(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0079500
(43) 공개일자 2023년06월07일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/24 (2006.01) *C07K 16/28* (2006.01)
C07K 16/36 (2006.01) *C07K 16/40* (2006.01)
C07K 16/42 (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/244 (2013.01)
C07K 16/2866 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7017768(분할)
(22) 출원일자(국제) 2016년08월05일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2018-7032734
원출원일자(국제) 2016년08월05일
심사청구일자 2021년08월02일
(85) 번역문제출일자 2023년05월25일
(86) 국제출원번호 PCT/JP2016/003616
(87) 국제공개번호 WO 2017/046994
국제공개일자 2017년03월23일
(30) 우선권주장
JP-P-2015-185254 2015년09월18일 일본(JP)

(71) 출원인
추가이 세이야쿠 가부시키가이샤
일본국 도쿄도 기타쿠 우키마 5쵸메 5반 1고
(72) 발명자
이가와 도모유키
일본 시즈오카켄 고템바시 고마카도 1초메 135반치 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
마에다 아쓰히코
일본 시즈오카켄 고템바시 고마카도 1초메 135반치 추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
제일특허법인(유)

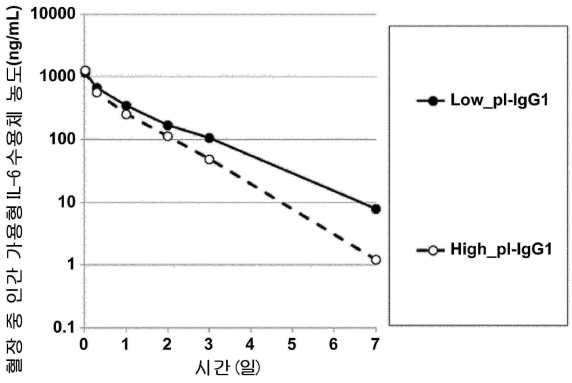
전체 청구항 수 : 총 1 항

(54) 발명의 명칭 **IL-8에 결합하는 항체 및 그의 사용**

(57) 요 약

비배타적인 일 태양에 있어서, 의약품으로서 우수한 신규 IL-8 항체를 제공한다.

대 표 도 - 도1



(52) CPC특허분류
C07K 16/36 (2013.01)
C07K 16/40 (2013.01)
C07K 16/42 (2013.01)
C07K 2317/31 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2317/526 (2013.01)
C07K 2317/567 (2013.01)
C07K 2317/72 (2013.01)
C07K 2317/76 (2013.01)

(72) 발명자
나카무라 겐키
일본 시즈오카켄 고템바시 고마카도 1초메 135반치
추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내
무라오카 마사루
일본 시즈오카켄 고템바시 고마카도 1초메 135반치
추가이 세이야쿠 가부시키가이샤 내

명 세 서

청구범위

청구항 1

본 명세서에 기재된 발명.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] [관련 출원의 상호 참조]

[0002] 본원은, 2015년 9월 18일에 일본에 출원된 일본 우선권 특허출원 제2015-185254호에 관련되고, 이 출원에 대한 우선권을 주장한다. 이 출원의 내용은, 그 전문이 참조에 의해 원용된다.

[0003] 본 개시는, 비배타적인 일 태양에 있어서, 항IL-8 항체, 해당 항체를 포함하는 의약 조성물, 해당 항체를 코딩하는 핵산, 및 해당 핵산을 포함하는 숙주 세포를 제공한다. 예를 들어 IL-8이 관련된 질환의 치료에 있어서의 IL-8 항체 및 의약 조성물의 제조 방법 및 사용도 제공한다.

배 경 기 술

[0004] 항체는 혈장 중에서의 안정성이 높고, 부작용도 적기 때문에 의약품으로서 주목받고 있다. IgG형의 치료용 항체는 다수 상시되어 있고, 현재도 수많은 치료용 항체가 개발되고 있다(Reichert et al., Nat. Biotechnol. 23:1073-1078(2005)(비특허문헌 1); Pavlou et al., Eur. J. Pharm. Biopharm. 59(3):389-396(2005)(비특허문헌 2)). 한편, 제 2 세대의 치료용 항체에 관해서 다양한 기술이 개발되고 있고, 이것에는, 음향 처리 장치 기능, 항원 결합능, 약물동태, 또는 안정성을 향상시키고, 면역원성의 리스크를 저감시키는 기술이 포함된다(Kim et al., Mol. Cells. 20 (1):17-29(2005)(비특허문헌 3)). 치료용 항체는 일반적으로 투여량이 매우 높기 때문에, 치료용 항체의 개발은, 피하 투여 제제의 제작이 곤란하다는 것, 제조 비용이 비싸다는 것 등의 과제에 직면하고 있다. 치료용 항체의 약물동태, 약역학, 및 항원 결합성을 향상시키는 방법에 의해, 치료용 항체에 관련되는 투여량 및 제조 비용을 저감시키는 수단이 제공된다.

[0005] 정상(定常) 영역의 아미노산 잔기의 치환은, 항체의 약물동태를 향상시키는 하나의 방법을 제공한다(Hinton et al., J. Immunol. 176 (1):346-356(2006)(비특허문헌 4); Ghetie et al., Nat. Biotechnol. 15(7):637-640(1997))(비특허문헌 5)). 친화성 성숙 기술은, 항체의 항원 중화능을 증대시키는 방법을 제공하여(Rajpal et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102(24):8466-8471(2005)(비특허문헌 6); Wu et al., J. Mol. Biol. 368:652(2007)(비특허문헌 7)), 항체 가변 도메인의 CDR 및/또는 프레임워크 영역의 아미노산 잔기에 변이를 도입함으로써 항원에 대한 결합 활성을 증대시키는 것이 가능하다. 항체의 항원 결합성의 향상에 의해, 인비트로에서의 항체의 생물학적 활성을 향상시키거나, 또는 투여량을 저감하는 것이 가능하고, 더욱이 인비보(체내)에서의 약효를 향상시키는 것도 가능하다(Wu et al., J. Mol. Biol. 368:652-665(2007)(비특허문헌 8)).

[0006] 항체 1분자당의 중화할 수 있는 항원량은 해당 항원에 대한 해당 항체의 친화성에 의존하기 때문에, 친화성을 강하게 함으로써 적은 항체량으로 항원을 중화시키는 것이 가능하다. 다양한 기지의 방법을 이용하여 항원에 대한 항체의 친화성을 강하게 하는 것이 관용적으로 가능하다(예를 들어, Rajpal et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102(24):8466-8471(2005)(비특허문헌 6) 참조). 더욱이 항원에 공유 결합적으로 결합하여, 친화성을 무한대로 할 수 있다면 1분자의 항체로 1분자의 항원(항체가 2가인 경우는 2항원)을 중화시키는 것이 이론적으로는 가능하다. 그렇지만, 지금까지의 치료용 항체 개발에 관한 한계 중 하나는, 1분자의 항체는 전형적으로, 1분자의 항원(항체가 2가의 경우는 2항원)에만 결합하여 중화시키는 것이다. 최근, 항원에 대해서 pH 의존적으로 결합하는 항체(이하, "pH 의존적 항체" 또는 "pH 의존적 결합 항체"라고도 한다)를 이용함으로써, 1분자의 항체가 복수 분자의 항원에 결합하여 중화시키는 것이 가능하다는 것이 보고되었다(예를 들어, WO2009/125825(특허문헌 1); Igawa et al., Nat. Biotechnol. 28:1203-1207(2010)(비특허문헌 9) 참조). pH 의존적 항체는, 항원에 대해서 혈장 중의 중성 pH 조건하에서는 강하게 결합하고, 세포의 엔도솜 내의 산성 pH 조건하에서 항원을 해리한다. 항원을 해리한 후에 당해 항체가 FcRn에 의해 혈장 중으로 리사이클되면, 다른 항원 분자에 자유

롭게 결합하여 중화시키기 때문에, 1개의 pH 의존적 항체로 복수의 항원 분자에 반복 결합하여 중화시키는 것이 가능해진다.

[0007] 혈장 중과 엔도솜 내에 있어서의 칼슘(Ca) 이온 농도의 차이에 주목하여, 칼슘 의존성을 나타내는 항원 항체 상호작용을 갖는 항체(이하, "칼슘 이온 농도 의존적 항체"라고도 한다)를 이용함으로써, 항체 리사이클 특성을 달성할 수 있다는 것이 최근 보고되어 있다(WO2012/073992(특허문헌 2)). (이하, pH 의존적 항체와 칼슘 이온 농도 의존적 항체를 통틀어 "pH/Ca 농도 의존적 항체"라고 한다.)

[0008] IgG 항체는 FcRn에 결합함으로써 긴 혈장 중 체류성을 갖는다. IgG 항체와 FcRn의 결합은 산성 pH 조건하(예를 들어, pH 5.8)에서 강하지만, 중성 pH 조건하(예를 들어, pH 7.4)에서는, 거의 결합하지 않는다. IgG 항체는 비특이적으로 세포에 흡수되지만, 엔도솜 내의 산성 pH 조건하에 있어서 엔도솜 내의 FcRn에 결합함으로써 세포 표면 상으로 되돌아간다. IgG는 그 후, 혈장 중의 중성 pH 조건하에서 FcRn으로부터 해리한다.

[0009] 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 결합을 증대하도록 개변된 pH 의존적 항체는, 항원 분자에 반복 결합하여 혈장 중으로부터 소실시키는 능력을 가지고 있기 때문에, 이러한 항체의 투여에 의해 혈장 중으로부터 항원을 소실시키는 것이 가능하다는 것이 보고되어 있다(WO2011/122011(특허문헌 3)). 이 보고에 의하면, 중성 pH 조건하(예를 들어, pH 7.4)에 있어서의 FcRn 결합을 증대하도록 개변된 pH 의존적 항체는, 천연형 IgG 항체의 Fc 영역을 포함하는 pH 의존적 항체와 비교하여, 그 항원 소실을 더욱 가속하는 것이 가능하다(WO2011/122011(특허문헌 3)).

[0010] 한편, IgG 항체의 Fc 영역에 변이를 도입하여, 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합을 잃게 하면, 엔도솜 내로부터 혈장 중에 리사이클될 수 없게 되기 때문에, 항체의 혈장 중 체류성은 현저하게 손상된다. 그래서, IgG 항체의 혈장 중 체류성을 개선하는 방법으로서, 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합을 향상시키는 방법이 보고되고 있다. IgG 항체의 Fc 영역에 아미노산 개변을 도입하여, 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합을 향상시킴으로써, 엔도솜 내로부터 혈장 중으로의 리사이클 효율이 상승하여, 그 결과, 혈장 중 체류성을 개선할 수 있다. 예를 들어, 개변 M252Y/S254T/T256E(YTE; Dall'Acqua et al., J. Biol. Chem. 281:23514-235249(2006)(비특허문헌 10)), M428L/N434S(LS; Zalevsky et al., Nat. Biotechnol. 28:157-159(2010))(비특허문헌 11), 및 N434H(Zheng et al., Clin. Pharm. & Ther. 89(2):283-290(2011)(비특허문헌 12))가, 천연형 IgG1과 비교하여 증대된 항체 반감기를 가져온다는 것이 보고되어 있다.

[0011] 그렇지만, 중성 pH 조건하 또는 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합성을 증대시킨, 이와 같은 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체는, 면역원성, 또는 응집물이 생기는 비율이 악화될 것이 염려될 수 있는 것 외에, 더욱이 치료용 항체의 투여 전부터 환자에게 존재하는 항의약품 항체(이하, "기존의 ADA"라고도 한다)(예를 들어, 류마토이드 인자)에 대한 결합성을 증가시킨다는 것이 보고되어 있다(WO2013/046722(특허문헌 4), WO2013/046704(특허문헌 5)). WO2013/046704(특허문헌 5)는, 특정의 변이(대표적인 것으로서, EU 넘버링에 따른, Q438R/S440E라는 2잔기 개변)를 포함하는 Fc 영역 개변체가, 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합을 증대시킨다는 것을 보고하고 있고, 또한, 미개변의 천연형 Fc와 비교하여 류마토이드 인자에 대한 결합의 유의한 저하도 나타냈다. 그렇지만, WO2013/046704(특허문헌 5)에는, 이 Fc 영역 개변체가, 천연형 Fc 영역을 갖는 항체와 비교하여 우수한 혈장 중 체류성을 갖고 있음이 특별히 실증되지는 않았다.

[0012] 그 때문에, 기존의 ADA에 대한 결합을 나타내지 않고, 혈장 중 체류성이 더욱 향상된, 안전하고 보다 유리한 Fc 영역 개변체가 요망되고 있다.

[0013] IgG 항체의 이펙터 기능으로서, 항체 의존성 세포 상해활성(이하, "ADCC"라고 표기한다)이나 보체 의존성 세포 상해활성(이하, "CDC"라고 표기한다), IgG 항체를 개재한 표적 세포의 파고사이토시스인 항체 의존성 세포 개재성 파고사이토시스(ADCP)가 보고되어 있다. IgG 항체가 ADCC 활성 또는 ADCP 활성을 매개하기 위해서는, IgG 항체의 Fc 영역과 킬러 세포, 내추럴 킬러 세포, 또는 활성화된 매크로파지 등의 이펙터 세포 표면 상에 존재하는 항체 수용체(당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, "Fcɣ 수용체", "FcgR", "Fc 감마 수용체" 또는 "FcɣR"이라고도 표기한다)와의 결합이 필요하다. 인간에서는, FcɣR 패밀리의 단백질로서, FcɣRIa, FcɣRIIa, FcɣRIIb, FcɣRIIIa 및 FcɣRIIIb의 아이소폼이 보고되어 있고, 각각의 알로타입도 보고되어 있다(Jefferis et al., Immunol. Lett. 82:57-65(2002)(비특허문헌 13)). FcɣRIa, FcɣRIIa, FcɣRIIIa, 또는 FcɣRIIIb를 포함하는 활성형 수용체, FcɣRIIb를 포함하는 억제형 수용체의 각각에 대한 항체의 친화성의 밸런스는, 항체의 이펙터 기능을 최적화하는데 있어서 중요한 요소이다.

[0014] 지금까지, 항원에 대한 치료용 항체의 활성을 증대 또는 향상시키는 다양한 기술이 보고되어 있다. 예를 들어,

항체의 활성형 FcγR에 대한 결합 활성은, 항체의 세포 상해활성에 중요한 역할을 하고 있기 때문에, 막형 항원을 표적으로 하고, 또한 활성형 FcγR에 대한 증대된 결합 활성에 기인하여 세포 상해활성이 증대된 항체가 개발되고 있다. 예를 들어, WO2000/042072(특허문헌 6); WO2006/019447(특허문헌 7); Lazar et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 103:4005-4010(2006)(비특허문헌 14); Shinkawa et al., J. Biol. Chem. 278, 3466-3473(2003)(비특허문헌 15); Clynes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:652-656(1998)(비특허문헌 16); Clynes et al., Nat. Med. 6:443-446(2000)(비특허문헌 17)을 참조한다. 마찬가지로, 억제형 FcγR(인간에서는, FcγRIIb)에 대한 결합 활성이, 면역 억제 활성, 아고니스트 활성에 중요한 역할을 하고 있기 때문에, 억제형 FcγR에 대한 결합 활성이 증대된, 막형 항원을 표적으로 한 항체의 연구가 진행되어 왔다(Li et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 109 (27):10966-10971(2012)(비특허문헌 18)). 또한, 가용형 항원에 결합하는 항체의 FcγR에 대한 결합의 영향은, 주로 그 부작용의 관점에서 검토되어 왔다(Scappaticci et al., J. Natl. Cancer Inst. 99 (16):1232-1239(2007)(비특허문헌 19)). 예를 들어, FcγRIIb에 대한 결합이 증대된 항체를 의약품으로서 이용하는 경우, 항의약품 항체가 산생하는 리스크의 저감을 기대할 수 있다(Desai et al., J. Immunol. 178(10):6217-6226(2007)(비특허문헌 20)).

[0015] 최근 들어서, IgG 항체의 Fc 영역에 아미노산의 개변을 도입하여, 가용형 항원을 표적으로 한 항체의, 활성형 및/또는 억제형 FcγR에 대한 결합 활성을 증대시킴으로써, 혈청으로부터의 해당 항원의 소실을 더욱 가속시킬 수 있었다는 것이 보고되어 있다(WO2012/115241(특허문헌 8), WO2013/047752(특허문헌 9), WO2013/125667(특허문헌 10), WO2014/030728(특허문헌 11)). 또한, FcγRIIb에 대한 결합 활성은 천연형 IgG 항체의 Fc 영역과 거의 변화가 없지만, 다른 활성형 FcγR에 대한 활성을 저하시킨 Fc 영역 개변체가 발견되어 있다(WO2014/163101(특허문헌 12)).

[0016] 가용성 항원의 혈장 중 체류성은, FcRn를 개재한 리사이클 기구를 갖는 항체와 비교하여 매우 짧기 때문에, 가용성 항원은, 당해 리사이클 기구를 갖는 항체(예를 들어, pH/Ca 농도 의존적 항체의 특성을 갖지 않는 항체)와 결합하는 것에 의해, 상승된 혈장 중 체류성 및 혈장 중 농도를 나타낼 수 있다. 따라서, 예를 들어, 혈장 중의 가용성 항원이 복수 종류의 생리 기능을 갖는 경우, 만일 항체의 결합에 의해 1종류의 생리 기능이 차단되었다고 해도, 당해 항체의 결합에 기인하는 당해 항원의 혈장 중 체류성 및/또는 혈장 중 농도의 상승의 결과로서, 당해 항원의 혈장 중 농도가, 다른 생리 기능이 병인이 되는 병원성 증상을 더 악화시키는 것도 생각할 수 있다. 이와 같은 경우에, 항원의 소실을 가속할 목적으로, 상기에 든 것과 같은 개변을 항체에 적용하는 방법에 더하여, 예를 들어, 복수의 pH/Ca 농도 의존적 항체와 복수의 항원이 다가의 면역 복합체를 형성하는 것을 이용하여, FcRn, FcγR, 보체 수용체에 대한 결합을 증대시키는 방법이 보고되어 있다(WO2013/081143(특허문헌 13)).

[0017] Fc 영역을 개변하지 않는 경우에도, 항체의 가변 영역의 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기의 전하가 바뀌도록 당해 아미노산 잔기를 개변하여 항체의 등전점(pI)을 상승 또는 저하시킴으로써, 표적 항원이나 항체의 종류에 관계없이, 또한 항체의 항원에 대한 결합 활성을 대폭으로 감약시키지 않고, 항체의 혈중 반감기를 제어 가능하다는 것이 보고되어 있다(WO2007/114319(특허문헌 14): 주로 FR에 있어서의 아미노산 치환 기술; WO2009/041643(특허문헌 15): 주로 CDR에 있어서의 아미노산 치환 기술). 이들 문헌에서는, 항체의 pI를 저하시킴으로써 항체의 혈장 중 반감기를 연장 가능하고, 또한, 반대로, 항체의 pI를 상승시킴으로써 항체의 혈장 중 반감기를 단축 가능하다는 것이 나타나 있다.

[0018] 항체의 정상 영역의 아미노산 잔기의 전하의 개변에 관해서는, 특히는 CH3 도메인에 있어서의 특정의 아미노산 잔기의 전하를 개변하여, 항체의 pI를 상승시킴으로써, 항원의 세포 내로의 흡수가 촉진 가능하다는 것이 보고되어 있고, 당해 개변이 바람직하게는 FcRn에 대한 결합에 간섭하지 않는다는 것도 기재되어 있다(WO2014/145159(특허문헌 16)). 또한, 항체의 정상 영역(주로 CH1 도메인)의 아미노산 잔기의 전하를 개변하여 pI를 저하시킴으로써, 항체의 혈장 중의 반감기를 연장 가능하다는 것, FcRn에 대한 결합을 증대시키는 아미노산 잔기의 변이와 조합함으로써, FcRn에 대한 결합을 증대시키면서, 항체의 혈장 중의 반감기를 연장 가능하다는 것이 보고되어 있다(WO2012/016227(특허문헌 17)).

[0019] 한편, 항체의 pI의 상승 또는 저하를 의도한 이와 같은 개변 기술을, FcRn 또는 FcγR에 대한 결합을 증감시키는 개변 기술 이외의 기술에 조합한 경우에, 항체의 혈장 중 체류성이나 혈장 중으로부터의 항원 소실의 촉진의 유무에 대해서는, 그 효과는 분명하지 않다.

[0020] 세포외 매트릭스(ECM)는, 인비보로 세포를 가리고 있는 구조체이며, 주로 콜라겐, 프로테오글리칸, 피브로넥틴, 및 라미닌 등의 당단백질로 구성되어 있다. 인비보에 있어서의 ECM의 역할은, 세포가 생존하기 위한 미소 환경

을 정돈하는 것에 있고, ECM은, 세포가 행하는 세포 증식이나 세포 접착 등의 다양한 활동에 있어서 중요하다.

[0021] ECM은, 생체에 투여된 단백질의 인비보 체내동태에 관여하고 있다는 것이 보고되어 있다. VEGF 수용체와 Fc의 융합 단백인 VEGF-Trap 분자를 피하 투여한 경우의 혈중 농도에 대한 검토가 이루어졌다(Holash et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 99(17):11393-11398(2002)(비특허문헌 21)). pI가 높은 VEGF-Trap 분자는 피하 투여 시의 혈장 중 농도가 낮기 때문에 생물학적 이용률(bioavailability)이 낮다. 아미노산 치환에 의해 pI가 저하된 개변 VEGF-Trap 분자는, 혈장 중 농도가 높아져, 생물학적 이용률을 향상시킬 수 있다. 또한, 당해 생물학적 이용률의 변화와 ECM에 대한 결합 강도가 상관되어 있기 때문에, 피하 투여한 경우의 VEGF-Trap 분자의 생물학적 이용률이, 피하 부위의 ECM에 대한 결합 강도에 의존하고 있다는 것이 분명해졌다.

[0022] WO2012/093704(특허문헌 18)에 있어서, 항체의 ECM에 대한 결합성과 혈장 중 체류성에는 역상관 관계가 있다는 것이 보고되어 있기 때문에, ECM에 결합하지 않는 항체 분자는, ECM에 결합하는 항체에 비해, 보다 우수한 혈장 중 체류성을 갖는다.

[0023] 이와 같이, 단백질의 인비보 생물학적 이용률 및 혈장 중 체류성을 향상시키는 것을 목적으로 하여, 세포외 매트릭스에 대한 결합성을 저하시키는 기술이 보고되어 왔다. 반면, 항체의 ECM에 대한 결합성을 증가시키는 것에 의한 이점은, 지금까지는 알려지지 않았었다.

[0024] 인간 IL-8(인터류킨 8, Interleukin 8)은, 72 또는 77 아미노산 잔기의 길이인, 케모카인 패밀리 멤버이다. "케모카인"이라고 하는 용어는, 분자량 8～12kDa를 갖고, 또한 분자간 다이설파이드 결합을 형성하는 4개의 시스테인 잔기를 포함하는 단백질의 패밀리의 총칭이다. 케모카인은, 그 시스테인의 정렬 방법의 특징에 따라 CC 케모카인, CXC 케모카인, C 케모카인, CA3C 케모카인으로 분류된다. IL-8은 CXC 케모카인으로 분류되고 CXCL8이라고도 불리고 있다.

[0025] IL-8은, 용액 중에서 단량체 및 호모이량체 형태로 존재한다. IL-8 단량체는, 역평행의 β 시트를 포함하고, C 말단의 α 헬릭스가 β 시트를 횡단하여 덮는 구조를 갖는다. IL-8 단량체는, 72 아미노산 형태의 IL-8의 경우, 시스테인 7과 시스테인 34 사이, 및 시스테인 9와 시스테인 50 사이에 2개의 다이설파이드 가교를 포함한다. IL-8 호모이량체는, 당해 호모이량체의 분자간에 공유 결합이 존재하지 않기 때문에, 2개의 단량체의 β 시트간의 비공유 결합성 상호작용에 의해 안정화되고 있다.

[0026] IL-8 발현은, 염증성 사이토카인에 의한 자극에 응답한 말초 혈단구, 조직 매크로파지, NK 세포, 섬유아세포, 및 혈관 내피 세포 등 여러 가지 세포에서 유도된다(Russo et al., Exp. Rev. Clin. Immunol. 10(5):593-619(2014)(비특허문헌 22)).

[0027] 케모카인은 일반적으로, 정상 조직에서는 검출 불가능하거나 약하게 밖에 검출되지 않지만, 염증 부위에서는 강하게 검출되어 백혈구의 조직 염증 부위로의 침윤을 촉진시켜, 염증의 야기에 관여한다. IL-8은, 호중구를 활성화하고, 세포 접착 분자의 발현을 항진하여, 호중구의 혈관 내피 세포로의 접착을 높인다는 것이 알려져 있는 염증 유발성 사이토카인이다. 또한, IL-8은 호중구 주화능(chemotactic capacity)도 가져, 손상 조직에서 산생되는 IL-8은 혈관 내피 세포에 접착한 호중구의 조직으로의 주화성을 촉진하여, 호중구 침윤에 수반하는 염증이 야기된다. IL-8은 또한, 내피 세포에 대한 유력한 혈관신생 인자이며 종양의 혈관신생의 촉진에 관여하고 있다는 것도 알려져 있다.

[0028] 상승된(예를 들어 과잉인) IL-8 레벨에 관련되는 염증성 질환으로서는, 염증성 각화증(예를 들어 마른 버짐), 아토피성 피부염, 접촉성 피부염 등의 염증성 피부 질환; 관절 류머티즘, 전신성 홍반성 낭창(SLE), 및 베쳇증 등의, 자기 면역 질환인 만성 염증성 질환; 크론병, 및 궤양성 대장염 등의 염증성 장 질환; B형 간염, C형 간염, 알코올성 간염, 약물 유도성 알레르기성 간염 등의 염증성 간 질환; 사구체 신염 등의 염증성 신 질환; 기관지염 및 천식 등의 염증성 호흡기 질환; 아테롬성 동맥 경화 등의 염증성 만성 혈관 질환; 다발성 경화증, 구내염, 성대염, 및 인공 장기 및/또는 인공 혈관 사용에 관련된 염증 등이 포함된다. 상승된(예를 들어 과잉인) IL-8 레벨은 또한, 난소암, 폐암, 전립선암, 위암, 유방암, 흑색종, 두경부암, 신장암 등의 악성 종양; 감염에 의한 패혈증; 낭포성 섬유증; 및 폐섬유증에도 관련된다(예를 들어, 당 명세서에 있어서 그 전문이 참조에 의해 원용되는, Russo et al., Exp. Rev. Clin. Immunol. 10(5):593-619(2014)(비특허문헌 22)를 참조한다).

[0029] 이들 중 몇몇 질환에 대해, 높은 친화성을 갖는 인간 항IL-8 항체가 의약 조성물로서 개발되어 왔지만(Desai et al., J. Immunol. 178(10):6217-6226(2007)(비특허문헌 23)), 그들은 아직 시장에 나와 있지 않다. 지금까지, 항IL-8 항체를 포함하는 의약 조성물로서 판매되고 있는 것은 1종류뿐이며, 이것은, 외용약으로서의, 마른 버짐에 대한 마우스 항IL-8 항체이다. 질환 치료용의 신규한 항IL-8 항체가 요구되고 있다.

선행기술문헌

특허문헌

[0030] (특허문헌 0001) WO2009/125825

(특허문헌 0002) WO2012/073992

(특허문헌 0003) WO2011/122011

(특허문헌 0004) WO2013/046722

(특허문헌 0005) WO2013/046704

(특허문헌 0006) WO2000/042072

(특허문헌 0007) WO2006/019447

(특허문헌 0008) WO2012/115241

(특허문헌 0009) WO2013/047752

(특허문헌 0010) WO2013/125667

(특허문헌 0011) WO2014/030728

(특허문헌 0012) WO2014/163101

(특허문헌 0013) WO2013/081143

(특허문헌 0014) WO2007/114319

(특허문헌 0015) WO2009/041643

(특허문헌 0016) WO2014/145159

(특허문헌 0017) WO2012/016227

(특허문헌 0018) WO2012/093704

비특허문헌

[0031] (비특허문헌 0001) Reichert et al., Nat. Biotechnol. 23:1073-1078(2005)

(비특허문헌 0002) Pavlou et al., Eur. J. Pharm. Biopharm. 59(3):389-396(2005)

(비특허문헌 0003) Kim et al., Mol. Cells. 20 (1):17-29(2005)

(비특허문헌 0004) Hinton et al., J. Immunol. 176 (1):346-356(2006)

(비특허문헌 0005) Ghetie et al., Nat. Biotechnol. 15(7):637-640(1997))

(비특허문헌 0006) Rajpal et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102(24):8466-8471(2005)

(비특허문헌 0007) Wu et al., J. Mol. Biol. 368:652(2007)

(비특허문헌 0008) Wu et al., J. Mol. Biol. 368:652-665(2007)

(비특허문헌 0009) Igawa et al., Nat. Biotechnol. 28:1203-1207(2010)

(비특허문헌 0010) Dall'Acqua et al., J. Biol. Chem. 281:23514-235249(2006)

(비특허문헌 0011) Zalevsky et al., Nat. Biotechnol. 28:157-159(2010))

(비특허문헌 0012) Zheng et al., Clin. Pharm. & Ther. 89(2):283-290(2011)

(비특허문헌 0013) Jefferis et al., Immunol. Lett. 82:57-65(2002)

(비특허문헌 0014) Lazar et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 103:4005-4010(2006)

(비특허문헌 0015) Shinkawa et al., J. Biol. Chem. 278, 3466-3473(2003)

(비특허문헌 0016) Clynes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U SA 95:652-656(1998)

(비특허문헌 0017) Clynes et al., Nat. Med. 6:443-446(2000)

(비특허문헌 0018) Li et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 109 (27):10966-10971(2012)

(비특허문헌 0019) Scappaticci et al., J. Natl. Cancer Inst. 99 (16):1232-1239(2007)

(비특허문헌 0020) Desai et al., J. Immunol. 178(10):6217-6226(2007)

(비특허문헌 0021) Holash et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 99(17):11393-11398(2002)

(비특허문헌 0022) Russo et al., Exp. Rev. Clin. Immunol. 10(5):593-619(2014)

(비특허문헌 0023) Desai et al., J. Immunol. 178(10):6217-6226(2007)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0032] 비배타적인 일 태양에 있어서, 개시 A의 실시태양의 비한정적인 목적은, 항체 반감기 및/또는 혈장으로부터의 항원 클리어런스를 개선하는 이온 농도 의존적 항원 결합성 등의, 항체에 관한 개선된 약물동태 특성을 갖는 분자를 제공하는 것이다.

[0033] 비배타적인 일 태양에 있어서, 개시 B의 실시태양의 비한정적인 목적은, 증대된 반감기 및 기존의 항의약품 항체(ADA)에 대한 감소한 결합을 갖는, 안전하고 보다 유리한 Fc 영역 개변체를 제공하는 것이다.

[0034] 비배타적인 일 태양에 있어서, 개시 C의 실시태양의 비한정적인 목적은, IL-8에 대해서 pH 의존적인 결합 친화성을 갖는 항IL-8 항체를 제공하는 것이다. 추가의 실시태양은, 개체에게 투여되었을 때에, 참조 항체와 비교하여 IL-8을 신속하게 소실시키는 효과를 갖는 항IL-8 항체에 관한 것이다. 다른 실시태양에 있어서, 개시 C는, 개체에게 투여되었을 때에, IL-8을 중화시키는 활성을 안정되게 유지할 수 있는 항IL-8 항체에 관한 것이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 항IL-8 항체는, 저감된 면역원성을 나타낸다. 추가의 실시태양에 있어서, 개시 C는 상기 항IL-8 항체를 제조 및 사용하는 방법에 관한 것이다. 개시 C의 다른 대체적인 비한정적 목적은, 의약 조성물에 포함될 수 있는 신규 IL-8 항체를 제공하는 것에 있다.

과제의 해결 수단

[0035] 당 명세서 중의 개시 A를 제공하고 있는 범위에 있어서의, 비배타적인 일 태양에 있어서, 본 발명자들은 놀랍게도, 이온 농도 의존적 항체(이온 농도 의존적 항원 결합 도메인("이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인")을 포함하는 항체)이 항원을 혈장으로부터 소실시키는 능력을, 해당 항체의 표면에 노출된 아미노산 잔기의 적어도 1개를 개변하여 등전점(pI)을 상승시킴으로써 촉진시킬 수 있다는 것을 발견했다. 비배타적인 다른 태양에 있어서, 본 발명자들은, pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체가, 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합성을 더욱 증대할 수 있다는 것을 발견했다. 본 발명자들은, 이것에 의해, 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합성을 증가시키는 것에 의해, 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 증대할 수 있다는 것을 발견했다.

[0036] 당 명세서 중의 개시 B를 제공하고 있는 범위에 있어서의, 비배타적인 일 태양에 있어서, 본 발명자들은, 항의약품 항체(기존의 ADA)에 대한 결합을 나타내지 않고, 혈장 중 체류성을 더욱 향상시킬 수 있는, 안전하고 보다 유리한 Fc 영역 개변체에 대해 예의 연구를 행했다. 그 결과, 본 발명자들은 놀랍게도, 항체의 혈장 중 체류성을 달성함과 함께, 류마토이드 인자에 대한 결합의 유의한 저하를 유지하기 위해서는, EU 넘버링에 따른 434위의 아미노산을 Ala(A)로 치환하고, 또한 특정의 2잔기 변이(대표적인 것으로서, EU 넘버링에 따른 Q438R/S440E)를 아미노산 잔기의 변이의 조합으로서 포함하는 Fc 영역 개변체가 바람직하다는 것을 발견했다.

[0037] 당 명세서 중의 개시 C를 제공하고 있는 범위에 있어서의, 비배타적인 일 태양에 있어서, 본 발명자들은, pH 의존적 항IL-8 항체(pH 의존적으로 IL-8에 결합하는 항IL-8 항체)를 다수 제작했다. 그리고 본 발명자들은, 다양

한 검증의 결과, 개체에게 투여되었을 때에, 참조 항체와 비교하여 IL-8을 신속하게 소실시키는 효과를 갖는 pH 의존적 항IL-8 항체를 발견했다. 몇몇 실시태양에 있어서, 개시 C는, IL-8을 중화시키는 활성을 안정적으로 유지할 수 있는 pH 의존적 항IL-8 항체에 관한 것이다. 추가의 비한정적 실시태양에 있어서, pH 의존적 항IL-8 항체는 감소된 면역원성 및 우수한 발현 레벨을 갖는다.

[0038] 또한, 개시 C의 범위에 있어서, 본 발명자들은, 산성 pH에 있어서의 FcRn에 대한 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성보다 증대되어 있는 Fc 영역을 포함하는 항IL-8 항체를 취득하는 것에 성공했다. 대체적인 태양에 있어서, 본 발명자들은, 기존의 ADA에 대한 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 기존의 ADA에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있는 Fc 영역을 포함하는 항IL-8 항체를 취득하는 것에 성공했다. 대체적인 태양에 있어서, 본 발명자들은, 혈장 중 반감기가, 천연형의 Fc 영역의 혈장 중 반감기보다 증대되어 있는 Fc 영역을 포함하는 항IL-8 항체를 취득하는 것에 성공했다. 대체적인 태양에 있어서, 본 발명자들은, 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있는 Fc 영역을 포함하는 pH 의존적 항IL-8 항체를 취득하는 것에 성공했다. 별도의 태양에 있어서, 본 발명자들은, 상기 항IL-8 항체를 코딩하는 핵산을 발견했다. 다른 태양에 있어서, 본 발명자들은 또한, 상기 핵산을 포함하는 숙주를 발견했다. 다른 태양에 있어서, 본 발명자들은, 상기 숙주를 배양하는 것을 포함하는, 상기 항IL-8 항체를 제조하는 방법을 발견했다. 다른 태양에 있어서, 본 발명자들은, 상기 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 것을 포함하는, 당해 개체로부터의 IL-8의 소실을 참조 항체보다 촉진하는 방법을 발견했다.

[0039] 일 실시태양에 있어서, 개시 A는, 비한정적으로 이하에 관한 것이다.

[0040] [1] 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체로서, 상기 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 등전점(pI)이 상승하고 있는, 항체.

[0041] [2] 상기 항원이 가용형 항원인, [1]의 항체.

[0042] [3] 상기 항원 결합 도메인이, 저이온 농도의 조건하에서의 항원에 대한 결합 활성보다 고이온 농도의 조건하에서의 항원에 대한 결합 활성이 높은 도메인인, [1] 또는 [2]의 항체.

[0043] [4] 상기 이온 농도가 수소 이온 농도(pH) 또는 칼슘 이온 농도인, [1] 내지 [3] 중 어느 하나의 항체.

[0044] [5] 상기 항원에 대한 pH 산성역에서의 KD와 pH 중성역에서의 KD의 비인 KD(산성 pH역)/KD(중성 pH역)가 2 이상인, [4]의 항체.

[0045] [6] 상기 항원 결합 도메인에 있어서, 적어도 1개의 아미노산 잔기가 히스티딘으로 치환되어 있거나, 또는 적어도 1개의 히스티딘이 삽입되어 있는, [1] 내지 [5] 중 어느 하나의 항체.

[0046] [7] 상기 개변 전의 항체와 비교하여, 혈장 중으로부터의 상기 항원의 소실을 촉진할 수 있는, [1] 내지 [6] 중 어느 하나의 항체.

[0047] [8] 상기 개변 전의 항체와 비교하여, 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성이 증대되어 있는, [1] 내지 [7] 중 어느 하나의 항체.

[0048] [9] 상기 아미노산 잔기의 개변이 아미노산 잔기의 치환인, [1] 내지 [8] 중 어느 하나의 항체.

[0049] [10] 상기 아미노산 잔기의 개변이,

[0050] (a) 음의 전하를 갖는 아미노산 잔기로부터 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기로의 치환;

[0051] (b) 음의 전하를 갖는 아미노산 잔기로부터 양의 전하를 갖는 아미노산 잔기로의 치환; 및

[0052] (c) 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기로부터 양의 전하를 갖는 아미노산 잔기로의 치환

[0053] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는, [1] 내지 [9] 중 어느 하나의 항체.

[0054] [11] 상기 항체가 가변 영역 및/또는 정상 영역을 포함하고, 또한 상기 아미노산 잔기의 개변이, 상기 가변 영역 및/또는 정상 영역에 있어서의 아미노산 잔기의 개변인, [1] 내지 [10] 중 어느 하나의 항체.

[0055] [12] 상기 가변 영역이 상보성 결정 영역(CDR) 및/또는 프레임워크 영역(FR)을 포함하는, [11]의 항체.

[0056] [13] 상기 가변 영역이 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 또한 적어도 1개의 아미노산 잔기가, Kabat 넘버링에 따른,

[0057] (a) 중쇄 가변 영역의 FR에 있어서 1위, 3위, 5위, 8위, 10위, 12위, 13위, 15위, 16위, 18위, 19위, 23위, 25위, 26위, 39위, 41위, 42위, 43위, 44위, 46위, 68위, 71위, 72위, 73위, 75위, 76위, 77위, 81위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 84위, 85위, 86위, 105위, 108위, 110위, 및 112위;

[0058] (b) 중쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 31위, 61위, 62위, 63위, 64위, 65위, 및 97위;

[0059] (c) 경쇄 가변 영역의 FR에 있어서 1위, 3위, 7위, 8위, 9위, 11위, 12위, 16위, 17위, 18위, 20위, 22위, 37위, 38위, 39위, 41위, 42위, 43위, 45위, 46위, 49위, 57위, 60위, 63위, 65위, 66위, 68위, 69위, 70위, 74위, 76위, 77위, 79위, 80위, 81위, 85위, 100위, 103위, 105위, 106위, 107위, 및 108위; 및

[0060] (d) 경쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 24위, 25위, 26위, 27위, 52위, 53위, 54위, 55위, 및 56위

[0061] 로 이루어지는 군으로부터 선택되는, CDR 또는 FR에 있어서의 위치에서 개변되어 있는, [12]의 항체.

[0062] [14] 적어도 1개의 아미노산 잔기가,

[0063] (a) 중쇄 가변 영역의 FR에 있어서 8위, 10위, 12위, 13위, 15위, 16위, 18위, 23위, 39위, 41위, 43위, 44위, 77위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 84위, 85위, 및 105위;

[0064] (b) 중쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 31위, 61위, 62위, 63위, 64위, 65위, 및 97위;

[0065] (c) 경쇄 가변 영역의 FR에 있어서 16위, 18위, 37위, 41위, 42위, 45위, 65위, 69위, 74위, 76위, 77위, 79위, 및 107위; 및

[0066] (d) 경쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 24위, 25위, 26위, 27위, 52위, 53위, 54위, 55위, 및 56위

[0067] 로 이루어지는 군으로부터 선택되는, CDR 또는 FR에 있어서의 위치에서 개변되어 있는, [13]의 항체.

[0068] [15] 적어도 1개의 아미노산 잔기가, EU 넘버링에 따른,

[0069] 196위, 253위, 254위, 256위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 307위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위

[0070] 로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 정상 영역에 있어서의 위치에서 개변되어 있는, [11] 내지 [14] 중 어느 하나의 항체.

[0071] [16] 적어도 1개의 아미노산 잔기가,

[0072] 254위, 258위, 281위, 282위, 285위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 418위, 419위, 421위, 433위, 434위, 및, 443위

[0073] 로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 정상 영역에 있어서의 위치에서 개변되어 있는, [15]의 항체.

[0074] [17] 적어도 1개의 아미노산 잔기가, EU 넘버링에 따른,

[0075] 282위, 309위, 311위, 315위, 342위, 343위, 384위, 399위, 401위, 402위, 및, 413위

[0076] 로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 정상 영역에 있어서의 위치에서 개변되어 있는, [16]의 항체.

[0077] [18] 상기 정상 영역이, Fc gamma 수용체(FcγR)에 대한 결합 활성을 갖고, 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조 항체와 비교하여, 중성 pH 조건하에서 FcγR에 대한 결합 활성이 증대되어 있는, [1] 내지 [17] 중 어느 하나의 항체.

[0078] [19] 상기 FcγR이 FcγRIIb인, [18]의 항체.

[0079] [20] 상기 정상 영역이, FcγRIa, FcγRIb, FcγRIc, FcγRIIIa, FcγRIIIb 및 FcγRIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 또는 복수의 활성형 FcγR에 대한 결합 활성, 및 FcγRIIb에 대한 결합 활성을 갖고, 천연형 IgG의 정상 영역인 정상 영역을 갖고 있는 점만이 상이한 참조 항체와 비교하여, 상기 FcγRIIb에 대한 결합 활성이 유지 또는 증대되는 한편으로, 상기 활성형 FcγR에 대한 결합 활성이 감소되어 있는, [1] 내지 [17] 중 어느 하나의 항체.

[0080] [21] 상기 정상 영역이, FcRn에 대한 결합 활성을 갖고, 천연형 IgG의 정상 영역인 정상 영역을 갖고 있는 점만이 상이한 참조 항체와 비교하여, 중성 pH 조건하(예를 들어 pH 7.4)에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는, [1] 내지 [20] 중 어느 하나의 항체.

[0081] [22] 적어도 2종류의 항원과 결합하는 다중특이성 항체인, [1] 내지 [21] 중 어느 하나의 항체.

[0082] [23] 상기 항체가 IgG 항체인, [1] 내지 [22] 중 어느 하나의 항체.

[0083] [24] [1] 내지 [23] 중 어느 하나의 항체를 포함하는 의약 조성물.

[0084] [25] 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진하기 위한, [24]의 의약 조성물.

[0085] [26] 세포외 매트릭스에 대한 항체 결합을 증대시키기 위한, [24] 또는 [25]의 의약 조성물.

[0086] [27] [1] 내지 [23] 중 어느 하나의 항체를 코딩하는 핵산.

[0087] [28] [27]의 핵산을 포함하는 벡터.

[0088] [29] [28]의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

[0089] [30] 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체의 제조 방법으로서, [29]의 숙주 세포를 배양하여 상기 세포의 배양물로부터 항체를 회수하는 공정을 포함하는, 제조 방법.

[0090] [30A] 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체의 제조 방법으로서, 등전점(pI)이 상승하도록 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변하는 공정을 포함하는, 제조 방법.

[0091] [30B] 적어도 1개의 아미노산 잔기가,

[0092] (I) Kabat 넘버링에 따른, (a) 중쇄 가변 영역의 FR에 있어서 1위, 3위, 5위, 8위, 10위, 12위, 13위, 15위, 16위, 18위, 19위, 23위, 25위, 26위, 39위, 41위, 42위, 43위, 44위, 46위, 68위, 71위, 72위, 73위, 75위, 76위, 77위, 81위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 84위, 85위, 86위, 105위, 108위, 110위, 및 112위; (b) 중쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 31위, 61위, 62위, 63위, 64위, 65위, 및 97위; (c) 경쇄 가변 영역의 FR에 있어서 1위, 3위, 7위, 8위, 9위, 11위, 12위, 16위, 17위, 18위, 20위, 22위, 37위, 38위, 39위, 41위, 42위, 43위, 45위, 46위, 49위, 57위, 60위, 63위, 65위, 66위, 68위, 69위, 70위, 74위, 76위, 77위, 79위, 80위, 81위, 85위, 100위, 103위, 105위, 106위, 107위, 및 108위; 및 (d) 경쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 24위, 25위, 26위, 27위, 52위, 53위, 54위, 55위, 및 56위로 이루어지는 군으로부터 선택되는, CDR 또는 FR에 있어서의 위치; 또는

[0093] (II) EU 넘버링에 따른, 196위, 253위, 254위, 256위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 307위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 정상 영역에 있어서의 위치에서 개변되는, [30A]의 방법.

[0094] [31] 상기 아미노산 잔기의 개변이,

[0095] (a) 음의 전하를 갖는 아미노산 잔기로부터 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기로의 치환;

[0096] (b) 음의 전하를 갖는 아미노산 잔기로부터 양의 전하를 갖는 아미노산 잔기로의 치환;

[0097] (c) 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기로부터 양의 전하를 갖는 아미노산 잔기로의 치환; 및

[0098] (d) CDR 또는 FR에 있어서의 히스티딘으로의 치환 또는 히스티딘의 삽입

[0099] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 개변을 포함하는, [30A] 또는 [30B]의 방법.

[0100] [32] 참조 항체와 비교하여,

[0101] (a) 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진할 수 있는 항체를 선택하는 공정;

[0102] (b) 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0103] (c) 중성 pH 조건하(예를 들어 pH 7.4)에서 FcγR에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0104] (d) 중성 pH 조건하(예를 들어 pH 7.4)에서 FcγRIIb에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0105] (e) FcγRIIb에 대한 결합 활성이 유지 또는 증대되는 한편으로, FcγRIa, FcγRIb, FcγRIc, FcγRIIIa, FcγRIIIb 및 FcγRIIa로 이루어지는 군으로부터 바람직하게는 선택되는 1개 또는 복수의 활성형 FcγR에 대한 결합 활성이 감소되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0106] (f) 중성 pH 조건하(예를 들어 pH 7.4)에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0107] (g) 등전점(pI)이 상승된 항체를 선택하는 공정;

[0108] (h) 회수한 항체의 등전점(pI)을 확인 후, 등전점(pI)이 상승된 항체를 선택하는 공정; 및

[0109] (i) 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화 또는 증가되어 있는 항체를 선택하는 공정

[0110] 중 어느 하나 이상을 임의적으로 더 포함하는, [30] 또는 [30A] 내지 [30C] 중 어느 하나의 방법.

[0111] 개시 A는, 대체적인 실시태양에 있어서, 비한정적으로 이하에 관한 것이다.

[0112] [A1] 정상 영역을 갖는 항체로서, [15] 또는 [16]에서 규정되는 군에 있어서의 개변 부위와 동일한 개변 부위의 군으로부터 선택되는, 적어도 1개의 아미노산 잔기가 상기 정상 영역에 있어서 개변되어 있는, 항체.

[0113] [A2] 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 추가로 갖고, 상기 가변 영역은 CDR 및/또는 FR을 갖고, [13] 또는 [14]에 규정되는 군에 있어서의 개변 부위와 동일한 개변 부위의 군으로부터 선택되는, 적어도 1개의 아미노산 잔기가 상기 CDR 및/또는 FR에 있어서 개변되어 있는, [A1]의 항체.

[0114] [A3] 정상 영역을 갖는 항체로서, 상기 정상 영역에 있어서의, [15] 또는 [16]에 규정되는 군에 있어서의 개변 부위와 동일한 개변 부위의 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 아미노산 잔기가, pI가 상승하도록 개변되어 있는, 항체.

[0115] [A4] 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 추가로 갖고, 상기 가변 영역은 CDR 및/또는 FR을 갖고, [13] 또는 [14]에 규정되는 군에 있어서의 개변 부위와 동일한 개변 부위의 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 아미노산 잔기가, 상기 CDR 및/또는 FR에 있어서 개변되어 있는, [A3]의 항체.

[0116] [A5] 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체로서, 상기 항체는 정상 영역을 갖고, [15] 또는 [16]에 규정되는 군에 있어서의 개변 부위와 동일한 개변 부위의 군으로부터 선택되는, 적어도 1개의 아미노산 잔기가 상기 정상 영역에 있어서 개변되어 있는, 항체.

[0117] [A6] 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 추가로 갖고, 상기 가변 영역은 CDR 및/또는 FR을 갖고, [13] 또는 [14]에 규정되는 군에 있어서의 개변 부위와 동일한 개변 부위의 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 아미노산 잔기가, 상기 CDR 및/또는 FR에 있어서 개변되어 있는, [A5]의 항체.

[0118] [A7] 혈장 중으로부터의 항원의 소실의 촉진을 위한 의약의 제조에 있어서의, [1] 내지 [23] 및 [A1] 내지 [A6] 중 어느 하나의 항체의 사용.

[0119] [A8] 세포외 매트릭스에 대한 결합을 증대시키기 위한 의약의 제조에 있어서의, [1] 내지 [23] 및 [A1] 내지 [A6] 중 어느 하나의 항체의 사용.

[0120] [A9] [1] 내지 [23] 및 [A1] 내지 [A6] 중 어느 하나의 항체의, 혈장 중으로부터 항원을 소실시키기 위한 사용.

[0121] [A10] [1] 내지 [23] 및 [A1] 내지 [A6] 중 어느 하나의 항체의, 세포외 매트릭스에 대한 결합을 증대시키기 위한 사용.

[0122] [A11] [30], [30A], [30B], [31], [32] 중 어느 하나의 방법에 의해 얻어진 항체.

[0123] 여러 가지 실시태양에 의하면, 상기 [1] 내지 [30], [30A], [30B], [31], [32], 및 [A1] 내지 [A11] 중 어느 하나에 기재된 1 또는 복수의 요소의 일부 또는 전부의 조합은, 그와 같은 조합이 당 기술 분야에 있어서의 기술 상식에 근거하여 기술적으로 모순되지 않는 이상 개시 A에 포함된다. 예를 들어, 몇몇 실시태양에 있어서, 이하를 포함하는, 항체 개변 전과 비교하여 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진하는 항원 결합 도메인을 포함하는 개변 항체의 제조 방법이, 개시 A에 포함된다:

[0124] (a)

[0125] (I) Kabat 넘버링에 따른, (a) 중쇄 가변 영역의 FR에 있어서 1위, 3위, 5위, 8위, 10위, 12위, 13위, 15위, 16위, 18위, 19위, 23위, 25위, 26위, 39위, 41위, 42위, 43위, 44위, 46위, 68위, 71위, 72위, 73위, 75위, 76위, 77위, 81위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 84위, 85위, 86위, 105위, 108위, 110위, 및 112위; (b) 중쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 31위, 61위, 62위, 63위, 64위, 65위, 및 97위; (c) 경쇄 가변 영역의 FR에 있어서 1위, 3위, 7위, 8위, 9위, 11위, 12위, 16위, 17위, 18위, 20위, 22위, 37위, 38위, 39위, 41위, 42위, 43위, 45위, 46위, 49위, 57위, 60위, 63위, 65위, 66위, 68위, 69위, 70위, 74위, 76위, 77위, 79위, 80위, 81위, 85위, 100위, 103위, 105위, 106위, 107위, 및 108위; 및 (d) 경쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 24위, 25위, 26위, 27위, 52위, 53위, 54위, 55위, 56위로 이루어지는 군으로부터 선택되는, CDR 또는 FR에 있어서의 위치에서; 또는

[0126] (II) EU 넘버링에 따른, 196위, 253위, 254위, 256위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 307위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위

[0127] 로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 정상 영역에 있어서의 위치에서,

[0128] 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변하는 공정;

[0129] (b) 얻어지는 항원에 대한 결합 활성이 이온 농도 조건에 따라 변화되는 양식으로, 항원 결합 도메인을 개변하는 공정으로서, 상기 (a) 및 (b)가 동시에 또는 연속하여 실시될 수 있는, 공정;

[0130] (c) 상기 개변 항체를 코딩하는 핵산이 발현되도록 숙주 세포를 배양하는 공정; 및

[0131] (d) 숙주 세포 배양물로부터 개변 항체를 회수하는 공정.

[0132] 추가적인 실시태양에 있어서, 당해 방법은, 이하의 어느 하나 또는 복수를 임의로 추가로 포함한다:

[0133] 개변 전의 항체와 비교하여,

[0134] (e) 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진할 수 있는 항체를 선택하는 공정;

[0135] (f) 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0136] (g) 중성 pH 조건하(예를 들어 pH 7.4)에서 FcγR에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0137] (h) 중성 pH 조건하(예를 들어 pH 7.4)에서 FcγRIIb에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0138] (i) FcγRIIb에 대한 결합 활성이 유지 또는 증대되는 한편으로, FcγRIa, FcγRIb, FcγRIc, FcγRIIIa, FcγRIIIb 및 FcγRIIa로 이루어지는 군으로부터 바람직하게는 선택되는 1개 또는 복수의 활성형 FcγR에 대한 결합 활성이 감소되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0139] (j) 중성 pH 조건하(예를 들어 pH 7.4)에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정;

[0140] (k) 등전점(pI)이 상승된 항체를 선택하는 공정;

[0141] (l) 회수한 항체의 등전점(pI)을 확인 후, 등전점(pI)이 상승된 항체를 선택하는 공정; 및

[0142] (m) 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화 또는 증가되어 있는 항체를 선택하는 공정.

[0143] 개시 A의 다른 실시태양은, 예를 들어, 비한정적으로 이하의 발명에 관한 것이다.

[0144] [D1]

[0145] (a) EU 넘버링에 따른,

[0146] 196위, 253위, 254위, 256위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 307위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위

[0147] 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서, 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하가 변화하도록, 개변 전의 항체를 코딩하는 핵산을 개변하는 공정;

[0148] (b) 상기 핵산이 발현되도록 숙주 세포를 배양하는 공정; 및

[0149] (c) 숙주 세포 배양물로부터 항체를 회수하는 공정

[0150] 을 포함하는, 개변 전의 항체와 비교하여 혈장 중 반감기가 연장 또는 단축된 개변 항체의 제조 방법; 또는,

[0151] [D2]

[0152] EU 넘버링에 따른,

[0153] 196위, 253위, 254위, 256위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 307위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위

[0154] 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서, 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변하는 공정

[0155] 을 포함하는, 항체의 혈장 중 반감기를 연장 또는 단축하기 위한 방법.

[0156] 개시 B는, 일 실시태양에 있어서, 예를 들어, 비한정적으로 이하에 관한 것이다.

[0157] [33] FcRn 결합 도메인을 포함하는 Fc 영역 개변체로서, 상기 FcRn 결합 도메인이, EU 넘버링에 따른, 434위에 Ala; 438위에 Glu, Arg, Ser 또는 Lys; 및 440위에 Glu, Asp 또는 Gln를 포함하는, Fc 영역 개변체.

[0158] [34] 상기 FcRn 결합 도메인이, EU 넘버링에 따른, 434위에 Ala; 438위에 Arg 또는 Lys; 및 440위에 Glu 또는 Asp를 포함하는, [33]의 Fc 영역 개변체.

[0159] [35] 상기 FcRn 결합 도메인이, EU 넘버링에 따른, 428위에 Ile 또는 Leu; 및/또는, 436위에 Ile, Leu, Val, Thr 또는 Phe를 더 포함하는, [33] 또는 [34]의 Fc 영역 개변체.

[0160] [36] 상기 FcRn 결합 도메인이, EU 넘버링에 따른, 428위에 Leu; 및/또는, 436위에 Val 또는 Thr를 포함하는, [35]의 Fc 영역 개변체.

[0161] [37] 상기 FcRn 결합 도메인이, EU 넘버링에 따른, N434A/Q438R/S440E; N434A/Q438R/S440D; N434A/Q438K/S440E; N434A/Q438K/S440D; N434A/Y436T/Q438R/S440E; N434A/Y436T/Q438R/S440D; N434A/Y436T/Q438K/S440E; N434A/Y436T/Q438K/S440D; N434A/Y436V/Q438R/ S440E; N434A/Y436V/Q438R/S440D; N434A/Y436V/Q438K/S440E; N434A/Y436V/Q438K/S440D; N434A/R435H/F436T/Q438R/S440E; N434A/R435H/F436T/Q438R/S440D; N434A/R435H/F436T/Q438K/S440E; N434A/R435H/F436T/Q438K/S440D; N434A/R435H/F436V/Q438R/S440E; N434A/R435H/F436V/Q438R/S440D; N434A/R435H/F436V/Q438K/S440E; N434A/R435H/F436V/Q438K/S440D; M428L/N434A/Q438R/S440E; M428L/N434A/Q438R/S440D; M428L/N434A/Q438K/S440E; M428L/N434A/Q438K/S440D; M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440D; M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440E; M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440D; M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E; M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440D; M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440E; M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440D; L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; 및 L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는 치환된 아미노산의 조합을 포함하는, [33] 내지 [36] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체.

[0162] [38] 상기 FcRn 결합 도메인이,

[0163] EU 넘버링에 따른, 이하:

[0164] N434A/Q438R/S440E; N434A/Y436T/Q438R/S440E; N434A/Y436V/Q438R/S440E; M428L/N434A/Q438R/S440E; M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E; L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; 및 L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 치환된 아미노산의 조합을 포함하는, [37]에 기재된 Fc 영역 개변체.

[0165] [39] 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 산성 pH 조건하(예를 들어 pH 5.8)에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는, [33] 내지 [38] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체.

[0166] [40] 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 중성 pH 조건하에서 항의약품 항체(ADA)에 대한 결합 활성이 유의하게

증대되어 있지 않은, [33] 내지 [39] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체.

[0167] [41] 상기 항의약품 항체(ADA)가 류마토이드 인자(RF)인, [40]의 Fc 영역 개변체.

[0168] [42] 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 혈장 중 클리어런스(CL)가 감소되어 있거나, 혈장 중 체류 시간이 증대되어 있거나, 또는 혈장 중 반감기(t1/2)가 증대되어 있는, [33] 내지 [41] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체.

[0169] [43] EU 넘버링에 따른, N434Y/Y436V/Q438R/S440E의 치환된 아미노산의 조합을 포함하는 참조 Fc 영역 개변체와 비교하여, 혈장 중 체류성이 증대되어 있는, [33] 내지 [42] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체.

[0170] [44] [33] 내지 [43] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체.

[0171] [45] 상기 항체가 IgG 항체인, [44]의 항체.

[0172] [46] [44] 또는 [45]의 항체를 포함하는, 의약 조성물.

[0173] [47] 항체의 혈장 중 체류성을 증대시키기 위한, [46]의 의약 조성물.

[0174] [48] [33] 내지 [43] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체, 또는 [44] 또는 [45]의 항체를 코딩하는 핵산.

[0175] [49] [48]의 핵산을 포함하는 벡터.

[0176] [50] [49]의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

[0177] [51] FcRn 결합 도메인을 포함하는 Fc 영역 개변체, 또는 해당 개변체를 포함하는 항체의 제조 방법으로서, [50]의 숙주 세포를 배양하여, 상기 세포 배양물로부터 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체를 회수하는 공정을 포함하는, 제조 방법.

[0178] [52]

[0179] (a) 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 산성 pH 조건하에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 Fc 영역 개변체를 선택하는 공정;

[0180] (b) 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 중성 pH 조건하에서 항의약품 항체(ADA)에 대한 결합 활성이 유의하게 증대되어 있지 않은 Fc 영역 개변체를 선택하는 공정;

[0181] (c) 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 혈장 중의 체류성이 증대되어 있는 Fc 영역 개변체를 선택하는 공정; 및

[0182] (d) 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체와 비교하여, 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진할 수 있는 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 선택하는 공정;

[0183] 으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상의 공정을 임의적으로 더 포함하는, [51]의 방법.

[0184] [53] 얻어지는 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 434위에 Ala; 438위에 Glu, Arg, Ser, 또는 Lys; 및 440위에 Glu, Asp, 또는 Gln를 포함하는 양식으로 아미노산을 치환하는 공정을 포함하는, FcRn 결합 도메인을 포함하는 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체의 제조 방법.

[0185] 개시 B는, 일 실시태양에 있어서, 예를 들어, 비한정적으로 이하에 관한 것이다.

[0186] [B1] 혈장 중의 체류성을 증대시키기 위한 의약의 제조에 있어서의, [33] 내지 [43] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체, 또는 [44] 또는 [45]의 항체의 사용.

[0187] [B2] 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 중성 pH 조건하에서 항의약품 항체(ADA)에 대한 결합 활성을 유의하게 증대시키지 않기 위한 의약의 제조에 있어서의, [33] 내지 [43] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체, 또는 [44] 또는 [45]의 항체의 사용.

[0188] [B3] [33] 내지 [43] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체, 또는 [44] 또는 [45]의 항체의, 혈장 중의 체류성을 증대시키기 위한 사용.

[0189] [B4] [33] 내지 [43] 중 어느 하나의 Fc 영역 개변체, 또는 [44] 또는 [45]의 항체의, 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 중성 pH 조건하에서 항의약품 항체(ADA)에 대한 결합 활성을 유의하게 증대시키지 않기 위한 사용.

[0190] [B5] [51], [52], 및 [53] 중 어느 하나의 방법에 의해 얻어지는 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체.

[0191] 여러 가지 실시태양에 의하면, 상기 [33] 내지 [53] 및 [B1] 내지 [B5] 중 어느 하나에 기재된 1 또는 복수의 요소의 일부 또는 전부의 조합은, 그와 같은 조합이 당 기술 분야에 있어서의 기술 상식에 근거하여 기술적으로 모순되지 않는 이상 개시 B에 포함된다. 예를 들어, 몇몇 실시태양에 있어서, 이하를 포함할 수 있는 FcRn 결합 도메인을 포함하는 Fc 영역 개변체가, 개시 B에 포함된다:

[0192] (a) EU 넘버링에 따른, 434위에 Ala; 438위에 Glu, Arg, Ser, 또는 Lys; 및 440위에 Glu, Asp, 또는 Gln;

[0193] (b) EU 넘버링에 따른, 434위에 Ala; 438위에 Arg 또는 Lys; 및 440위에 Glu 또는 Asp;

[0194] (c) EU 넘버링에 따른, 428위에 Ile 또는 Leu; 434위에 Ala; 436위에 Ile, Leu, Val, Thr, 또는 Phe; 438위에 Glu, Arg, Ser, 또는 Lys; 및 440위에 Glu, Asp, 또는 Gln;

[0195] (d) EU 넘버링에 따른, 428위에 Ile 또는 Leu; 434위에 Ala; 436위에 Ile, Leu, Val, Thr, 또는 Phe; 438위에 Arg 또는 Lys; 및 440위에 Glu 또는 Asp;

[0196] (e) EU 넘버링에 따른, 428위에 Leu; 434위에 Ala; 436위에 Val 또는 Thr; 438위에 Glu, Arg, Ser, 또는 Lys; 및 440위에 Glu, Asp, 또는 Gln; 또는

[0197] (f) EU 넘버링에 따른, 428위에 Leu; 434위에 Ala; 436위에 Val 또는 Thr; 438위에 Arg 또는 Lys; 및 440위에 Glu 또는 Asp.

[0198] 또한, 개시 C는, 일 실시태양에 있어서, 예를 들어, 비한정적으로 이하에 관한 것이다.

[0199] [54] 인간 IL-8에 결합하는 단리된 항IL-8 항체로서, 이하 (a) 내지 (f) 중 적어도 하나에 있어서, 적어도 1개의 아미노산 치환을 포함하는, pH 의존적으로 IL-8에 결합하는, 항IL-8 항체:

[0200] (a) 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1,

[0201] (b) 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2,

[0202] (c) 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3,

[0203] (d) 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1,

[0204] (e) 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및

[0205] (f) 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0206] [55] 서열 번호: 68의 아미노산 서열의 9위의 티로신, 서열 번호: 68의 아미노산 서열의 11위의 아르기닌, 및 서열 번호: 69의 아미노산 서열의 3위의 티로신의 아미노산 치환을 포함하는, [54]의 항IL-8 항체.

[0207] [56] 서열 번호: 68의 아미노산 서열의 6위의 알라닌 및 서열 번호: 68의 아미노산 서열의 8위의 글리신의 아미노산 치환을 추가로 포함하는, [54] 또는 [55]의 항IL-8 항체.

[0208] [57] 서열 번호: 71의 아미노산 서열의 1위의 아스파라긴, 서열 번호: 71의 아미노산 서열의 5위의 류신, 및 서열 번호: 72의 아미노산 서열의 1위의 글루타민의 아미노산 치환을 포함하는, [54] 내지 [56] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0209] [58] (a) 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, (b) 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2, 및 (c) 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함하는, [54] 내지 [57] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0210] [59] (a) 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, (b) 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 (c) 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함하는, [54] 내지 [58] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0211] [60] 서열 번호: 78의 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 79의 경쇄 가변 영역을 포함하는, [54] 내지 [59] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0212] [61] 이하의 (a) 내지 (f)의 성질로부터 선택되는 적어도 하나의 성질을 갖는 Fc 영역을 포함하는, [54] 내지 [60] 중 어느 하나의 항IL-8 항체:

[0213] (a) 산성 pH에서의, 당해 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성

보다 증대되어 있다;

[0214] (b) 기존의 ADA에 대한 당해 Fc 영역의 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 기존의 ADA에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있다;

[0215] (c) 당해 Fc 영역의 혈장 중 반감기가, 천연형의 Fc 영역의 혈장 중 반감기보다 증대되어 있다;

[0216] (d) 당해 Fc 영역의 혈장 중 클리어런스가, 천연형의 Fc 영역의 혈장 중 클리어런스보다 감소되어 있다; 및

[0217] (e) 이펙터 수용체에 대한 당해 Fc 영역의 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있다; 및

[0218] (f) 세포외 매트릭스와의 결합이 증대되어 있다.

[0219] [62] Fc 영역이, EU 넘버링에 따른 235위, 236위, 239위, 327위, 330위, 331위, 428위, 434위, 436위, 438위, 및 440위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1 이상의 위치에 아미노산 치환을 포함하는, [61]의 항IL-8 항체.

[0220] [63] L235R, G236R, S239K, A327G, A330S, P331S, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 치환을 1개 이상 포함하는 Fc 영역을 포함하는, [62]의 항IL-8 항체.

[0221] [64] Fc 영역이, L235R, G236R, S239K, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E의 아미노산 치환을 포함하는, [63]의 항IL-8 항체.

[0222] [65] Fc 영역이, L235R, G236R, A327G, A330S, P331S, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E의 아미노산 치환을 포함하는, [63]의 항IL-8 항체.

[0223] [66] 서열 번호: 81에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 82에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항IL-8 항체.

[0224] [67] 서열 번호: 80에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 82에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는 항IL-8 항체.

[0225] [68] [54] 내지 [67] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 코딩하는 단리된 핵산.

[0226] [69] [68]의 핵산을 포함하는 벡터.

[0227] [70] [69]의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

[0228] [71] [70]의 숙주를 배양하는 공정을 포함하는, 항IL-8 항체의 제조 방법.

[0229] [72] 항체를 배양 상청으로부터 단리하는 공정을 포함하는, [71]의 항IL-8 항체의 제조 방법.

[0230] [73] [54] 내지 [67] 중 어느 하나의 항IL-8 항체, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 의약 조성물.

[0231] [74] 의약 조성물에 사용하기 위한, [54] 내지 [67] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0232] [75] IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 치료에 이용하기 위한, [54] 내지 [67] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0233] [76] IL-8이 과잉으로 존재하는 질환을 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, [54] 내지 [67] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0234] [77] [54] 내지 [67] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환을 갖는 환자를 치료하는 방법.

[0235] [78] [54] 내지 [67] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 당해 개체로부터의 IL-8의 소실을 촉진하는 방법.

[0236] [79] [54] 내지 [67] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 포함하고, 해당 항체가 IL-8과 결합하여 세포외 매트릭스와 결합하는, 의약 조성물.

[0237] [80] IL-8에 대한 결합 활성이 pH 의존적인 가변 영역을 포함하는 항IL-8 항체의 제조 방법으로서,

[0238] (a) 항IL-8 항체와 세포외 매트릭스의 결합을 평가하는 공정,

[0239] (b) 세포외 매트릭스와의 결합이 높은 항IL-8 항체를 선택하는 공정,

[0240] (c) 당해 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 숙주를 배양하는 공정, 및

[0241] (d) 배양액으로부터 당해 항체를 단리하는 공정

[0242] 을 포함하는, 항IL-8 항체의 제조 방법.

[0243] 개시 C는, 대체적인 일 실시태양에 있어서, 이하에 관한 것이다.

