R Q A P
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCTGCAACCACTTACTGACCAGGTGCCTTACTCCGTGTGGGTTCGGCAGGCTCCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S
 GGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGATAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTCAACATTTC
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G
 AGAGACAATCAAGAACACCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 CACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACCAAGGTACCGTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 423

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTGATGACCCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
 CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGAGCCAGCCTCGATCTCTTGCACTCCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
 CTGCAGAACCAAGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGTGGCAGTGGG
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
 TCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

T F G G G T K V E I K **BsiWI**
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

도면43

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I T D Q L P F S V W V R Q A P
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAAATGCTCTGACCAATTACTGACCAGCTGCCITTTCTCCGTGTGGGTTCGGCAGGCTCCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S
 GGAAGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTGTAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTCAACATTTC
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G
 AGAGACAATAGCAAGAACACCCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI

H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 CACTACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACCAAGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 423

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCC ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTGATGACCCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
 CTCTCCCTGCCTGTCACTCTGGGAGGCCAGCCTCGATCTCTTGCACCTCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

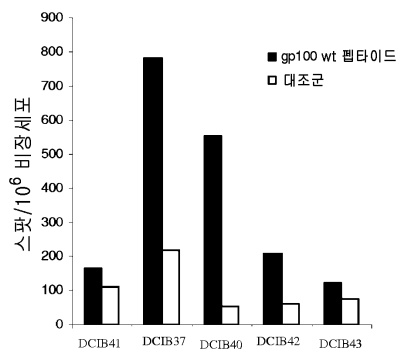
L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
 CTCGAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGTCTCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCAGACAGATTCAAGTGGCAGTGGG
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
 TCAGGGACAGATTTACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTCAAGGTTCACATGTTCCTGGG
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

BsiWI

T F G G G T K V E I K
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

도면44



도면45

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTT ACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGAGTCCACTCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I M D Q V P F S V W V R Q A P
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGCACCAATTATGGACCAGGTGCCTTCTCCGTGTGGGTTCGGCAGGCTCCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W L R F T I S R D
 GGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATGGTAGTGGTGGTAGTGTATGATTTTTTTGTGTGGCTCCGATTACCAATTCCAGAGAC
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G H Y
 AATAGCAAGAACCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCGAGACATTATGGTCACTAC
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 GTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGTACACGGTCACCGTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 417

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
 GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

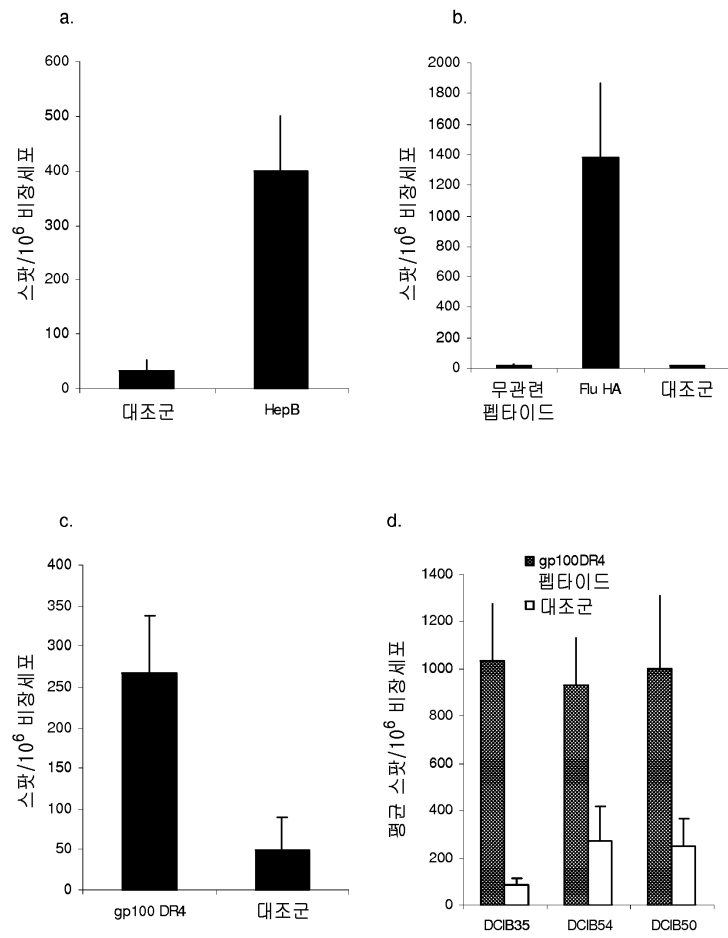
L S L P V T P G E P A S I S C W N R Q L Y P E W T E A Q R L
 CTCTCCCTGCCTGTCACCTCTGGGGAGCCAGCTCGATCTCTTGTGGAACAGGCAGCTGTATCCAGAGTGGACAGAAGCCCAGAGACTT
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

D W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
 GACTGGTATCTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCACT
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H
 GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACAT
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

V P W T F G G G T K V E I K **BsiWI**
 GTTCCGTGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 408

도면46



도면47

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C T I M D Q V P F S V W V R Q A P
 GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGACCAATTATGGACAGGTGCCTTTCTCCGTGTGGGTTCCGCAGGCTCCG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

G K G L E W I A Y I G S G G S V Y D F F V W L R F T I S R D
 GGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTAGTGTTTATGATTTTTTGTGTGGCTCCGATTACCAATTCCAGAGAC
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G H Y
 AATAGCAAGAACACCCGTGATTTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGATTACTGTGCGAGACATTATGGTCACTAC
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 GTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGTACCACGGTCAACGCTCTCC**AGCGCT**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 417

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

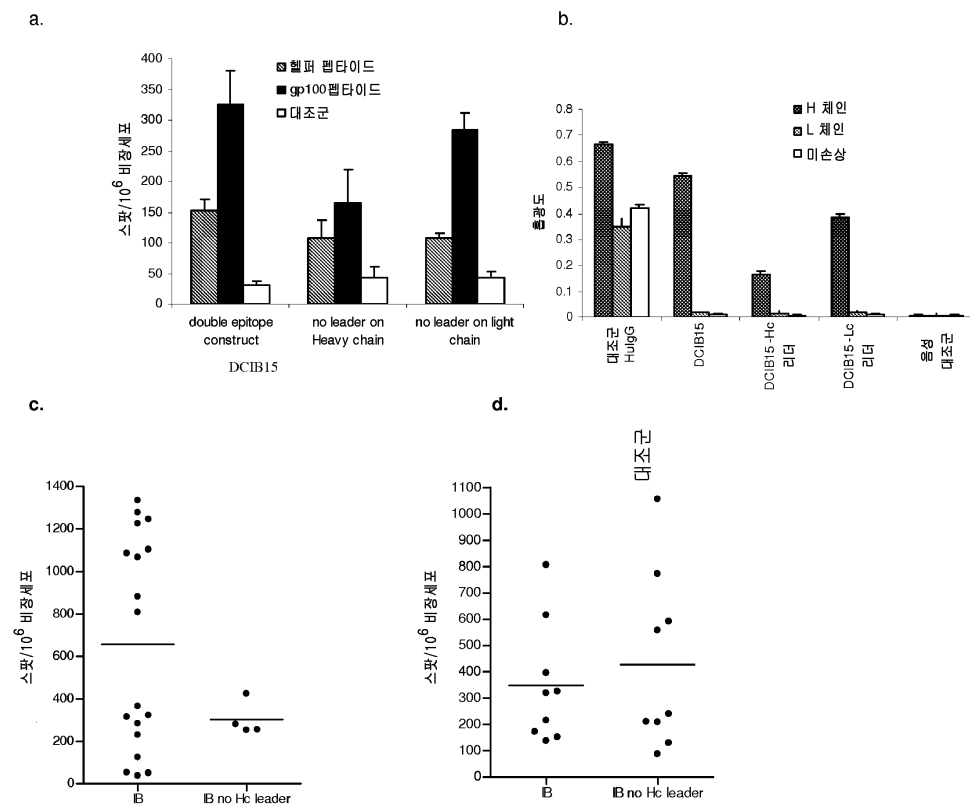
L S L P V T P G E P A S I S C R S S Q S L V H S N G N T Y L
 CTCTCCCTGCCTGTCACTCTCGGGAGCCAGCCTCCATCTCTTGAGATCTAGTCAGAGCCTGGTACATAGTAATGGAACACCTATTTA
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

E W Y L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S
 GAATGGTACCTGCAGAAACAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCACT
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

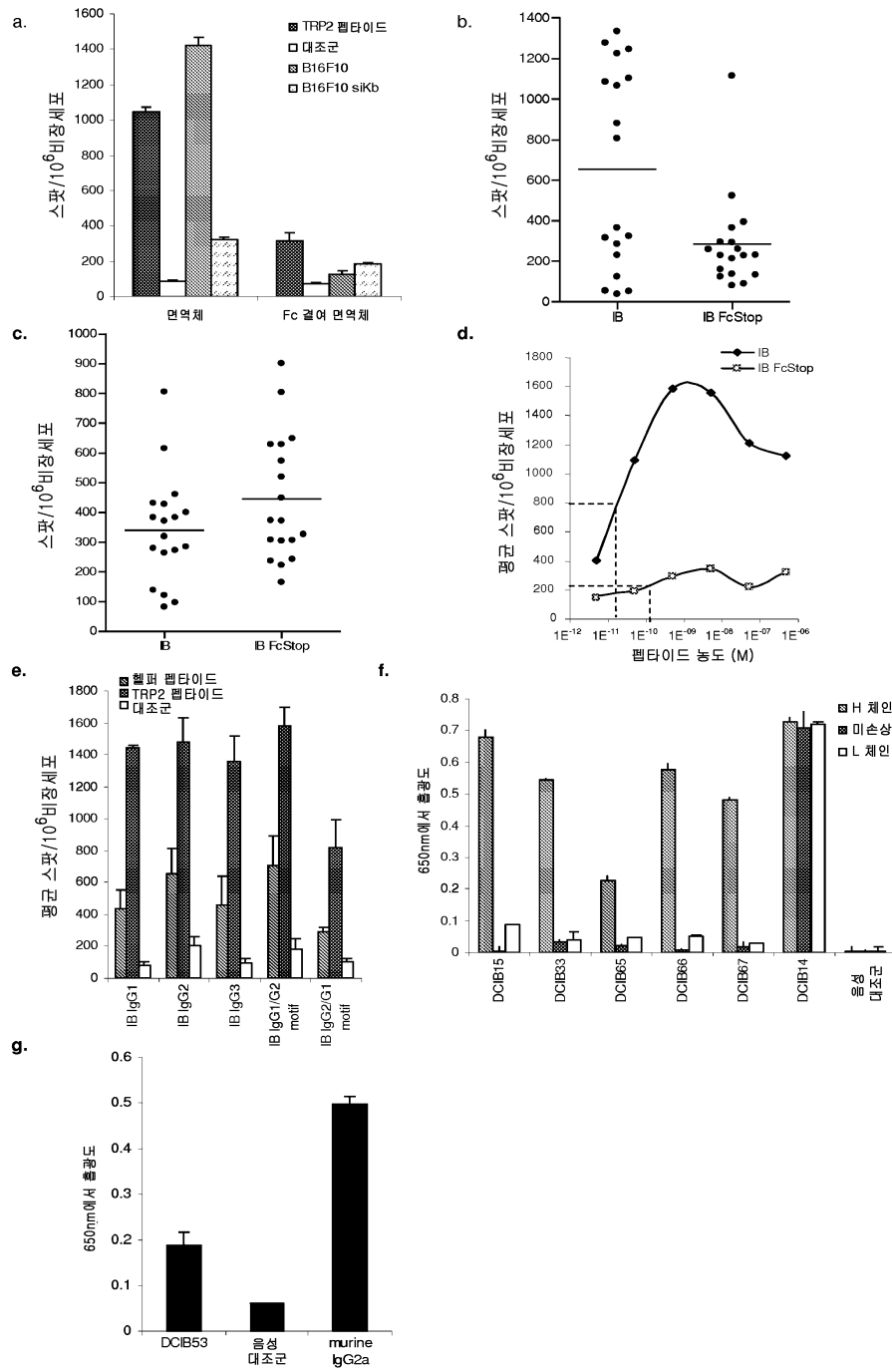
G S G S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C W N R Q L
 GGCAGTGGATCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGATGGAGGCTGAGGATACCGAGTGTATTACTGCTGGAACAGGCAGCTG
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

Y P E W T E A Q R L D F G G G T K V E I K **BsiW1**
 TATCCAGAGTGGACAGAAGCCCAGAGACTTGACTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAG**CGTACG**
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 429

도면48

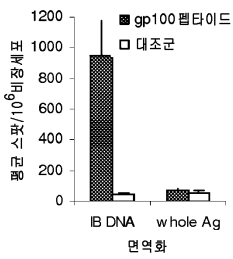


도면49

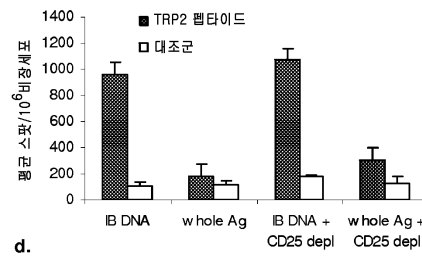


도면50

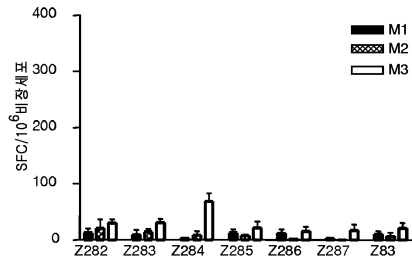
a.



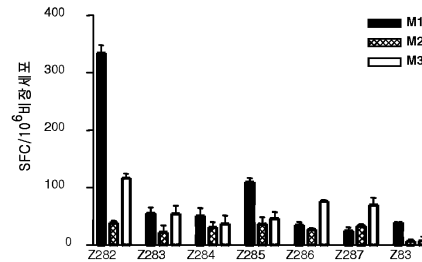
b.