[0244] [C1] 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적을 억제하기 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0245] [C2] 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적의 억제에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0246] [C3] 혈관신생 저해를 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0247] [C4] 혈관신생 저해에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0248] [C5] 호중구 유주 촉진을 저해하기 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0249] [C6] 호중구 유주 촉진의 저해에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0250] [C7] 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적의 억제에 있어서의 사용을 위한, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0251] [C8] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적을 억제하는 방법.

[0252] [C9] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 포함하는, 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적을 억제하기 위한 의약 조성물.

[0253] [C10] 혈관신생 저해에 있어서의 사용을 위한, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0254] [C11] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 개체에 있어서의 혈관신생 저해 방법.

[0255] [C12] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 포함하는, 혈관신생 저해를 위한 의약 조성물.

[0256] [C13] 호중구 유주 촉진의 저해에 있어서의 사용을 위한, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0257] [C14] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 개체에 있어서의 호중구 유주 촉진을 저해하는 방법.

[0258] [C15] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 포함하는, 호중구 유주 촉진을 저해하기 위한 의약 조성물.

[0259] [C16] IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 치료에 있어서의 사용을 위한, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0260] [C17] IL-8이 과잉으로 존재하는 질환을 치료하기 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0261] [C18] IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 치료에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0262] [C19] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 개체에 있어서의 IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 치료 방법.

[0263] [C20] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 포함하는, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환을 치료하기 위한 의약 조성물.

[0264] [C21] IL-8의 소실의 촉진에 있어서의 사용을 위한, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체.

[0265] [C22] IL-8의 소실을 촉진시키기 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0266] [C23] IL-8의 소실의 촉진에 있어서의, [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체의 사용.

[0267] [C24] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 개체에 있어서의 IL-8의 소실을 촉진하는 방법.

[0268] [C25] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 포함하는, IL-8의 소실을 촉진하기 위한 의약 조성물.

[0269] [C26] EU 넘버링에 따른 235위, 236위, 239위, 327위, 330위, 331위, 428위, 434위, 436위, 438위, 및 440위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1 이상의 위치에 아미노산 치환을 포함하는 Fc 영역을 포함하는, 항IL-8 항체.

[0270] [C27] 이하의 (a) 내지 (f)의 성질로부터 선택되는 적어도 하나의 성질을 갖는 Fc 영역을 포함하는, [C26]에 기재된 항IL-8 항체:

[0271] (a) 산성 pH에서의, 당해 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성보다 증대되어 있다;

[0272] (b) 기존의 ADA에 대한 당해 Fc 영역의 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 기존의 ADA에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있다;

[0273] (c) 당해 Fc 영역의 혈장 중 반감기가, 천연형의 Fc 영역의 혈장 중 반감기보다 증대되어 있다;

[0274] (d) 당해 Fc 영역의 혈장 중 클리어런스가, 천연형의 Fc 영역의 혈장 중 클리어런스보다 감소되어 있다;

[0275] (e) 이펙터 수용체에 대한 당해 Fc 영역의 결합 친화성이, 천연형의 Fc 영역의 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있다; 및

[0276] (f) 세포외 매트릭스와의 결합이 증대되어 있다.

[0277] [C28] EU 넘버링에 따른 L235R, G236R, S239K, A327G, A330S, P331S, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 치환을 1개 이상 포함하는 Fc 영역을 포함하는, [C26] 또는 [C27]의 항IL-8 항체.

[0278] [C29] EU 넘버링에 따른, (a) L235R, G236R, S239K, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E; 또는 (b) L235R, G236R, A327G, A330S, P331S, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 치환을 1개 이상 포함하는 Fc 영역을 포함하는, [C28]의 항IL-8 항체.

[0279] [C30] 서열 번호: 81에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 82에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, [C26]의 항IL-8 항체.

[0280] [C31] 서열 번호: 80에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 82에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 경쇄를 포함하는, [C26]의 항IL-8 항체.

[0281] [C32] [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 코딩하는 단리된 핵산.

[0282] [C33] [C32]의 핵산을 포함하는 벡터.

[0283] [C34] [C33]의 벡터를 포함하는 숙주 세포.

[0284] [C35] [C34]의 숙주 세포를 배양하는 공정을 포함하는, 항IL-8 항체의 제조 방법.

[0285] [C36] [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 숙주 세포 배양물로부터 단리하는 공정을 추가로 포함하는, 해당 항체의 제조 방법.

[0286] [C37] [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 의약 조성물.

[0287] [C38] [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환을 가지는 환자를 치료하는 방법.

[0288] [C39] [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 당해 개체로부터의 IL-8의 소실을 촉진하는 방법.

[0289] [C40] [54] 내지 [67] 및 [C26] 내지 [C31] 중 어느 하나의 항IL-8 항체를 IL-8에 접촉시키는 공정을 포함하는, IL-8을 저해하는 방법.

[0290] [C41] IL-8의 생물학적 활성을 저해하는, [C40]의 방법.

[0291] 여러 가지 실시태양에 의하면, 상기 [54] 내지 [80] 및 [C1] 내지 [C41] 중 어느 하나에 기재된 1 또는 복수의 요소의 일부 또는 전부의 조합은, 그와 같은 조합이 당 기술 분야에 있어서의 기술 상식에 근거하여 기술적으로 모순되지 않는 한 개시 C에 포함된다.

도면의 간단한 설명

[0292] 도 1은 인간 IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적으로 결합하고, 정상 영역이 천연형 IgG1인 인간 IL-6 수용체 결합 항체(Low_pI-IgG1)와, 당해 항체에 있어서의 가변 영역의 pI를 상승시킨 항체(High_pI-IgG1)를 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스에게 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-6 수용체의 농도 추이를 나타낸다.

도 2는 인간 IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적으로 결합하고, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합성이 부여된 인간 IL-6 수용체 결합 항체(Low_pI-F939)와, 당해 항체에 있어서의 가변 영역의 pI를 상승시킨 항체(Middle_pI-F939, High_pI-F939)를 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스에게 각각 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-6 수용체의 농도 추이를 나타낸다.

도 3은 인간 IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적으로 결합하고, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcγR에 대한 결합성을 증대시킨 인간 IL-6 수용체 결합 항체(Low_pI-F1180)와, 당해 항체에 있어서의 가변 영역의 pI를 상승시킨 항체(Middle_pI-F1180, High_pI-F1180)를 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스에게 각각 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-6 수용체의 농도 추이를 나타낸다.

도 4는 인간 IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적으로 결합하고, 정상 영역이 천연형 IgG1인 인간 IL-6 수용체 결합 항체(Low_pI-IgG1), 당해 항체에 있어서의 Fc 영역이 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합을 증대된 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체(Low_pI-F11), 및 이들 항체에 있어서의 가변 영역의 pI를 상승시킨 항체(High_pI-IgG1, High_pI-F11)를, 혈장 중 가용형 인간 IL-6 수용체 농도가 정상 상태로 유지되는 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스에게 각각 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-6 수용체의 농도 추이를 나타낸다.

도 5는 인간 IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적인 결합을 나타내는, pI가 상이한 3종의 항체(Low_pI-IgG1, Middle_pI-IgG1, 및 High_pI-IgG1), 및 인간 IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적인 결합을 나타내지 않는, pI가 상이한 2종의 항체(Low_pI(NPH)-IgG1, 및 High_pI(NPH)-IgG1)의, 세포외 매트릭스에 대한 각각의 결합의 정도를 나타낸다. 한편, 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, "NPH"는 pH 비의존적이라는 것을 의미한다.

도 6은 pH 의존적으로 IgE에 결합하는 항체 Ab1H-P600의 정상 영역에 있어서의 1 아미노산 잔기를 개변하는 것에 의해 각각의 pI가 상승하고 있는 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의, 가용형 인간 FcγRIIb에 대한 결합의 정도(BIACORE(등록상표)로 측정)를, Ab1H-P600에서의 값을 1.00으로 하여 상대치로 나타낸다.

도 7은 Ab1H-P600의 정상 영역에 있어서의 1 아미노산 잔기를 개변하는 것에 의해 각각의 pI가 상승하고 있는 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의, hFcγRIIb 발현 세포주로의 각각의 세포내 흡수 속도를, Ab1H-P600에서의 값을 1.00으로 하여 평가하여, 상대치로 나타낸다.

도 8은 천연형 인간 IgG1의 Fc 영역을 갖는 Fv4-IgG1의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 9는 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-YTE의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 10은 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-LS의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마

토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 11은 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-N434H의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 12는 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-F1847m의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 13은 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-F1848m의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 14는 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-F1886m의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 15는 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-F1889m의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 16은 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-F1927m의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 17은 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 Fv4-F1168m의, RA 환자의 개개의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합의 정도를 나타낸다.

도 18은 천연형 인간 IgG1의 Fc 영역을 갖는 Fv4-IgG1, 및 각종 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 각각에 대하여, RA 환자의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합성의 평균치를 나타낸다.

도 19는 항인간 IgE 항체인, 천연형 인간 IgG1의 Fc 영역을 갖는 OHB-IgG1, 및, FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 각각(OHB-LS, OHB-N434A, OHB-F1847m, OHB-F1848m, OHB-F1886m, OHB-F1889m, 및 OHB-F1927m)을 필리핀 원숭이에게 투여한 경우의, 당해 필리핀 원숭이의 혈장 중의 각종 항인간 IgE 항체의 농도 추이를 나타낸다.

도 20은 항인간 IL-6 수용체 항체인, 천연형 인간 IgG1의 Fc 영역을 갖는 Fv4-IgG1, 또는, 당해 항체에 있어서 산성 pH 조건에 있어서의 FcRn에 대한 결합성을 증대시킨 Fv4-F1718을 투여한 경우의, 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스에 있어서의 항인간 IL-6 수용체 항체의 혈장 중 농도 추이를 나타낸다.

도 21은 pH 7.4와 pH 5.8에 있어서의, H998/L63과 Hr9의 IL-8에 대한 결합을 Biacore로 측정했을 때에 얻어지는 센서그램을 나타낸다.

도 22는 인간 IL-8과 혼합시킨 H998/L63 또는 H89/L118을, 마우스에게 2mg/kg으로 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-8 농도 추이를 나타낸다.

도 23은 인간 IL-8과 혼합시킨 H89/L118을, 마우스에게 2mg/kg 또는 8mg/kg으로 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-8 농도 추이를 나타낸다.

도 24는 인간 IL-8과 혼합시킨 H89/L118 또는 H553/L118을, 마우스에게 각각 2mg/kg 또는 8mg/kg으로 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-8 농도 추이를 나타낸다.

도 25a는 Hr9, H89/L118, 또는 H553/L118의, 혈장 중에서의 보존 전의 항체에 의한 화학발광량의 상대치의, 항체 농도에 따른 추이를 나타낸다.

도 25b는 Hr9, H89/L118, 또는 H553/L118의, 혈장 중에서 1주간 보존한 후의 항체에 의한 화학발광량의 상대치의, 항체 농도에 따른 추이를 나타낸다.

도 25c는 Hr9, H89/L118, 또는 H553/L118의, 혈장 중에서 2주간 보존한 후의 항체에 의한 화학발광량의 상대치의, 항체 농도에 따른 추이를 나타낸다.

도 26은 EpiMatrix로 예측된 각 항IL-8 항체(hWS4, Hr9, H89/L118, H496/L118, 또는 H553/L118)의 ADA 발생 예측 빈도와 그 외 기존의 치료용 항체의 ADA 발생 예측 빈도를 나타낸다.

도 27은 EpiMatrix로 예측된 각 항IL-8 항체(H496/L118, H496v1/L118, H496v2/L118, H496v3/L118, H1004/L118, 또는 H1004/L395)의 ADA 발생 예측 빈도와 그 외 기존의 치료용 항체의 ADA 발생 예측 빈도를 나타

낸다.

도 28a는 Hr9, H89/L118, 또는 H1009/L395-F1886s의, 혈장 중에서의 보존 전의 항체에 의한 화학발광량의 상대치의, 항체 농도에 따른 추이를 나타낸다.

도 28b는 Hr9, H89/L118, 또는 H1009/L395-F1886s의, 혈장 중에서 1주간 보존한 후의 항체에 의한 화학발광량의 상대치의, 항체 농도에 따른 추이를 나타낸다.

도 28c는 Hr9, H89/L118, 또는 H1009/L395-F1886s의, 혈장 중에서 2주간 보존한 후의 항체에 의한 화학발광량의 상대치의, 항체 농도에 따른 추이를 나타낸다.

도 29는 인간 IL-8과 혼합시킨 H1009/L395, H553/L118 및 H998/L63을, 마우스에게 각각 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-8 농도 추이를 나타낸다.

도 30은 Hr9, H89/L118 또는 H1009/L395를, 단독으로 세포외 매트릭스에 첨가한 경우와 인간 IL-8과 혼합하여 첨가한 경우의, 세포외 매트릭스에 대한 결합의 정도를나타낸다.

도 31은 H1009/L395의 가변 영역과 FcRn에 결합하지 않는 Fc 영역(F1942m)을 갖는 항체를, 단독으로 또는 인간 IL-8과 혼합하여 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스에게 투여한 경우의, 당해 마우스의 혈장 중의 항체의 농도 추이를 나타낸다.

도 32는 EpiMatrix로 예측된 H1009/L395 및 H1004/L395의 ADA 발생 예측 빈도와 그 외 기존의 치료용 항체의 ADA 발생 예측 빈도를 나타낸다.

도 33은 H89/L118의 가변 영역과 천연형 인간 IgG1의 Fc 영역을 갖는 H89/L118-IgG1, 및 FcRn에 대한 결합이 증대된 Fc 영역 개변체를 갖는 항체(H89/L118-F1168m, H89/L118-F1847m, H89/L118-F1848m, H89/L118-F1886m, H89/L118-F1889m, 및 H89/L118-F1927m)를 필리핀 원숭이에게 각각 투여한 경우의, 당해 필리핀 원숭이의 혈장 중의 각종 항인간 IL-8 항체의 농도 추이를 나타낸다.

도 34는 H1009/L395의 가변 영역을 갖는 항체로서, Fc 영역이 개변체(F1886m, F1886s, 또는 F1974m)인 항체의, 각종 FcγR에 대한 결합성을 나타낸다.

도 35는 인간 IL-8과 혼합시킨 항IL-8 항체를 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스에게 투여한 경우의, 당해 마우스 혈장 중의 인간 IL-8의 농도 추이를 나타낸다. 이 때의 항IL-8 항체는, H1009/L395의 가변 영역 및 천연형 인간 IgG1의 Fc 영역을 포함하는 H1009/L395-IgG1(2mg/kg), 또는 H1009/L395의 가변 영역 및 개변된 Fc 영역을 포함하는 H1009/L395-F1886s(2, 5 또는 10mg/kg)였다.

도 36은 천연형 인간 IgG1의 Fc 영역을 모두 포함하는 Hr9-IgG1 또는 H89/L118-IgG1, 또는 개변된 Fc 영역을 모두 포함하는 H1009/L395-F1886s 또는 H1009/L395-F1974m을 필리핀 원숭이에게 투여한 경우의, 당해 필리핀 원숭이의 혈장 중의 각 항체의 농도 추이를 나타낸다.

도 37은 항체 가변 영역 개변의 관점에서, C57BL6J 마우스에 있어서의 몇몇 항IgE 항체의 혈장 중 IgE 농도의 시간 프로파일을 나타낸다.

도 38a는 선택된 25종류의, pH 의존적 및/또는 칼슘 의존적 항원 결합 클론의 옥텟(Octet)의 센서그램을 나타낸다.

도 38b는 도 38a의 이어지는 도면이다.

도 38c는 도 38b의 이어지는 도면이다.

도 38d는 도 38c의 이어지는 도면이다.

도 39는 항체 가변 영역 개변의 관점에서, C57BL6J 마우스에 있어서의 몇몇 항C5 이중특이성 항체의 혈장 중 C5 농도의 시간 프로파일을 나타낸다.

도 40은 항체 정상 영역 개변의 관점에서, C57BL6J 마우스에 있어서의 몇몇 항IgE 항체의 혈장 중 IgE 농도의 시간 프로파일을 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0293] 이하에, 개시 A, B, 또는 C의 비한정적인 실시태양을 설명한다. 후술하는 본 실시예에 기재되는 모든 실시태양

은, 본 특허 출원의 특허권리화를 의도하는 국가에 있어서의, 본 실시예에 기재된 내용을 한정적으로 해석하려고 할 수 있는 어떠한 특허 실무, 관습, 법령 등의 제한에 얽매이지 않고, "발명을 실시하기 위한 구체적인 내용"의 항에 있어서도 기재되어 있다고 당연하게 이해될 것을 의도하여 기재된다.

[0294] 개시 A 또는 개시 B

[0295] 몇몇 실시태양에 있어서, 개시 A는, 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체로서, 상기 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 등전점(pI)이 상승된 항체(개시 A의 범위에 있어서, "pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체"라고도 칭하고, 또한, 당해 항체에 있어서의 항원 결합 도메인을, "pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인"이라고도 칭한다.)에 관한 것이다. 이러한 발명은, 이온 농도 의존적 항체에 있어서, 당해 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 등전점(pI)이 상승되어 있으면, (예를 들어, 항체를 인비보 투여한 경우에,) 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진할 수 있고; 더욱이, pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체가, 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합성을 증대할 수 있다는 본 발명자들의 놀랄만한 발견에 부분적으로 근거한다. 이러한 발명은, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 이온 농도 의존적 항체라고 하는 컨셉과, 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 pI가 상승된 항체(개시 A의 범위에 있어서, "pI를 상승시킨 항체"라고도 한다; 한편, 개시 A의 범위에 있어서, 반대로, 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 pI가 저하된 항체는, "pI를 저하시킨 항체"라고 한다)라고 하는 컨셉이 완전히 상이한 2개의 컨셉을 조합한 것이, 이 유리한 효과를 가져온다고 하는 본 발명자들의 놀랄만한 발견에도 또한 부분적으로 근거하는 것이다. 따라서, 이러한 발명은, 개시 A가 속하는 분야(예를 들어 의료 분야)에 있어서 현저한 기술적 혁신을 가져올 수 있는, 파이오니어 발명의 동류형으로 분류된다.

[0296] 예를 들어, 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 pI가 상승된, 항원 결합 도메인을 포함하는 항체로서, 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하도록 당해 항원 결합 도메인이 더욱 개변되어 있는 항체도, 당연히 본 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 포함된다(이러한 항체도, 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 마찬가지로, "pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체"라고도 칭해진다.).

[0297] 예를 들어, 항체 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기에 있어서, 개변 전의 항체(천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체) 또는 참조 항체 또는 모항체(예를 들어 개변을 가하기 전의 항체, 또는, 라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체 등))에 있어서의 대응하는 위치의 적어도 1개의 아미노산 잔기가 갖는 전하와는 상이한 전하를 갖고, 항체 전체적으로 pI가 상승하고 있는, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 포함하는 항체도, 당연히 본 명세서에 기재된 개시 A에 포함된다(이러한 항체도, 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 마찬가지로, "pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체"라고도 칭해진다.).

[0298] 예를 들어, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 포함하는, 개변 전의 항체(천연형의 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체) 또는 참조 항체 또는 모항체(예를 들어 개변을 가하기 전의 항체, 또는 라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체 등))에 있어서, 상기 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 pI가 상승된 항체도 또한, 당연히 본 명세서에 기재된 개시 A에 포함된다(이러한 항체도, 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 마찬가지로, "pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체"라고도 칭해진다.).

[0299] 예를 들어, 항체의 pI를 상승시키는 것을 목적으로 하여, 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 포함하는 항체도, 당연히 본 명세서에 기재된 개시 A에 포함된다(이러한 항체도, 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 마찬가지로, "pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체"라고도 칭해진다.).

[0300] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "아미노산"이란, 천연 아미노산뿐만 아니라 비천연 아미노산을 포함한다. 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 아미노산 또는 아미노산 잔기는, 1문자 코드(예를 들어, A) 또는 3문자 코드(예를 들어, Ala), 또는 그것들을 병기하여(예를 들어, Ala(A)) 기재되어도 된다.

[0301] 개시 A 및 B의 문맥에 있어서, "아미노산의 개변", "아미노산 잔기의 개변", 또는 그것과 동등한 문언이 사용되는 경우, 그것들은, 한정은 되지 않지만, 항체의 아미노산 서열 중의 특정의 1 또는 복수의(예를 들어, 1, 2,

3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 10을 초과하는) 아미노산(잔기)에 대해서 화학적으로 분자로 수식하거나 1 또는 복수의(예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 또는 10을 초과하는) 아미노산의 부가, 결실, 치환, 또는 삽입을 가하는 것으로 이해되어도 된다. 아미노산의 부가, 결실, 치환, 또는 삽입은, 아미노산 서열을 코딩하는 핵산에 대해서, 예를 들어 부위 특이적 변이유발법(Kunkel et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82, 488-492(1985))이나 오버랩 익스텐션(Overlap extension) PCR을 행하거나; 또는 항체의 친화성 성숙이나 항체의 중쇄 또는 경쇄의 쇄 셔플링을 이용하거나; 또는 파지 디스플레이 라이브러리를 이용하는 항원 패닝에 의한 선택에 의해(Smith et al., Methods Enzymol. 217, 228-257(1993)), 행할 수 있다. 이들을 적절히, 단독으로 또는 조합하여 행해도 된다. 그와 같은 아미노산의 개변으로서는, 한정은 되지 않지만, 항체의 아미노산 서열 중의 1 또는 복수의 아미노산 잔기를 다른 아미노산으로 (각각) 치환하는 것이 바람직하다. 아미노산의 부가, 결실, 치환, 또는 삽입, 및 인간화 또는 키메라화에 의한 아미노산 서열의 개변은, 당 분야에서 공지의 방법에 의해 행하는 것이 가능하다. 마찬가지로, 개시 A 또는 B의 항체를 재조합 항체로서 제작할 때에 이용하는 항체의 가변 영역 또는 항체의 정상 영역에 대해서도, 아미노산의 부가, 결실, 치환, 또는 삽입 등의 아미노산(잔기)의 변경 또는 개변을 실시해도 된다.

[0302] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위의 일 실시태양에 있어서, 아미노산(잔기)의 치환이란, 다른 아미노산(잔기)으로 치환하는 것으로, 예를 들어 다음의 (a) 내지 (c)와 같은 점에 대해 개변하기 위해서 설계해도 된다.

[0303] (a) 시트 구조, 또는 나사 구조의 영역에 있어서의 폴리펩티드의 등뼈 구조;

[0304] (b) 표적 부위에 있어서의 전하 또는 소수성, 또는

[0305] (c) 측쇄의 크기.

[0306] 아미노산 잔기는 그 구조에 포함되는 측쇄의 특성에 기초하여, 예를 들어, 이하의 그룹으로 분류된다: (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, 및 Ile; (2) 중성, 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, 및 Gln; (3) 산성: Asp 및 Glu; (4) 염기성: His, Lys, 및 Arg; (5) 쇄의 배향에 영향을 주는 잔기: Gly 및 Pro; 및 (6) 방향족성: Trp, Tyr, 및 Phe.

[0307] 이들 각 그룹 내에서의 아미노산 잔기의 치환은 보존적 치환으로 불리고, 한편, 타 그룹 사이에서의 아미노산 잔기의 치환은 비보존적 치환으로 불린다. 아미노산 잔기의 치환은, 보존적 치환, 비보존적 치환, 또는 그들의 조합이어도 된다. 천연의 아미노산 이외의 아미노산으로 치환하기 위해서, 복수의 공지의 방법을 적절히 채용해도 된다(Wang et al., Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 35, 225-249(2006); Forster et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100 (11), 6353-6357(2003)). 예를 들어, 종지 코돈의 하나인 UAG 코돈(앰버 코돈)에 상보적인 앰버 서프레서 tRNA에 비천연 아미노산이 결합된 tRNA가 포함되는 무세포 번역계(Clover Direct(Protein Express)) 등을 이용해도 된다.

[0308] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "항원"의 구조란, 해당 항원이 항체와 결합하는 에피토프를 포함하는 한, 특정의 구조로 한정되지 않는다는 것이 이해된다. 항원은, 무기물이어도 유기물이어도 된다. 항원으로서는, 예를 들어, 인터류킨, 케모카인, 세포 증식 인자 등의 다양한 사이토카인을 포함하는, 임의의 리간드여도 되고, 혹은, 예를 들어, 혈장 등의 생체액 중에 가용형으로 존재하거나 가용형으로 개변된 수용체도, 당연히 항원으로서 이용할 수 있다. 그와 같은 가용형 수용체의 비한정적인 예로서는, 예를 들어, Mullberg et al., J. Immunol. 152 (10), 4958-4968(1994)에 기재되는 가용형 IL-6 수용체가 예시될 수 있다. 또한, 항원은 1가(예를 들어, 가용형 IL-6 수용체)여도 다가(예를 들어 IgE)여도 된다.

[0309] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 및 B의 항체가 결합할 수 있는 항원은, 대상(당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체의 투여(적용)가 의도되는 대상이며, 사실상, 임의의 동물, 예를 들어 인간, 마우스 등일 수 있다)의 생체액(예를 들어, WO2013/125667에서 거론되는 생체액, 바람직하게는, 혈장, 조직간액, 림프액, 복수, 또는 흉수 등) 중에 존재하는 가용형 항원인 것이 바람직하지만, 막형 항원이어도 된다.

[0310] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 대상 분자(항원이어도 항체여도 된다)의 "혈장 중 반감기의 연장" 또는 "혈장 중 반감기의 단축" 또는 이들과 동의인 문언은, 혈장 중 반감기(t1/2)라고 하는 파라미터 외에, 평균 혈장 중 체류 시간, 혈장 중 클리어런스(CL), 및 농도 곡선밑 면적(AUC) 등의 임의의 다른 파라미터에 의해서도 보다 구체적으로 나타낼 수 있다("파마코키네틱스: 연습에 의한 이해"(난잔도)). 예를 들어, 인비보 동태 해석 소프트웨어 WinNonlin(Pharsight)에 부속되는 순서서에 따라 비구획적인(Noncompartmental) 해석이 실시되는 것에 의해, 이들 파라미터를 구체적으로 평가할 수 있다. 이들 파라미터

는 통상 서로 상관하고 있다는 것이 당업자에게는 공지이다.

[0311] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "에피토프"란, 항원 중에 존재하는 항원 결정기를 가리키고, 항체에 있어서의 항원 결합 도메인이 결합하는, 항원 상의 부위를 의미한다. 따라서, 예를 들어, 에피토프는, 그 구조에 기초하여 정의될 수 있다. 또한, 당해 에피토프를 인식하는 항체의, 항원에 대한 결합 활성에 의해서도, 당해 에피토프는 정의될 수 있다. 항원이 펩타이드 또는 폴리펩티드인 경우에는, 에피토프를 구성하는 아미노산 잔기에 의해 에피토프를 특정하는 것도 가능하다. 또한, 에피토프가 당쇄인 경우에는, 특정의 당쇄 구조에 기초하여 에피토프를 특정하는 것도 가능하다. 개시 A 및 B에 있어서의 항원 결합 도메인은, 항원 중의 동일한 또는 상이한 에피토프에 결합해도 된다.

[0312] 직선상 에피토프는, 아미노산 일차 서열이어도 된다. 그와 같은 직선상 에피토프는, 전형적으로는, 적어도 3개, 그리고 통상은 적어도 5개, 예를 들어 8 내지 10개, 또는 6 내지 20개의 아미노산을, 고유의 서열로서 포함한다.

[0313] 입체 구조 에피토프에서는, 전형적으로, 에피토프를 구성하는 아미노산은 일차 서열로서 연속적으로 존재하고 있지 않다. 항체는, 펩타이드 또는 단백질의 삼차원 구조에 있어서의 입체 구조 에피토프를 인식할 수 있다. 에피토프의 입체 구조를 결정하는 방법에는, X선 결정학, 이차원 핵자기공명분광학, 부위 특이적인 스핀 표지 및 전자상자성공명분광학이 포함되지만, 이들에는 한정되지 않는다(Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology(1996), 제66권, Morris(편)).

[0314] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "항체"는, 표적 항원에 결합할 수 있는 것이면 특별히 한정되지 않고, 가장 넓은 의미로 사용된다. 당해 항체의 비한정적인 예로서는, 통상 널리 알려져 있는 항체(예를 들어 천연형 면역글로불린("Ig"라고 약칭된다)) 또는 그것에서 유래하는 분자 또는 개변체, 예를 들어, Fab, Fab', $F(ab')_2$, 다이아보디, ScFv(Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448(1993); EP404,097; WO93/11161; Peer et al., Nature Nanotechnology 2: 751-760(2007)), 저분자화 항체(미니보디)(Orita et al., Blood 105: 562-566(2005)), 골격 단백질, 편완(片腕) 항체(WO2005/063816에 기재되는 편완 항체의 모든 실시태양을 포함한다), 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체: 2종류의 상이한 에피토프에 대해서 특이성을 갖는 항체로서, 상이한 항원을 인식하는 항체 및 동일한 항원 상의 상이한 에피토프를 인식하는 항체를 포함한다)도 포함된다. 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "이중특이성 항체"는, 한정은 되지 않지만, 예를 들어, WO2005/035756에 기재되는, 공통 L쇄를 갖는 항체 분자로서 제작되어도 되고, 또는 WO2008/119353에 기재되는, IgG4-유사의 정상 영역을 갖는 2종류의 통상형 항체를 혼합하고 그들 2종류의 그와 같은 항체 사이에서 교환 반응을 일으키는 방법(당업자에게는 "Fab 암 교환"법으로서 알려져 있다)에 따라 제작되어도 된다. 대체적인 실시태양으로서 중쇄 가변 영역 및 경쇄 가변 영역이 1본쇄로서 연결된 구조의 항체(예를 들어, $sc(Fv)_2$)여도 된다. 또는 중쇄 가변 영역(VH) 및 경쇄 가변 영역(VL)이 연결된 scFv(또는 $sc(Fv)_2$)를 Fc 영역(CH1 도메인을 결실한 정상 영역)과 연결시킨 항체-유사 분자(예를 들어, scFv-Fc)여도 된다. scFv-Fc로 이루어지는 다중특이성 항체는, 제 1 폴리펩티드가 VH1-링커-VL1-Fc이며 제 2 폴리펩티드가 VH2-링커-VL2-Fc인 $(scFv)_2$-Fc형의 구조를 갖는다. 혹은, 단일 도메인 항체를 Fc 영역과 연결시킨 항체-유사 분자(Marvin et al., Curr. Opin. Drug Discov. Devel., 9(2): 184-193(2006)), Fc 융합 단백질(예를 들어 이뮤노아드헤신)(US2013/0171138), 이들의 기능적인 단편, 이들의 기능적인 균등물, 및 이들의 당쇄 수식 개변체여도 된다. 당 명세서 중, 천연형 IgG(예를 들어 천연형 IgG1)란, 천연에서 발견되는 IgG(예를 들어 천연형 IgG1)와 동일한 아미노산 서열을 포함하고, 면역글로불린 감마 유전자에 의해 실질적으로 코딩되는 항체의 클래스에 속하는 폴리펩티드를 의미한다. 천연형 IgG는, 그것으로부터 자연히 발생하는 변이체 등이어도 된다.

[0315] 전형적으로는, 항체가 천연형 IgG와 실질적으로 동일 또는 유사한 구조를 갖는 경우, Y자형의 4본쇄 구조(2본의 중쇄 폴리펩티드와 2본의 경쇄 폴리펩티드)를 기본 구조로 해도 된다. 전형적으로는, 중쇄와 경쇄는 다이설파이드 결합(SS 결합)을 개재하여 함께 결합하여 헤테로다이머를 형성할 수 있다. 이와 같은 헤테로다이머가 다이설파이드 결합을 개재하여 함께 결합하여 Y자형의 헤테로테트라머를 형성해도 된다. 한편, 2본의 중쇄끼리 또는 경쇄끼리는, 동일해도 상이해도 된다.

[0316] 예를 들어, IgG 항체를 파파인(papain) 소화함으로써, 중쇄의 Fab 영역이 Fc 영역에 연결되어 있는 힌지 영역(당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "힌지"라고도 한다)을 절단하여, 2개의 Fab(영역)와 1개의 Fc(영역)를 얻을 수 있다. 전형적으로는, Fab 영역은 항원 결합 도메인을 갖는다. 백혈구

나 매크로파지 등의 식세포는 이 Fc 영역과 결합할 수 있는 수용체(Fc 수용체)를 갖고, 이 Fc 수용체를 개재하여, 항원과 결합한 항체를 인식하여 항원을 탐식할 수 있다(옵소닌 작용). 또한, Fc 영역은, ADCC 또는 CDC 등의 면역 반응의 매개에 관여하여, 항체가 항원에 결합한 후의 반응을 야기하는 이펙터 기능을 갖는다. 항체의 이펙터 기능은, 면역글로불린의 종류(아이소타입)에 따라서 다르다는 것이 알려져 있다. IgG 클래스의 Fc 영역은, 예를 들어, (EU 넘버링에 따른) 226위의 시스테인으로부터 또는 230위의 프롤린으로부터 C말단까지의 영역을 나타낼 수 있지만, 이들로 한정되지 않는다. 또한, Fc 영역은, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4 모노클로날 항체 등을 펩신 등의 단백질분해효소로 부분 소화한 후에, 프로틴 A 또는 프로틴 G 컬럼에 흡착된 획분을 용출하는 것에 의해 적합하게 취득될 수 있다.

[0317] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에서는, 항체의 가변 영역(CDR 및/또는 FR)에 존재하는 아미노산 잔기의 위치는 Kabat에 의해 표시되고, 정상 영역 또는 Fc 영역에 존재하는 아미노산 잔기의 위치는, Kabat의 아미노산 위치에 기초하는 EU 넘버링에 의해 표시된다(Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institute of Health, Bethesda, Md., 1987년 및 1991년).

[0318] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "라이브러리"란, WO2013/125667(예를 들어 단락 0121~0125) 등에 상세히 기재되어 있는 바와 같은, 개개의 서열이 서로 동일해도 상이해도 되는, 서열 다양성을 갖는 복수의 항체, 항체를 포함하는 복수의 융합 폴리펩티드, 또는 이들 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 또는 폴리뉴클레오티드 등의, 분자(집단)를 가리켜도 된다. 예를 들어, 당해 라이브러리는, 항체를, 적어도 10^4 분자, 보다 바람직하게는 적어도 10^5 분자, 더 바람직하게는, 적어도 10^6 분자, 특히 바람직하게는, 적어도 10^7 분자 이상 포함할 수 있다. 라이브러리는 파지 라이브러리여도 된다. 용어 "로 주로 이루어진다"는, 라이브러리 중의 상이한 서열을 갖는 다수의 독립 클론 중의 일정 비율을, 항원에 대한 결합 활성이 상이할 수 있는 항체가 차지한다는 것을 의미한다. 일 실시태양에서는, 특정의 항원으로 면역된 동물, 감염증 환자, 백신 접종되어 혈중 항체값이 상승된 인간, 또는 암 또는 자기면역 질환의 환자의 림프구 유래의 항체 유전자에 기초하여 구축된 면역 라이브러리가, 랜덤화 가변 영역 라이브러리로서 적합하게 사용될 수 있다. 대체적인 실시태양에서는, 정상인의 림프구 유래의 항체 유전자로부터 구축되어, 그 레퍼터리에 바이어스를 포함하지 않는 항체 서열인 나이브 서열을 포함하는 나이브 라이브러리도 또한, 랜덤화 가변 영역 라이브러리로서 적합하게 사용될 수 있다(Gejima et al., Human Antibodies 11: 121-129(2002); Cardoso et al., Scand. J. Immunol. 51: 337-344(2000)). 나이브 서열을 포함하는 아미노산 서열이란, 이러한 나이브 라이브러리로부터 취득된 것을 말할 수 있다. 대체적인 실시태양에서는, 게놈 DNA에 있어서의 V 유전자나 재구축된 기능적 V 유전자의 CDR 서열이 적당한 길이의 코돈 세트를 코딩하는 서열을 포함하는 합성 올리고뉴클레오티드 세트로 치환된 합성 라이브러리도 또한, 랜덤화 가변 영역 라이브러리로서 적합하게 사용될 수 있다. 이 경우, CDR3 유전자의 서열 다양성이 관찰되므로, 중쇄 CDR3 서열만을 치환하는 것도 또한 가능하다. 항체의 가변 영역에 있어서 아미노산의 다양성을 산출하는 표준적인 방법은, 항체의 표면에 노출될 수 있는 위치의 아미노산 잔기의 베리에이션을 늘리는 것이어도 된다.

[0319] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체가, 예를 들어 천연형 Ig 항체와 실질적으로 동일 또는 유사한 구조를 갖는 경우에는, 당해 항체는, 전형적으로는, 가변 영역("V 영역") [중쇄 가변 영역("VH 영역") 및 경쇄 가변 영역("VL 영역")] 과 정상 영역("C 영역") [중쇄 정상 영역("CH 영역") 및 경쇄 정상 영역("CL 영역")] 을 갖는다. CH 영역은 CH1 내지 CH3의 세 가지로 더 나눌 수 있다. 전형적으로는, 중쇄의 Fab 영역은 VH 영역과 CH1을 포함하고, 전형적으로는, 중쇄의 Fc 영역은 CH2와 CH3을 포함한다. 전형적으로는, 힌지 영역이 CH1과 CH2 사이에 위치한다. 더욱이, 전형적으로는, 가변 영역은 상보성 결정 영역("CDR") 및 프레임워크 영역("FR")을 갖는다. 전형적으로는, VH 영역과 VL 영역에, 각각, 3개의 CDR(CDR1, CDR2, 및 CDR3)과 4개의 FR(FR1, FR2, FR3, 및 FR4)이 존재한다. 전형적으로는, 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 중에 존재하는 전부 6개의 CDR이 상호작용하여, 항체의 항원 결합 도메인을 형성하고 있다. 이에 반해서, 1개의 CDR밖에 없는 경우, 6개의 CDR이 존재하는 경우보다 항원에 대한 결합 친화성이 낮다는 것이 알려져 있지만, 여전히 항원을 인식하여, 결합하는 능력이 있다.

[0320] Ig 항체는 정상 영역의 구조의 차이에 기초하여, 몇 가지 클래스(아이소타입)로 나눌 수 있다. 많은 포유류에서는, 정상 영역의 구조의 차이에 기초하여 IgG, IgA, IgM, IgD, IgE의 5 종류의 클래스의 면역글로불린으로 분류된다. 더욱이 인간의 경우, IgG는 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4의 4개의 서브클래스, IgA는 IgA1와 IgA2의 2개의 서브클래스를 갖는다. 중쇄는 정상 영역의 차이에 따라, γ쇄, μ쇄, α쇄, δ쇄, ε쇄로 나눌 수 있고, 이 차이에 기초하여, 각각, IgG, IgM, IgA, IgD, IgE의 5종류의 클래스(아이소타입)의 면역글로불린이 존재한다. 한

편, 경쇄에는 λ쇄와 κ쇄의 2종류가 있고, 모든 면역글로불린은 이들 중 어느 하나를 갖는다.

[0321] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체가 중쇄를 갖는 경우에는, 당해 중쇄는, 예를 들어 γ쇄, μ쇄, α쇄, δ쇄, 및 ε쇄 중 어느 하나이거나, 그들 중 어느 하나에서 유래해도 되고, 개시 A 또는 B의 항체가 경쇄를 갖는 경우에는, 당해 경쇄는, 예를 들어 κ쇄 및 λ쇄 중 어느 하나이거나, 어느 하나에서 유래해도 된다. 또한, 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체는, 한정은 되지 않지만, 어떠한 아이소타입(예를 들어 IgG, IgM, IgA, IgD, 또는 IgE), 및 어떠한 서브클래스(예를 들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, 및 IgA2, 마우스 IgG1, IgG2a, IgG2b, 및 IgG3)여도 되고, 그들 중 어느 하나에서 유래해도 된다.

[0322] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "항원 결합 도메인"은, 목적으로 하는 항원에 결합하는 한, 어떠한 구조를 가져도 된다. 그와 같은 도메인의 예로서, 예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역(예를 들어, 1~6개의 CDR); 체내에 존재하는 세포막 단백인 Avimer에 포함되는, A 도메인으로 불리는 35 아미노산 정도의 모듈(WO2004/044011 및 WO2005/040229); 세포막 상에서 발현하는 당단백질인 피브로넥틴 중의 단백질에 결합하는 10Fn3 도메인을 포함하는 애드넥틴(WO2002/032925); 프로틴 A의 58 아미노산으로 이루어지는 3개의 헬릭스의 다발(bundle)을 구성하는 IgG 결합 도메인을 골격으로서 갖는 애피보디(WO1995/001937); 33 아미노산 잔기를 포함하는 1개의 턴과, 2개의 역평행 헬릭스와, 1개의 루프를 갖는 서브유닛이 반복하여 겹겹이 쌓인 구조를 갖는 앤키린 반복(ankyrin repeat: AR)의 분자 표면에 노출된 영역인 DARPin(Designed Ankyrin Repeat Protein)(WO2002/020565); 호중구 젤라티나제 결합 리포칼린(neutrophil gelatinase-associated lipocalin(NGAL)) 등의 리포칼린 분자에 있어서 고도로 보존된 8개의 역평행 스트랜드가 중앙 방향으로 꼬인 배럴 구조의 편측을 지탱하는 4개의 루프 영역인 안티칼린 등(WO2003/029462); 및 면역글로불린 구조를 갖지 않고 칠성장어나 먹장어 등 무악류의 획득 면역 시스템으로서 사용되는 가변성 림프구 수용체(variable lymphocyte receptor(VLR))의 류신 잔기가 풍부한 리피트(leucine-rich-repeat(LRR)) 모듈이 반복하여 겹겹이 쌓인 말굽 형태 구조의 내부의 평행형 시트 구조에 의해 형성된 오목한 영역(WO2008/016854)을 들 수 있다. 개시 A 또는 B에 있어서의 바람직한 항원 결합 도메인으로서, IgG 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 포함하는 항원 결합 도메인을 들 수 있고, 보다 구체적으로는, ScFv, 단쇄 항체, Fv, $scFv_2$(단쇄 Fv_2), Fab, 및 $F(ab')_2$ 등을 들 수 있다.

[0323] 개시 A의 일 실시태양에 있어서, "이온 농도"란, 특별히 한정은 되지 않지만, 수소 이온 농도(pH) 또는 금속 이온 농도를 의미한다. 여기에서, "금속 이온"이란, 수소를 제외한 알칼리 금속 및 구리족 원소 등의 제I족 원소, 알칼리 토류 금속 및 아연족 원소 등의 제II족 원소, 붕소를 제외한 제III족 원소, 탄소와 규소를 제외한 제IV족 원소, 철족 및 백금족 원소 등의 제VIII족 원소, V, VI 및 VII족의 각 A아족에 속하는 원소 및, 안티몬, 비스무트, 및 폴로늄 등의 금속 원소의 이온 중 임의의 하나일 수 있다. 금속 원자는 원자가 전자를 방출하여 양이온이 되는 성질을 갖다. 이를 이온화 경향이라고 한다. 이온화 경향이 큰 금속은, 화학적으로 활성이라고 간주된다.

[0324] 개시 A의 일 실시태양에 있어서, 적합한 금속 이온은, WO2012/073992나 WO2013/125667에 상세하게 기재된 바와 같이, 칼슘 이온일 수 있다.

[0325] 개시 A의 일 실시태양에 있어서, "이온 농도의 조건"이란, 저이온 농도와 고이온 농도에서의, 이온 농도 의존적 항체의 생물학적 거동의 차이에 주목한 조건이어도 된다. 또한, "이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화한다"란, 개시 A 또는 B에 있어서의 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 이온 농도 의존적 항체의 항원에 대한 결합 활성이, 저이온 농도하와 고이온 농도하에서 변화한다는 것을 의미할 수 있다. 예를 들어, 저이온 농도의 조건하에서의 항원에 대한 결합 활성보다 고이온 농도의 조건하에서의 항원에 대한 결합 활성이 높은(강한), 또는 낮은(약한) 경우를 들 수 있지만 이들로 한정되지 않는다.

[0326] 개시 A의 일 실시태양에 있어서, 이온 농도는, 수소 이온 농도(pH) 또는 칼슘 이온 농도일 수 있다. 이온 농도가 수소 이온 농도(pH)인 경우에는, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인은, "pH 의존적 항원 결합 도메인"이라고도 바꾸어 말할 수 있고, 이온 농도가 칼슘 이온 농도인 경우에는, "칼슘 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인"이라고도 바꾸어 말할 수 있다.

[0327] 개시 A의 문맥에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 이온 농도 의존적 항체, pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 및, pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체는, 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 항원 결합 도메인 또는 항체의 결합 활성을 변화시키는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 항원 결합 도메인에 포함되어 있는, 서열이 상이한(다양성을 갖는) 항체로 주로 이루어지는 라이브러리로부터 취득되어도 된다. 당해 항원 결합 도메인으로서는, 경쇄 가변 영역(개변되어 있어도 된다) 및/또는 중쇄 가변 영

역(개변되어 있어도 된다) 중에 존재하는 것이 바람직한 경우가 있다. 또한, 이와 같은 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역과 랜덤화 가변 영역 서열 라이브러리로서 제작된 중쇄 가변 영역 또는 경쇄 가변 영역을 조합하는 것에 의해 라이브러리를 제작해도 된다. 라이브러리의 비한정적인 예로서는, 이온 농도가 수소 이온 농도 또는 칼슘 이온 농도인 경우, 예를 들어, 경쇄 가변 영역으로서는, 서열 번호: 1(Vk1), 서열 번호: 2(Vk2), 서열 번호: 3(Vk3), 또는 서열 번호: 4(Vk4) 등의 생식세포 계열의 서열의 아미노산 잔기가 이온 농도 의존적으로 항원에 대한 결합 활성을 변화시킬 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기로 치환된 경쇄 가변 영역 서열과, 랜덤화 가변 영역 서열 라이브러리로서 제작된 중쇄 가변 영역을 조합한 라이브러리를 들 수 있다. 더욱이 이온 농도가 칼슘 이온 농도인 경우에는, 예를 들어, 서열 번호: 5(6RL#9-IgG1) 또는 서열 번호: 6(6KC4-1#85-IgG1)의 중쇄 가변 영역 서열과, 랜덤화 가변 영역 서열 라이브러리로서 제작된 경쇄 가변 영역 또는 생식세포 계열의 서열을 갖는 경쇄 가변 영역을 조합한 라이브러리를 들 수 있다.

[0328] 일 실시태양에 있어서, 이온 농도가 칼슘 이온 농도인 경우에는, 고칼슘 이온 농도는, 특정의 수치에 특별히 한정되는 것은 아니지만, 100μM과 10mM 사이, 200μM과 5mM 사이, 400μM과 3mM 사이, 200μM과 2mM 사이, 또는 400μM과 1mM 사이에서 선택되는 농도일 수 있다. 인비보의 혈장 중(혈중)에서의 칼슘 이온 농도에 가까운 500μM과 2.5mM 사이에서 선택되는 농도도 또한 바람직하게 들 수 있다. 저칼슘 이온 농도란, 특정의 수치로 특별히 한정되는 것은 아니지만, 0.1μM과 30μM 사이, 0.2μM과 20μM 사이, 0.5μM과 10μM 사이, 또는 1μM과 5μM 사이, 또는 2μM과 4μM의 사이에서 선택되는 농도일 수도 있다. 인비보의 조기 엔도솜 내에서의 칼슘 이온 농도에 가까운 1μM과 5μM 사이에서 선택되는 농도도 또한 바람직하게 들 수 있다.

[0329] 금속 이온 농도(예를 들어, 칼슘 이온 농도)의 조건에 따라 항원에 대한 항원 결합 도메인 또는 해당 도메인을 포함하는 항체의 결합 활성이 변화하고 있는지 여부는, 예를 들어, 당 명세서 중의 개시 A의 문맥에서 기재되었거나 또는 WO2012/073992에 기재되는 방법 등의 공지의 방법을 사용하여 용이하게 결정할 수 있다. 예를 들어, 저칼슘 이온 농도하와 고칼슘 이온 농도하에 있어서의, 항원에 대한 항원 결합 도메인 또는 해당 도메인을 포함하는 항체의 결합 활성을 측정하여, 비교할 수 있다. 이 때, 칼슘 이온 농도 이외의 조건은 동일하게 하는 것이 바람직하다. 또한, 항원에 대한 결합 활성을 측정할 때의, 칼슘 이온 농도 이외의 조건은, 당업자가 적절히 선택할 수 있다. 항원에 대한 결합 활성은, 예를 들어, HEPES 완충액, 37℃의 조건에서 측정해도 되고, 또는 BIACORE(GE Healthcare) 등을 이용하여 측정해도 된다.

[0330] 개시 A의 문맥에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 이온 농도 의존적 항체, pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 또는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체는, 항원에 대해서, 저칼슘 이온 농도의 조건하보다 고칼슘 이온 농도의 조건하에 있어서, 결합 활성이 높은 것이 바람직하다. 이러한 경우, 저칼슘 이온 농도 조건하에 있어서의 항원에 대한 결합 활성과 고칼슘 이온 농도 조건하에 있어서의 항원에 대한 결합 활성의 비는, 한정은 되지 않지만, 항원에 대한 저칼슘 이온 농도의 조건하에서의 KD(해리 상수)와 고칼슘 이온 농도의 조건하에서의 KD의 비의 값, 즉 KD(3μM의 Ca)/KD(2mM의 Ca)가 바람직하게는 2 이상이고, 보다 바람직하게는 10 이상이며, 더 바람직하게는 40 이상이어도 된다. KD(3μM의 Ca)/KD(2mM의 Ca)의 값의 상한은 한정되지 않고, 400, 1000, 10000 등, 어떠한 값이어도 된다.

[0331] 항원에 대한 결합 활성의 값으로서, 항원이 가용형 항원인 경우에는, 해리 상수(KD)를 이용하는 것이 가능하지만, 항원이 막형 항원인 경우에는, 겉보기 해리 상수(KD)를 이용하는 것이 가능하다. KD 및 겉보기 KD는, 공지의 방법, 예를 들어 BIACORE(GE healthcare), 스캐차드(Scatchard) 플롯, 플로 사이토미터 등으로 측정하는 것이 가능하다.

[0332] 혹은, 상기 결합 활성의 비를 나타내는 다른 지표로서는, 예를 들어, 해리 속도 상수(kd)를 이용해도 된다. 항원 결합 활성의 비를 나타내는 지표로서, 해리 상수(KD) 대신에 해리 속도 상수(kd)를 이용하는 경우에는, 항원에 대한 저칼슘 이온 농도의 조건하에서의 해리 속도 상수(kd)와 고칼슘 이온 농도의 조건하에서의 해리 속도 상수(kd)의 비, 즉 kd(저칼슘 이온 농도의 조건)/kd(고칼슘 이온 농도의 조건)의 값은, 바람직하게는 2 이상이고, 보다 바람직하게는 5 이상이며, 더 바람직하게는 10 이상이고, 보다 더 바람직하게는 30 이상이어도 된다. kd(저칼슘 이온 농도의 조건)/kd(고칼슘 이온 농도의 조건)의 값의 상한은 한정되지 않고, 50, 100, 200 등의 어떠한 값이어도 된다.

[0333] 항원이 가용형 항원인 경우에는, 해리 속도 상수(kd)를 항원에 대한 결합 활성의 값으로서 이용하는 것이 가능하다. 항원이 막형 항원인 경우에는, 겉보기 해리 속도 상수(kd)를 이용하는 것이 가능하다. 해리 속도 상수(kd) 및 겉보기 해리 속도 상수(kd)는, 공지의 방법, 예를 들어 BIACORE(GE healthcare)나 플로 사이토미터에 의해 측정하는 것이 가능하다.

[0334] 일 실시태양에 있어서, 저칼슘 이온 농도의 조건하보다 고칼슘 이온 농도의 조건하에 있어서 항원에 대한 결합 활성이 높은, 칼슘 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 칼슘 이온 농도 의존적 항체, 또는 그들의 라이브러리의 제조 방법 또는 스크리닝 방법은 한정되지 않지만, 예를 들어, WO2012/073992(예를 들어 단락 0200~0213)에 기재된 방법이 예시될 수 있다.

[0335] 그와 같은 방법으로서는, 예를 들어,

[0336] (a) 저칼슘 이온 농도의 조건에 있어서의 항원 결합 도메인 또는 항체의 항원에 대한 결합 활성을 결정하는 공정;

[0337] (b) 고칼슘 이온 농도의 조건에 있어서의 항원 결합 도메인 또는 항체의 항원에 대한 결합 활성을 결정하는 공정; 및

[0338] (c) 저칼슘 이온 농도의 조건에 있어서의 항원에 대한 결합 활성이 고칼슘 이온 농도의 조건에 있어서의 항원에 대한 결합 활성보다 낮은 항원 결합 도메인 또는 항체를 선택하는 공정

[0339] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0340] 혹은, 예를 들어,

[0341] (a) 고칼슘 이온 농도의 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 항원에 접촉시키는 공정;

[0342] (b) 공정(a)에서 항원에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 저칼슘 이온 농도의 조건하에 있어서 인큐베이트하는 공정; 및

[0343] (c) 공정(b)에서 해리된 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0344] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0345] 혹은, 예를 들어,

[0346] (a) 저칼슘 이온 농도의 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 항원에 접촉시키는 공정;

[0347] (b) 공정(a)에서 항원에 결합하지 않거나 또는 항원에 대한 결합능이 낮은 항원 결합 도메인 또는 항체를 선택하는 공정;

[0348] (c) 공정(b)에서 선택된 항원 결합 도메인 또는 항체를 고칼슘 이온 농도의 조건에서 항원에 결합시키는 공정; 및

[0349] (d) 공정(c)에서 항원에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0350] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0351] 혹은, 예를 들어,

[0352] (a) 항원을 고정한 컬럼에 고칼슘 이온 농도의 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 접촉시키는 공정;

[0353] (b) 공정(a)에서 컬럼에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 저칼슘 이온 농도의 조건에서 컬럼으로부터 용출시키는 공정; 및

[0354] (c) 공정(b)에서 용출된 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0355] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0356] 혹은, 예를 들어,

[0357] (a) 항원을 고정한 컬럼에 저칼슘 이온 농도의 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 통과시켜, 당해 컬럼에 결합하지 않고 용출된 항원 결합 도메인 또는 항체를 회수하는 공정;

[0358] (b) 공정(a)에서 회수된 항원 결합 도메인 또는 항체를 고칼슘 이온 농도의 조건에서 항원에 결합시키는 공정; 및

[0359] (c) 공정(b)에서 항원에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0360] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0361] 혹은, 예를 들어,

[0362] (a) 고칼슘 이온 농도의 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 항원에 접촉시키는 공정,

[0363] (b) 공정(a)에서 항원에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 취득하는 공정,

[0364] (c) 공정(b)에서 취득한 항원 결합 도메인 또는 항체를 저칼슘 이온 농도에서 인큐베이트하는 공정, 및,

[0365] (d) 공정(c)의 항원에 대한 결합 활성이 공정(b)에서 선택한 기준보다 약한 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0366] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0367] 이들 각종 스크리닝 방법에 있어서의 각 공정은 복수회 반복해도 되고, 최적의 분자를 얻기 위해서 적절히 조합해도 된다. 저칼슘 이온 농도 및 고칼슘 이온 농도의 조건으로서는, 각각, 전술한 조건을 적절히 선택해도 된다. 이것에 의해, 원하는 칼슘 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 칼슘 이온 농도 의존적 항체를 얻을 수 있다.

[0368] 개시 A의 문맥에 있어서, 일 실시태양에 있어서, 출발 재료로서의 항원 결합 도메인 또는 항체는, 예를 들어, 그 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하가 개변되어 있음으로써 상승된 pI를 갖는, 개변된 항원 결합 도메인 또는 항체여도 된다. 대체적인 실시태양에 있어서, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인의 결합 활성을 변화시키는 아미노산이 서열 중에 도입되어 있는 경우에, pI를 상승시키는, 항원 결합 도메인 또는 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하의 개변에 아울러, 개변이 도입되어도 된다.

[0369] 혹은, 본 개시 A의 문맥에 있어서, 예를 들어, 기존의 항원 결합 도메인 또는 항체, 기존의 라이브러리(파지 라이브러리 등); 동물을 면역시키는 것에 의해 얻어진 하이브리도마 또는 면역된 동물 유래의 B 세포로부터 제작된 항체 또는 그의 라이브러리를 이용해도 되고; 또는, 이들에, 칼슘을 킬레이트화할 수 있는 천연 또는 비천연의 아미노산 변이(후술)를 도입하여 얻어진 항원 결합 도메인, 항체 또는 라이브러리(예를 들어, 칼슘을 킬레이트화할 수 있는 아미노산의 함유율을 높인 라이브러리, 또는 특정 부위에 칼슘을 킬레이트화할 수 있는 아미노산을 도입한 라이브러리 등)를 이용해도 된다.

[0370] 개시 A의 문맥에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 이온 농도가 칼슘 이온 농도인 경우에, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 또는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인의 결합 활성을 변화시키는 아미노산은, 칼슘 결합 모티프를 형성할 수 있는 아미노산이면 그 종류는 한정되지 않는다. 예를 들어, 칼슘 결합 모티프는, 당업자에게 주지이다(예를 들어 Springer et al.(Cell 102: 275-277(2000)); Kawasaki et al.(Protein Prof. 2: 305-490(1995)); Moncrief et al.(J. Mol. Evol. 30: 522-562(1990)); Chauvaux et al.(Biochem. J. 265: 261-265(1990)); Bairoch et al.(FEBS Lett. 269: 454-456(1990)); Davis(New Biol. 2: 410-419(1990)); Schaefer et al.(Genomics 25: 638-643(1995)); Economou et al.(EMBO J. 9: 349-354(1990)); Wurzburg et al.(Structure. 14(6): 1049-1058(2006)). 따라서, C형 렉틴, 예를 들어 ASGPR, CD23, MBR, 또는 DC-SIGN의 임의의 칼슘 결합 모티프를 항원 결합 도메인이 갖는 경우, 당해 도메인의 항원에 대한 결합 활성은, 칼슘 이온 농도의 조건에 따라 변화할 수 있다. 이와 같은 칼슘 결합 모티프의 예로서 전술에 더하여, 항원 결합 도메인에 포함되는 서열 번호: 7에 기재되는 칼슘 결합 모티프("Vk5-2"에 대응)를 들 수 있다.

[0371] 개시 A의 문맥에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 이온 농도가 칼슘 이온 농도인 경우에, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 또는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인의 결합 활성을 변화시키는 아미노산으로서 금속 킬레이트화 활성을 갖는 아미노산이 이용될 수 있다. 금속 킬레이트화 활성을 갖는 아미노산의 예로서는, 칼슘 결합 모티프를 형성하는 한, 어느 아미노산도 적합하게 사용될 수 있지만, 구체적으로는, 전자 공여성을 갖는 아미노산을 들 수 있다. 한정은 되지 않지만, 해당 아미노산으로서 Ser(S), Thr(T), Asn(N), Gln(Q), Asp(D), 및 Glu(E) 등을 적합하게 들 수 있다.

[0372] 항원 결합 도메인에 있어서의, 이와 같은 금속 킬레이트화 활성을 갖는 아미노산의 위치는 특정의 위치로 한정되지 않는다. 일 실시태양에 있어서는, 당해 아미노산은, 항원 결합 도메인을 형성해도 되는 중쇄 가변 영역

및/또는 경쇄 가변 영역 중의 어느 위치에 있어도 된다. 예를 들어, 칼슘 이온 농도 의존적으로 항원에 대한 항체의 결합 활성을 변화시키는 적어도 1개의 아미노산 잔기는, 중쇄 및/또는 경쇄의 CDR(CDR1, CDR2 및 CDR3 중 1개 이상) 및/또는 FR(FR1, FR2, FR3 및 FR4 중 1개 이상)에 포함되어 있어도 된다. 해당 아미노산 잔기는, 예를 들어, 중쇄의 CDR3에 있어서의, Kabat 넘버링에 따른 95위, 96위, 100a위, 및 101위 중 1개 이상에 위치해도 되고, 경쇄의 CDR1에 있어서의, Kabat 넘버링에 따른 30위, 31위, 및 32위 중 1개 이상에 위치해도 되고, 경쇄의 CDR2에 있어서의, Kabat 넘버링에 따른 50위에 위치해도 되고, 및/또는, 경쇄의 CDR3에 있어서의, Kabat 넘버링에 따른 92위에 위치해도 된다. 이들 아미노산 잔기는 단독으로 또는 조합되어 배치될 수 있다.

[0373] 트로포닌 C, 칼모듈린, 파르발부민, 미오신 경쇄 등은, 복수의 칼슘 결합 부위를 갖는다는 것이 알려져 있고, 또한 분자 진화상 공통의 기원에서 유래한다고 생각되고 있어, 일 실시태양에 있어서, 그 결합 모티프가 포함되도록 경쇄 CDR1, CDR2, 및 CDR3 중 1개 이상을 설계하는 것이 가능하다. 예를 들어, 상기의 목적으로, 카드헤린 도메인; 칼모듈린에 포함되는 EF 핸드; 프로틴 키나제 C에 포함되는 C2 도메인; 혈액 응고 단백질 인자 IX에 포함되는 Gla 도메인; 아시알로글리코프로틴 수용체나 만노스 결합 수용체에 포함되는 C형 렉틴; LDL 수용체에 포함되는 A 도메인; 아넥신; 트롬보스폰딘 3형 도메인; 및 EGF-유사 도메인이 적절히 사용될 수 있다.

[0374] 일 실시태양에 있어서, 이온 농도가 수소 이온 농도(pH)인 경우에는, 양성자, 즉 수소 원자의 원자핵의 농도의 조건은, 수소 지수(pH)의 조건과 동의로 취급된다. 수용액 중의 수소 이온의 활동량을 aH^+로 나타내면, pH는 $-\log 10aH^+$로 정의된다. 수용액 중의 이온 강도가(예를 들어 10^{-3}보다) 낮으면, aH^+는 수소 이온 강도와 거의 같다. 예를 들어 25℃, 1기압에 있어서의 물의 이온곱은 $Kw=aH^+*aOH=10^{-14}$이기 때문에, 순수에서는 $aH^+=aOH=10^{-7}$이다. 이 경우의 pH=7이 중성이며, pH가 7보다 작은 수용액은 산성, pH가 7보다 큰 수용액은 알칼리성이다. 따라서, 수소 이온 농도 조건이란, 수소 이온 농도의 조건 또는 pH의 조건으로서 고수소 이온 농도(pH 산성역)와 저수소 이온 농도(pH 중성역)에서의, pH 의존적 항체의 생물학적 거동의 차이에 주목한 조건이어도 된다. 예를 들어, 개시 A의 문맥에 있어서, "고수소 이온 농도(pH 산성역)의 조건하에서의 항원에 대한 결합 활성이 저수소 이온 농도(pH 중성역)의 조건하에서의 항원에 대한 결합 활성보다 낮다"란, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 이온 농도 의존적 항체, pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 또는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체의 항원에 대한 결합 활성이, pH 6.7 내지 pH 10.0, 바람직하게는 pH 6.7 내지 pH 9.5, 보다 바람직하게는 pH 7.0 내지 pH 9.0, 더 바람직하게는 pH 7.0 내지 pH 8.0에서 선택되는 pH에 있어서보다, pH 4.0 내지 pH 6.5, 바람직하게는 pH 4.5 내지 pH 6.5, 보다 바람직하게는 pH 5.0 내지 pH 6.5, 더 바람직하게는 pH 5.5 내지 pH 6.5에서 선택되는 pH에 있어서 약하다는 것을 의미할 수 있다. 바람직하게는, 상기 표현은, 인비보의 조기 엔도솜 내의 pH에 있어서의 항원에 대한 결합 활성이, 인비보의 혈장 중의 pH에 있어서의 항원에 대한 결합 활성보다 약하다는 것을 의미할 수 있고, 구체적으로는, 항체의, 예를 들어 pH 5.8에서의 항원에 대한 결합 활성이, 예를 들어 pH 7.4에서의 항원에 대한 결합 활성보다 약하다는 것을 의미할 수 있다.

[0375] 수소 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 항원 결합 도메인 또는 해당 도메인을 포함하는 항체의 결합 활성이 변화되는지 여부는, 예를 들어, 개시 A의 문맥에 있어서 당 명세서에 기재되거나 WO2009/125825에 기재된 어세이 방법 등의 공지의 방법을 사용하여 용이하게 결정할 수 있다. 예를 들어, 저수소 이온 농도하와 고수소 이온 농도하에 있어서의, 목적하는 항원에 대한 항원 결합 도메인 또는 해당 도메인을 포함하는 항체의 항원에 대한 결합 활성을 측정하여, 비교해도 된다. 이 때, 수소 이온 농도 이외의 조건은 동일하게 하는 것이 바람직하다. 또한, 항원에 대한 결합 활성을 측정할 때의, 수소 이온 농도 이외의 조건은, 당업자가 적절히 선택할 수 있고, 예를 들어, HEPES 완충액, 37℃의 조건에서 측정해도 되고, 또는 BIACORE(GE Healthcare) 등을 이용하여 측정해도 된다.

[0376] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 문맥으로부터 특별히 지정되지 않는 한은, "pH 중성역"("저수소 이온 농도", "고pH", "중성 pH 조건" 또는 "중성 pH"라고도 한다)은, 특정의 수치에 특별히 한정되는 것은 아니지만, 바람직하게는 pH 6.7 내지 pH 10.0, pH 6.7 내지 pH 9.5, pH 7.0 내지 pH 9.0, 또는 pH 7.0 내지 pH 8.0에서 선택될 수 있다. 바람직하게는 pH 중성역은, 인비보의 혈장 중(혈중)의 pH에 가까운 pH 7.4일 수 있지만, 측정의 편의상, 예를 들어 pH 7.0이 사용되어도 된다.

[0377] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 문맥으로부터 특별히 지정되지 않는 한은, "pH 산성역"("고수소 이온 농도", "저pH", "산성 pH 조건" 또는 "산성 pH"라고도 한다)은, 특정의 수치에 특별히 한정되는 것은 아니지만, 바람직하게는 pH 4.0으로부터 pH 6.5까지, pH 4.5로부터 pH 6.5까지, pH 5.0으로부터 pH 6.5까지, 또는 pH 5.5로부터 pH 6.5까지에서 선택될 수 있다. 바람직하게는 pH 산성역은, 인비보의 조기 엔도솜 내에서의 수소 이온 농도에 가까운 pH 5.8일 수 있지만, 측정의 편의상, 예를 들어 pH 6.0이 사용되어도 된

다.

[0378] 개시 A의 문맥에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 이온 농도가 수소 이온 농도인 경우에는, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 이온 농도 의존적 항체, pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인, 또는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체의 항원에 대한 결합 활성은, 산성 pH 조건하보다 중성 pH 조건하에 있어서 높은 것이 바람직하다. 이러한 경우, 중성 pH 조건하에 있어서의 항원에 대한 결합 활성과 산성 pH 조건하에 있어서의 항원에 대한 결합 활성의 비는, 한정은 되지 않지만, 바람직하게는, 항원에 대한 산성 pH 조건에서의 해리 상수(KD)와 중성 pH 조건에서의 KD의 비, 즉 KD(pH 산성역)/KD(pH 중성역)(예를 들어, KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4))의 값은, 2 이상, 10 이상, 또는 40 이상이어도 된다. KD(pH 산성역)/KD(pH 중성역)의 값의 상한은 한정되지 않고, 400, 1000, 10000 등, 어떠한 값이어도 된다.

[0379] 대체적인 실시태양에 있어서, 상기 결합 활성의 비를 나타내는 다른 지표로서는, 예를 들어, 해리 속도 상수(kd)를 이용해도 된다. 결합 활성의 비를 나타내는 지표로서, 해리 상수(KD) 대신에 해리 속도 상수(kd)를 이용하는 경우에는, 항원에 대한 고수소 이온 농도의 조건에서의 해리 속도 상수(kd)와 저수소 이온 농도의 조건에서의 해리 속도 상수(kd)의 비, 즉 kd(pH 산성역)/kd(pH 중성역)의 값은, 2 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 30 이상이어도 된다. kd(pH 산성역)/kd(pH 중성역)의 값의 상한은 한정되지 않고, 50, 100, 200 등, 어떠한 값이어도 된다.

[0380] 항원에 대한 결합 활성의 값은, 항원이 가용형 항원인 경우에는, 해리 속도 상수(kd)로 나타내는 것이 가능하고, 한편, 그와 같은 값은, 항원이 막형 항원인 경우에는, 겉보기 해리 속도 상수(겉보기 kd)로 나타내는 것이 가능하다. 해리 속도 상수(kd) 및 겉보기 해리 속도 상수(겉보기 kd)는, 공지의 방법, 예를 들어 BIACORE(GE healthcare)나 플로 사이토미터 등을 이용하는 것에 의해 측정하는 것이 가능하다.

[0381] 일 실시태양에 있어서, 산성 pH 조건하보다 중성 pH 조건하에 있어서 항원에 대한 결합 활성이 높은 pH 의존적 항원 결합 도메인 또는 pH 의존적 항체, 또는 그들의 라이브러리의 제조 방법 또는 스크리닝 방법은, 한정되지 않지만, 예를 들어, WO2009/125825(예를 들어 단락 0158~0190) 등에 기재된 방법을 포함할 수 있다.