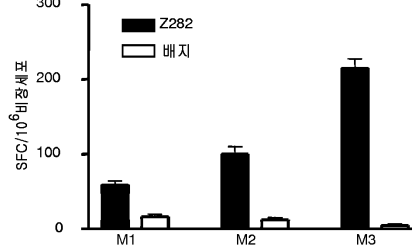
c.



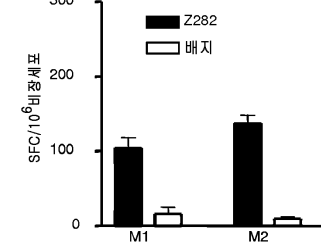
d.



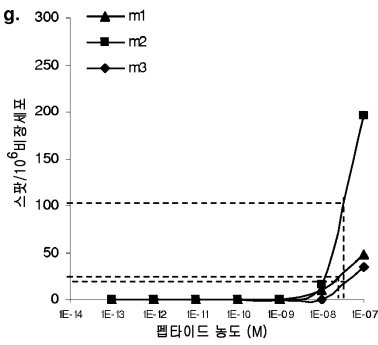
e.



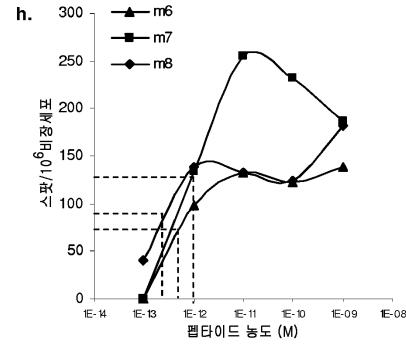
f.



g.



h.



도면51

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

HindIII M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
 AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C I L I N S L P L V W V R Q A P G
 GGAGGCTTAATCCAGCTGGAGGGTCCCTGAGAAATGCTCTGATCTTGATCAATCCCTACCTCTTGTATGGGTTCGGCAGGCTCCGGGG
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

K G L E W I A Y I G S G G D R T Y Y P D T V K G R F T I S R
 AAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTTGGTAGTGGTGGTGTAGAACCTACTATCCAGACACTGTGAAGGGCCGATTACCATTTCCAGA
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y G H
 GACAATAGCAAGAACCCCTGTATTTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTATGGTCA
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
 Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
 TACGTGGACTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 420

경쇄 가변영역 (Light Variable)

BamHI M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
 GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCTCTTCTTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
 1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
 CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGGAGCCAGCCTCGATCTCTTGCACCTCCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
 91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
 CTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCAAGTGGCAGTGA
 181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
 TCAGGGACAGATTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
 271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

T F G G G T K V E I K **BsiWI**
 ACGTTCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
 361 -----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

도면52

중쇄 가변영역 (Heavy Variable)

```

HindIII  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S Q V Q L V E T G
AAGCTTACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCCAGGTGCAGCTGGTGGAGACTGGG
1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

G G L I Q P G G S L R M S C A A S G F A F N T Y D M S W V R
GGAGGCTTAATCCAGCCTGGAGGGTCCCTGAGAATGTCCTGTGCAGCCTCTGGATTGCTTTCAATACCTATGACATGCTTTGGGTTCCG
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

Q A P G K G L E W I A Y I G S G G I L I N S L P L V R F T I
CAGGCTCCGGGAAGGGGCTGGAGTGGATCGCATACATTGGTAGTGGTGGTATCTTGATCAATTCCCTACCTCTTGATCGATTACCAATT
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

S R D N S K N T L Y L Q L N S L R A E D T A V Y Y C A R H Y
TCCAGAGACAATAGCAAGAACCCTGTATTGCAATTGAACAGTCTGAGGGCTGAGGACACAGCCGTGTATTACTGTGCAAGACATTAT
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

AfeI
G H Y V D Y A V D Y W G Q G T T V T V S S
GGTCACACAGTATGCTGTGGACTACTGGGGTCAAGGAACACGGTCACCGTCTCCAGCGCT
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 426

```

경쇄 가변영역 (Light Variable)

```

BamHI  M G W S C I I L F L V A T A T G V H S D V L M T Q S P
GGATCCACCATGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTGGTAGCAACAGCTACCGGAGTCCACTCCGATGTGTTGATGACCCAATCTCCA
1 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 90

L S L P V T P G E P A S I S C T P P A Y R P P N A P I L W Y
CTCTCCCTGCCTGTCACTCCTGGGAGCCAGCCTCGATCTCTTGCACTCTCCAGCTTATAGACCACCAATGCCCTATCCTATGGTAT
91 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 180

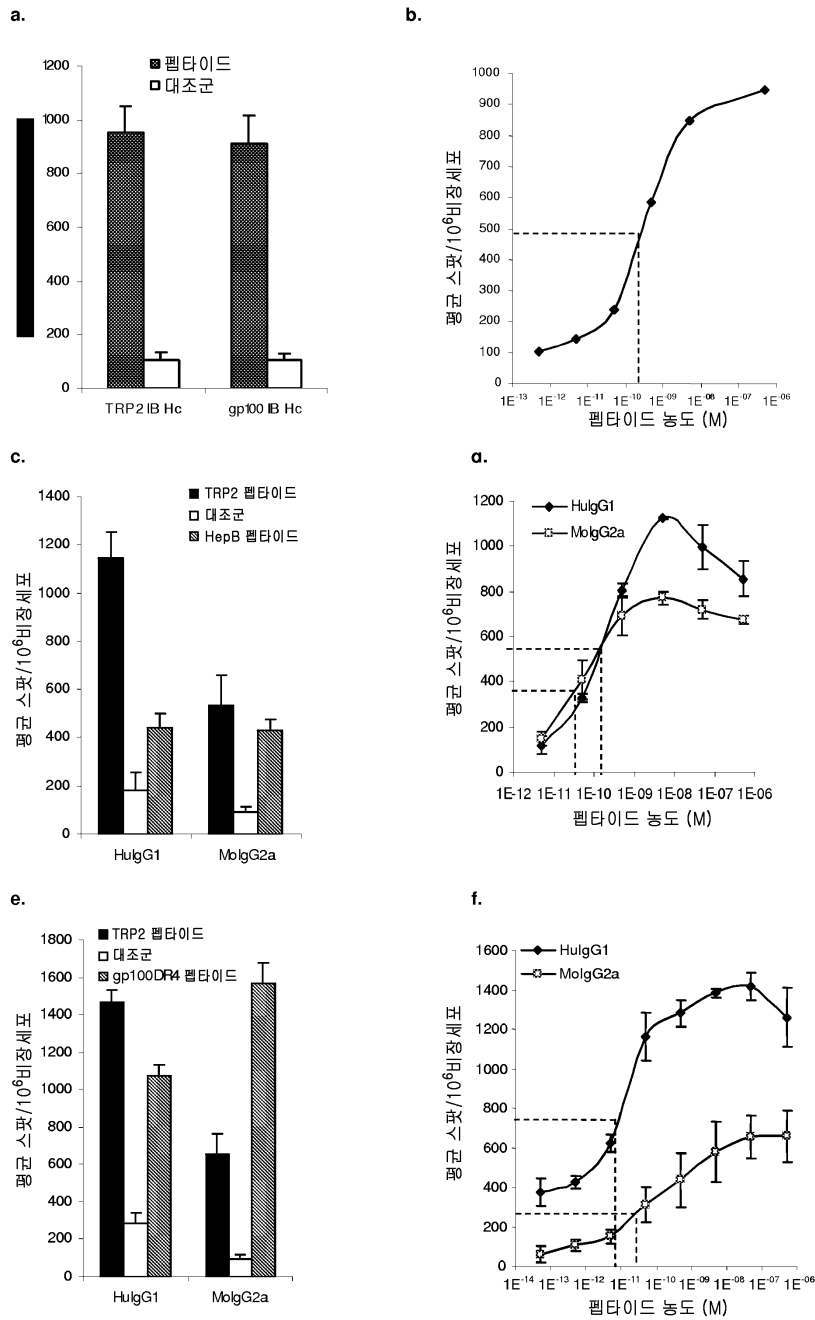
L Q K P G Q S P Q L L I Y K V S N R F S G V P D R F S G S G
CTGCAGAAACCAGGCCAGTCTCCACAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTCTGGGGTCCCAGACAGATTCACTGGCAGTGA
181 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 270

S G T D F T L K I S R V E A E D T G V Y Y C F Q G S H V P W
TCAGGGACAGATTTCACACTCAAGATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGATACCGGAGTGTATTACTGCTTCAAGGTTACATGTTCCGTGG
271 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 360

T F G G G T K V E I K BsiWI
ACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGTACG
361 -----!-----!-----!-----!-----!-----!-----!-----! 399

```

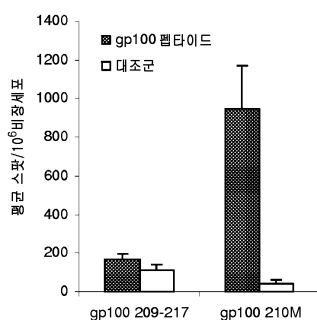
도면53



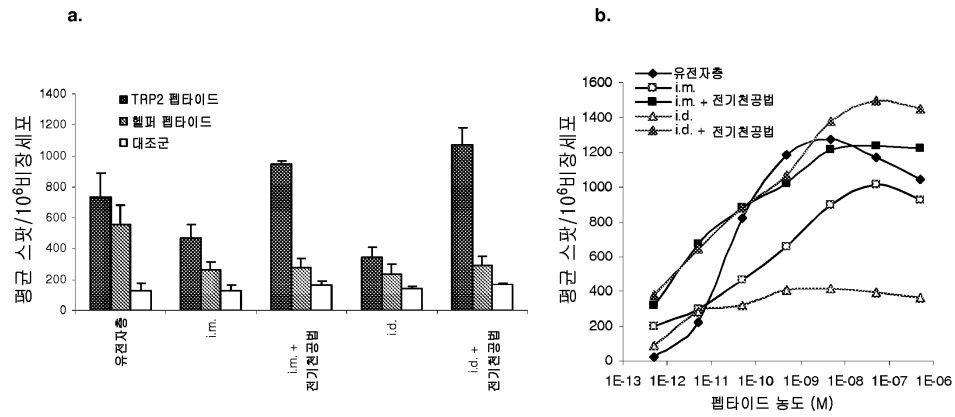
도면55

[illegible]

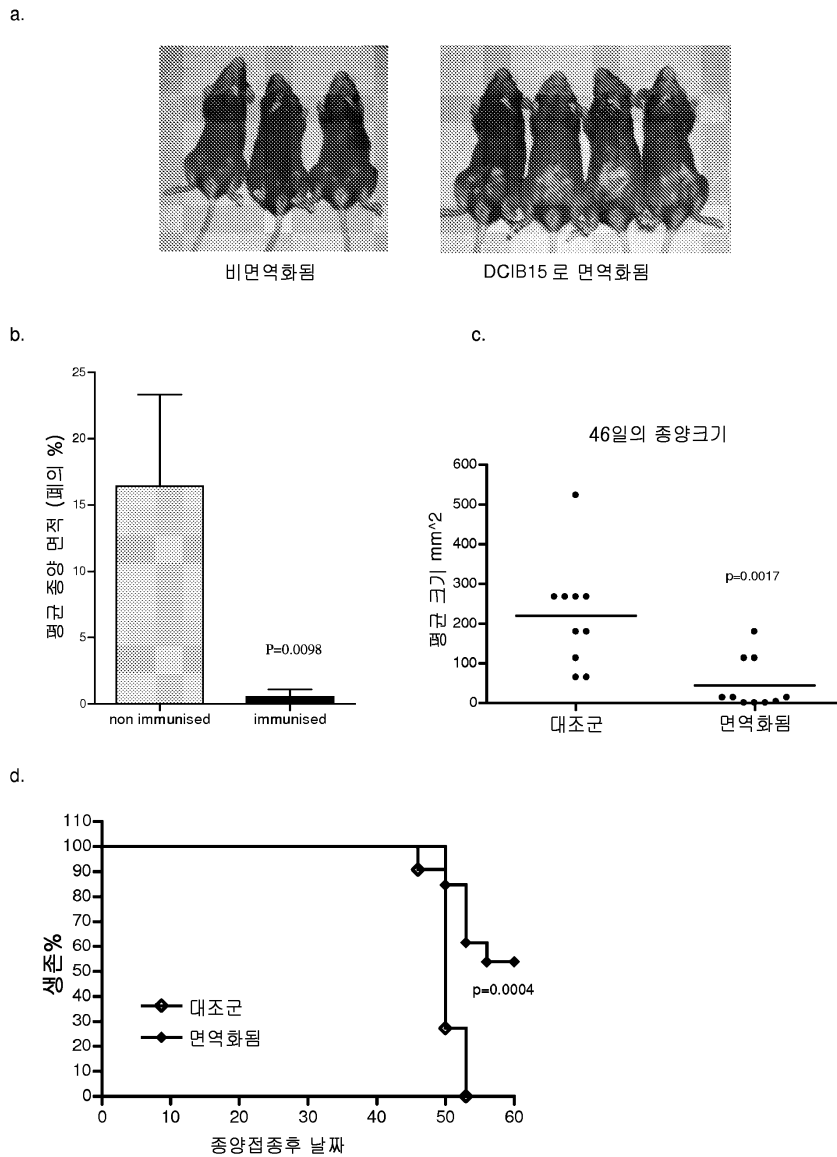
도면56



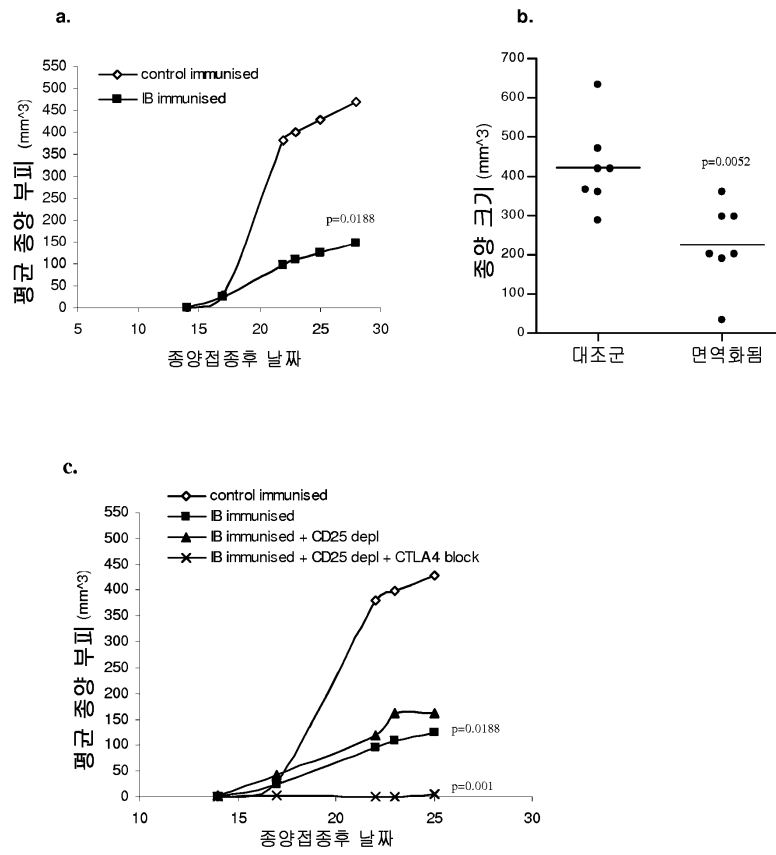
도면57



도면58



도면59



<151> 2007-03-28

<160> 247

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I-Ad restricted epitope from Influenza haemagglutinin