[0382] 당해 방법은, 예를 들어,

[0383] (a) 산성 pH 조건에 있어서의 항원 결합 도메인 또는 항체의 항원에 대한 결합 활성을 결정하는 공정;

[0384] (b) 중성 pH 조건에 있어서의 항원 결합 도메인 또는 항체의 항원에 대한 결합 활성을 결정하는 공정; 및

[0385] (c) 산성 pH 조건에 있어서의 항원에 대한 결합 활성이 중성 pH 조건에 있어서의 항원에 대한 결합 활성보다 낮은 항원 결합 도메인 또는 항체를 선택하는 공정

[0386] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0387] 혹은, 예를 들어,

[0388] (a) 중성 pH 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 항원에 접촉시키는 공정;

[0389] (b) 공정(a)에서 항원에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 산성 pH 조건에서 인큐베이트하는 공정; 및

[0390] (c) 공정(b)에서 해리된 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0391] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0392] 혹은, 예를 들어,

[0393] (a) 산성 pH 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 항원에 접촉시키는 공정;

[0394] (b) 공정(a)에서 항원에 결합하지 않거나 또는 항원에 대한 결합능이 낮은 항원 결합 도메인 또는 항체를 선택하는 공정;

[0395] (c) 공정(b)에서 선택된 항원 결합 도메인 또는 항체를 중성 pH 조건에서 항원에 결합시키는 공정; 및

[0396] (d) 공정(c)에서 항원에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0397] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0398] 혹은, 예를 들어,

[0399] (a) 항원을 고정한 컬럼에 중성 pH 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 접촉시키

는 공정,

[0400] (b) 공정(a)에서 컬럼에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 산성 pH 조건에서 컬럼으로부터 용출시키는 공정, 및

[0401] (c) 공정(b)에서 용출된 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0402] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0403] 혹은, 예를 들어,

[0404] (a) 항원을 고정한 컬럼에 산성 pH 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 통과시켜, 당해 컬럼에 결합하지 않고 용출된 항원 결합 도메인 또는 항체를 회수하는 공정;

[0405] (b) 공정(a)에서 회수된 항원 결합 도메인 또는 항체를 중성 pH 조건에서 항원에 결합시키는 공정; 및

[0406] (c) 공정(b)에서 항원에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0407] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0408] 혹은, 예를 들어,

[0409] (a) 중성 pH 조건에서 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리를 항원에 접촉시키는 공정;

[0410] (b) 공정(a)에서 항원에 결합한 항원 결합 도메인 또는 항체를 취득하는 공정;

[0411] (c) 공정(b)에서 취득한 항원 결합 도메인 또는 항체를 산성 pH 조건에서 인큐베이트하는 공정; 및

[0412] (d) 공정(c)의 항원에 대한 결합 활성이 공정(b)에서 선택한 기준보다 약한 항원 결합 도메인 또는 항체를 단리하는 공정

[0413] 을 포함하는 방법이어도 된다.

[0414] 이들 각종 스크리닝 방법에 있어서의 각 공정은 복수회 반복해도 되고, 조합해도 된다. 산성 pH 조건 및 중성 pH 조건으로서는, 전술한 조건을 적절히 선택해도 된다. 이것에 의해, 원하는 pH 의존적 항원 결합 도메인 또는 pH 의존적 항체를 얻을 수 있다.

[0415] 개시 A의 문맥에 있어서, 일 실시태양에 있어서, 출발 재료로서의 항원 결합 도메인 또는 항체는, 예를 들어, 그 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하가 개변되어 있음으로써 상승된 pI를 갖는, 개변된 항원 결합 도메인 또는 항체여도 된다. 대체적인 실시태양에 있어서, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인의 결합 활성을 변화시키는 아미노산이 서열 중에 도입되어 있는 경우에, pI를 상승시키는, 항원 결합 도메인 또는 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하의 개변에 아울러, 개변이 도입되어도 된다.

[0416] 혹은, 본 개시 A의 문맥에 있어서, 예를 들어, 기존의 항원 결합 도메인 또는 항체, 기존의 라이브러리(파지 라이브러리 등), 동물을 면역시키는 것에 의해 얻어진 하이브리도마 또는 면역된 동물 유래의 B 세포로부터 제작된 항체 또는 그 라이브러리를 이용해도 된다. 혹은, 이들에, 예를 들어, 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 천연 또는 비천연의 아미노산의 변이(후술)를 도입하여 얻어진 항원 결합 도메인, 항체 또는 라이브러리(예를 들어, 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 천연 또는 비천연의 아미노산의 변이의 함유율을 높인 라이브러리, 또는 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 천연 또는 비천연의 아미노산의 변이를 특정 부위에 도입한 라이브러리)를 이용해도 된다. 그와 같은 바람직한 항원 결합 도메인은, 예를 들어, WO2009/125825에 기재된 바와 같이, 적어도 1개의 아미노산 잔기가, 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 아미노산에 의한 치환 및/또는 삽입을 수반하는, 항원 결합 도메인 중의 아미노산 서열을 가질 수 있다.

[0417] 본 개시 A의 문맥에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 아미노산의 변이가 도입되는 부위는 한정되지 않고, 변이는, 치환 또는 삽입 전과 비교하여, pH 중성역보다 pH 산성역에 있어서의 항원에 대한 결합 활성이 약해지는(KD(pH 산성역)/KD(pH 중성역)의 값이 커지거나, 또는 kd(pH 산성역)/kd(pH 중성역)의 값이 커지는) 한, 어떤 부위에 도입되어도 된다. 당해 부위는, 항체가 가변 영역 또는 CDR을 갖는 경우에는, 당해 가변 영역 또는 CDR 내의 부위여도 된다. 치환 또는 삽입되는 당해 아미노산의 수는 당업자가 적절히 결정할 수 있고 1 또는 복수여도 된다. 더욱이, 상기의 치환 또는 삽입에 더하여, 다른 아미노산의 결실, 부가, 삽입 및/또는 치환, 또는 개변을 행해도 된다. 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 아미노산에 의한 치환 또는 삽입은, 당업자에게 공지인 알라닌 스캐닝법에 있어서 알라닌 대신에 히스티딘을 이용하는 히스티딘 스캐닝법 등의 스캐닝

법에 의해 랜덤하게 행해도 되고, 및/또는 당해 아미노산에 의한 랜덤 치환 또는 삽입 변이에 의해 얻어진 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 그들의 라이브러리 중에서, 변이 전과 비교하여 KD(pH 산성역)/KD(pH 중성역)의 값 또는 kd(pH 산성역)/kd(pH 중성역)의 값이 커진 항체를 선택해도 된다.

[0418] 또한, 이들 변이의 전후에 있거나, 항원에 대한 pH 중성역에서의 결합 활성이 대폭으로 감소되어 있지 않거나, 실질적으로 감소되어 있지 않거나, 실질적으로 동등하거나, 또는 증대되어 있는 항원 결합 도메인 또는 항체, 바꾸어 말하면, 활성이 적어도 10% 이상, 바람직하게는 50% 이상, 더 바람직하게는 80% 이상, 보다 더 바람직하게는 90% 이상, 또는 그것보다 높게 유지되어 있는, 항원 결합 도메인 또는 항체가 바람직한 경우가 있다. pKa가 4.0~8.0인 아미노산의 치환 또는 삽입에 의해 항원 결합 도메인 또는 항체의 결합 활성이 감소된 경우, 예를 들어, 당해 치환 또는 삽입 부위 이외의 부위에서의 1 또는 복수의 아미노산의 치환, 결실, 부가, 또는 삽입에 의해, 결합 활성이 회복 또는 증대되어도 된다.

[0419] 대체적인 실시태양에 있어서, 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 아미노산은, 항원 결합 도메인을 형성해도 되는 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역 중의 어느 위치에 있어도 된다. 예를 들어, 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 적어도 1개의 아미노산 잔기는, 중쇄 및/또는 경쇄의 CDR(CDR1, CDR2 및 CDR3 중 1개 이상) 및/또는 FR(FR1, FR2, FR3 및 FR4 중 1개 이상) 내에 배치되어도 된다. 그와 같은 아미노산 잔기에는, 한정은 되지 않지만, 경쇄 가변 영역의 CDR1 중의 Kabat 넘버링에 따른 24위, 27위, 28위, 31위, 32위, 및 34위 중 1개 이상의 위치의 아미노산 잔기; 경쇄 가변 영역의 CDR2 중의 Kabat 넘버링에 따른 50위, 51위, 52위, 53위, 54위, 55위, 및 56위중 1개 이상의 위치의 아미노산 잔기; 및/또는 경쇄 가변 영역의 CDR3 중의 Kabat 넘버링에 따른 89위, 90위, 91위, 92위, 93위, 94위, 및 95a위 중 1개 이상의 위치의 아미노산 잔기가 포함된다. 수소 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 항체의 결합 활성이 변화되는 한, 이들 아미노산 잔기는 단독으로 또는 조합되어 포함될 수 있다.

[0420] 본 개시 A의 범위에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 수소 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 항원 결합 도메인 또는 항체의 결합 활성을 변화시키는 아미노산 잔기로서는, 어느 아미노산 잔기도 적합하게 사용될 수 있다. 그와 같은 아미노산 잔기로서는, 구체적으로는, 측쇄의 pKa가 4.0~8.0인 아미노산을 들 수 있다. 이러한 전자 공여성을 갖는 아미노산으로서는, His(H) 및 Glu(E) 등의 천연 아미노산 외에, 히스티딘 아날로그(US2009/0035836), m-NO2-Tyr(pKa 7.45), 3,5-Br2-Tyr(pKa 7.21), 및 3,5-I2-Tyr(pKa 7.38) 등의 비천연 아미노산(Heyl et al., Bioorg. Med. Chem. 11 (17): 3761-3768(2003))이 예시된다. 또한, 당해 아미노산 잔기의 적합한 예로서는, 측쇄의 pKa가 6.0~7.0인 아미노산, 특히 His(H)를 들 수 있다.

[0421] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 명시적으로 기재하지 않는 경우이고, 또한 문맥에 반하지 않는 한에 있어서, 등전점(pI)이란, 이론 등전점, 또는 실험적으로 측정한 등전점의 어느 것이어도 된다는 것이 이해되고, "pI"라고도 칭해진다.

[0422] 예를 들어, pI값은, 등전점 전기영동에 의해 실험적으로 측정하는 것이 가능하다. 한편, 이론 pI값은, 유전자 및 아미노산 서열 해석 소프트웨어(Genetyx 등)를 이용하여 계산할 수 있다.

[0423] 일 실시태양에 있어서, pI를 상승시킨 항체 또는 개시 A의 항체의 pI가, 개변 전의 항체(천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체) 또는 참조 항체(예를 들어 개변을 가하기 전의 항체, 또는 라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체))와 비교하여 상승하고 있는지 여부는, 상기의 방법에 더하여, 또는 상기의 방법 대신에, 예를 들어 마우스, 래트, 토끼, 개, 원숭이, 또는 인간의 혈장을 이용한 항체의 약물동태 시험을, BIACORE, 세포 증식 어세이, ELISA, 효소면역측정법(EIA), 방사면역측정법(RIA) 또는 형광 면역법 등의 방법과 조합하여 실시함으로써 판정 가능하다.

[0424] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, "표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기"란, 통상, 항체를 구성하는 폴리펩티드의 표면에 위치하는 아미노산 잔기를 가리킬 수 있다. "폴리펩티드의 표면에 위치하는 아미노산 잔기"란, 그 측쇄가 용매 분자(통상은 물 분자인 경우가 많다)에 접할 수 있는 아미노산 잔기를 가리킨다. 그러나, 반드시 그 측쇄 전부가 용매 분자에 접할 필요는 없고, 그 측쇄의 일부라도 용매 분자에 접하는 경우에는, 그 아미노산 잔기는 "표면에 위치하는 아미노산"이라고 규정될 수 있다. 또한, 폴리펩티드의 표면에 위치하는 아미노산 잔기에는, 항체의 표면에 근접해 위치함으로써, 그 측쇄가 일부라도 용매 분자에 접하고 있는 다른 아미노산 잔기와 서로 전하적으로 영향을 줄 수 있는 아미노산 잔기도 포함될 수 있다. 예를 들어, 시판의 소프트웨어를 이용한 호몰로지 모델링에 의해, 당업자는 폴리펩티드나 항체의 호몰로지 모델을 제작할 수 있다. 혹은, X선 결정 구조 해석 등의 방법을 이용해도 된다. 예를 들어, 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기를, InsightII 프로그램(Accelrys)과 같은 컴퓨터 프로그램을 이용하여, 항체의 3차원 모델로부터의 좌표를 사용하여 결정할 수 있다. 표면에 노출된 부위는, 당 기술 분야에서 공지의 알고리즘(예를 들어, Lee and

Richards(J. Mol. Biol. 55: 379-400(1971)); Connolly(J. Appl. Cryst. 16: 548-558(1983))을 사용하여 결정될 수 있다. 표면에 노출될 수 있는 부위의 결정은, 단백질 모델링에 적절한 소프트웨어 및 항체로부터 얻어지는 삼차원 구조 정보를 사용하여 행해질 수 있다. 이와 같은 목적을 위해서 이용할 수 있는 소프트웨어로서 SYBYL 생체 고분자 모듈 소프트웨어(Tripos Associates)를 예컨대 들 수 있다. 알고리즘이 유저에 의한 사이즈 파라미터 입력을 필요로 하는 경우는, 계산에 있어서 사용되는 프로브의 "사이즈"를 예를 들어, 반경 약 1.4Å 이하로 설정해도 된다. 더욱이, 퍼스널 컴퓨터용의 소프트웨어를 사용하는, 표면에 노출된 영역 및 면적의 결정법은, Pacios(Pacios, Comput. Chem. 18 (4): 377-386(1994) 및 J. Mol. Model. 1: 46-53(1995))에 기재되어 있다. 상기의 정보에 기초하여, 항체를 구성하는 폴리펩티드의 표면에 위치하는 적절한 아미노산 잔기가 선택될 수 있다.

[0425] 단백질의 pI를 상승시키는 방법으로서는, 예를 들어, 중성 pH의 조건하에서 측쇄에 음전하를 갖는 아미노산(예를 들어, 아스파라긴산 및 글루타민산)의 수를 줄이는 것, 및/또는 측쇄에 양전하를 갖는 아미노산(예를 들어, 아르기닌, 리신, 및 히스티딘)의 수를 늘리는 것을 들 수 있다. 당업자에게 공지의 이론이지만, 측쇄에 음전하를 갖는 아미노산 잔기는, 측쇄의 pKa보다 충분히 높은 pH 조건하에 있어서, -1로서 표시되는 음전하를 갖는다. 예를 들어, 아스파라긴산 측쇄의 이론 pKa는 3.9이며, 중성 pH의 조건하(예를 들어 pH 7.0의 용액 중)에 있어서는, 측쇄는 -1로서 표시되는 음전하를 갖는다. 반대로, 측쇄에 양전하를 갖는 아미노산 잔기는, 측쇄의 pKa보다 충분히 낮은 pH 조건하에 있어서, +1로서 표시되는 양전하를 갖는다. 예를 들어, 아르기닌 측쇄의 이론 pKa는 12.5이며, 중성 pH의 조건하(예를 들어 pH 7.0의 용액중)에 있어서는, 측쇄는 +1로서 표시되는 양전하를 갖는다. 중성 pH의 조건하(예를 들어 pH 7.0의 용액 중)에 있어서, 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기는, 15종류의 천연 아미노산, 즉 알라닌, 시스테인, 페닐알라닌, 글리신, 아이소류신, 류신, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 세린, 트레오닌, 발린, 트립토판, 및 티로신을 포함한다는 것이 알려져 있다. pI를 변화시키는 아미노산으로서는, 비천연 아미노산이어도 된다는 것이 당연하게 이해된다.

[0426] 상기로부터, 중성 pH의 조건하(예를 들어 pH 7.0의 용액 중)에 있어서 단백질의 pI를 상승시키는 방법으로서는, 예를 들어, 목적으로 하는 단백질의 아미노산 서열 중에 존재하는 아스파라긴산(잔기) 또는 글루타민산(잔기)(측쇄에 -1의 음전하를 갖는다)을, 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산(잔기)으로 치환함으로써, +1의 전하 변화를 당해 단백질에 부여할 수 있다. 더욱이, 예를 들어, 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산(잔기)을 아르기닌 또는 리신(측쇄에 +1의 양전하를 갖는다)으로 치환함으로써, +1의 전하 변화를 당해 단백질에 부여할 수 있다. 또한, 아스파라긴산 또는 글루타민산(측쇄에 -1의 음전하를 갖는다)을, 아르기닌 또는 리신(측쇄에 +1의 양전하를 갖는다)으로 치환함으로써, 한번에 +2의 전하 변화를 부여할 수 있다. 혹은, 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산, 및/또는 측쇄에 양전하를 갖는 아미노산을, 단백질의 아미노산 서열 중에 부가 또는 삽입하거나, 또는 단백질의 아미노산 서열 중에 존재하는, 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산 및/또는 측쇄에 음전하를 갖는 아미노산을 결실시켜, 단백질의 pI를 상승시킬 수 있다. 단백질의 예를 들어 N 말단이나 C 말단에 위치하는 아미노산 잔기는, 측쇄 유래의 전하에 더하여, 주쇄 유래의 전하(N 말단에서는 아미노기의 NH_3^+, C 말단에서는 카보닐기의 COO^-)를 갖는다는 것이 이해된다. 그 때문에, 이들 주쇄 유래의 작용기에 대해서, 어떠한 부가, 결실, 치환 또는 삽입을 행하는 것에 의해서도, 단백질의 pI를 상승시킬 수 있다.

[0427] 아미노산 서열 중의 1 또는 복수의 아미노산(잔기)을, 당해 아미노산(잔기)이 갖는 전하의 유무나 정도에 주목하여 개변하는 것에 의해 얻어지는, 단백질의 알짜(net) 전하 또는 pI를 변화시키는 효과는, 항체를 구성하는 아미노산 서열 자체나 표적 항원의 종류에 한해서(또는 실질적으로) 의존하는 것은 아니고, 부가, 결실, 치환 또는 삽입되는 아미노산 잔기의 종류나 수에 의존한다는 것이, 당업자에게는 이해될 것이다.

[0428] 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변에 의해 상승된 pI를 가지도록 개변되어 있는 항체("pI를 상승시킨 항체" 또는 "pI 상승 항체")는, 예를 들어, WO2007/114319, WO2009/041643, WO2014/145159 또는 WO2012/016227에 기재 또는 시사되는 바와 같이, 보다 신속히 세포 내로 흡수될 수 있거나, 또는 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진할 수 있다.

[0429] 다수 있는 항체의 아이소타입 중, 예를 들어 IgG 항체는 그 분자량이 충분히 크기 때문에, 그 주요한 대사 경로는 신장 배설에 의하는 것은 아니다. Fc 영역을 분자의 일부분으로서 갖는 IgG 항체는 FcRn를 개재하는 샐비지(salvage) 경로에 의해 리사이클된다는 것이 알려져 있고, 따라서, 긴 인비보 반감기를 갖는다. IgG 항체는 주로 내피세포에 있어서의 대사 경로에 의해 대사되는 것이라고 생각되고 있다(He et al., J. Immunol. 160(2): 1029-1035(1998)). 즉, 내피세포에 비특이적으로 흡수된 IgG 항체가, FcRn에 결합하는 것에 의해 리사이클되는 한편으로, 결합할 수 없었던 IgG 항체는 대사된다고 생각되고 있다. FcRn에 대한 결합 활성이 저하되도록 그

Fc 영역이 개변되면, IgG 항체의 혈장 중 반감기는 짧아질 수 있다. 한편, pI 상승 항체의 혈장 중 반감기는, 예를 들어 WO2007/114319 및 WO2009/041643 등에 기술되는 바와 같이, 높은 상관을 갖고 pI에 의존한다는 것이 분명해지고 있다. 즉, 면역원성의 획득을 가져올 가능성이 있는 Fc를 구성하는 아미노산 서열을 개변하지 않고, 상기 문헌에 기재된 pI를 상승시킨 항체의 혈장 중 반감기가 단축된 것으로부터, scFv, Fab, 또는 Fc 융합 단백질과 같이 신장 배설이 주요한 대사 경로인 항체 분자의 어느 타입에 대해서조차도, pI 상승에 관한 기술을 넓게 적용 가능하다는 것이 시사되고 있다.

[0430] 생체액(예를 들어, 혈장) 중의 pH 농도는 pH 중성역에 있다. 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 생체액 중에서 pI 상승 항체는, pI 상승에 의해 알짜 양전하가 높아지고, 그 결과, pI가 상승하고 있지 않은 항체와 비교하여, 알짜 음전하를 띠고 있는 내피세포 표면으로 물리화학적인 쿨롱 상호작용에 의해 보다 강하게 끌어당길 수 있고; 해당 항체가 비특이적인 결합을 개재하여 그들에 결합하여 세포 내로 흡수된 결과, 항체의 혈장 중 반감기가 단축되거나, 또는 혈장 중으로부터의 항원의 소실이 증대된다고 생각된다. 더욱이, 항체의 pI를 상승시킴으로써, 항체(또는 항원과 항체의 복합체)의 세포 내로의 흡수, 및/또는 세포내 투과율이 증대되고, 이는 결과적으로 항체의 혈장 중의 농도를 저하시켜, 항체의 생물학적 이용률을 저하시키고, 및/또는 항체의 혈장 중 반감기를 단축시킨다고 생각되고; 이들 현상은, 세포형, 조직형, 장기의 종류 등을 불문하고, 인비보로 널리 일어날 수 있다고 생각되고 있다. 또한, 항체가 항원과 복합체를 형성하여 세포 내로 흡수되는 경우, 항체의 pI에 더하여 항원의 pI도, 세포 내로의 흡수의 증감에 영향을 줄 수 있다.

[0431] 일 실시태양에 있어서, pI를 상승시킨 항체의 제조 방법 또는 스크리닝 방법으로서, 예를 들어, WO2007/114319(예를 들어 단락 0060~0087), WO2009/041643(예를 들어 단락 0115~), WO2014/145159, 및 WO2012/016227에 기재된 방법이 예시될 수 있다. 당해 방법으로서는, 예를 들어,

[0432] (a) 항체의 pI가 상승하도록, 당해 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하가 개변되도록 당해 아미노산 잔기를 포함하는 항체를 코딩하는 핵산을 개변하는 공정;

[0433] (b) 숙주 세포를 당해 핵산이 발현되도록 배양하는 공정; 및

[0434] (c) 숙주 세포 배양물로부터 항체를 회수하는 공정

[0435] 을 포함하는, 방법이어도 된다.

[0436] 혹은, 예를 들어,

[0437] (a') 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하가 개변되도록, 당해 아미노산 잔기를 포함하는 항체를 코딩하는 핵산을 개변하는 공정;

[0438] (b') 숙주 세포를 당해 핵산이 발현되도록 배양하는 공정;

[0439] (c') 숙주 세포 배양물로부터 항체를 회수하는 공정, 및

[0440] (d') 개변 전의 항체와 비교하여 pI가 상승된 항체를 (임의로, 확인하여 또는 측정하여) 선택하는 공정

[0441] 을 포함하는, 방법이어도 된다. 여기에서, 출발 재료로서의 항체 또는 개변 전의 항체 또는 참조 항체는, 예를 들어, 이온 농도 의존적 항체여도 된다. 혹은, 아미노산 잔기의 개변 시에, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인의 결합 활성을 변화시키는 아미노산을 서열 중에 포함시켜도 된다.

[0442] 혹은, 단순히, 공정(b) 또는 (b')에서 얻어진 숙주 세포를 배양하는 공정 및 세포 배양물로부터 항체를 회수하는 공정을 포함하는 방법이어도 된다.

[0443] 대체적인 실시태양에 있어서, 예를 들어,

[0444] 제 1 폴리펩티드 및 제 2 폴리펩티드, 및, 임의로, 제 3 폴리펩티드 및 제 4 폴리펩티드를 포함하는 다중특이성 항체의 제조 방법으로서,

[0445] (A) 제 1 폴리펩티드 및/또는 제 2 폴리펩티드, 및, 임의로, 제 3 폴리펩티드 및/또는 제 4 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 개변하는 공정으로서, 당해 폴리펩티드 중 어느 하나 또는 복수가, 항체의 pI가 상승하도록, 당해 폴리펩티드의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하가 개변되도록, 당해 아미노산 잔기를 포함하는, 공정;

[0446] (B) 숙주 세포를 당해 핵산이 발현되도록 배양하는 공정; 및

[0447] (C) 숙주 세포 배양물로부터 다중특이성 항체를 회수하는 공정

[0448] 을 포함하는, 방법이어도 된다.

[0449] 혹은, 당해 방법은, 예를 들어,

[0450] (A') 제 1 폴리펩티드 및/또는 제 2 폴리펩티드, 및 임의로, 제 3 폴리펩티드 및/또는 제 4 폴리펩티드를 코딩하는 핵산을 개변하는 공정으로서, 당해 폴리펩티드 중 어느 하나 또는 복수가, 폴리펩티드의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하가 개변되도록, 당해 아미노산 잔기를 포함하는, 공정;

[0451] (B') 숙주 세포를 당해 핵산이 발현되도록 배양하는 공정;

[0452] (C') 숙주 세포 배양물로부터 다중특이성 항체를 회수하는 공정; 및

[0453] (D') 개변 전의 항체와 비교하여 pI가 상승된 항체를 (임의로, 확인하여) 선택하는 공정

[0454] 을 포함해도 된다.

[0455] 여기에서, 예를 들어, 출발 재료로서의 항체, 또는 개변 전의 항체, 또는 참조 항체는, 이온 농도 의존적 항체여도 된다. 혹은, 아미노산 잔기의 개변 시에, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인의 결합 활성을 변화시키는 아미노산이 서열 중에 포함되어도 된다.

[0456] 혹은, 단순히, 공정(B) 또는 (B')에서 얻어진 숙주 세포를 배양하는 공정 및 세포 배양물로부터 항체를 회수하는 공정을 포함하는 방법이어도 된다. 이러한 경우, 핵산이 개변되는 폴리펩티드는, 제 1 폴리펩티드의 호모다량체, 제 2 폴리펩티드의 호모다량체, 또는 제 1 폴리펩티드와 제 2 폴리펩티드의 헤테로다량체(및, 임의로, 제 3 폴리펩티드의 호모다량체, 제 4 폴리펩티드의 호모다량체, 또는 제 3 폴리펩티드와 제 4 폴리펩티드의 헤테로다량체)인 것이 바람직한 경우가 있다.

[0457] 대체적인 실시태양에 있어서, 예를 들어, 혈장 중 반감기가 단축된 인간화 항체 또는 인간 항체의 제조 방법으로서, 인간 유래의 CDR, 인간 이외의 동물 유래의 CDR, 및 합성 CDR로 이루어지는 군으로부터 선택되는 CDR; 인간 유래의 FR; 및 인간 정상 영역을 포함하는 항체에 있어서, (I) 항체의 pI가 상승하도록, 당해 CDR, 당해 FR 및 당해 정상 영역으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 영역의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를, 개변 전의 대응하는 위치에 존재하는 아미노산 잔기와는 상이한 전하를 갖는 아미노산 잔기로 개변하는 공정을 포함하는 방법이어도 된다.

[0458] 혹은, 예를 들어, 인간 유래의 CDR, 인간 이외의 동물 유래의 CDR, 및 합성 CDR로 이루어지는 군으로부터 선택되는 CDR; 인간 유래의 FR; 및 인간 정상 영역을 포함하는 항체에 있어서,

[0459] (I') 당해 CDR, 당해 FR 및 당해 정상 영역으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 영역의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를, 개변 전의 대응하는 위치에 존재하는 아미노산 잔기와는 상이한 전하를 갖는 아미노산 잔기로 개변하는 공정; 및

[0460] (II') 개변 전의 항체와 비교하여 pI가 상승된 항체를(임의로, 확인하여) 선택하는 공정

[0461] 을 포함하는, 방법이어도 된다.

[0462] 여기에서, 예를 들어, 출발 재료로서의 항체, 또는 개변 전의 항체, 또는 참조 항체는, 이온 농도 의존적 항체여도 된다. 혹은, 아미노산 잔기의 개변 시에, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인의 결합 활성을 변화시키는 아미노산이 서열 중에 포함되어도 된다.

[0463] 혹은, 예를 들어, 기존의 항원 결합 도메인 또는 항체, 기존의 라이브러리(파지 라이브러리 등); 동물을 면역시키는 것에 의해 얻어진 하이브리도마 또는 면역된 동물 유래의 B 세포로부터 조제된 항체 또는 그 라이브러리; 또는 상기의 항원 결합 도메인, 항체 또는 그 라이브러리에 있어서, 예를 들어, 전술한 실시태양 중 어느 하나에 기초하여, 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변함으로써 조제된, pI가 상승된 항원 결합 도메인 또는 항체, 또는 이들의 라이브러리를 이용해도 된다.

[0464] 개시 A의 항체의 일 실시태양에 있어서, 개변 전 또는 변경 전의 항체(천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체), 또는 참조 항체 또는 모항체(예를 들어 개변을 가하기 전의 항체, 또는 라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체 등))와 비교하여 pI의 값이, 바람직하게는, 예를 들어 적어도 0.01, 0.03, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 또는 0.5 이상, 또는 적어도 0.6, 0.7, 0.8, 또는 0.9 이상 상승

하고 있어도 되고, 항체의 혈장 중 반감기의 대폭적인 단축을 위해서, pI의 값이, 예를 들어 적어도 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 또는 1.5 이상, 또는 적어도 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 또는 2.5 이상, 또는 3.0 이상 상승하고 있어도 된다. 당업자는, 적절히, 약리학적 효과와 독성의 밸런스, 및 예를 들어, 소여의 목적에 따른, 항체의 항원 결합 도메인의 수나 항원의 pI를 감안하면서, 개시 A의 항체의 최적 pI값을 일상적으로 결정할 수 있다. 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체는, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 가짐으로써 혈장과 세포의 엔도솜을 오가면서 1개의 항체 분자에 의한 복수의 항원에 대한 결합을 반복하는 특성에 더하여, pI 상승의 결과 항체의 알짜 양전하가 높아져, 그에 따라 항체가 세포 내에 보다 신속히 흡수되므로 유리하다. 이들 특성은, 항체의 혈장 중 반감기를 단축할 수 있거나, 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성을 증대시킬 수 있거나, 또는 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진할 수 있다. 이와 같은 특성을 살리는 데 최적인 pI값을 결정해도 된다.

[0465] 개시 A의 문맥에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체는, pI를 상승시키기 위해서 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변 또는 변경하기 전의 항체(천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체), 또는 참조 항체 또는 모항체(예를 들어 개변을 가하기 전의 항체, 또는, 라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체 등), 이들은 이온 농도 의존적 항체일 수 있다)와 비교하여, 바람직하게는, (항체를 인비보 투여한 경우에) 혈장으로부터의 항원의 소실을, 예를 들어 적어도 1.1배, 1.25배, 1.5배, 1.75배, 2배, 2.25배, 2.5배, 2.75배, 3배, 3.25배, 3.5배, 3.75배, 4배, 4.25배, 4.5배, 4.75배, 5배, 5.5배, 6배, 6.5배, 7배, 7.5배, 8배, 8.5배, 9배, 9.5배 또는 10배 이상 촉진해도 되고, 또는 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성이, 바람직하게는, 예를 들어, 적어도 1.1배, 1.25배, 1.5배, 1.75배, 2배, 2.25배, 2.5배, 2.75배, 3배, 3.25배, 3.5배, 3.75배, 4배, 4.25배, 4.5배, 4.75배, 5배 이상 증대되어도 된다.

[0466] 개시 A의 문맥에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체는, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 도입하기 전의 항체(천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체), 또는 참조 항체 또는 모항체(예를 들어 개변을 가하기 전의 항체, 또는, 라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체 등), 이들은 pI가 상승된 항체일 수 있다)와 비교하여, 바람직하게는, (항체를 인비보 투여한 경우에) 혈장으로부터의 항원의 소실을, 예를 들어, 적어도 1.1배, 1.25배, 1.5배, 1.75배, 2배, 2.25배, 2.5배, 2.75배, 3배, 3.25배, 3.5배, 3.75배, 4배, 4.25배, 4.5배, 4.75배, 5배, 5.5배, 6배, 6.5배, 7배, 7.5배, 8배, 8.5배, 9배, 9.5배 또는 10배 이상 촉진해도 되고, 또는 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성이, 바람직하게는, 예를 들어, 적어도 1.1배, 1.25배, 1.5배, 1.75배, 2배, 2.25배, 2.5배, 2.75배, 3배, 3.25배, 3.5배, 3.75배, 4배, 4.25배, 4.5배, 4.75배, 5배 이상 증대되어도 된다.

[0467] 일 실시태양에 있어서, 개변 전 또는 변경 전의 항체(천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 이것은 천연형 IgG 항체일 수 있다), 또는 참조 항체 또는 모항체(예를 들어 개변을 가하기 전의 항체, 또는, 라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체 등), 이들은 이온 농도 의존적 항체 또는 pI가 상승된 항체일 수 있다)와 비교하여, 세포외 매트릭스에 대한 개시 A의 항체의 결합 활성이 증대되어 있는지 여부를 판단하기 위한 어세이 방법은, 한정되지 않는다. 예를 들어, 항체와 세포외 매트릭스의 결합을 검출하는 ELISA계를 이용하여 어세이를 행할 수 있고, 여기에서, 세포외 매트릭스가 고상화된 플레이트에 항체를 첨가하고, 그 항체에 대한 표지 항체를 첨가한다. 혹은, 당 명세서의 실시예 1 내지 4나 WO2012/093704 등에 기재되는 바와 같이, 세포외 매트릭스 결합능을 보다 고감도로 검출하는 것이 가능한 전기화학발광법(ECL)을 이용해도 된다. 당해 방법에서는, 예를 들어, 세포외 매트릭스를 고상화한 플레이트에 항체와 루테늄 항체의 혼합물을 첨가하여, 항체와 세포외 매트릭스의 결합을 루테늄의 전기화학발광에 기초하여 측정하는 ECL계를 이용하여, 실시할 수 있다. 항체의 첨가 농도는 임의로 설정하는 것이 가능하고, 세포외 매트릭스에 대한 결합의 검출 감도를 높이기 위해서 첨가 농도를 높일 수 있다. 이와 같은 세포외 매트릭스는, 콜라겐, 프로테오글리칸, 피브로넥틴, 라미닌, 엔탁틴, 피브린, 및 펄칸 등의 당단백질을 포함하는 것이면, 동물 유래여도 식물 유래여도 되고, 동물 유래가 바람직한 경우가 있다. 예를 들어 인간, 마우스, 래트, 원숭이, 토끼, 또는 개 등의 동물 유래의 세포외 매트릭스를 이용할 수 있다. 예를 들어, 인간에 있어서의 항체의 혈장 중 약물동태의 지표로서 인간 유래의 천연형 세포외 매트릭스를 이용해도 된다. 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합을 평가하는 조건으로서는, 생리 조건하인 pH 7.4 부근의 pH 중성역이 바람직하지만, 반드시 중성역일 필요는 없고, pH 산성역(예를 들어 pH 6.0 부근)에서 결합을 평가해도 된다. 또는, 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합을 평가할 때에, 항체가 결합하는 항원 분자와 공존시키고, 또한 세포외 매트릭스에 대한 항원-항체 복합체의 결합 활성을 평가하는 것에 의해, 어세이를 실시해도 된다.

[0468] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체는, pI를 상승시키기 위해서 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변 또는 변경하기 전의 항체(천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체) 또는 참조 항체(예를 들어 항체 개변 전의 항체, 또는, 라이브러리 구축 전 또는 라이브러리 구축 중의 항체 등))와 비교하여, 항원에 대한 결합 활성을 (실질적으로) 유지할 수 있다. 이러한 경우, "항원에 대한 결합 활성을 (실질적으로) 유지한다"란, 개변 전 또는 변경 전의 항체의 결합 활성과 비교하여, 적어도 50% 이상, 바람직하게는 60% 이상, 보다 바람직하게는 70% 혹은 75% 이상, 보다 더 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 또는 95% 이상의 활성을 갖는다는 것을 의미할 수 있다. 혹은, 개시 A의 항체는, 항원에 결합할 때에 그 기능을 유지할 수 있을 정도의 결합 활성을 유지하고 있으면 되고, 따라서, 예를 들어, 생리 조건하, 37℃에서 측정되는 친화성이 100nM 이하, 바람직하게는 50nM 이하, 보다 바람직하게는 10nM 이하, 더 바람직하게는 1nM 이하여도 된다.

[0469] 개시 A의 일 실시태양에 있어서, "항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변" 또는 이와 동의의 표현은, 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기에 대해서, 부가, 결실, 치환, 및 삽입의 하나 이상이 행해져 있다는 것을 의미할 수 있다. 당해 개변에는, 바람직하게는, 적어도 1개의 아미노산 잔기의 치환이 포함되어 있어도 된다.

[0470] 예를 들어, 당해 아미노산 잔기의 치환으로서는, 목적이 되는 항체의 아미노산 서열에 있어서, 측쇄에 음의 전하를 갖는 아미노산 잔기로부터 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기로의 치환, 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기로부터 측쇄에 양의 전하를 갖는 아미노산 잔기로의 치환, 및 측쇄에 음의 전하를 갖는 아미노산 잔기로부터 측쇄에 양의 전하를 갖는 아미노산 잔기로의 치환을 들 수 있고, 이들은, 단독 또는 적절히 조합하여 실시할 수 있다. 예를 들어, 당해 아미노산 잔기의 삽입 또는 부가로서는, 목적이 되는 항체의 아미노산 서열에 있어서, 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산의 삽입 또는 부가, 및/또는 측쇄에 양의 전하를 갖는 아미노산의 삽입 또는 부가를 들 수 있고, 이들은, 단독 또는 적절히 조합하여 실시할 수 있다. 예를 들어, 당해 아미노산 잔기의 결실로서는, 목적이 되는 항체의 아미노산 서열에 있어서, 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기의 결실, 및/또는, 측쇄에 음의 전하를 갖는 아미노산 잔기의 결실을 들 수 있고, 이들은, 단독 또는 적절히 조합하여 실시할 수 있다.

[0471] 당업자이면, 목적이 되는 항체의 아미노산 서열에 있어서, 이들 부가, 결실, 치환, 및 삽입 중 하나 이상을 적절히 조합할 수 있다. 개시 A의 항체의 알짜 pI만이 상승되어야 하기 때문에, 아미노산 잔기의 국소적인 전하의 저하를 가져오는 개변을 행해도 된다. 예를 들어, 소망에 따라, pI가 (지나치게) 상승하고 있는 항체의 pI를 (약간) 저하시키는 개변을 행해도 된다. 그 외의 목적(예를 들어, 항체의 안정성의 증대나 면역원성의 저하)을 위해서 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변을 동시 또는 다른 시간에 행한 결과, 아미노산 잔기의 국소적인 전하가 낮아져 있어도 된다. 이와 같은 항체로서는, 특정의 목적에 의해 제작한 라이브러리의 항체여도 된다.

[0472] 일 실시태양에 있어서, 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변에 이용되는 아미노산(잔기) 중, 천연 아미노산은 이하이다: 측쇄에 음의 전하를 갖는 아미노산이, Glu(E) 또는 Asp(D)일 수 있고; 측쇄에 전하를 갖지 않는 아미노산이, Ala(A), Asn(N), Cys(C), Gln(Q), Gly(G), His(H), Ile(I), Leu(L), Met(M), Phe(F), Pro(P), Ser(S), Thr(T), Trp(W), Tyr(Y), 또는 Val(V)일 수 있으며; 측쇄에 양의 전하를 갖는 아미노산이, His(H), Lys(K) 또는 Arg(R)일 수 있다.

[0473] 당 명세서의 실시예 1 내지 4에서 상술되는 바와 같이, 중성 pH(예를 들어 pH 7.0)의 용액 중에 있어서, 항체 중의 잔기로서 존재하는 경우의 리신 및 아르기닌은, 거의 100%가 양전하를 갖는 한편으로, 항체 중의 잔기로서 존재하는 경우의 히스티딘은 불과 약 9%가 양전하를 갖고, 나머지의 대부분은 전하를 갖지 않는다고 생각된다. 따라서, 측쇄에 양의 전하를 갖는 아미노산으로서는, Lys(K) 또는 Arg(R)를 선택하는 것이 바람직하다.

[0474] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체는, 가변 영역 및/또는 정상 영역을 갖는 것이 바람직하다. 더욱이, 당해 가변 영역은, 중쇄 가변 영역 및/또는 경쇄 가변 영역을 갖는 것이 바람직한 경우가 있고, 및/또는, CDR(예를 들어, CDR1, CDR2 및 CDR3의 하나 이상) 및/또는 FR(예를 들어, FR1, FR2, FR3 및 FR4의 하나 이상)을 갖는 것이 바람직한 경우가 있다. 당해 정상 영역은, 중쇄 정상 영역 및/또는 경쇄 정상 영역을 갖는 것이 바람직한 경우가 있고, 그 서열 및 종류로서는, 예를 들어, IgG 타입의 정상 영역(바람직하게는, 인간 IgG1, 인간 IgG2, 인간 IgG3 혹은 인간 IgG4 타입의 정상 영역, 인간 κ쇄 정상 영역, 및 인간 λ쇄 정상 영역) 등을 이용해도 된다. 이들 정상 영역이 개변된 개변체를 이용해도 된다.

[0475] 일 실시태양에 있어서, 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변은, 단독의 아미노산의 개변 또는 복수의 아미노산의 개변의 조합의 어느 것이어도 된다. 바람직하게는, 항체 표면에 아미노산이

노출될 수 있는 부위에 복수의 아미노산 치환을 조합하여 도입하는 방법을 들 수 있다. 더욱이, 한정은 되지 않지만, 그와 같은 복수의 아미노산 치환은, 서로 입체 구조적으로 근접한 위치에 도입되는 것이 바람직하다. 예를 들어, 항체 분자의 표면에 노출될 수 있는 아미노산(한정은 되지 않지만, 바람직하게는, 측쇄에 음전하를 갖는 아미노산(예를 들어, Glu(E) 또는 Asp(D))을, 측쇄에 양전하를 갖는 아미노산(예를 들어, Lys(K) 또는 Arg(R))으로 치환한 경우나; 기존의 양전하를 갖는 아미노산(예를 들어, Lys(K), 또는 Arg(R))을 이용한 경우에, 그 아미노산에 입체 구조적으로 근접한 1 또는 복수의 아미노산(경우에 따라, 항체 분자 내에 매입되어 있는 아미노산을 포함해도 된다)에 대해서도 양전하를 갖는 아미노산으로 치환하여, 결과로서, 입체 구조적으로 근접한 위치에 국소적인 양전하의 밀집 상태를 제작해도 된다. 여기에서, "입체 구조적으로 근접한 위치"의 정의로서는, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 20Å 이내, 바람직하게는 15Å 이내, 더욱 바람직하게는 10Å 이내에, 1개 또는 복수의 아미노산 치환이 도입되어 있는 상태를 의미해도 된다. 목적하는 아미노산 치환 부위가 항체 분자의 표면에 노출하는지 여부, 또는 어느 아미노산 치환 부위가 다른 아미노산 치환 부위 또는 상기의 기존의 아미노산에 근접하고 있는지 여부는, X선 결정 구조 해석 등, 공지의 방법에 의해 결정 가능하다.

[0476] 입체 구조적으로 서로 근접한 부위에 복수의 양전하를 가지게 하는 방법으로서는, 상기의 방법에 더하여, 천연형 IgG 정상 영역에 있어서 원래 양전하를 갖고 있는 아미노산을 이용하는 방법이어도 된다. 이와 같은 아미노산으로서는, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 255, 292, 301, 344, 355, 및 416번의 아르기닌; 및 EU 넘버링에 따른 121, 133, 147, 205, 210, 213, 214, 218, 222, 246, 248, 274, 288, 290, 317, 320, 322, 326, 334, 338, 340, 360, 370, 392, 409, 414, 및 439번의 리신을 들 수 있다. 이들 양전하를 갖는 아미노산에 입체 구조적으로 근접한 위치에서, 양전하를 갖는 아미노산을 이용한 치환을 행하는 것에 의해, 입체 구조적으로 근접한 부위에 복수의 양전하를 가지게 하는 것이 가능하다.

[0477] 또한, 개시 A의 항체가 가변 영역(개변되어 있어도 된다)을 갖는 경우에는, 항원 결합으로 마스킹되지 않는(즉, 아직 표면에 노출될 수 있는) 아미노산 잔기를 개변해도 되고, 및/또는, 항원 결합으로 마스킹되는 부위에서는 아미노산의 개변을 도입하지 않아도 되고, 또는, 항원 결합을 (실질적으로) 저해하지 않는 아미노산 개변을 행해도 된다. 또한, 이온 농도 의존적 결합 도메인 내에 존재하는, 항체 분자의 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기를 개변하는 경우에는, 항원 결합 도메인에 대해서 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 항체의 결합 활성을 변화시키는 것이 가능한 아미노산 잔기(예를 들어, 칼슘 결합 모티프 내의 것, 또는 히스티딘 삽입 부위, 및/또는 히스티딘 치환 부위)의 결합 활성을 개변에 의해 (실질적으로) 감약되지 않도록, 항원 결합 도메인의 아미노산을 개변해도 되고, 혹은, 당해 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 항체의 결합 활성을 변화시키는 것이 가능한 아미노산 잔기 이외의 부위에 있어서 아미노산 잔기를 개변해도 된다. 한편, 이온 농도 결합 도메인 내에 존재하는, 항체 분자의 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기가 이미 개변되어 있는 경우에는, 항체의 pI가 허용 가능 레벨보다 저하되지 않게, 당해 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 항체의 결합 활성을 변화시키는 것이 가능한 아미노산 잔기의 위치나 종류가 선택되어도 된다. 항체의 pI가 허용 가능 레벨보다 저하된 경우에는, 항체 분자의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변시킴으로써, 항체 전체의 pI를 상승시켜도 된다.

[0478] 한정은 되지 않지만, 바람직하게는, 인간의 생식세포계 FR 서열 또는 그것과 등가의 영역의 서열로부터 pI가 높은 FR 서열을 선택해도 되고, 그 아미노산은 경우에 따라 개변되어 있어도 된다.

[0479] 개시 A의 항체가 FcγR 결합 도메인(후술하는 바와 같은 FcγR의 어떠한 아이소폼이나 알로타입에 대한 결합 도메인이어도 된다) 및/또는 FcRn 결합 도메인을 가지는 정상 영역(개변되어 있어도 된다)을 갖는 경우에는, 소망에 따라, 당해 정상 영역의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위로서는, 당해 FcγR 결합 도메인 및/또는 당해 FcRn 결합 도메인 중의 아미노산 잔기를 제외한 아미노산 잔기일 수 있다. 혹은, 당해 FcγR 결합 도메인 및/또는 당해 FcRn 결합 도메인 중의 아미노산 잔기를 개변 부위로서 선택하는 경우에는, FcγR 및/또는 FcRn에 대한 결합 활성 또는 결합 친화성에는 (실질적으로) 영향을 주지 않는 부위, 또는 영향을 준다고 해도 생물학적 또는 약리학적으로 허용되는 부위를 선택하는 것이 바람직한 경우가 있다.

[0480] 일 실시태양에 있어서, 가변 영역(개변되어 있어도 된다)의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변됨으로써 pI가 상승된 개시 A의 항체를 제작하기 위한, 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위는, 한정은 되지 않지만, Kabat 넘버링에 따른, (a) 중쇄 가변 영역의 FR에 있어서 1위, 3위, 5위, 8위, 10위, 12위, 13위, 15위, 16위, 18위, 19위, 23위, 25위, 26위, 39위, 41위, 42위, 43위, 44위, 46위, 68위, 71위, 72위, 73위, 75위, 76위, 77위, 81위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 84위, 85위, 86위, 105위, 108위, 110위, 및 112위; (b) 중쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 31위, 61위, 62위, 63위, 64위, 65위, 및 97위; (c) 경쇄 가변 영역의 FR에 있어서 1위, 3위, 7위, 8위, 9위, 11위, 12위, 16위, 17위, 18위, 20위, 22위, 37위, 38위, 39위,

41위, 42위, 43위, 45위, 46위, 49위, 57위, 60위, 63위, 65위, 66위, 68위, 69위, 70위, 74위, 76위, 77위, 79위, 80위, 81위, 85위, 100위, 103위, 105위, 106위, 107위, 및 108위; 및 (d) 경쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 24위, 25위, 26위, 27위, 52위, 53위, 54위, 55위, 및 56위로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있고, 개변 후의 각 위치에서의 아미노산은, 한정되지 않지만, Lys(K), Arg(R), Gln(Q), Gly(G), Ser(S), 또는 Asn(N) 등의, 측쇄의 전하의 관점에서 전술한 아미노산의 임의의 것으로부터 선택할 수 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 전술한 아미노산 위치 중, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개소, 또는 10을 초과하는 개소가 개변된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 전술한 아미노산 위치 중, 1 내지 20개소, 1 내지 15개소, 1 내지 10개소, 또는 1 내지 5개소가 개변된다.

[0481] 일 실시태양에 있어서, 개변되는 위치 중에서 이하의 위치를, 그 자체가 항체의 pI를 상승시키는데 충분한 효과를 가질 수 있는 다른 위치와 조합하여, 개시 A의 항체의 pI를 상승시키는 것을 보조하기 위해서 사용할 수 있다. pI를 상승시키는 것을 보조하기 위한 그와 같은 위치는, 예를 들어, 경쇄 가변 영역에 관해서, Kabat 넘버링에 따른 27위, 52위, 56위, 65위, 및 69위로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다.

[0482] 더욱이, 당해 CDR 및/또는 FR에 있어서의 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위는, 한정은 되지 않지만, (a) 중쇄 가변 영역의 FR에 있어서 8위, 10위, 12위, 13위, 15위, 16위, 18위, 23위, 39위, 41위, 43위, 44위, 77위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 84위, 85위, 및 105위; (b) 중쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 31위, 61위, 62위, 63위, 64위, 65위, 및 97위; (c) 경쇄 가변 영역의 FR에 있어서 16위, 18위, 37위, 41위, 42위, 45위, 65위, 69위, 74위, 76위, 77위, 79위, 및 107위; 및 (d) 경쇄 가변 영역의 CDR에 있어서 24위, 25위, 26위, 27위, 52위, 53위, 54위, 55위, 및 56위로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 전술한 아미노산 위치 중, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개소, 또는 10을 초과하는 개소가 개변된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 전술한 아미노산 위치 중, 1 내지 20개소, 1 내지 15개소, 1 내지 10개소, 및 1 내지 5개소가 개변된다.

[0483] 예를 들어, 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위가, 전술한 군을 포함하는 군으로부터 선택되는 경우, 중쇄 가변 영역에 있어서의 개변 후의 아미노산의 종류는, 예를 들어,

[0484] (a) 8위에서는, 8K, 8R, 8Q, 8G, 8S, 또는 8N; (b) 13위에서는, 13K, 13R, 13Q, 13G, 13S, 또는 13N; (c) 15위에서는, 15K, 15R, 15Q, 15G, 15S, 또는 15N; (d) 16위에서는, 16K, 16R, 16Q, 16G, 16S, 또는 16N; (e) 18위에서는, 18K, 18R, 18Q, 18G, 18S, 또는 18N; (f) 39위에서는, 39K, 39R, 39Q, 39G, 39S, 또는 39N; (g) 41위에서는, 41K, 41R, 41Q, 41G, 41S, 또는 41N; (h) 43위에서는, 43K, 43R, 43Q, 43G, 43S, 또는 43N; (i) 44위에서는, 44K, 44R, 44Q, 44G, 44S, 또는 44N; (j) 63위에서는, 63K, 63R, 63Q, 63G, 63S, 또는 63N; (k) 64위에서는, 64K, 64R, 64Q, 64G, 64S, 또는 64N; (l) 77위에서는, 77K, 77R, 77Q, 77G, 77S, 또는 77N; (m) 82위에서는, 82K, 82R, 82Q, 82G, 82S, 또는 82N; (n) 82a위에서는, 82aK, 82aR, 82aQ, 82aG, 82aS, 또는 82aN; (o) 82b위에서는, 82bK, 82bR, 82bQ, 82bG, 82bS, 또는 82bN; (p) 83위에서는, 83K, 83R, 83Q, 83G, 83S, 또는 83N; (q) 84위에서는, 84K, 84R, 84Q, 84G, 84S, 또는 84N; (r) 85위에서는, 85K, 85R, 85Q, 85G, 85S, 또는 85N; 또는 (s) 105위에서는, 105K, 105R, 105Q, 105G, 105S, 또는 105N이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 전술한 아미노산 위치 중 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개소, 또는 10을 초과하는 개소의 임의의 조합이 개변된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 전술한 아미노산 위치 중, 1 내지 20개소, 1 내지 15개소, 1 내지 10개소, 또는 1 내지 5개소의 임의의 조합이 개변된다.

[0485] 중쇄 가변 영역에 있어서의 개변 아미노산 위치의 조합의 비한정적인 예는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른,

[0486] 16위, 43위, 64위, 및 105위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 77위, 82a위, 및 82b위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 77위 및 85위; 41위 및 44위; 82a위 및 82b위; 82위 및 82b위; 82b위 및 83위; 또는 63위 및 64위이고, 개변 후의 각 위치에서의 아미노산은, 한정은 되지 않지만, 측쇄의 전하의 관점에서, 전술한 아미노산의 임의의 것, 예를 들어 Lys(K), Arg(R), Gln(Q), Gly(G), Ser(S), 또는 Asn(N)으로부터 선택할 수 있다.

[0487] 구체적인 조합은, 예를 들어, 16Q/43R/64K/105Q; 77R/82aN/82bR; 77R/82aG/82bR; 77R/82aS/82bR; 77R/85G; 41R/44R; 82aN/82bR; 82aG/82bR; 82aS/82bR; 82K/82bR; 82bR/83R; 77R/85R; 또는 63R/64K일 수 있다.

[0488] 마찬가지로, 경쇄 가변 영역에 있어서의 개변 후의 아미노산의 종류는, 예를 들어, (a) 16위에서는, 16K, 16R, 16Q, 16G, 16S, 또는 16N; (b) 18위에서는, 18K, 18R, 18Q, 18G, 18S, 또는 18N; (c) 24위에서는, 24K, 24R, 24Q, 24G, 24S, 또는 24N; (d) 25위에서는, 25K, 25R, 25Q, 25G, 25S, 또는 25N; (e) 26위에서는, 26K, 26R,

26Q, 26G, 26S, 또는 26N; (f) 27위에서는, 27K, 27R, 27Q, 27G, 27S, 또는 27N; (g) 37위에서는, 37K, 37R, 37Q, 37G, 37S, 또는 37N; (h) 41위에서는, 41K, 41R, 41Q, 41G, 41S, 또는 41N; (i) 42위에서는, 42K, 42R, 42Q, 42G, 42S, 또는 42N; (j) 45위에서는, 45K, 45R, 45Q, 45G, 45S, 또는 45N; (k) 52위에서는, 52K, 52R, 52Q, 52G, 52S, 또는 52N; (l) 53위에서는, 53K, 53R, 53Q, 53G, 53S, 또는 53N; (m) 54위에서는, 54K, 54R, 54Q, 54G, 54S, 또는 54N; (n) 55위에서는, 55K, 55R, 55Q, 55G, 55S, 또는 55N; (o) 56위에서는, 56K, 56R, 56Q, 56G, 56S, 또는 56N; (p) 65위에서는, 65K, 65R, 65Q, 65G, 65S, 또는 65N; (q) 69위에서는, 69K, 69R, 69Q, 69G, 69S, 또는 69N; (r) 74위에서는, 74K, 74R, 74Q, 74G, 74S, 또는 74N; (s) 76위에서는, 76K, 76R, 76Q, 76G, 76S, 또는 76N; (t) 77위에서는, 77K, 77R, 77Q, 77G, 77S, 또는 77N; (u) 79위에서는, 79K, 79R, 79Q, 79G, 79S, 또는 79N; 및 (v) 107위에서는, 107K, 107R, 107Q, 107G, 107S, 또는 107N이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 전술한 아미노산 위치 중, 적어도 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개소, 또는 10을 초과하는 개소의 임의의 조합이 개변된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 전술한 아미노산 위치의 조합 중, 1 내지 20개소, 1 내지 15개소, 1 내지 10개소, 또는 1 내지 5개소의 임의의 조합이 개변된다.

[0489] 경쇄 가변 영역에 있어서의 개변한 아미노산 위치의 조합의 비한정적인 예는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른, 24위 및 27위; 25위 및 26위; 41위 및 42위; 42위 및 76위; 52위 및 56위; 65위 및 79위; 74위 및 77위; 76위 및 79위; 16위, 24위, 및 27위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 및 37위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 25위, 26위, 및 37위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 27위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 41위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 41위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 41위, 및 42위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 52위, 및 56위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 65위, 및 69위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 25위, 26위, 52위, 및 56위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 25위, 26위, 65위, 및 69위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 25위, 26위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 27위, 41위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 27위, 41위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 52위, 56위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 52위, 56위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 65위, 69위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 65위, 69위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 18위, 24위, 45위, 79위, 및 107위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 27위, 52위, 56위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 27위, 52위, 56위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 27위, 65위, 69위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 27위, 65위, 69위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 41위, 52위, 56위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 41위, 52위, 56위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 41위, 65위, 69위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 41위, 65위, 69위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 41위, 42위, 65위, 및 69위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 52위, 56위, 65위, 및 69위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 65위, 69위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 65위, 69위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 41위, 42위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 52위, 56위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 41위, 42위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 52위, 56위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 24위, 27위, 74위, 76위, 77위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 52위, 56위, 65위, 69위, 74위, 및 77위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상; 또는 52위, 56위, 65위, 69위, 76위, 및 79위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 임의의 2개소 이상이고, 개변 후의 각 위치에서의 아미노산은, 한정은 되지 않지만, 측쇄의 전하의 관점에서, 전술한 아미노산의 임의의 것, 예를 들어 Lys(K), Arg(R), Gln(Q), Gly(G), Ser(S), 또는 Asn(N)으로부터 선택할 수 있다.

[0490] 구체적인 조합은, 예를 들어, 24R/27Q; 24R/27R; 24K/27K; 25R/26R; 25K/26K; 41R/42K; 42K/76R; 52R/56R; 65R/79K; 74K/77R; 76R/79K; 16K/24R/27R; 24R/27R/37R; 25R/26R/37R; 27R/76R/79K; 41R/74K/77R;

41R/76R/79K; 24R/27R/41R/42K; 24R/27R/52R/56R; 24R/27R/52K/56K; 24R/27R/65R/69R; 24R/27R/74K/77R; 24R/27R/76R/79K; 25R/26R/52R/56R; 25R/26R/52K/56K; 25R/26R/65R/69R; 25R/26R/76R/79K; 27R/41R/74K/77R; 27R/41R/76R/79K; 52R/56R/74K/77R; 52R/56R/76R/79K; 65R/69R/76R/79K; 65R/69R/74K/77R; 18R/24R/45K/79Q/107K; 27R/52R/56R/74K/77R; 27R/52R/56R/76R/79K; 27R/65R/69R/74K/77R; 27R/65R/69R/76R/79K; 41R/52R/56R/74K/77R; 41R/52R/56R/76R/79K; 41R/65R/69R/74K/77R; 41R/65R/69R/76R/79K; 24R/27R/41R/42K/65R/69R; 24R/27R/52R/56R/65R/69R; 24R/27R/65R/69R/74K/77R; 24R/27R/65R/69R/76R/79K; 24R/27R/41R/42K/74K/77R; 24R/27R/52R/56R/74K/77R; 24R/27R/41R/42K/76R/79K; 24R/27R/52R/56R/76R/79K; 24R/27R/74K/76R/77R/79K; 52R/56R/65R/69R/74K/77R; 또는 52R/56R/65R/69R/76R/79K일 수 있다.

[0491] 가변 영역에 있어서의 몇몇 아미노산 잔기의 개변에 의해 pI를 상승시키는 효과가, 항체를 구성하는 아미노산 서열 자체나 표적 항원의 종류에 한해서 (또는 실질적으로) 의존하는 것이 아니라, 치환되는 아미노산 잔기의 종류나 수에 의존하는 것은, WO2007/114319 또는 WO2009/041643에 있어서 이론적 근거, 호몰로지 모델링, 또는 실험적 수법에 기초하여 이미 설명 또는 실증되고 있다. 또한, 몇몇 아미노산을 개변한 후여도, 복수종의 항원에 대한 항원의 결합 활성이 (실질적으로) 유지되는지, 적어도 높은 개연성을 갖고 유지된다고 당업자에게 기대될 수 있다는 것이, 실증되고 있다.

[0492] 예를 들어, WO2009/041643에는, 구체적으로, 서열 번호: 8로 표시되는 인간화 글리피칸 3항체의 중쇄 FR에 있어서, 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기의 개변 부위로서는, Kabat 넘버링에 따른, 1, 3, 5, 8, 10, 12, 13, 15, 16, 19, 23, 25, 26, 39, 42, 43, 44, 46, 69, 72, 73, 74, 76, 77, 82, 85, 87, 89, 90, 107, 110, 112, 및 114위가 바람직하다는 것이 나타나고 있다. 또한, Kabat 넘버링에 따른 97위의 아미노산 잔기가, 거의 모든 항체에서 표면에 노출되고 있기 때문에 바람직하다고 보고되고 있다. 또한 WO2009/041643에는, 당해 항체의 중쇄 CDR에 있어서, 52, 54, 62, 63, 65, 및 66위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한, 서열 번호: 9로 표시되는 인간화 글리피칸 3항체의 경쇄 FR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른 1, 3, 7, 8, 9, 11, 12, 16, 17, 18, 20, 22, 43, 44, 45, 46, 48, 49, 50, 54, 62, 65, 68, 70, 71, 73, 74, 75, 79, 81, 82, 84, 85, 86, 90, 105, 108, 110, 111, 및 112위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한, 당해 항체의 경쇄 CDR에 있어서, 24, 27, 33, 55, 및 59위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 더욱이, WO2009/041643에는, 항원에 대한 결합 활성을 유지하면서 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기를 개변할 수 있는 부위로서 구체적으로, 서열 번호: 10으로 표시되는 항인간 IL-6 수용체 항체의 중쇄 CDR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른, 31, 64, 및 65위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한, 서열 번호: 11로 표시되는 항인간 IL-6 수용체 항체의 경쇄 CDR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른, 24, 27, 53, 및 55위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한, 항원에 대한 결합 활성을 유지하면서 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기를 개변할 수 있는 부위로서, 구체적으로, 서열 번호: 12로 표시되는 항인간 IL-6 수용체 항체의 중쇄 CDR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른, 31위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한, 서열 번호: 13으로 표시되는 항인간 IL-6 수용체 항체의 경쇄 CDR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른, 24, 53, 54, 및 55위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한 WO2009/041643에는, 항원에 대한 결합 활성을 유지하면서 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기를 개변할 수 있는 부위로서 서열 번호: 14로 표시되는 항인간 글리피칸 3항체의 중쇄 CDR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른, 61, 62, 64, 및 65위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한, 서열 번호: 15로 표시되는 항인간 글리피칸 3 항체의 경쇄 CDR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른, 24 및 27위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한, 항원에 대한 결합 활성을 유지하면서 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기를 개변할 수 있는 부위로서, 서열 번호: 16으로 표시되는 항인간 IL-31 수용체 항체의 중쇄 CDR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른, 61, 62, 64, 및 65위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 또한 WO2009/041643에는, 서열 번호: 17로 표시되는 항인간 IL-31 수용체 항체의 경쇄 CDR에 있어서, Kabat 넘버링에 따른, 24 및 54위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것도 나타나고 있다. 마찬가지로, WO2007/114319에는, 표면에 노출될 수 있는 1 또는 복수의 아미노산 잔기의 전하를 개변하는 것에 의해 제작한 항체 hA69-PF, hA69-p18, hA69-N97R, hB26-F123e4, hB26-p15, 및 hB26-PF에 대해, 등전점 전기영동에 의해 pI의 변화가 실증된 것, 및 이들의 항원인 제 IXa 인자 또는 제 X 인자에 대한 결합 활성이 개변 전 또는 변경 전의 항체와 비교하여 동등했다는 것이 보고되고 있다. 또한, 마우스에게 이들 항체를 투여함으로써, 각 항체의 pI와 각 항체의 혈장 중 클리어런스(CL), 혈장 중 체류 시간, 혈장 중 반감기(T1/2)가 높은 상관관계를 나타냈다는 것도 보고되었다. 또한 WO2007/114319는, 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기의 개변 부위로서 가변 영역의 10, 12, 23, 39, 43, 97, 및 105위의 아미노산 잔기가 바람직하다는 것을 실증하고 있다.

[0493] 대체적인 실시태양 또는 추가적인 실시태양에 있어서, 예를 들어, X선 결정 구조 해석, 또는 항체 정상 영역(한정은 되지 않지만, 바람직하게는 인간 정상 영역이며, 인간 Ig형의 정상 영역인 것이 보다 바람직하고, 인간 IgG형의 정상 영역인 것이 더 바람직하다)으로부터의 호몰로지 모델링에 의해 구축된 호몰로지 모델 등의 공지의 방법을 이용하여, 항체 정상 영역의 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기를 동정하여, pI가 상승하고 있는 개시 A의 항체를 제작하기 위한 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위를 결정해도 된다. 한정은 되지 않지만, 정상 영역의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위로서는, 바람직하게는, EU 넘버링에 따른, 196위, 253위, 254위, 256위, 257위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 306위, 307위, 308위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 388위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있고, 바람직하게는, 254위, 258위, 281위, 282위, 285위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 418위, 419위, 421위, 433위, 434위, 및, 443위로 이루어지는 군으로부터 선택되어도 되고, 더 바람직하게는, 282위, 309위, 311위, 315위, 342위, 343위, 384위, 399위, 401위, 402위, 및 413위로 이루어지는 군으로부터 선택되어도 되고, 개변 후의 각 부위의 아미노산으로서는, 한정은 되지 않지만, 측쇄의 전하의 관점에서, Lys(K), Arg(R), Gln(Q), 또는 Asn(N) 등의 전술한 아미노산으로부터 선택할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위가 전술한 군을 포함하는 군으로부터 선택되는 경우, 각 부위에서의 개변 후의 아미노산의 종류는, 예를 들어, 이하: 254위에서는, 254K, 254R, 254Q, 또는 254N; 258위에서는, 258K, 258R, 258Q, 또는 258N; 281위에서는, 281K, 281R, 281Q, 또는 281N; 282위에서는, 282K, 282R, 282Q, 또는 282N; 285위에서는, 285K, 285R, 285Q, 또는 285N; 309위에서는, 309K, 309R, 309Q, 또는 309N; 311위에서는, 311K, 311R, 311Q, 또는 311N; 315위에서는, 315K, 315R, 315Q, 또는 315N; 327위에서는, 327K, 327R, 327Q, 또는 327N; 330위에서는, 330K, 330R, 330Q, 또는 330N; 342위에서는, 342K, 342R, 342Q, 또는 342N; 311위에서는, 343K, 343R, 343Q, 또는 343N; 345위에서는, 345K, 345R, 345Q, 또는 345N; 356위에서는, 356K, 356R, 356Q, 또는 356N; 358위에서는, 358K, 358R, 358Q, 또는 358N; 359위에서는, 359K, 359R, 359Q, 또는 359N; 361위에서는, 361K, 361R, 361Q, 또는 361N; 362위에서는, 362K, 362R, 362Q, 또는 362N; 384위에서는, 384K, 384R, 384Q, 또는 384N; 385위에서는, 385K, 385R, 385Q, 또는 385N; 386위에서는, 386K, 386R, 386Q, 또는 386N; 387위에서는, 387K, 387R, 387Q, 또는 387N; 389위에서는, 389K, 389R, 389Q, 또는 389N; 399위에서는, 399K, 399R, 399Q, 또는 399N; 400위에서는, 400K, 400R, 400Q, 또는 400N; 401위에서는, 401K, 401R, 401Q, 또는 401N; 402위에서는, 402K, 402R, 402Q, 또는 402N; 413위에서는, 413K, 413R, 413Q, 또는 413N; 418위에서는, 418K, 418R, 418Q, 또는 418N; 419위에서는, 419K, 419R, 419Q, 또는 419N; 421위에서는, 421K, 421R, 421Q, 또는 421N; 433위에서는, 433K, 433R, 433Q, 또는 433N; 434위에서는, 434K, 434R, 434Q, 또는 434N; 및 443위에서는, 443K, 443R, 443Q, 또는 443N일 수 있다.

[0494] 또한, 대체적인 실시태양에 있어서, 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위 및 개변 후의 아미노산의 종류로서는, EU 넘버링에 따른, 345R 또는 345K, 및/또는, 430R, 430K, 430G 또는 435T가 포함되어 있어도 된다.

[0495] 개시 A의 항체의 일 실시태양에 있어서, 가변 영역(개변되어 있어도 된다)의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 전술한 바와 같이 개변되고, 또한, 정상 영역(개변되어 있어도 된다)의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 전술한 바와 같이 개변됨으로써, 항체의 알짜 pI가 상승하고 있어도 된다.

[0496] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체가 IgG형 항체 또는 그것에서 유래하는 분자의 경우에는, 항체의 중쇄 정상 영역에는 IgG1, IgG2, IgG3, 또는, IgG4 타입의 정상 영역이 포함될 수 있다. 개시 A 또는 B에 있어서는, 한정은 되지 않지만, 중쇄 정상 영역은 인간 중쇄 정상 영역이어도 된다. 인간 IgG에는, 몇 가지 알로타입이 존재한다는 것이 알려져 있다. 즉, 인간 IgG 정상 영역의 아미노산 서열에는, 개인 사이에 약간의 차이가 존재한다는 것이 보고되어 있다(Methods Mol. Biol. 882:635-80(2012); Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication No. 91-3242). 그 일례로서 각각, 인간 IgG1 정상 영역(서열 번호: 18), 인간 IgG2 정상 영역(서열 번호: 19), 인간 IgG3 정상 영역(서열 번호: 20), 및 인간 IgG4 정상 영역(서열 번호: 21)을 들 수 있다.

[0497] 이들 중, 예를 들어 인간 IgG1로서는, G1m1,17이나 G1m3으로 불리는 알로타입이 알려져 있다. 이들 알로타입은 아미노산 서열상의 차이를 갖고 있다. 즉, G1m1,17은 EU 넘버링에 따른 356위에 아스파라긴산, 358위에 류신을 갖는데 대해, G1m3은 356위에 글루타민산, 358위에 메티오닌을 갖는다. 그렇지만, 보고되어 있는 알로타입에 대해, 본질적인 항체의 기능이나 성질에 중대한 차이가 있음을 시사하는 보고는 이루어지지 않았다. 그

때문에, 특정의 알로타입을 이용하여 각종의 검토를 한 것, 및 그 결과는, 이들 실시예를 취득하기 위해서 사용된 알로타입에만 한정되는 것은 아니고, 어느 알로타입에 있어서도 마찬가지의 효과가 기대된다는 것이, 당업자에게는 용이하게 추측될 것이다. 이상으로부터, 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "인간 IgG1", "인간 IgG2", "인간 IgG3", 또는 "인간 IgG4"라고 표기되었을 경우에는, 당해 알로타입은 특정의 알로타입에만 한정되지 않고, 보고되어 있는 모든 알로타입을 포함할 수 있는 것으로 한다.

[0498] 개시 A 또는 B의 대체적인 또는 추가적인 실시태양에 있어서, 항체의 경쇄 정상 영역은, κ쇄(IgK) 또는 λ쇄(IgL1, IgL2, IgL3, IgL6, 또는 IgL7) 타입의 임의의 정상 영역을 포함할 수 있다. 한정은 되지 않지만, 경쇄 정상 영역은 인간 경쇄 정상 영역인 것이 바람직하다. 인간 κ쇄 정상 영역과 인간 λ쇄 정상 영역으로서는, 유전자다형에 의한 복수의 알로타입 서열이 Sequences of proteins of immunological interest, NIH Publication No. 91-3242 등에서 보고되어 있다. 그와 같은 알로타입의 일례로서 인간 κ쇄 정상 영역(서열 번호: 22) 및 인간 λ쇄 정상 영역(서열 번호: 23)을 들 수 있다. 그렇지만, 보고되어 있는 알로타입에 대해, 본질적인 항체의 기능이나 성질에 중대한 차이가 있음을 시사하는 보고는 이루어지지 않았다. 그 때문에, 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서 특정의 알로타입으로 언급되고 있는 경우, 모든 알로타입(이하, 이들을 총칭하여 천연형 (인간) IgG (타입) 정상 영역이라고도 한다.)에 있어서 마찬가지의 효과가 기대됨이, 당업자에게는 용이하게 추측될 수 있다.

[0499] 또한, 천연형 IgG 항체의 Fc 영역은, 천연형 IgG 항체의 정상 영역의 일부를 구성하므로, 개시 A 또는 B의 항체가, 예를 들어 IgG형 항체 또는 그것에서 유래하는 분자인 경우에는, 해당 항체는 천연형 IgG(IgG1, IgG2, IgG3, 또는, IgG4 타입)의 정상 영역에 포함되는 Fc 영역을 가져도 된다(이하, 이들을 총칭하여, 천연형 (인간) IgG (타입) Fc 영역이라고도 한다.). 천연형 IgG의 Fc 영역이란, 천연에서 발견되는 IgG를 기원으로 하는 Fc 영역과 동일한 아미노산 서열로 이루어지는 Fc 영역을 의미할 수 있다. 천연형 인간 IgG의 Fc 영역의 구체예로서는, 전술한, 인간 IgG1 정상 영역(서열 번호: 18), 인간 IgG2 정상 영역(서열 번호: 19), 인간 IgG3 정상 영역(서열 번호: 20), 또는 인간 IgG4 정상 영역(서열 번호: 21)에 포함되는 Fc 영역(IgG 클래스의 Fc 영역이란 예를 들어, EU 넘버링에 따른 226위의 시스테인으로부터 C 말단까지, 또는 EU 넘버링에 따른 230위의 프롤린으로부터 C 말단까지를 의미할 수 있다)을 포함할 수 있다.

[0500] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 및 B의 항체는, 천연형(바람직하게는, 인간) IgG의 정상 영역(중쇄 정상 영역 및/또는 경쇄 정상 영역), 또는 천연형(바람직하게는, 인간) IgG의 Fc 영역에 있어서, 아미노산의 치환, 부가, 결실, 또는 삽입으로부터 선택되는 하나 이상의 개변을 행한 개변체를 포함할 수 있다.

[0501] 본 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, WO2013/081143은, 예를 들어, 다량체 항원과 다가의 면역 복합체(항원과 항체의 다가 복합체)를 형성할 수 있는 이온 농도 의존적 항체, 및, 단량체 항원에 존재하는 2개 이상의 에피토프를 인식함으로써 다가의 면역 복합체(항원과 항체의 다가 복합체)를 형성할 수 있는 다중특이성(multispecific) 이온 농도 의존적 항체 또는 다중파라토픽(multiparatopic) 이온 농도 의존적 항체가, 이들 항체 분자에 포함되는 적어도 2개 이상의 다가의 정상 영역(개변되어 있어도 된다) 또는 Fc 영역(개변되어 있어도 된다)을 개재하는 결합력(avidity; 복수의 에피토프와 복수의 파라토프 사이의 결합의 강도의 총합)에 의해, FcγR, FcRn, 보체 수용체에 대해서 보다 강고하게 결합 가능하다는 것; 및 그 결과, 항체가 세포 내에 보다 신속히 흡수된다는 것을 보고하고 있다. 따라서, 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변함으로써 상승된 pI를 가지도록 개변되었을 경우, 다량체 항원 또는 단량체 항원과 다가의 면역 복합체를 형성할 수 있는 상기의 이온 농도 의존적 항체도, 개시 A의 항체(pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체)로서 사용할 수 있다. 다량체 항원 또는 단량체 항원과 다가의 면역 복합체를 형성할 수 있는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체는, 다가의 면역 복합체를 형성할 수 없는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체와 비교하여, 보다 신속히 세포 내로 흡수될 수 있다는 것을 당업자는 인식할 것이다. 또한, 개시 A의 항체는, 일 실시태양에 있어서, 중성 pH의 조건하에 있어서 FcRn 및/또는 FcγR에 대한 결합 활성이 증대되어 있어도 되고, 이러한 경우, 다량체 항원 또는 단량체 항원과 다가의 면역 복합체를 형성할 수 있는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체는, 보다 더 신속히 세포 내로 흡수될 수 있다는 것도 당업자는 이해할 수 있다.

[0502] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체는, 편완 항체(WO2005/063816에 기재되는 편완 항체의 모든 실시태양을 포함한다)여도 된다. 전형적으로는, 편완 항체는, 통상의 IgG 항체가 갖는 2개의 Fab 영역 중 한쪽을 결손하고 있는 항체이며, 한정되지 않지만, 예를 들어 WO2005/063816에 기재된 방법으로 제작 가능하다. 한정은 되지 않지만, 예를 들어, 중쇄가 VH-CH1-Hinge-CH2-CH3의 구조를 갖는 IgG형 항체에 있어서, Hinge보다도 N 말단측의 부위(예를 들어, VH 또는 CH1)에서 Fab 영역의 한쪽을 절단하면, 여분의 서열을 포함하는 형태로 항체가 발현하게 되고, 또한, Hinge보다도 C 말단측의 부위(예를 들어 CH2)에서 Fab 영역의 한쪽을 절단하면, Fc 영역이 불완

전한 형태가 된다. 따라서, 한정은 되지 않지만, 항체 분자의 안정성의 관점에서, IgG형 항체의 2개의 Fab 영역 중 한쪽이 갖는 힌지 영역(Hinge)에서 절단하여 편완 항체를 제작하는 것이 바람직하다. 절단 후의 중쇄가, 절단되어 있지 않은 중쇄와 분자 내 다이설파이드 결합을 개재하여 연결되어 있는 것이 보다 바람직하다. 이와 같은 편완 항체는, Fab 분자와 비교하여 안정성이 증대되어 있음이 WO2005/063816에서 보고되고 있다. 이와 같은 편완 항체를 제작함으로써, pI가 상승 또는 저하된 항체를 제작할 수도 있다. 더욱이, 편완 항체인 pI가 상승된 항체에 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 도입시킨 경우는, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 갖지 않는 pI가 상승된 항체와 비교하여, 항체의 혈장 중 반감기를 더욱 단축시킬 수 있거나, 또는 항체의 세포 내로의 흡수를 더욱 촉진시킬 수 있거나, 또는 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 더욱 촉진시킬 수 있거나, 또는 항체의 세포외 매트릭스에 대한 친화성을 더욱 증대시킬 수 있다.

[0503] 특정의 이론에 구속되지 않지만, 특별히 한정되지 않지만, 편완 항체에 의한 세포내 흡수의 가속 효과가 기대되는 실시태양으로서, 가용형 항원의 pI가 항체보다 낮은 경우가 상정될 수 있다. 항체와 항원으로 이루어지는 복합체의 알짜 pI는, 복합체를 하나의 분자로 보는 것에 의해 공지의 방법으로 계산하는 것이 가능하다. 이 경우, 가용형 항원의 pI가 낮을수록, 복합체의 알짜 pI도 낮아지고, 가용형 항원의 pI가 높을수록, 복합체의 알짜 pI도 높아진다. 또한, 통상형의 IgG 항체 분자(2개의 Fab를 갖는다)에 대해서, pI가 낮은 가용형 항원이 1개 결합했을 경우와 pI가 낮은 가용형 항원이 2개 결합했을 경우는, 후자쪽이 복합체의 알짜 pI는 낮아진다. 이와 같은 통상형 항체를 편완 항체로 변환하면, 1개의 항체 분자에는 1개의 항원밖에 결합할 수 없지만, 그것에 의해, 2번째의 항원이 결합하는 것에 의한 복합체의 pI 저하를 억제하는 것이 가능해진다. 달리 말하면, 가용형 항원의 pI가 항체의 pI보다 낮은 경우는, 편완 항체로의 변환에 의해, 통상 항체와 비교하여 복합체의 pI를 상승시켜, 그것에 의해 세포 내로의 흡수가 가속된다고 생각된다.

[0504] 더욱이, 한정은 되지 않지만, 통상의 IgG형 항체 분자(2개의 Fab를 갖는다)에 있어서, Fc의 pI에 비해 Fab의 pI가 낮은 경우에는, 편완 항체로의 변환에 의해, 편완 항체와 항원으로 이루어지는 복합체의 알짜 pI는 높아진다. 더욱이, 편완 항체로의 그와 같은 변환을 행할 때에는, 편완 항체의 안정성의 관점에서, Fab와 Fc의 경계에 위치하는 힌지 영역에 있어서 한쪽의 Fab를 절단하는 것이 바람직하다. 이 때에는 편완 항체의 pI가 원하는 정도까지 상승되는 부위를 선택하는 것에 의해, pI가 효과적으로 상승될 것이 기대된다.

[0505] 따라서, 항체의 이론 pI(Fc의 이론 pI, Fab의 이론 pI), 및 가용형 항원의 이론 pI를 산출하고 그들의 이론 pI 값의 차이에 대한 관계를 예측하는 것에 의해 항체를 편완 항체로 변환하는 것에 의하여, 항체의 아미노산 서열 자체 및 가용형 항원의 종류에 한해서 (또는 실질적으로) 의거하지 않고, 항체의 pI를 상승시킬 수 있고, 또한 그에 수반하여 세포 내로의 항원의 흡수를 가속시킬 수 있다는 것이 당업자에게는 이해된다.

[0506] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체는 다중특이성 항체이면 되고, 한정은 되지 않지만, 당해 다중특이성 항체는 이중특이성 항체여도 된다. 당해 다중특이성 항체는, 제 1 폴리펩티드 및 제 2 폴리펩티드를 포함하는 다중특이성 항체이다. 여기에서, " 제 1 폴리펩티드 및 제 2 폴리펩티드를 포함하는 다중특이성 항체"란, 적어도 2종 이상의 상이한 항원 혹은 동일 항원 내의 적어도 2종 이상의 상이한 에피토프에 결합하는 항체를 의미한다. 제 1 폴리펩티드 및 제 2 폴리펩티드는, 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있는 것이 바람직하고, 당해 가변 영역에는, CDR 및/또는 FR가 포함되어 있는 것이 보다 바람직하다. 다른 실시태양에 있어서는, 당해 제 1 폴리펩티드 및 당해 제 2 폴리펩티드는, 각각, 중쇄 정상 영역을 포함할 수 있는 것이 바람직하다. 더욱이 다른 실시태양에 있어서, 당해 다중특이성 항체는, 경쇄 가변 영역 및 바람직하게는 추가로 경쇄 정상 영역을 각각 포함하는, 제 3 폴리펩티드 및 제 4 폴리펩티드를 포함해도 된다. 이러한 경우, 제 1 내지 제 4 폴리펩티드가 함께 회합하여 다중특이성 항체를 형성해도 된다.

[0507] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체가 다중특이성 항체이며, 당해 다중특이성 항체가 중쇄 정상 영역을 포함하는 경우에, 그 pI를 저하시키기 위해서는, 예를 들어, 137위에서 IgG2 또는 IgG4의 서열; 196위에서 IgG1, IgG2 또는 IgG4의 서열; 203위에서 IgG2 또는 IgG4의 서열; 214위에서 IgG2의 서열; 217위에서 IgG1, IgG3 또는 IgG4의 서열; 233위에서 IgG1, IgG3 또는 IgG4의 서열; 268위에서 IgG4의 서열; 274위에서 IgG2, IgG3 또는 IgG4의 서열; 276위에서 IgG1, IgG2 또는 IgG4의 서열; 355위에서 IgG4의 서열; 392위에서 IgG3의 서열; 419위에서 IgG4의 서열; 또는 435위에서 IgG1, IgG2 또는 IgG4의 서열을 사용해도 된다. 한편, pI를 상승시키기 위해서는, 예를 들어, 137위에서 IgG1 또는 IgG3의 서열; 196위에서 IgG3의 서열; 203위에서 IgG1 또는 IgG3의 서열; 214위에서 IgG1, IgG3 또는 IgG4의 서열; 217위에서 IgG2의 서열; 233위에서 IgG2의 서열; 268위에서 IgG1, IgG2 또는 IgG3의 서열; 274위에서 IgG1의 서열; 276위에서 IgG3의 서열; 355위에서 IgG1, IgG2 또는 IgG3의 서열; 392위에서 IgG1, IgG2 또는 IgG4의 서열; 419위에서 IgG1, IgG2 또는 IgG3의 서열; 또는 435위에

서 IgG3의 서열을 사용해도 된다.

[0508] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체가 2개의 중쇄 정상 영역을 갖는 경우, 2개의 중쇄 정상 영역의 pI는 서로 동일해도 상이해도 된다. 그와 같은 중쇄 정상 영역으로서는, 원래 pI가 상이한 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4의 중쇄 정상 영역을 이용해도 된다. 혹은, 2개의 중쇄 정상 영역간에 pI차를 도입해도 된다. 정상 영역에 pI차를 도입하기 위한 적어도 1개의 아미노산 잔기의 개변 부위는, 전술한 위치여도 되고, 또는, 예를 들어, WO2009/041643에 기재된 중쇄 정상 영역의 EU 넘버링에 따른 137위, 196위, 203위, 214위, 217위, 233위, 268위, 274위, 276위, 297위, 355위, 392위, 419위, 및 435위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 부위여도 된다. 혹은, 중쇄 정상 영역으로부터 당쇄를 제거하는 것에 의해 pI차가 생기므로, 당쇄 부가 위치인 297위의 아미노산 잔기를 개변하여 당쇄를 제거해도 된다.

[0509] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체는, 폴리클로날 항체 또는 모노클로날 항체이면 되고, 포유동물 유래의 모노클로날 항체가 바람직하다. 모노클로날 항체에는, 하이브리도마에 의해 산생되는 것, 또는 유전자공학적 수법에 의해 항체 유전자를 포함하는 발현 벡터로 형질 전환한 숙주 세포에 의해 산생되는 것 등이 포함된다. 개시 A 또는 B의 항체는, 예를 들어 키메라 항체, 인간화 항체, 또는 친화성 성숙에 의해 제작된 항체 등의 항체, 또는 그것에서 유래하는 분자여도 된다.

[0510] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체는, 한정하지 않지만, 어떠한 동물종(예를 들어, 인간; 또는 마우스, 래트, 햄스터, 토끼, 원숭이, 필리핀 원숭이, 히말라야 원숭이, 망토 비비, 침팬지, 염소, 양, 개, 소, 또는 낙타 등의 비인간 동물) 또는 어떠한 조류 등에서 유래해도 되고, 해당 항체는 인간, 원숭이 또는 마우스에서 유래하는 것이 바람직하다.

[0511] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체는 Ig형 항체이면 되고, 바람직하게는 IgG형 항체여도 된다.

[0512] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, Fc 수용체("FcR"라고도 한다)란, 면역글로불린(항체) 또는 그것에서 유래하는 분자가 갖는 Fc 영역 또는 Fc 영역 개변체에 결합할 수 있는 수용체 단백질을 가리킨다. 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 예를 들어, IgG, IgA, IgE, 및 IgM에 대한 Fc 수용체는, 각각, FcγR, FcαR, FcεR, 및 FcμR로서 알려져 있다. 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, Fc 수용체는, 예를 들어, FcRn("신생아형 Fc 수용체"라고도 한다)이어도 된다.

[0513] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, "FcγR"이란, IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4 항체, 또는 그것에서 유래하는 분자가 갖는 Fc 영역 또는 Fc 영역 개변체에 결합할 수 있는 수용체 단백질을 가리키면 되고, 실질적으로 FcγR 유전자에 코딩되는 단백질의 패밀리의 임의의 1개 이상, 또는 모든 멤버를 포함한다. 인간에서는, 이 패밀리에는, 아이소폼 FcγRIa, FcγRIb, 및 FcγRIc를 포함하는 FcγRI(CD64); 아이소폼 FcγRIIa(알로타입 H131(H형) 및 R131(R형)을 포함한다), FcγRIIb(FcγRIIb-1 및 FcγRIIb-2를 포함한다), 및 FcγRIIc를 포함하는 FcγRII(CD32); 및 아이소폼 FcγRIIIa(알로타입 V158 및 F158을 포함한다) 및 FcγRIIIb(알로타입 FcγRIIIb-NA1 및 FcγRIIIb-NA2를 포함한다)를 포함하는 FcγRIII(CD16), 및 모든 미발견의 인간 FcγR류와 FcγR 아이소폼 및 알로타입이 포함되지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 더욱이, 인간 FcγRIIb(hFcγRIIb)의 스플라이싱 개변체로서 FcγRIIb1과 FcγRIIb2가 보고되어 있다. 또한, 그 이외에도 FcγRIIb3이라는 스플라이싱 개변체도 보고되어 있다(Brooks et al., J. Exp. Med, 170: 1369-1385(1989)). hFcγRIIb에는, 이들에 더하여, NP_001002273.1, NP_001002274.1, NP_001002275.1, NP_001177757.1, 및 NP_003992.3으로서 NCBI에 등록되어 있는 모든 스플라이싱 개변체가 포함된다. 또한, hFcγRIIb에는 기존의 보고된 모든 유전자다형도 포함되고, 예를 들어, FcγRIIb(Li et al., Arthritis Rheum, 48: 3242-3252(2003), Kono et al., Hum. Mol. Genet, 14: 2881-2892(2005), Kyogoku et al., Arthritis Rheum. 46(5):1242-1254(2002))도 포함될 뿐만 아니라, 금후 보고되는 모든 유전자다형도 포함된다.

[0514] FcγR은 어떠한 생물 유래여도 되고, 인간, 마우스, 래트, 토끼, 또는 원숭이 유래의 것을 포함할 수 있지만, 이들로 한정되지 않는다. 마우스 FcγR류에는, FcγRI(CD64), FcγRII(CD32), FcγRIII(CD16) 및 FcγRIII-2(CD16-2), 및 모든 미발견의 마우스 FcγR류와 FcγR아이소폼 및 알로타입도 포함되지만, 이들로 한정되지 않는다. 이와 같은 FcγR의 적합한 예로서는, 인간 FcγRI(CD64), FcγRIIA(CD32), FcγRIIB(CD32), FcγRIIIA(CD16), 또는 FcγRIIIB(CD16)를 들 수 있다. 한편, FcγR는 인비보로 막형으로서 존재하기 때문에, 적절히, 가용형으로 인공적으로 변환한 후에 실험계에서 이용해도 된다.

[0515] 일례로서 WO2014/163101에서 거론되는 바와 같이, FcγRI의 폴리뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열은, 각각 NM_000566.3 및 NP_000557.1에 기재된 서열이어도 되고; FcγRIIA의 폴리뉴클레오티드 서열 및 아미노산

서열은, 각각 BC020823.1 및 AAH20823.1에 기재된 서열이어도 되고; FcγRIIB의 폴리뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열은, 각각 BC146678.1 및 AAI46679.1에 기재된 서열이어도 되고; FcγRIIIA의 폴리뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열은, 각각 BC033678.1 및 AAH33678.1에 기재된 서열이어도 되고; FcγRIIIB의 폴리뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열은, 각각 BC128562.1 및 AAI28563.1에 기재된 서열이어도 된다(RefSeq 억세션 번호를 나타낸다.).

[0516] FcγRIIa에는, FcγRIIa의 131위의 아미노산이 히스티딘(H형) 또는 아르기닌(R형)으로 치환된 2종류의 유전자다형이 존재한다(J. Exp. Med. 172: 19-25, 1990).

[0517] FcγRIa, FcγRIb 및 FcγRIc를 포함하는 FcγRI(CD64), 및 FcγRIIIa(알로타입 V158 및 F158을 포함한다)를 포함하는 FcγRIII(CD16)에서는, IgG의 Fc 영역에 결합하는 α쇄가, 세포 내에 활성화 시그널을 전달하는 ITAM를 갖는 공통 γ쇄에 연결되어 있다. FcγRIIIb(알로타입 FcγRIIIb-NA1 및 FcγRIIIb-NA2를 포함한다)는 GPI 앵커 단백질이다. 한편, 아이소폼 FcγRIIa(알로타입 H131 및 R131을 포함한다) 및 FcγRIIc를 포함하는 FcγRII(CD32)의 세포질 도메인에는 ITAM이 포함되어 있다. 이들 수용체는, 매크로파지, 비만 세포, 및 항원 제시 세포 등의 많은 면역 세포에서 발현하고 있다. 이들 수용체가 IgG의 Fc 영역에 결합함으로써 전달되는 활성화 시그널에 의해, 매크로파지의 탐식능, 염증성 사이토카인의 산생, 비만 세포의 탈과립, 및 항원 제시 세포의 기능 항진이 촉진된다. 이와 같이 활성화 시그널을 전달하는 능력을 갖는 FcγR은, 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서도 활성형 FcγR로 불린다.

[0518] 한편, FcγRIIb(FcγRIIb-1 및 FcγRIIb-2를 포함한다)의 세포질내 도메인에는 억제형 시그널을 전달하는 ITIM이 포함되어 있다. B 세포에서는 FcγRIIb와 B 세포 수용체(BCR)의 가교에 의해 BCR로부터의 활성화 시그널이 억제된 결과, BCR의 항체 산생이 억제된다. 매크로파지에서는, FcγRIII와 FcγRIIb의 가교에 의해 탐식능이나 염증성 사이토카인의 산생능이 억제된다. 이와 같이 억제 시그널을 전달하는 능력을 갖는 FcγR은, 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서도 억제형 Fcγ 수용체라고도 불린다.

[0519] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체 또는 Fc 영역(개변체)의 각종 FcγR에 대한 결합 활성이 개변 전의 항체 또는 Fc 영역(개변체)과 비교하여 증대되었는지, (실질적으로) 유지되고 있는지, 또는 감소되었는지 여부를, 당업자에게 공지의 방법에 따라 평가할 수 있다. 그와 같은 방법은 특별히 한정되지 않고, 본 실시예에 기재된 것을 이용해도 되고, 예를 들어, 표면 플라즈몬 공명(SPR) 현상을 이용한 BIACORE(Proc. Natl. Acad. Sci. USA(2006) 103 (11), 4005-4010)을 이용해도 된다. 혹은, 예를 들어, ELISA 나 형광 활성화 세포 분류(FACS) 외, ALPHA 스크린(Amplified Luminescent Proximity Homogeneous Assay)을 이용해도 된다. 이들 어세이에는 인간 FcγR의 세포외 도메인이 가용성 항원으로서 이용되어도 된다(예를 들어 WO2013/047752).

[0520] 항체 또는 Fc 영역(개변체)에 포함되는 FcγR 결합 도메인과 FcγR의 결합 활성을 측정하기 위한 pH의 조건으로서, 산성 또는 중성의 pH 조건이 적합하게 사용될 수 있다. 측정 조건에 사용되는 온도로서, FcγR 결합 도메인과 FcγR의 결합 활성(결합 친화성)은, 예를 들어 10℃ 내지 50℃의 임의의 온도에서 평가될 수 있다. 인간 FcγR 결합 도메인과 FcγR의 결합 활성(결합 친화성)을 결정하기 위한 바람직한 온도는, 예를 들어 15℃ 내지 40℃이다. 보다 바람직하게는, 예를 들어 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 및 35℃의 어느 하나와 같은 20℃에서 35℃까지의 임의의 온도도 마찬가지로, FcγR 결합 도메인과 FcγR의 결합 활성(결합 친화성)을 결정하기 위해서 사용된다. 25℃라는 온도는 비한정적인 일례이다.

[0521] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체가 정상 영역(개변되어 있어도 된다)을 갖는 경우에는, 당해 정상 영역은 Fc 영역 또는 Fc 영역 개변체(바람직하게는, 인간 Fc 영역 또는 인간 Fc 영역 개변체)를 가져도 되고, 개시 A의 범위에 있어서 FcγR 결합 도메인, 및 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서 FcRn 결합 도메인을 갖는 것이 바람직하다.

[0522] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체가 FcγR에 대한 결합 활성을 갖는 경우에는, 이것은 FcγR 결합 도메인, 바람직하게는 인간 FcγR 결합 도메인을 가져도 된다. FcγR 결합 도메인은, 항체가 산성 pH 및/또는 중성 pH에 있어서 FcγR에 대해서 결합 활성 또는 친화성을 가지고 있는 한 특별히 한정되지 않고, 또는 직접 또는 간접적으로 FcγR에 대해서 결합하는 활성을 갖는 도메인이어도 된다.

[0523] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체가 FcγR에 대한 결합 활성을 갖는 경우, 당해 항체는, 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조 항체와 비교하여, 중성 pH의 조건하에서 FcγR에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 것이 바람직하다. 여기에서, 한정은 되지 않지만, 개시 A의 항체와 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조

항체란, 바람직하게는 1개 이상의 아미노산 잔기가 개변되어 있는 개시 A의 항체 중의 정상 영역을 제외한 그 외의 영역(예를 들어 가변 영역)에 있어서 동일한 아미노산 서열을 갖는 것이, 양자의 FcγR에 대한 결합 활성을 비교하는 관점에서 바람직하다.

[0524] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체가 FcγR에 대한 결합 활성을 갖거나, 또는 중성 pH 조건하(예를 들어 pH 7.4)에서 FcγR에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 경우, 이론에 구속되는 것은 아니지만, 당해 항체는, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 가짐으로써, 혈장과 세포 중의 엔도솜을 왕래하여 1개의 항체 분자로 복수의 항원에 반복하여 결합되는 특성; 항체 전체적으로 pI가 상승하고 또한 양전하가 증가하는 것에 의해 세포 내에 신속히 흡수되는 특성; 및 중성 pH의 조건하에서 FcγR에 대한 결합 활성이 증대되는 것에 의해 세포 내에 신속히 흡수되는 특성을 겸비한다고 생각된다. 그 결과, 항체의 혈장 중 반감기를 더욱 단축할 수 있거나, 또는 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성을 더욱 증대할 수 있거나, 또는 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 더욱 촉진할 수 있으므로, 개시 A의 항체는 유리하다고 생각된다. 이들 특성을 살리기 위해서 최적인 항체 pI값을 당업자는 관용적으로 결정할 수 있다.

[0525] 일 실시태양에 있어서, EU 넘버링에 따른 297위에 결합한 당쇄가 푸코스 함유 당쇄인 천연형 인간 IgG의 Fc 영역 또는 정상 영역의 FcγR에 대한 결합 활성보다 FcγR에 대한 결합 활성이 높은 FcγR 결합 도메인은, 천연형 인간 IgG의 Fc 영역 또는 정상 영역의 아미노산 잔기를 개변하는 것에 의해 제작될 수 있다(WO2013/047752를 참조). 또한, FcγR 결합 도메인으로서는, FcγR에 결합하는 모든 구조의 도메인이 사용될 수 있다. 이 경우 FcγR 결합 도메인은, 아미노산 개변의 도입을 필요로 하지 않고 제작될 수 있고, 혹은 추가의 개변을 도입함으로써 FcγR에 대한 친화성을 높여도 된다. 그와 같은 FcγR 결합 도메인으로서는, Schlapschly et al.(Protein Eng. Des. Sel. 22(3):175-188(2009)), Behar et al.(Protein Eng. Des. Sel. 21(1):1-10(2008)) 및 Kipriyanov et al.(J. Immunol. 169(1):137-144(2002))에 기재된 FcγRIIIa에 결합하는 Fab 단편 항체, 낙타 유래 단일 도메인 항체 및 단쇄 Fv 항체, 및 Bonetto et al., FASEB J. 23(2):575-585(2009)에 기재된 FcγRI 결합 환상 펩타이드 등을 들 수 있다. FcγR 결합 도메인의 FcγR에 대한 결합 활성이, EU 넘버링에 따른 297위에 결합한 당쇄가 푸코스 함유 당쇄인 천연형 인간 IgG의 Fc 영역 또는 정상 영역의 FcγR에 대한 결합 활성보다 높은지 여부는, 전술한 방법을 이용하여 적절히 평가될 수 있다.

[0526] 개시 A의 일 실시태양에 있어서, 출발 FcγR 결합 도메인의 예로서는, (인간) IgG의 Fc 영역 또는 (인간) IgG의 정상 영역을 적합하게 들 수 있다. 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 개변체가 pH 중성역에 있어서 인간 FcγR에 결합할 수 있는 한, 어느 Fc 영역 또는 정상 영역도, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역으로서 사용될 수 있다. 또한, Fc 영역 또는 정상 영역에 이미 아미노산 잔기의 개변이 가해지고 있는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역에 추가적인 개변을 가하여 얻어진 Fc 영역 또는 정상 영역도, 개시 A에 있어서의 Fc 영역 또는 정상 영역으로서 적합하게 사용될 수 있다. 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역이란, 폴리펩티드 그 자체, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역을 포함하는 조성물, 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역을 코딩하는 아미노산 서열을 의미할 수 있다. 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역에는, 재조합 기술에 의해 제작된 공지의 Fc 영역 또는 공지의 정상 영역이 포함될 수 있다. 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 기원은, 한정되지 않지만, 비인간 동물인 임의의 생물, 또는 인간으로부터 취득될 수 있다. 또한, 출발 FcγR 결합 도메인은, 필리핀 원숭이, 마모셋, 히말라야 원숭이, 침팬지, 또는 인간으로부터 취득될 수 있다. 바람직하게는, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역은, 인간 IgG1로부터 취득되어도 되지만, IgG의 특정의 클래스로 한정되는 것도 아니다. 이것은, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4의 Fc 영역을 출발 FcγR 결합 도메인으로서 적절히 이용할 수 있다는 것을 의미한다. 마찬가지로, 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 임의의 생물로부터의 IgG의 클래스 또는 서브클래스 등의 Fc 영역 또는 정상 영역을, 바람직하게는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역으로서 이용할 수 있다는 것을 의미한다. 천연형 IgG 개변체 또는 개변형의 예는, 공지의 문헌(예를 들어 Strohl, Curr. Opin. Biotechnol. 20 (6): 685-691(2009), Presta, Curr. Opin. Immunol. 20 (4): 460-470(2008), Davis et al., Protein Eng. Des. Sel. 23 (4): 195-202(2010), WO2009/086320, WO2008/092117, WO2007/041635, 및 WO2006/105338)에 기재되어 있지만 그들로 한정되지 않는다.

[0527] 일 실시태양에 있어서, 출발 FcγR 결합 도메인, 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 잔기의 예로서는, 1개 이상의 변이, 예를 들어, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 잔기와는 상이한 아미노산 잔기의 치환; 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 잔기에 대해서 1개 이상의 아미노산 잔기의 삽입; 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 잔기로부터의 하나 이상의 아미노산 잔기의 결실 등이 포함되어도 된다. 바람직하게는, 개변 후의 Fc 영역 또는 정상 영역의 아미노산 서열은, 천연에서 생길 수 없는 Fc 영역 또는 정상 영역의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열일 수 있다. 그와 같은 개변체는 필연적으로

출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역에 대해서 100% 미만의 서열 동일성 또는 유사성을 갖는다. 예를 들어, 당해 개변체는, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 서열에 대해서 약 75% 내지 100% 미만, 보다 바람직하게는 약 80% 내지 100% 미만, 보다 더 바람직하게는 약 85% 내지 100% 미만, 보다 더 바람직하게는 약 90% 내지 100% 미만, 가장 바람직하게는 약 95% 내지 100% 미만의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성을 갖는다. 비한정적인 예에 있어서, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역과 개시 A가 개변된 Fc 영역 또는 정상 영역 사이에서, 적어도 1 아미노산이 상이하다.

[0528] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체에 포함되어도 되는, pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서의 FcγR에 대한 결합 활성을 갖는 Fc 영역 또는 정상 영역은, 어떠한 방법에 의해서도 취득될 수 있다. 구체적으로는, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역으로서 이용될 수 있는 인간 IgG 항체의 아미노산의 개변에 의해, pH 중성역에 있어서의 FcγR에 대한 결합 활성을 갖는 Fc 영역 또는 정상 영역의 개변체가 취득될 수 있다. 개변에 적절한 IgG 항체의 Fc 영역 또는 IgG형 항체의 정상 영역으로서는, 예를 들어 인간 IgG(IgG1, IgG2, IgG3 또는 IgG4, 또는 그들의 개변체)의 Fc 영역 또는 정상 영역 및 거기로부터 자연스럽게 생기는 변이체를 들 수 있다. 인간 IgG1, 인간 IgG2, 인간 IgG3, 또는 인간 IgG4 항체의 Fc 영역 또는 정상 영역에 관해서, 유전자다형에 의한 몇 가지 알로타입 서열이 "Sequences of proteins of immunological interest", NIH Publication No. 91-3242에 기재되어 있지만, 개시 A에 있어서는 그의 어느 것을 사용해도 된다. 특히 인간 IgG1의 서열에 관해서, EU 넘버링에 따른 356 내지 358위의 아미노산 서열이 DEL이어도 EEM이어도 된다.

[0529] 개시 A의 범위에 있어서의 추가적인 실시태양에 있어서, 다른 아미노산으로의 개변은, 개변체가 pH 중성역에 있어서의 FcγR에 대한 결합 활성을 갖는 한, 한정되지 않는다. 그와 같은 아미노산 개변 위치는, 예를 들어, WO2007/024249, WO2007/021841, WO2006/031370, WO2000/042072, WO2004/029207, WO2004/099249, WO2006/105338, WO2007/041635, WO2008/092117, WO2005/070963, WO2006/020114, WO2006/116260, WO2006/023403, WO2013/047752, WO2006/019447, WO2012/115241, WO2013/125667, WO2014/030728, WO2014/163101, WO2013/118858, 및 WO2014/030750에 있어서 보고되어 있다.

[0530] pH 중성역에 있어서의 FcγR에 대한 결합 활성을 증대하기 위한, 정상 영역 또는 Fc 영역에 있어서의 아미노산 개변 부위로서는, 예를 들어, WO2013/047752에 기재되는, 인간 IgG 항체의 Fc 영역 또는 정상 영역의, EU 넘버링에 따른, 221위, 222위, 223위, 224위, 225위, 227위, 228위, 230위, 231위, 232위, 233위, 234위, 235위, 236위, 237위, 238위, 239위, 240위, 241위, 243위, 244위, 245위, 246위, 247위, 249위, 250위, 251위, 254위, 255위, 256위, 258위, 260위, 262위, 263위, 264위, 265위, 266위, 267위, 268위, 269위, 270위, 271위, 272위, 273위, 274위, 275위, 276위, 278위, 279위, 280위, 281위, 282위, 283위, 284위, 285위, 286위, 288위, 290위, 291위, 292위, 293위, 294위, 295위, 296위, 297위, 298위, 299위, 300위, 301위, 302위, 303위, 304위, 305위, 311위, 313위, 315위, 317위, 318위, 320위, 322위, 323위, 324위, 325위, 326위, 327위, 328위, 329위, 330위, 331위, 332위, 333위, 334위, 335위, 336위, 337위, 339위, 376위, 377위, 378위, 379위, 380위, 382위, 385위, 392위, 396위, 421위, 427위, 428위, 429위, 434위, 436위 및 440위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 위치를 들 수 있다. 그와 같은 아미노산 잔기의 개변에 의해, IgG 항체의 Fc 영역 또는 정상 영역의 중성 pH의 조건하에서의 FcγR에 대한 결합이 증대될 수 있다. WO2013/047752에는, IgG 타입의 정상 영역 또는 Fc 영역에 있어서의 바람직한 개변으로서 예를 들어, EU 넘버링에 따른, 221위의 아미노산을 Lys 또는 Tyr 중 어느 하나로; 222위의 아미노산을 Phe, Trp, Glu, 및 Tyr 중 어느 하나로; 223위의 아미노산을 Phe, Trp, Glu, 및 Lys 중 어느 하나로; 224위의 아미노산을 Phe, Trp, Glu, 및 Tyr 중 어느 하나로; 225위의 아미노산을 Glu, Lys, 및 Trp 중 어느 하나로; 227위의 아미노산을 Glu, Gly, Lys, 및 Tyr 중 어느 하나로; 228위의 아미노산을 Glu, Gly, Lys, 및 Tyr 중 어느 하나로; 230위의 아미노산을 Ala, Glu, Gly, 및 Tyr 중 어느 하나로; 231위의 아미노산을 Glu, Gly, Lys, Pro, 및 Tyr 중 어느 하나로; 232위의 아미노산을 Glu, Gly, Lys, 및 Tyr 중 어느 하나로; 233위의 아미노산을 Ala, Asp, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 234위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 235위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 236위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 237위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 238위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 239위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 240위의 아미노산을 Ala, Ile, Met, 및 Thr 중 어느 하나로; 241위의 아미노산을 Asp, Glu, Leu, Arg,

Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 243위의 아미노산을 Glu, Leu, Gln, Arg, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 244위의 아미노산을 His로; 245위의 아미노산을 Ala로; 246위의 아미노산을 Asp, Glu, His, 및 Tyr 중 어느 하나로; 247위의 아미노산을 Ala, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Met, Thr, Val, 및 Tyr 중 어느 하나로; 249위의 아미노산을 Glu, His, Gln, 및 Tyr 중 어느 하나로; 250위의 아미노산을 Glu 또는 Gln 중 어느 하나로; 251위의 아미노산을 Phe로; 254위의 아미노산을 Phe, Met, 및 Tyr 중 어느 하나로; 255위의 아미노산을 Glu, Leu, 및 Tyr 중 어느 하나로; 256위의 아미노산을 Ala, Met, 및 Pro 중 어느 하나로; 258위의 아미노산을 Asp, Glu, His, Ser, 및 Tyr 중 어느 하나로; 260위의 아미노산을 Asp, Glu, His, 및 Tyr 중 어느 하나로; 262위의 아미노산을 Ala, Glu, Phe, Ile, 및 Thr 중 어느 하나로; 263위의 아미노산을 Ala, Ile, Met, 및 Thr 중 어느 하나로; 264위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 265위의 아미노산을 Ala, Leu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 266위의 아미노산을 Ala, Ile, Met, 및 Thr 중 어느 하나로; 267위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 268위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, Ile, Lys, Leu, Met, Pro, Gln, Arg, Thr, Val, 및 Trp 중 어느 하나로; 269위의 아미노산을 Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 270위의 아미노산을 Glu, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 271위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 272위의 아미노산을 Asp, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 273위의 아미노산을 Phe 또는 Ile 중 어느 하나로; 274위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 275위의 아미노산을 Leu 또는 Trp 중 어느 하나로; 276위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Met, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 278위의 아미노산을 Asp, Glu, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, 및 Trp 중 어느 하나로; 279위의 아미노산을 Ala로; 280위의 아미노산을 Ala, Gly, His, Lys, Leu, Pro, Gln, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 281위의 아미노산을 Asp, Lys, Pro, 및 Tyr 중 어느 하나로; 282위의 아미노산을 Glu, Gly, Lys, Pro, 및 Tyr 중 어느 하나로; 283위의 아미노산을 Ala, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Pro, Arg, 및 Tyr 중 어느 하나로; 284위의 아미노산을 Asp, Glu, Leu, Asn, Thr, 및 Tyr 중 어느 하나로; 285위의 아미노산을 Asp, Glu, Lys, Gln, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 286위의 아미노산을 Glu, Gly, Pro, 및 Tyr 중 어느 하나로; 288위의 아미노산을 Asn, Asp, Glu, 및 Tyr 중 어느 하나로; 290위의 아미노산을 Asp, Gly, His, Leu, Asn, Ser, Thr, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 291위의 아미노산을 Asp, Glu, Gly, His, Ile, Gln, 및 Thr 중 어느 하나로; 292위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Pro, Thr, 및 Tyr 중 어느 하나로; 293위의 아미노산을 Phe, Gly, His, Ile, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 294위의 아미노산을 Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 295위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 296위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, 및 Val 중 어느 하나로; 297위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 298위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, His, Ile, Lys, Met, Asn, Gln, Arg, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 299위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 300위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, 및 Trp 중 어느 하나로; 301위의 아미노산을 Asp, Glu, His, 및 Tyr 중 어느 하나로; 302위의 아미노산을 Ile로; 303위의 아미노산을 Asp, Gly, 및 Tyr 중 어느 하나로; 304위의 아미노산을 Asp, His, Leu, Asn, 및 Thr 중 어느 하나로; 305위의 아미노산을 Glu, Ile, Thr, 및 Tyr 중 어느 하나로; 311위의 아미노산을 Ala, Asp, Asn, Thr, Val, 및 Tyr 중 어느 하나로; 313위의 아미노산을 Phe로; 315위의 아미노산을 Leu로; 317위의 아미노산을 Glu 또는 Gln 중 어느 하나로; 318위의 아미노산을 His, Leu, Asn, Pro, Gln, Arg, Thr, Val, 및 Tyr 중 어느 하나로; 320위의 아미노산을 Asp, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Asn, Pro, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 322위의 아미노산을 Ala, Asp, Phe, Gly, His, Ile, Pro, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 323위의 아미노산을 Ile로; 324위의 아미노산을 Asp, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Met, Pro, Arg, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 325위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 326위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Gly, Ile, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 327위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 328위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Met,

Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 329위의 아미노산을 Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 330위의 아미노산을 Cys, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 331위의 아미노산을 Asp, Phe, His, Ile, Leu, Met, Gln, Arg, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 332위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 333위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Met, Pro, Ser, Thr, Val, 및 Tyr 중 어느 하나로; 334위의 아미노산을 Ala, Glu, Phe, Ile, Leu, Pro, 및 Thr 중 어느 하나로; 335위의 아미노산을 Asp, Phe, Gly, His, Ile, Leu, Met, Asn, Pro, Arg, Ser, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; 336위의 아미노산을 Glu, Lys, 및 Tyr 중 어느 하나로; 337위의 아미노산을 Glu, His, 및 Asn 중 어느 하나로; 339위의 아미노산을 Asp, Phe, Gly, Ile, Lys, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, 및 Thr 중 어느 하나로; 376위의 아미노산을 Ala 또는 Val 중 어느 하나로; 377위의 아미노산을 Gly 또는 Lys 중 어느 하나로; 378위의 아미노산을 Asp로; 379위의 아미노산을 Asn으로; 380위의 아미노산을 Ala, Asn, 및 Ser 중 어느 하나로; 382위의 아미노산을 Ala 또는 Ile 중 어느 하나로; 385위의 아미노산을 Glu로; 392위의 아미노산을 Thr로; 396위의 아미노산을 Leu로; 421위의 아미노산을 Lys로; 427위의 아미노산을 Asn으로; 428위의 아미노산을 Phe 또는 Leu 중 어느 하나로; 429위의 아미노산을 Met로; 434위의 아미노산을 Trp로; 436위의 아미노산을 Ile로; 및 440위의 아미노산을 Gly, His, Ile, Leu, 및 Tyr 중 어느 하나로, 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 아미노산 잔기의 개변을 들 수 있다. 또한, 개변되는 아미노산의 수는 특별히 한정되지 않고, 1개소만의 아미노산이 개변될 수 있고, 2개소 이상의 아미노산이 개변될 수 있다. 2개소 이상의 아미노산의 개변의 조합으로서는, WO2013/047752의 표 5에 기재되어 있다. 개시 A의 항체에 있어서도, 적절히, 이들 아미노산 잔기의 개변을 도입해도 된다.

[0531] 일 실시태양에 있어서, (인간) FcγR, 예를 들어 FcγRI, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa 및 FcγRIIIb 중 어느 하나 이상에 대한 개시 A의 항체(의 FcγR 결합 도메인)의 결합 활성은, 천연형 IgG(의 Fc 영역 또는 정상 영역), 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역을 포함하는 참조 항체의 FcγR에 대한 결합 활성보다 높은 경우도 있다. 예를 들어, 개시 A의 항체(에 있어서의 FcγR 결합 도메인)의 FcγR에 대한 결합 활성은, 당해 참조 항체의 FcγR에 대한 결합 활성과 비교하여, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 100% 이상, 105% 이상, 바람직하게는 110% 이상, 115% 이상, 120% 이상, 125% 이상, 특히 바람직하게는 130% 이상, 135% 이상, 140% 이상, 145% 이상, 150% 이상, 155% 이상, 160% 이상, 165% 이상, 170% 이상, 175% 이상, 180% 이상, 185% 이상, 190% 이상, 또는 195% 이상일 수 있고, 또는 당해 참조 항체의 FcγR에 대한 결합 활성과 비교하여, 2배 이상, 2.5배 이상, 3배 이상, 3.5배 이상, 4배 이상, 4.5배 이상, 5배 이상, 7.5배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 또는 100배 이상일 수 있다.

[0532] 추가적인 일 실시태양에 있어서, (pH 중성역에 있어서의) 억제형 FcγR(FcγRIIb-1 및/또는 FcγRIIb-2)에 대한 결합 활성의 증대의 정도가, 활성형 FcγR(FcγRIa; FcγRIb; FcγRIc; 알로타입 V158을 포함하는 FcγRIIIa; 알로타입 F158을 포함하는 FcγRIIIa; 알로타입 FcγRIIIb-NA1을 포함하는 FcγRIIIb; 알로타입 FcγRIIIb-NA2를 포함하는 FcγRIIIb; 알로타입 H131을 포함하는 FcγRIIa; 또는 알로타입 R131을 포함하는 FcγRIIa)에 대한 결합 활성의 증대의 정도보다 높아도 된다.

[0533] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체는, FcγRIIb(FcγRIIb-1 및 FcγRIIb-2를 포함한다)에 대해서 결합 활성을 가질 수 있다.

[0534] 일 실시태양에 있어서, 개시 A에 있어서의 적합한 FcγR 결합 도메인의 예로서, 특정의 FcγR에 대한 결합 활성이 그 외의 FcγR에 대한 결합 활성보다 높은 FcγR 결합 도메인(선택적인 FcγR 결합 활성을 갖는 FcγR 결합 도메인)도 들 수 있다. 항체가(또는 FcγR 결합 도메인으로서 Fc 영역이) 이용되는 경우에는, 1개의 항체 분자는 1개의 FcγR 분자에만 결합할 수 있다. 그 때문에, 억제형 FcγR에 결합한 상태의 하나의 항체 분자는 다른 활성형 FcγR에 결합할 수 없고, 활성형 FcγR에 결합한 상태의 하나의 항체 분자는 다른 활성형 FcγR나 억제형 FcγR에 결합할 수 없다.

[0535] 상기한 바와 같이, 활성형 FcγR의 예로서는, FcγRI(CD64), 예를 들어 FcγRIa, FcγRIb, 또는 FcγRIc; 및 FcγRIII(CD16), 예를 들어 FcγRIIIa(예를 들어 알로타입 V158 또는 F158), 또는 FcγRIIIb(예를 들어 알로타입 FcγRIIIb-NA1 또는 FcγRIIIb-NA2)를 적합하게 들 수 있다. 한편, FcγRIIb(예를 들어 FcγRIIb-1 또는 FcγRIIb-2)를 억제형 FcγR의 적합한 예로서 들 수 있다.

[0536] 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체에 포함되는 선택적 FcγR 결합 도메인으로서, 활성형 FcγR보다 억제형 FcγR에 대한 결합 활성이 높은 FcγR 결합 도메인이 사용될 수 있다. 예를 들어, 당해 선택적 FcγR 결합 도메인으로서 FcγRIa, FcγRIb 또는 FcγRIc 등의 FcγRI(CD64); FcγRIIIa(예를 들어 알로타입 V158 또는 F158), 혹은 FcγRIIIb(예를 들어 FcγRIIIb-NA1 또는 FcγRIIIb-NA2) 등의 FcγRIII(CD16); 및 (알로타입 H131 또는 R131을 포함하는) FcγRIIa; 및 FcγRIIc 등의 FcγRII(CD32)로 이루어지는 군으로부터 선택되는 활성형 FcγR 중 어느 하나 이상보다 (FcγRIIb-1 및/또는 FcγRIIb-2 등의) FcγRIIb에 대한 결합 활성이 높은, FcγR 결합 도메인을 들 수 있다.

[0537] 더욱이, FcγR 결합 도메인이 선택적인 결합 활성을 갖는지 여부는, 전술한 방법에 따라 결정되는 각 FcγR에 대한 결합 활성을 비교하는 것에 의해, 예를 들어, 활성형 FcγR에 대한 KD값을 억제형 FcγR에 대한 KD값로 나눈 값(비)을 비교하는 것에 의해, 즉 하기 식 1로 표시되는 FcγR 선택성 지수를 비교하는 것에 의해 판단하는 것이 가능하다.

[0538] [식 1] FcγR 선택성 지수=활성형 FcγR에 대한 KD값/억제형 FcγR에 대한 KD값

[0539] 식 1에 있어서, 활성형 FcγR에 대한 KD값이란, FcγRIa; FcγRIb; FcγRIc; 알로타입 V158 및/또는 F158을 포함하는 FcγRIIIa; FcγRIIIb-NA1 및/또는 FcγRIIIb-NA2를 포함하는 FcγRIIIb; 알로타입 H131 및/또는 R131을 포함하는 FcγRIIa; 및 FcγRIIc 중 1개 이상에 대한 KD값을 말하고, 억제형 FcγR에 대한 KD값이란 FcγRIIb-1 및/또는 FcγRIIb-2에 대한 KD값을 말한다. KD값의 측정에 이용되는 활성형 FcγR 및 억제형 FcγR은 어느 조합으로부터 선택되어도 된다. 예를 들어, 알로타입 H131을 포함하는 FcγRIIa에 대한 KD값을 FcγRIIb-1 및/또는 FcγRIIb-2에 대한 KD값로 나눈 값(비)이 사용될 수 있지만 이들로 한정되지 않는다.

[0540] FcγR 선택성 지수는, 예를 들어, 1.2 이상, 1.3 이상, 1.4 이상, 1.5 이상, 1.6 이상, 1.7 이상, 1.8 이상, 1.9 이상, 2 이상, 3 이상, 5 이상, 6 이상, 7 이상, 8 이상, 9 이상, 10 이상, 15 이상, 20 이상, 25 이상, 30 이상, 35 이상, 40 이상, 45 이상, 50 이상, 55 이상, 60 이상, 65 이상, 70 이상, 75 이상, 80 이상, 85 이상, 90 이상, 95 이상, 100 이상, 110 이상, 120 이상, 130 이상, 140 이상, 150 이상, 160 이상, 170 이상, 180 이상, 190 이상, 200 이상, 210 이상, 220 이상, 230 이상, 240 이상, 250 이상, 260 이상, 270 이상, 280 이상, 290 이상, 300 이상, 310 이상, 320 이상, 330 이상, 340 이상, 350 이상, 360 이상, 370 이상, 380 이상, 390 이상, 400 이상, 410 이상, 420 이상, 430 이상, 440 이상, 450 이상, 460 이상, 470 이상, 480 이상, 490 이상, 500 이상, 520 이상, 540 이상, 560 이상, 580 이상, 600 이상, 620 이상, 640 이상, 660 이상, 680 이상, 700 이상, 720 이상, 740 이상, 760 이상, 780 이상, 800 이상, 820 이상, 840 이상, 860 이상, 880 이상, 900 이상, 920 이상, 940 이상, 960 이상, 980 이상, 1000 이상, 1500 이상, 2000 이상, 2500 이상, 3000 이상, 3500 이상, 4000 이상, 4500 이상, 5000 이상, 5500 이상, 6000 이상, 6500 이상, 7000 이상, 7500 이상, 8000 이상, 8500 이상, 9000 이상, 9500 이상, 10000 이상, 또는 100000 이상일 수 있지만 이들로 한정되지 않는다.

[0541] 일 실시태양에 있어서, 인간 IgG(IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4)의 EU 넘버링에 따른 238위 또는 328위의 아미노산이 각각 Asp 또는 Glu인 Fc 영역 개변체 또는 정상 영역 개변체(를 포함하는 항체)는, 특히 WO2013/125667, WO2012/115241, 및 WO2013/047752에서 설명되는 바와 같이, FcγRIa, FcγRIb, FcγRIc, 알로타입 V158을 포함하는 FcγRIIIa, 알로타입 F158을 포함하는 FcγRIIIa, 알로타입 FcγRIIIb-NA1을 포함하는 FcγRIIIb, 알로타입 FcγRIIIb-NA2를 포함하는 FcγRIIIb, 알로타입 H131을 포함하는 FcγRIIa, 알로타입 R131을 포함하는 FcγRIIa, 및/또는 FcγRIIc보다, FcγRIIb-1 및/또는 FcγRIIb-2에 대한 결합 활성이 높기 때문에, Fc 영역 개변체 또는 정상 영역 개변체를 포함하는 개시 A의 항체로서 적합하게 이용될 수 있다. 이러한 실시태양에 있어서의 개시 A의 항체는, (당 명세서 중에서는 FcγRIa, FcγRIb, FcγRIc, FcγRIIIa, FcγRIIIb, FcγRIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는) 모든 활성형 FcγR 및 FcγRIIb에 대한 결합 활성을 갖고, 또한 천연형 IgG의 정상 영역 또는 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체와 비교하여, 상기 FcγRIIb에 대한 그 결합 활성이 유지 또는 증대되고, 및/또는 모든 활성형 FcγR에 대한 결합 활성이 감소되어 있다.

[0542] Fc 영역 개변체 또는 정상 영역 개변체를 포함하는 개시 A의 항체의 일 실시태양에 있어서, 천연형 IgG의 정상 영역 또는 Fc 영역을 갖는 참조 항체의 활성과 비교하여, 그들의 FcγRIIb에 대한 결합 활성은 유지 또는 증대되어도 되고, 그들의 FcγRIIa(H형) 및 FcγRIIa(R형)에 대한 결합 활성은 감소해도 된다. 그와 같은 항체는, FcγRIIa보다 FcγRIIb에 대해서 증대된 선택성을 가질 수 있다.

[0543] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 상기 "모든 활성형 FcγR에 대한 결합 활성이 감소되어 있는" 정도는, 한정은 되지 않지만, 99% 이하, 98% 이하, 97% 이하, 96% 이하, 95% 이하, 94% 이하, 93% 이하,

92% 이하, 91% 이하, 90% 이하, 88% 이하, 86% 이하, 84% 이하, 82% 이하, 80% 이하, 78% 이하, 76% 이하, 74% 이하, 72% 이하, 70% 이하, 68% 이하, 66% 이하, 64% 이하, 62% 이하, 60% 이하, 58% 이하, 56% 이하, 54% 이하, 52% 이하, 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2% 이하, 1% 이하, 0.5% 이하, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.2% 이하, 0.1% 이하, 0.05% 이하, 0.01% 이하, 또는 0.005% 이하일 수 있다.

[0544] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 상기 "FcγRIIb에 대한 결합 활성이 유지 또는 증대되어 있는" 정도, 또는 "FcγRIIb에 대한 유지 또는 증대된 결합 활성"이란, 한정은 되지 않지만, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상, 100% 이상, 101% 이상, 102% 이상, 103% 이상, 104% 이상, 105% 이상, 106% 이상, 107% 이상, 108% 이상, 109% 이상, 110% 이상, 112% 이상, 114% 이상, 116% 이상, 118% 이상, 120% 이상, 122% 이상, 124% 이상, 126% 이상, 128% 이상, 130% 이상, 132% 이상, 134% 이상, 136% 이상, 138% 이상, 140% 이상, 142% 이상, 144% 이상, 146% 이상, 148% 이상, 150% 이상, 155% 이상, 160% 이상, 165% 이상, 170% 이상, 175% 이상, 180% 이상, 185% 이상, 190% 이상, 195% 이상, 2배 이상, 3배 이상, 4배 이상, 5배 이상, 6배 이상, 7배 이상, 8배 이상, 9배 이상, 10배 이상, 20배 이상, 30배 이상, 40배 이상, 50배 이상, 60배 이상, 70배 이상, 80배 이상, 90배 이상, 100배 이상, 200배 이상, 300배 이상, 400배 이상, 500배 이상, 600배 이상, 700배 이상, 800배 이상, 900배 이상, 1000배 이상, 10000배 이상, 또는 100000배 이상일 수 있다.

[0545] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 상기 "FcγRIIa(H형) 및 FcγRIIa(R형)에 대한 결합 활성이 감소되어 있는" 정도, 또는 "FcγRIIa(H형) 및 FcγRIIa(R형)에 대한 감소된 결합 활성"이란, 한정은 되지 않지만, 99% 이하, 98% 이하, 97% 이하, 96% 이하, 95% 이하, 94% 이하, 93% 이하, 92% 이하, 91% 이하, 90% 이하, 88% 이하, 86% 이하, 84% 이하, 82% 이하, 80% 이하, 78% 이하, 76% 이하, 74% 이하, 72% 이하, 70% 이하, 68% 이하, 66% 이하, 64% 이하, 62% 이하, 60% 이하, 58% 이하, 56% 이하, 54% 이하, 52% 이하, 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2% 이하, 1% 이하, 0.5% 이하, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.2% 이하, 0.1% 이하, 0.05% 이하, 0.01% 이하, 또는 0.005% 이하일 수 있다.

[0546] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, FcγRIIa(R형)보다 FcγRIIb에 대한 결합 선택성을 증대시키는 개변이 바람직할 가능성이 있고, FcγRIIa(H형)보다 FcγRIIb에 대한 결합 선택성을 증대시키는 개변이 보다 바람직할 가능성이 있으며, 그와 같은 개변을 위한 바람직한 아미노산 치환은, WO2013/047752에서 보고되는 대로, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 (a) 237위의 Gly를 Trp로 치환하는 개변; (b) 237위의 Gly를 Phe로 치환하는 개변; (c) 238위의 Pro를 Phe로 치환하는 개변; (d) 325위의 Asn를 Met로 치환하는 개변; (e) 267위의 Ser를 Ile로 치환하는 개변; (f) 328위의 Leu를 Asp로 치환하는 개변; (g) 267위의 Ser를 Val로 치환하는 개변; (h) 328위의 Leu를 Trp로 치환하는 개변; (i) 267위의 Ser를 Gln으로 치환하는 개변; (j) 267위의 Ser를 Met로 치환하는 개변; (k) 236위의 Gly를 Asp로 치환하는 개변; (l) 327위의 Ala를 Asn으로 치환하는 개변; (m) 325위의 Asn를 Ser로 치환하는 개변; (n) 235위의 Leu를 Tyr로 치환하는 개변; (o) 266위의 Val를 Met로 치환하는 개변; (p) 328위의 Leu를 Tyr로 치환하는 개변; (q) 235위의 Leu를 Trp로 치환하는 개변; (r) 235위의 Leu를 Phe로 치환하는 개변; (s) 239위의 Ser를 Gly로 치환하는 개변; (t) 327위의 Ala를 Glu로 치환하는 개변; (u) 327위의 Ala를 Gly로 치환하는 개변; (v) 238위의 Pro를 Leu로 치환하는 개변; (w) 239위의 Ser를 Leu로 치환하는 개변; (x) 328위의 Leu를 Thr로 치환하는 개변; (y) 328위의 Leu를 Ser로 치환하는 개변; (z) 328위의 Leu를 Met로 치환하는 개변; (aa) 331위의 Pro를 Trp로 치환하는 개변; (ab) 331위의 Pro를 Tyr로 치환하는 개변; (ac) 331위의 Pro를 Phe로 치환하는 개변; (ad) 327위의 Ala를 Asp로 치환하는 개변; (ae) 328위의 Leu를 Phe로 치환하는 개변; (af) 271위의 Pro를 Leu로 치환하는 개변; (ag) 267위의 Ser를 Glu로 치환하는 개변; (ah) 328위의 Leu를 Ala로 치환하는 개변; (ai) 328위의 Leu를 Ile로 치환하는 개변; (aj) 328위의 Leu를 Gln으로 치환하는 개변; (ak) 328위의 Leu를 Val로 치환하는 개변; (al) 326위의 Lys를 Trp로 치환하는 개변; (am) 334위의 Lys를 Arg로 치환하는 개변; (an) 268위의 His를 Gly로 치환하는 개변; (ao) 268위의 His를 Asn으로 치환하는 개변; (ap) 324위의 Ser를 Val로 치환하는 개변; (aq) 266위의 Val를 Leu로 치환하는 개변; (ar) 271위의 Pro를 Gly로 치환하는 개변; (as) 332위의 Ile를 Phe로 치환하는 개변; (at) 324위의 Ser를 Ile로 치환하는 개변; (au) 333위의 Glu를 Pro로 치환하는 개변; (av) 300위의 Tyr를 Asp로 치환하는 개변; (aw) 337위의 Ser를 Asp로 치환하는 개변; (ax) 300위의 Tyr를 Gln으로 치환하는 개변; (ay) 335위의 Thr를 Asp로 치환하는 개변; (az) 239위의 Ser를 Asn으로 치환하는 개변; (ba) 326위의 Lys를 Leu로 치환하는 개변; (bb) 326위의 Lys를 Ile로 치환하는 개변; (bc) 239위의 Ser를 Glu로 치환하는 개변; (bd) 326위의 Lys를 Phe로 치

환하는 개변; (be) 326위의 Lys를 Val로 치환하는 개변; (bf) 326위의 Lys를 Tyr로 치환하는 개변; (bg) 267위의 Ser를 Asp로 치환하는 개변; (bh) 326위의 Lys를 Pro로 치환하는 개변; (bi) 326위의 Lys를 His로 치환하는 개변; (bj) 334위의 Lys를 Ala로 치환하는 개변; (bk) 334위의 Lys를 Trp로 치환하는 개변; (bl) 268위의 His를 Gln으로 치환하는 개변; (bm) 326위의 Lys를 Gln으로 치환하는 개변; (bn) 326위의 Lys를 Glu로 치환하는 개변; (bo) 326위의 Lys를 Met로 치환하는 개변; (bp) 266위의 Val를 Ile로 치환하는 개변; (bq) 334위의 Lys를 Glu로 치환하는 개변; (br) 300위의 Tyr를 Glu로 치환하는 개변; (bs) 334위의 Lys를 Met로 치환하는 개변; (bt) 334위의 Lys를 Val로 치환하는 개변; (bu) 334위의 Lys를 Thr로 치환하는 개변; (bv) 334위의 Lys를 Ser로 치환하는 개변; (bw) 334위의 Lys를 His로 치환하는 개변; (bx) 334위의 Lys를 Phe로 치환하는 개변; (by) 334위의 Lys를 Gln으로 치환하는 개변; (bz) 334위의 Lys를 Pro로 치환하는 개변; (ca) 334위의 Lys를 Tyr로 치환하는 개변; (cb) 334위의 Lys를 Ile로 치환하는 개변; (cc) 295위의 Gln를 Leu로 치환하는 개변; (cd) 334위의 Lys를 Leu로 치환하는 개변; (ce) 334위의 Lys를 Asn으로 치환하는 개변; (cf) 268위의 His를 Ala로 치환하는 개변; (cg) 239위의 Ser를 Asp로 치환하는 개변; (ch) 267위의 Ser를 Ala로 치환하는 개변; (ci) 234위의 Leu를 Trp로 치환하는 개변; (cj) 234위의 Leu를 Tyr로 치환하는 개변; (ck) 237위의 Gly를 Ala로 치환하는 개변; (cl) 237위의 Gly를 Asp로 치환하는 개변; (cm) 237위의 Gly를 Glu로 치환하는 개변; (cn) 237위의 Gly를 Leu로 치환하는 개변; (co) 237위의 Gly를 Met로 치환하는 개변; (cp) 237위의 Gly를 Tyr로 치환하는 개변; (cq) 330위의 Ala를 Lys로 치환하는 개변; (cr) 330위의 Ala를 Arg로 치환하는 개변; (cs) 233위의 Glu를 Asp로 치환하는 개변; (ct) 268위의 His를 Asp로 치환하는 개변; (cu) 268위의 His를 Glu로 치환하는 개변; (cv) 326위의 Lys를 Asp로 치환하는 개변; (cw) 326위의 Lys를 Ser로 치환하는 개변; (cx) 326위의 Lys를 Thr로 치환하는 개변; (cy) 323위의 Val를 Ile로 치환하는 개변; (cz) 323위의 Val를 Leu로 치환하는 개변; (da) 323위의 Val를 Met로 치환하는 개변; (db) 296위의 Tyr를 Asp로 치환하는 개변; (dc) 326위의 Lys를 Ala로 치환하는 개변; (dd) 326위의 Lys를 Asn으로 치환하는 개변; (de) 330위의 Ala를 Met로 치환하는 개변일 수 있다.

[0547] 상기의 개변은 1개소뿐이어도 되고, 2개소 이상의 조합이어도 된다. 혹은, 그와 같은 개변의 바람직한 예로서, WO2013/047752의 표 14~15, 표 17~24, 및 표 26~28에 기재된 것, 예를 들어, 인간 IgG(IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4)에 있어서 EU 넘버링에 따른 238위의 아미노산이 Asp, 및 EU 넘버링에 따른 271위의 아미노산이 Gly인 인간 정상 영역 또는 인간 Fc 영역의 개변체를 들 수 있고, 추가로 EU 넘버링에 따른, 233위, 234위, 237위, 264위, 265위, 266위, 267위, 268위, 269위, 272위, 296위, 326위, 327위, 330위, 331위, 332위, 333위, 및 396위의 하나 이상이 치환되어 있어도 된다. 이러한 경우, 개변체로서는, EU 넘버링에 따른, 233위의 Asp, 234위의 Tyr, 237위의 Asp, 264위의 Ile, 265위의 Glu, 266위의 Phe, Met, 및 Leu 중 어느 하나, 267위의 Ala, Glu, Gly, 및 Gln 중 어느 하나, 268위의 Asp 및 Glu 중 어느 하나, 269위의 Asp, 272위의 Asp, Phe, Ile, Met, Asn, 및 Gln 중 어느 하나, 296위의 Asp, 326위의 Ala 및 Asp 중 어느 하나, 327위의 Gly, 330위의 Lys 및 Arg 중 어느 하나, 331위의 Ser, 332위의 Thr, 333위의 Thr, Lys, 및 Arg 중 어느 하나, 및 396위의 Asp, Glu, Phe, Ile, Lys, Leu, Met, Gln, Arg, 및 Tyr 중 어느 하나, 중 하나 이상을 포함하는 인간 정상 영역 또는 인간 Fc 영역의 개변체를 들 수 있지만 이들로 한정되지 않는다.

[0548] 대체적인 실시태양에 있어서, Fc 영역 개변체 또는 정상 영역 개변체를 포함하는 개시 A의 항체는, 천연형 IgG의 정상 영역 또는 Fc 영역을 포함하는 참조 항체와 비교하여, FcγRIIb에 대한 결합 활성이 유지 또는 증대되고, 또한 FcγRIIa(H형) 및 FcγRIIa(R형)에 대한 결합 활성이 감소되어 있어도 된다. 이러한 개변체에 관해서 바람직한 아미노산 치환 부위는 WO2014/030728에서 보고되는 바와 같이, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 238위의 아미노산, 및, EU 넘버링에 따른 233위, 234위, 235위, 237위, 264위, 265위, 266위, 267위, 268위, 269위, 271위, 272위, 274위, 296위, 326위, 327위, 330위, 331위, 332위, 333위, 334위, 355위, 356위, 358위, 396위, 409위 및 419위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 적어도 1개의 아미노산 위치여도 된다.