<400> 1

Phe Glu Arg Phe Glu Ile Phe Pro Lys Glu

1 5 10

<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tie-2 Z84 epitope

<400> 2

Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Val

1 5

<210> 3

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-DR7 restricted gp100 CD4 epitope

<400> 3

Gly Thr Gly Arg Ala Met Leu Gly Thr His Thr Met Glu Val Thr Val

1 5 10 15

Tyr His

<210> 4

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Tie-2 Z12 epitope

<400> 4

Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val

1 5
 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HLA-A2 restricted gp100 epitope
 <400> 5

Ile Met Asp Gln Val Pro Phe Ser Val

1 5
 <210> 6
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> HepB S Ag epitope
 <400> 6

Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu

1 5 10
 <210> 7
 <211> 9
 <212> PRT
 <213>

Artificial Sequence

<220><223> gp100 wt ITDQVPFSV epitope
 <400> 7

Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val

1 5
 <210> 8
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> ovalbumin epitope
 <400> 8

Ser Ile Ile Asn Phe Glu Lys Leu

1 5

<210> 9

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TRP2 epitope

<400> 9

Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu

1 5

<210> 10

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GP100 wild type/ GP100210M epitope

<400> 10

Thr Ile Thr Asp Gln Val Pro Phe Ser Val

1 5 10

<210> 11

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GP100 F7I epitope

<400> 11

Thr Ile Thr Asp Gln Val Pro Ile Ser Val

1 5 10

<210> 12

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

GP100 F7L epitope

<400> 12

Thr Ile Thr Asp Gln Val Pro Leu Ser Val

1 5 10

<210> 13

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GP100 F7Y epitope

<400> 13

Thr Ile Thr Asp Gln Val Pro Tyr Ser Val

1 5 10

<210> 14

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> I-Ab restricted epitope/ HepB CD4 epitope

<400> 14

Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu

1 5 10

<210> 15

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-DR4 restricted gp100 CD4 epitope

<400> 15

Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp

1 5 10 15

<210> 16

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Chosen enzyme site (Fsp I) and epitope oligonucleotide sequence
for CDR H1

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(6)

<223> Epitope DNA sequence

<400> 16
nnnnnntggg ttcg 14

<210> 17
<211> 14
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Chosen enzyme site (Msc I) and epitope oligonucleotide sequence
for CDR H2

<220><221> misc_feature
<222> (2)..(7)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 17
tnnnnnncga ttca 14

<210> 18
<211> 10

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Chosen enzyme site (Srf I) and epitope oligonucleotide sequence
for CDR H3

<220><221> misc_feature
<222> (3)..(8)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 18
gannnnnntg 10

<210> 19
<211> 17
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Chosen enzyme site (Eco RV) and epitope oligonucleotide sequence
for CDR L1

<220><221> misc_feature

<222> (8)..(13)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 19
ctcttgcnnn nnntggt 17

<210> 20
<211> 12
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Chosen enzyme site (Ssp I) and epitope oligonucleotide sequence
for CDR L2

<220><221> misc_feature
<222> (5)..(10)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 20
ctacnnnnnn ag 12

<210> 21
<211> 26

<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Chosen enzyme site (Hpa I) and epitope oligonucleotide sequence
for CDR L3

<220><221> misc_feature
<222> (10)..(15)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 21
tattactgcn nnnnnttcgg tggagg 26

<210> 22
<211> 35
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer H1

<400> 22
cctgagaatg tctgctgcg caggctccgg ggaag 35

<210> 23
<211> 29

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer H2
 <400> 23
 cattggtagt ggtggccatt tccagagac 29
 <210> 24
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer H3
 <400> 24
 ccgtgtatta ctgtgcccg gccaaaggaac cacggtc 37
 <210> 25
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer L1
 <400> 25
 ggagccagcc tcgatatctg cagaaaccag gc 32
 <210> 26
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer L2
 <400> 26
 ccacagctcc taatattcag tggcagtgga tc 32
 <210> 27
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer L3
 <400> 27
 gctgaggata ccggagttaa ccaagtgga aat 33
 <210> 28

<211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer huHeClonR
 <400> 28
 cgctgagtt ccaacacacc 20

<210> 29
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer huLiClonR
 <400> 29
 caggcacaca acagaggc 18

<210> 30
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer CMV Forward
 <400> 30
 ggcgtggata gcggtttgac 20

<210> 31
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer OrigstopHuHeCH1 For
 <400> 31
 ccaaggtgga caagaaagtt tgacccaaat cttgtgaca 39

<210> 32
 <211> 45
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer OrigstopHuHeCH1 Rev
 <400> 32

gagttttgtc acaagatttg ggtcaaactt tctgtccac cttgg	45
<210> 33	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Primer pOrig light no leader For	
<400> 33	
aggatccacc atggatgtgt tgatgaccc	29
<210> 34	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Primer pOrig heavy no leader For	
<400> 34	
aaagcttatg caggtgcagc tgggtg	25
<210> 35	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Primer huigG3rev2#	
<400> 35	
atcgatatca tttacccgga gacagg	26
<210> 36	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Primer IgG3hufor2	
<400> 36	
actgtctcca gcgcttcac caag	24
<210> 37	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	

<220><223> Primer IgG2 for
 <400> 37
 agtcaccgtt tccagcgctt ccac 24
 <210> 38
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer IgG2 rev
 <400> 38
 agtggatatc attaccgagg agacagg 27
 <210> 39
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer HIBF
 <400> 39
 aacagtctga gggctgagga 20
 <210> 40
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer huigG1PVA REV
 <400> 40
 agactgacgg tcccccgcg actggagggtg ctgg 34
 <210> 41
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer HuigG2ELLGRev
 <400> 41
 agactgacgg tcctcctaac agttctgggtg ctgg 34
 <210> 42
 <211> 34

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer SV40premFOR
 <400> 42
 agctagcatc agcacgtgtt gacaattaat catc 34
 <210> 43
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer SV40premREV
 <400> 43
 aacgattccg aagcccaacc ttcatag 28
 <210> 44
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer migG2aC1Afe1F2

 <400> 44
 ttacagcgc taaaacaaca gcccacgcg tc 32
 <210> 45
 <211> 34
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer migG2aXbaRA
 <400> 45
 tctagatcat ttaccgcgag tccgggagaa gctc 34
 <210> 46
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Primer MoLC1BsiF1
 <400> 46
 ttctgtacgg atgctgcacc aactgtatcc 30
 <210> 47

<211
> 32
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Primer MoLCXhoR1
<400> 47
tttctcgagt caacactcat tcctgttgaa gc 32
<210> 48
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Primer MoIgG2BamHI For
<400> 48
ccttgacctg gaactctggt tccctgtcca gtggtg 36
<210> 49
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Primer MoigG2BamHI Rev
<400> 49

caccactgga caggaacca gagttccagg tcaagg 36
<210> 50
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Primer MoigG2XhoI For
<400> 50
gcagctcagt gactgtaact tcgagcacct ggcccagc 38
<210> 51
<211> 38
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Primer MoigG2XhoI Rev
<400> 51

gctgggccag gtgctcgaag ttacagtcac tgagctgc 38

<210> 52

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer wtkappavarL1for

<400> 52

ctcttcgaga tctagtcaga gcttggtaca tagtaatgga aacacctatt tagaatggt 59

<210> 53

<211> 59

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer wtkappavarL1 rev

<400> 53

accattctaa ataggtgttt ccattactat gtaccaggct ctgactagat ctgcaagag 59

<210> 54

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer Murine TRP2 Forward

<400> 54

tttctaagct tatgggcctt gtgggatggg ggcttc 36

<210> 55

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer Murine TRP2 Reverse

<400> 55

tttctgatat ctcaggcttc ctccgtgtat ctcttgc 37

<210> 56

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer GP100 Forward

<400> 56

tttctgatat catgggtgtc cagagaagga gcttc 35

<210> 57

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Primer Gp100 Reverse

<400> 57

tttctctcga gtcagacctg ctgtccactg aggagc 36

<210> 58

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Phosphorylated primer (TRP2 epitope example)

<400> 58

tagtgtttat gatttttttg tgtggctccg attca 35

<210> 59

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (TRP2, HLA restriction A2, Kb)

<400> 59

agtgtttatg atttttttgt gtggctc 27

<210> 60

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (GP100, HLA restriction A2)

<400> 60

accattactg accaggtgcc tttctccgtg 30

<210> 61

<211> 30

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (GP100 (210M), HLA restriction A2)
 <400> 61
 accattatgg accaggtgcc tttctccgtg 30

<210> 62
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (GP100 (F7L))
 <400> 62
 accattactg accaggtgcc tttgtccgtg 30

<210> 63
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> GP100 (F7L) epitope, HLA restriction A2
 <400> 63
 Ile Thr Asp Gln Val Pro Leu Ser Val
 1 5

<210> 64
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (GP100, HLA restriction DR0401)
 <400> 64
 tggaacaggc agctgtatcc agagtggaca gaagcccaga gacttgac 48

<210> 65
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (HEPB S AG, HLA restriction
 Kd(CTL))

<400> 65
ataccgcaga gtctagactc gtggtggact tctctc 36

<210> 66
<211> 39
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (HepB nucleoprotein, HLA
restriction I-Ab (helper))

<400> 66
actcctccag cttatagacc accaaatgcc cctatccta 39

<210> 67
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (MAGE3, HLA restriction A2)

<400> 67
ttcctgtggg gtccaagggc cctcggt 27

<210> 68
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (MAGE3, HLA restriction A2)

<400> 68
Phe Leu Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val
1 5

<210> 69
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Tie2 (Z83), HLA restriction A2)

<400> 69
ttcctaccag ctactttaac tatgact 27

<210> 70

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Tie2 (Z83), HLA restriction A2)

<400> 70

Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Thr

1 5

<210> 71

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Tie2 (Z84), HLA restriction A2)

<400> 71

ttcctaccag ctactttaac tatggtt 27

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Tie2 (Z84), HLA restriction A2)

<400> 72

Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr Met Val

1 5

<210> 73

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Tie2 (Z9), HLA restriction A2)

<400> 73

gggatggtgg aaaagccctt caacatt 27

<210> 74

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Tie2 (Z9), HLA restriction A2)

<400> 74

Gly Met Val Glu Lys Pro Phe Asn Ile

1 5

<210> 75

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Tie2 (mZ9), HLA restriction A2)

<400> 75

gggatggtgg aaaagccctt caacgtt 27

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Tie2 (mZ9), HLA restriction A2)

<400> 76

Gly Met Val Glu Lys Pro Phe Asn Val

1 5

<210> 77

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (FLU HA, HLA restriction I-Ad
(helper))

<400> 77

tttgaaaggt ttgagatatt cccaaggaa 30

<210> 78

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (ovalbumin, HLA restriction Kb)

<400> 78

agtataatca actttgaaaa actg 24

<210> 79

<211> 45

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Triosephosphate isomerase (wt),
HLA restriction DR0101)

<400> 79

ggggagctca tcggcattct gaacgcggcc aaggtgccgg ccgac 45

<210> 80

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Triosephosphate isomerase (wt),
HLA restriction DR0101)

<400> 80

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

1 5 10 15

<210> 81

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Triosephosphate Isomerase (mI),
HLA restriction DR0101)

<400> 81

ggggagctca tcggcactct gaacgcggcc aaggtgccgg ccgac 45

<210> 82

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (Triosephosphate Isomerase (mI),
HLA restriction DR0101)

<400> 82

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

1 5 10 15

<210> 83

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (VEGFR2, HLA restriction A2)

<400> 83

gtgattgccca tgttcttctg gctactt 27

<210> 84

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (VEGFR2, HLA restriction A2)

<400> 84

Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu

1 5

<210> 85

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (mVEGFR2, HLA restriction A2)

<400> 85

gtgcttgccca tggttcttct ggctactt 28

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CD8 CTL or CD4 helper epitope (mVEGFR2, HLA restriction A2)

<400> 86

Val Leu Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu

1 5

<210> 87

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gp100 V5L epitope

<400> 87

Thr Ile Thr Asp Gln Leu Pro Phe Ser Val

1 5 10

<210> 88

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Predicted HLA-A*0201 restricted CTL epitope from Tie-2 (Z282)

<400> 88

Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu Val

1 5

<210> 89

<211> 9

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Predicted HLA-A*0201 restricted CTL epitope from Tie-2 (Z283)

<400> 89

Val Leu Ile Lys Glu Glu Asp Ala Val

1 5

<210> 90

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Predicted HLA-A*0201 restricted CTL epitope from Tie-2 (Z284)

<400> 90

Leu Met Asn Gln His Gln Asp Pro Leu

1 5

<210> 91

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Predicted HLA-A*0201 restricted CTL epitope from Tie-2 (Z285)

<400> 91

Val Leu Cys Gly Val Ser Leu Leu Leu

1 5

<210> 92

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Predicted HLA-A*0201 restricted CTL epitope from Tie-2 (Z286)