[0549] 더 바람직하게는, 개변체는, EU 넘버링에 따른 238위의 Asp를 가질 수 있고, 또한 EU 넘버링에 따른 233위의 Asp, 234위의 Tyr, 235위의 Phe, 237위의 Asp, 264위의 Ile, 265위의 Glu, 266위의 Phe, Leu 또는 Met, 267위의 Ala, Glu, Gly 또는 Gln, 268위의 Asp, Gln 또는 Glu, 269위의 Asp, 271위의 Gly, 272위의 Asp, Phe, Ile, Met, Asn, Pro 또는 Gln, 274위의 Gln, 296위의 Asp 또는 Phe, 326위의 Ala 또는 Asp, 327위의 Gly, 330위의 Lys, Arg 또는 Ser, 331위의 Ser, 332위의 Lys, Arg, Ser 또는 Thr, 333위의 Lys, Arg, Ser 또는 Thr, 334위의 Arg, Ser 또는 Thr, 355위의 Ala 또는 Gln, 356위의 Glu, 358위의 Met, 396위의 Ala, Asp, Glu, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Gln, Arg, Ser, Thr, Val, Trp 또는 Tyr, 409위의 Arg, 및 419위의 Glu의 아미노산군으로부터 선택되는 적어도 1개의 아미노산을 가질 수 있다.

[0550] 대체적인 실시태양에 있어서, Fc 영역 개변체 또는 정상 영역 개변체를 포함하는 개시 A의 항체는, 천연형 IgG

의 정상 영역 또는 Fc 영역을 포함하는 참조 항체와 비교하여, FcγRIIb에 대한 결합 활성이 유지되고, 또한 모든 활성형 FcγR, 그 중에서 FcγRIIa(R형)에 대한 결합 활성이 감소될 수 있다. 이러한 개변체에 대해 바람직한 아미노산 치환 부위는 WO2014/163101에서 보고되는 바와 같이, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 238위의 아미노산에 더하여, EU 넘버링에 따른 235위, 237위, 241위, 268위, 295위, 296위, 298위, 323위, 324위 및 330위로부터 선택되는 적어도 1개의 아미노산 위치여도 된다. 더 바람직하게는, 개변체는, EU 넘버링에 따른 238위의 Asp, 및 235위의 Phe, 237위의 Gln 또는 Asp, 241위의 Met 또는 Leu, 268위의 Pro, 295위의 Met 또는 Val, 296위의 Glu, His, Asn 또는 Asp, 298위의 Ala 또는 Met, 323위의 Ile, 324위의 Asn 또는 His, 및 330위의 His 또는 Tyr의 아미노산군으로부터 선택되는 적어도 1개의 아미노산을 가져도 된다.

[0551] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 상기 "FcγRIIb에 대한 결합 활성이 유지되고" 있는 정도란, 한정은 되지 않지만, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 81% 이상, 82% 이상, 83% 이상, 84% 이상, 85% 이상, 86% 이상, 87% 이상, 88% 이상, 89% 이상, 90% 이상, 91% 이상, 92% 이상, 93% 이상, 94% 이상, 95% 이상, 96% 이상, 97% 이상, 98% 이상, 99% 이상, 99.5% 이상, 100% 이상, 101% 이상, 102% 이상, 103% 이상, 104% 이상, 105% 이상, 106% 이상, 107% 이상, 108% 이상, 109% 이상, 110% 이상, 120% 이상, 130% 이상, 140% 이상, 150% 이상, 175% 이상, 또는 2배 이상이다.

[0552] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서, 상기 "모든 활성형 FcγR, 그 중에서도 FcγRIIa(R형)에 대한 결합 활성이 감소되어 있는" 정도란, 한정은 되지 않지만, 74% 이하, 72% 이하, 70% 이하, 68% 이하, 66% 이하, 64% 이하, 62% 이하, 60% 이하, 58% 이하, 56% 이하, 54% 이하, 52% 이하, 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2% 이하, 1% 이하, 0.5% 이하, 0.4% 이하, 0.3% 이하, 0.2% 이하, 0.1% 이하, 0.05% 이하, 0.01% 이하, 또는 0.005% 이하이다.

[0553] 또한, WO2014/030750에는, 마우스에 있어서의 정상 영역 및 Fc 영역의 개변체도 보고되어 있다. 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체는, 당해 개변체를 포함해도 된다.

[0554] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 면역글로불린 슈퍼패밀리에 속하는 FcγR과 달리, "FcRn", 특히 인간 FcRn은 구조적으로는 주요 조직적합성 복합체(MHC) 클래스 I의 폴리펩티드와 구조적으로 유사하고, MHC 클래스 I분자에 대한 22%~29%의 서열 동일성을 나타낸다(Ghetie et al., Immunol. Today 18(12), 592-598(1997)). FcRn은, 가용성 β 또는 경쇄(β2 마이크로글로불린)와 복합체화된 막관통 α 또는 중쇄로 이루어지는 헤테로다이머로서 발현된다. MHC와 같이, FcRn의 α쇄는 3개의 세포외 도메인(α1, α2, 및 α3)을 포함하고, 짧은 세포질 도메인은 단백질을 세포 표면에 묶여 있게 한다. α1 및 α2 도메인이 항체 Fc 영역의 FcRn 결합 도메인과 상호작용한다(Raghavan et al.,(Immunity 1: 303-315(1994)).

[0555] FcRn은, 포유동물의 모성 태반 및 난황낭에서 발현되고, 모친으로부터 태아로의 IgG의 이동에 관여한다. 게다가, FcRn가 발현되고 있는 신생 설치류 소장에서는, FcRn은 섭취된 초유 또는 유즙으로부터의 모성 IgG의 솔가장자리 상피를 가로지른 이동에 관여한다. FcRn은 다양한 종의 다양한 다른 조직 및 내피세포계에 있어서 발현하고 있다. FcRn은 인간 성인 혈관 내피, 근육 혈관계, 및 간장 동양(洞様) 모세혈관에서도 발현된다. FcRn은, IgG에 결합하여, IgG를 혈청에 리사이클하는 것에 의해, IgG의 혈장 중 농도를 유지하는 역할을 하고 있다고 생각되고 있다. 전형적으로는, FcRn의 IgG 분자에 대한 결합은, 엄격하게 pH에 의존적이다. 최적 결합은 7.0 미만의 pH 산성역에 있어서 인정된다.

[0556] 일례로서 인간 FcRn의 폴리뉴클레오티드 서열 및 아미노산 서열은, 각각 NM_004107.4 및 NP_004098.1(시그널 서열을 포함)에 기재된 선구체에서 유래해도 된다(괄호안은 RefSeq 등록 번호를 나타낸다.).

[0557] 당해 선구체는, 인비보로 인간 β2-마이크로글로불린과의 복합체를 형성한다. 따라서, 여러가지 실험계에 있어서의 적절한 사용을 위해서, 인간 β2-마이크로글로불린과의 복합체를 형성 가능한 가용형 인간 FcRn를 공지의 재조합 발현 수법을 이용하여 제조해도 된다. 이러한 가용형 인간 FcRn를 이용하여, 항체 또는 Fc 영역 개변체를 FcRn에 대한 결합 활성에 관해서 평가해도 된다. 개시 A 또는 B에 있어서, FcRn은, FcRn 결합 도메인에 결합할 수 있는 형태인 것이면 특별히 한정되지 않지만, 인간 FcRn이 바람직한 FcRn이다.

[0558] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체 또는 Fc 영역 개변체가 FcRn에 대한 결합 활성을 갖는 경우에는, 그들은 "FcRn 결합 도메인", 바람직하게는 인간 FcRn 결합 도메인을 가져도 된다. FcRn 결합 도메인은, 항체가 산성 pH 및/또는 중성 pH에 있어서 FcRn에 대해서 결합 활성 또는 친화성을 갖고 있는 한 특별히 한정되지 않고, 또는 직접 또는 간접적으로 FcRn에 결합하는 활성을 갖는 도메인이어도 된다. 그와

같은 도메인으로서는, 직접적으로 FcRn에 결합하는 활성을 갖는 IgG형 면역글로불린의 Fc 영역, 알부민, 알부민 도메인 3, 항FcRn 항체, 항FcRn 펩타이드, 및 항FcRn 골격 분자, 및 간접적으로 FcRn에 결합하는 활성을 갖는 IgG나 알부민에 결합하는 분자 등을 들 수 있지만 이들로 한정되지 않는다. 개시 A 또는 B에 있어서는, pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서 FcRn 결합 활성을 갖는 도메인을 이용해도 된다. 당해 도메인은, 원래 pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서 FcRn 결합 활성을 가지고 있는 경우, 추가적인 개변 없이 이용할 수도 있다. 당해 도메인의 pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서의 FcRn 결합 활성이 없거나 또는 약한 경우에는, 항체 또는 Fc 영역 개변 체내의 FcRn 결합 도메인 중의 아미노산 잔기를 개변하여, pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서의 FcRn 결합 활성을 얻어도 된다. 혹은, 원래 pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서 FcRn 결합 활성을 가지고 있는 도메인의 아미노산을 개변하여, 그 FcRn 결합 활성을 더욱 높여도 된다. 아미노산 개변 전과 개변 후의 pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서의 FcRn 결합 활성을 비교하여, FcRn 결합 도메인의 목적하는 아미노산 개변을 찾아낼 수 있다.

[0559] FcRn 결합 도메인은, 직접 FcRn와 결합하는 영역인 것이 바람직한 경우가 있다. FcRn 결합 도메인의 바람직한 예로서 항체의 정상 영역 및 Fc 영역을 들 수 있다. 그렇지만, 알부민이나 IgG 등의 FcRn에 대한 결합 활성을 갖는 폴리펩티드에 결합 가능한 영역은, 알부민이나 IgG 등을 개재하여 간접적으로 FcRn와 결합하는 것이 가능하다. 그 때문에, FcRn 결합 영역은, 알부민이나 IgG에 대한 결합 활성을 갖는 폴리펩티드에 결합하는 영역이어도 된다. 한정은 되지 않지만, 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진하기 위해서는, FcRn 결합 도메인은, 중성 pH에 있어서의 FcRn 결합 활성이 높은 편이 바람직하고, 또한, 항체의 혈장 중의 체류성을 향상시키기 위해서는, FcRn 결합 도메인은, 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합 활성이 높은 편이 바람직하다. 예를 들어, 중성 pH 또는 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합 활성이 원래 높은 FcRn 결합 도메인을 선택할 수 있다. 혹은, 항체 또는 Fc 영역 개변 체내의 아미노산을 개변하여 중성 pH 또는 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합 활성을 부여해도 된다. 혹은, 중성 pH 또는 산성 pH에 있어서의 기존의 FcRn 결합 활성을 증대시켜도 된다.

[0560] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체 또는 Fc 영역(개변체)의 FcRn에 대한 결합 활성이 개변 전의 항체 또는 Fc 영역(개변체)과 비교하여 증대되어 있거나, (실질적으로) 유지되고 있거나, 또는 감소되어 있는지 여부는, 공지의 방법, 예를 들어 당 명세서 중의 실시예에 기재된 방법, 및 예를 들어, BIACORE, 스캐차드 플롯, 및 플로 사이토미터(WO2013/046722를 참조)를 이용하여 평가해도 된다. 이들의 어세이에는 인간 FcRn의 세포외 도메인이 가용성 항원으로서 이용되어도 된다. 항체 또는 Fc 영역(개변체)의 FcRn에 대한 결합 활성을 측정할 때의 pH 이외의 조건은 당업자가 적절히 선택하는 것이 가능하다. 예를 들어, WO2009/125825에서의 기재와 같이 MES 완충액 및 37℃의 조건하에서 어세이를 실시하는 것이 가능하다. 항체 또는 Fc 영역(개변체)의, FcRn에 대한 결합 활성의 측정은, 예를 들어, 항체를 고정한 칩에 FcRn를 분석물로서 흐르게 하는 것 등으로 평가해도 된다.

[0561] 항체 또는 Fc 영역(개변체)의 FcRn에 대한 결합 활성은, 해리 상수(KD), 겉보기 해리 상수(겉보기 KD), 해리 속도(kd), 겉보기 해리 속도(겉보기 kd)에 기초하여 평가할 수 있다.

[0562] 항체 또는 Fc 영역(개변체)에 포함되는 FcRn 결합 도메인과 FcRn의 결합 활성을 측정하기 위한 pH의 조건으로서, 산성 pH 조건 또는 중성 pH 조건이 적절히 사용될 수 있다. 측정에 사용되는 온도 조건으로서, FcRn 결합 도메인과 FcRn의 결합 활성(결합 친화성)은, 10℃ 내지 50℃의 임의의 온도에서 평가될 수 있다. 바람직하게는, 인간 FcRn 결합 도메인과 FcRn의 결합 활성(결합 친화성)을 결정하기 위해서, 15℃ 내지 40℃의 온도가 사용된다. 보다 바람직하게는, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 및 35℃ 중 어느 하나와 같은 20℃ 내지 35℃의 임의의 온도가 사용되어도 된다. 25℃는 그와 같은 온도의 비한정적인 일례이다.

[0563] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체가 FcRn에 대한 결합 활성을 갖는 경우에는, 그것들은 FcRn 결합 도메인, 바람직하게는 인간 FcRn 결합 도메인을 가질 가능성이 있다. FcRn 결합 도메인은, 항체가 산성 pH 및/또는 중성 pH에 있어서 FcRn에 대해서 결합 활성 또는 친화성을 갖고 있는 한 특별히 한정되지 않고, 직접 또는 간접적으로 FcRn에 결합하는 활성을 갖는 도메인이어도 된다. 구체적인 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체는, 예를 들어, 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조 항체와 비교하여, 중성 pH의 조건하에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 것이 바람직하다(WO2013/046722를 참조). 한정은 되지 않지만, 개시 A 또는 B의 항체와 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조 항체는, 1개 이상의 아미노산 잔기가 개변된 개시 A 또는 B의 항체의 바람직하게는 정상 영역을 제외하고 그 외의 영역(예를 들어 가변 영역)의 아미노산 서열이 동일하다고 하는 것이, 양자의 FcRn에 대한 결합 활성을 비교하는 관점에서 바람직한 경우가 있다.

[0564] 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 항체가 중성 pH의 조건하에서 FcRn에 대한 증대된 결합 활성을 갖는 경우, 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 개시 A의 항체는, 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 갖는 것에 의해 혈장과 세포 중의 엔도솜을 왕래하여 1개의 항체 분자로서 복수의 항원에 반복하여 결합되는 특성; pI가 상승하여 항체 전체적으로 보다 양전하가 높아지는 것에 의해 세포 내에 신속히 흡수되는 특성; 및 중성 pH의 조건하에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되는 것에 의해 세포 내에 신속히 흡수되는 특성 중, 임의의 2개 이상을 겸비해도 된다. 그 결과, 항체의 혈장 중 반감기를 한층 더 단축할 수 있거나, 또는 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합성을 한층 더 증대시킬 수 있거나, 또는 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 한층 더 촉진할 수 있다. 이들 특성을 살리기 위해서 개시 A의 항체에 최적인 pI값을 당업자는 결정해도 된다.

[0565] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, Yeung et al.(J. Immunol. 182:7663-7671(2009))에 의하면, 천연형 인간 IgG1의 인간 FcRn 결합 활성은 pH 산성역(pH 6.0)에서 KD 1.7μM이지만, pH 중성역에서는 활성을 거의 검출할 수 없다. 따라서, pH 중성역에서의 FcRn 결합 활성을 증대시키기 위해서, 예를 들어, pH 산성역에 있어서의 인간 FcRn 결합 활성이 KD 20μM 또는 그보다 강하고, pH 중성역에 있어서의 인간 FcRn 결합 활성이 천연형 인간 IgG와 동등하거나 그보다 강한, 항체 또는 정상 영역 개변체 또는 Fc 영역 개변체; 바람직하게는, pH 산성역에 있어서의 인간 FcRn 결합 활성이 KD 2.0μM 또는 그보다 강하고, pH 중성역에 있어서의 인간 FcRn 결합 활성이 KD 40μM 또는 그보다 강한, 항체 또는 정상 영역 개변체 또는 Fc 영역 개변체; 보다 바람직하게는, pH 산성역에 있어서의 인간 FcRn 결합 활성이 KD 0.5μM 또는 그보다 강하고, pH 중성역에 있어서의 인간 FcRn 결합 활성이 KD 15μM 또는 그보다 강한, 항체 또는 정상 영역 개변체 또는 Fc 영역 개변체를, 개시 A 또는 B의 항체로서 이용하는 것이 바람직하다. 상기의 KD값는, Yeung et al.(J. Immunol. 182: 7663-7671(2009))에 기재된(항체를 칩에 고정하고, 분석물로서 인간 FcRn를 흐르게 하는 것에 의하는) 방법에 의해 결정된다.

[0566] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, FcRn에 결합하는 임의의 구조의 도메인을, FcRn 결합 도메인으로서 사용할 수 있다. 그 경우에는, 아미노산 개변의 도입을 필요로 하지 않고 FcRn 결합 도메인이 제작될 수 있고, 또한 추가로 개변을 도입함으로써 FcRn으로의 친화성을 높여도 된다.

[0567] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 출발 FcRn 결합 도메인의 예로서는, (인간) IgG의 Fc 영역 또는 정상 영역을 들 수 있다. 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 개변체가, pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서 FcRn에 결합할 수 있는 한, 어느 Fc 영역 또는 정상 영역도, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역으로서 사용될 수 있다. 또는, Fc 영역 또는 정상 영역에 이미 아미노산 잔기의 개변이 가해지고 있는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역에 추가적인 개변을 가하여 얻어진 Fc 영역 또는 정상 영역도, Fc 영역 또는 정상 영역으로서 적합하게 사용될 수 있다. 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역에는, 재조합에 의해 산생된 공지의 Fc 영역이 포함될 수 있다. 문맥에 따라서, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역이란, 폴리펩티드 그 자체, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역을 포함하는 조성물, 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역을 코딩하는 아미노산 서열을 의미할 수 있다. 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 기원은 한정되지 않지만, 비인간 동물의 임의의 생물 또는 인간으로부터 취득될 수 있다. 또한, 출발 FcRn 결합 도메인은, 필리핀 원숭이, 마모셋, 히말라야 원숭이, 침팬지, 및 인간으로부터 취득될 수 있다. 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역은, 인간 IgG1로부터 취득되어도 되지만, IgG의 어떠한 특정의 클래스에도 한정되지 않는다. 이는, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4의 Fc 영역을 출발 FcRn 결합 도메인으로서 적절히 이용할 수 있음을 의미하고, 또한 임의의 생물로부터의 IgG의 클래스 또는 서브클래스의 Fc 영역 또는 정상 영역을, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역으로서 이용할 수 있음을 의미한다. 천연형 IgG 개변체 또는 개변형의 예는, 예를 들어 Strohl(Curr. Opin. Biotechnol. 20(6), 685-691(2009)); Presta(Curr. Opin. Immunol. 20(4), 460-470(2008)); Davis et al.,(Protein Eng. Des. Sel. 23(4), 195-202(2010)); WO2009/086320; WO2008/092117; WO2007/041635; 및 WO2006/105338에 기재된다.

[0568] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 출발 FcRn 결합 도메인 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 잔기의 예로서는, 1개 이상의 변이, 예를 들어, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 잔기와는 상이한 아미노산 잔기로의 치환 변이; 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 잔기로의 1개 이상의 아미노산 잔기의 삽입; 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 잔기로부터의 하나 이상의 아미노산 잔기의 결실이 포함되어도 된다. 바람직하게는, 개변 후의 Fc 영역 또는 정상 영역의 아미노산 서열은, 천연에서 생길 수 없는 Fc 영역 또는 정상 영역의 적어도 일부분을 포함하는 아미노산 서열이다. 그와 같은 개변체는 필연적으로 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역에 대해서 100% 미만의 서열 동일성 또는 유사성을 갖는다. 예를 들어, 당해 개변체는, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역의 아미노산 서열에 대해서

약 75% 내지 100% 미만, 보다 바람직하게는 약 80% 내지 100% 미만, 보다 더 바람직하게는 약 85% 내지 100% 미만, 보다 더 바람직하게는 약 90% 내지 100% 미만, 더욱 더 바람직하게는 약 95% 내지 100% 미만의 아미노산 서열 동일성 또는 유사성을 갖는다. 비한정적인 예에 있어서, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역과 개시 A 또는 B가 개변된 Fc 영역 또는 정상 영역의 사이에서, 적어도 1 아미노산이 상이하다.

[0569] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성을 갖는 Fc 영역 또는 정상 영역은 어떠한 방법에 의해 취득되어도 된다. 구체적으로는, 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역으로서 이용될 수 있는 인간 IgG형 항체의 아미노산의 개변에 의해, pH 산성역 및/또는 pH 중성역에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성을 갖는 Fc 영역 또는 정상 영역의 개변체가 취득될 수 있다. 개변에 적절한 IgG형 항체의 Fc 영역 또는 정상 영역으로서는, 예를 들어 인간 IgG(IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4, 및 그들의 개변체)의 Fc 영역 또는 정상 영역을 들 수 있고, 그들로부터 자연스럽게 생기는 변이체도, IgG의 Fc 영역 또는 정상 영역에 포함된다. 인간 IgG1, 인간 IgG2, 인간 IgG3, 및 인간 IgG4 항체의 Fc 영역 또는 정상 영역으로서는, 유전자다형에 의한 복수의 알로타입 서열이 "Sequences of proteins of immunological interest", NIH Publication No. 91-3242에 기재되어 있지만, 개시 A 또는 B에 있어서는 그 어느 것이어도 된다. 특히 인간 IgG1의 서열로서는, EU 넘버링에 따른 356 내지 358위의 아미노산 서열이 DEL이어도 EEM이어도 된다.

[0570] 개시 A 또는 B에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 다른 아미노산으로의 개변은, 얻어진 개변체가 pH 산성역 및/또는 pH 중성역, 바람직하게는 pH 중성역에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성을 갖는 한, 특별히 한정되지 않는다. 중성 pH의 조건하에서의 FcRn에 대한 결합 활성을 증대하기 위한 아미노산 개변 부위로서는, 예를 들어 WO2013/046722 등에 기재되어 있다. 그와 같은 개변 부위로서는, 예를 들어, WO2013/046722에 기재된 바와 같이, 인간 IgG형 항체의 Fc 영역 또는 정상 영역에 있어서의, EU 넘버링에 따른, 221위 내지 225위, 227위, 228위, 230위, 232위, 233 내지 241위, 243 내지 252위, 254 내지 260위, 262 내지 272위, 274위, 276위, 278 내지 289위, 291 내지 312위, 315 내지 320위, 324위, 325위, 327 내지 339위, 341위, 343위, 345위, 360위, 362위, 370위, 375 내지 378위, 380위, 382위, 385 내지 387위, 389위, 396위, 414위, 416위, 423위, 424위, 426 내지 438위, 440위 및 442위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 위치를 들 수 있다. 또한, WO2013/046722에는, 정상 영역 또는 Fc 영역에 있어서의 바람직한 개변의 일부로서 예를 들어, EU 넘버링에 따른, 256위의 아미노산을 Pro로, 280위의 아미노산을 Lys로, 339위의 아미노산을 Thr로, 385위의 아미노산을 His로, 428위의 아미노산을 Leu로, 및 434위의 아미노산을 Trp, Tyr, Phe, Ala 또는 His로, 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 아미노산의 개변도 기재되어 있다. 또한, 개변되는 아미노산의 수는 특별히 한정되지 않고, 1개소만의 아미노산 위치가 개변될 수 있고, 2개소 이상의 위치가 개변될 수 있다. 이들 아미노산 잔기의 개변에 의해, IgG형 항체의 Fc 영역 또는 정상 영역의 중성 pH의 조건하에서의 FcRn에 대한 결합이 증대될 수 있다. 개시 A 또는 B의 항체에도, 적절히, 이들 아미노산 잔기의 개변을 도입해도 된다.

[0571] 추가적인 실시태양 또는 대체적인 실시태양에 있어서, 산성 pH의 조건하에서의 FcRn에 대한 결합 활성을 증대하기 위한 아미노산 개변 부위도 적절히 사용해도 된다. 이와 같은 개변 부위 중, pH 중성역에 있어서도 FcRn에 대한 결합을 증대할 수 있는 1 또는 복수의 개변 부위는, 개시 A 또는 B에 적합하게 사용 가능하다. 그와 같은 개변 부위는, 예를 들어, WO2011/122011, WO2013/046722, WO2013/046704, 및 WO2013/046722에 있어서 보고되어 있다. 인간 IgG형 항체의 정상 영역 또는 Fc 영역에 있어서의 그와 같은 개변을 가능하게 하는 아미노산의 부위 및 개변 후의 아미노산의 종류는, WO2013/046722의 표 1에 보고되어 있다. 또한, WO2013/046722에는, 정상 영역 또는 Fc 영역에 있어서의 특히 바람직한 개변 부위로서 예를 들어, EU 넘버링에 따른, 237위, 238위, 239위, 248위, 250위, 252위, 254위, 255위, 256위, 257위, 258위, 265위, 270위, 286위, 289위, 297위, 298위, 303위, 305위, 307위, 308위, 309위, 311위, 312위, 314위, 315위, 317위, 325위, 332위, 334위, 360위, 376위, 380위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 424위, 428위, 433위, 434위 및 436위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 아미노산 위치를 들 수 있다. 이들 아미노산 잔기 위치에서의 개변에 의해서도, FcRn 결합 도메인의 pH 중성역에 있어서의 인간 FcRn에 대한 결합이 증대될 수 있다. WO2013/046722에는, 또한, IgG 타입의 정상 영역 또는 Fc 영역에 있어서의 바람직한 개변의 일부로서 예를 들어, EU 넘버링에 따른, (a) 237위의 아미노산을 Met로; (b) 238위의 아미노산을 Ala로; (c) 239위의 아미노산을 Lys로; (d) 248위의 아미노산을 Ile로; (e) 250위의 아미노산을 Ala, Phe, Ile, Met, Gln, Ser, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; (f) 252위의 아미노산을 Phe, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; (g) 254위의 아미노산을 Thr로; (h) 255위의 아미노산을 Glu로; (i) 256위의 아미노산을 Asp, Glu, 및 Gln 중 어느 하나로; (j) 257위의 아미노산을 Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Asn, Ser, Thr, 및 Val 중 어느 하나로; (k) 258위의 아미노산을 His로; (l) 265위의 아미노산을 Ala로; (m) 270위의 아미노산을 Phe로; (n) 286위의 아미노산을 Ala 또는 Glu 중

어느 하나로; (o) 289위의 아미노산을 His로; (p) 297위의 아미노산을 Ala로; (q) 298위의 아미노산을 Gly로; (r) 303위의 아미노산을 Ala로; (s) 305위의 아미노산을 Ala로; (t) 307위의 아미노산을 Ala, Asp, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Met, Asn, Pro, Gln, Arg, Ser, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; (u) 308위의 아미노산을 Ala, Phe, Ile, Leu, Met, Pro, Gln, 및 Thr 중 어느 하나로; (v) 309위의 아미노산을 Ala, Asp, Glu, Pro, 및 Arg 중 어느 하나로; (w) 311위의 아미노산을 Ala, His, 및 Ile 중 어느 하나로; (x) 312위의 아미노산을 Ala 또는 His 중 어느 하나로; (y) 314위의 아미노산을 Lys 또는 Arg 중 어느 하나로; (z) 315위의 아미노산을 Ala 또는 His 중 어느 하나로; (aa) 317위의 아미노산을 Ala로; (ab) 325위의 아미노산을 Gly로; (ac) 332위의 아미노산을 Val로; (ad) 334위의 아미노산을 Leu로; (ae) 360위의 아미노산을 His로; (af) 376위의 아미노산을 Ala로; (ag) 380위의 아미노산을 Ala로; (ah) 382위의 아미노산을 Ala로; (ai) 384위의 아미노산을 Ala로; (aj) 385위의 아미노산을 Asp 또는 His 중 어느 하나로; (ak) 386위의 아미노산을 Pro로; (al) 387위의 아미노산을 Glu로; (am) 389위의 아미노산을 Ala 또는 Ser 중 어느 하나로; (an) 424위의 아미노산을 Ala로; (ao) 428위의 아미노산을 Ala, Asp, Phe, Gly, His, Ile, Lys, Leu, Asn, Pro, Gln, Ser, Thr, Val, Trp, 및 Tyr 중 어느 하나로; (ap) 433위의 아미노산을 Lys로; (aq) 434위의 아미노산을 Ala, Phe, His, Ser, Trp, 및 Tyr로; 및 (ar) 436위의 아미노산을 His로, 로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 아미노산 잔기의 개변을 들 수 있다. 또한, 개변되는 아미노산의 수는 특별히 한정되지 않고, 1개소만의 위치가 개변될 수 있고, 2개소 이상의 위치가 개변될 수 있다. 2개소 이상의 아미노산의 개변의 조합으로서는, 예를 들어 WO2013/046722의 표 2에 기재되어 있다. 개시 A 및 B의 항체에, 적절히, 이들 아미노산 잔기의 개변을 도입시켜도 된다.

[0572] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체의 FcRn 결합 도메인의 FcRn에 대한 결합 활성은, 천연형 IgG의 Fc 영역 또는 정상 영역, 또는 출발 Fc 영역 또는 출발 정상 영역을 포함하는 참조 항체의 FcRn에 대한 결합 활성과 비교하여, 증대되어 있다. 즉 개시 A 또는 B의 Fc 영역 개변체 또는 정상 영역 개변체, 혹은 그와 같은 개변체를 포함하는 항체의, FcRn에 대한 결합 활성은, 당해 참조 항체의 FcRn에 대한 결합 활성보다 높다. 이것은, 개시 A 또는 B의 항체의 FcRn에 대한 결합 활성이, 당해 참조 항체의 FcRn에 대한 결합 활성과 비교하여, 예를 들어, 55% 이상, 60% 이상, 65% 이상, 70% 이상, 75% 이상, 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상, 100% 이상, 105% 이상, 바람직하게는 110% 이상, 115% 이상, 120% 이상, 125% 이상, 더 바람직하게는 130% 이상, 135% 이상, 140% 이상, 145% 이상, 150% 이상, 155% 이상, 160% 이상, 165% 이상, 170% 이상, 175% 이상, 180% 이상, 185% 이상, 190% 이상, 195% 이상, 2배 이상, 2.5배 이상, 3배 이상, 3.5배 이상, 4배 이상, 4.5배 이상, 또는 5배 이상 높을 가능성이 있음을 의미한다.

[0573] 일 실시태양에 있어서, 항체가 인비보(바람직하게는, 인간의 체내)로 투여될 때에 항체의 면역원성을 높이지 않기 위해, 개시 A 또는 B의 항체에 있어서 개변되는 아미노산 서열은 인간 서열(인간 유래의 천연형 항체에서 발견되는 서열)을 포함할 수 있는 것이 바람직하다. 혹은, 개변 후에, 1개 이상의 FR(FR1, FR2, FR3, 및 FR4)를 인간 서열로 치환하는 아미노산 개변의 위치 이외의 부위에 변이를 도입해도 된다. FR을 인간 서열로 치환하는 방법은, 당 기술분야에서 공지이며, Ono et al., Mol. Immunol. 36(6): 387-395(1999)에서 보고된 것을 포함하지만, 이것으로 한정되지 않는다. 또한, 인간화 방법은, 당 기술분야에서 공지이며, Methods 36(1): 43-60(2005)에서 보고된 것을 포함하지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0574] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체의 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역의 프레임워크 영역의 서열("FR 서열"이라고도 한다)은, 인간의 생식세포계 프레임워크 서열을 포함해도 된다. 프레임워크 서열이 완전하게 인간 생식세포 계열의 서열이면, 인간에게 (예를 들어 어떤 질병의 치료 또는 예방을 목적으로 하여) 투여되는 경우, 항체는, 면역원성 반응을 거의 일으키지 않거나 또는 일으키지 않을 것을 기대할 수 있다.

[0575] FR 서열로서는, 예를 들어, V-Base(vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/)에 나타나는 것 등의, 완전히 인간형의 FR 서열을 포함할 수 있는 것이 바람직하다. 이들 FR 서열이, 개시 A 또는 B에 적절히 사용될 수 있다. 생식세포 계열의 서열은 그 유사성에 기초하여 분류될 수 있다(Tomlinson et al.(J. Mol. Biol. 227: 776-798(1992)); Williams et al.(Eur. J. Immunol. 23: 1456-1461(1993)); 및 Cox et al.(Nat. Genetics 7: 162-168(1994))). 더욱이, 7개의 서브그룹으로 분류되는 Vκ, 10개의 서브그룹으로 분류되는 Vλ, 및 7개의 서브그룹으로 분류되는 VH로부터 적합한 생식세포 계열의 서열이 적절히 선택될 수 있다.

[0576] 완전히 인간형의 VH 서열로서는, 예를 들어 VH1 서브그룹(예를 들어, VH1-2, VH1-3, VH1-8, VH1-18, VH1-24, VH1-45, VH1-46, VH1-58, 및 VH1-69); VH2 서브그룹(예를 들어, VH2-5, VH2-26, 및 VH2-70); VH3 서브그룹(VH3-7, VH3-9, VH3-11, VH3-13, VH3-15, VH3-16, VH3-20, VH3-21, VH3-23, VH3-30, VH3-33, VH3-35, VH3-38, VH3-43, VH3-48, VH3-49, VH3-53, VH3-64, VH3-66, VH3-72, VH3-73, 및 VH3-74); VH4 서브그룹(VH4-4, VH4-28, VH4-31, VH4-34, VH4-39, VH4-59, 및 VH4-61); VH5 서브그룹(VH5-51); VH6 서브그룹(VH6-1); 또는 VH7 서

브그룹(VH7-4, 및 VH7-81)의 VH 서열을 적합하게 들 수 있다. 이들은 예를 들어, Matsuda et al.(J. Exp. Med. 188: 1973-1975(1998))에도 기재되어 있고, 당업자는 이들의 서열 정보에 기초하여 항체를 적절히 설계할 수 있다. 다른 완전히 인간형의 FR 서열 또는 그것과 등가의 영역의 서열도 적합하게 사용될 수 있다.

[0577] 완전히 인간형의 Vκ 서열로서는, 예를 들어 Vk1 서브그룹으로 분류되는 A20, A30, L1, L4, L5, L8, L9, L11, L12, L14, L15, L18, L19, L22, L23, L24, O2, O4, O8, O12, O14, 또는 O18; Vk2 서브그룹으로 분류되는 A1, A2, A3, A5, A7, A17, A18, A19, A23, O1, 및 O11; Vk3 서브그룹으로 분류되는 A11, A27, L2, L6, L10, L16, L20, 및 L25; Vk4 서브그룹으로 분류되는 B3; Vk5 서브그룹으로 분류되는 B2("Vk5-2"라고도 칭해진다); 또는 Vk6 서브그룹으로 분류되는 A10, A14, 및 A26(Kawasaki et al(Eur. J. Immunol. 31: 1017-1028(2001)); Hoppe Seyler(Biol. Chem. 374: 1001-1022(1993)); Brensing-Kuppers et al.(Gene 191: 173-181(1997)))을 바람직하게 들 수 있다.

[0578] 완전히 인간형의 Vλ 서열로서는, 예를 들어 VL1 서브그룹으로 분류되는 V1-2, V1-3, V1-4, V1-5, V1-7, V1-9, V1-11, V1-13, V1-16, V1-17, V1-18, V1-19, V1-20, 및 V1-22; VL2 서브그룹으로 분류되는 V2-1, V2-6, V2-7, V2-8, V2-11, V2-13, V2-14, V2-15, V2-17, 및 V2-19; VL3 서브그룹으로 분류되는 V3-2, V3-3, 및 V3-4; VL4 서브그룹으로 분류되는 V4-1, V4-2, V4-3, V4-4, 및 V4-6; 또는 VL5 서브그룹으로 분류되는 V5-1, V5-2, V5-4, 및 V5-6 등(Kawasaki et al.(Genome Res. 7:250-261(1997)))을 바람직하게 들 수 있다.

[0579] 통상 이들 FR 서열은, 1 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 서로 상이하다. 이들 FR 서열은, 항체의 아미노산 잔기의 개변에 있어서 사용할 수 있다. 더욱이, 개변에 사용할 수 있는 완전히 인간형의 FR 서열의 예로서는, KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY, 및 POM 등을 들 수 있다(예를 들어, 상기의 Kabat et al.(1991); Wu et al.(J. Exp. Med. 132, 211-250(1970))을 참조).

[0580] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "플렉시블 잔기"란, 공지의 및/또는 천연형의 항체 또는 항원 결합 도메인의 아미노산 서열을 비교한 경우에, 몇 가지 상이한 아미노산을 갖는 경쇄 가변 영역 또는 중쇄 가변 영역이 높은 아미노산 다양성을 나타내는 위치에 있어서의, 아미노산 잔기의 배리에이션을 말할 수 있다. 높은 아미노산 다양성을 나타내는 위치는 일반적으로 CDR 내에 존재한다. 공지의 및/또는 천연형의 항체에 있어서의 이와 같은 매우 다양한 위치를 결정할 때에는, Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institute of Health Bethesda Md.)(1987년 및 1991년)가 제공하는 데이터가 유효할 수 있다. 또한, 인터넷상의 복수의 데이타베이스(vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/, bioinf.org.uk/abs/index.html)에서는, 수집된 다수의 인간 경쇄 및 중쇄의 서열과 그 배치가 제공되고 있다. 이들 서열과 배치에 대한 정보는, 플렉시블 잔기의 위치의 결정에 유용하다. 한정은 되지 않지만, 예를 들어, 아미노산 잔기가, 어느 특정의 위치에서, 바람직하게는 2 내지 20, 3 내지 19, 4 내지 18, 5 내지 17, 6 내지 16, 7 내지 15, 8 내지 14, 9 내지 13, 또는, 10 내지 12 아미노산 잔기의 변동을 갖는 경우, 그 위치는 (높은) 다양성을 나타낸다고 판단될 수 있다.

[0581] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체가 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역의 전부 또는 일부를 포함하는 경우에는, 소망에 따라, 항체는 1 또는 복수의 플렉시블 잔기를 적절히 포함해도 된다는 것을 이해할 수 있다. 예를 들어, 이온 농도(수소 이온 농도 또는 칼슘 이온 농도)의 조건에 따라 항원에 대한 항체의 결합 활성을 변화시키는 아미노산 잔기가 원래 포함되어 있는 FR 서열로서 선택된 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역의 서열에, 당해 아미노산 잔기에 더하여 다른 아미노산 잔기가 포함되도록 설계하는 것도 가능하다. 이 경우, 항원에 대한 개시 A 또는 B의 항체의 결합 활성이 이온 농도의 조건에 따라 변화하는 한, 예를 들어, 당해 플렉시블 잔기의 수나 위치는 특정의 실시태양으로 한정되지 않고서 결정할 수도 있다. 즉, 중쇄 및/또는 경쇄의 CDR 서열 및/또는 FR 서열에 적어도 1개의 플렉시블 잔기가 포함될 수 있다. 예를 들어, 이온 농도가 칼슘 이온 농도인 경우에는, 경쇄 가변 영역 서열(전술한 Vk5-2)에 도입 가능한 플렉시블 잔기의 비한정적인 예로서는, 표 1 또는 표 2에 기재된 1개 이상의 아미노산 잔기의 위치를 들 수 있다. 마찬가지로, 예를 들어, 경쇄 가변 영역 및/또는 중쇄 가변 영역의 전부 또는 일부를 포함하는, 이온 농도 의존적 항체 또는 당해 이온 농도 의존성을 갖지 않는 항체에 있어서, 당해 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 pI가 상승하도록 개변했을 경우 등에 있어서도, 적절히, 플렉시블 잔기를 아울러 도입할 수 있다.

표 1

[0582]

CDR	Kabat 넘버링	전체의 70%의 아미노산				
CDR1	28	S:100%				
	29	I:100%				
	30	E:72%	N:14%	S:14%		
	31	D:100%				
	32	D:100%				
	33	L:100%				
	34	A:70%	N:30%			
CDR2	50	E:100%				
	51	A:100%				
	52	S:100%				
	53	H:5%	N:25%	S:45%	T:25%	
	54	L:100%				
	55	Q:100%				
	56	S:100%				
CDR3	90	Q:100%				
	91	H:25%	S:15%	R:15%	Y:45%	
	92	D:80%	N:10%	S:10%		
	93	D:5%	G:10%	N:25%	S:50%	R:10%
	94	S:50%	Y:50%			
	95	P:100%				
	96	L:50%	Y:50%			

[0583] (위치는 Kabat 넘버링에 따라 표시된다.)

표 2

[0584]

CDR	Kabat 넘버링	전체의 30%의 아미노산				
CDR1	28	S:100%				
	29	I:100%				
	30	E:83%	S:17%			
	31	D:100%				
	32	D:100%				
	33	L:100%				
	34	A:70%	N:30%			
CDR2	50	H:100%				
	51	A:100%				
	52	S:100%				
	53	H:5%	N:25%	S:45%	T:25%	
	54	L:100%				
	55	Q:100%				
	56	S:100%				
CDR3	90	Q:100%				
	91	H:25%	S:15%	R:15%	Y:45%	
	92	D:80%	N:10%	S:10%		
	93	D:5%	G:10%	N:25%	S:50%	R:10%
	94	S:50%	Y:50%			
	95	P:100%				
	96	L:50%	Y:50%			

[0585] (위치는 Kabat 넘버링으로 표시된다.)

[0586] 일 실시태양에 있어서, 키메라 항체를 인간화할 때에, 키메라 항체의 표면에 노출될 수 있는 1개 이상의 아미노산 잔기에 개변을 가하여 키메라 항체의 pI를 상승시키는 것으로, 그와 같은 개변이 없는 키메라 항체와 비교하여 혈장 중 반감기가 단축된, 개시 A 또는 B의 인간화 항체가 제작될 수 있다. 당해 인간화 항체의 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기의 개변은, 항체의 인간화의 전에 또는 인간화와 동시에 실시되어도 된다. 혹은, 인간화 항체를 출발 재료로서 이용하고, 그 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기를 개변함으로써, 당해 인간화 항체의 pI를 추가로 개변해도 된다.

[0587] Adams et al.(Cancer Immunol. Immunother. 55(6): 717-727(2006))은, 동일한 인간 항체의 FR 서열을 이용하여 인간화를 행한 인간화 항체 트라스투주맙(항원: HER2), 베바시주맙(항원: VEGF), 및 페르투주맙(항원: HER2)의 혈장 중 약물동태가 거의 동등하다는 것을 보고하고 있다. 특히, 동일 FR 서열을 이용하여 인간화를 행한 경우, 혈장 중 약물동태는 거의 동등하다고 이해될 수 있다. 개시 A의 일 실시태양에서는, 인간화의 공정에 더하여, 항체의 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기의 개변에 의해 항체의 pI를 상승시키는 것에 의해, 혈장 중의 항원 농도를 저하시킨다. 개시 A 또는 B의 대체적인 실시태양에서는, 인간 항체를 사용할 수 있다. 인간 항체 라이브러리, 인간 항체 산생 마우스, 재조합 세포 등으로부터 제작된 인간 항체의 표면에 노출될 수 있는 아미노산 잔기에 개변을 가하여, 인간 항체의 pI를 상승시키는 것에 의해, 최초로 제작된 인간 항체의 혈장 중으로부터의 항원 소실능을 증가시키는 것이 가능하다.

[0588] 일 실시태양에 있어서, 본 개시 A의 항체는, 개변된 당쇄를 포함해도 된다. 당쇄가 개변된 항체의 예로서는, 예를 들어, 글리코실화가 개변된 항체(WO99/54342), 푸코스가 결손된 항체(WO00/61739, WO02/31140, WO2006/067847, WO2006/067913 등), 및 바이섹팅 GlcNAc를 갖는 당쇄를 갖는 항체(WO02/79255 등) 등을 들 수 있다.

[0589] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체는, 예를 들어, 암세포에 대해서 증대된 항종양 활성을 발휘하는 기술, 또는 혈장 중으로부터의, 생체에 유해한 항원의 소실을 촉진하는 기술에 이용해도 된다.

[0590] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B는, 전술한 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체의 라이브러리에 관한 것이다.

[0591] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B는, 전술한 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체를 코딩하는 핵산(폴리뉴클레오티드)에 관한 것이다. 구체적인 실시태양에 있어서, 핵산은, 공지의 방법을 적절히 이용하여 취득할 수 있다. 구체적인 실시태양으로서는, 예를 들어, WO2009/125825, WO2012/073992, WO2011/122011, WO2013/046722, WO2013/046704, WO2000/042072, WO2006/019447, WO2012/115241, WO2013/047752, WO2013/125667, WO2014/030728, WO2014/163101, WO2013/081143, WO2007/114319, WO2009/041643, WO2014/145159, WO2012/016227, 및 WO2012/093704를 참조해도 되고, 그들 각각의 모두가 참조에 의해 당 명세서에 원용될 수 있다.

[0592] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 핵산은, 단리 또는 정제된 핵산일 수 있다. 개시 A 또는 B의 항체를 코딩하는 핵산은 어떠한 유전자여도 되고, DNA 혹은 RNA, 또는 그 외 핵산 유사체 등이어도 된다.

[0593] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체 중의 아미노산을 개변하는 경우, 개변 전의 항체의 아미노산 서열은 기지의 서열이어도 되고, 또한, 새롭게 취득한 항체의 아미노산 서열이어도 된다. 예를 들어, 항체는, 항체 라이브러리로부터 취득하는 것도 가능하고, 모노클로날 항체를 산생하는 하이브리도마 또는 B 세포로부터 당해 항체를 코딩하는 핵산을 클로닝하여 취득하는 것도 가능하다. 하이브리도마로부터 항체를 코딩하는 핵산을 취득하는 방법은, 이하의 기술을 사용할 수 있다: 목적이 되는 항원 또는 목적이 되는 항원을 발현하는 세포를 감작 항원으로서 이용하는 통상의 면역 방법에 따라 면역화를 행하는 기술; 얻어지는 면역 세포를 통상의 세포 융합법에 따라 공지의 모세포와 융합시키는 기술; 통상의 스크리닝법에 의해, 모노클로날인 항체 산생 세포(하이브리도마)를 스크리닝하는 기술; 얻어진 하이브리도마의 mRNA로부터 역전사 효소를 이용하여 항체의 가변 영역(V 영역)의 cDNA를 합성하는 기술; 및 목적이 되는 항체 정상 영역(C 영역)을 코딩하는 DNA와 당해 cDNA를 연결하는 기술.

[0594] 이하의 예시로 한정되지 않지만, 상기의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 핵산을 얻기 위해서 사용하는 감작 항원에는, 면역원성을 갖는 완전 항원과 면역원성을 나타내지 않는 합텐을 포함하는 불완전 항원의 양방이 포함된다. 예를 들어, 목적이 되는 전장 단백질, 또는 당해 단백질의 부분 펩타이드 등을 이용할 수 있다. 더하여, 다당류, 핵산, 지방질, 및 다른 조성물로부터 구성되는 물질이 항원이 될 수 있다는 것이 알려져 있고, 따라서, 몇몇 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체의 항원은 특별히 한정되는 것은 아니다. 항원의 조제는, 예를 들어, 바큘로바이러스를 이용한 방법(예를 들어, WO98/46777 참조) 등에 의해 행할 수 있다. 하이브리도마의 제작은, 예를 들어, G. Kohler and C. Milstein, Methods Enzymol. 73: 3-46(1981) 방법에 준하여 행할 수 있다. 항원의 면역원성이 낮은 경우에는, 알부민 등의 면역원성을 갖는 거대분자와 항원을 연결하는 것에 의해, 면역을 행해도 된다. 또는, 필요에 따라 항원을 다른 분자와 연결하는 것에 의해 가용형 항원을 조제할 수도 있다. 막형 항원(예를 들어, 수용체 등)과 같은 막관통 분자를 항원으로서 이용하는 경우, 막형 항원의 세포외 영역 부분을 단편으로서 이용하는 것이 가능하고, 막관통 분자를 표면 상에 발현하는 세포를 면역원으로서 사용해도 된다.

[0595] 몇몇 실시태양에 있어서, 항체 산생 세포는, 전술한 적절한 감작 항원을 이용하여 동물을 면역하는 것에 의해써 얻을 수 있다. 혹은, 항체를 산생할 수 있는 림프구를 인비트로로 면역하여 항체 산생 세포를 조제할 수도 있다. 면역 및 다른 통상의 항체 산생 수법을 위해서 다양한 포유동물을 사용할 수 있다. 설치목, 토끼목, 영장목의 동물이 일반적으로 이용될 수 있다. 마우스, 래트, 및 햄스터 등 설치목, 토끼 등의 토끼목, 및 필리핀 원숭이, 히말라야 원숭이, 망토 비비, 및 침팬지 등의 원숭이를 포함하는 영장목의 동물을 예시할 수 있다. 더하여, 인간 항체 유전자의 레퍼터리를 갖는 트랜스제닉 동물도 알려져 있고, 이와 같은 동물을 사용하는 것에 의해 인간 항체를 얻을 수도 있다(예를 들어 WO96/34096; Mendez et al., Nat. Genet. 15: 146-156(1997); WO93/12227, WO92/03918, WO94/02602, WO96/34096, 및 WO96/33735 참조). 이와 같은 트랜스제닉 동물의 사용에 대신하여, 예를 들어, 인간 림프구를 인비트로에서 원하는 항원 또는 원하는 항원을 발현하는 세포로 감작한 후, 감작 림프구를 인간 골수종 세포, 예를 들어 U266과 융합시키는 것에 의해, 항원에 대한 결합 활성을 갖는 원하는 인간 항체를 얻을 수도 있다(일본 특허공고 평1-59878호 공보).

[0596] 동물의 면역은, 예를 들어, 감작 항원을 인산 완충 식염수(PBS) 또는 생리 식염수 등으로 적절히 희석 및 현탁하고, 필요에 따라서 아주반트를 혼합하여 유화한 후, 동물의 복강내 또는 피하에 주사하는 것에 의해 행해진다. 그 후, 바람직하게는, 프로인트(Freund) 불완전 아주반트에 혼합한 감작 항원을 4 내지 21일마다 수차례 투여할 수 있다. 항체의 산생의 확인은, 예를 들어, 동물의 혈청 중의 목적으로 하는 항체 역가를 측정하

는 것에 의해 행해질 수 있다.

[0597] 하이브리도마는, 원하는 항원으로 면역한 동물 또는 림프구로부터 얻어진 항체 산생 세포를, 관용되는 융합제(예를 들어, 폴리에틸렌 글리콜)를 사용하여 골수종 세포와 융합하여 제작할 수 있다(Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986, 59-103). 필요에 따라서 하이브리도마 세포를 배양 및 증식시키고, 당해 하이브리도마로부터 산생된 항체의 결합 특이성을, 예를 들어 면역침강, 방사면역분석(RIA), 또는 효소결합 면역흡착 분석(ELISA)에 의해 측정한다. 그 후, 필요에 따라서 목적으로 하는 특이성, 친화성 또는 활성이 측정된 항체를 산생하는 하이브리도마를, 한계 희석법 등의 수법에 의해 서브클로닝할 수도 있다.

[0598] 선택된 항체를 코딩하는 핵산을, 하이브리도마 또는 항체 산생 세포(감작 림프구 등)로부터, 항체에 특이적으로 결합할 수 있는 프로브(예를 들어, 항체 정상 영역을 코딩하는 서열에 상보적인 올리고뉴클레오티드)를 이용하여 클로닝할 수 있다. 혹은, 당해 핵산을, mRNA로부터 RT-PCR에 의해 클로닝하는 것도 가능하다. 개시 A 또는 B의 산생 항체의 제조에 사용하는 중쇄 및 경쇄는, 예를 들어 Ig형 항체의 어느 클래스 및 서브클래스에 속하는 항체에서 유래하는 것이어도 되고, IgG가 바람직한 경우가 있다.

[0599] 일 실시태양에 있어서, 예를 들어, 개시 A 또는 B의 항체의 중쇄(의 전부 또는 일부) 및/또는 항체의 경쇄(의 전부 또는 일부)를 구성하는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산은, 유전자 공학적 수법에 의해 개변된다. 예를 들어, 마우스 항체, 래트 항체, 토끼 항체, 햄스터 항체, 양 항체, 또는 낙타 항체 등의 항체의 구성 성분에 관련되는 아미노산 서열을 코딩하는 핵산 잔기를 개변하는 것에 의해, 인간에 대한 이종 항원성을 저하시키는 것 등을 목적으로 하는 인위적 서열 개변을 수반하는 유전자 재조합 항체, 예를 들어, 키메라 항체 또는 인간화 항체를 적절히 제작 해도 된다. 예를 들어, 마우스에서 유래하는 항체의 가변 영역을 코딩하는 DNA를, 인간 항체의 정상 영역을 코딩하는 DNA와 연결하고, 연결한 DNA를 코딩하는 서열을 발현 벡터에 도입시키고, 그 후 얻어진 재조합 벡터를 숙주에 도입하여 유전자를 발현시키는 것에 의해, 키메라 항체를 얻을 수 있다. 인간화 항체는, 복구성(reshaped) 인간 항체라고도 칭해지고, 비인간 포유동물, 예를 들어 마우스 등으로부터 단리된 항체의 CDR과 인간 항체의 FR이 코딩 서열이 형성되도록 인프레임(in-frame)으로 연결된 항체이다. 이와 같은 인간화 항체를 코딩하는 DNA 서열은, 복수개의 올리고뉴클레오티드를 주형으로서 이용한 오버랩 익스텐션 PCR 반응에 의해 합성될 수 있다. 오버랩 익스텐션 PCR의 재료 및 실험 방법은, WO98/13388 등에 기재되어 있다. 예를 들어, 개시 A 또는 B의 항체의 가변 영역의 아미노산 서열을 코딩하는 DNA는, 오버랩 하는 뉴클레오티드 서열을 갖도록 설계된 복수개의 올리고뉴클레오티드를 이용하는 오버랩 익스텐션 PCR에 의해 얻어질 수 있다. 오버랩 하는 DNA를, 그 후, 정상 영역을 코딩하는 DNA와 코딩 서열이 형성되도록 인프레임으로 연결한다. 이와 같이 연결된 DNA는, 그 다음에 발현 벡터에 당해 DNA가 발현되도록 삽입되어도 되고, 얻어진 벡터는 숙주 또는 숙주 세포에 도입되어도 된다. 당해 DNA에 의해 코딩된 항체는, 당해 숙주를 산생하는 또는 숙주 세포를 배양하는 것에 의해 발현 가능하다. 발현한 항체는, 당해 숙주의 배양 배지 등으로부터 적절히 정제할 수 있다(EP239400; WO96/02576). 또한, 예를 들어, CDR을 개재하여 연결되는 인간화 항체의 FR은, 항원에 적합한 항원 결합 부위를 CDR에 형성시키도록 선택해도 된다. 필요에 따라서 예를 들어 선택된 항체의 가변 영역의 FR을 구성하는 아미노산 잔기가 적절한 치환에 의해 개변될 수 있다.

[0600] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 항체 또는 그들의 단편의 발현을 위해서, 핵산 카세트가 적절한 벡터로 클로닝될 수 있다. 이러한 목적을 위해서 여러 종류의 벡터, 예를 들어 파지미드 벡터가 이용 가능하다. 파지미드 벡터에는 통상, 프로모터, 또는 시그널 서열 등의 제어 서열, 표현형 선택 유전자, 복제 기점 및 다른 필요한 구성 성분을 포함하는 여러 가지 구성 성분이 포함될 수 있다.

[0601] 원하는 아미노산 개변을 항체에 도입하는 방법은 당 기술분야에서 확립되어 있다. 예를 들어, 개시 A 또는 B의 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개가 개변된 아미노산 잔기, 및/또는, 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 항체의 결합 활성을 변화시키는 것이 가능한 적어도 1개의 아미노산을 도입하는 것에 의해 라이브러리가 제작될 수 있다. 또한, 필요에 따라서 Kunkel et al.(Methods Enzymol. 154: 367-382(1987)) 방법을 사용하여, 플렉시블 잔기를 추가할 수 있다.

[0602] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A는, 전술한 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 전술한 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터에 관한 것이다. 구체적인 실시태양으로서는, 예를 들어, WO2009/125825, WO2012/073992, WO2011/122011, WO2013/046722, WO2013/046704, WO2000/042072, WO2006/019447, WO2012/115241, WO2013/047752, WO2013/125667, WO2014/030728, WO2014/163101, WO2013/081143, WO2007/114319, WO2009/041643, WO2014/145159, WO2012/016227, 및

WO2012/093704에 기재되는 벡터에 의해, 벡터를 얻을 수 있고, 그들 모두가 참조에 의해 당 명세서에 원용될 수 있다.

[0603] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 실시태양을 코딩하는 핵산은, 적당한 벡터에 작동 가능하게 클로닝(삽입)되고, 숙주 세포에 도입되어도 된다. 예를 들어 숙주로서 대장균(E. Coli)을 이용하는 경우, 벡터로서는, 클로닝 벡터, pBluescript 벡터(Stratagene사제), 또는 다른 시판의 여러 가지 벡터의 임의의 것을 들 수 있다.

[0604] 일 실시태양에 있어서, 개시 A 또는 B의 핵산을 포함하는 벡터로서는, 발현 벡터가 유용하다. 인비트로, 대장균내, 배양 세포내, 또는 인비보로 폴리펩티드를 발현하는 것을 가능하게 하는 발현 벡터를 사용할 수 있다. 예를 들어, 인비트로 발현이면 pBEST 벡터(프로메가사제), 대장균내 발현이면 pET 벡터(Invitrogen사제), 배양 세포내 발현이면 pME18S-FL3 벡터(GenBank Accession No. AB009864), 및 인비보 발현이면 pME18S 벡터(Takebe et al., Mol. Cell Biol. 8:466-472(1988)) 등을 이용해도 된다. 벡터로의 DNA의 삽입은, 통상적 방법에 의해, 예를 들어, 제한 효소 부위를 이용한 리가제 반응에 의해 행할 수 있다(Current protocols in Molecular Biology edit. Ausubel et al.(1987) Publish. John Wiley & Sons. Section 11.4-11. 11을 참조).

[0605] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A는, 전술한 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 전술한 pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는, 숙주 또는 숙주 세포에 관한 것이다. 구체적인 실시태양에 있어서, 당해 숙주 또는 숙주 세포는, 예를 들어, WO2009/125825, WO2012/073992, WO2011/122011, WO2013/046722, WO2013/046704, WO2000/042072, WO2006/019447, WO2012/115241, WO2013/047752, WO2013/125667, WO2014/030728, WO2014/163101, WO2013/081143, WO2007/114319, WO2009/041643, WO2014/145159, WO2012/016227, 또는 WO2012/093704에 기재된 방법에 따라 조제할 수 있고, 그들 각각의 모두가 참조에 의해 당 명세서에 원용될 수 있다.

[0606] 개시 A 또는 B의 숙주 세포의 종류는 특히 제한되지 않고, 예를 들어 숙주 세포로서 대장균 등의 세균 세포나 여러 가지 동물 세포 등을 들 수 있다. 당해 숙주 세포는, 항체의 제조나 발현을 위한 산생계로서 적합하게 사용될 수 있다. 진핵세포 및 원핵세포의 양방을 이용할 수 있다.

[0607] 숙주 세포로서 사용되는 진핵세포로서, 예를 들어, 동물 세포, 식물 세포, 및 진균류 세포를 들 수 있다. 동물 세포로서는, 포유류 세포, 예를 들어, CHO(Puck et al., J. Exp. Med. 108: 945-956(1995)), COS, HEK293, 3T3, 골수종, BHK(baby hamster kidney), HeLa, 및 Vero; 양서류 세포, 예를 들어 아프리카발톱 개구리(Xenopus) 난모세포(Valle et al., Nature 291:338-340(1981)); 및 곤충 세포, 예를 들어, Sf9, Sf21, 및 Tn5가 예시된다. 예를 들어, 인산칼슘법, DEAE 덱스트란법, 카티오닉 리포솜 DOTAP(Boehringer Mannheim)를 이용한 방법, 일렉트로포레이션법, 및 리포펙션 등의 방법을 이용하는 것에 의해, 숙주 세포로의 재조합 벡터 등의 도입을 실시할 수 있다.

[0608] 단백질 생산계로서 도움이 됨이 알려진 식물 세포에는, 예를 들어, 니코티아나 타바캄(Nicotiana tabacum) 유래의 세포 및 개구리밥(좀개구리밥(Lemna minor)) 유래의 세포가 포함된다. 이들 세포에서 유래하는 유합 조직의 배양에 의해 개시 A 또는 B의 항체가 산생될 수 있다. 진균류 세포 유래의 단백질 산생계는, 효모 세포, 예를 들어, 사카로미세스 세레비시에(Saccharomyces cerevisiae) 및 사카로미세스 폼베(Schizosaccharomyces pombe) 등의 사카로미세스(Saccharomyces)속의 세포; 및 사상균, 예를 들어, 아스페르길루스 니거(Aspergillus niger) 등의 아스페르길루스(Aspergillus) 속의 세포를 이용하는 것을 포함한다. 원핵세포가 사용되는 경우, 세균 세포 베이스의 산생계를 사용할 수 있다. 세균 세포 베이스의 산생계는, 예를 들어, 대장균에 더하여, 고초균(Bacillus subtilis)을 이용하는 것을 포함한다.

[0609] 숙주 세포를 이용하여 개시 A 또는 B의 항체를 산생하기 위해서, 개시 A 또는 B의 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 발현 벡터에 의해 당해 숙주 세포가 형질 전환되고 배양되어, 당해 핵산을 발현한다. 예를 들어, 동물 세포가 숙주로서 이용되었을 경우, 배양 배지로서 예를 들어, DMEM, MEM, RPMI1640, 및 IMDM가 사용될 수 있고, 이들은, FBS 또는 우태자 혈청(FCS) 등의 혈청 보액과 적합하게 병용될 수 있다. 또한, 무혈청 배양에 의해 세포가 배양될 수 있다.

[0610] 한편, 개시 A 또는 B의 항체를 산생하기 위한 인비보 산생계로서는, 동물 또는 식물을 사용할 수 있다. 예를 들어 이들 동물 또는 식물에 개시 A 또는 B의 항체를 코딩하는 핵산이 도입되고, 동물 또는 식물의 인비보로 항체가 산생되고, 그 후 회수될 수 있다.

[0611] 숙주로서 동물이 사용되는 경우에는, 포유류 동물 또는 곤충을 이용하는 산생계가 이용 가능하다. 포유류 동물로서는, 염소, 돼지, 양, 마우스, 및 소가 적합하게 이용되지만 이들로 한정되지 않는다(Vicki Glaser,

SPECTRUM Biotechnology Applications(1993)). 또한, 트랜스제닉 동물도 또한 이용할 수 있다.

[0612] 일례로서, 개시 A 또는 B의 항체를 코딩하는 핵산은, 염소 β 카제인과 같은, 유즙 중에 특이적으로 포함되는 폴리펩티드를 코딩하는 유전자와의 융합 유전자로서 조제된다. 그 다음에, 이 융합 유전자를 포함하는 폴리뉴클레오티드 단편이 염소의 배(胚)에 주입되고, 당해 배가 암컷 염소에게 이식된다. 배가 이식된 염소로부터 태어난 트랜스제닉 염소 또는 그 자손이 산생하는 유즙으로부터, 목적하는 항체를 얻을 수 있다. 당해 트랜스제닉 염소로부터 산생되는 항체를 포함하는 유즙량을 증가시키기 위해서, 적절히 호르몬이 당해 트랜스제닉 염소에게 투여된다(Ebert et al., Bio/Technology 12:699-702(1994)).

[0613] 개시 A 또는 B의 항체를 산생하는 곤충으로서는, 예를 들어 누에가 이용될 수 있다. 누에가 이용되는 경우, 목적이 되는 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 그 바이러스 게놈 상에 삽입한 바큘로바이러스가 누에에 대한 감염에 있어서 이용된다. 당해 감염된 누에의 체액으로부터 목적이 되는 항체를 얻을 수 있다(Susumu et al., Nature 315: 592-594(1985)).

[0614] 식물이 개시 A 또는 B의 항체의 산생에 사용되는 경우에는, 담배가 이용될 수 있다. 담배가 이용되는 경우에는, 목적으로 하는 항체를 코딩하는 폴리뉴클레오티드를 식물 발현용 벡터, 예를 들어 pMON530에 삽입한 결과 얻어지는 재조합 벡터가 아그로박테리움·투메파시엔스(Agrobacterium tumefaciens)와 같은 세균에 도입될 수 있다. 얻어진 세균을 담배, 예를 들어, 니코티아나 타바캄(Nicotiana tabacum)에 대한 감염에 이용할 수 있고(Ma et al., Eur. J. Immunol. 24: 131-8(1994)), 감염시킨 담배의 잎으로부터 원하는 항체를 얻을 수 있다. 또한, 그와 같은 개변된 세균은 개구리밥(좀개구리밥(Lemna minor))에 대한 감염에도 이용할 수 있고, 클론화된 감염 개구리밥 세포로부터 원하는 항체를 얻을 수 있다(Cox et al., Nat. Biotechnol. 24(12): 1591-1597(2006)).

[0615] 숙주 세포에 있어서 발현한 항체를 소포체의 내강에, 세포 주변강에, 또는 세포외의 환경에 분비시키기 위해서, 적당한 분비 시그널을 목적이 되는 폴리펩티드에 도입시킬 수 있다. 이들 시그널은, 목적하는 항체에 대해서 내인성이어도, 당 기술분야에서 공지의 이종 시그널이어도 된다.

[0616] 이와 같이 하여 얻어진 개시 A 또는 B의 항체는, 숙주 세포 또는 숙주의 내부 또는 외부(배지 및 유즙 등)로부터 단리되어 실질적으로 순수하고 균일한 항체로서 정제될 수 있다. 예를 들어, 크로마토그래피 컬럼, 여과, 한외여과, 염석, 용매 침전, 용매 추출, 증류, 면역침강, SDS-폴리아크릴아마이드 겔 전기영동, 등전점 전기영동법, 투석, 및 재결정이 적절히 선택되고, 조합되어 항체가 적합하게 단리 및 정제될 수 있다. 크로마토그래피로서는, 예를 들어 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 및 흡착 크로마토그래피 등을 들 수 있다. 이들 크로마토그래피는, 예를 들어 HPLC, FPLC 등의 액상 크로마토그래피를 이용하여 행해지는 것이 가능하다. 친화성 크로마토그래피에 이용하는 컬럼으로서는, 프로틴 A 컬럼, 또는 프로틴 G 컬럼을 들 수 있다. 프로틴 A 컬럼으로서 예를 들어, Hyper D, POROS, Sepharose F.F.(Pharmacia제) 등을 들 수 있다.

[0617] 항체의 정제 전 또는 정제 후에 적당한 단백질 수식 효소로 항체를 처리하는 것에 의해, 항체를 개변하거나 부분적으로 펩타이드를 제거할 수도 있다. 단백질 개변 효소로서는, 예를 들어, 트립신, 키모트립신, 리실엔도펩티다제, 프로틴키나제, 글루코시다제 등을 이용할 수 있다.

[0618] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A는, 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체의 제조 방법으로서, 숙주 세포를 배양하거나, 또는 전술한 숙주를 산생(raise)하여, 상기 세포의 배양물 또는 상기 숙주의 분비물 등으로부터, 항체를 회수하는 공정을 포함할 수 있거나, 또는 당 기술분야에서 공지된 다른 방법에 의한, 제조 방법에 관한 것이다.

[0619] 일 실시태양에 있어서, 개시 A는, 참조 항체와 비교하여, (a) 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진할 수 있는 항체를 선택하는 공정; (b) 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정; (c) 중성 pH의 조건하에서 FcɣR 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정; (d) 중성 pH의 조건하에서 FcɣRIIb 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정; (e) FcɣRIIb 결합 활성이 유지 또는 증대되어 있는 한편으로, FcɣRIa, FcɣRIb, FcɣRIc, FcɣRIIIa, FcɣRIIIb 및 FcɣRIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 활성형 FcɣR에 대한 결합 활성이 감소되어 있는 항체를 선택하는 공정; (f) 중성 pH의 조건하에서 FcRn 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택하는 공정; (g) pI가 상승된 항체를 선택하는 공정; (h) 회수한 항체의 pI를 확인 후, pI가 상승된 항체를 선택하는 공정; 및 (i) 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화 또는 증가하고 있는 항체를 선택하는 공정으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 어느 1개 이상의 공

정을 임의로 포함하는, 제조 방법에 관한 것이다.

[0620] 여기에서, 참조 항체로서는, 한정은 되지 않지만, 천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체) 및 개변을 가하기 전의 항체(라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체, 예를 들어, pI가 상승하기 전의 이온 농도 의존적 항체, 또는 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 부여하기 전의, pI가 상승된 항체 등)를 들 수 있다.

[0621] 개시 A의 항체를 제작한 후에, 마우스, 래트, 토끼, 개, 원숭이, 인간 등의 혈장을 이용한, 항체의 약물동태 어세이를 실시함으로써, 당해 항체와 참조 항체를 비교하여, 혈장 중으로부터의 항원의 소실이 촉진되어 있는 항체를 선택해도 된다.

[0622] 혹은, 개시 A의 항체를 제작한 후에, 전기화학발광법 등을 이용하여, 당해 항체와 참조 항체의 세포외 매트릭스 결합능을 비교함으로써, 세포외 매트릭스에 대한 결합이 증대되어 있는 항체를 선택해도 된다.

[0623] 혹은, 개시 A의 항체를 제작한 후에, BIACORE(등록상표) 등을 이용하여, 당해 항체와 참조 항체의, 중성 pH의 조건하에서의 각종 FcγR에 대한 결합 활성을 비교함으로써, 중성 pH의 조건하에서 당해 각종 FcγR에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택해도 된다. 이러한 경우, 각종 FcγR은, 목적으로 하는 타입의 FcγR이어도 되고, 예를 들어, FcγRIIb여도 된다. 마찬가지로, 예를 들어, (중성 pH의 조건하에서,) FcγRIIb에 대한 결합 활성이 유지 또는 증대되는 한편으로, FcγRIa, FcγRIb, FcγRIc, FcγRIIIa, FcγRIIIb 및 FcγRIIa 등으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 활성형 FcγR의 1개 이상에 대한 결합 활성이 감소되어 있는 항체를 선택해도 된다. 이 경우, FcγR은 인간 FcγR일 수 있다.

[0624] 혹은, 개시 A의 항체를 제작한 후에, BIACORE 또는 다른 공지의 기술 등을 이용하여, 당해 항체와 참조 항체의, 중성 pH의 조건하에서의 FcRn에 대한 결합 활성을 비교함으로써, 중성 pH의 조건하에서 당해 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 항체를 선택해도 된다. 이러한 경우, FcRn은 인간 FcRn일 수 있다.

[0625] 혹은, 개시 A의 항체를 제작한 후에, 등전점 전기영동 등을 이용하여 당해 항체의 pI를 평가한 후에, 참조 항체와 비교하여 pI가 상승된 항체를 선택해도 된다. 이 때, 예를 들어, pI의 값이, 예를 들어 적어도 0.01, 0.03, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 또는 0.5 이상, 또는 적어도 0.6, 0.7, 0.8 또는 0.9 이상 상승하고 있는 항체를 선택해도 되고, 또는 적어도 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4 또는 1.5 이상, 또는 적어도 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4 또는 2.5 이상, 또는 3.0 이상 상승하고 있는 항체를 선택해도 된다.

[0626] 혹은, 개시 A의 항체를 제작한 후에, BIACORE 등을 이용하여, 당해 항체와 참조 항체의, 저이온 농도의 조건하와 고이온 농도의 조건하에 있어서의, 원하는 항원에 대한 결합 활성을 비교함으로써, 이온 농도의 조건에 따라 당해 항원에 대한 결합 활성이 변화 또는 증가하고 있는 항체를 선택해도 된다. 당해 이온 농도로서는, 예를 들어, 수소 이온 농도 또는 금속 이온 농도이면 되고, 금속 이온 농도인 경우에는, 예를 들어 칼슘 이온 농도일 수 있다. 당해 결합 활성이 변화 또는 증가하고 있는지는, 예를 들어, (a) 항원의 세포 내로의 흡수를 변화 또는 촉진시키는지, (b) 다른 항원 분자에 복수회 결합하는 능력이 변화 또는 증대되어 있는지, (c) 혈장 중의 항원 농도의 감소를 변화 또는 촉진시키고 있는지, 또는 (d) 항체의 혈장 중 체류성이 변화하고 있는지에 기초하여 평가할 수 있다. 혹은, 이들 선택 방법의 임의의 2개 이상을 소망에 따라 적절히 조합해도 된다.

[0627] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A는, 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체로서, 상기 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 pI가 상승되어 있는, 항체("pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체")의 제조 방법 또는 스크리닝 방법에 관한 것이다. 당해 제조 방법은, 예를 들어, 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에서 설명되는 관련되는 실시태양, 예를 들어, 상기의 pI가 상승된 항체의 제조 방법 또는 스크리닝 방법의 실시태양 및, 상기의, 저칼슘 이온 농도의 조건하보다 고칼슘 이온 농도의 조건하에 있어서 항원에 대한 결합 활성이 높은, 칼슘 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 칼슘 이온 농도 의존적 항체 또는 그들의 라이브러리의 제조 방법 또는 스크리닝 방법의 실시태양, 및/또는 상기의, 산성 pH의 조건하보다 중성 pH의 조건하에 있어서 항원에 대한 결합 활성이 높은, pH 의존적 항원 결합 도메인 또는 pH 의존적 항체, 또는 그들의 라이브러리의 제조 방법 또는 스크리닝 방법의 실시태양을, 소망에 따라 적절히 조합함으로써, 실시 가능하다.

[0628] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A는, 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성이 증대되어 있는, 이온 농도의 조건에 따라 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체로서, 상기 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 그 pI가 상승되어 있는 항체("pI가 상승된 이온 농도 의존적 항체")의 제조 방법 또는 스크리닝 방법을 제공한다. 당해 방법은, 이온 농도 의존적 항체의 pI를

상승시키는 것을 의도하여 행해도 된다. 그와 같은 방법은, 예를 들어, 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위에서 설명되는 관련되는 실시태양, 예를 들어, 상기의 pI가 상승된 항체의 제조 방법 또는 스크리닝 방법의 실시태양 및, 상기의 저칼슘 이온 농도의 조건하보다 고칼슘 이온 농도의 조건하에 있어서 항원에 대한 결합 활성이 높은, 칼슘 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인 또는 칼슘 이온 농도 의존적 항체, 또는 그들의 라이브러리의 제조 방법 또는 스크리닝 방법의 실시태양, 및/또는 산성 pH의 조건하보다 중성 pH의 조건하에 있어서 항원에 대한 결합 활성이 높은, pH 의존적 항원 결합 도메인 또는 pH 의존적 항체, 또는 그들의 라이브러리의 제조 방법 또는 스크리닝 방법의 실시태양을, 소망에 따라, 적절히 조합함으로써 실시할 수 있다. 예를 들어, 전기화학발광법, 또는 다른 공지의 기술을 이용하여, 얻어진 항체와 참조 항체의 세포외 매트릭스 결합능을 비교함으로써, 세포외 매트릭스에 대한 결합이 증대되어 있는 항체를 선택해도 된다.

[0629] 여기에서, 참조 항체로서는, 한정은 되지 않지만, 천연형 항체(예를 들어 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체) 및 개변을 가하기 전의 항체(라이브러리화하기 전 또는 라이브러리화의 과정에 있는 항체, 예를 들어, pI가 상승하기 전의 이온 농도 의존적 항체, 또는 이온 농도 의존적 항원 결합 도메인을 부여하기 전의, pI가 상승된 항체)여도 된다.

[0630] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A는, 이온 농도 조건에 따라 그 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체의 제조 방법에 관한 것으로, 당해 방법은, 등전점(pI)을 상승시키기 위해서 항체의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변하는 공정을 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 아미노산 잔기의 개변은, 이하: (a) 음전하를 갖는 아미노산 잔기를, 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기로 치환; (b) 음전하를 갖는 아미노산 잔기를, 양전하를 갖는 아미노산 잔기로 치환; 및 (c) 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기를, 양전하를 갖는 아미노산 잔기로 치환으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 개변을 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 적어도 하나의 개변 아미노산 잔기는, 히스티딘으로 치환되어 있다. 추가적인 실시태양에 있어서, 항체는 가변 영역, 및/또는 정상 영역을 포함하고, 아미노산 잔기는, 이 가변 영역 및/또는 정상 영역에 있어서 개변된다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, Kabat 넘버링에 따른, 이하: (a) 중쇄 가변 영역의 FR에 있어서의, 1위, 3위, 5위, 8위, 10위, 12위, 13위, 15위, 16위, 18위, 19위, 23위, 25위, 26위, 39위, 41위, 42위, 43위, 44위, 46위, 68위, 71위, 72위, 73위, 75위, 76위, 77위, 81위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 84위, 85위, 86위, 105위, 108위, 110위, 및 112위; (b) 중쇄 가변 영역의 CDR에 있어서의, 31위, 61위, 62위, 63위, 64위, 65위, 및 97위; (c) 경쇄 가변 영역의 FR에 있어서의, 1위, 3위, 7위, 8위, 9위, 11위, 12위, 16위, 17위, 18위, 20위, 22위, 37위, 38위, 39위, 41위, 42위, 43위, 45위, 46위, 49위, 57위, 60위, 63위, 65위, 66위, 68위, 69위, 70위, 74위, 76위, 77위, 79위, 80위, 81위, 85위, 100위, 103위, 105위, 106위, 107위, 및 108위; 및 (d) 경쇄 가변 영역의 CDR에 있어서의, 24위, 25위, 26위, 27위, 52위, 53위, 54위, 55위, 및 56위로 이루어지는 군으로부터 선택되는, CDR 또는 FR 내의 위치에 있다. 한편 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, Kabat 넘버링에 따른, 이하: (a) 중쇄 가변 영역의 FR에 있어서의, 8위, 10위, 12위, 13위, 15위, 16위, 18위, 23위, 39위, 41위, 43위, 44위, 77위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 84위, 85위, 및 105위; (b) 중쇄 가변 영역의 CDR에 있어서의, 31위, 61위, 62위, 63위, 64위, 65위, 및 97위; (c) 경쇄 가변 영역의 FR에 있어서의, 16위, 18위, 37위, 41위, 42위, 45위, 65위, 69위, 74위, 76위, 77위, 79위, 및 107위; 및 (d) 경쇄 가변 영역의 CDR에 있어서의, 24위, 25위, 26위, 27위, 52위, 53위, 54위, 55위, 및 56위로 이루어지는 군으로부터 선택되는, CDR 또는 FR 내의 위치에 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 항원은 가용성 항원이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 산성 pH(예를 들어 pH 5.8) 및 중성 pH(예를 들어 pH 7.4)에 있어서, 그 대응하는 항원과, 상기 방법에 따라 산생된 항체의 KD를 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 항원에 관한 KD(pH 산성역(예를 들어 pH 5.8))/KD(pH 중성역(예를 들어 pH 7.4))가 2 또는 그보다 높은 항체를 선택하는 공정을 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 고이온 농도(예를 들어 수소이온 또는 칼슘 이온 농도) 조건하 및 저이온 농도 조건하에서 상기 방법에 따라 산생된 항체의 항원 결합 활성을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 저이온 농도하보다 고이온 농도하에서 보다 높은(예를 들어 2배) 항원 결합 활성을 갖는 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에서는, 이온 농도는 칼슘 이온 농도이며, 고칼슘 이온 농도는, 100μM 내지 10mM의 사이, 200μM 내지 5mM의 사이, 400μM 내지 3mM의 사이, 200μM 내지 2mM의 사이, 또는 400μM 내지 1mM의 사이에서 선택될 수 있다. 인비보에서의 혈장(혈액) 중의 칼슘 이온 농도에 가까운, 500μM 내지 2.5mM의 사이에서 선택된 농도가 또한 바람직한 경우도 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 저칼슘 이온 농도는, 0.1μM 내지 30μM의 사이, 0.2μM 내지 20μM의 사이, 0.5μM 내지 10μM의 사이, 또는 1μM 내지 5μM의 사이, 또는 2μM 내지 4μM의 사이에서 선택될 수 있다. 인비보에서의 초기 엔도솜의 칼슘 이온 농도에 가까운, 1μM 내지 5μM의 사이에서 선택된 농도가

또한 바람직한 경우도 있다. 몇몇 실시태양에서는, KD(저칼슘 이온 농도 조건)/KD(고칼슘 이온 농도 조건)(예를 들어, KD(3μM의 Ca)/KD(2mM의 Ca))값의 하한은, 2 이상, 10 이상, 또는 40 이상이며, 그의 상한은, 400 이하, 1000 이하, 또는 10000 이하이다. 대체적인 몇몇 실시태양에 있어서, kd(저칼슘 이온 농도 조건)/kd(고칼슘 이온 농도 조건)(예를 들어, kd(3μM의 Ca)/kd(2mM의 Ca))값의 하한은, 2 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 30 이상이며, 그의 상한은, 50 이하, 100 이하, 또는 200 이하이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 이온 농도는 수소 이온 농도이며, 저수소 이온 농도(pH 중성역)는, pH 6.7 내지 pH 10.0, pH 6.7 내지 pH 9.5, pH 7.0 내지 pH 9.0, 또는 pH 7.0 내지 pH 8.0으로부터 선택될 수 있다. 저수소 이온 농도는, 인비보에서의 혈장(혈액) 중의 pH에 가까운, pH 7.4가 바람직한 경우가 있지만, 측정의 간편함을 위해서, 예를 들어, pH 7.0이 사용되어도 된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 고수소 이온 농도(pH 산성역)가, pH 4.0 내지 pH 6.5, pH 4.5 내지 pH 6.5, pH 5.0 내지 pH 6.5, 또는 pH 5.5 내지 pH 6.5로부터 선택되어도 된다. pH 산성역은, 인비보에서의 초기 엔도솜의 수소 이온 농도에 가까운, pH 5.8이 바람직한 경우가 있지만, 측정의 간편함을 위해서, 예를 들어 pH 6.0이 사용되어도 된다. 몇몇 실시태양에 있어서, KD(pH 산성역)/KD(pH 중성역)(예를 들어, KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4))의 하한은, 2 이상, 10 이상, 또는 40 이상이며, 그의 상한은 400 이하, 1000 이하, 또는 10000 이하이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 참조 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한 항체의 투여 후의, 혈장으로부터의 항원의 소실을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한, 혈장으로부터의 항원의 소실을 촉진하는(예를 들어 2배) 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한 항체의 세포외 매트릭스 결합을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 항체와 비교한 경우의, 증가한 세포외 매트릭스 결합(예를 들어, 항원에 결합했을 경우, 2배)을 갖는, 상기 방법으로 산생한 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, pI를 상승시키기 위해서 적어도 1개의 아미노산 잔기를 수식 또는 개변하기 전의 항체(천연형 항체(예를 들어, 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체)), 또는 참조 항체(예를 들어, 항체 개변 전의 항체, 또는 라이브러리 구축 전 또는 구축 중의 항체)와 비교한 경우에, 상기 방법으로 산생한 항체는, 항원에 대한 결합 활성을 (실질적으로) 유지하고 있다. 이 경우, "항원에 대한 결합 활성을 (실질적으로) 유지하고 있다"란, 수식 또는 개변 전의 항체의 결합 활성과 비교하여, 50% 이상, 보다 바람직하게는 60% 이상, 보다 바람직하게는 70% 또는 75% 이상, 보다 더 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 또는 95% 이상의 활성을 갖는 것을 의미할 수 있다.

[0631] 추가의 실시태양에 있어서, 개시 A는, 이온 농도 조건에 따라 그 항원에 대한 결합 활성이 변화하는 항원 결합 도메인을 포함하는 항체의 제조 방법에 관한 것으로, 당해 방법은, 등전점(pI)을 상승시키기 위해서 항체의 정상 영역의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변하는 공정을 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 아미노산 잔기의 개변은, 이하: (a) 음전하를 갖는 아미노산 잔기를, 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기로 치환; (b) 음전하를 갖는 아미노산 잔기를, 양전하를 갖는 아미노산 잔기로 치환; 및 (c) 전하를 갖지 않는 아미노산 잔기를, 양전하를 갖는 아미노산 잔기로 치환으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 개변을 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 적어도 하나의 개변 아미노산 잔기는, 히스티딘으로 치환된다. 추가적인 실시태양에 있어서, 항체는 가변 영역, 및/또는 정상 영역을 포함하고, 아미노산 잔기는, 이 가변 영역 및/또는 정상 영역에 있어서 개변된다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, EU 넘버링에 따른, 이하: 196위, 253위, 254위, 256위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 307위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 정상 영역 중의 위치에 있다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, EU 넘버링에 따른, 이하: 254위, 258위, 281위, 282위, 285위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 418위, 419위, 421위, 433위, 434위, 및 443위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 정상 영역 중의 위치에 있다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, EU 넘버링에 따른, 이하: 282위, 309위, 311위, 315위, 342위, 343위, 384위, 399위, 401위, 402위, 및 413위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 정상 영역 중의 위치에 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 고이온 농도(예를 들어 수소이온 또는 칼슘 이온 농도) 조건하 및 저이온 농도 조건하에서 상기 방법에 따라 산생된 항체의 항원

결합 활성을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 저이온 농도하보다 고이온 농도하에서 보다 높은 항원 결합 활성을 갖는 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 참조 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한 항체의 투여 후의, 혈장으로부터의 항원의 소실을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한, 혈장으로부터의 항원의 소실을 촉진하는(예를 들어 2배) 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한 항체의 세포외 매트릭스 결합을 비교하는 공정을 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 참조 항체와 비교한 경우의, 증가한 세포외 매트릭스 결합(예를 들어, 항원에 결합했을 경우, 2배)을 갖는, 상기 방법으로 산생한 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 산생한 항체의, 중성 pH(예를 들어, pH 7.4)하에서의 FcɣR 수용체(FcɣR) 결합 활성을, 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조 항체의 결합 활성과 비교하는 공정을 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조 항체와 비교한 경우에, 중성 pH(예를 들어 pH 7.4)하에서 증가한 FcɣR 결합 활성을 갖는, 상기 방법으로 산생한 항체를 선택하는 공정을 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법으로 산생한, 선택된 항체는, 중성 pH하에서, 증가한 FcɣRIIb 결합 활성을 갖는다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법으로 산생한, 선택된 항체는, 정상 영역이 천연형 IgG의 것인 점에 있어서만 상이한 참조 항체와 비교한 경우에, 바람직하게는 FcɣRIa, FcɣRIb, FcɣRIc, FcɣRIIIa, FcɣRIIIb 및 FcɣRIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 활성형 FcɣR에 대한, 및 FcɣRIIb에 대한 결합 활성을 갖고, 임의로, FcɣRIIb 결합 활성이 유지되거나 또는 증가되고, 또한 활성형 FcɣR에 대한 결합 활성이 저하되어 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 정상 영역이 천연형 IgG의 것인 점에 있어서만 상이한 참조 항체와 비교한 경우에, 상기 방법으로 산생한 항체의 중성 pH 조건하에서의 FcRn 결합 활성을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 정상 영역이 천연형 IgG의 것인 점에 있어서만 상이한 참조 항체와 비교한 경우에, 상기 방법으로 산생한, 중성 pH 조건하에서 증가한 FcRn 결합 활성(예를 들어, 2배)을 갖는 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, pI를 상승시키기 위해서 적어도 1개의 아미노산 잔기를 수식 또는 개변하기 전의 항체(천연형 항체(예를 들어, 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체)), 또는 참조 항체(예를 들어, 항체 개변 전의 항체, 또는 라이브러리 구축 전 혹은 구축 중의 항체)와 비교한 경우에, 상기 방법으로 산생한 항체는, 항원에 대한 결합 활성을 (실질적으로) 유지하고 있다. 이 경우, "항원에 대한 결합 활성을 (실질적으로) 유지하고 있다"란, 수식 또는 개변 전의 항체의 결합 활성과 비교하여, 적어도 50% 이상, 바람직하게는 60% 이상, 보다 바람직하게는 70% 또는 75% 이상, 보다 더 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 또는 95% 이상의 활성을 갖는 것을 의미할 수 있다.

[0632] 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 등전점(pI)을 상승시키기 위해서 항체의 가변 영역 및 정상 영역의 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변하는 공정을 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, 전술한 정상 영역 중의 위치에 있다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, 전술한 가변 영역 중의 위치에 있다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, 전술한 정상 영역 중의 위치에 있고, 또한, 상기 방법에 따라 개변된 적어도 1개의 아미노산 잔기는, 전술한 가변 영역 중의 위치에 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 항원은 가용성 항원이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 산성 pH(예를 들어 pH 5.8) 및 중성 pH(예를 들어 pH 7.4)에 있어서, 그 대응하는 항원과, 상기 방법에 따라 산생된 항체의 KD를 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 항원에 관한 KD(pH 산성역)/KD(pH 중성역)가 2 또는 그보다 높은 항체를 선택하는 공정을 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 고이온 농도(예를 들어 수소이온 또는 칼슘 이온 농도) 조건하 및 저이온 농도 조건하에서 상기 방법에 따라 산생된 항체의 항원 결합 활성을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 저이온 농도하보다 고이온 농도하에서 보다 높은 항원 결합 활성을 갖는 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에서는, 이온 농도는 칼슘 이온 농도이며, 고칼슘 이온 농도는, 100μM 내지 10mM의 사이, 200μM 내지 5mM의 사이, 400μM 내지 3mM의 사이, 200μM 내지 2mM의 사이, 또는 400μM 내지 1mM의 사이에서 선택될 수 있다. 500μM 내지 2.5mM의 사이에서 선택된 농도가 또한 바람직한 경우도 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 저칼슘 이온 농도는, 0.1μM 내지 30μM의 사이, 0.2μM 내지 20μM의 사이, 0.5μM 내지 10μM의 사이, 또는 1μM 내지 5μM의 사이, 또는 2μM 내지 4μM의 사이에서 선택될 수 있다. 1μM 내지 5μM의 사이에서 선택된 농도가 또한 바람직한 경우도 있다. 몇몇 실시태양에서는, KD(저칼슘 이온 농도 조

건)/KD(고칼슘 이온 농도 조건)(예를 들어, KD(3μM의 Ca)/KD(2mM의 Ca))값의 하한은, 2 이상, 10 이상, 또는 40 이상이며, 그의 상한은, 400 이하, 1000 이하, 또는 10000 이하이다. 대체적인 몇몇 실시태양에 있어서, kd(저칼슘 이온 농도 조건)/kd(고칼슘 이온 농도 조건)(예를 들어, kd(3μM의 Ca)/kd(2mM의 Ca))값의 하한은, 2 이상, 5 이상, 10 이상, 또는 30 이상이며, 그의 상한은, 50 이하, 100 이하, 또는 200 이하이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 이온 농도는 수소 이온 농도이며, 저수소 이온 농도(pH 중성역)는, pH 6.7 내지 pH 10.0, pH 6.7 내지 pH 9.5, pH 7.0 내지 pH 9.0, 또는 pH 7.0 내지 pH 8.0으로부터 선택될 수 있다. 저수소 이온 농도는, 인비보에서의 혈장(혈액)의 pH에 가까운, pH 7.4가 바람직한 경우가 있지만, 측정의 간편함을 위해서, 예를 들어, pH 7.0이 사용되어도 된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 고수소 이온 농도(pH 산성역)가, pH 4.0 내지 pH 6.5, pH 4.5 내지 pH 6.5, pH 5.0 내지 pH 6.5, 또는 pH 5.5 내지 pH 6.5로부터 선택되어도 된다. pH 산성역은, 예를 들어 pH 5.8 또는 pH 6.0일 수 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, KD(pH 산성역)/KD(pH 중성역)(예를 들어, KD(pH 5.8)/KD(pH 7.4))의 하한은, 2 이상, 10 이상, 또는 40 이상이며, 그의 상한은 400 이하, 1000 이하, 또는 10000 이하이다.

[0633] 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 참조 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한 항체의 투여 후의, 혈장으로부터의 항원의 소실을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한, 혈장으로부터의 항원의 소실을 촉진하는(예를 들어 2배) 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한 항체의 세포외 매트릭스 결합을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 도입된 개변을 포함하지 않는다고 하는 점만이 상이한 항체와 비교한 경우의, 상기 방법으로 산생한, 증가한 세포외 매트릭스 결합(예를 들어, 항원에 결합했을 경우, 5배)을 갖는 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 상기 방법으로 산생한 항체의, 중성 pH(예를 들어, pH 7.4)하에서의 Fcγ 수용체(FcγR) 결합 활성을, 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조 항체의 결합 활성과 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 천연형 IgG의 정상 영역을 포함하는 참조 항체의 Fcγ 결합 활성과 비교한 경우에, 중성 pH(예를 들어 pH 7.4)하에서 증가한 FcγR 결합 활성을 갖는, 상기 방법으로 산생한 항체를 선택하는 공정을 포함한다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법으로 산생한, 선택된 항체는, 중성 pH하에서, 증가한 FcγRIIb 결합 활성을 갖는다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법으로 산생한, 선택된 항체는, 정상 영역이 천연형 IgG의 것인 점에 있어서만 상이한 참조 항체와 비교한 경우에, 바람직하게는 FcγRIa, FcγRIb, FcγRIc, FcγRIIIa, FcγRIIIb 및 FcγRIIa로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 이상의 활성형 FcγR에 대한, 및 FcγRIIb에 대한 결합 활성을 갖고, 임의로, FcγRIIb 결합 활성이 유지되거나 또는 증가되고, 또한 활성형 FcγR에 대한 결합 활성이 저하되어 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 정상 영역이 천연형 IgG의 것인 점에 있어서만 상이한 참조 항체와 비교한 경우에, 상기 방법으로 산생한 항체의 중성 pH 조건하에서의 FcRn 결합 활성을 비교하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 상기 방법은, 정상 영역이 천연형 IgG의 것인 점에 있어서만 상이한 참조 항체와 비교한 경우에, 상기 방법으로 산생한, 중성 pH 조건하에서 증가한 FcRn 결합 활성(예를 들어, 2배)을 갖는 항체를 선택하는 공정을 추가로 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, pI를 상승시키기 위해서 적어도 1개의 아미노산 잔기를 수식 또는 개변하기 전의 항체(천연형 항체(예를 들어, 천연형 Ig 항체, 바람직하게는 천연형 IgG 항체)), 또는 참조 항체(예를 들어, 항체 개변 전의 항체, 또는 라이브러리 구축 전 또는 구축 중의 항체)와 비교한 경우에, 상기 방법으로 산생한 항체는, 항원에 대한 결합 활성을 (실질적으로) 유지하고 있다. 이 경우, "항원에 대한 결합 활성을 (실질적으로) 유지하고 있다"란, 수식 또는 개변 전의 항체의 결합 활성과 비교하여, 적어도 50% 이상, 바람직하게는 60% 이상, 보다 바람직하게는 70% 또는 75% 이상, 보다 더 바람직하게는 80%, 85%, 90%, 또는 95% 이상의 활성을 갖는 것을 의미할 수 있다.

[0634] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A는, 전술한 개시 A의 항체의 제조 방법 또는 스크리닝 방법에 의해 얻어지는 항체에 관한 것이다.

[0635] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 A는, 전술한 개시 A의 항체를 포함하는, 조성물 또는 의약 조성물에 관한 것이다. 일 실시태양에 있어서, 개시 A의 의약 조성물은, (대상(바람직하게는 인비보)에 개시 A의 항체가 투여(적용)되었을 경우에 있어서의,) 당해 대상 중의 생체액(바람직하게는, 혈장 등) 중으로부터의, 항원의 소실을 촉진하기 위한, 및/또는, 세포외 매트릭스에 대한 결합을 증대시키기 위한 의약 조성물이어도 된다. 개시 A의 의약 조성물은, 임의로, 약학적으로 허용되는 담체를 포함해도 된다. 여기에서, 의약 조성물이란, 통상, 질환

의 치료, 예방, 진단, 또는 검사를 위한 약제를 가리켜도 된다.

[0636] 개시 A의 조성물 또는 의약 조성물은, 적합하게 제제화될 수 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 이들은, 예를 들어, 물 또는 임의의 그 이외의 약학적으로 허용할 수 있는 액체와의 무균성 용액 또는 현탁액의 주사제의 형태로서 비경구적으로 사용될 수 있다. 당해 조성물은, 약학적으로 허용되는 담체 또는 매체와 적절히 조합되어, 일반적으로 인정된 제약 실시에 요구되는 단위 용량으로 적합하게 제제화될 수 있다. 그와 같은 약학적으로 허용되는 담체 또는 매체는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 멸균수, 생리 식염수, 식물유, 유화제, 현탁제, 계면활성제, 안정제, 향미제, 부형제, 비히클, 방부제, 및 결합제를 포함한다. 당해 조성물에 있어서의 유효 성분량은, 지정된 범위의 적당한 용량이 얻어지도록 조정될 수 있다.

[0637] 몇몇 실시태양에 있어서, 개시 A의 조성물 또는 의약 조성물은, 비경구 투여에 의해 투여될 수 있다. 조성물 또는 의약 조성물은, 예를 들어, 주사 가능한, 경비 투여되는, 경폐 투여되는, 또는, 경피 투여되는 조성물로서 적절히 조제 될 수 있다. 조성물 또는 의약 조성물은, 예를 들어, 정맥내 주사, 근육내 주사, 복강내 주사, 혹은 피하 주사 등에 의해, 전신 또는 국부적으로 적절히 투여될 수 있다.

[0638] 몇몇 실시태양에 있어서, 당 개시는, 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 pI가 상승된 항체(pI가 상승된 항체); 당해 항체의 제조 방법; 또는 (당해 항체가 대상에게 인비보 투여되었을 경우의,) 혈장 중으로부터의 항원의 소실의 촉진에 있어서의, 당해 항체의 사용을 제공한다. 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위 및 본 실시예 중의 대응하는 기재가, 적절히, 이들 실시태양에 준용되는 것이 이해될 수 있다. 다른 실시태양에 있어서, 당 개시는, 표면에 노출될 수 있는 적어도 1개의 아미노산 잔기가 개변되어 있음으로써 pI가 저하된 항체("pI를 저하시킨 항체"); 당해 항체의 제조 방법; 또는, (당해 항체가 대상에게 인비보 투여되었을 경우의,) 혈장 중 체류성의 향상에 있어서의, 당해 항체의 사용을 제공한다. 발명자들은, 정상 영역의 아미노산 서열의 특정의 부위에 특정의 아미노산 변이를 도입함으로써, pI를 상승시켜, 항체의 세포 내로의 흡수를 촉진할 수 있음을 발견했다. 당업자라면, 당해 부위에, 측쇄의 전하의 특성이 상이한 아미노산을 도입함으로써, 반대로, pI를 저하시켜, 항체의 세포 내로의 흡수를 억제함으로써, 항체의 혈장 중 체류성을 연장할 수 있음을 이해할 수 있다. 당 명세서 중의 개시 A를 기재하고 있는 범위 및 본 실시예 중의 대응하는 기재가, 적절히, 이들 실시태양에 준용됨이 이해될 수 있다.

[0639] 일 실시태양에 있어서, 당 개시는, 항체의 개변 전의 반감기와 비교하여, 혈장 중의 반감기가 연장되고 있거나 또는 감소되어 있는 개변 항체를 산생하기 위한 방법을 제공하고, 이 방법은 이하의 공정을 포함한다: (a) EU 넘버링에 따른, 이하의 위치: 196위, 253위, 254위, 256위, 257위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 306위, 307위, 308위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 388위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에 위치하는 적어도 1개의 아미노산 잔기의 전하를 변화시키기 위한 개변을 실시하기 전의 항체를 코딩하는 핵산을, 개변하는 공정; (b) 개변된 핵산을 발현시켜, 항체를 산생하기 위해서, 숙주 세포를 배양하는 공정; 및 (c) 산생된 항체를, 숙주 세포 배양물로부터 회수하는 공정.

[0640] 추가의 실시태양은, 혈장 중의 항체의 반감기를 연장시키거나 또는 감소시키기 위한 방법을 제공하고, 이 방법은, EU 넘버링에 따른, 이하의 위치: 196위, 253위, 254위, 256위, 257위, 258위, 278위, 280위, 281위, 282위, 285위, 286위, 306위, 307위, 308위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 342위, 343위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 373위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 388위, 389위, 399위, 400위, 401위, 402위, 413위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 430위, 433위, 434위, 및 443위로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에 위치하는 적어도 1개의 아미노산 잔기를 개변하는 공정을 포함한다.

[0641] 이들 방법은, 항체의 개변 전의 것과 비교하여, 회수한, 및/또는 개변한 항체의, 혈장 중의 반감기가 연장되었는지 또는 감소되었는지를 결정하는 공정을 추가로 포함할 수 있다.

[0642] 전하 변화는, 아미노산 치환에 의해 달성될 수 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 치환된 아미노산 잔기는, 이하의 군(a) 및 (b)의 아미노산 잔기: (a) Glu(E) 및 Asp(D); 및 (b) Lys(K), Arg(R), 및 His(H)로 이루어지는 군으로부터 선택될 수 있지만, 이것으로 한정되지 않는다.

[0643] 몇몇 실시태양에 있어서, 항체는, Ig형 항체, 예를 들어 IgG 항체여도 된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 항체는, 키메라 항체, 인간화 항체, 또는 인간 항체여도 된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 항체는, 다중특이성 항체, 예를 들어 이중특이성 항체이다.

[0644] 개시 B

[0645] 비한정적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, Fc 영역 개변체, 그들의 사용 및 제조 방법 등에 관한 것이다.

[0646] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, "Fc 영역 개변체"란, 예를 들어, 천연형 IgG 항체의 Fc 영역의 적어도 1개의 아미노산이 다른 아미노산으로 개변되어 있는 Fc 영역을 의미해도 되고, 또는 이와 같은 Fc 영역 개변체의 적어도 1개의 아미노산이 다른 아미노산으로 추가로 개변되어 있는 Fc 영역을 의미해도 된다. 여기에서, 그와 같은 Fc 영역 개변체에는, 당해 아미노산 개변이 도입된 Fc 영역뿐만 아니라, 당해 Fc 영역과 동일한 아미노산 서열을 갖는 Fc 영역이 포함된다.

[0647] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, FcRn 결합 도메인을 포함하는 Fc 영역 개변체로서, 상기 FcRn 결합 도메인이, 434위에 Ala; 438위에 Glu, Arg, Ser 및 Lys 중 어느 하나; 및 440위에 Glu, Asp 및 Gln 중 어느 하나를 포함하는, Fc 영역 개변체에 관한 것이다(당 명세서 중의 개시 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 당해 Fc 영역 개변체는, 편의상, "신규 Fc 영역 개변체"라고도 칭해진다.).

[0648] 실제로는, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, 표적 항원의 타입에 관계없이, 사실상 임의의 항체(예를 들어, 다중특이성 항체, 예를 들어 이중특이성 항체)에 도입시킬 수 있다. 예를 들어, 항제IXa 인자/제X인자 이중특이성 항체는, 실시예 20에 나타낸 바와 같은, 그와 같은 Fc 영역 개변체(예를 들어, F8M-F1847mv[중쇄로서 F8M-F1847mv1(서열 번호: 323) 및 F8M-F1847mv2(서열 번호: 324), 및 경쇄로서 F8ML(서열 번호: 325)]; F8M-F1868mv[중쇄로서 F8M-F1868mv1(서열 번호: 326) 및 F8M-F1868mv2(서열 번호: 327), 및 경쇄로서 F8ML(서열 번호: 325)]; 및 F8M-F1927mv[중쇄로서 F8M-F1927mv1(서열 번호: 328) 및 F8M-F1927mv2(서열 번호: 329) 및 경쇄로서 F8ML(서열 번호: 325)])을 이용하여 산생할 수 있다.

[0649] 전술한 바와 같이, WO2013/046704는, 산성 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합을 증대시키는 변이와 함께, 특정의 변이(대표적인 것으로서, EU 넘버링에 따른, Q438R/S440E라고 하는 2잔기 변이)도 아울러 도입한 Fc 영역 개변체가, 류마토이드 인자에 대한 결합의 유의한 저하를 나타낸 것을 보고하고 있다. 그렇지만, WO2013/046704에는, Q438R/S440E의 개변에 의해 류마토이드 인자 결합을 저하시킨 Fc 영역 개변체에 대해, 천연형 Fc 영역을 갖는 항체와 비교하여 혈장 중 체류성이 우수하다는 것까지는 나타나지는 않았다. 그 때문에, 기존의 ADA에 대한 결합을 나타내지 않고, 혈장 중 체류성을 더욱 향상시킨, 안전하고 보다 유리한 Fc 영역 개변체가 요망되고 있었다. 본 발명자들은, 항의약품 항체(기존의 ADA 등)에 대한 결합을 나타내지 않고, 혈장 중 체류성을 더욱 향상시킨, 안전하고 보다 유리한 Fc 영역 개변체에 대해 본 명세서에 개시한다. 특히, 항체의 혈장 중 체류성의 증대를 가져옴과 함께, 류마토이드 인자에 대한 결합의 유의한 저하를 유지하려면, 놀랍게도, EU 넘버링에 따른 434위의 아미노산의 Ala(A)로의 치환과, 특정의 2잔기 변이(대표적인 것으로서, Q438R/S440E)를 아미노산 잔기의 변이의 조합으로서 포함하는 Fc 영역 개변체가 바람직하다는 것을, 본 명세서에서 처음으로 개시한다.

[0650] 따라서, 본 명세서에 기재된 개시 B의 신규 Fc 영역 개변체는, WO2013/046704에 기재되는 Fc 영역 개변체를 넘어서는, 유리하고 놀랄만한 개선을 제공하며, WO2013/046704에 기재되는 모든 태양이, 당 명세서에 있어서 참조에 의해 원용된다.

[0651] 일 실시태양에 있어서, 개시 B는, pH 산성역 및 pH 중성역, 특히는 pH 산성역에 있어서의 항체의 FcRn 결합 활성을 증대시키는, FcRn 결합 도메인에 있어서의 신규 아미노산 치환의 조합을 제공한다.

[0652] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, EU 넘버링에 따른, 434위에 Ala; 438위에 Glu, Arg, Ser, 및 Lys 중 어느 하나; 및 440위에 Glu, Asp, 및 Gln 중 어느 하나를 포함하고; 또한, 434위에 Ala; 438위에 Arg 또는 Lys; 및 440위에 Glu 또는 Asp를 포함하는 것이 보다 바람직하다. 바람직하게는, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, EU 넘버링에 따른, 428위에 Ile 또는 Leu; 및/또는, 436위에 Ile, Leu, Val, Thr, 및 Phe 중 어느 하나를 추가로 포함한다. Fc 영역 개변체는, EU 넘버링에 따른, 428위에 Leu; 및/또는, 436위에 Val 또는 Thr를 포함하는 것이 보다 바람직하다.

[0653] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, 천연형 Ig 항체의 Fc 영역 개변체일 수 있고, 천연형 IgG(IgG1, IgG2, IgG3, 또는, IgG4형) 항체의 Fc 영역 개변체인 것이 보다 바람직하다. 천연형 Fc 영역에 대해서는, 본 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 부분적으로 포함된다. 개시 B에 있어서는, 보다 상세하게는, 천연형 Fc 영역은, 개변되지 않은 Fc 영역 또는 천연으로 생기는 Fc 영역을 의미할 수 있고, Fc 영역에 있어서 아미노산 잔기가 개변되지 않은 천연형 Ig 항체의, 개변되지 않은 Fc 영역 또는 천연에 생기는 Fc 영역인 것이 보다 바람직하다. 당해 Fc 영역의 유래원인 항체는 Ig, 예를 들어 IgM 또는 IgG일 수 있고, 예를

들어, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4일 수 있다. 일 실시태양에 있어서, 인간 IgG1이어도 된다. 또한, 천연형 Fc 영역을 포함하는 (참조) 항체는, 개변되지 않은 Fc 영역 또는 천연으로 생기는 Fc 영역을 포함하는 항체일 수 있다.

[0654] 428위, 434위, 438위, 및 440위는, 인간의 천연형 IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4 항체 모든 Fc 영역에서 공통되고 있다. 그러나, 436위에 있어서는, 인간의 천연형 IgG1, IgG2, 및 IgG4 타입의 항체의 Fc 영역에서는 모두 Tyr(Y)인 한편으로, 인간의 천연형 IgG3 타입의 항체의 Fc 영역에서는, Phe(F)이다. 한편, Stapleton et al.,(Nature Comm. 599(2011))은, EU 넘버링에 따른 R435H의 아미노산 치환을 갖는 인간 IgG3 알로타입이, IgG1에 필적하는 혈장 중 반감기를 인간에서 나타냈음을 보고하고 있다. 따라서, 436위의 아미노산 치환에 더하여, R435H의 아미노산 치환을 도입함으로써, 산성 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합을 증대시켜, 혈장 중 체류성을 향상시키는 것이 가능하다는 것에도 본 발명자들은 상도했다.

[0655] 또한, WO2013/046704에는, 산성 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합을 증대시키는 것이 가능한 아미노산의 치환과 조합한 경우에 류마토이드 인자 결합의 유의한 저하를 가져오는 2잔기의 아미노산의 치환으로서, 구체적으로, EU 넘버링에 따른, Q438R/S440E, Q438R/S440D, Q438K/S440E, 및 Q438K/S440D도 보고하고 있다.

[0656] 따라서, 바람직한 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, FcRn 결합 도메인이, EU 넘버링에 따른, (a) N434A/Q438R/S440E; (b) N434A/Q438R/S440D; (c) N434A/Q438K/S440E; (d) N434A/Q438K/S440D; (e) N434A/Y436T/Q438R/S440E; (f) N434A/Y436T/Q438R/S440D; (g) N434A/Y436T/Q438K/S440E; (h) N434A/Y436T/Q438K/S440D; (i) N434A/Y436V/Q438R/S440E; (j) N434A/Y436V/Q438R/S440D; (k) N434A/Y436V/Q438K/S440E; (l) N434A/Y436V/Q438K/S440D; (m) N434A/R435H/F436T/Q438R/S440E; (n) N434A/R435H/F436T/Q438R/S440D; (o) N434A/R435H/F436T/Q438K/S440E; (p) N434A/R435H/F436T/Q438K/S440D; (q) N434A/R435H/F436V/Q438R/S440E; (r) N434A/R435H/F436V/Q438R/S440D; (s) N434A/R435H/F436V/Q438K/S440E; (t) N434A/R435H/F436V/Q438K/S440D; (u) M428L/N434A/Q438R/S440E; (v) M428L/N434A/Q438R/S440D; (w) M428L/N434A/Q438K/S440E; (x) M428L/N434A/Q438K/S440D; (y) M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; (z) M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440D; (aa) M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440E; (ab) M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440D; (ac) M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E; (ad) M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440D; (ae) M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440E; (af) M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440D; (ag) L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; 및 (ah) L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 치환된 아미노산 위치의 조합을 포함해도 된다.

[0657] 또한, 추가적인 바람직한 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, FcRn 결합 도메인이, EU 넘버링에 따른, (a) N434A/Q438R/S440E; (b) N434A/Y436T/Q438R/S440E; (c) N434A/Y436V/Q438R/S440E; (d) M428L/N434A/Q438R/S440E; (e) M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; (f) M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E; (g) L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; 및 (h) L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 치환된 아미노산의 조합을 포함해도 된다.

[0658] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 산성 pH의 조건하에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 것이 바람직하다.

[0659] 한편, 어느 pH역에 있어서의 FcRn에 대한 FcRn 결합 도메인의 결합 활성(결합 친화성)의 증대는, 천연형 FcRn 결합 도메인에 대해 측정된 FcRn 결합 활성(결합 친화성)과 비교한, 측정된 FcRn 결합 활성(결합 친화성)의 증대에 상당해도 된다. 이러한 경우, 결합 활성(결합 친화성)의 차이를 나타내는 KD(천연형 Fc 영역) /KD(개시 B의 Fc 영역 개변체)는, 적어도 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 10배, 15배, 20배, 50배, 70배, 80배, 100배, 500배, 또는 1000배여도 된다. 그와 같은 증대는, pH 산성역 및/또는 pH 중성역에서 일어날 수 있지만, 개시 B의 작용 메카니즘에 비추어, pH 산성역에 있어서의 증대가 바람직한 경우가 있다.

[0660] 몇몇 실시태양에 있어서, pH 산성역의 조건하에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는 개시 B의 Fc 영역 개변체는, 천연형 IgG의 Fc 영역보다 FcRn에 대한 결합 활성(예를 들어, pH 6.0 및 25℃에 있어서)이, 예를 들어, 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 30배, 50배, 75배, 100배, 200배, 500배, 또는 1000배 이상 크다. 몇몇 실시태양에 있어서, pH 산성역에 있어서의 Fc 영역 개변체의 증대된 FcRn 결합 활성은, 천연형 IgG의 Fc 영역의 FcRn 결합 활성보다 적어도 5배 커도 되고, 또는 적어도 10배 커도 된다.

[0661] 아미노산 치환의 도입에 의해 FcRn 결합 도메인을 조작함으로써, 항체의 안정성이 저하되는 경우가 있다(WO2007/092772). 안정성이 부족한 단백질은 저장 중에 용이하게 응집하는 경향이 있기 때문에, 약물 단백질의 안정성은 의약품의 제조에 있어 극히 중요하다. 그 때문에, Fc 영역에 있어서의 치환에 의해 일어나는 안정성의 저하 때문에, 안정된 항체 조제물의 개발이 곤란해질 수 있다(WO2007/092772).

[0662] 더하여, 단량체종 및 고분자량종에 관한 약물 단백질의 순도도 또한, 의약품 개발에 있어 중요하다. 프로틴 A 정제 후의 야생형 IgG1은 상당량의 고분자량종을 포함하지 않지만, 치환의 도입에 의해 FcRn 결합 도메인을 조작하면, 대량의 고분자량종이 생길 수 있다. 이 경우, 이와 같은 고분자량종은 정제 공정에 의해 원약 물질로부터 제거될 필요가 있을 수 있다.

[0663] 또한, 항체에 있어서의 아미노산의 치환은, 예를 들어 치료용 항체의 면역원성의 상승이라고 하는 부정적인 결과를 가져올 수 있고, 이것이 그 다음에 사이토카인 스톰 및/또는 항의약품 항체(ADA)의 산생을 일으킬 수 있다. ADA는 치료용 항체의 효과 및 약물동태에 영향을 미쳐, 때로 심각한 부작용을 가져오는 경우가 있기 때문에, 임상에 있어서의 치료용 항체의 유용성과 약효는 제한될 수 있다. 많은 요인이 치료용 항체의 면역원성에 영향을 미치며, 이펙터 T 세포 에피토프의 존재가 그 요인의 하나이다. 마찬가지로, 치료용 항체에 대한 기존의 항체의 존재도 또한 문제가 있다고 생각된다. 그와 같은 기존의 항체의 예는, 류마토이드 인자(RF), 항체(즉, IgG)의 Fc 부분에 대한 자기 항체(자기의 단백질에 대한 항체)이다. 류마토이드 인자는 특히, 전신성 에리테마토서스(SLE) 환자 또는 관절 류머티즘 환자에 있어서 볼 수 있다. 관절염 환자에서는, RF와 IgG가 연결되어 면역 복합체를 형성하고, 이것이 질환 과정에 기여한다. 최근, Asn434His 변이를 갖는 인간화 항CD4IgG1 항체가 현저한 류마토이드 인자 결합을 유발한다는 것이 보고되었다(Zheng et al., Clin. Pharmacol. Ther. 89(2):283-290(2011)). 상세한 연구에 의해, 인간 IgG1에 있어서의 Asn434His 변이가, 모인간 IgG1과 비교하여, 항체의 Fc 영역에 대한 류마토이드 인자의 결합을 증대된다는 것이 확인되었다.

[0664] RF는 인간 IgG에 대한 폴리클로날 자기 항체이며, 인간 IgG의 서열 중의 RF의 에피토프는 클론에 따라 상이하지만, RF 에피토프는, CH2/CH3 계면 영역 및 FcRn 결합 에피토프와 중복할 수 있는 CH3 도메인 중에 위치하는 것으로 보인다. 그 때문에, 중성 pH에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성을 증대하기 위한 변이는 또한, RF의 특정 클론에 대한 결합 활성을 증대시킬 수 있다.

[0665] 개시 B에 있어서의 "항의약품 항체" 또는 "ADA"라고 하는 용어는, 치료용 항체 상에 위치하는 에피토프에 대한 결합 활성을 갖고, 따라서 당해 치료용 항체와 결합할 수 있는 내인성 항체를 의미할 수 있다. "기존의 항의약품 항체" 또는 "기존의 ADA"라고 하는 용어는, 치료용 항체를 환자에게 투여하기 전에 환자의 혈중에 존재하여, 검출될 수 있는 항의약품 항체를 의미할 수 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 기존의 ADA는 인간 항체이다. 추가적인 실시태양에 있어서, 기존의 ADA는, 류마토이드 인자이다.

[0666] 기존의 ADA에 대한 항체의 Fc 영역(개변체)의 결합 활성은, 예를 들어, 산성 pH 및/또는 중성 pH에 있어서의 전기화학발광(ECL) 반응으로 나타날 수 있다. ECL 어세이는 예를 들어, Moxness et al.(Clin. Chem. 51:1983-1985(2005)) 및 실시예 6에 기재되어 있다. 어세이는, 예를 들어, MES 완충액 및 37℃의 조건하에서 행할 수 있다. 항체의 항원에 대한 결합 활성은, 예를 들어, BIACORE(등록상표) 분석에 의해 결정할 수 있다.

[0667] 기존의 ADA에 대한 결합 활성은, 10℃ 내지 50℃의 임의의 온도에서 평가할 수 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 인간 Fc 영역과 인간의 기존의 ADA 사이의 결합 활성(결합 친화성)을 결정하기 위해서, 15℃ 내지 40℃의 온도, 예를 들어, 20℃ 내지 25℃의 사이, 또는 25℃가 사용된다. 추가적인 실시태양에 있어서, 인간의 기존의 ADA와 인간 Fc 영역 사이의 상호작용은, pH 7.4(또는 pH 7.0) 및 25℃에서 측정된다.

[0668] 당 명세서 중의 개시 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, (기존의) ADA에 대한 결합 활성이 유의하게 증대되어 있는 또는 그것과 동의의 용어는, (기존의) ADA에 대한 개시 B의 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체의 측정된 결합 활성(결합 친화성)(즉, KD)이, (기존의) ADA에 대한 참조 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 참조 항체의 측정된 결합 활성(결합 친화성)과 비교하여, 예를 들어, 0.55배, 0.6배, 0.7배, 0.8배, 0.9배, 1배, 1.1배, 1.2배, 1.3배, 1.4배, 1.5배, 1.6배, 1.7배, 1.8배, 1.9배, 2배, 2.1배, 2.2배, 또는 2.3배 이상 증대되어 있다는 것을 의미해도 된다. 기존의 ADA에 대한 결합 활성의 이와 같은 증대는, 개개의 환자 또는 환자군에서 관찰될 수 있다.

[0669] 일 실시태양에 있어서, 개시 B에서 이용되는 "환자(patients)" 및 "환자(patient)"라고 하는 용어는 한정되지 않고, 이것에는, 질환으로 이환하고 있고, 치료용 항체를 투여하는 치료의 과정에 있는 모든 인간이 포함될 수 있다. 환자는, 관절염 질환 또는 전신성 에리테마토서스(SLE) 등의 자기면역 질환으로 이환하고 있는 인간일

수 있다. 관절염 질환에는, 관절 류머티즘이 포함될 수 있다.

[0670] 개시 B의 일 실시태양에 있어서, 개개의 환자에 있어서 기존의 ADA에 대한 결합 활성이 유의하게 증대된다는 것은, 환자에 있어서 측정된, Fc 영역 개변체를 포함하는 항체(예를 들어, 치료용 항체)의 기존의 ADA에 대한 결합 활성이, 참조 항체의 기존의 ADA에 대한 결합 활성과 비교하여, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60% 이상 증대되는 것을 의미해도 된다. 혹은, 이것은, 항체에 대한 ECL 반응이, 바람직하게는 250 초과, 또는 적어도 500, 또는 적어도 1000, 또는 한편 적어도 2000인 것일 수 있다. 바람직하게는, 당해 증대는, 500 또는 250 미만인 참조 항체의 ECL 반응과 비교한 증대일 수 있다. 참조 항체의 기존의 ADA에 대한 결합 활성과 Fc 영역 개변체를 갖는 항체의 그와 같은 결합 활성 사이에서, ECL 반응은 구체적으로는 250 미만 내지 적어도 250, 250 미만 내지 적어도 500, 500 미만 내지 500 이상, 500 미만 내지 1000 이상, 또는, 500 미만 내지 적어도 2000의 범위인 것이 바람직하지만 이들로 한정되지 않는다.

[0671] 일 실시태양에 있어서, 기존의 ADA에 대한 결합 활성이 증대된다는 것은, 환자 집단에 있어서의, (a) 산성 pH에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성 및 (b) 중성 pH에 있어서의 기존의 ADA에 대한 결합 활성이 증대된 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체에 대한 ECL 반응이 적어도 500(바람직하게는 적어도 250)인 환자의 측정된 비율이, 참조 항체에 대한 ECL 반응이 적어도 500(바람직하게는 적어도 250 이상)인 환자의 비율과 비교하여 상승하는 것, 예를 들어, 참조 항체에 대한 ECL 반응을 가지는 환자의 비율과 비교하여 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50% 상승하는 것을 의미할 수 있다.

[0672] 개시 B에 있어서의 일 실시태양에 있어서, 기존의 ADA에 대한 결합 활성이 저하된다는 것은, Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 측정된 결합 활성(즉, KD 또는 ECL 반응)이, 참조 항체에 대해 측정된 결합 활성과 비교하여 저하되는 것을 의미할 수 있다. 이와 같은 저하는, 개개의 환자 또는 환자군에서 관찰될 수 있다. 개개의 환자에 있어서 중성 pH에서의 기존의 ADA에 대한 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 친화성이 유의하게 저하된다는 것은, 환자에 있어서 측정된 중성 pH에 있어서의 기존의 ADA에 대한 결합 활성이, 참조 항체에 대해 측정된 중성 pH에 있어서의 기존의 ADA에 대한 결합 활성과 비교하여, 예를 들어, 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50% 저하되는 것을 의미할 수 있다.

[0673] 혹은, 개개의 환자에 있어서 기존의 ADA에 대한 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 결합 활성이 유의하게 저하된다는 것은, 500 이상(바람직하게는 1000 이상, 또는 2000 이상)이도록 사용된 해당 항체의 ECL 반응이, 참조 항체의 ECL 반응과 비교하여, 예를 들어 500 미만, 바람직하게는 250 미만으로 측정되는 것을 의미할 수 있다.

[0674] 바람직한 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체 및 해당 개변체를 포함하는 항체는, 중성 pH에 있어서의 기존의 ADA에 대한 결합 활성이 낮다. 구체적으로는, 중성 pH에 있어서의 기존의 ADA에 대한 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 결합 활성은, 중성 pH(예를 들어 pH 7.4)에 있어서의 기존의 ADA에 대한 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체의 결합 활성과 비교하여, 보다 낮거나, 또는 유의하게 증대되어 있지 않은 것이 바람직하다. 기존의 ADA에 대한 결합 활성(결합 친화성)이 낮거나 또는 친화성이 베이스라인 레벨이라는 것은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 개개의 환자에 있어서의 ECL 반응이 500 미만, 또는 250 미만인 것일 수 있다. 어느 환자 집단에 있어서, 기존의 ADA에 대한 결합 활성이 낮다는 것은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어, 당해 환자 집단에 있어서의 90%의 환자, 바람직하게는 95%의 환자, 보다 바람직하게는 98%의 환자에 있어서, ECL 반응이 500 미만인 것일 수 있다.

[0675] 개시 B의 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체는, 중성 pH의 혈장 중에서의 (기존의) ADA에 대한 결합 활성은 유의하게 증대하지 않고, 중성 pH 및/또는 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합 활성이 증대되어 있는 것을 선택하는 것이 바람직한 경우가 있다. 산성 pH(예를 들어 pH 5.8)에 있어서의 FcRn 결합 활성이 증대되어 있는 것이 바람직하다. 일 실시태양에 있어서, Fc 영역 개변체는, 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 중성 pH(예를 들어, pH 7.4)의 조건하에서 ADA에 대한 결합 활성이 유의하게 증대되어 있지 않은 것이 바람직하고, 당해 ADA는 기존의 ADA이며 되고, 바람직하게는 류마토이드 인자(RF)이다.

[0676] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 산성 pH의 조건하에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있음으로써, 혈장 중 클리어런스(CL)가 감소되어 있거나, 혈장 중 체류 시간이 연장되고 있거나, 또는, 혈장 중 반감기(t1/2)가 연장되어 있는 것이 바람직한 경우가 있다. 이들이 서로 상관하고 있다는 것은 당 기술분야에서는 공지이다.

[0677] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 산성 pH의 조건하에서 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있지만, 중성 pH의 조건하에서 ADA에 대한 결합 활성이 유의하게 증대되지

않고, 또한, 혈장 중 클리어런스(CL)가 감소되어 있거나, 혈장 중 체류 시간이 연장되고 있거나, 또는, 혈장 중 반감기(t1/2)가 연장되어 있는 것이 바람직한 경우가 있다. 당해 ADA가 기존의 ADA이면 되고, 류마토이드 인자(RF)인 것이 바람직하다

[0678] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, EU 넘버링에 따른, N434Y/Y436V/Q438R/S440E의 아미노산 치환의 조합을 포함하는 참조 Fc 영역 개변체와 비교하여, 혈장 중 체류성이 향상되고 있기 때문에 유리하다.

[0679] 본 실시예 5 내지 7에서는, WO2013/046704에 기재된 F1718이라는 Fc 영역 개변체(Fc 영역에 N434Y/Y436V/Q438R/S440E라는 4개소의 변이가 도입되어 있다.)와 신규 Fc 영역 개변체 F1848m(N434A/Y436V/Q438R/S440E라는 4개소의 변이가 도입되어 있다.)의 2개의 Fc 영역 개변체의 혈장 중 체류성이 비교되고 있다. 양자의 Fc 영역 개변체의 아미노산 변이의 차이는, EU 넘버링에 따른 434위에 도입되어 있는 아미노산 변이가, F1718은 Y(티로신)이며, F1848m은 A(알라닌)라고 하는 점뿐이었다. 그럼에도 불구하고, F1848m은 천연형 IgG1의 경우에 비해 혈장 중 체류성의 향상이 인정된 반면, F1718은 혈장 중 체류성의 향상이 인정되지 않았다(실시예(7-2)를 참조). 따라서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, 바람직하게는, N434Y/Y436V/Q438R/S440E의 치환된 아미노산의 조합을 포함하는 참조 Fc 영역 개변체와 비교하여, 혈장 중 체류성이 향상되고 있는 것이 바람직한 경우가 있다. 한편, 본 실시예(5-2) 및 본 실시예(7-3)의 실험 결과로부터, 각종 Fc 영역 개변체 중, F1848m보다, F1847m, F1886m, F1889m, 및 F1927m이 혈장 중 체류 시간이 보다 연장되고 있음이 인정되고 있다. 따라서, F1848m뿐만 아니라, F1847m, F1886m, F1889m, 또는 F1927m을 포함하는 개시 B의 Fc 영역 개변체는, N434Y/Y436V/Q438R/S440E의 치환을 포함하는 당해 참조 Fc 영역 개변체와 비교하여, 혈장 중 체류성이 향상하고 있음을 당업자이면 이해할 수 있다.

[0680] FcγR 또는 보체 단백질에 대한 결합도 또한, 바람직하지 않은 영향(예를 들어, 부적절한 혈소판 활성화)을 일으킬 수 있다. FcγRIIa 수용체 등의 이펙터 수용체에 결합하지 않는 Fc 영역 개변체는, 보다 안전하고, 및/또는 보다 유효할 수 있다. 몇몇 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체는, 이펙터 수용체에 대한 결합 활성이 약하거나 또는 이펙터 수용체에 결합하지 않는다. 이펙터 수용체의 예에는, 활성화 FcγR, 특히 FcγRI, FcγRII, 및 FcγRIII이 포함된다. FcγRI에는, FcγRIa, FcγRIb 및 FcγRIc, 및 이들의 아류형이 포함된다. FcγRII에는, FcγRIIa(2개의 알로타입 R131 및 H131을 갖는다) 및 FcγRIIb가 포함된다. FcγRIII에는, FcγRIIIa(2개의 알로타입 V158 및 F158을 갖는다) 및 FcγRIIIb(2개의 알로타입 FcγRIIIb-NA1 및 FcγRIIIb-NA2를 갖는다)가 포함된다. 이펙터 수용체에 대한 결합 활성이 약하거나 또는 그들에 결합하지 않는 항체는, 예를 들어, 사일런트 Fc 영역을 포함하는 항체, 및 Fc 영역을 포함하지 않는 항체(예를 들어, Fab, $F(ab)'_2$, scFv, $sc(Fv)_2$, 다이아보디)이다.

[0681] 이펙터 수용체에 대한 결합 활성이 약하거나 또는 해당 결합 활성을 갖지 않는 Fc 영역의 예는, 예를 들어, Strohl et al.(Curr. Op. Biotech. 20(6):685-691(2009))에 기재되어 있다. 구체적으로는, 예를 들어, 탈글리코실화 된 Fc 영역(N297A 및 N297Q), 및 이펙터 기능이 사일런트화(또는 면역 억제)되도록 조작된 Fc 영역인 사일런트 Fc 영역의 예(IgG1-L234A/L235A, IgG1-H268Q/A330S/P331S, IgG1-C226S/C229S, IgG1-C226S/C229S/E233P/L234V/L235A, IgG1-L234F/L235E/P331S, IgG2-V234A/G237A, IgG2-H268Q/V309L/A330S/A331S, IgG4-L235A/G237A/E318A, 및 IgG4-L236E)가 기재되어 있다. WO2008/092117에는, 치환 G236R/L328R, L235G/G236R, N325A/L328R, 또는 N325L/L328R(EU 넘버링 시스템 로 표시되는)을 포함하는 사일런트 Fc 영역을 포함하는 항체가 개시되어 있다. WO2000/042072에는, EU233위(EU 넘버링 시스템으로 표시되는 233위), EU234위, EU235위, 및 EU237위 중 하나 또는 복수에 있어서 치환을 포함하는 사일런트 Fc 영역을 포함하는 항체가 개시되어 있다. WO2009/011941에는, EU231 내지 EU238의 잔기의 결실을 포함하는 사일런트 Fc 영역을 포함하는 항체가 개시되어 있다. Davis et al(J. Rheum. 34(11): 2204-2210(2007))에는, 치환 C220S/C226S/C229S/P238S를 포함하는 사일런트 Fc 영역을 포함하는 항체가 개시되어 있다. Shields et al(J. Biol. Chem. 276 (9), 6591-6604(2001))에는, 치환 D265A를 포함하는 사일런트 Fc 영역을 포함하는 항체가 개시되어 있다. 개시 B의 Fc 영역 개변체에 있어서도, 적절히, 이들 아미노산 잔기의 개변을 도입시켜도 된다.

[0682] "이펙터 수용체에 대한 약한 결합"이라고 하는 용어는, 이펙터 수용체에 대한 결합 활성이, 천연형 IgG, 또는 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 항체의 결합 활성의, 예를 들어 95% 이하, 바람직하게는 90% 이하, 85% 이하, 80% 이하, 75% 이하, 보다 바람직하게는 70% 이하, 65% 이하, 60% 이하, 55% 이하, 50% 이하, 45% 이하, 40% 이하, 35% 이하, 30% 이하, 25% 이하, 20% 이하, 15% 이하, 10% 이하, 9% 이하, 8% 이하, 7% 이하, 6% 이하, 5% 이하, 4% 이하, 3% 이하, 2% 이하, 또는 1% 이하인 결합 활성을 의미할 수 있다.

[0683] "사일런트 Fc 영역"은, 천연형 Fc 영역과 비교하여 이펙터 수용체에 대한 결합을 저하시키는 1개 또는 복수의

아미노산 치환, 삽입, 부가, 결실 등을 포함하는 Fc 영역 개변체이다. 이펙터 수용체에 대한 결합 활성은 크게 저하될 수 있기 때문에, 그와 같은 사일런트 Fc 영역은 더이상 이펙터 수용체와 결합하지 않을 것이다. 사일런트 Fc 영역의 예에는, EU234, EU235, EU236, EU237, EU238, EU239, EU265, EU266, EU267, EU269, EU270, EU271, EU295, EU296, EU297, EU298, EU300, EU324, EU325, EU327, EU328, EU329, EU331, 및 EU332로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 또는 복수의 위치에 있어서 아미노산 치환을 포함하는 Fc 영역이 포함될 수 있지만, 이들로 한정되지 않는다. 개시 B의 Fc 영역 개변체에 있어서도, 적절히, 이들 아미노산 부위의 개변을 도입시켜도 된다.

[0684] 추가적인 실시태양에 있어서, 사일런트 Fc 영역은, EU234, EU235, EU236, EU237, EU238, EU239, EU265, EU266, EU267, EU269, EU270, EU271, EU295, EU296, EU297, EU298, EU300, EU324, EU325, EU327, EU328, EU329, EU331, 및 EU332로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 또는 복수의 위치에, 바람직하게는, EU235, EU237, EU238, EU239, EU270, EU298, EU325, 및 EU329로 이루어지는 군으로부터 선택되는 1개 또는 복수의 위치에, 치환을 갖고, 당해 치환은, 이하의 리스트로부터 선택되는 아미노산 잔기를 수반하는 것이다:

[0685] EU234위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, 및 Thr로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0686] EU235위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Lys, Met, Pro, Ser, Thr, Val, 및 Arg로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0687] EU236위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Asn, Gln, His, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, 및 Tyr로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0688] EU237위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Asn, Asp, Gln, Glu, His, Ile, Leu, Lys, Met, Pro, Ser, Thr, Val, Tyr, 및 Arg로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0689] EU238위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Asn, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Lys, Thr, Trp, 및 Arg로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0690] EU239위의 아미노산은, 바람직하게는, Gln, His, Lys, Phe, Pro, Trp, Tyr, 및 Arg로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0691] EU265위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Arg, Asn, Gln, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, 및 Val로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0692] EU266위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, 및 Tyr로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0693] EU267위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, His, Lys, Phe, Pro, Trp, 및 Tyr로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0694] EU269위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Arg, Asn, Gln, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, 및 Val로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0695] EU270위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Arg, Asn, Gln, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, 및 Val로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0696] EU271위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, His, Phe, Ser, Thr, Trp, 및 Tyr로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0697] EU295위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Asn, Asp, Gly, His, Phe, Ser, Trp, 및 Tyr로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0698] EU296위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Gly, Lys, 및 Pro로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0699] EU297위의 아미노산은, 바람직하게는 Ala로 치환된다.

[0700] EU298위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Gly, Lys, Pro, Trp, 및 Tyr로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0701] EU300위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Lys, 및 Pro로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0702] EU324위의 아미노산은, 바람직하게는 Lys 또는 Pro로 치환된다.

[0703] EU325위의 아미노산은, 바람직하게는, Ala, Arg, Gly, His, Ile, Lys, Phe, Pro, Thr, Trp, Tyr, 및 Val로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0704] EU327위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Gln, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, 및 Val로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0705] EU328위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Asn, Gly, His, Lys, 및 Pro로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0706] EU329위의 아미노산은, 바람직하게는, Asn, Asp, Gln, Glu, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val, 및 Arg로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0707] EU330위의 아미노산은, 바람직하게는 Pro 또는 Ser로 치환된다.

[0708] EU331위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Gly, 및 Lys로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0709] EU332위의 아미노산은, 바람직하게는, Arg, Lys, 및 Pro로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 중 하나로 치환된다.

[0710] 바람직하게는, 사일런트 Fc 영역은, EU235위에 있어서의 Lys 또는 Arg로의 치환, EU237위에 있어서의 Lys 또는 Arg로의 치환, EU238위에 있어서의 Lys 또는 Arg로의 치환, EU239위에 있어서의 Lys 또는 Arg로의 치환, EU270위에 있어서의 Phe로의 치환, EU298위에 있어서의 Gly로의 치환, EU325위에 있어서의 Gly로의 치환, 또는 EU329위에 있어서의 Lys 또는 Arg로의 치환을 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 사일런트 Fc 영역은, EU235위에 있어서의 아르기닌으로의 치환 또는 EU239위에 있어서의 리신으로의 치환을 포함할 수 있다. 보다 바람직하게는, 사일런트 Fc 영역은 치환 L235R/S239K를 포함할 수 있다. 개시 B의 Fc 영역 개변체에 있어서도, 적절히, 이들 아미노산 잔기의 개변을 도입시켜도 된다.

[0711] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체는, 보체 단백질에 대해서 결합 활성이 약하거나 또는 보체 단백질에 결합하지 않는다. 몇몇 실시태양에 있어서, 보체 단백질은 C1q이다. 몇몇 실시태양에 있어서, 보체 단백질에 대한 약한 결합 활성이란, 천연형 IgG 또는 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 항체의 보체 단백질에 대한 결합 활성과 비교하여 1/10 이하, 1/50 이하, 1/100 이하로 저하된, 보체 단백질에 대한 결합 활성이다. 보체 단백질에 대한 Fc 영역의 결합 활성은, 아미노산 치환, 삽입, 부가, 또는 결실 등의 아미노산의 개변에 의해 저하시킬 수 있다.

[0712] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체의 pH 중성역 및/또는 pH 산성역에 있어서의 (인간) FcRn에 대한 결합 활성의 평가는, 전술과 마찬가지로 행해도 된다.

[0713] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체를 제작하기 위한 항체 정상 영역의 개변 방법은, 예를 들어, 복수의 정상 영역 아이소타입(IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4)을 검토하여, pH 산성역에 있어서의 항원에 대한 결합 활성이 저하되고, 및/또는, pH 산성역에 있어서의 해리 속도가 빨라지는 아이소타입을 선택하는 것에 기초해도 된다. 대체적인 방법은, 천연형 IgG 아이소타입의 아미노산 서열에 아미노산 치환을 도입하여, pH 산성역(예를 들어 pH 5.8)에 있어서의 항원에 대한 결합 활성을 저하시키는 것, 및/또는, pH 산성역에 있어서의 해리 속도를 증대시키는 것에 기초해도 된다. 아이소타입(IgG1, IgG2, IgG3, 및 IgG4)에 따라 항체 정상 영역의 힌지 영역의 서열이 크게 달라, 힌지 영역의 아미노산 서열의 차이는 항원에 대한 결합 활성에 크게 영향을 줄 수 있기 때문에, 항원이나 에피토프의 종류에 따라 적절한 아이소타입을 선택함으로써, pH 산성역에 있어서의 항원에 대한 결합 활성이 저하되고, 및/또는, pH 산성역에 있어서의 해리 속도가 빨라지는 아이소타입을 선택하는 것이 가능하다. 또한, 힌지 영역의 아미노산 서열의 차이는 항원에 대한 결합 활성에 크게 영향을 주기 때문에, 천연형 아이소타입의 아미노산 서열의 아미노산 치환 개소는, 힌지 영역일 수 있다.