<400> 92

Leu Val Ser Asp Ala Glu Thr Ser Leu

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Predicted HLA-A*0201 restricted CTL epitope from Tie-2 (Z287)

<400> 93

Leu Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro Leu

1 5

<210> 94

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Predicted HLA-A*0201 restricted CTL epitope from Tie-2 (Z18)

<400> 94

Gly Ile Leu Gly Phe Val Phe Thr Leu

1 5

<210> 95

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HLA-A2 restricted peptide derived from VEGFR2

<400> 95

Val Ile Ala Met Phe Phe Trp Leu Leu

1 5

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified hTERT peptides

<400> 96

Tyr Leu Phe Phe Tyr Arg Lys Ser Val

1 5

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> modified hTERT peptide

<400> 97

Tyr Leu Gln Val Asn Ser Leu Gln Thr Val

1 5 10

<210> 98

<211> 1489

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Immunobody chimeric heavy chain

<400> 98

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgac ttgggttcgc 180

caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcatacatg gtagtggtgg tgatagaacc 240

tactatccag acactgtgaa gggccgattc accatttcca gagacaatag caagaacacc 300

ctgtatttgc aattgaacag tctgagggct gaggacacag ccgtgtatta ctgtgcaaga 360

cattatggtc actacgtgga ctatgctgtg gactactggg gtcaaggaac cacggtcacc 420

gtctccagcg ctccaccaaa gggcccatcg gtcttccccc tggcaccctc ctccaagagc 480

acctctgggg gcacagcggc cctgggctgc ctggtcaagg actacttccc cgaaccggtg 540

acggtgtcgt ggaactcagg gcacctgacc agcggcgtgc acaccttccc ggctgtccta 600

cagtctcag gactctactc cctcagcagc gtggtgaccg tgcctccag cagcttgggc 660

accagacct acatctgcaa cgtgaatcac aagcccagca acaccaaggt ggacaagaaa 720

gttgagccca aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagc acctgaactc 780

ctggggggac cgicagtctt cctcttcccc ccaaaaccca aggacaccct catgatctcc 840

cggaccctg aggtcacatg cgtgggtgtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag 900

ttcaactggt acgtggacgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag 960

cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tcttgacca ggactggctg 1020

aatggcaagg agtacaagt caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1080

accatctcca agccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacacct gccccatec 1140

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc 1200

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg 1260

cctcccgctg tggactccga cggctcctt ttctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1320

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac 1380

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaaat gatctaaagg gcgaattcgc 1440

ccttaagggc gaattttgca gatatccatc aactggcgg ccgctcgag 1489

<210> 99

<211> 467

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Immunobody chimeric heavy chain

<400> 99

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

1 5 10 15

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Met Gly Trp Ser Cys

20 25 30

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

35 40 45
 Gln Leu Val Glu Thr Gly Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 50 55 60
 Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val

 65 70 75 80
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 85 90 95
 Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 100 105 110
 Ala Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly
 115 120 125
 Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser
 130 135 140

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

 210 215 220
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys
 225 230 235 240
 Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 245 250 255
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 260 265 270
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

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

450 455 460

Pro Gly Lys

465

<210> 100

<211> 732

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Immunbody chimeric kappa chain

<400> 100

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttcatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctccatct cttgcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta 180
 gaatggtacc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240
 cgattttctg ggggtcccaga cagattcagt ggagtggtat cagggacaga tttcacactc 300
 aagatcagca gagtggaggc tgaggatacc ggagtgtatt actgctttca aggttcacat 360
 gttccgtgga cgttcggtgg aggcaccaag gtggaaatca agcgtacggt agcggcccca 420
 tctgtcttca tcttcccgcc atctgatgag cagttgaaat ctggaactgc ctctgttgtg 480
 tgcctgctga ataacttcta tcccagagag gccaaagtac agtggaggt ggataacgcc 540

ctccaatcgg gtaactccca ggagagtgtc acagagcagg acagcaagga cagcacctac 600
 agcctcagca gcacctgac gctgagcaaa gcagactacg agaaacacaa agtctacgcc 660
 tgcgaagtca cccaccaggg cctgagctcg cccgtcaca agagcttcaa caggggagag 720
 tgttgactcg ag 732

<210> 101

<211> 238

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Immunbody chimeric kappa chain

<400> 101

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

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

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

225 230 235
 <210> 102
 <211> 376
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H1)
 <400> 102

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccaactcccag 60
 gtgcagctgg tggagactgg gggaggctta atccagcctg gagggtcct gagaatgtcc 120
 tgcgcaggct ccggggaagg ggctggagtg gatcgcatatc attggtagtgt gtggtgatag 180
 aacctactat ccagacactg tgaagggccg attcaccatt tccagagaca atagcaagaa 240

caccctgtat ttgcaattga acagtctgag ggctgaggac acagccgtgt attactgtgc 300
 aagacattat ggtcactacg tggactatgc tgtggactac tggggtcaag gtaccacggt 360
 caccgtctcc agcgct 376

<210> 103
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H1)

<400> 103

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

35 40 45

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

50 55 60

Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp

100 105 110

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

115 120 125

<210> 104

<211> 382

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H2)

<400> 104

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactcccag 60

gtgcagctgg tggagactgg gggaggctta atccagcctg gagggtcct gagaatgtcc 120

tgtgcagcct ctggattcgc tttcaatacc tatgacatgt cttgggttcg ccaggctccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgtg gccatttcca gagacaatag 240

caagaacacc ctgtatttgc aattgaacag tctgagggtc gaggacacag ccgtgtatta 300

ctgtgcaaga cattatggtc actacgtgga ctatgctgtg gactactggg gtcaaggtac 360

cacggtcacc gtctccagcg ct 382

<210> 105

<211> 126
 <212> PRT
 <213> Unknown
 <220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H2)

<400> 105
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe
 35 40 45
 Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
 65 70 75 80
 Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala
 85 90 95
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
 115 120 125

<210> 106
 <211> 383
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H3)

<400> 106
 atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactcccag 60
 gtgcagctgg tggagactgg gggaggctta atccagcctg gagggtcct gagaatgtcc 120
 tgtgcagcct ctggattcgc tttcaatacc tatgacatgt cttgggttcg ccaggctccg 180
 gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgtg gtgatagaac ctactatcca 240
 gacactgtga agggccgatt caccatttcc agagacaata gcaagaacac cctgtatttg 300

caattgaaca gtctgagggc tgaggacaca gccgtgtatt actgtgcccg ggccaaggtg 360
ccacgggtcac cgtctccagc gct 383

<210> 107
<211> 127
<212> PRT
<213> Unknown
<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H3)
<400> 107

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe
35 40 45
Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60
Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Pro
65 70 75 80
Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
85 90 95
Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
100 105 110
Tyr Tyr Cys Ala Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala
115 120 125

<210> 108
<211> 335
<212> DNA
<213> Unknown
<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H1/H2)
<400> 108

atgggatgga gcgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactcccag 60
gtgcagctgg tggagactgg gggaggctta atccagcctg gagggtcct gagaatgtcc 120

tgcgaggct ccgggaagg ggctggagt gatcgatac attgtagtg gtggccattt 180
ccagagacaa tagcaagaac accctgtatt tgcaattgaa cagtctgagg gctgaggaca 240
cagccgtgta ttactgtgca agacattatg gtcactacgt ggactatgct gtggactact 300

ggggtcaagg taccacggtc accgtctcca gcgct 335

<210> 109

<211> 110

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H1/H2)

<400> 109

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

35 40 45

Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys

50 55 60

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala

65 70 75 80

Val Tyr Tyr Cys Ala Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val

85 90 95

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

100 105 110

<210> 110

<211> 336

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H1/H3)

<400> 110

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactcccag 60

gtgcagctgg tggagactgg gggaggctta atccagcctg gagggtcct gagaatgtcc 120

tgcgaggct ccggggaagg ggctggagt gatcgatac attgtagtg gtggtgatag 180
aacctactat ccagacactg tgaaggccg attcaccatt tccagagaca atagcaagaa 240
cacctgtat ttgaattga acagtctgag ggctgaggac acagccgtgt attactgtgc 300

ccgggccaag gtaccacggt caccgtctcc agcgct 336

<210> 111

<211> 111

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H1/H3)

<400> 111

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

35 40 45

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

50 55 60

Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Tyr Cys Ala Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala

100 105 110

<210> 112

<211> 342

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H2/H3)

<400> 112

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactcccag 60

gtgcagctgg tggagactgg gggaggctta atccagcctg gagggtcct gagaatgtcc 120

tggtgcagcct ctggattcgc tttcaatacc tatgacatgt cttgggttcg ccaggtccg 180
gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtggtg gccatttcca gagacaatag 240
caagaacacc ctgtatttgc aattgaacag tctgagggtc gaggacacag ccgtgtatta 300

ctgtgcccgg gccaaaggtac cacggtcacc gtctccagcg ct 342

<210> 113

<211> 112

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H2/H3)

<400> 113

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe

35 40 45

Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys

65 70 75 80

Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala

85 90 95

Val Tyr Tyr Cys Ala Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala

100 105 110

<210> 114

<211> 295

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H1/H2/H3)

<400> 114

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactcccag 60

gtgcagctgg tggagactgg gggaggctta atccagcctg gaggttcct gagaatgtcc 120

tgcgaggct ccgggaagg ggctggagt gatcgatac attgtagtg gtggcattt 180
ccagagacaa tagcaagaac accctgtatt tgcaattgaa cagtctgagg gctgaggaca 240
cagccgtgta ttactgtgcc cgggccaagg taccacggtc accgtctcca gcgct 295

<210> 115
<211> 96
<212> PRT
<213> Unknown

<220><223> ImmunoBody heavy chain variable region (H1/H2/H3)

<400> 115
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
35 40 45

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

<210> 116
<211> 340
<212> DNA
<213> Unknown
<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L1)
<400> 116

atgggatgga gcgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactccgat 60
gtgttgatga cccaatctcc actctccctg cctgtcactc ctggggagcc agcctcgata 120
tctgcagaaa ccaggccagt ctccacagct cctgatctac aaagtttcca accgattttc 180
tgggggtccca gacagattca gtggcagtgg atcagggaca gatttcacac tcaagatcag 240
cagagtggag gctgaggata ccggagtgta ttactgcttt caaggttcac atgttccgtg 300

gacgttcggt ggaggcacca aggtggaaat caagcgtacg

340

<210> 117

<211> 110

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L1)

<400> 117

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His

85 90 95

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

100 105 110

<210> 118

<211> 360

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L2)

<400> 118

atgggatgga gcgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactccgat

60

gtgttgatga cccaatctcc actctccctg cctgtcactc ctggggagcc agcctccatc

120

tcttgcatat ctatgcagag cctgttacat agtaatggaa acacctatctt agaatggtac

180

ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctaatatcca gtggcagtggt atcaggagaca

240

gatttcacac tcaagatcag cagagtggag gctgaggata ccggagtgtt ttactgcttt

300

caaggttcac atgttccgtg gacgttcggt ggaggcacca aggtggaaat caagcgtacg 360
360

<210> 119

<211> 117

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L2)

<400> 119

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr

100 105 110

Lys Val Glu Ile Lys

115

<210> 120

<211> 352

<212>

DNA

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L3)

<400> 120

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactccgat 60

gtgttgatga cccaatctcc actctccctg cctgtcactc ctggggagcc agcctccatc 120

tcttgcagat ctatgcagag cctggtacat agtaatggaa acacctatTTT agaatggtac 180
ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtTtccaa ccgattttct 240
ggggtcccag acagattcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc 300
agagtggagg ctgaggatac cggagttaac caaggtggaa atcaagcgta cg 352

<210> 121

<211> 115

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L3)

<400> 121

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Glu Ile Lys

115

<210> 122

<211> 301

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L1/L3)

<400> 122

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactccgat 60
 gtgttgatga cccaatctcc actctccctg cctgtcactc ctggggagacc agcctcgata 120
 tctgcagaaa ccaggccagt ctccacagct cctaattatc agtggcagtg gatcagggac 180
 agatttcaca ctcaagatca gcagagtggga ggctgaggat accggagtgt attactgctt 240
 tcaaggttca catgttccgt ggacgttcgg tggaggcacc aaggtagaaa tcaagcgtac 300
 g 301

<210> 123
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> Unknown
 <220><223> Immunobody kappa chain variable region (L1/L3)
 <400> 123

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

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

<210> 124
 <211> 313
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><223> Immunobody kappa chain variable region (L2/L3)
 <400> 124

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactccgat 60
 gtgttgatga cccaatctcc actctccctg cctgtcactc ctggggagacc agcctccatc 120

tcttgcagat ctatgcagag cctggtagat agtaatggaa acacctattt agaatggtac 180
ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctaatatcca gtggcagtgg atcagggaca 240
gatttcacac tcaagatcag cagagtggag gctgaggata ccggagttaa ccaaggtgga 300
aatcaagcgt acg 313

<210> 125

<211> 101

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L2/L3)

<400> 125

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Val Glu Ile Lys

100

<210> 126

<211> 254

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L1/L2/L3)

<400> 126

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactccgat 60

gtgttgatga cccaatctcc actctccctg cctgtcactc ctggggagcc agcctcgata 120

tctgcagaaa ccaggccagt ctccacagct cctaattatc agtggcagtg gatcaggac 180
agatttcaca ctcaagatca gcagagtga ggctgaggat accggagtta accaaggtgg 240
aatcaagcg tacg 254

<210> 127

<211> 80

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L1/L2/L3)

<400> 127

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

1	5	10	15
Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val			
20	25	30	
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln			
35	40	45	
Leu Leu Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile			
50	55	60	
Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Thr Lys Val Glu Ile Lys			
65	70	75	80

<210> 128

<211> 293

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L1/L3)

<400> 128

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctaccggagt ccactccgat 60
gtgttgatga cccaatctcc actctccctg cctgtcactc ctggggagcc agcctcgata 120
tctgcagaaa ccaggccagt ctccacagct cctgatctac aaagtttcca accgattttc 180
tggggtccca gacagattca gtggcagtgg atcagggaca gatttcacac tcaagatcag 240
cagagtggag gctgaggata ccggagttaa ccaaggtgga aatcaagcgt acg 293

<210> 129

<211> 94

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Immunobody kappa chain variable region (L1/L3)

<400> 129

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Thr Lys Val Glu Ile Lys

85 90

<210> 130

<211> 720

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Immunobody IB15 heavy chain

<400> 130

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gcaccattat ggaccaggtg cctttctcgg tgtgggttcg gcaggtccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatatcatt ggtagtgggtg gtagtgttta tgatttttt 240

gtgtggctcc gattcaccat ttccagagac aatagcaaga acaccctgta ttgcaattg 300

aacagtctga gggtgagga cacagccgtg tattactgtg cgagacatta tggtcactac 360

gtggactatg ctgtggacta ctgggggtcaa ggtaccacgg tcaccgtctc cagcgcttc 420

accaagggcc catcggtctt ccccttgga cctctctcca agagcacctc tgggggcaca 480

gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttccggctg tcctacagtc ctcaggactc 600

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 660
 tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagtttg acccaaatct 720
 720

<210> 131
 <211> 236
 <212> PRT
 <213> Unknown
 <220><223> Immunobody IB15 heavy chain
 <400> 131

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Met Asp Gln Val Pro
 35 40 45
 Phe Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
 50 55 60
 Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu
 65 70 75 80
 Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
 85 90 95
 Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 100 105 110
 His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
 115 120 125
 Thr Thr Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 130 135 140
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 145 150 155 160
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 165 170 175
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

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

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

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

225 230 235

<210> 132

<211> 363

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> DCIB15 heavy variable region without a leader (heavy chain)

<400> 132

aagcttacca tgcaggtgca gctggtggag actgggggag gcttaatcca gcctggaggg 60

tccctgagaa tgcctgcac cattatggac caggtgcctt tctccgtgtg ggttcggcag 120

gctccgggga aggggctgga gtggatcgca tacattggtg gtggtggtag tgtttatgat 180

ttttttgtgt ggctccgatt caccatttcc agagacaata gcaagaacac cctgtatttg 240

caattgaaca gtctgagggc tgaggacaca gccgtgtatt actgtgcgag acattatggt 300

cactacgtgg actatgctgt ggactactgg ggtcaaggta ccacggtcac cgtctccagc 360

gct 363

<210> 133

<211> 117

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> DCIB15 heavy variable region without a leader (heavy chain)

<400> 133

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

1 5 10 15
Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Met Asp Gln Val Pro Phe Ser

20 25 30
Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala Tyr

35 40 45

Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu Arg Phe
50 55 60

Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn
65 70 75 80

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

Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 134

<211> 345

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> DCIB15 kappa variable region without a leader (light chain)

<400> 134

ggatccacca tggatgtgtt gatgacccaa tctccactct cctgcctgt cactcctggg 60

gagccagcct ccattctcttg cactcctcca gcttatagac caccaaatgc ccctatccta 120

tggatatctgc agaaaccagg ccagctctcca cagctcctga tctacaaagt ttccaaccga 180

ttttctgggg tcccagacag attcagtggc agtggatcag ggacagattt cacactcaag 240

atcagcagag tggaggctga ggataccgga gtgtattact gctttcaagg ttcacatgtt 300

ccgtggacgt tcggtggagg caccaaggtg gaaatcaagc gtacg 345

<210> 135

<211> 110

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> DCIB15 kappa variable region without a leader (light chain)

<400> 135

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

1 5 10 15

Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro

20 25 30

Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His

85 90 95

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

100 105 110

<210> 136

<211> 857

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 136

agcgcttcca ccaagggccc atcggtcttc ccctggcgc cctgctccag gaggacctcc 60

gagagcacag cggccctggg ctgctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg 120

tcgtggaact caggcgctct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtcc 180

tcaggactct actccctcag cagcgtggtg accgtgccct ccagcaactt cggcaccacg 240

acctacacct gcaacgtaga tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gacagttgag 300

cgcaaatgtt gtgtcgagtg cccaccgtgc ccagcaccac ctgtggcagg accgtcagtc 360

ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 420

tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggac 480

ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccacgggagg agcagttcaa cagcacgttc 540

cgtgtggtca ggtcctcac cgtcgtgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 600

tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaaacaaa 660

gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 720

aaccaggtca gcctgacctg cctggtcaaa ggcttctacc ccagcgacat cgccgtggag 780

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac ctaaggcgga attctgcaga tatccagcac 840

agtggcggcc gctcgag 857

<210> 137

<211> 654

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 137

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 225 230 235 240
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 245 250 255
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 260 265 270
 Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 275 280 285
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln 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 Pro Gly Lys Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val
 325 330 335
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala
 340 345 350
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser
 355 360 365
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val
 370 375 380
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro
 385 390 395 400
 Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys
 405 410 415
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val
 420 425 430
 Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe
 435 440 445
 Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
 450 455 460
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 465 470 475 480

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
485 490 495

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
500 505 510

Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
515 520 525

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser
530 535 540

Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
545 550 555 560

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

565 570 575

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
580 585 590

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp
595 600 605

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
610 615 620

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His
625 630 635 640

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
645 650

<210> 138

<211> 1164

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 138

agcgcttcca ccaagggccc atcggtcttc cccctggcgc cctgctccag gagcacctct	60
gggggcacag cggccctggg ctgcctggtc aaggactact tccccgaacc ggtgacggtg	120
tcgtggaact caggcgccct gaccagcggc gtgcacacct tcccggctgt cctacagtec	180
tcaggactct actccctcag cagcgtgggtg accgtgccct ccagcagctt gggcacccag	240

acctacacct gcaacgtgaa tcacaagccc agcaacacca aggtggacaa gagagttgag 300
 ctcaaaaccc cacttgggtga cacaactcac acatgcccac ggtgcccaga gcccaaatct 360
 tgtgacacac ctccccgtg cccacggtgc ccagagccca aatcttgtga cacacctccc 420
 ccatgcccac ggtgcccaga gcccaaatct tgtgacacac ctccccatg cccacggtgc 480
 ccagcacctg aactcctggg aggaccgtca gtcttctct tcccccaaa acccaaggat 540
 acccttatga tttcccgac ccctgaggtc acgtgcgtgg tggaggacgt gagccacgaa 600
 gaccccgagg tccagttcaa gtggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 660

aagccgctgg aggagcagtt caacagcacg ttcgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 720
 caccaggact ggtgaacgg caaggagtac aagtgaagg tctccaaca agccctccca 780
 gcccccatcg agaaaacat ctccaaaacc aaaggacagc cccgagaacc acaggtgtac 840
 accctgcccc catcccgga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 900
 aaaggttct accccagcga catgccgtg gagtgggaga gcagcgggca gccggagaac 960
 aactacaaca ccagcctcc catgctggac tccgacggct ctttcttct ctacagcaag 1020
 ctacacgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacatct tctcatgctc cgtgatgcat 1080

gaggctctgc acaaccgtt cagcagaag agcctctccc tgtctccggg taaatgatat 1140
 ccatcacact ggcggccgct cgag 1164

<210> 139

<211> 377

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 139

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

	85		90		95
Lys Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys					
	100		105		110
Pro Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro					
	115		120		125
Arg Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg					
	130		135		140
Cys Pro Glu Pro Lys Ser Cys Asp Thr Pro Pro Pro Cys Pro Arg Cys					
145		150		155	160
Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro					
	165		170		175
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys					
	180		185		190
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp					
	195		200		205
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu					
	210		215		220
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val His					
225		230		235	240
Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys					
	245		250		255
Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln					
	260		265		270
Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met					
	275		280		285
Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro					
	290		295		300
Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Ser Gly Gln Pro Glu Asn Asn					
305		310		315	320
Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu					
	325		330		335

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

340 345 350

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln

355 360 365

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

370 375

<210> 140

<211> 1440

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> DCIB66 heavy chain

<400> 140

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtccttg 120

agaatgtcct gcaccattat ggaccagggtg cctttctccg tgtgggttcg gcaggctccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgggtg gtagtgttta tgattttttt 240

gtgtggctcc gattcaccat ttccagagac aatagcaaga acaccctgta ttigcaattg 300

aacagtctga gggctgagga cacagccgtg tattactgtg cgagacatta tggctactac 360

gtggactatg ctgtggacta ctgggggtcaa ggtaccacgg tcaccgtctc cagcgttcc 420

accaagggcc catcggtctt cccctggca cctcctcca agagcacctc tgggggcaca 480

gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 540

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tctacagtc ctcaggactc 600

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 660

tgcaactga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagtga gccc aaatct 720

tgtgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc ccagcacctc cagtcgcggg gggaccgtca 780

gtcttctct tcccccaaa acccaaggac accctcatga tctccggac ccctgaggtc 840

acatgcgtgg tgggtggact gagccacgaa gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg 900

gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca aagccgcggg aggagcagta caacagcacg 960

taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg caccaggact ggctgaatgg caaggagtac 1020

aagtgaagg tctccaacaa agccctccca gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc 1080

aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc 1140

aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggtttct atccagcga catcgccgtg 1200

gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1260
tccgacggct ccttcttctt ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag 1320

gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cacgcagaag 1380
agcctctccc tgctccggg taaatgatct aaagggcgaa ttgcgcccta agggcgaatt 1440
1440

<210> 141

<211> 465

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> DCIB66 heavy chain

<400> 141

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Met Asp Gln Val Pro

35 40 45

Phe Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

50 55 60

Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu

65 70 75 80

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

85 90 95

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

100 105 110

His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Gly Pro

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

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

450 455 460
 Lys
 465
 <210> 142
 <211> 1440
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><223> DCIB67 heavy chain containing G1 binding motif
 <400> 142

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggctccctg 120
 agaatgtcct gcaccattat ggaccagggtg cctttctccg tgtgggttcg gcaggctccg 180
 gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtggtg gtagtgttta tgatttttt 240

 gtgtggctcc gattcaccat ttccagagac aatagcaaga acaccctgta ttgcaattg 300
 aacagtctga gggctgagga cacagccgtg tattactgtg cgagacatta tggtcactac 360
 gtggactatg ctgtggacta ctgggggtcaa ggtaccacgg tcaccgtctc cagcgcttcc 420
 accaagggcc catcggtctt cccctggcg cctgtctcca ggagcacctc cgagagcaca 480
 gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtagcggg gtcgtggaac 540
 tcaggcgctc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tectacagtc ctcaggactc 600
 tactccctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcaact tcggcaccca gacctacacc 660

 tgcaacgtag atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agacagttga gcgcaaatgt 720
 tgtgtcgagt gccacccgtg cccagcacca gaactgttag gaggaccgtc agtcttcctc 780
 ttcccccaa aaccaagga caccctcatg atctccgga cccctgaggt cacgtgcgtg 840
 gtggtggacg tgagccacga agaccccgag gtccagtcca actggtacgt ggacggcgtg 900
 gaggtgcata atgccaagac aaagccacgg gaggagcagt tcaacagcac gtccgtgtg 960
 gtcagcgtcc tcaccgtcgt gcaccaggac tggtgaacg gcaaggagta caagtgaag 1020

gtctccaaca aaggcctccc agcccccata gagaaaaacca tctccaaaac caaagggcag 1080

ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc ccatcccggg aggagatgac caagaaccag 1140

gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc taccacagcg acatgccgt ggagtgggag 1200

agcaatgggc agccggagaa caactacaag accacacctc ccatgctgga ctccgacggc 1260

tcctttcttc tctacagcaa gctcaccgtg gacaagagca ggtggcagca ggggaacgtc 1320

ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc 1380

ctgtctccgg gtaaataata tccactaagg gcgaattctg cagatatcca gcacagtggc 1440

1440

<210> 143

<211> 462

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> DCIB67 heavy chain containing G1 binding motif

<400> 143

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Met Asp Gln Val Pro

35 40 45

Phe Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

50 55 60

Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu

65 70 75 80

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

85 90 95

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

100 105 110

His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

115 120 125

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

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

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

 260 265 270
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val
 275 280 285
 Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
 290 295 300
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val
 305 310 315 320
 Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
 325 330 335

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

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

405 410 415

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

420 425 430

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

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

450 455 460

<210> 144

<211> 417

<212> DNA

<213>	Unknown
-------	---------

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable)

<400> 144

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc	60
cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctctg	120
agaatgtcct gcaccattat ggaccaggtg cctttctccg tgtgggttcg gcaggctccg	180
gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgggt gtagtgttta tgattttttt	240
gtgtggctcc gattccacat ttccagagac aatagcaaga acacctgta tttgcaattg	300

aacagtc tga gggctgagga cacagccgtg tattactgtg cgagacatta tggtcactac 360
gtggactatg ctgtggacta ctgggggtcaa ggtaccacgg tcaccgtctc cagcgt 417

<210> 145

<211> 135

<212> PRT

<213>	Unknown
-------	---------

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig

<400> 145

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

1 5 10 15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Met Asp Gln Val Pro
35 40 45
Phe Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
50 55 60
Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu
65 70 75 80

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

<210> 146

<211> 309

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable)

<400> 146

ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca gcctcgatct cttgcactcc tccagcttat 60
agaccaccaa atgcccttat cctatggtat ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc 120
ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct ggggtcccag acagattcag tggcagtgga 180
tcagggacag atttcacact caagatcagc agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat 240

tactgctttc aaggttcaca tggtccgtgg acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc 300

aagcgtacg 309

<210> 147

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable)

<400> 147

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg

35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

<210> 148

<211> 422

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa

constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
variable) (Sequence of DCIB24)

<400> 148
aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggccctg 120
agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgtc ttgggttcgc 180
aggctccggg gaaggggctg gattggatcg catacattgg tagtggtggt agtataatca 240
actttgaaaa actgcgattc accatttcca gagacaatag caagaacacc ctgtatttgc 300

aattgaacag tctgagggct gaggacacag ccgtgtatta ctgtgcaaga cattatggtc 360
actacgtgga ctatgctgtg gactactggg gtcaaggaac cagggtcacc gtctccagcg 420
ct 422

<210> 149

<211> 137

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy

variable) (Sequence of DCIB24)

<400> 149
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
20 25 30
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe
35 40 45
Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

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

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

130 135
<210> 150
<211> 398
<212> DNA
<213> Unknown
<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB24)