[0714] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, 항원과 결합한 상태로 세포 내에 흡수된, 전술한 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의, 항원과 결합하고 있지 않는 상태에서의 세포 외로의 방출을 촉진하기 위한 당해 항체의 사용을 제공한다. 여기에서, "항원과 결합한 상태로 세포 내에 흡수된 항체의, 항원과 결합하고 있지 않는

상태에서의 세포 외로의 방출"이란, 항원과 결합한 상태로 세포 내에 흡수된 항체 모두가 항원과 결합하고 있지 않는 상태로 세포 외로 방출되는 것을 반드시 의미하는 것은 아니다. FcRn 결합 도메인을 개변하기 전(예를 들어, 항체의 pH 산성역에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성을 증대하기 전)과 비교하여, 항원과 결합하고 있지 않는 상태로 세포 외에 방출되는 항체의 비율이 높아지고 있으면 된다. 세포 외로 방출된 항체는, 항원에 대한 결합 활성을 유지하고 있는 것이 바람직하다.

[0715] "혈장 중 항원 소실능" 또는 그것과 동의의 용어는, 항체가 인비보 투여되었거나, 또는 항체가 인비보로 분비되었을 때에, 항원을 혈장 중으로부터 소실시키는 능력을 말하는 경우가 있다. 따라서, "항체의 혈장 중 항원 소실능이 증대된다"란, 항체를 투여했을 때에, 예를 들어, FcRn 결합 도메인을 개변하기 전과 비교하여, 혈장 중으로부터 항원이 소실하는 속도가 빨라지는 것을 의미할 수 있다. 항체가 혈장 중으로부터 항원을 소실시키는 활성의 증대는, 예를 들어, 가용형 항원 및 항체를 인비보 투여하고, 투여 후의 가용형 항원의 혈장 중 농도를 측정하는 것에 의해 평가하는 것이 가능하다. 가용형 항원은, 항체가 결합하고 있는 항원이어도, 또는 항체가 결합하고 있지 않는 항원이어도 되고, 그 농도는 각각 "혈장 중 항체 결합 항원 농도" 및 "혈장 중 항체 비결합 항원 농도"로서 결정할 수 있다. 후자는 "혈장 중 유리 항원 농도"와 동의이다. "혈장 중 총 항원 농도"란, 항체 결합 항원 농도와 항체 비결합 항원 농도를 합계한 농도를 의미할 수 있다.

[0716] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, 전술한 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 혈장 중 체류 시간을 길게 하는 방법을 제공한다. 천연형 인간 IgG는, 비인간 동물 유래의 FcRn에 결합할 수 있다. 예를 들어, 천연형 인간 IgG는 인간 FcRn보다 마우스 FcRn에 강하게 결합할 수 있기 때문에(Ober et al., Intl. Immunol. 13(12): 1551-1559(2001)), 상기 항체의 특성을 확인하기 위해서, 마우스에게 항체의 투여를 행할 수 있다. 다른 예로서, 그 본래의 FcRn 유전자가 파괴되어 있지만 대신에 인간 FcRn 유전자를 트랜스진(transgene)으로서 발현하는 마우스(Roopenian et al., Meth. Mol. Biol. 602: 93-104(2010))도 또한, 항체를 평가하는데 바람직하다.

[0717] 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체에 결합하고 있지 않는 유리 항원의 혈장 중 농도, 또는 총 항원 농도에 대한 유리 항원 농도의 비율을 결정하는 것이 가능하다(예를 들어, Ng et al., Pharm. Res. 23(1):95-103(2006)). 혹은, 항원이 어떠한 기능을 인비보로 나타내는 경우, 항원이 항원의 기능을 중화시키는 항체(안타고니스트 분자)와 결합하고 있는지 여부는, 그 항원의 기능이 중화되어 있는지 여부를 시험함으로써 평가하는 것도 가능하다. 항원의 기능이 중화되고 있는지 여부는, 항원의 기능을 반영하는 어떠한 인비보 마커를 측정함으로써 평가하는 것이 가능하다. 항원이 항원의 기능을 활성화하는 항체(아고니스트 분자)와 결합하고 있는지 여부는, 항원의 기능을 반영하는 어떠한 인비보 마커를 측정함으로써 평가하는 것이 가능하다.

[0718] 유리 항원의 혈장 중 농도의 측정, 혈장 중의 총 항원량에 대한 혈장 중의 유리 항원량의 비율의 측정, 및 인비보 마커의 측정 등의 측정은 특별히 한정되지 않지만, 항체가 투여되고 나서 일정 시간이 경과한 후에 측정을 행하는 것이 바람직한 경우가 있다. 개시 B의 문맥에 있어서 "항체가 투여되고 나서 일정 시간이 경과한 후"란, 특별히 한정되지 않고, 투여된 항체의 성질 등에 따라 당업자가 적절히 기간을 결정하는 것이 가능하고, 예를 들어 항체를 투여하고 나서 1일 경과 후, 3일 경과 후, 7일 경과 후, 14일 경과 후, 또는 28일 경과 후 등을 들 수 있다. 여기에서, "혈장 중 항원 농도"라는 용어는, 항체 결합 항원 농도와 항체 비결합 항원 농도의 합계인 "혈장 중 총 항원 농도", 또는 항체 비결합 항원 농도인 "혈장 중 유리 항원 농도"의 어느 하나를 의미할 수 있다.

[0719] 항원/항체 몰비는, 식: C=A/B에 의해 산출할 수 있고, 여기에서 A값은, 각 시점에서의 항원의 몰농도이고, B값은, 각 시점에서의 항체의 몰농도이고, C값은, 각 시점에서의 항체의 몰농도당의 항원의 몰농도(항원/항체 몰비)이다.

[0720] C값이 보다 작은 것은, 항체 근처의 항원 소실 효율이 보다 높은 것을 나타내고, C값이 보다 큰 것은, 항체 근처의 항원 소실 효율이 보다 낮은 것을 나타낸다.

[0721] 몇몇 태양에 있어서, 개시 B가 투여되는 경우, 항원/항체 몰비는, 인간 FcRn 결합 도메인으로서 천연형 인간 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체를 투여한 경우와 비교하여, 2배, 5배, 10배, 20배, 50배, 100배, 200배, 500배, 1,000배 또는 그 이상 저감할 수 있다.

[0722] 혈장 중 총 항원 농도 또는 항원/항체 몰비의 저하는, 당 기술분야에서 공지의 방법을 이용하여, 예를 들어 WO2011/122011의 실시예 6, 8 및 13에 기재된 바와 같이 평가할 수 있다. 보다 구체적으로는, 개시 B에 있어서

목적이 되는 항체가 마우스 카운터파트 항원과 교차 반응하지 않는 경우는, 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스 계통 32 또는 계통 276(Jackson Laboratories, Methods Mol. Biol. 602: 93-104(2010))을 이용하는 항원 항체 동시 주사 모델 또는 정상 상태 항원 주입 모델 중 어느 하나에 기초하여 평가할 수 있다. 항체가 마우스 카운터파트와 교차 반응하는 경우는, 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스 계통 32 또는 계통 276(Jackson Laboratories)에 항체를 단순히 주사하는 것에 의해 평가할 수 있다. 동시 주사 모델에서는, 항체와 항원의 혼합물을 마우스에게 투여한다. 정상 상태 항원 주입 모델에서는, 일정한 혈장 중 항원 농도를 달성하기 위해서 마우스에게 항원 용액을 충전한 주입 펌프를 매입하고, 다음에 항체를 마우스에게 주사한다. 모든 시험 항체를 동일 용량으로 투여한다. 혈장 중 총 항원 농도, 혈장 중 유리 항원 농도, 및 혈장 중 항체 농도를, 적절한 시점에서 측정할 수 있다.

[0723] 투여 2일 후, 4일 후, 7일 후, 14일 후, 28일 후, 56일 후, 또는 84일 후에 혈장 중의 총 항원 농도 또는 유리 항원 농도, 또는 항원/항체 몰비를 측정하여, 개시 B의 항체의 장기 효과를 평가할 수 있다. 바꾸어 말하면, 항체의 특성을 평가하기 위해서, 장기간의 혈장 중 항원 농도가, 항체의 투여 2일 후, 4일 후, 7일 후, 14일 후, 28일 후, 56일 후, 또는 84일 후에 혈장 중의 총 항원 농도 또는 유리 항원 농도, 또는 항원/항체 몰비를 측정하는 것에 의해 결정될 수 있다. 항체에 의해 혈장 중 항원 농도 또는 항원/항체 몰비의 저하가 달성되는지 여부는, 먼저 기재한 1개 또는 복수의 시점에서 그 저하를 평가하는 것에 의해 결정될 수 있다.

[0724] 투여 15분 후, 1시간 후, 2시간 후, 4시간 후, 8시간 후, 12시간 후, 또는 24시간 후에, 혈장 중의 총 항원 농도 또는 유리 항원 농도 또는 항원/항체 몰비를 측정하여, 개시 B의 항체의 단기 효과를 평가할 수 있다. 바꾸어 말하면, 항체의 특성을 평가하기 위해서, 단기간의 혈장 중 항원 농도가, 항체의 투여 15분 후, 1시간 후, 2시간 후, 4시간 후, 8시간 후, 12시간 후, 또는 24시간 후에 혈장 중의 총 항원 농도 또는 유리 항원 농도, 또는 항원/항체 몰비를 측정하는 것에 의해 결정될 수 있다. 인간에서의 혈장 중 체류성을 측정하는 것이 곤란한 경우에는, 마우스(예를 들어, 정상 마우스, 인간 항원 발현 트랜스제닉 마우스, 또는 인간 FcRn 발현 트랜스제닉 마우스 등) 또는 원숭이(예를 들어, 필리핀 원숭이 등)에서의 혈장 중 체류성에 기초하여, 인간에서의 혈장 중 체류성을 예측해도 된다.

[0725] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, 전술한 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체에 관한 것이다. 당해 항체의 여러 가지 실시태양은, 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에서 설명되고, 당 기술분야의 기술 상식에 반하지 않고, 또한 문맥에 있어서 모순되지 않는 한, 준용될 수 있다.

[0726] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체는, WO2013/046704에서 설명되는 바와 같이, 자기 면역 질환, 이식 거부 반응(이식편대숙주병), 다른 염증성 질환 또는 알레르기 질환으로 이환하고 있는 인간 환자를 치료하기 위한 치료용 항체로서 유리하다.

[0727] 일 실시태양에 있어서, 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체는, 개변된 당쇄를 가져도 된다. 당쇄가 개변된 항체의 예로서는, 예를 들어, 글리코실화가 개변된 항체(WO99/54342), 푸코스가 결손된 항체(WO00/61739, WO02/31140, WO2006/067847, WO2006/067913), 및 바이섹팅 GlcNAc를 갖는 당쇄를 갖는 항체(WO02/79255) 등을 들 수 있다. 일 실시태양에 있어서, 항체는 탈글리코실화되고 있어도 된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 당해 항체는, 예를 들어 WO2005/03175에 기재되어 있는 바와 같은 부위에 있어서의 글리코실화를 방해하기 위해서, 중쇄글리코실화 부위에 변이를 포함한다. 그와 같은 글리코실화되지 않는 항체는, 중쇄 글리코실화 부위를 개변하여, 즉 EU 넘버링에 의해 표시되는 치환 N297Q 또는 N297A를 도입하여, 이 단백질을 적절한 숙주 세포로 발현시키는 것에 의해, 조제 될 수 있다.

[0728] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, 이와 같은 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 포함하는, 조성물 또는 의약 조성물에 관한 것이다. 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에서의 당해 조성물 또는 당해 의약 조성물의 여러 가지 실시태양이, 당 기술분야의 통상의 기술적 지식에 반하지 않고, 또한 문맥에 있어서 모순되지 않는 한, 준용되어도 된다. 당해 조성물은, (대상으로 개시 B의 항체가 투여(적용)되었을 경우에 있어서의 당해 대상 중의,) 혈장 중 체류성을 향상시키기 위해서 이용될 수 있다.

[0729] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, 전술한 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체를 코딩하는 핵산에 관한 것이다. 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에서 핵산에 대해 설명되는 여러 가지 실시태양이, 당업자의 기술 상식에 반하지 않고, 또한 문맥에 있어서 모순되지 않는 한, 준용될 수 있다. 혹은, 개시 B는, 당해 핵산을 포함하는 벡터에 관한 것이다. 당 명세서 중의 개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에서의 그 여러 가지 실시태양이, 당업자의 기술 상식에 반하지 않고, 또한 문맥에 있어서 모순되지 않는 한, 준용될 수 있다. 혹은, 개시 B는, 당해 벡터를 포함하는 숙주 또는 숙주 세포에 관한 것이다. 당 명세서 중의

개시 A 및 B를 기재하고 있는 범위에서의 그 여러 가지 실시태양이, 당업자의 기술 상식에 반하지 않고, 또한 문맥에 있어서 모순되지 않는 한, 준용될 수 있다.

[0730] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, FcRn 결합 도메인을 포함하는 Fc 영역 개변체, 또는 해당 개변체를 포함하는 항체의 제조 방법이며, 전술한 숙주 세포를 배양하거나, 또는 전술한 숙주를 육성하여, 상기 세포의 배양물 또는 상기 숙주의 분비물 등으로부터, 당해 Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체를 회수하는 공정을 포함하는, 제조 방법에 관한 것이다. 이러한 경우, 개시 B는, (a) 천연형 IgG의 Fc 영역의 것과 비교하여, 산성 pH의 조건하에서 FcRn에 대한 증대된 결합 활성을 갖는 Fc 영역 개변체를 선택하는 공정; (b) 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 중성 pH의 조건하에서 (기존의) ADA에 대한 결합 활성이 유의하게 증대되어 있지 않은 Fc 영역 개변체를 선택하는 공정; (c) 천연형 IgG의 Fc 영역과 비교하여, 향상된 혈장 중의 체류성을 갖는 Fc 영역 개변체를 선택하는 공정; 및 (d) 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체와 비교하여, 혈장 중으로부터의 항원의 소실을 촉진할 수 있는 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 선택하는 공정 중 어느 하나 이상을 임의로 추가로 포함하는, 제조 방법을 포함해도 된다.

[0731] 여기에서, 한정은 되지 않지만, 제작된 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체와, "천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체"란, 비교의 대상이 되는 Fc 영역 부분 이외에는 서로 동일하다고 하는 것이, 개시 B의 Fc 영역 개변체의 혈장 중의 체류성을 평가하는데 있어서 바람직한 경우가 있다. 또한, FcRn은 인간 FcRn인 것이 바람직한 경우가 있다.

[0732] 예를 들어, 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 제작한 후에, BIACORE(등록상표) 또는 다른 기지 기술을 이용하여, 당해 항체와 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체의, 산성 pH(예를 들어 pH 5.8)의 조건하에서의 FcRn에 대한 결합 활성을 비교함으로써, 산성 pH의 조건하에서 당해 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되어 있는, Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체를 선택해도 된다.

[0733] 혹은, 예를 들어, 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 제작한 후에, 전기화학발광(ECL) 또는 기지 기술을 이용하여, 당해 항체와 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체의, 중성 pH의 조건하에서의 ADA에 대한 결합 활성을 비교함으로써, 중성 pH의 조건하에서 당해 ADA에 대한 결합 활성이 유의하게 증대되어 있지 않은, Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체를 선택해도 된다.

[0734] 혹은, 예를 들어, 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 제작한 후에, 예를 들어 마우스, 래트, 토끼, 개, 원숭이, 또는 인간의 혈장을 이용한 항체의 약물동태 시험을 실시함으로써, 당해 항체와, 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체를 비교하여, 당해 대상에 있어서, 혈장 중의 체류성이 향상되고 있는 것이 확인된, Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체를 선택해도 된다.

[0735] 혹은, 예를 들어, 개시 B의 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 제작한 후에, 예를 들어 마우스, 래트, 토끼, 개, 원숭이, 또는 인간의 혈장을 이용한, 항체의 약물동태 시험을 실시함으로써, 당해 항체와, 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 참조 항체를 비교하여, 혈장 중으로부터의 항원의 소실이 촉진되고 있는, Fc 영역 개변체 또는 해당 개변체를 포함하는 항체를 선택해도 된다.

[0736] 혹은, 예를 들어, 이들 선택 방법을 소망에 따라 적절히 조합해도 된다.

[0737] 일 실시태양에 있어서, 개시 B는, FcRn 결합 도메인을 포함하는 Fc 영역 개변체, 또는 당해 개변체를 포함하는 항체를 산생하는 방법에 관한 것으로, 여기에서 당해 방법은, 얻어진 Fc 영역 개변체 또는 당해 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 434위의 Ala; 438위의 Glu, Arg, Ser, 또는 Lys; 및 440위의 Glu, Asp, 또는 Gln을 포함하도록, 아미노산을 치환하는 공정을 포함한다. 추가의 실시태양에 있어서, 그와 같은 방법은, 얻어진 Fc 영역 개변체 또는 당해 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 428위의 Ile 또는 Leu, 및/또는 436위의 Ile, Leu, Val, Thr, 또는 Phe를 추가로 포함하도록, 아미노산을 치환하는 공정을 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 아미노산은, 당해 방법에 따라 산생되어 얻어진 Fc 영역 개변체 또는 당해 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 428위의 Leu, 및/또는 436위의 Val 또는 Thr을 추가로 포함하도록 치환된다.

[0738] 일 실시태양에 있어서, 개시 B는, FcRn 결합 도메인을 포함하는 Fc 영역 개변체, 또는 당해 개변체를 포함하는 항체를 산생하는 방법에 관한 것으로, 여기에서 당해 방법은, 얻어진 Fc 영역 개변체 또는 당해 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 434위의 Ala; 438위의 Arg 또는 Lys; 및 440위의 Glu 또는 Asp를 포함하도록, 아미노산을 치환하는 공정을 포함한다. 추가의 실시태양에 있어서, 그와 같은 방법은, 얻어진 Fc 영역 개변체 또는 당해 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 428위의 Ile 또는 Leu, 및/또는 436위의 Ile, Leu, Val, Thr, 또는 Phe를 추가로 포함하도록, 아미노산을 치환하는 공정을 포함한다. 추가적인 실시태양에

있어서, 아미노산은, 당해 방법에 따라 산생되어 얻어진 Fc 영역 개변체 또는 당해 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 428위의 Leu, 및/또는 436위의 Val 또는 Thr을 추가로 포함하도록 치환된다.

[0739] 일 실시태양에 있어서, 그와 같은 방법은, 434위, 438위, 및 440위의 모든 아미노산을, 각각, Ala; Glu, Arg, Ser, 또는 Lys; 및 Glu, Asp, 또는 Gln으로 치환하는 공정을 포함한다. 추가의 실시태양에 있어서, 그와 같은 방법은, 얻어진 Fc 영역 개변체 또는 당해 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 428위의 Ile 또는 Leu, 및/또는 436위의 Ile, Leu, Val, Thr, 또는 Phe를 추가로 포함하도록, 아미노산을 치환하는 공정을 포함한다. 추가적인 실시태양에 있어서, 아미노산은, 당해 방법에 따라 산생되어 얻어진 Fc 영역 개변체 또는 당해 개변체를 포함하는 항체가, EU 넘버링에 따른, 428위의 Leu, 및/또는 436위의 Val 또는 Thr를 추가로 포함하도록 치환된다.

[0740] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는, 전술한 개시 B의 임의의 제조 방법에 의해 얻어지는 Fc 영역 개변체 또는 당해 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체에 관한 것이다.

[0741] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 B는 이하의 공정을 포함하는, 산성 pH에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성이 증대된 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의, (기존의) ADA에 대한 결합 활성을 저하시키는 방법; 및 산성 pH(예를 들어 pH 5.8)에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성이 증대되고, 또한 기존의 ADA에 대한 결합 활성이 저하된, Fc 영역 개변체의 제조 방법을 제공한다: (a) 참조 항체와 비교하여, 산성 pH에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성이 증대된, Fc 영역(개변체)을 포함하는 항체를 제공하는 공정, 및 (b) 당해 Fc 영역에 있어서, EU 넘버링에 따른, (i) 434위의 Ala에 의한 아미노산 치환; (ii) 438위의 Glu, Arg, Ser 또는 Lys에 의한 아미노산 치환; 및 (iii) 440위의 Glu, Asp 또는 Gln에 의한 아미노산 치환, (iv) 경우에 따라, 428위의 Ile 또는 Leu에 의한 아미노산 치환; 및/또는 (v) 경우에 따라, 436위의 Ile, Leu, Val, Thr 또는 Phe에 의한 아미노산 치환을 도입하는 공정.

[0742] 몇몇 실시태양에 있어서, 공정(a)에 있어서의 바람직한 Fc 도메인(개변체)은 인간 IgG의 Fc 도메인(개변체)이다. 또한, 산성 pH에 있어서의 FcRn에 대한 결합 활성을 증대시켜, pH 중성역(예를 들어 pH 7.4)에 있어서의 (기존의) ADA에 대한 결합 활성을 감소시키기 위해서, Fc 영역(개변체)은, (a) N434A/Q438R/S440E; (b) N434A/Q438R/S440D; (c) N434A/Q438K/S440E; (d) N434A/Q438K/S440D; (e) N434A/Y436T/Q438R/S440E; (f) N434A/Y436T/Q438R/S440D; (g) N434A/Y436T/Q438K/S440E; (h) N434A/Y436T/Q438K/S440D; (i) N434A/Y436V/Q438R/S440E; (j) N434A/Y436V/Q438R/S440D; (k) N434A/Y436V/Q438K/S440E; (l) N434A/Y436V/Q438K/S440D; (m) N434A/R435H/F436T/Q438R/S440E; (n) N434A/R435H/F436T/Q438R/S440D; (o) N434A/R435H/F436T/Q438K/S440E; (p) N434A/R435H/F436T/Q438K/S440D; (q) N434A/R435H/F436V/Q438R/S440E; (r) N434A/R435H/F436V/Q438R/S440D; (s) N434A/R435H/F436V/Q438K/S440E; (t) N434A/R435H/F436V/Q438K/S440D; (u) M428L/N434A/Q438R/S440E; (v) M428L/N434A/Q438R/S440D; (w) M428L/N434A/Q438K/S440E; (x) M428L/N434A/Q438K/S440D; (y) M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; (z) M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440D; (aa) M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440E; (ab) M428L/N434A/Y436T/Q438K/S440D; (ac) M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E; (ad) M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440D; (ae) M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440E; (af) M428L/N434A/Y436V/Q438K/S440D; (ag) L235R/G236R/S239K/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E; 및 (ah) L235R/G236R/A327G/A330S/P331S/M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는, 치환된 아미노산의 조합을 포함한다.

[0743] 임의로, 당해 방법은, (c) 제작된 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 (기존의) ADA에 대한 결합 활성이, 상기 참조 항체의 결합 활성과 비교하여 저하되어 있는 것을 확인하는 공정을 추가로 포함해도 된다.

[0744] 혹은, 당해 방법은, 중성 pH에 있어서의 (기존의) ADA에 대한 항체의 결합 활성을 유의하게 증대시키지 않고, 항원과 결합한 상태로 세포 내에 흡수된 항체의, 항원과 결합하고 있지 않는 상태에서의 세포 외로의 방출을 촉진하는 방법으로서 이용해도 된다.

[0745] 개시 C

[0746] 개시 C는, 이하에 상술하는 항IL-8 항체, 당해 항체를 코딩하는 핵산, 당해 항체를 포함하는 의약 조성물, 당해 항체의 제조 방법, 및 IL-8이 관련하는 질환의 치료에 있어서의 당해 항체의 사용에 관한 것이다. 한편, 이하에 기재된 용어의 의미는, 당업자 공지의 실시태양에 더하여, 당 명세서 중의 개시 C에 대해 설명되는 기재의 모든 것이, 당업자의 기술 상식에 반하지 않고 준용되어도 된다.

[0747] I. 개시 C의 범위에 있어서의 정의

[0748] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "산성 pH"란, 예를 들어 pH 4.0으로부터 pH 6.5까지에서 선택될 수 있는 pH를 가리킨다. 일 실시태양에서는, 산성 pH는, pH 4.0, pH 4.1, pH 4.2, pH 4.3, pH 4.4, pH 4.5, pH 4.6, pH 4.7, pH 4.8, pH 4.9, pH 5.0, pH 5.1, pH 5.2, pH 5.3, pH 5.4, pH 5.5, pH 5.6, pH 5.7, pH 5.8, pH 5.9, pH 6.0, pH 6.1, pH 6.2, pH 6.3, pH 6.4, 또는 pH 6.5를 가리키지만 이들로 한정되지 않는다. 특정의 실시태양에 있어서, 산성 pH라는 용어는, pH 5.8을 가리킨다.

[0749] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "중성 pH"란, 예를 들어 pH 6.7로부터 pH 10.0까지에서 선택될 수 있는 pH를 가리킨다. 일 실시태양에서는, 중성 pH는, pH 6.7, pH 6.8, pH 6.9, pH 7.0, pH 7.1, pH 7.2, pH 7.3, pH 7.4, pH 7.5, pH 7.6, pH 7.7, pH 7.8, pH 7.9, pH 8.0, pH 8.1, pH 8.2, pH 8.3, pH 8.4, pH 8.5, pH 8.6, pH 8.7, pH 8.8, pH 8.9, pH 9.0, pH 9.5, 또는 pH 10.0을 가리키지만 이들로 한정되지 않는다. 특정의 실시태양에 있어서, 중성 pH라는 용어는, pH 7.4를 가리킨다.

[0750] 개시 C에 있어서의 "IL-8"이라고 하는 용어는, 특별히 지시하지 않는 한, 모든 척추동물, 영장류(예를 들어 인간, 필리핀 원숭이, 히말라야 원숭이), 및 그 외의 포유류(예를 들어, 개나 토끼) 유래의 임의의 천연형 IL-8을 가리킨다. 이 "IL-8"이라고 하는 용어는, 전장의 IL-8, 프로세싱되지 않은 IL-8, 및 세포 중에서의 프로세싱에서 유래하는 모든 형태의 IL-8도 포함한다. 이 "IL-8"이라고 하는 용어는 또한, 천연형 IL-8의 파생물, 예를 들어, 스플라이스 개변체나 알렐 개변체도 포함한다. 예시적인 인간 IL-8의 아미노산 서열을, 서열 번호: 66에서 나타냈다.

[0751] "항IL-8 항체" 및 "IL-8에 결합하는 항체"라고 하는 용어는, 항체가 IL-8을 표적으로 하는 것에 의해 진단제 및/또는 치료제로서 유용한 충분한 친화성으로, IL-8과 결합할 수 있는 항체를 가리킨다.

[0752] 일 실시태양에 있어서, 무관계의 비IL-8 단백질에 대한 항IL-8 항체의 결합의 정도는, 예를 들어, IL-8에 대한 항체의 결합 중 약 10% 미만이어도 된다.

[0753] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "친화성"이란 일반적으로, 분자(예를 들어 항체)의 단일 결합 부위와 그의 결합 파트너(예를 들어 항원) 사이의 비공유결합적인 상호작용의 총 합계의 강도를 의미한다. 특별히 지시하지 않는 한, 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "결합 친화성"이란, 결합쌍의 멤버(예를 들어 항체와 항원) 사이의 1:1 상호작용을 반영하는 고유의 결합 친화성을 의미한다. 분자 X의 그 파트너 Y에 대한 친화성은, 일반적으로, 해리 상수(KD)로서 나타낼 수 있다. 결합 친화성은, 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 기재된 것을 포함하는 당업자에게 공지의 방법을 이용하여 측정해도 된다.

[0754] 어느 실시태양에 있어서, IL-8에 결합하는 항체는, 예를 들어 ≤1000nM, ≤100nM, ≤10nM, ≤1nM, ≤0.1nM, ≤0.01nM, 또는 ≤0.001nM(예를 들어, 10^{-8}M이나 그 미만, 10^{-8}M 내지 10^{-13}M, 10^{-9}M 내지 10^{-13}M)의 해리 상수(KD)를 가질 수 있다.

[0755] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "항체"라고 하는 용어는 가장 넓은 의미에 있어서 사용되고, 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 소망하는, 항원에 대한 결합 활성을 나타내는 한은, 모노클로날 항체, 폴리클로날 항체, 다중특이성 항체(예를 들어, 이중특이성 항체) 및 항체 단편을 포함한다.

[0756] 참조 항체와 "동일 에피토프에 결합하는 항체"란, 참조 항체의 그 항원에 대한 결합을 예를 들어 50%, 60%, 70%, 또는 80% 또는 그 이상 저지하는 항체를 가리키고, 반대로, 참조 항체는, 항체의 그 항원에 대한 결합을 예를 들어 50%, 60%, 70%, 또는 80% 또는 그 이상 저지한다. 여기에서, 예시적인 경합 어세이를 이용할 수도 있지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0757] "키메라 항체"는, 중쇄 및/또는 경쇄의 일부가 특정의 공급원 또는 종에서 유래하고, 나머지 부분이 다른 공급원 또는 종에서 유래하는 항체를 가리킨다.

[0758] "인간화"항체란, 비인간 HVR에서 유래하는 아미노산 잔기와, 인간 FR에서 유래하는 아미노산 잔기를 포함하는 키메라 항체를 가리킨다. 어느 실시태양에서는, 인간화 항체는, 실질적으로 적어도 1개, 전형적으로는 2개의 가변 영역을 포함해도 되고, 당해 가변 영역에서는, 모든(또는 실질적으로 모든) HVR(예를 들어 CDR)은, 비인간 항체의 HVR에 상당하고, 모든(또는 실질적으로 모든) FR은, 인간 항체의 FR에 상당한다. 인간화 항체는, 경우에 따라서는, 인간 항체에서 유래하는 항체 정상 영역의 적어도 일부분을 포함해도 된다.

[0759] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 사용되는 용어 "모노클로날 항체"란, 실질적으로 균일한

항체의 집단으로부터 얻어지는 항체를 의미하고, 즉, 예를 들어, 천연에 생기는 변이를 포함하거나 또는 모노클로날 항체 제제의 제조 시에 발생하는 것으로서 일반적으로 소량으로 존재하고 있는 것 등의 잠재적인 개변형 항체를 제외하고는, 집단을 구성하는 개개의 항체는 동일하고, 및/또는 동일 에피토프에 결합한다. 다른 결정기(에피토프)에 대한 다른 항체를 일반적으로 포함하는 폴리클로날 항체 조제물과는 대조적으로, 모노클로날 항체 조제물의 각 모노클로날 항체는, 항원 상의 단일한 결정(決定)기에 대한 것이다. 따라서, 수식어 "모노클로날"은, 실질적으로 균일한 항체의 집단으로부터 얻어지는 항체의 특징을 나타내고, 임의의 특정의 방법에 의한 항체의 산생을 필요로 하는 것으로서 해석되어서는 안 된다. 예를 들어, 개시 C에 따라 사용되는 모노클로날 항체는, 한정되지 않지만, 하이브리도마법, 재조합 DNA법, 파지 디스플레이법, 및 인간 면역글로불린 유전자 자리의 전부 또는 일부를 포함하는 트랜스제닉 동물을 이용하는 방법을 포함하는 여러 가지 기술에 의해 제작되고, 모노클로날 항체를 제작하기 위한 그와 같은 방법 및 다른 예시적인 방법은 본 명세서에 기재되어 있다.

[0760] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "천연형 항체"는, 천연에서 생기는 여러 가지 구조를 취하는 면역글로불린 분자를 가리킨다. 예를 들어, 천연형 IgG 항체의 일 실시태양은, 다이설파이드 결합하고 있는 2개의 동일한 경쇄와 2개의 동일한 중쇄로 이루어지는 약 150,000달톤의 헤테로 4량체 당단백질이지만, 이것으로 한정되지 않는다. N 말단으로부터 C 말단으로 향해, 각 중쇄는, 가변 중쇄 도메인 또는 중쇄 가변 도메인이라고도 불리는 가변 영역(VH)을 갖고, 3개의 정상 도메인(CH1, CH2 및 CH3)이 계속된다. 마찬가지로, N 말단으로부터 C 말단으로 향해, 각 경쇄는, 가변 경쇄 도메인 또는 경쇄 가변 도메인이라고도 불리는 가변 영역(VL)을 갖고, 정상 경쇄(CL) 도메인이 계속된다. 항체의 경쇄는, 그 정상 도메인의 아미노산 서열에 기초하여, 카파(κ)와 람다(λ)로 불리는, 2개의 타입 중 어느 하나에 할당할 수 있다. 개시 C로 이용되는 정상 도메인으로서는, 보고되어 있는 어떤 알로타입(아렐) 또는 어떤 서브클래스/아이소타입의 것이 이용되어도 된다. 중쇄 정상 영역으로서는, 한정은 되지 않지만 천연형 IgG 항체(IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4)의 정상 영역을 이용할 수 있다. 예를 들어 IgG1의 알렐로서는, IGHG1*01, IGHG1*02, IGHG1*03, IGHG1*04, 및 IGHG1*05와 같은 것이 알려져 있지만(imgt.org를 참조), 이들 모두가 인간 천연형 IgG1 서열로서 사용 가능하다. 또한, 정상 도메인의 서열은, 단일의 알렐 혹은 서브클래스/아이소타입에서 유래해도 되고, 복수의 알렐 혹은 서브클래스/아이소타입에서 유래해도 된다. 즉, 그와 같은 항체에는, 이것에 한정은 되지 않지만, 예를 들어 그 CH1은 IGHG1*01에서 유래하고, CH2는 IGHG1*02에서 유래하고, CH3은 IGHG1*01에서 유래한다고 하는 항체도 포함된다.

[0761] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "이펙터 기능"이란, 항체의 Fc 영역에 기인하는 생물학적 활성을 의미하고, 항체의 아이소타입에 의해 변할 수 있다. 항체의 이펙터 기능의 예에는, C1q 결합 및 보체 의존성 세포 장애; Fc 수용체 결합성; 항체 의존성 세포 매개성 세포장애(ADCC); 탐식작용; 세포 표면 수용체(예를 들어, B 세포 수용체)의 다운 레귤레이션; 및 B 세포 활성화가 포함되지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0762] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서의 "Fc 영역"이란 용어는, 정상 영역의 적어도 일부분을 포함하는 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 정의하기 위해서 사용된다. 이 용어는 천연형 Fc 영역과 개변형 Fc 영역을 포함한다. 천연형 Fc 영역이란, 천연형 항체의 Fc 영역을 나타낸다.

[0763] 일 실시태양에 있어서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은, Cys226 또는 Pro230의 아미노산 잔기로부터 그 중쇄의 카복실 말단까지에 걸쳐진다. 그러나, Fc 영역의 C 말단의 리신(Lys447), 또는 글리신-리신(잔기446-447)은 존재하고 있어도 존재하고 있지 않아도 된다. 특별히 명기하지 않는 한, 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 Fc 영역 또는 정상 영역의 아미노산 잔기의 번호 붙이기는, 이하의 출전, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991에 의해 기술되어 있은 바와 같이, EU 인덱스라고도 불리는, EU 넘버링 시스템에 의한다.

[0764] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "프레임워크" 또는 "FR"은, 고빈도 가변 영역(HVR) 잔기 이외의 가변 도메인 잔기이다. 통상, 가변 도메인의 FR은 4개의 FR 도메인: FR1, FR2, FR3, 및 FR4로 이루어진다. 따라서, HVR과 FR의 서열은, 통상, 다음과 같은 서열로, VH(또는 VL)에 나타난다: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4.

[0765] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "인간 컨센서스 프레임워크"는, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 프레임워크 서열의 선별에 있어서, 가장 공통되게 생기는 아미노산 잔기를 나타내는 프레임워크이다. 통상, 인간 면역글로불린 VL 또는 VH 서열은, 가변 도메인 서열의 서브그룹으로부터 선별된다. 통상, 서열의 서브그룹은, Kabat et al., Sequences of proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health

Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD(1991)에 의한 서브그룹이다.

[0766] 일 실시태양에서는, VL에 대해, 상기 서브그룹은 위에서 든 Kabat et al.에 의한 서브그룹 κI이다. 일 실시태양에서는, VH에 대해, 상기 서브그룹은 위에서 든 Kabat et al.에 의한 서브그룹 III이다.

[0767] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서의 목적을 위한 "억셉터 인간 프레임워크"는, 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크로부터 얻어지는 VL 또는 VH 프레임워크의 아미노산 서열을 포함하는 프레임워크이다. 인간 면역글로불린 프레임워크 또는 인간 컨센서스 프레임워크"로부터 얻어지는" 억셉터 인간 프레임워크는, 그와 동일한 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 기존의 아미노산 서열 치환을 포함해도 된다. 몇몇 실시태양에서는, 기존의 아미노산 치환의 수는, 10 이하, 9 이하, 8 이하, 7 이하, 6 이하, 5 이하, 4 이하, 3 이하 또는 2 이하이다. 일 실시태양에서는, VL 억셉터 인간 프레임워크는, VL 인간 면역글로불린 프레임워크 서열 또는 인간 컨센서스 프레임워크 서열과 동일하다.

[0768] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "가변 영역" 또는 "가변 도메인"이란 용어는, 항원에 대한 항체의 결합에 관여하는, 항체의 중쇄 또는 경쇄의 도메인을 가리킨다. 천연형 항체의 중쇄와 경쇄의 가변 영역(각각 VH와 VL)은, 통상, 유사한 구조를 갖고, 각 도메인은 4개의 보존된 프레임워크 영역(FR)과 3개의 고빈도 가변 영역(HVR)을 포함한다(Kindt et al., Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., page 91(2007)을 참조). 하나의 VH 또는 VL 도메인은 항원 결합 특이성을 주기에 충분하지만, 이것으로 한정되지 않는다. 더욱이, 어느 특정의 항원에 결합하는 항체는, VL 또는 VH 도메인의 상보적 라이브러리를 스크리닝하기 위해서 당해 항원에 결합하는 항체로부터 VH 또는 VL 도메인을 사용하여 단리되어도 된다. 예를 들어 Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887(1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628(1991)을 참조.

[0769] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 사용되는 "고빈도 가변 영역" 또는 "HVR"이란 용어는, 서열에 있어서 고빈도 가변이거나("상보성 결정 영역" 또는 "CDR"), 및/또는 구조적으로 정해진 루프("고도 가변 루프")를 형성하거나, 및/또는 항원 접촉 잔기("항원 접촉")를 포함하는, 항체의 가변 도메인의 각 영역을 의미한다. 일반적으로, 항체는 6개의 고빈도 가변 영역을 포함하고; VH에 3개(H1, H2, H3), VL에 3개(L1, L2, L3)가 존재한다.

[0770] 예시적인 HVR는 여기에서는 이하의 것을 포함하지만 이들로 한정되지 않는다: (a) 아미노산 잔기가 26-32(L1), 50-52(L2), 91-96(L3), 26-32(H1), 53-55(H2), 및 96-101(H3)인 고빈도 가변 루프(Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917(1987)); (b) 아미노산 잔기가 24-34(L1), 50-56(L2), 89-97(L3), 31-35b(H1), 50-65(H2), 및 95-102(H3)인 CDR(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD(1991)); (c) 아미노산 잔기가 27c-36(L1), 46-55(L2), 89-96(L3), 30-35b(H1), 47-58(H2), 및 93-101(H3)인 항원 접촉(MacCallum et al., J. Mol. Biol. 262: 732-745(1996)); 및 (d) HVR 아미노산 잔기 46-56(L2), 47-56(L2), 48-56(L2), 49-56(L2), 26-35(H1), 26-35b(H1), 49-65(H2), 93-102(H3), 및 94-102(H3)을 포함하는, (a), (b), 및/또는 (c)와의 조합.

[0771] 특별히 지시가 없는 한, 가변 영역(예를 들어 FR 잔기 등)에 있어서의 HVR 및 그 외의 잔기는, 위에서 든 Kabat et al.에 나타내는 바와 같이 번호 붙일 수 있다.

[0772] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "개체"는 포유류이다. 포유류는, 이것으로 한정되지 않지만, 길들여진 동물(예를 들어 소, 양, 고양이, 개 및 말 등), 영장류(예를 들어 인간, 및 원숭이와 같은 비인간 영장류 등), 토끼, 및 설치류(마우스나 래트 등)를 포함한다. 어느 실시태양에서는, "개체"는 인간이다.

[0773] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "단리된" 항체란, 그 천연의 환경의 구성 요소로부터 분리된 것이다. 몇몇 실시태양에서는, 항체는 예를 들어 크로마토그래피에 의해(예를 들어 이온 교환 또는 역상 HPLC), 또는 전기영동에 의해(예를 들어 SDS-PAGE, 등전점 전기영동(IEF), 캐필러리 전기영동), 95% 초과 또는 99% 초과의 측정 순도까지 정제된다. 항체의 순도의 측정법의 리뷰는 예를 들어 Flatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87(2007)을 참조한다.

[0774] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "단리된" 핵산이란, 자연 환경의 요소로부터 분리된 핵산 분자를 가리킨다. 단리된 핵산은, 핵산 분자를 통상 포함하는 세포에 포함되는 핵산 분자를 포함하지만, 해당 핵산 분자는, 염색체 밖에 존재하거나 그 천연의 염색체 위치와는 상이한 위치에 존재하고 있다.

[0775] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "항IL-8 항체를 코딩하는 단리된 핵산"이란, 항IL-8 항체의 중쇄 및 경쇄(또는 그의 단편)를 코딩하는 1개 이상의 핵산 분자를 가리키고, 그와 같은 핵산은 예를 들어

하나의 벡터 내 또는 별개의 벡터 내에 있거나, 숙주 세포 중의 하나 이상의 위치에 존재하고 있다.

[0776] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "숙주 세포", "숙주 세포주", 및 "숙주 세포 배양물"이라고 하는 용어는, 호환적으로 이용되고, 외래 핵산이 도입된 세포를 가리키며, 이것은 그의 자손도 포함한다. 숙주 세포는 "형질 전환체" 및 "형질 전환된 세포"를 포함하고, 이것은, 초대 형질 전환 세포도, 계대 횟수에 관계없이 그것에서 유래하는 자손도 포함한다. 자손은, 그 모세포와 핵산의 내용에 있어서 완전하게 동일하지 않을 수도 있고, 변이를 포함하고 있을 수도 있다. 당초에 형질 전환한 세포에서 선택된 또는 스크리닝된 것과 동일한 기능적 또는 생물학적 활성을 갖는 변이체 자손도 여기에는 포함된다.

[0777] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 이용되는 "벡터"라고 하는 용어는, 그것에 연결된 다른 핵산을 증폭시킬 수 있는 핵산 분자를 가리킨다. 이 용어는, 숙주 세포에 도입되어 그 게놈 중에 도입된 벡터, 및, 자기 복제 핵산 구조로서의 벡터를 포함한다. 어느 벡터는, 그들이 기능적으로 연결된 핵산의 발현을 지시할 수 있다. 이와 같은 벡터는 당 명세서에 있어서 "발현 벡터"라고 나타난다.

[0778] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서, 용어 "패키지 삽입물"은, 효능, 용법, 용량, 투여, 병용 요법, 금기에 대한 정보, 및/또는 그와 같은 치료용 제품의 사용에 관한 경고를 포함하는, 치료용 제품의 상용 패키지에 관습적으로 포함되어 있는 설명서를 가리키기 위해서 사용된다.

[0779] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서, 참조 폴리펩티드 서열에 관한 "퍼센트(%) 아미노산 서열 동일성"이란, 최대의 퍼센트 서열 동일성을 얻기 위해서 필요하면 갭을 도입하고, 여하한 보존적 치환도 서열 동일성의 일부라고 생각하지 않는 것으로 하여, 서열 얼라인먼트 후에 참조 폴리펩티드 서열의 아미노산 잔기와 동일한 후보 서열 중의 아미노산 잔기의 퍼센트로서 정의된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적을 위한 얼라인먼트는, 당업자의 기량의 범위에 있는 여러 가지의 방법, 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN, Megalign(DNASTAR) 소프트웨어, 또는 GENETYX(등록상표)(Genetyx Co., Ltd.)와 같은 공적으로 입수 가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하는 것에 의해 달성 가능하다. 당업자이면, 비교되는 서열의 완전 길이에 대해서 최대의 얼라인먼트를 달성하기 위해서 필요한 임의의 알고리즘을 포함하는, 서열 얼라인먼트를 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다. 그러나, 여기에서의 목적을 위해서는, % 아미노산 서열 동일성값은, 예를 들어 서열 비교 컴퓨터 프로그램 ALIGN-2를 사용하는 것에 의해 얻을 수 있다. ALIGN-2는 제넨텍크사에 의해 제작되고, ALIGN-2의 소스 코드는 미국 저작권청, 워싱턴 D.C., 20559에 사용자용 서류와 함께 제출되어 미국 저작권 등록번호 TXU510087로 등록되어 있다. ALIGN-2 프로그램은 제넨텍크사, 사우스 샌프란시스코, 캘리포니아로부터 공적으로 입수 가능하거나, 당해 소스 코드로부터 컴파일된다. ALIGN-2 프로그램은, UNIX(등록상표) operating system, 예를 들어 디지털 UNIX(등록상표) V4.0D에서의 사용을 위해서 컴파일된다. 모든 서열 비교 파라미터는, ALIGN-2 프로그램에 의해 설정되고 변동하지 않는다.

[0780] 아미노산 서열 비교에 ALIGN-2가 이용되는 상황에서는, 주어진 아미노산 서열 A의, 주어진 아미노산 서열 B에 대한 % 아미노산 서열 동일성(혹은, 주어진 아미노산 서열 B에 대해서 특정의 % 아미노산 서열 동일성을 가지는 또는 포함하는 주어진 아미노산 서열 A라고 할 수도 있다)은 다음과 같이 계산된다: 분율 X/Y의 100배. 여기에서, X는 서열 얼라인먼트 프로그램 ALIGN-2에 의한 A 및 B의 프로그램 얼라인먼트에 의해 완전 일치로서 스코어링된 아미노산 잔기의 수이며, Y는 B의 전체 아미노산 잔기수이다. 아미노산 서열 A의 길이가 아미노산 서열 B의 길이와 다른 경우, A의 B에 대한 % 아미노산 서열 동일성은, B의 A에 대한 % 아미노산 서열 동일성과는 다르다는 것이 이해될 것이다. 특별히 예고하지 않는 한은, 여기에서의 모든 % 아미노산 서열 동일성값은, 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 나타낸 바와 같이 ALIGN-2 컴퓨터 프로그램을 이용하여 얻을 수 있다.

[0781] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 "의약 조성물"이란, 통상, 질환의 치료, 예방, 검사, 또는 진단을 위한 약제를 말한다. "약학적으로 허용되는 담체"란, 의약 조성물 중에 있는 유효 성분 이외의 구성 요소를 가리키고, 대상(subject)에 대해서 무해한 것이다. 그와 같은 약학적으로 허용되는 담체는, 이것으로 한정되지 않지만, 완충액, 부형제, 안정제, 보존제를 포함한다.

[0782] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 사용되는 곳의 "치료(treatment)"(및 그 문법적인 베리에이션, 예를 들어 "치료(treat)", 또는 "치료(treating)")는, 치료되고 있는 개체의 자연스러운 경과를 변경하기 위한 임상적 개입을 의미하고, 이것은, 예방을 위해 또는 임상적 병리의 과정 중에 실시할 수 있다. 치료의 바람직한 효과에는, 이하에 한정되지 않지만, 질병의 발생 또는 재발의 방지, 증상의 완해, 질병의 임의의 직접적 또는 간접적 병리적 결과의 저감, 전이의 방지, 질병의 진행 속도의 저감, 질병 상태의 회복 또는 완화, 및 완해 또는 개선된 예후가 포함된다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는 질환 또는 질병의 진행을 늦추기 위해서 이용될 수 있다.

[0783] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체나, 의약 조성물의, "유효량"이란, 소망되는 치료적 또는 예방적 결과를 달성하는데 필요한 기간, 필요한 용량으로 사용되었을 경우에 유효한 양을 의미한다.

[0784] II. 조성물과 방법

[0785] 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, IL-8에 대한 pH 의존적인 친화성을 갖는 항IL-8 항체가 의약 조성물로서 이용 가능한 것에 기초한다. 개시 C의 항체는, 예를 들어, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 진단이나 치료에 유익하다.

[0786] A. 예시적인 항IL-8 항체

[0787] 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, IL-8에 대해서 pH 의존적인 친화성을 갖는 항IL-8 항체를 제공한다.

[0788] 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 이하 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열에 있어서 적어도 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 7개, 또는 8개의 아미노산의 치환을 포함하는 서열을 포함하고, IL-8에 대해서 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체를 제공한다: (a) 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; (f) 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0789] 다른 실시태양에 있어서, 개시 C는, 이하 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열 중 적어도 어느 1개에 있어서, 적어도 1개의 아미노산의 치환을 포함하고, 또한 IL-8에 대해서 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체를 제공한다: (a) 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 68의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 69의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 71의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 번호: 72의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0790] 아미노산은, 특별한 지정이 없는 한, 다른 어떠한 아미노산로 치환되어도 된다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서의 1개 또는 복수의 아미노산의 치환을 포함한다: (a) 서열 번호: 67의 서열의 1위의 아스파라긴산; (b) 서열 번호: 67의 서열의 2위의 티로신; (c) 서열 번호: 67의 서열의 3위의 티로신; (d) 서열 번호: 67의 서열의 4위의 류신; (e) 서열 번호: 67의 서열의 5위의 세린; (f) 서열 번호: 68의 서열의 1위의 류신; (g) 서열 번호: 68의 서열의 2위의 아이소류신; (h) 서열 번호: 68의 서열의 3위의 아르기닌; (i) 서열 번호: 68의 서열의 4위의 아스파라긴; (j) 서열 번호: 68의 서열의 5위의 리신; (k) 서열 번호: 68의 서열의 6위의 알라닌; (l) 서열 번호: 68의 서열의 7위의 아스파라긴; (m) 서열 번호: 68의 서열의 8위의 글리신; (n) 서열 번호: 68의 서열의 9위의 티로신; (o) 서열 번호: 68의 서열의 10위의 트레오닌; (p) 서열 번호: 68의 서열의 11위의 아르기닌; (q) 서열 번호: 68의 서열의 12위의 글루타민산; (r) 서열 번호: 68의 서열의 13위의 티로신; (s) 서열 번호: 68의 서열의 14위의 세린; (t) 서열 번호: 68의 서열의 15위의 알라닌; (u) 서열 번호: 68의 서열의 16위의 세린; (v) 서열 번호: 68의 서열의 17위의 발린; (w) 서열 번호: 68의 서열의 18위의 리신; (x) 서열 번호: 68의 서열의 19위의 글리신; (y) 서열 번호: 69의 서열의 1위의 글루타민산; (z) 서열 번호: 69의 서열의 2위의 아스파라긴; (aa) 서열 번호: 69의 서열의 3위의 티로신; (ab) 서열 번호: 69의 서열의 4위의 아르기닌; (ac) 서열 번호: 69의 서열의 5위의 티로신; (ad) 서열 번호: 69의 서열의 6위의 아스파라긴산; (ae) 서열 번호: 69의 서열의 7위의 발린; (af) 서열 번호: 69의 서열의 8위의 글루타민산; (ag) 서열 번호: 69의 서열의 9위의 류신; (ah) 서열 번호: 69의 서열의 10위의 알라닌; (ai) 서열 번호: 69의 서열의 11위의 티로신; (aj) 서열 번호: 70의 서열의 1위의 아르기닌; (ak) 서열 번호: 70의 서열의 2위의 알라닌; (al) 서열 번호: 70의 서열의 3위의 세린; (am) 서열 번호: 70의 서열의 4위의 글루타민산; (an) 서열 번호: 70의 서열의 5위의 아이소류신; (ao) 서열 번호: 70의 서열의 6위의 아이소류신; (ap) 서열 번호: 70의 서열의 7위의 티로신; (aq) 서열 번호: 70의 서열의 8위의 세린; (ar) 서열 번호: 70의 서열의 9위의 티로신; (as) 서열 번호: 70의 서열의 10위의 류신; (at) 서열 번호: 70의 서열의 11위의 알라닌; (au) 서열 번호: 71의 서열의 1위의 아스파라긴; (av) 서열 번호: 71의 서열의 2위의 알라닌; (aw) 서열 번호: 71의 서열의 3위의 리신; (ax) 서열 번호: 71의 서열의 4위의 트레오닌; (ay) 서열 번호: 71의 서열의 5위의 류신; (az) 서열 번호: 71의 서열의 6위의 알라닌; (ba) 서열 번호: 71의 서열의 7위의 아스파라긴산; (bb) 서열 번호: 72의 서열의 1위의 글루타민; (bc) 서열 번호: 72의 서열의 2위의 히스티딘; (bd) 서열 번호: 72의 서열의 3위의 히스티딘; (be) 서열 번호: 72의 서열의 4위의 페닐알라닌; (bf) 서열 번호: 72의 서열의 5위의 글리신; (bg) 서열 번호: 72의 서열의 6위의 페닐알라닌; (bh) 서열 번호: 72의 서열의 7위의 프롤린; (bi) 서열 번호: 72의 서열

의 8위의 아르기닌; 및 (bj) 서열 번호: 72의 서열의 9위의 트레오닌.

[0791] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서의 1개 또는 복수의 아미노산의 치환을 포함한다: (a) 서열 번호: 68의 서열의 6위의 알라닌; (b) 서열 번호: 68의 서열의 8위의 글리신; (c) 서열 번호: 68의 서열의 9위의 티로신; (d) 서열 번호: 68의 서열의 11위의 아르기닌; 및 (e) 서열 번호: 69의 서열의 3위의 티로신.

[0792] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치의 아미노산의 치환의 조합을 포함한다: (a) 서열 번호: 68의 서열의 6위의 알라닌; (b) 서열 번호: 68의 서열의 8위의 글리신; (c) 서열 번호: 68의 서열의 9위의 티로신; (d) 서열 번호: 68의 서열의 11위의 아르기닌; 및 (e) 서열 번호: 69의 서열의 3위의 티로신.

[0793] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 68의 서열의 9위의 티로신; (b) 서열 번호: 68의 서열의 11위의 아르기닌; 및 (c) 서열 번호: 69의 서열의 3위의 티로신의 위치의 아미노산의 치환을 포함한다.

[0794] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 68의 서열의 6위의 알라닌; (b) 서열 번호: 68의 서열의 8위의 글리신; (c) 서열 번호: 68의 서열의 9위의 티로신; (d) 서열 번호: 68의 서열의 11위의 아르기닌; 및 (e) 서열 번호: 69의 서열의 3위의 티로신의 위치의 아미노산의 치환을 포함한다.

[0795] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 68의 서열의 6위의 알라닌의 아스파라긴산으로의 치환; (b) 서열 번호: 68의 서열의 11위의 아르기닌의 프롤린으로의 치환; 및 (c) 서열 번호: 69의 서열의 3위의 티로신의 히스티딘으로의 치환을 포함한다.

[0796] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 68의 서열의 8위의 글리신의 티로신으로의 치환; (b) 서열 번호: 68의 서열의 9위의 티로신의 히스티딘으로의 치환을 포함한다.

[0797] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 68의 서열의 6위의 알라닌의 아스파라긴산으로의 치환; (b) 서열 번호: 68의 서열의 8위의 글리신의 티로신으로의 치환; (c) 서열 번호: 68의 서열의 9위의 티로신의 히스티딘으로의 치환; (d) 서열 번호: 68의 서열의 11위의 아르기닌의 프롤린으로의 치환; 및 (e) 서열 번호: 69의 서열의 3위의 티로신의 히스티딘으로의 치환을 포함한다.

[0798] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2를 포함한다.

[0799] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0800] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 67의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1, 서열 번호: 73의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2 및 서열 번호: 74의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3을 포함한다.

[0801] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치에서의 1개 또는 복수의 아미노산의 치환을 포함한다: (a) 서열 번호: 70의 서열의 8위의 세린; (b) 서열 번호: 71의 서열의 1위의 아스파라긴; (c) 서열 번호: 71의 서열의 5위의 류신; 및 (d) 서열 번호: 72의 서열의 1위의 글루타민. 추가적인 실시태양에서는, 항IL-8 항체는, 이들의 치환 중, 임의의 2개, 3개, 또는 모든 4개의 조합을 포함한다.

[0802] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하로 이루어지는 군으로부터 선택되는 위치의 아미노산의 치환의 조합을 포함한다: (a) 서열 번호: 70의 서열의 8위의 세린; (b) 서열 번호: 71의 서열의 1위의 아스파라긴; (c) 서열 번호: 71의 서열의 5위의 류신; 및 (d) 서열 번호: 72의 서열의 1위의 글루타민. 추가적인 실시태양에서는, 항IL-8 항체는, 이들의 치환 중, 임의의 2개, 3개, 또는 모든 4개의 조합을 포함한다.

[0803] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 71의 서열의 1위의 아스파라긴; (b) 서열 번호: 71의 서열의 5위의 류신; 및 (c) 서열 번호: 72의 서열의 1위의 글루타민의 위치의 아미노산의 치환을 포함한다.

[0804] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 70의 서열의 8위의 세린; (b) 서열 번호: 71의 서열의 1위의 아스파라긴; (c) 서열 번호: 71의 서열의 5위의 류신; 및 (d) 서열 번호: 72의 서열의 1위의 글루타민의 위치의 아미노산의 치환을 포함한다.

[0805] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 71의 서열의 1위의 아스파라긴의 리신으로의 치환; (b) 서열 번호: 71의 서열의 5위의 류신의 히스티딘으로의 치환; 및 (c) 서열 번호: 72의 서열의 1위의 글루타민의 리신으로의 치환을 포함한다.

[0806] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 70의 서열의 8위의 세린의 글루타민산으로의 치환; (b) 서열 번호: 71의 서열의 1위의 아스파라긴의 리신으로의 치환; (c) 서열 번호: 71의 서열의 5위의 류신의 히스티딘으로의 치환; 및 (d) 서열 번호: 72의 서열의 1위의 글루타민의 리신으로의 치환을 포함한다.

[0807] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2를 포함한다.

[0808] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0809] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 70의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1, 서열 번호: 75의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2, 및 서열 번호: 76의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3을 포함한다.

[0810] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 77의 서열의 55위의 알라닌; (b) 서열 번호: 77의 서열의 57위의 글리신; (c) 서열 번호: 77의 서열의 58위의 티로신; (d) 서열 번호: 77의 서열의 60위의 아르기닌; (e) 서열 번호: 77의 서열의 84위의 글루타민; (f) 서열 번호: 77의 서열의 87위의 세린; 및 (g) 서열 번호: 77의 서열의 103위의 티로신의 위치의 아미노산의 치환을 포함한다.

[0811] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, (a) 서열 번호: 77의 서열의 55위의 알라닌의 아스파라긴산으로의 치환; (b) 서열 번호: 77의 서열의 57위의 글리신의 티로신으로의 치환; (c) 서열 번호: 77의 서열의 58위의 티로신의 히스티딘으로의 치환; (d) 서열 번호: 77의 서열의 60위의 아르기닌의 프롤린으로의 치환; (e) 서열 번호: 77의 서열의 84위의 글루타민의 트레오닌으로의 치환; (f) 서열 번호: 77의 서열의 87위의 세린의 아스파라긴산으로의 치환; 및 (g) 서열 번호: 77의 서열의 103위의 티로신의 히스티딘으로의 치환을 포함한다.

[0812] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역을 포함한다.

[0813] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0814] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함한다. 상기 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항IL-8 항체는, pH 의존적으로 IL-8에 결합하는 항IL-8 항체여도 된다. 상기 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항IL-8 항체는, 인비보(예를 들어 혈장 중)에서 IL-8 중화 활성이 안정되게 유지되는 항IL-8 항체여도 된다. 상기 서열 번호: 78의 아미노산 서열을 포함하는 중쇄 가변 영역 및 서열 번호: 79의 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하는 항IL-8 항체는, 면역원성이 낮은 항체여도 된다.

[0815] 또한, 대체적인 태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하의 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열 중 적어도 어느 1개에 있어서, 적어도 1개의 아미노산의 치환을 포함하고, 또한 IL-8에 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체도 포함한다: (a) 서열 번호: 102의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 103의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 104의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 105의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 106의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 번호: 107의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0816] 또한, 대체적인 태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하의 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열에 있어서, 적어도 1개의 아미노산의 치환을 포함하고, 또한 IL-8에 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체도 포함한다: (a) 서열 번호: 108의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 109의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 110의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 111의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 112의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 번호: 113의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0817] 또한, 대체적인 태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하의 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열 중 적어도 어느 1개에 있어서, 적어도 1개의 아미노산의 치환을 포함하고, 한편 IL-8에 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체도 포함한다: (a) 서열 번호: 114의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 115의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 116의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 117의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 118의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 번호: 119의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0818] 또한, 대체적인 태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하의 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열 중 적어도 어느 1개에 있어서, 적어도 1개의 아미노산의 치환을 포함하고, 또한 IL-8에 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체도 포함한다: (a) 서열 번호: 120의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 121의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 122의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 123의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 124의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 번호: 125의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0819] 또한, 대체적인 태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하의 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열 중 적어도 어느 1개에 있어서, 적어도 1개의 아미노산의 치환을 포함하고, 또한 IL-8에 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체도 포함한다: (a) 서열 번호: 126의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 127의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 128의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 129의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 130의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 번호: 131의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0820] 또한, 대체적인 태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하의 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열 중 적어도 어느 1개에 있어서, 적어도 1개의 아미노산의 치환을 포함하고, 또한 IL-8에 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체도 포함한다: (a) 서열 번호: 132의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 133의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 134의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 135의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 136의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 번호: 137의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0821] 또한, 대체적인 태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 이하의 (a) 내지 (f)의 아미노산 서열 중 적어도 어느 1개에 있어서, 적어도 1개의 아미노산의 치환을 포함하고, 또한 IL-8에 pH 의존적인 친화성을 갖는, 항IL-8 항체도 포함한다: (a) 서열 번호: 138의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H1; (b) 서열 번호: 139의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H2; (c) 서열 번호: 140의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-H3; (d) 서열 번호: 141의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L1; (e) 서열 번호: 142의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L2; 및 (f) 서열 번호: 143의 아미노산 서열을 포함하는 HVR-L3.

[0822] 일 실시태양에 있어서, 개시 C의 항IL-8 항체는, IL-8의 중화 활성을 갖는다. IL-8의 중화 활성이란, IL-8이 나타내는 생물학적 활성을 저해하는 활성을 나타내거나, 또는 IL-8이 그 수용체에 결합하는 것을 저해하는 활성을 나타내도 된다.

[0823] 대체적인 태양에 있어서, 개시 C의 항IL-8 항체는, pH 의존적으로 IL-8에 결합하는 항IL-8 항체이다. 개시 C의 문맥에 있어서, pH 의존적으로 IL-8에 결합하는 항IL-8 항체라는 것은, 중성 pH에서의 IL-8에 대한 결합 친화성에 비해, 산성 pH에서의 IL-8에 대한 결합 친화성이 감소되어 있는 항체를 가리킨다. 예를 들어, pH 의존적인 항IL-8 항체에는, 산성 pH에 있어서보다 중성 pH에 있어서의 쪽이 IL-8에 대해서 높은 친화성을 갖는 항체가 포함된다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, IL-8에 대해서 산성 pH에 있어서의 친화성보다 중성 pH에 있어서의 친화성 쪽이, 적어도 2배, 3배, 5배, 10배, 15배, 20배, 25배, 30배, 35배, 40배, 45배, 50배, 55배, 60배, 65배, 70배, 75배, 80배, 85배, 90배, 95배, 100배, 200배, 400배, 1000배, 10000배, 또는 그 이상 높다. 결합 친화성을 측정하기 위해서는, 특별히 한정은 되지 않지만, 표면 플라즈몬 공명법(BIACORE(등록상표) 등)이 이용될 수 있다. 결합 속도 상수(kon)와 해리 속도 상수(koff)는, 결합 및 해리의 센서그램을 동시에 피팅시키는 것에 의한 단순 일대일 랭뮤어 결합 모델(simple one-to-one Langmuir binding model)에 기초하여 BIACORE(등록상표) T200 Evaluation Software(GE Healthcare)를 이용하여 산출할 수 있다. 평형 해리 상수(KD)는, koff/kon비로서 산출된다. pH에 따라 결합 친화성이 상이한 항체를 스크리닝하기 위해서는, 특별히 한정은 되지 않지만, 표면 플라즈몬 공명법(BIACORE(등록상표) 등) 외에도, ELISA법이나 결합 평형 제외법(Kinetic Exclusion Assay; KinExA(상표)) 등을 이용할 수도 있다. pH 의존적 IL-8 결합능이란, pH 의존적으로 IL-8에 결합한다고 하는 성질을 의미한다. 또한, 항체가 IL-8에 복수회 결합 가능한가 여부는, WO2009/125825에 기재된 방법에 따라 판단하는 것이 가능하다.

[0824] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 중성 pH에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수(KD)가 작은 것이 바람직하다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 중성 pH에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 0.3nM 이하이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 중성 pH에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 0.1nM 이하이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 중성 pH에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 0.03nM 이하이지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0825] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, pH 7.4에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수(KD)가 작은 것이 바람직하다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 7.4에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 0.3nM 이하이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 7.4에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 0.1nM 이하이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 7.4에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 0.03nM 이하이지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0826] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 산성 pH에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수(KD)가 큰 것이 바람직하다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 산성 pH에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 3nM 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 산성 pH에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 10nM 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 산성 pH에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 30nM 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0827] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, pH 5.8에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수(KD)가 큰 것이 바람직하다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 5.8에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 3nM 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 5.8에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 10nM 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 5.8에 있어서의 IL-8에 대한 해리 상수가 예를 들어 30nM 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0828] 일 실시태양에 있어서, 개시 C의 항IL-8 항체는, IL-8에 대해서, 산성 pH에 있어서의 결합 친화성보다 중성 pH에 있어서의 결합 친화성이 높은 것이 바람직하다.

[0829] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 중성 pH에 있어서의 해리 상수에 대한 산성 pH에 있어서의 해리 상수의 비[KD(산성 pH) /KD(중성 pH)]가 예를 들어 30 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 중성 pH에 있어서의 해리 상수에 대한 산성 pH에 있어서의 해리 상수의 비[KD(산성 pH) /KD(중성 pH)]가 예를 들어 100 이상, 예를 들어, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 또는 9500이지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0830] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, pH 7.4에 있어서의 해리 상수에 대한 pH 5.8에 있어서의 해리 상수의 비[KD(pH 5.8) /KD(pH 7.4)]가 30 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 7.4에 있어서의 해리 상수에 대한 pH 5.8에 있어서의 해리 상수의 비[KD(pH 5.8) /KD(pH 7.4)]가 예를 들어 100 이상, 예를 들어, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000, 3500, 4000, 4500, 5000, 5500, 6000, 6500, 7000, 7500, 8000, 8500, 9000, 또는 9500이지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0831] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 산성 pH에 있어서의 해리 속도 상수(koff)가 큰 것이 바람직하다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 산성 pH에 있어서의 해리 속도 상수가 예를 들어 0.003(1/s) 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 산성 pH에 있어서의 해리 속도 상수가 예를 들어 0.005(1/s) 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, 산성 pH에 있어서의 해리 속도 상수가 예를 들어 0.01(1/s) 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0832] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, pH 5.8에 있어서의 해리 속도 상수(koff)가 큰 것이 바람직하다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 5.8에 있어서의 해리 속도 상수가 예를 들어 0.003(1/s) 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 5.8에 있어서의 해리 속도 상수가 예를 들어 0.005(1/s) 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는, pH 5.8에 있어서의 해리 속도 상수가 예를 들어 0.01(1/s) 이상이지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0833] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 용액 중(예를 들어 PBS 중)에서 IL-8 중화 활성이 안정되게 유지되는 것이 바람직하다. 용액 중에서 당해 활성이 안정되게 유지되는지 여부는, 당해 용액에 첨가한 개시 C의 항체의 IL-8 중화 활성이, 어느 기간, 어느 온도에서 보관한 전과 후에 변화되는지 여부를 측정하는 것으로 확인 가능하다. 일 실시태양에서는, 보관 기간은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 1주간, 2주간, 3주간, 또는 4주간이다. 일 실시태양에서는, 보관 온도는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 25℃, 30℃, 35℃, 40℃, 또는 50℃이다. 일 실시태양에서는, 보관 온도는 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 40℃이며, 보관 기간은 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 2주간이다. 일 실시태양에서는, 보관 온도는 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 50℃이며, 보관 기간은 이것으로 한정되는 것은 아니지

만, 예를 들어 1주간이다.

[0834] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 인비보(예를 들어 혈장 중)에서 IL-8 중화 활성이 안정되게 유지되는 것이 바람직하다. 당해 활성이 인비보에서 안정되게 유지되는지 여부는, 동물(예를 들어 마우스) 혹은 인간의 혈장에 첨가한 개시 C의 항체의 IL-8 중화 활성이, 어느 기간, 어느 온도에서 보관한 전과 후에 변화되는지 여부를 측정하는 것으로 확인 가능하다. 일 실시태양에서는, 보관 기간은 이들로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 1주간, 2주간, 3주간, 또는 4주간이다. 일 실시태양에서는, 보관 온도는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 25℃, 30℃, 35℃, 또는 40℃이다. 일 실시태양에서는, 보관 온도는 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 40℃이며, 보관 기간은 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 2주간이다.