<400> 150
ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctcgatct ctgacactcc tccagcttat agaccaccaa atgcccttat cctatggtat 180
tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac cgattttctg 240
gggtcccaga cagattcagt ggcagtggat caggacaga tttcacactc aagatcagca 300
gagtggaggc tgaggatacc ggagtgtatt actgctttca aggttcacat gttccgtgga 360
cgttcgggtg aggcaccaag gtggaaatca agcgtacg 398

<210> 151
<211> 128
<212> PRT
<213> Unknown
<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB24)

<400> 151

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg

35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

<210> 152

<211> 417

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa

constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy

variable) (Sequence of DCIB25)

<400> 152

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtccttg 120

agaatgtcct gcaccattat ggaccagggtg cctttctccg tgtgggttcg gcaggctccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgttg gtagtgttta tgattttttt 240

gtgtggctcc gattcacat ttccagagac aatagcaaga acaccctgta ttgcaattg 300

aacagtctga gggctgagga cacagccgtg tattactgtg cgagacatta tggtcactac 360

gtggactatg ctgtggacta ctgggggtcaa ggtaccacgg tcaccgtctc cagcgct 417

<210> 153

<211> 420

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (light variable) (Sequence of DCIB25)

<400> 153

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctccatct ctgacagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta 180

gaatggtacc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240

cgattttctg ggggtcccaga cagattcagt ggcagtggat cagggacaga tttcacactc 300

aagatcagca gaggaggagc tgaggatacc ggagtgtatt actgcactcc tccagcttat 360

agaccaccaa atgcccctat cctattcggg ggaggcacca aggtggaaat caagcgtacg 420

420

<210> 154

<211> 135

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (light variable) (Sequence of DCIB25)

<400> 154

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Phe Gly Gly

115 120 125

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

130 135

<210> 155

<211> 135

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned in frame with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
variable) (Sequence of DCIB25)

<400

> 155

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Met Asp Gln Val Pro

35 40 45

Phe Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

50 55 60

Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu

65 70 75 80
Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln
85 90 95
Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
100 105 110
His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
115 120 125
Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135
<210> 156

<211> 423

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
variable) (Sequence of DCIB31)

<400> 156
aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggctcctg 120
agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgct ttgggttcgc 180

caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcatacattg gtagtggtgg tgatagaacc 240
tactatccag acactgtgaa gggccgattc accatttcca gagacaatag caagaacacc 300
ctgtatttgc aattgaacag tctgagggtc gaggacacag ccgtgtatta ctgtgcccga 360
agtgtttatg atttttttgt gtggctctgg ggccaaggaa ccacggtcac cgtctccagc 420
gct 423

<210> 157

<211> 137

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
variable) (Sequence of DCIB31)

<400> 157

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe

35 40 45

Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu Trp Gly

115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 158

<211> 407

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB31)

<400> 158
 ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
 gcctccatct ctigcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta 180
 gaatggtacc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240
 cgattttctg ggggccaga cagattcagt gcagtggatc agggacagat ttcacactca 300
 agatcagcag agtggaggct gaggataccg gagtgtatta ctgctttcaa ggttcacatg 360
 ttccgtggac gttcgggtgga ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacg 407

<210> 159

<211> 131

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
 variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
 constant regions within the expression vector pDCOrig (light
 variable) (Sequence of DCIB31)

<400> 159

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115	120	125
Glu Ile Lys		
130		
<210> 160		
<211> 423		
<212> DNA		
<213> Unknown		
<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB32)		
<400> 160		
aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc	60	
cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtccttg	120	
agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgtc ttgggttcgc	180	
caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcataattg gtagtggtgg tgatagaacc	240	
tactatccag aactgtgaa gggccgattc accatttcca gagacaatag caagaacacc	300	
ctgtatttgc aattgaacag tctgagggct gaggacacag ccgtgtatta ctgtgcccga	360	
 agtgtttatg atttttttgt gtggctctgg ggccaaggaa ccacggtcac cgtctccagc	420	
gct	423	
<210> 161		
<211> 137		
<212> PRT		
<213> Unknown		
<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB32)		
<400> 161		
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly		
1	5	10
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln	15	

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

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

<210> 162

<211> 420

<212> DNA

<213> Unknown

<

220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB32)

<400> 162

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
gcctccatct ctgcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta 180

gaatggtacc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240
cgattttctg ggggtcccaga cagattcagt ggagtggtat cagggacaga tttcacactc 300
aagatcagca gagtggagge tgaggatacc ggagtgtatt actgcactcc tccagcttat 360
agaccaccaa atgcccctat cctattcggg ggaggcacca aggtggaaat caagcgtacg 420
420

<210> 163
 <211> 432
 <212> DNA
 <213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
 constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
 variable) (Sequence of DCIB36)

<400> 163
 aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120
 agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgtc ttgggttcgc 180
 caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcatacattg gtagtggtgg tgatagaacc 240

 tactatccag aactgtgaa gggccgattc accatttcca gagacaatag caagaacacc 300
 ctgtatttgc aattgaacag tctgagggct gaggacacag ccgtgtatta ctgtgcaaga 360
 cattatggtc actacgtgga ctatgctgtg gactactggg gtcaaggaac cacggtcacc 420
 gtctccagcg ct 432

<210> 164
 <211> 140
 <212> PRT
 <213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa

 constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
 variable) (Sequence of DCIB36)

<400> 164
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
 20 25 30
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe
 35 40 45

Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

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

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 130 135 140

<210> 165

<211> 408

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
 variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
 constant regions within the expression vector pDCOrig (light
 variable) (Sequence of DCIB36)

<400> 165

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttcatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctccatct cttgcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta 180

gaatgggtacc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240

cgattttctg ggggtccaga cagattcagc ggagtggtat cagggacaga tttcacactc 300

aagatcagca gattggaggc tgaggatacc ggagtgtatt actgcagtgt ttatgatattt 360

tttgtgtggc tcttcggtgg aggcaccaag gtggaaatca agcgtacg 408

<210> 166

<211> 131

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (light variable) (Sequence of DCIB36)

<400> 166

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Glu Ile Lys

130

<210> 167

<211> 438

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB48)

<400> 167
aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120
agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgic ttgggttcgc 180
caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcatacattg gtagtgggtg tagtgtttat 240
gatttttttg tgtggctccg attcaccatt tccagagaca atagcaagaa caccctgtat 300
ttgcaattga acagtctgag ggctgaggac acagccgtgt attactgtgc ccgatggaac 360
aggcagctgt atccagagtg gacagaagcc cagagacttg actggggcca aggaaccacg 420

gtcacctctt ccagcgct 438

<210> 168

<211> 142

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
variable) (Sequence of DCIB48)

<400> 168

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe
35 40 45

Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
50 55 60

Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe
65 70 75 80

Val Trp Leu Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu

85 90 95
Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Ala Arg Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln

115 120 125

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

130 135 140

<210> 169

<211> 317

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB48)

<400> 169

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctccatct ctgcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta 180

gcagtggatc agggacagat ttcacactca agatcagcag agtggaggct gaggataccg 240

gagtgtatta ctgctttcaa gggtcacatg ttccgtggac gttcgggtgga ggcaccaagg 300

tggaaatcaa gcgtacg 317

<210> 170

<211> 435

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
variable) (Sequence of DCIB49)

<400> 170

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtccttg 120

agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgtc ttgggttcgc 180

caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcatacattg gtagtggtgg tgatagaacc 240

tactatccag acactgtgaa gggccgattc accatttcca gagacaatag caagaacacc 300
ctgtatttgc aattgaacag tctgagggtc gaggacacag ccgtgtatta ctgtgccga 360
actcctccag cttatagacc accaaatgcc cctatcctat ggggccaagg aaccacggtc 420
accgtctcca gcgct 435

<210> 171

<211> 141

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy
variable) (Sequence of DCIB49)

<400> 171

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe

35 40 45

Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Thr Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro

115 120 125

Ile Leu Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135 140

<210> 172

<211> 408

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa

constant regions within the expression vector pDCOrig (light variable) (Sequence of DCIB49)

<400> 172

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc	60
cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca	120
gcctccatct cttgcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta	180
gaatggtacc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac	240
cgattttctg ggggccca cagattcagt ggagtggtat caggacaga ttacacac	300
aagatcagca gaggatgggc tgaggatacc ggagtgtatt actgttttca aggttcacat	360
gttccgtgga cgttcgggtg aggcaccaag gtggaaatca agcgtacg	408

<210> 173

<211> 429

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB52)

<400> 173

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc	60
cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggctcctg	120
agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgct ttgggttcgc	180
caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcatacatg gtagtggtgg tagtgtttat	240
gatttttttg tgtggctccg attcaccatt tccagagaca atagcaagaa caccctgtat	300
ttgcaattga acagtctgag ggctgaggac acagccgtgt attactgtgc ccgaactcct	360
ccagcttata gaccacaaa tgcccctatc ctatggggcc aaggaaccac ggtcacctgc	420

tccagcgct

429

<210> 174

<211> 139

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB52)

<400> 174

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe

35 40 45

Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

50 55 60

Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe

65 70 75 80

Val Trp Leu Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu

85 90 95

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

100 105 110

Cys Ala Arg Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu

115 120 125

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 175

<211> 407

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa

constant regions within the expression vector pDCOrig (light variable) (Sequence of DCIB52)

<400> 175

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc	60
cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca	120
gcctccatct cttgcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctatttg	180
aatggtacct gcagaaacca ggccagtctc cacagctcct gatctacaaa gtttccaacc	240
gattttcttg ggtcccagac agattcagtg gcagtggatc agggacagat ttcacactca	300
agatcagcag agtggaggct gaggataccg gagtgtatta ctgctttcaa ggttcacatg	360
ttccgtggac gttcgggtga ggcaccaagg tggaaatcaa gcgtacg	407

<210> 176

<211> 453

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB54)

<400> 176

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc	60
cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg	120
agaatgtcct gcgggacagg cagggcaatg ctgggcacac acaccatgga agtaactgtc	180
taccattggg ttcggcaggc tccggggaag gggctggagt ggatcgcata cattggtagt	240
ggtggtagtg tttatgattt ttttgtgtgg ctccgattca ccatttcag agacaatagc	300
aagaacaccc tgtatttgca attgaacagt ctgaggctg aggacacagc cgtgtattac	360
tgtgcccgat ggaacaggca gctgtatcca gattggacag aagcccagag acttgactgg	420
ggccaaggta ccacggtcac cgtctccagc gct	453

<210> 177

<211> 147

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB54)

<400> 177

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Gly Thr Gly Arg Ala Met Leu

35 40 45

Gly Thr His Thr Met Glu Val Thr Val Tyr His Trp Val Arg Gln Ala

50 55 60

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser

65 70 75 80

Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu

115 120 125

Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

130 135 140

Val Ser Ser

145

<210> 178

<211> 131

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB52)

<400> 178

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Glu Ile Lys

130

<210> 179

<211> 408

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB54)

<400> 179

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc

60

cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
gcctccatct ctgcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta 180
gaatggtagc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240
cgattttctg ggggtccaga cagattcagt ggagtggtat caggacaga ttccacactc 300
aagatcagca gagtggaggc tgaggatacc ggagtgtatt actgctttca aggttcacat 360
gttccgtgga cgttcggtgg aggcaccaag gtggaaatca agcgtacg 408

<210> 180

<211> 131

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB54)

<400> 180

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Glu Ile Lys

130

<210> 181

<211> 426

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB18)

<400> 181

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc	60
cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg	120
agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgac ttgggttcgc	180
caggctccgg ggaagggggt ggagtggatc gcatacattg gtagtggtgg tagtgtttat	240
gatttttttg tgggtccg attcaccatt tccagagaca atagcaagaa caccctgtat	300
ttgcaattga acagtctgag ggctgaggac acagccgtgt attactgtgc aagacattat	360
ggtcactacg tggactatgc tgtggactac tggggtcaag gaaccacggt caccgtctcc	420

agcgct	426
--------	-----

<210> 182

<211> 138

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (heavy variable) (Sequence of DCIB18)

<400> 182

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

1	5	10	15
---	---	----	----

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

20	25	30
----	----	----

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe

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

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

130 135

<210> 183

<211> 398

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light

variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
 constant regions within the expression vector pDCOrig (light
 variable) (Sequence of DCIB18)

<400> 183

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactccgatg tgttcatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
 gcctcgatct cttgcaactc tccagcttat agaccaccaa atgcccctat cctatggtat 180
 tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac cgattttctg 240

gggtcccaga cagattcagt ggcagtggat caggacaga tttcacactc aagatcagca 300
 gagtggaggc tgaggatacc ggagtgtatt actgctttca aggttcacat gttccgtgga 360
 cgttcggtgg aggcaccaag gtggaaatca agcgtacg 398

<210> 184

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (light

variable) (Sequence of DCIB18)

<400> 184

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg

35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

<210> 185

<211> 135

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa constant regions within the expression vector pDCOrig (light

variable) (Sequence of DCIB32)

<400> 185

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

1 5 10 15
Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

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

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

65 70 75 80
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr

85 90 95

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

100 105 110

Thr Pro Pro Ala Tyr Arg Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Phe Gly Gly

115 120 125

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

130 135

<210> 186

<211> 131

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa

constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB48)

<400> 186

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

1 5 10 15
Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

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

Glu Ile Lys

130
<210> 187
<211> 131
<212> PRT
<213> Unknown

<220><223> Nucleotide and amino acid sequence of the heavy and light
variable regions cloned inframe with the human IgG1 Fc and kappa
constant regions within the expression vector pDCOrig (light
variable) (Sequence of DCIB49)

<400> 187

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
1 5 10 15
Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

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

85

90

95

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

100

105

110

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

115

120

125

Glu Ile Lys

130

<210> 188

<211> 435

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB21 - Heavy variable

<400> 188

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgtc ttgggttcgc 180

caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcatacatg gtagtggtgg tataccgcag 240

agtctagact cgtgggtggc ttctctccga ttaccattt ccagagacaa tagcaagaac 300

accctgtatt tgcaattgaa cagtctgagg gctgaggaca cagccgtgta ttactgtgca 360

agacattatg gtcactacgt ggactatgct gtggactact ggggtcaagg aaccacggtc 420

accgtctcca gcgct 435

<210> 189

<211> 141

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB21 - Heavy variable

<400> 189

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

1

5

10

15

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

20

25

30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe

35 40 45
Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

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

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135 140

<210> 190

<211> 390

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB21 - Light variable

<400> 190

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
gcctccatct cttgctttga aaggtttgag atattcccca aggaatggta cctgcagaaa 180
ccaggccagt ctccacagct cctgatctac aaagtttcca accgattttc tgggggtccca 240

gacagattca gtggcagtgg atcagggaca gatttcacac tcaagatcag cagagtggag 300
gtcaggagata ccggagtgtg ttactgcttt caaggttcac atgttcctg gacgttcggt 360
ggaggcacca aggtggaaat caagcgtacg 390

<210> 191

<211> 125

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB21 - Light variable

<400> 191

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

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

35 40 45

Phe Pro Lys Glu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser Pro Gln Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser His Val

100 105 110

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

115 120 125

<210> 192

<211> 423

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB26 - Heavy variable

<400> 192

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gcaccattat ggaccagtg cctttctccg tgtgggttcg gcaggtccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgggt gtgatagaac ctactatcca 240

gacactgtga agggccgatt caccatttcc agagacaata gcaagaacac cctgtatttg 300

caattgaaca gtctgagggc tgaggacaca gccgtgtatt actgtgcaag acattatggt 360

cactacgtgg actatgctgt ggactactgg ggtcaaggaa ccacggtcac cgtctccagc 420

gct 423

<210> 193

<211> 137

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB26 - Heavy variable

<400> 193

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Met Asp Gln Val Pro

35 40 45

Phe Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

85 90 95

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

100 105 110

Ala Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly

115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 194

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB26 - Light variable

<400> 194

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctcgatct ctgtcactcc tccagcttat agaccaccaa atgccccctat cctatggtat 180

ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240

gggggtcccag acagattcag tggcagtgga tcaggacag attcacact caagatcagc 300

agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat tactgcttcc aaggttcaca tgttccgtgg 360

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 195

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB26 - Light variable

<400> 195

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg

35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

<210> 196

<211> 420

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB26 - Heavy Variable

<400> 196

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gcttcctacc agctacttta actatggttt gggttcggca ggctccgggg 180
aaggggctgg agtggatcgc atacattggt agtgggtgtg atagaacctt ctatccagac 240
actgtgaagg gccgattcac catttcaga gacaatagca agaaccacct gtatttgcaa 300
ttgaacagtc tgagggtga ggacacagcc gtgtattact gtgcaagaca ttatggtcac 360
tacgtggact atgctgtgga ctactggggt caaggaacca cggtcaccgt ctccagcgt 420
420

<210> 197

<211> 136

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB26 - Heavy Variable

<400> 197

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Phe Leu Pro Ala Thr Leu Thr

35 40 45

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

50 55 60

Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys

65 70 75 80

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

85 90 95

Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

100 105 110

Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln

115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 198

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB26 - Light Variable

<400> 198

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctcgatct ctgtcactcc tccagcttat agaccaccaa atgcccttat cctatggtat 180

ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240

ggggtcccag acagattcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc 300

agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat tactgctttc aaggttcaca tgttccgtgg 360

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 199

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB26 - Light Variable

<400> 199

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg

35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 200

<211> 423

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB37 - heavy variable

<400> 200

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gcaccattac tgaccagggtg cctttgtccg tgtgggttcg gcaggctccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtggtg gtgatagaac ctactatcca 240

gacactgtga agggccgatt caccatttcc agagacaata gcaagaacac cctgtatttg 300

caattgaaca gtctgagggc tgaggacaca gccgtgtatt actgtgcaag acattatggt 360

cactactggt actatgtgtt ggactactgg ggtcaaggaa ccacggtcac cgtctccagc 420

gct 423

<210> 201

<211> 137

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB37 - heavy variable

<400> 201

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
20 25 30

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

Leu Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

50

55

60

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 202

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB37 - light variable

<400> 202

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
 gcctcgatct ctgtcactcc tccagcttat agaccaccaa atgcccttat cctatggtat 180
 ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240

ggggtcccag acagattcag tggcagtgga tcaggacag attcacact caagatcagc 300
 agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat tactgctttc aaggttcaca tgttccgtgg 360
 acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 203

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB37 - light variable

<400> 203

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30
 Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg
 35 40 45
 Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 50 55 60
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 85 90 95

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

<210> 204

<211> 423

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB40 - heavy variable

<400> 204

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcctaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gcaccattac tgaccaggtg cctatctccg tgtgggttcg gcaggctccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatatatt ggtagtgggtg gtgatagaac ctactatcca 240

gacactgtga agggccgatt caccatttcc agagacaata gcaagaacac cctgtatttg 300

caattgaaca gtctgagggc tgaggacaca gccgtgtatt actgtgcaag acattatggt 360

cactacgtgg actatgtctg ggactactgg gtcaaggaa ccacgggtcac cgtctccagc 420

gct 423

<210> 205

<211> 137

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB40 - heavy variable

<400> 205

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
 20 25 30

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

Ile Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

50 55 60

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 85 90 95

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

Ala Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly
 115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 206

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB40 - light variable

<400> 206

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttgaatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctcgatct cttgcaactcc tccagcttat agaccaccaa atgcccttat cctatggtat 180

ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240

ggggtcccag acagattcag tggcagtgga tcagggacag atttcacact caagatcagc 300

agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat tactgctttc aaggttcaca tgttccgtgg 360

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 207

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB40 - light variable

<400> 207

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg

35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

<210> 208

<211> 423

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB41 - heavy variable

<400> 208

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gcaccattac tgaccagggtg cctttctccg tgtgggttcg gcaggctccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgggtg gtgatagaac ctactatcca 240

gacactgtga agggccgatt caccatttcc agagacaata gcaagaacac cctgtatttg 300
 caattgaaca gtctgagggc tgaggacaca gccgtgtatt actgtgcaag acattatggt 360
 cactacgtgg actatgctgt ggactactgg ggtcaaggaa ccacggtcac cgtctccagc 420
 gct 423

<210> 209

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB41 - light variable

<400> 209

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
 gcctcgatct ctgtcactcc tccagcttat agaccaccaa atgcccttat cctatggtat 180
 ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240
 ggggtcccag acagattcag tggcagtggg tcaggacagc atttcacact caagatcagc 300
 agagtggagg ctgaggatag cggagtgtat tactgctttc aaggttcaca tgttccgtgg 360

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 210

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB41 - light variable

<400> 210

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

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

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

 $\langle 210 \rangle$ 211

<211> 423

<212> DNA

<213>	Unknown
-------	---------

<220><223> Sequence of DCIB42 - heavy variable

<400> 211

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gcaccattac tgaccaggtg ccttactccg tgtgggttcg gcaggctccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgggtg gtgatagaac ctactatcca 240

gacactgtga agggccgatt caccatttcc agagacaata gcaagaacac cctgtatttg 300

caattgaaca gtctgagggc tgaggacaca gccgtgtatt actgtgcaag acattatggt 360

cactacgtgg actatgctgt ggactactgg ggtcaaggaa ccacgggtcac cgtctccagc 420

gct 423

<210> 212

<211> 137

<212> PRT

<213>	Unknown
-------	---------

<220><223> Sequence of DCIB42 - heavy variable

<400> 212

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

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

35 40 45
Tyr Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
50 55 60
Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val
65 70 75 80

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

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
130 135

<210> 213

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<

220><223> Sequence of DCIB42 - light variable

<400> 213

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
gcctcgatct cttgcactcc tccagcttat agaccaccaa atgcccttat cctatggtat 180
ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240
ggggtccag acagattcag tggcagtgga tcaggacag attcacact caagatcagc 300
agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat tactgcttcc aaggttcaca tgttccgtgg 360

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 214

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB42 - light variable

<400> 214

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

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val
20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg
35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
50 55 60

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

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
115 120 125

<210> 215

<211> 423

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB43 - heavy variable

<400> 215

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggctcctg 120

agaatgtcct gcaccattac tgaccagctg cctttctcgg tgtgggttcg gcaggctcgg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatatatt ggtagtgggtg gtgatagaac ctactatcca 240

gacactgtga agggccgatt caccatttcc agagacaata gcaagaacac cctgtatttg 300

caattgaaca gtctgagggc tgaggacaca gccgtgtatt actgtgcaag acattatggt 360

cactacgtgg actatgctgt ggactactgg ggtcaaggaa ccacggtcac cgtctccagc 420

gct 423

<210> 216

<211> 136

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB43 - heavy variable

<400> 216

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

1	5	10	15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln			
20	25	30	
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Thr Asp Gln Leu Pro			
35	40	45	
Phe Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile			
50	55	60	
Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val			
65	70	75	80

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

<210> 217

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223>

> Sequence of DCIB43 - light variable

<400> 217

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

1	5	10	15
Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val			
20	25	30	

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg
 35 40 45
 Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 50 55 60

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

<210> 218

<211> 137

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB41 - heavy variable

<400> 218

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

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

Ala Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly
 115 120 125

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 130 135

<210> 219

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB43 - light variable

<400> 219

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120
 gcctcgatct ctgtcactcc tccagcttat agaccaccaa atgcccttat cctatggat 180
 ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240

gggggtcccag acagattcag tggcagtgga tcaggacagc atttcacact caagatcagc 300
 agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat tactgctttc aaggttcaca tgttccgtgg 360
 acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 220

<211> 417

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB35 - heavy variable

<400> 220

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggctccctg 120
 agaatgtcct gcaccattat ggaccagggtg cctttctccg tgtgggttcg gcaggctccg 180
 gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgttg gtagtggtta tgattttttt 240
 gtgtggctcc gattcaccat ttccagagac aatagcaaga acaccctgta ttgcaattg 300
 aacagtctga gggctgagga cacagccgtg tattactgtg cgagacatta tggtcactac 360
 gtggactatg ctgtggacta ctgggggtcaa ggtaccacgg tcaccgtctc cagcgct 417

<210> 221

<211> 135

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB35 - heavy variable

<400

> 221

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Thr Ile Met Asp Gln Val Pro

35 40 45

Phe Ser Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

50 55 60

Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu

65 70 75 80

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln

85 90 95

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

100 105 110

His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

115 120 125

Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 222

<211> 408

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB35 - light variable

<400> 222

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctcgatct ctgtctggaa caggcagctg tatccagagt ggacagaagc ccagagactt 180

gactggtatc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240

cgattttctg ggggccacaga cagattcagt ggcagtggat cagggacaga ttccacactc 300
aagatcagca gagtggaggc tggagatacc ggagtgtatt actgctttca aggttcacat 360

gttccgtgga cgttcgggtgg aggcaccaag gtggaaatca agcgtacg 408

<210> 223

<211> 131

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB35 - light variable

<400> 223

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Trp Asn Arg Gln Leu Tyr

35 40 45

Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Glu Ile Lys

130

<210> 224

<211> 417

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB50 - heavy variable

<400> 224
aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120
agaatgtcct gcaccattat ggaccagggt cctttctccg tgtgggttcg gcaggctccg 180

gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgggt gtagtgttta tgattttttt 240
gtgtggctcc gattcaccat ttccagagac aatagcaaga acaccctgta ttgcaattg 300
aacagtctga gggctgagga cacagccgtg tattactgtg cgagacatta tggtcactac 360
gtggactatg ctgtggacta ctgggggtcaa ggtaccacgg tcaccgtctc cagcgct 417

<210> 225

<211> 135

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB50 - heavy variable

<400> 225

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

1	5	10	15
Val	His	Ser	Gln
Val	Gln	Leu	Val
Glu	Thr	Gly	Gly
Gly	Gly	Leu	Ile
Gln			
20	25	30	
Pro	Gly	Gly	Ser
Leu	Arg	Met	Ser
Cys	Thr	Ile	Met
Asp	Gln	Val	Pro
35	40	45	
Phe	Ser	Val	Trp
Val	Arg	Gln	Ala
Pro	Gly	Lys	Gly
Leu	Glu	Trp	Ile
50	55	60	
Ala	Tyr	Ile	Gly
Ser	Gly	Gly	Ser
Val	Tyr	Asp	Phe
Phe	Val	Trp	Leu
65	70	75	80

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

<210> 226

<211> 431

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB50 - light variable

<400> 226

```

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc      60
cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca      120
gcctccatct ctigcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta      180
gaatggtacc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac      240
cgattttctg ggggtccaga cagattcagt ggagtggtat caggacaga ttccacactc      300
aagatcagca gattggaggc tgaggatacc ggagtgtatt actgctggaa caggcagctg      360
tatccagagt ggacagaagc ccagagactt gacttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc      420

```

aagcgtacgm g 431

<210> 227

<211> 138

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB50 - light variable

<400> 227

```

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

```

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

Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp
 115 120 125

Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 130 135

<210> 228

<211> 420

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB71 - Heavy variable

<400> 228

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtccttg 120

agaatgtcct gcatcttgat caattccctta cctcttgat gggttcggca ggctccgggg 180

aaggggctgg agtggatcgc atacattggt agtggtggtg atagaaccta ctatccagac 240

actgtgaagg gccgattcac catttcaga gacaatagca agaaccct gtatttgcaa 300

ttgaacagtc tgaggctga ggacacagcc gtgtattact gtgcaagaca ttatggtcac 360

tacgtggact atgctgtgga ctactggggt caaggaacca cggtcacctg ctccagcgt 420

420

<210> 229

<211> 136

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB71 - Heavy variable

<400>

> 229

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

Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ile Leu Ile Asn Ser Leu Pro
 35 40 45

Leu Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala
50 55 60

Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Asp Arg Thr Tyr Tyr Pro Asp Thr Val Lys

65 70 75 80

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu

85 90 95

Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala

100 105 110

Arg His Tyr Gly His Tyr Val Asp Tyr Ala Val Asp Tyr Trp Gly Gln

115 120 125

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

130 135

<210> 230

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB71 - Light variable

<400> 230

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgitgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctcgatct ctgtcactcc tccagcttat agaccaccaa atgccctat cctatggtat 180

ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240

gggggtccag acagattcag tggcagtgga tcagggacag attcacact caagatcagc 300

agagtggagg ctgaggatag cggagtgtat tactgctttc aaggttcaca tgttcctgg 360

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 231

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB71 - Light variable

<400> 231

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

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

 35 40 45
 Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 50 55 60
 Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 65 70 75 80
 Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 85 90 95
 Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly
 100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

 115 120 125
 <210> 232
 <211> 426
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><223> Sequence of DCIB72 - heavy variable
 <400> 232

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120
 agaatgtcct gtgcagcctc tggattcgct ttcaatacct atgacatgic ttgggttcgc 180
 caggctccgg ggaaggggct ggagtggatc gcatacattg gtagtggtgg tatcttgatc 240

aattccctac ctcttgtacg attcaccatt tccagagaca atagcaagaa caccctgtat 300
 ttgcaattga acagtctgag ggctgaggac acagccgtgt attactgtgc aagacattat 360
 ggctactacg tggactatgc tgtggactac tggggtaag gaaccacgt caccgtctcc 420
 agcgct 426

<210> 233
 <211> 138
 <212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB72 - heavy variable

<400> 233

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

1	5	10	15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Thr Gly Gly Gly Leu Ile Gln			
20	25	30	
Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Phe			
35	40	45	
Asn Thr Tyr Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu			
50	55	60	
Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ile Leu Ile Asn Ser Leu			
65	70	75	80

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

<210> 234

<211> 399

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB72 - light variable

<400> 234

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc	60
cactccgatg tgitgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca	120
gcctcgatct cttgcactcc tccagcttat agaccaccaa atgccctat cctatggtat	180
ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct	240
ggggtcccag acagattcag tggcagtgga tcaggacag atttcacact caagatcagc	300

agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat tactgctttc aaggttcaca tgttcctgg 360

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtacg 399

<210> 235

<211> 128

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB72 - light variable

<400> 235

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg

35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

100 105 110

Ser His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

115 120 125

<210> 236

<211> 1413

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB53 - heavy variable

<400> 236

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactcccagg tgcagctggt ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

agaatgtcct gcaccattat ggaccagggtg cctttctccg tgtgggttcg gcaggctccg 180
gggaaggggc tggagtggat cgcatacatt ggtagtgggtg gtagtggtta tgattttttt 240

gtgtggctcc gattcaccat ttccagagac aatagcaaga acaccctgta tttgcaattg 300
aacagtctga gggctgagga cacagccgtg tattactgtg cgagacatta tggtcactac 360
gtggactatg ctgtggacta ctgggggtcaa ggtaccacgg tcaccgtctc cagcgctaaa 420
acaacagccc catcgggtcta tccactggcc cctgtgtgtg gagatacaac tggctcctcg 480
gtgactctag gatgcctggt caagggttat ttccctgagc cagtgcactt gacctggaac 540
tctggttccc tgtccagtgg tgtgcacacc ttcccagctg tectgcagtc tgacctctac 600
accctcagca gtcagtgcac tgtaacttcg agcacctggc ccagccagtc catcacctgc 660

aatgtggccc acccggcaag cagcaccaag gtggacaaga aaattgagcc cagagggccc 720
acaatcaagc cctgtctccc atgcaaatgc ccagcaccta acctcttggg tggaccatcc 780
gtcttcatct tccctccaaa gatcaaggat gtactcatga tctccctgag ccccatagtc 840
acatgtgtgg tgggtgatgt gagcgaggat gaccagatg tccagatcag ctggtttgtg 900
aacaacgtgg aagtacacac agctcagaca caaacccata gagaggatta caacagtact 960
ctccgggtgg tcagtgcctt ccccatccag caccaggact ggatgagtgg caaggagttc 1020
aatgcaagg tcaacaacaa agacctccca gcgcccacg agagaacat ctcaaaacc 1080

aaagggtcag taagagctcc acaggtatat gtcttgcttc caccagaaga agagatgact 1140
aagaaacagg tcactctgac ctgcatggtc acagacttca tgcctgaaga catttacgtg 1200
gagtggacca acaacgggaa aacagagcta aactacaaga aactgaacc agtcctggac 1260
tctgatggtt cttacttcat gtacagcaag ctgagagtgg aaaagaagaa ctgggtggaa 1320
agaaatagct actcctgttc agtgggtccac gaggtctgc acaatcacca cagactaag 1380
agcttctccc ggactccggg taaatgatct aga 1413

<210> 237

<211> 465

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB53 - heavy variable

<400> 237

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

1 5 10 15

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

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

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

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

 195 200 205
 Thr Trp Pro Ser Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser
 210 215 220
 Ser Thr Lys Val Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys
 225 230 235 240
 Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Gly Pro
 245 250 255
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser
 260 265 270

Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp
 275 280 285
 Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr
 290 295 300
 Ala Gln Thr Gln Thr His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val
 305 310 315 320
 Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu
 325 330 335
 Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Asp Leu Pro Ala Pro Ile Glu Arg
 340 345 350
 Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Ser Val Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val
 355 360 365
 Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr
 370 375 380
 Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr
 385 390 395 400
 Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu
 405 410 415
 Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys
 420 425 430
 Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu
 435 440 445
 Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly
 450 455 460
 Lys
 465
 <210> 238
 <211> 729
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><223> Sequence of DCIB53 - light variable
 <400> 238

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgttgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctcgatct cttgactcc tccagcttat agaccaccaa atgccctat cctatggtat 180

ctgcagaaac caggccagtc tccacagctc ctgatctaca aagtttccaa ccgattttct 240

ggggtccag acagattcag tggcagtga tcaggacag atttcacact caagatcagc 300

agagtggagg ctgaggatac cggagtgtat tactgcttcc aaggttcaca tgttccgtgg 360

acgttcggtg gaggcaccaa ggtggaaatc aagcgtgcag atgctgcacc aactgtatcg 420

atcttccac catccagtga gcagttaaca tctggaggtg cctcagtcgt gtgcttcttg 480

aacaacttct accccaaaga catcaatgic aagtggaaga ttgatggcag tgaacgacaa 540

aatggcgtcc tgaacagttg gactgatcag gacagcaaag acagcaccta cagcatgagc 600

agcacctca cgttgaccaa ggacgagtat gaacgacata acagctatac ctgtgagggc 660

actcacaaga catctacttc acccattgtc aagagcttca acaggaatga gtgttagctc 720

gagtctaga 729

<210> 239

<211> 235

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB53 - light variable

<400

> 239

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Thr Pro Pro Ala Tyr Arg

35 40 45

Pro Pro Asn Ala Pro Ile Leu Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

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

210 215 220
 Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 225 230 235

<210> 240

<211> 1449

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB64 - Heavy variable

<400> 240

aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 actcccaggt gcagctgggtg gagactgggc ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120
 agaatgtcct gcgggacagg cagggaatg ctgggcacac acaccatgga agtgactgtc 180
 taccattggg ttccggcaggc tccggggaag gggctggagt ggatcgcata cattggtagt 240

ggtggtagtg tttatgattt ttttgtgtgg ctccgattca ccatttcag agacaatagc 300
 aagaacaccc tgtattttgca attgaacagt ctgagggtg aggacacagc cgtgtattac 360
 tgtgcccgat ggaacaggca gctgtatcca gattggacag aagcccagag acttgactgg 420
 ggccaaggaa ccacggtcac cgtctccagc gctaaaacaa cagccccatc ggtctatcca 480

ctggcccctg tgtgtggaga tacaactggc tcctcgggtga ctctaggatg cctgggtcaag 540
 gggtattttcc ctgagccagt gaccttgacc tggaactctg gttccctgtc cagtgggtgtg 600
 cacaccttcc cagctgtcct gcagtctgac ctctacaccc tcagcagctc agtgactgta 660

acttcgagca ccigggcccag ccagtcctatc acctgcaatg tggcccaccc ggcaagcagc 720
 accaaggtgg acaagaaaaat tgagcccaga gggcccacaa tcaagccctg tcctccatgc 780
 aaatgcccag cacctaacct ctggggtgga ccatccgtct tcattttccc tccaaagatc 840
 aaggatgtac tcatgatctc cctgagcccc atagtcacat gtgtgggtgt ggatgtgagc 900
 gaggatgacc cagatgtcca gatcagctgg ttgtgaaca acgtggaagt acacacagct 960
 cagacacaaa cccatagaga ggattacaac agtactctcc ggggtggtcag tgccctcccc 1020
 atccagcacc aggactggat gagtggcaag gaggttcaat gcaagggtcaa caacaagac 1080

ctcccagcgc ccacgagag aaccatctca aaacccaaag ggtcagtaag agctccacag 1140
 gtatatgtct tgctccacc agaagaagag atgactaaga aacagggtcac tctgacctgc 1200
 atggtcacag acttcatgcc tgaagacatt tacgtggagt ggaccaacaa cgggaaaaca 1260
 gagctaaact acaagaacac tgaaccagtc ctggactctg atggtttctta cttcatgtac 1320
 agcaagctga gagtggaaaa gaagaactgg gtggaaagaa atagctactc ctgttcagtg 1380
 gtccacgagg gtctgcacaa tcaccacacg actaagagct tctcccggac tccgggtaaa 1440
 tgatctaga 1449

<210> 241

<211> 476

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB64 - Heavy variable

<400> 241

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Gly Thr Gly Arg Ala Met Leu

35 40 45

Gly Thr His Thr Met Glu Val Thr Val Tyr His Trp Val Arg Gln Ala

50

55

60

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

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

195 200 205
Tyr Thr Leu Ser Ser Ser Val Thr Val Thr Ser Ser Thr Trp Pro Ser
210 215 220
Gln Ser Ile Thr Cys Asn Val Ala His Pro Ala Ser Ser Thr Lys Val
225 230 235 240
Asp Lys Lys Ile Glu Pro Arg Gly Pro Thr Ile Lys Pro Cys Pro Pro
245 250 255
Cys Lys Cys Pro Ala Pro Asn Leu Leu Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe
260 265 270

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

His Arg Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro

325 330 335

Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Glu Glu Met Thr Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp

385 390 395 400

Phe Met Pro Glu Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr

405 410 415

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

420 425 430

Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu

435 440 445

Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His

450 455 460

His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys

465 470 475

<210> 242

<211> 738

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB64 - light variable

<400> 242

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgitgatgac ccaatctcca ctctcctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctccatct ctigcagatc tagtcagagc ctggtacata gtaatggaaa cacctattta 180

gaatgggtacc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240

cgattttctg ggggtcccaga cagattcagt ggagtgatg cagggacaga tticacactc 300

aagatcagca gagtggaggc tgaggatacc ggagtgtatt actgctttca aggttcacat 360

gttccgtgga cgttcggtgg aggcaccaag gtggaaatca agcgtgcaga tgctgcacca 420

actgtatcga tcttcccacc atccagttag cagttaacat ctggaggtgc ctcagtcgtg 480

tgcttcttga acaacttcta ccccaaagac atcaatgtca agtggagat tgatggcagt 540

gaacgacaaa atggcgtcct gaacagttgg actgatcagg acagcaaaga cagcacctac 600

agcatgagca gcacctcac gttgaccaag gacgagtatg aacgacataa cagctatacc 660

tgtgaggcca ctacaagac atctacttca ccattgtca agagcttcaa caggaatgag 720

tgtagctcg agtctaga 738

<210> 243

<211> 238

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB64 - light variable

<400> 243

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

1 5 10 15

Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val

20 25 30

Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

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

 195 200 205
 Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr
 210 215 220
 Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys
 225 230 235
 <210> 244
 <211> 453
 <212> DNA
 <213> Unknown
 <220><223> Sequence of DCIB68 - heavy variable
 <400> 244
 aagcttacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60
 cactcccagg tgcagctggg ggagactggg ggaggcttaa tccagcctgg agggtcctg 120

 agaatgtcct gcgggacagg cagggcaatg ctgggcacac acaccatgga agtaactgtc 180
 taccattggg ttcggcaggc tccggggaag gggctggagt ggatcgcata cattggtagt 240
 ggtgtagtagt tttatgattt ttttgtgtgg ctccgattca ccatttcag agacaatagc 300
 aagaacaccc tgtatttgca attgaacagt ctgagggtg aggacacagc cgtgtattac 360
 tgtgcccgat ggaacaggca gctgtatcca gaggggacag aagcccagag acttgactgg 420
 ggccaaggta ccacggtcac cgtctccagc gct 453

 <210> 245
 <211> 147
 <212> PRT

 <213> Unknown
 <220><223> Sequence of DCIB68 - heavy variable

<400> 245

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Met Ser Cys Gly Thr Gly Arg Ala Met Leu

35 40 45

Gly Thr His Thr Met Glu Val Thr Val Tyr His Trp Val Arg Gln Ala

50 55 60

Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Ala Tyr Ile Gly Ser Gly Gly Ser

65 70 75 80

Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp Leu Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

85 90 95

Ser Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

100 105 110

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Trp Asn Arg Gln Leu Tyr Pro Glu

115 120 125

Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr

130 135 140

Val Ser Ser

145

<210> 246

<211> 435

<212> DNA

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB68 - light variable

<400> 246

ggatccacca tgggatggag ctgtatcatc ctcttcttgg tagcaacagc taccggagtc 60

cactccgatg tgitgatgac ccaatctcca ctctccctgc ctgtcactcc tggggagcca 120

gcctcgatct cttgctggaa caggcagctg tatccagagt ggacagaagc ccagagactt 180

gactggtatc tgcagaaacc aggccagtct ccacagctcc tgatctacaa agtttccaac 240

cgattttctg ggggtcccaga cagattcagt ggcagtggat cagggacaga tttcacactc 300

aagatcagca gagtggaggc tgaggatacc ggagtgtatt actgcgggac aggcagggca 360
atgctgggca cacacacat ggaagtgact gtctaccatt tcggtggagg caccaaggtg 420
gaaatcaagc gtacg 435

<210> 247

<211> 140

<212> PRT

<213> Unknown

<220><223> Sequence of DCIB68 - light variable

<400> 247

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

1	5	10	15
Val His Ser Asp Val Leu Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val			
20	25	30	
Thr Pro Gly Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Trp Asn Arg Gln Leu Tyr			
35	40	45	
Pro Glu Trp Thr Glu Ala Gln Arg Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro			
50	55	60	
Gly Gln Ser Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser			
65	70	75	80
Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr			
85	90	95	
Leu Lys Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys			
100	105	110	
Gly Thr Gly Arg Ala Met Leu Gly Thr His Thr Met Glu Val Thr Val			
115	120	125	
Tyr His Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys			
130	135	140	