[0835] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체가 세포 내에 흡수되는 속도는, 항체 단독 때보다, 항체가 IL-8과 복합체를 형성했을 때 쪽이 크다. 개시 C의 IL-8 항체는, 세포 외(예를 들어 혈장 중)에 있어서, IL-8과 복합체를 형성하고 있지 않을 때보다 IL-8과 복합체를 형성하고 있을 때 쪽이 세포 내에 흡수되기 쉽다.

[0836] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 인간 숙주에 있어서 예측되는 예측 면역원성이 저감되어 있는 것이 바람직하다. "면역원성이 낮다"란, 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 예를 들어 치료 효과를 달성하는데 충분한 기간, 충분한 양의 항체가 투여된 개체의 적어도 과반수에 있어서, 투여된 항IL-8 항체가, 생체에 의한 면역 응답을 야기하지 않는 것을 의미해도 된다. 면역 응답의 야기에는 항의약품 항체의 산생이 포함될 수 있다. "항의약품 항체의 산생이 적다"란 "면역원성이 낮다"라고 바꾸어 말하는 것도 가능하다. 인간에 있어서의 면역원성의 레벨은, T 세포 에피토프 예측 프로그램으로 추정하는 것도 가능하고, 이 T 세포 에피토프 예측 프로그램에는 Epibase(Lonza), iTope/TCED(Antitope), EpiMatrix(EpiVax) 등이 포함된다. EpiMatrix는, 면역원성을 측정하고 싶은 단백질의 아미노산 서열을 9 아미노산마다 구획지은 펩타이드 단편의 서열을 기계적으로 설계하고, 그들에 대해, 8종류의 주요한 MHC 클래스 II 알렐(DRB1*0101, DRB1*0301, DRB1*0401, DRB1*0701, DRB1*0801, DRB1*1101, DRB1*1301, 및 DRB1*1501)에 대한 결합능을 예측하여, 목적이 되는 단백질의 면역원성을 예측하는 시스템이다(De Groot et al., Clin. Immunol. May; 131(2):189-201(2009)). 항IL-8 항체의 아미노산 서열 중의 아미노산이 개변된 서열을, 상기의 T 세포 에피토프 예측 프로그램을 이용하여 해석하여, 면역원성이 저감된 서열을 설계할 수 있다. 개시 C의 항IL-8 항체의 면역원성을 저감시키기 위한 바람직한 아미노산 개변 부위의 비한정예로서 서열 번호: 78로 표시되는 항IL-8 항체의 중쇄 서열 중의 Kabat 넘버링에 따른 81위, 및/또는 82b위의 아미노산을 들 수 있다.

[0837] 일 실시태양에서는, 개시 C는, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 참조 항체를 이용했을 때보다 당해 개체로부터의 IL-8의 소실을 촉진하는 방법을 제공한다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 참조 항체를 이용했을 때보다 개체로부터의 IL-8의 소실을 촉진시키는 것에 있어서의, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 참조 항체를 이용했을 때보다 개체로부터의 IL-8의 소실을 촉진시키는데 사용하기 위한, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체에 관한 것이다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 참조 항체를 이용했을 때보다 인비보에서의 IL-8의 소실을 촉진하기 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체를 포함하는, 참조 항체를 이용했을 때보다 IL-8의 소실을 촉진하기 위한 의약 조성물에 관한 것이다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체를 대상으로 투여하는 공정을 포함하는, 참조 항체를 이용했을 때보다 IL-8의 소실을 촉진하는 방법에 관한 것이다. 개시 C의 실시태양에 있어서의 참조 항체란, 개시 C의 항체를 취득하기 위해서 개변을 실시하기 전의 항IL-8 항체, 또는 산성 pH 및 중성 pH의 양방에서의 IL-8 결합 친화성이 강한 항체를 가리킨다. 참조 항체는, 서열 번호: 83 및 서열 번호: 84의 아미노산 서열을 포함하는 항체나, 서열 번호: 89 및 서열 번호: 87을 포함하는 항체여도 된다.

[0838] 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체가 IL-8과 결합한 후에 세포외 매트릭스에 결합하는 것을 특징으로 하는, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체를 포함하는, 의약 조성물을 제공한다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체가 IL-8과 결합한 후에 세포외 매트릭스와 결합하는 것을 특징으로 하는 의약 조성물의 제조에 있어서의, 개시 C에 기재된 항IL-8 항체의 사용에 관한 것이다.

[0839] 상기 어느 실시태양에 있어서도, 항IL-8 항체는 인간화되어 있어도 된다.

[0840] 일 태양에 있어서, 개시 C의 항체는, 상기에서 제공된 실시태양의 어느 하나의 중쇄 가변 영역, 및 상기에서 제공된 실시태양의 어느 하나의 경쇄 가변 영역을 포함한다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체는 서열 번호: 78의 중쇄 가변 영역과 서열 번호: 79의 경쇄 가변 영역을 각각 포함하고, 그들 서열의 번역 후 수식도 포함할 수

있다.

[0841] 추가적인 태양에 있어서, 몇몇 상기 실시태양에 의한 항IL-8 항체는, 이하의 섹션 1 내지 7에 기재되는 어떠한 특징도, 단독으로 또는 조합하여 도입시킬 수 있다.

[0842] 1. 키메라 항체 및 인간화 항체

[0843] 어느 실시태양에서는, 개시 C로 제공되는 항체는 키메라 항체여도 된다. 어느 키메라 항체는, 예를 들어 미국 특허 제4,816,567호나 Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984) 등에 기재되어 있다. 어느 예에서는, 키메라 항체는 비인간 가변 영역(예를 들어, 원숭이와 같은 비인간 영장류, 또는 마우스, 래트, 햄스터, 토끼에서 유래하는 가변 영역)과 인간의 정상 영역을 포함해도 된다.

[0844] 어느 실시태양에서는, 키메라 항체는 인간화 항체이다. 전형적으로는, 비인간 항체는, 모(母)인 비인간 항체의 특이성과 친화성을 유지하면서, 인간에서의 면역원성을 감소시키기 위해서 인간화된다. 일반적으로는, 인간화 항체는 1개 이상의 가변 영역을 포함하고, 여기에서 HVR, 예를 들어 CDR(또는 그 일부)는 비인간 항체에서 유래하고, FR(또는 그 일부)는 인간 항체 서열에서 유래한다. 인간화 항체는, 임의로, 인간 정상 영역의 적어도 일부를 포함할 수도 있다. 몇몇 실시태양에서는, 인간화 항체 내의 몇 가지 FR 잔기는, 예를 들어, 항체의 특이성이나 친화성을 유지 또는 개선시키기 위해서, 비인간 항체(예를 들어 HVR 잔기의 유래가 된 항체)의 대응하는 잔기로 치환되어 있어도 된다.

[0845] 인간화 항체 및 그의 제작 방법은, 예를 들어 Almagro et al., Front. Biosci. 13:1619-1633(2008)에 리뷰되어 있고, 더욱이, 예를 들어 이하에 기술되어 있다: Riechmann et al., Nature 332:323-329(1988); Queen et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 86:10029-10033(1989); 미국 특허 제5,821,337호, 동 제7,527,791호, 동 제6,982,321호, 및 동 제7,087,409호; Kashmiri et al., Methods 36:25-34(2005)(특이성 결정 영역(SDR) 이식에 대해 기재); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498(1991)("리서페싱(resurfacing)"에 대해 기재); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60(2005) ("FR 셔플링"에 대해 기재); 및 Osbourn et al., Methods 36:61-68(2005) 및 Klimka et al., Br. J. Cancer 83:252-260(2000)(FR 셔플링에 이르는 "가이드하 선택"에 대해 기재).

[0846] 인간화에 사용되는 인간 프레임워크 영역은, 이것들에 한정되지 않지만, "베스트-피트"법을 이용하여 선택된 프레임워크 영역(예를 들어 Sims et al. J. Immunol. 151:2296(1993)을 참조할 것), 중쇄 또는 경쇄의 가변 영역이 있는 특정의 서브그룹의 인간 항체의 컨센서스 서열에서 유래하는 프레임워크 영역(예를 들어 Carter et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285(1992)와 Presta et al., J. Immunol., 151:2623(1993)을 참조할 것), 및 FR 라이브러리의 스크리닝에서 유래하는 프레임워크 영역을 포함한다(예를 들어 Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684(1997)과 Rosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618(1996)을 참조할 것).

[0847] 2. 항체 단편

[0848] 어느 실시태양에서는, 개시 C로서 제공되는 항체는 항체 단편이어도 된다. 항체 단편은, 이들로 한정되는 것은 아니지만, Fab, Fab', Fab'-SH, $F(ab')_2$, Fv, 및 scFv 단편, 그리고 이하에 기술하는 그 외의 단편을 포함한다.

어느 항체 단편의 리뷰에 대해서는 Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134(2003)을 참조한다. scFv 단편의 리뷰에 대해서는, 예를 들어, Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), pp. 269-315(1994)나, WO 93/16185, 미국 특허 제5,571,894호, 미국 특허 제5,587,458호를 참조한다.

[0849] 다이아보디는, 2가 또는 이중특이성이며, 2개의 항원 결합 부위를 갖는 항체 단편이다. 예를 들어, EP 404,097; WO 1993/01161; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134(2003); 및 Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448(1993) 등을 참조한다. 트리아보디나 테트라보디도 Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134(2003)에 기재되어 있다.

[0850] 싱글 도메인 항체는, 항체의 중쇄 가변 도메인의 모두 또는 일부, 또는 경쇄 가변 도메인의 모두 또는 일부를 포함하는 항체 단편이다. 어느 실시태양에서는, 싱글 도메인 항체는 인간 싱글 도메인 항체여도 된다(Domantis, Inc., Waltham, MA; 예를 들어 미국 특허 제6,248,516 B1호를 참조할 것). 항체 단편은, 이것에 한정되지 않지만, 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 기술되어 있는 바와 같은 재조합 숙주 세포(예를 들어 대장균 및 파지)에 의한 산생에 더하여, 미가공 항체의 단백질분해적 소화 등을 포함하는, 여러 가지 방법으로 제작할 수 있다.

[0851] 3. 인간 항체

[0852] 어느 실시태양에서는, 개시 C로 제공되는 항체는, 인간 항체여도 된다. 인간 항체는, 당 기술분야에서 기지의 여러 가지 기술에 의해 제작할 수 있다. 인간 항체는 일반적으로, van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74(2001)이나 Lonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459(2008)에 기재되어 있다. 인간 항체는, 인간 가변 영역을 갖는 미가공 항체 또는 미가공 인간 항체를 항원에 응답하여 산생하도록 개변된 트랜스제닉 동물에 면역원을 투여함으로써, 조제될 수 있다. 이와 같은 동물은 전형적으로는 전부 또는 일부의 인간 면역글로불린 유전자좌위(loci)를 포함하고, 이것은, 동물(비인간)의 면역글로불린 유전자좌위와 치환되거나, 염색체 밖에 존재하거나, 또는 동물의 염색체 내로 무작위로 도입된다. 이와 같은 트랜스제닉 마우스에 있어서, 동물(비인간)의 면역글로불린 유전자좌위는, 통상 불활성화되고 있다. 트랜스제닉 동물로부터 인간 항체를 취득하는 방법의 리뷰에 대해서는, 이하를 참조한다: Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125(2005). XENOMOUSE™ 기술에 대해서는, 미국 특허 제6,075,181호, 동 제6,150,584호를 참조한다. HUMAB™ 기술에 대해서는, 미국 특허 제5,770,429호를 참조한다. K-M MOUSE™ 기술에 대해서는, 미국 특허 제7,041,870호를 참조한다. VELOCIMOUSE™ 기술에 대해서는, 미국 특허출원공개 US 2007/0061900을 참조한다.

[0853] 이러한 동물로부터 산생된 미가공 항체 유래의 인간 가변 영역은, 예를 들어 다른 인간 정상 영역과 조합 등에 의해, 더욱 개변되어도 된다. 인간 항체는, 하이브리도마에 기초한 방법으로도 제작할 수 있다. 인간 모노클로날 항체의 산생을 위한, 인간 골수종 세포주 및 마우스-인간 헤테로골수종 세포주는, 이하에 기재되어 있다(예를 들어, Kozbor, J. Immunol., 133: 3001(1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987); 및 Boerner et al., J. Immunol., 147: 86(1991)). 인간 B세포 하이브리도마에 의해 제작된 인간 항체는, Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562(2006)에 기술되어 있다. 추가적인 방법으로서는, 예를 들어 미국 특허 제7,189,826호에 기재된 하이브리도마 세포주로부터 모노클로날 인간 IgM 항체의 제작 방법, 및, 예를 들어 인간-인간 하이브리도마에 대해 Ni, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268(2006)에 기재된 방법을 들 수 있다. 인간 하이브리도마 기술(트리오마 기술)은 Vollmers et al., Histol. and Histopath. 20(3):927-937(2005)와, Vollmers et al., Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology 27(3):185-91(2005)에도 기술되어 있다. 인간 항체는, 인간 유래 파지 디스플레이 라이브러리로부터 선택되는 Fv 클론 가변 도메인 서열을 단리함으로써도 산생할 수 있다. 이와 같은 가변 도메인 서열은, 바람직한 인간 정상 도메인과 조합할 수 있다. 항체 라이브러리로부터 인간 항체를 선택하는 기술은 이하에 기술되어 있다.

[0854] 4. 라이브러리 유래 항체

[0855] 개시 C의 항체는, 1개 또는 복수의 바람직한 활성을 갖는 항체에 대해 콤비나토리얼 라이브러리를 스크리닝함으로써 단리할 수 있다. 예를 들어, 파지 디스플레이 라이브러리를 제작하기 위한, 및 바람직한 결합 특성을 보유하는 항체에 대해 그와 같은 라이브러리를 스크리닝하기 위한, 여러 가지 방법이 알려져 있다. 이와 같은 방법은, Hoogenboom et al., Meth. Mol. Biol. 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001), 더욱이 예를 들어 McCafferty et al., Nature 348:552-554(1990); Clackson et al., Nature 352: 624-628(1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597(1992); Marks and Bradbury, in Meth. Mol. Biol. 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310(2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093(2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472(2004); 및 Lee et al., J. Immunol. Meth. 284(1-2): 119-132(2004) 등에서 리뷰되어 있다.

[0856] 어느 파지 디스플레이법에 있어서, VH 및 VL를 코딩하는 서열의 레퍼터리는 각각 따로 따로 폴리머라제 연쇄 반응(PCR)으로 클로닝할 수 있고, 무작위로 파지 라이브러리 중으로 재결합된다. 얻어진 파지 라이브러리에서는, Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455(1994)에서 기술되어 있는 바와 같이, 항원 결합 파지의 스크리닝을 행한다. 파지는, 전형적으로는, 단쇄 Fv(scFv) 단편으로서 또는 Fab 단편으로서 항체 단편을 제시한다.

[0857] 다른 방법으로서는, Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734(1993)에 기술되어 있는 바와 같이, 나이브 레퍼터리를(예를 들어 인간으로부터) 클로닝하고, 어떠한 면역도 없이, 넓은 범위의 비자기의 항원에 대한 및 또한 자기의 항원에 대한 단일 공급원의 항체를 제공할 수 있다.

[0858] 마지막으로, 나이브 라이브러리는, 줄기세포로부터의 재구성되어 있지 않은 V-유전자 세그먼트의 클로닝을 하여, 고도 가변 CDR3 영역을 코딩하는 무작위 서열을 포함하는 PCR 프라이머를 이용하여 인비트로로 재구성하는 것에 의해, 합성적으로 구축할 수도 있다(이하 및, Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-

388(1992)를 참조; 인간 항체 파지 라이브러리에 대한 공개 공보는, 예를 들어 미국 특허 제5,750,373호나, 미국 출원공개 2005/0079574, 2005/0119455, 2005/0266000, 2007/0117126, 2007/0160598, 2007/0237764, 2007/0292936, 및 2009/0002360 등). 인간 항체 라이브러리로부터 단리된 항체 또는 항체 단편은, 인간 항체 또는 인간 항체 단편으로 간주한다.

[0859] 5. 다중특이성 항체

[0860] 어느 실시태양에서는, 개시 C에 의해 제공되는 항체는, 예를 들어 이중특이성 항체와 같은, 다중특이성 항체여도 된다. 다중특이성 항체는, 적어도 2개의 상이한 부위에 대해서 결합 특이성을 갖는 모노클로날 항체이다.

[0861] 어느 실시태양에서는, 결합 특이성 중 하나는, IL-8에 대한 것이고, 다른 것은 그 이외의 임의의 항원에 대한 것이다.

[0862] 어느 실시태양에서는, 이중특이성 항체는 IL-8의 상이한 2개의 에피토프에 결합할 수 있다. 이중특이성 항체는 IL-8을 발현하는 세포에 세포독성이 있는 약제를 배치하기 위해서도 사용될 수 있다. 이중특이성 항체는, 전장 항체로서 또는 항체 프래그먼트로서 조제되어도 된다.

[0863] 다중특이성 항체를 제작하는 기술은, 이것에 한정되지 않지만, 상이한 특이성을 갖는 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 페어의 재조합 공발현(Milstein and Cuello, Nature 305: 537(1983)), WO 93/08829, 및 Traunecker et al., EMBO J. 10: 3655(1991)를 참조)나, "knob-in-hole"법(미국 특허 제5,731,168호 참조)을 포함한다. 다중특이성 항체는, Fc 헤테로이중분자를 제작하기 위해서 electrostatic steering effect를 이용하는 것(WO2009/089004A1)이나, 2개 이상의 항체나 프래그먼트의 크로스 링크를 하는 것(미국 특허 제4,676,980호와 Brennan et al., Science, 229: 81(1985))이나, 류신 지퍼를 이용하여 이중특이성 항체를 제작하는 것(Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553(1992))이나, "다이아보디"기술을 이용하여 이중특이성 항체 단편을 제작하는 것(Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448(1993))이나, 단쇄 Fv(scFv) 다이머를 이용하는 것(Gruber et al., J. Immunol. 152:5368(1994))에 의해, 또는 다른 방법에 의해 제작할 수 있다. 삼중특이성 항체의 조제는, 예를 들어 Tutt et al., J. Immunol. 147: 60(1991)에 기재되어 있다.

[0864] "옥토퍼스 항체"를 포함하는, 3개 이상의 기능적 항원 결합 부위를 가지도록 조작된 항체도, 당 명세서에 포함된다(예를 들어, US 2006/0025576을 참조).

[0865] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서, 항체 또는 항체 단편은, IL-8 및 그 외의 상이한 항원과도 결합하는 하나의 항원 결합 부위를 포함하는 "듀얼 액팅 Fab" 또는 "DAF"도 포함한다(예를 들어, US 2008/0069820을 참조할 것).

[0866] 6. 항체 개변체

[0867] 항체의 아미노산 서열 개변체는, 항체를 코딩하는 뉴클레오티드 서열에 적절한 개변을 도입하는 것이나, 펩타이드를 합성하는 것으로 조제할 수 있다. 이와 같은 개변은, 예를 들어, 항체의 아미노산 서열에 있어서의 잔기의 결실 및/또는 삽입 및/또는 치환을 포함한다. 결실, 삽입, 및 치환의 어떠한 조합도, 최종 구성물이, 개시 C의 문맥에 기재된 바람직한 특징을 가진 항체인 한, 당해 최종 구성물에 도달하기 위해서 이용할 수 있다.

[0868] 일 실시태양에서는, 개시 C는, 1개 이상의 아미노산 치환을 갖는 항체 개변체를 제공한다. 그와 같은 치환 부위는 항체의 어느 위치여도 된다. 보존적 치환을 위해서 이용되는 아미노산은, 표 10의 "보존적 치환"의 표제 아래에 나타난다. 보다 실질적인 변화를 가져오는 전형적인 치환을 위해서 이용되는 아미노산은, 표 10의 "전형적인 치환"의 표제 아래에 나타나고, 아미노산 측쇄 분류에 관해서 추가로 기술되어 있다.

표 10

[0869]

원래의 잔기	전형적인 치환	보존적 치환
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신	Leu
Leu (L)	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala;노르류신	Leu

[0870] 아미노산은 공통의 측쇄 특성에 기초하여 군으로 나눌 수 있다: (1) 소수성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) 중성의 친수성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) 산성: Asp, Glu; (4) 염기성: His, Lys, Arg; (5) 쇄 배향에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro; 및 (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe.

[0871] 비보존적 치환은, 이들 분류 중의 하나에 있어서의 어떤 멤버를 다른 분류로 교환하는 것을 의미하고 있다.

[0872] 아미노산의 삽입이란, 서열 중으로의 1개 또는 복수의 아미노산 잔기의 삽입, 및 N 말단 및/또는 C 말단에, 1개, 2개, 또는 3개로부터 100 또는 그 이상의 잔기를 포함하는 폴리펩티드를 융합시키는 것을 포함한다. 그와 같은 말단 삽입의 예로서는, N 말단의 메티오닐화 잔기를 갖는 항체를 포함한다. 항체 분자의 그 외의 삽입 개변체는, 효소(예를 들어 ADEPT)나 항체의 혈장 중 반감기를 연장시키는 폴리펩티드로의, 항체의 N 말단 또는 C 말단에서의 융합에 기인하는 것을 포함한다.

[0873] 7. 글리코실화된 개변체

[0874] 일 실시태양에서는, 개시 C로 제공되는 항체는, 글리코실화되어 있어도 된다. 글리코실화 부위의 항체로의 추가 또는 항체로부터의 삭제는, 글리코실화의 부위를 제작하거나 없애거나 하도록 아미노산 서열을 변경함으로써 달성 가능하다.

[0875] 항체가 Fc 영역을 포함할 때, 그것에 부가되고 있는 당쇄는 변경될 수 있다. 동물 세포에 의해 산생되는 나이브한 항체는, 전형적으로는 분기한, 2분기의 올리고당을 포함하고, 당해 올리고당은 Fc 영역의 CH2 도메인의 Asn297에 N 연결에 의해 부가되고 있다(Wright et al. TIBTECH 15:26-32(1997)를 참조). 올리고당은, 2분기의 올리고당 구조의 "줄기"에 있는 GlcNAc에 부가되어 있는 푸코스, 및 예를 들어 만노스, N-아세틸글루코사민(GlcNAc), 갈락토스, 및 시알산을 포함한다. 일 실시태양에서는, 개시 C의 항체의 올리고당의 개변은, 어느 개량된 특성을 갖는 항체 개변체를 제작하기 위해서 이루어진다.

[0876] 8. Fc 영역 개변체

[0877] 일 실시태양에서는, 1개 이상의 아미노산 개변이 개시 C에서 제공되는 항체의 Fc 영역에 도입되고, 그 결과 Fc 영역 개변체가 생긴다. Fc 영역 개변체는, 1개, 2개, 또는 3개 이상의 아미노산의 개변(예를 들어 치환)을 포

함하는 천연형 인간 Fc 영역 서열(예를 들어 인간 IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4의 Fc 영역)을 갖는 것을 포함한다.

[0878] 개시 C의 항IL-8 항체는, 이들로 한정되는 것은 아니지만, 이하의 5개의 성질 중 적어도 1개를 갖는 Fc 영역을 포함하고 있어도 된다: (a) 산성 pH에서의, 천연형 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성보다 증대된, 당해 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성; (b) 천연형 Fc 영역의 기존의 ADA에 대한 결합 친화성보다 저하된, 기존의 ADA에 대한 당해 Fc 영역의 결합 친화성; (c) 천연형 Fc 영역의 혈장 중 반감기보다 연장된, 당해 Fc 영역의 혈장 중 반감기; (d) 천연형 Fc 영역의 혈장 중 클리어런스보다 감소한, 당해 Fc 영역의 혈장 중 클리어런스; 및 (e) 천연형 Fc 영역의 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성보다 저하된, 이펙터 수용체에 대한 당해 Fc 영역의 결합 친화성. 몇몇 실시태양에서는, Fc 영역은 전술한 성질 중 2개, 3개 또는 4개를 갖는다. 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, 산성 pH에 있어서, FcRn에 대한 결합 친화성이 증대되어 있는 Fc 영역 개변체를 포함한다. FcRn에 대한 결합 친화성이 증대되어 있는 Fc 영역 개변체란, 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 항체와 비교하여, FcRn에 대한 결합 친화성이 최대로 2배, 3배, 4배, 5배, 10배, 15배, 20배, 30배, 50배, 또는 100배로 증대되어 있는 Fc 영역 개변체를 포함하지만, 이들로 한정되지 않는다.

[0879] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, 기존의 ADA에 대한 결합을 나타내지 않고, 동시에 혈장 중 체류성이 향상되고 있는, 안전하고 유리한 Fc 영역 개변체를 포함한다. 개시 C의 문맥에 있어서의 "ADA"라고 하는 용어는, 치료용 항체 상에 위치하는 에피토프에 대한 결합 친화성을 갖는 내인성 항체를 의미한다. 개시 C의 문맥에 있어서의 "기존의 ADA"라고 하는 용어는, 치료용 항체를 환자에게 투여하기 이전부터 환자의 혈중에 존재하여, 검출될 수 있는 항의약품 항체를 의미한다. 기존의 ADA는, 류마토이드 인자를 포함한다. 기존의 ADA에 대한 결합 친화성이 낮은 Fc 영역 개변체란, 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 항체와 비교하여, ADA에 대한 결합 친화성이 1/10 이하, 1/50 이하, 또는 1/100 이하로 저하되어 있는 Fc 영역 개변체를 포함하지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0880] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, 보체 단백질에 대해서 결합 친화성이 낮거나 또는 보체 단백질에 결합하지 않는, Fc 영역 개변체를 포함한다. 보체 단백질은 C1q를 포함한다. 보체 단백질에 대한 결합 친화성이 낮은 Fc 영역 개변체란, 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 항체와 비교하여, 보체 단백질에 대한 결합 친화성이 1/10 이하, 1/50 이하, 또는 1/100 이하로 저하되어 있는 Fc 영역 개변체를 포함하지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0881] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성이 낮거나 또는 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성을 갖지 않는, Fc 영역 개변체를 포함한다. 이펙터 수용체는, 한정되지 않지만, FcγRI, FcγRII, 및 FcγRIII을 포함한다. FcγRI은, 한정되지 않지만, FcγRIa, FcγRIb 및 FcγRIc, 및 이들의 아류형을 포함한다. FcγRII는, 한정되지 않지만, FcγRIIa(2개의 알로타입 R131 및 H131을 갖는다) 및 FcγRIIb를 포함한다. FcγRIII는, 한정되지 않지만, FcγRIIIa(2개의 알로타입 V158 및 F158을 갖는다) 및 FcγRIIIb(2개의 알로타입 FcγRIIIb-NA1 및 FcγRIIIb-NA2를 갖는다)를 포함한다. 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성이 낮은 Fc 영역 개변체란, 천연형 IgG의 Fc 영역을 포함하는 항체의 결합 친화성과 비교하여, 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성이 적어도 1/10 이하, 1/50 이하, 또는 1/100 이하로 저하되어 있는 Fc 영역 개변체를 포함하지만 이들로 한정되지 않는다.

[0882] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, 천연형 Fc 영역과 비교하여 EU 넘버링에 따른 235위, 236위, 239위, 327위, 330위, 331위, 428위, 434위, 436위, 438위, 및 440위로 이루어지는 군의 위치 중 어느 하나에 1개 이상의 아미노산의 치환을 포함하는, Fc 영역을 포함한다.

[0883] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, 천연형 Fc 영역과 비교하여 EU 넘버링에 따른 235위, 236위, 239위, 428위, 434위, 436위, 438위, 및 440위에 아미노산의 치환을 포함하는, Fc 영역을 포함한다.

[0884] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, 천연형 Fc 영역과 비교하여 EU 넘버링에 따른 235위, 236위, 327위, 330위, 331위, 428위, 434위, 436위, 438위, 및 440위에 아미노산의 치환을 포함하는, Fc 영역을 포함한다.

[0885] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, L235R, G236R, S239K, A327G, A330S, P331S, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E로 이루어지는 군으로부터 선택되는 아미노산 치환을 1개 이상 포함하는 Fc 영역을 포함한다.

[0886] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E의 아미노산 치환을 포함하는 Fc 영역을 포함한다.

[0887] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, L235R, G236R, S239K, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E의 아미노

산 치환을 포함하는 Fc 영역을 포함한다.

[0888] 일 실시태양에서는, Fc 영역 개변체는, L235R, G236R, A327G, A330S, P331S, M428L, N434A, Y436T, Q438R, 및 S440E의 아미노산 치환을 포함하는 Fc 영역을 포함한다.

[0889] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 80의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함한다. 상기 서열 번호: 80의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, pH 의존적으로 IL-8에 결합하는 항IL-8 항체여도 된다. 상기 서열 번호: 80의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 인비보(예를 들어 혈장 중)에서 IL-8 중화 활성이 안정되게 유지될 수 있다. 상기 서열 번호: 80의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 면역원성이 낮은 항체여도 된다. 상기 서열 번호: 80의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 산성 pH(예를 들어 pH 5.8)에 있어서의 FcRn에 대한 결합 친화성이, 산성 pH에 있어서의 천연형 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성보다 증대되어 있는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 상기 서열 번호: 80의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 기존의 ADA에 대한 결합 친화성이, 천연형 Fc 영역의 기존의 ADA에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 상기 서열 번호: 80의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 혈장 중 반감기가 천연형 Fc 영역의 혈장 중 반감기보다 연장되어 있는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 상기 서열 번호: 80의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성이, 천연형 Fc 영역의 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 추가적인 실시태양에 있어서, 항IL-8 항체는, 전술한 특징 중, 임의의 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 또는 모든 7개의 조합을 포함한다.

[0890] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체는, 서열 번호: 81의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함한다. 상기 서열 번호: 81의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, pH 의존적으로 IL-8에 결합하는 항IL-8 항체여도 된다. 상기 서열 번호: 81의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 인비보(예를 들어 혈장 중)에서 IL-8 중화 활성이 안정되게 유지될 수 있다. 상기 서열 번호: 81의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 면역원성이 낮은 항체여도 된다. 상기 서열 번호: 81의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 산성 pH에 있어서의 FcRn에 대한 결합 친화성이, 천연형 Fc 영역의 FcRn에 대한 결합 친화성보다 증대되어 있는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 상기 서열 번호: 81의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 기존의 ADA에 대한 결합 친화성이, 천연형 Fc 영역의 기존의 ADA에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 상기 서열 번호: 81의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 혈장 중 반감기가 천연형 Fc 영역의 혈장 중 반감기보다 연장되어 있는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 상기 서열 번호: 81의 아미노산 서열 및/또는 서열 번호: 82의 아미노산 서열을 포함하는 항IL-8 항체는, 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성이, 천연형 Fc 영역의 이펙터 수용체에 대한 결합 친화성보다 저하되어 있는 Fc 영역을 포함할 수 있다. 추가적인 실시태양에 있어서, 항IL-8 항체는, 전술한 특징 중, 임의의 2개, 3개, 4개, 5개, 6개, 또는 모든 7개의 조합을 포함한다.

[0891] 어느 실시태양에서는, 개시 C는, 모두는 아니지만 몇 가지 이펙터 기능을 갖는 항체 개변체를 포함한다. 당해 항체 개변체는, (보체나 ADCC와 같이) 어느 이펙터 기능이 필요없거나 또는 유해한 경우에 바람직한 후보일 수 있다. 당 기술분야에서 기지의 인비트로 및/또는 인비보에서의 세포독성 어세이는, CDC 및/또는 ADCC 활성의 감소/완전한 결손을 확실히 하기 위해서 관용적으로 행해진다. 예를 들어, Fc 수용체(FcR) 결합 어세이는, 항체가 FcγR 결합이 부족하(즉 ADCC 활성이 부족하)지만 한편으로 FcRn 결합 능력은 유지하고 있음을 확인하기 위해서 행해질 수 있다.

[0892] ADCC를 중개하는 초대 배양 세포나 NK 세포는 FcγRIII만을 발현하고 있지만, 한편으로 단핵구는 FcγRI, FcγRII, 및 FcγRIII을 발현하고 있다. 조혈 세포에 있어서의 FcR의 발현은, Ravetch et al., Annu. Rev. Immunol. 9:457-492(1991) 중의 464페이지의 표 3에 정리되어 있다. 목적이 되는 분자의 ADCC 활성의 평가를 위한 인비트로 어세이의 예는, 한정하는 것은 아니지만, 미국 특허 제5,500,362호, Hellstrom, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83:7059-7063(1986), Hellstrom et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:1499-1502(1985), 미국 특허 제5,821,337호, 및 Bruggemann et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361(1987)에 기재되어 있다. 혹은, 비방사성 동위체 어세이가, 이펙터 세포 기능의 평가를 위해서 사용 가능한(예를 들어, 플로 사이토메트리에 대해서는 ACTI(상표) 비방사성 세포독성 어세이(CellTechnology, Inc. Mountain View, CA; 및

CytoTox 96(상표) 비방사성 세포독성 어세이(Promega, Madison, WI)를 참조). 이와 같은 어세이에 유익한 이펙터 세포는, 말초혈 단핵세포(PBMC)나 내추럴 킬러(NK) 세포를 포함한다.

[0893] 다른 방법으로서, 또는 추가적으로, 목적이 되는 항체 개변체의 ADCC 활성은 인비보에서, 예를 들어 Clynes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:652-656(1998)에 기재되어 있는 바와 같이, 동물 모델에서, 측정할 수 있다. C1q 결합 어세이는, 항체가 C1q에 결합할 수 없는 것, 그리고 CDC 활성을 결여한 것을 확인하기 위해서도 행해질 수 있다. 예를 들어, WO2006/029879와 WO2005/100402 중의 C1q and C3c binding ELISA를 참조한다. 보체 활성화를 평가하기 위해서, CDC 어세이를 행해도 된다(예를 들어, Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Meth. 202:163(1996); Cragg et al., Blood 101:1045-1052(2003); 및 Cragg et al., Blood 103:2738-2743(2004) 참조). FcRn 결합과 인비보에서의 클리어런스/반감기의 결정은 당 기술분야에서 기지의 방법으로 행해질 수 있다. (예를 들어 Petkova et al., Intl. Immunol. 18(12):1759-1769(2006) 참조).

[0894] 감소한 이펙터 기능을 갖는 항체는, Fc 영역의 238, 265, 269, 270, 297, 327, 또는 329위의 잔기 중 1개 이상에서의 치환을 갖는 것을 포함한다(미국 특허 제6,737,056호). 이와 같은 Fc 영역 개변체는, 265위와 297위를 알라닌으로 치환한 소위 "DANA" Fc 영역 개변체(미국 특허 제7,332,581호)를 포함하고, 265, 269, 270, 297, 또는 327위의 잔기 중 2개 이상에서의 치환을 갖는 Fc 영역 개변체를 포함한다.

[0895] FcR군에 대한 결합이 향상된 또는 감소된 항체 개변체는 이하에 기술되어 있다(예를 들어 미국 특허 제6,737,056호; WO2004/056312, Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604(2001)를 참조할 것).

[0896] 혈중 반감기가 연장되고, 산성 pH에서의 FcRn에 대한 결합이 향상된 항체는, US2005/0014934에 기재되어 있다. 이들 기재의 항체는, Fc 영역의 FcRn에 대한 결합을 상승시키는 1개 이상의 치환을 갖는 Fc 영역을 포함한다. 이와 같은 Fc 영역 개변체는, Fc 영역의 238, 256, 265, 272, 286, 303, 305, 307, 311, 312, 317, 340, 356, 360, 362, 376, 378, 380, 382, 413, 424, 또는 434위 중에서 선택되는 1개 이상에서의 치환, 예를 들어 Fc 영역의 434위에서의 치환(미국 특허 제7,371,826호)을 갖는 것을 포함한다.

[0897] Fc 영역 개변체의 다른 예에 대해서는, Duncan et al., Nature 322:738-40(1988); 미국 특허 제5,648,260호; 미국 특허 제5,624,821호; 및 WO94/29351을 참조한다.

[0898] 9. 항체 파생물

[0899] 어느 실시태양에서는, 개시 C에 있어서 제공되는 항체는, 선행 기술로서 알려져 있고 용이하게 이용 가능한 비단백질성 부분을 추가적으로 포함하기 위해서 추가로 개변되어 있어도 된다. 항체 파생물을 제작하는데 적절한 당해 부분은, 이것에 한정되지 않지만, 수용성 폴리머를 포함한다. 수용성 폴리머의 예로서는, 이것으로 한정되는 것은 아니지만, 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 에틸렌 글리콜이나 프로필렌 글리콜의 코폴리머, 카복시메틸셀룰로스, 덱스트란, 폴리바이닐알코올, 폴리바이닐피롤리돈, 폴리-1,3-다이옥솔레인, 폴리-1,3,6-트라이옥세인, 에틸렌/무수 말레산 코폴리머, 폴리아미노산(호모폴리머 및 랜덤 코폴리머), 폴리(n-바이닐피롤리돈)폴리에틸렌 글리콜, 프로프로필렌 글리콜 호모폴리머, 프롤릴프로필렌 옥사이드/에틸렌 옥사이드 코폴리머, 폴리옥시에틸화 폴리올(예를 들어 글리세롤), 폴리바이닐알코올, 및 그들의 혼합물이 있다. 폴리에틸렌 글리콜 프로피온 알데하이드는 그의 수중 안정성 때문에 공업화에 유리하다.

[0900] 폴리머는, 어떠한 분자량이어도 되고, 분기하고 있어도 분기하고 있지 않아도 된다. 항체에 부가되는 폴리머의 수는 변화해도 되고, 만약 2개 이상의 폴리머가 부가되어 있는 경우 그들은 동일해도 되고, 상이해도 된다. 일반적으로, 파생물 제작에 사용되는 폴리머의 수 및/또는 타입은, 이것에 한정되지 않지만, 항체의 파생물이 정의된 치료로 사용되는 경우에, 향상되어야 할 항체의 특정의 특성 또는 기능을 포함하는 검토에 기초하여 결정할 수 있다.

[0901] 다른 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체와, 방사선에 대한 폭로로 선택적으로 가열될 수 있는 비단백질성 부분의 컨주게이트가 제공될 수 있다. 일 실시태양에서는, 비단백질성 부분은 예를 들어 카본 나노튜브이다(예를 들어, Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605(2005)). 방사선은 어떠한 파장이어도 되고, 또한 이것에 한정되지 않지만, 인간에는 통상 무해하지만 항체-비단백질성 부분 가까이의 세포가 사멸하는 온도까지 비단백질성 부분을 가열할 수 있는 파장을 포함한다.

[0902] B. 재조합 방법과 조성물

[0903] 개시 C에 있어서의 항IL-8 항체는, 예를 들어 미국 특허 제4,816,567호에 기재된, 재조합법이나 조성물을 이용하여 제작할 수 있다. 일 실시태양에서는, 개시 C로서 제시된 항IL-8 항체를 코딩하는 단리된 핵산이

제공된다. 이와 같은 핵산은, 항체의 VL을 포함하는 아미노산 서열 및/또는 항체의 VH를 포함하는 아미노산 서열(예를 들어 항체의 경쇄 및/또는 중쇄)을 코딩하고 있어도 된다. 추가적인 실시태양에서는, 이와 같은 핵산을 포함하는 1개 이상의 벡터(예를 들어 발현 벡터)가 제공된다. 일 실시태양에서는, 이와 같은 핵산을 포함하는 숙주 세포가 제공된다. 이와 같은 일 실시태양에서는, 숙주 세포는, (1) 항체의 VL 및 항체의 VH를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터, 또는 (2) 항체의 VL을 코딩하는 핵산을 포함하는 제 1 벡터와 항체의 VH를 코딩하는 핵산을 포함하는 제 2 벡터를 포함한다(예를 들어, 이들 벡터로 형질 전환되고 있다).

[0904] 일 실시태양에서는, 숙주는 진핵생물(예를 들어 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포나 림프구 세포(예를 들어 Y0, NS0, SP20 세포))이다.

[0905] 일 실시태양에서는, 개시 C의 항IL-8 항체의 제조 방법이 제공되고, 그 제조 방법은, 상기에서 제시된 바와 같은 항IL-8 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를, 항체 발현에 적절한 조건에서 배양하는 공정, 및 임의로(예를 들어, 숙주 세포, 또는 숙주 세포 배양 배지로부터) 당해 항체를 회수하는 공정을 포함한다.

[0906] 항IL-8 항체의 재조합 산생을 위해서, 예를 들어 상기에서 기재된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산은 단리되어, 숙주 세포 내에서의 추가적인 클로닝 및/또는 발현을 위해서 1개 이상의 벡터에 삽입된다. 이와 같은 핵산은, 종래의 수법을 이용하여(예를 들어, 항체의 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 핵산에 특이적으로 결합하는 올리고 핵산 프로브를 이용하는 것에 의해) 용이하게 단리 및 서열 결정될 수 있다.

[0907] 항체를 코딩하고 있는 벡터의 발현이나 클로닝에 적절한 숙주 세포는, 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에서 기술되어 있는 원핵세포 또는 진핵세포를 포함한다. 예를 들어, 항체는, 특히 글리코실화와 Fc 이펙터 기능을 필요로 하지 않을 때에는, 세균 중에서 산생시켜도 된다. 세균에 있어서의 항체 프래그먼트와 폴리펩티드의 발현에 대해서는, 미국 특허 제5,648,237호, 동 제5,789,199호, 및 동 제5,840,523호를 참조한다(대장균에서의 항체 프래그먼트의 발현에 대해서는, Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254도 또한 참조한다). 발현 후, 항체는 가용성 획분의 세균 세포 페이스트로부터 단리되어, 더욱 정제될 수 있다.

[0908] 원핵생물에 더하여, 사상균이나 효모 등의 진핵생물의 미생물은, 항체를 코딩하고 있는 벡터의 발현 또는 클로닝을 위한 숙주로서 적절하고, 그들에는, 글리코실화 경로가 "인간화"되어 있는 사상균이나 효모의 주가 포함되어 있어, 부분적 또는 완전한 인간의 글리코실화 패턴을 갖는 항체의 산생이 가능하다. Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414(2004)와 Li et al., Nat. Biotech. 24:210-215(2006)를 참조한다.

[0909] 글리코실화한 항체의 발현을 위해서 적절한 숙주 세포는, 다세포 생물(무척추 동물이나 척추 동물)에서도 유래한다. 무척추 동물 세포의 예는, 식물이나 곤충의 세포이다. 특별히 한정되는 것은 아니지만, 바큘로바이러스는 도둑나방(spodoptera frugiperda)의 세포의 형질 전환을 위해서 곤충 세포와 함께 사용되고, 많은 바큘로바이러스주가 동정되고 있다.

[0910] 식물 세포 배양물도 숙주로서 사용할 수 있다. 미국 특허 제5,959,177호, 동 제6,040,498호, 동 제6,420,548호, 동 제7,125,978호, 및 동 제6,417,429호를 참조할 것(트랜스제닉 식물 내에서 항체를 산생시키는 PLANTIBODIES™ 기술에 대해 기술하고 있다).

[0911] 척추 동물 세포도, 숙주로서 사용할 수 있다. 예를 들어, 현탁 상태에서의 생육에 적합시킨 포유동물 세포주는 유용하다. 유용한 포유동물 숙주 세포의 그 외의 예는, SV40으로 형질 전환된 원숭이 신장 CV1주(COS-7); 인간 태아성 신주(293세포, Graham et al., J. Gen Virol. 36:59(1977)에 기재되어 있다); 베이비 햄스터 신장 세포(BHK); 마우스 서톨리 세포(TM4 세포, Mather, Biol. Reprod. 23:243-251(1980)에 기재); 원숭이 신장 세포(CV1); 아프리카 사바나 원숭이 신장 세포(VERO-76); 인간 자궁 경부암(HELA); 개 신장 세포(MDCK); 버팔로 래트 간 세포(BRL 3A); 인간 폐 세포(W138); 인간 간 세포(Hep G2); 마우스 유방 종양(MMT060562); TRI 세포(Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68(1982)에 기재되어 있다); MRC5 세포; 및 FS4 세포이다.

[0912] 다른 유용한 포유동물의 숙주 세포주에는, DHFR-CHO 세포(Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216(1980))를 포함하는 차이니즈 햄스터 난소(CHO) 세포나, Y0, NS0 및 Sp20 등의 골수종 세포주가 있지만 이들로 한정되지 않는다. 항체 산생에 적절한 그 외의 포유동물의 숙주 세포주의 리뷰에 대해서는, Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268(2003)을 참조한다.

[0913] 상기에서 제시된 바와 같은 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 숙주 세포를, 항체 발현에 적절한 조건에서 배양

함으로써 산생된 개시 C의 항체는, 숙주 세포내 또는 세포외(배지, 유즙 등)로부터 단리되어, 실질적으로 순수하고 균일한 항체로서 정제될 수 있다. 항체의 단리 및 정제는, 통상의 폴리펩티드의 정제에서 사용되고 있는 단리/정제 방법이 적합하게 사용될 수 있지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 예를 들어, 컬럼 크로마토그래피, 여과, 한외여과, 염석, 용매 침전, 용매 추출, 증류, 면역침강, SDS-폴리아크릴아마이드 겔 전기영동, 등전점 전기영동법, 투석, 및 재결정 등이 적절히 선택, 조합되어 항체가 적합하게 분리, 및 정제될 수 있지만 이들로 한정되지 않는다. 크로마토그래피로서는, 친화성 크로마토그래피, 이온 교환 크로마토그래피, 소수성 크로마토그래피, 겔 여과 크로마토그래피, 역상 크로마토그래피, 및 흡착 크로마토그래피 등을 들 수 있지만 이들로 한정되지 않는다. 이들의 크로마토그래피는, 액체 크로마토그래피, 예를 들어 HPLC 및 FPLC를 이용하여 행해지는 것이 가능하다. 친화성 크로마토그래피에 이용하는 컬럼으로서는, 프로틴 A 컬럼 및 프로틴 G 컬럼을 들 수 있지만 이들로 한정되지 않는다. 프로틴 A 컬럼으로서 Hyper D, POROS, Sepharose F.F.(Pharmacia제) 등을 들 수 있지만 이것으로 한정되지 않는다.

[0914] 세포외 매트릭스에 대한 결합 활성의 증대나, 상기 복합체의 세포 내로의 흡수의 증가라고 하는 항IL-8 항체의 성질에 주목하여, 개시 C는, 세포외 매트릭스에 대한 결합이 증대된 항체나 세포내 흡수가 증가된 항체를 선택하는 방법을 제공한다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 이하의 공정을 포함하는, IL-8에 대한 결합 활성이 pH 의존적인 가변 영역을 포함하는 항IL-8 항체의 제조 방법을 제공한다: (a) 항IL-8 항체와 세포외 매트릭스와의 결합을 평가하는 공정; (b) 세포외 매트릭스와의 결합이 강한 항IL-8 항체를 선택하는 공정; (c) 당해 항체를 코딩하는 핵산을 포함하는 벡터를 포함하는 숙주를 배양하는 공정; 및 (d) 배양 배지로부터 당해 항체를 단리하는 공정.

[0915] 세포외 매트릭스와의 결합의 평가는, 당업자에게 공지의 방법이면 특별히 한정은 되지 않고 임의의 방법으로 행할 수 있다. 예를 들어, 항체와 세포외 매트릭스의 결합을 검출하는 ELISA계를 이용하여 어세이를 행할 수 있고, 여기에서, 세포외 매트릭스가 고상화된 플레이트에 항체를 첨가하고, 그 항체에 대한 표지 항체를 첨가한다. 혹은, 예를 들어, 세포외 매트릭스를 고상화한 플레이트에, 항체와 루테늄 항체의 혼합물을 첨가하고, 항체와 세포외 매트릭스의 결합을, 루테늄의 전기화학발광에 기초하여 측정하는 전기화학발광법(ECL(Electrochemiluminescence)법)을 이용하여 그와 같은 어세이를 행할 수 있다.

[0916] 공정(a)에 있어서 세포외 매트릭스와의 결합이 평가되는 항IL-8 항체는, 항체 단독이어도 되고, IL-8과 접촉시킨 상태여도 된다. 공정(b)에 있어서 "세포외 매트릭스와의 결합이 강한 항IL-8 항체를 선택한다"란, 세포외 매트릭스와의 결합을 평가할 때에, 항IL-8 항체와 세포외 매트릭스의 결합을 나타내는 수치가, 대조로서 이용하는 항체와 세포외 매트릭스의 결합을 나타내는 수치보다 높아, 예를 들어, 2배, 3배, 4배, 5배, 6배, 7배, 8배, 9배, 10배, 20배, 50배, 100배, 또는 그 이상이어도 된다고 하는 기준에 기초하여 항IL-8 항체를 선택하는 것을 가리키지만, 당해 비는 이 예에 특별히 한정되는 것은 아니다. 항IL-8 항체와 세포외 매트릭스의 결합을 평가하는 공정에서는, IL-8의 유무 이외의 조건은 동일한 것이 바람직하다. 개변을 가한 복수의 항IL-8 항체에 대한 비교에 이용하는 대조 항IL-8 항체는, 개변 전의 항IL-8 항체여도 되고, 그 경우는 IL-8의 유무 이외의 조건은 동일한 것이 바람직하다. 구체적으로는, 개시 C의 일 실시태양에서는, IL-8과 접촉하고 있지 않는 복수의 항IL-8 항체 중, 세포외 매트릭스와의 결합을 나타내는 수치가 높은 항체를 선택하는 공정이 포함된다. 또 다른 실시태양에서는, 개시 C에는, IL-8과 접촉시킨 복수의 항IL-8 항체 중, 세포외 매트릭스와의 결합을 나타내는 수치가 높은 항체를 선택하는 것이 포함된다. 또한 대체적인 실시태양에서는, 공정(b)에 있어서 "세포외 매트릭스와의 결합이 강한 항IL-8 항체를 선택한다"란, 세포외 매트릭스와의 결합을 평가할 때에 IL-8의 유무에 따라 항체와 세포외 매트릭스에 대한 결합이 변화한다고 하는 기준에 기초하여 항체를 선택하는 것이 가능한 것을 가리킨다. 예를 들어, IL-8과 접촉시킨 항IL-8 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합을 나타내는 수치의, IL-8과 접촉시키지 않았던 항IL-8 항체의 세포외 매트릭스에 대한 결합을 나타내는 수치에 대한 비가, 2 내지 1000이어도 된다. 또한, 당해 수치의 비가, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 50, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 또는 1000이어도 된다.

[0917] C. 어세이

[0918] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에서 제공되는 항IL-8 항체는, 당 기술분야에서 기지의 여러 가지 방법에 따라, 물리적/화학적 특성 및/또는 생물학적 활성에 관해서 동정되거나 스크리닝되거나 또는 특징지을 수 있다.

[0919] 1. 결합 어세이와 그 외의 어세이

[0920] 일 태양에서는, 개시 C의 항체는, 예를 들어, ELISA나 웨스턴 블롯, 결합 평형 제외법(Kinetic Exclusion

Assay; KinExA(상표)), 및 BIACORE(GE Healthcare) 등의 장치를 이용한 표면 플라즈몬 공명법과 같은 기지의 방법으로, 항원에 대한 결합 활성을 조사할 수 있다.

[0921] 일 실시태양에서는, 결합 친화성은, BIACORE T200(GE Healthcare)을 이용하여 이하와 같이 측정 가능하다. 센서 칩 CM4(GE Healthcare) 상에 아민 커플링법으로 포착용 단백질(예를 들어, 프로틴 A/G(PIERCE))을 적당량 고정하고, 그것에 목적으로 하는 항체를 포착시킨다. 다음에, 희석된 항원액과 러닝 버퍼(참조 용액으로서: 예를 들어 0.05% tween20, 20mM ACES, 150mM NaCl, pH 7.4)를 주입하고, 센서 칩 상에 포착된 항체와 항원 분자를 상호작용시킨다. 센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl 용액(pH 1.5)이 이용되고, 측정은 지정된 온도(예를 들어 37℃, 25℃, 또는 20℃)에서 실시된다. 어느 것도 측정으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 카이네틱스 파라미터인 결합 속도 상수 kon(1/Ms), 및 해리 속도 상수 koff(1/s)에 기초하여, 각 항체의 항원에 대한 KD(M)가 산출된다. 각 파라미터의 산출에는 BIACORE T200 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용된다.

[0922] 일 실시태양에서는, IL-8의 정량은 이하와 같이 실시 가능하다. 마우스 IgG 정상 영역을 포함하는 항인간 IL-8 항체를 고정한 플레이트를 제작한다. 상기 항인간 IL-8 항체와는 경합하지 않는 인간화 IL-8 항체와 결합하고 있는 IL-8을 포함하는 용액을, 상기 고정화 플레이트에 분주(分注)하고, 교반한다. 그 후, 비오틴화된 항인간 Igκ 경쇄 항체를 첨가하여 일정 시간 반응시키고, 추가로 SULFO-Tag 라벨된 스트렙트아비딘을 첨가하여 일정 시간 반응시킨다. 어세이용 완충액을 첨가 후, 즉시 SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)으로 계측한다.

[0923] 2. 활성 어세이

[0924] 일 태양에서는, 어세이는, 생물학적 활성을 갖는 항IL-8 항체를 동정하기 위해서 제공된다. 상기 생물학적 활성에는, 예를 들어, IL-8을 중화시키는 활성, 및 IL-8의 시그널을 차단하는 활성이 포함된다. 개시 C에는 또한, 인비보 및/또는 엑소비보에서 그와 같은 생물학적 활성을 갖는 항체도 제공된다.

[0925] 일 실시태양에서는, IL-8의 중화의 정도를 결정하는 방법은, 특별히 한정되지 않지만, 이하의 방법으로도 측정하는 것이 가능하다. PathHunter™ CHO-K1 CXCR2 β-Arrestin Cell Line(DiscoveRx사, 카탈로그 번호 93-0202C2)는, 인간 IL-8 수용체의 하나로서 알려져 있는 인간 CXCR2를 발현하여, 인간 IL-8에 의한 시그널을 받으면 화학발광을 나타내도록 인공적으로 제작된 세포주이다. 당해 세포의 배양 배지에 인간 IL-8을 첨가하면, 첨가한 인간 IL-8의 농도에 의존하여, 당해 세포는 화학발광을 나타낸다. 인간 IL-8과 항인간 IL-8 항체를 함께 배양 배지 중에 첨가한 경우, 항인간 IL-8 항체는 IL-8에 의한 시그널 전달을 차단할 수 있기 때문에, 당해 세포의 화학발광은, 항체를 첨가하고 있지 않는 경우에 비하면 약하거나, 또는 전혀 검출되지 않는다. 즉, 항체가 갖는 인간 IL-8 중화 활성이 강할수록 화학발광의 정도는 약해지고, 항체가 갖는 인간 IL-8 중화 활성이 약할수록 화학발광의 정도는 강해진다. 따라서, 이 차이를 확인하는 것에 의해, 항인간 IL-8 항체가 갖는 인간 IL-8에 대한 중화 활성을 평가하는 것이 가능하다.

[0926] D. 약학적 제제

[0927] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서 기재되어 있는 항IL-8 항체를 포함하는 약학적 제제는, 바람직한 정도의 순도를 갖는 항IL-8 항체와, 1개 이상의 임의의 약학적으로 허용되는 담체(예를 들어, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980)를 참조)를 혼합하는 것에 의해, 동결건조 제제 또는 수용액 제제의 형태로 조제될 수 있다.

[0928] 약학적으로 허용되는 담체는, 일반적으로, 이용되는 용량과 농도에서 수혜자(recipient)에게 비독성이며, 이하에 한정되지 않지만, 인산, 시트르산, 히스티딘 및 다른 유기산 등의 완충액; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함하는 산화 방지제; 보존료(예를 들어 옥타데실다이메틸벤질암모늄 염화물; 헥사메토늄 클로라이드; 벤잘코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 뷰틸 또는 벤질 알코올; 메틸 또는 프로필 파라벤 등의 알킬 파라벤; 카테콜; 레조르신올; 사이클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량(약 10잔기 미만)의 폴리펩티드; 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린 등의 단백질; 폴리바이닐피롤리돈 등의 친수성 폴리머; 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신 등의 아미노산; 글루코스, 만노스, 또는 덱스트린을 포함하는 단당류, 이당류, 및 다른 당질; EDTA 등의 킬레이트화제; 수크로스, 만니톨, 트레할로스, 또는 소르비톨 등의 당; 나트륨 등의 염 형성 짝이온; 금속 착체(예를 들어, Zn-단백질 복합체); 및/또는 TWEEN(상표), PLURONICS(상표) 또는 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 등의 비이온성 계면활성제를 포함한다.

[0929] 당 명세서의 약학적으로 허용되는 담체의 예는, 추가로, 가용성 하이아루로니다제 당단백질(sHASEGP) 등의 간질성 약물 분산제, 예를 들어 인간 가용성 PH-20 하이아루로니다제 당단백질, 예를 들어, rHuPH20(HYLENEX(상표),

Baxter International, Inc.)을 포함한다. rHuPH20을 포함하는 sHASEGP와 그 사용 방법의 예는, 미국 특허 출원 공개 2005/0260186과 2006/0104968에 기재되어 있다. 일 태양에 있어서, sHASEGP는 콘드로이티나제와 같은 1개 이상의 글리코사미노글리카나제와 조합된다.

[0930] 항체의 동결건조 제제의 예는, 미국 특허 제6,267,958호에 기재되어 있다. 항체 수용액 제제는, 미국 특허 제6,171,586호와 WO2006/044908에 기재되어 있고, WO2006/044908의 제제에는 히스티딘-아세트산 완충액이 포함되어 있다.

[0931] 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서, 제제는, 치료되는 특정의 적응증을 위해서 필요한 정도의 하나 이상의 활성 성분을 포함할 수 있고, 바람직하게는, 그들은 서로 상보적으로 활성을 갖고, 부작용을 미치지 않는다. 이와 같은 활성 성분은 의도하는 목적을 위해서 유효한 양으로 조합하여 적합하게 존재한다.

[0932] 활성 성분은, 예를 들어 코아세르베이션 기술 또는 계면중합에 의해 조제된 마이크로캡슐에, 예를 들어 각각 하이드록시메틸셀룰로스 또는 젤라틴 마이크로캡슐 및 폴리-(메타크릴산 메틸) 마이크로캡슐에, 콜로이드상 드러그 딜리버리계(예를 들어, 리포솜, 알부민 마이크로스피어, 마이크로에멀션, 나노-입자 및 나노캡슐)에, 또는 매크로에멀션에 포착되어도 된다. 이와 같은 기술은, Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.(1980)에 개시되어 있다.

[0933] 서방성 조제물도 이용 가능하다. 서방성 조제물의 적합한 예는, 개시 C의 항IL-8 항체를 포함하는 소수성 고체 폴리머의 반투성 매트릭스를 포함하고, 해당 매트릭스는 성형물, 예를 들어 필름 또는 마이크로캡슐의 형태이다.

[0934] 인비보 투여에 사용되는 제제는 일반적으로 무균이다. 무균성은, 예를 들어 멸균 여과막을 통과시켜 여과하는 것에 의해 용이하게 달성된다.

[0935] E. 치료 방법과 치료용 조성물

[0936] 몇몇 실시태양에 있어서, 개시 C에서 제공되는 항IL-8 항체는 치료 방법에 이용된다.

[0937] 일 태양에 있어서, 의약 조성물로서의 사용을 위한 항IL-8 항체가 제공된다. 대체적인 태양에 있어서, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 치료에 사용하기 위한 항IL-8 항체가 제공된다. 일 실시태양에 있어서, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 치료 방법에 있어서의 사용을 위한 항IL-8 항체가 제공된다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, 유효량의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환(예를 들어 IL-8의 과잉인 존재에 기인하는 질환)을 갖는 개체를 치료하는 방법을 제공한다. 다른 실시태양에 있어서, 개시 C는, 그와 같은 방법에 있어서의 사용을 위한 항IL-8 항체를 제공한다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 유효량의 항IL-8 항체를 포함하는, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 치료용 의약 조성물에 관한 것이다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C는, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환을 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, 항IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, IL-8이 과잉으로 존재하는 질환의 치료에 있어서의 유효량의 IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. IL-8이 과잉으로 존재하는 질환으로서 염증성 각화증(마른 버짐 등), 아토피성 피부염, 및 접촉성 피부염 등의 염증성 피부 질환; 만성 관절 류머티즘, 전신성 에리테마토서스(SLE), 및 베쳇증을 포함하는 만성 염증성 질환 등의 자기 면역 질환; 크론병, 및 궤양성 대장염 등의 염증성 장 질환; B형 간염, C형 간염, 알코올성 간염, 및 약물에 의해 유도되는 알레르기성 간염 등의 염증성 간 질환; 사구체 신염 등의 염증성 신 질환; 기관지염, 및 천식 등의 염증성 호흡기 질환; 아테롬성 동맥 경화 등의 만성 염증성 혈관 질환; 다발성 경화증; 구내염; 성대염; 인공 장기/인공 혈관 사용 시에 일어나는 염증; 난소암, 폐암, 전립선암, 위암, 유방암, 흑색종, 두경부암, 및 신장암 등의 악성 종양; 감염에 의한 패혈증; 낭포성 섬유증; 폐섬유증; 및 급성 폐 손상 등을 들 수 있지만, 이들로 한정되지 않는다.

[0938] 대체적인 실시태양에서는, 개시 C는, 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적을 억제하는데 사용하기 위한 항IL-8 항체를 제공한다. "IL-8의 축적을 억제한다"란, 인비보의 기존의 IL-8의 양을 증가시키지 않는 것에 의해, 또는 인비보의 기존의 IL-8의 양을 감소시키는 것에 의해 달성되어도 된다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적을 억제하기 위해서 개체에 있어서 IL-8의 축적을 억제하기 위한 항IL-8 항체를 제공한다. 여기에서, "인비보에 존재하는 IL-8"이란, 항IL-8 항체와의 복합체를 형성하고 있는 IL-8이어도 되고, 복합체를 형성하고 있지 않는 IL-8이어도 된다. 또는, 그들의 합계로서의 모든 IL-8이어도 된다. 여기에서의 "인비보로 존재한다"란, "인비보로 세포외로 분비되고 있다"라고 하는 의미여도 된다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 유효량의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적을 억제하는 방법을 제공한다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 유효량의 항IL-8 항체를 포함하는, 생물학적 활성을 갖는

IL-8의 축적을 억제하기 위한 의약 조성물에 관한 것이다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적을 억제하기 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, 항IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 생물학적 활성을 갖는 IL-8의 축적의 억제에 있어서의, 유효량의 IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 일 실시태양에 있어서, 개시 C의 항IL-8 항체는, pH 의존적인 결합 활성을 갖지 않는 항IL-8 항체에 비해, IL-8의 축적을 억제한다. 상기 실시태양에 있어서 "개체"란 바람직하게는 인간이다.

[0939] 대체적인 실시태양에서는, 개시 C는, 혈관형성(예를 들어, 혈관신생) 저해에 있어서의 사용을 위한 항IL-8 항체를 제공한다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 유효량의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는, 개체에 있어서의 혈관신생 저해 방법, 및 당해 방법에 있어서의 사용을 위한 항IL-8 항체를 제공한다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 유효량의 항IL-8 항체를 포함하는, 혈관신생 저해를 위한 의약 조성물에 관한 것이다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 혈관신생 저해를 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, 항IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 혈관신생 저해에 있어서의 유효량의 IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 상기 실시태양에 있어서의 "개체"는 바람직하게는 인간이다.

[0940] 대체적인 태양에서는, 개시 C는, 호중구 유주 촉진의 저해에 있어서의 사용을 위한 항IL-8 항체를 제공한다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 유효량의 항IL-8 항체를 개체에게 투여하는 공정을 포함하는 개체에 있어서의 호중구 유주 촉진을 저해하는 방법, 및 당해 방법에 있어서의 사용을 위한 항IL-8 항체를 제공한다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 유효량의 항IL-8 항체를 포함하는, 개체에 있어서의 호중구 유주 촉진을 저해하기 위한 의약 조성물에 관한 것이다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 개체에 있어서의 호중구 유주 촉진을 저해하기 위한 의약 조성물의 제조에 있어서의, 항IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 일 실시태양에서는, 개시 C는, 개체에 있어서의 호중구 유주 촉진의 저해에 있어서의 유효량의 IL-8 항체의 사용에 관한 것이다. 상기 실시태양에 있어서의 "개체"는 바람직하게는 인간이다.

[0941] 대체적인 실시태양에 있어서, 개시 C는, 예를 들어 상기에 기재된 치료 방법 중 어느 하나에 있어서의 사용을 위한, 본 명세서에서 제공되는 항IL-8 항체를 포함하는 의약 조성물을 제공한다. 일 실시태양에 있어서, 의약 조성물은, 개시 C에서 제공된 항IL-8 항체, 및 약학적으로 허용되는 담체를 포함한다.

[0942] 개시 C에 있어서의 항체는, 치료에 있어서, 단독으로도 다른 약제와의 조합으로도 사용될 수 있다. 예를 들어, 개시 C의 항체는, 적어도 하나의 추가의 치료제와 동시에 투여되어도 된다.

[0943] 개시 C의 항체(및 임의의 부가적인 치료제)는, 비경구 투여, 폐내 투여, 및 비강내 투여, 및 국소 처치가 바람직한 경우에는 병소내 투여 등, 임의의 적합한 수단으로 투여될 수 있다. 비경구 주입으로서 근육내 투여, 정맥내 투여, 동맥내 투여, 복강내 투여 또는 피하 투여를 들 수 있다. 투여가 단기인가 아니면 장기인가에도 부분적으로 따르지만, 예를 들어, 정맥내 주사 또는 피하 주사와 같은 주사 등, 임의의 적절한 경로에 의해 투약을 행할 수 있다. 이것에 한정되지 않지만, 다양한 시점에 걸치는 단회 또는 복수회 투여, 볼러스 투여, 및 펄스 주입 등의 다양한 투약 스케줄을 행할 수 있다.

[0944] 바람직하게는, 개시 C의 항체는, 양호한 의료 행위에 맞춘 양식으로, 제제화되고 용량 설정되어 투여될 수 있다. 이 문맥에서 고려해야 할 인자는, 치료되는 특정의 질환, 치료되는 특정의 포유동물, 개개의 환자의 임상 상의 상태, 질환의 원인, 의약 조성물의 송달 부위, 투여 방법, 투여 스케줄, 및 의사에게 알려져 있는 그 외 인자이다. 반드시 필요하지는 않지만, 경우에 따라서는, 항체는, 문제의 질환을 예방 또는 치료하기 위해서 현재 사용되고 있는 1개 이상의 약제와 제제화될 수 있다.

[0945] 그와 같은 다른 약제의 유효량은, 제제 중의 항체의 양, 질환이나 치료의 타입, 및 그 외 상기에 기재된 다른 인자에 의존한다. 이들은 일반적으로, 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에서 기술된 동일 용량 및 동일 투여 경로로, 또는 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에서 기술된 용량의 1 내지 99%로, 또는, 경험적/임상적으로 적절하게 결정된 임의의 경로와 임의의 용량으로 사용될 수 있다.

[0946] 질환의 예방 또는 치료에 있어서의, 개시 C의 항체의 적절한 투여량은(단독으로 사용될 때도, 1개 이상의 추가의 치료제와 조합하여 사용될 때도), 치료 대상의 질환의 타입, 항체의 타입, 질환의 중증도 및 경과, 항체 개변체의 투여가 예방 목적인가 아니면 치료 목적인가, 지금까지의 치료, 환자의 임상력 및 항체에 대한 반응, 및 담당 의사의 재량에 의존한다. 항체는, 1회 또는 복수회의 처치로, 환자에게 적절히 투여된다. 질환의 타입 및 중증도에 따라, 항체 약 1㎍/kg 내지 15mg/kg(예를 들어, 0.1mg/kg 내지 10mg/kg)이, 예를 들어, 단회 투여 또는 복수회의 각각의 투여나, 또는 연속 주입 등에 의해, 환자에 대한 초회 후보 투여량이 될 수 있다. 전형적인 1일의 투여량은, 상기의 인자에 따라, 약 1mg/kg 내지 100mg/kg 또는 그 이상까지의 폭이 있어도 된다.

수일간 또는 그 이상에 걸치는 반복 투여의 경우, 상황에 따라, 질환 증상에 원하는 억제 효과가 보일 때까지 처치를 유지해도 된다. 항체의 어느 전형적인 투여량은, 예를 들어 약 0.05mg/kg 내지 약 10mg/kg의 범위에 들어갈 것이다. 따라서, 1회 이상의, 예를 들어 약 0.5mg/kg, 예를 들어 2.0mg/kg, 예를 들어 4.0mg/kg 또는 예를 들어 10mg/kg(또는 이들의 임의의 조합)의 투여량이 환자에게 투여되어도 된다. 이와 같은 투여는, 간헐적으로, 예를 들어 매주나 3주간마다에(예를 들어, 환자가 약 2 용량으로부터 약 20 용량까지, 또는 약 6 용량의 항체를 받도록) 행해져도 된다. 최초에 단회의 높은 용량의 투여가 행해지고, 이어서 1회 이상의 낮은 용량의 투여를 행해도 되지만, 다른 투여 레지멘도 유용하다. 이 치료의 진행은 통상의 기술과 어세이로 용이하게 추적 가능하다.

[0947] F. 제품

[0948] 개시 C의 또 하나의 태양으로서, 본 개시에서는, 상기에 기재된 질환의 치료, 예방, 및/또는 진단에 유용한 물질을 포함하는 제품이 제공된다. 그와 같은 제품은, 용기와 당해 용기에 부수하는 라벨 또는 첨부 문서를 포함한다. 적절한 용기에는, 예를 들어, 빈, 바이알, 및 정맥주사용 용액 백 등이 포함된다. 용기는 유리나 플라스틱 등, 여러 가지 물질로 형성되어 있어도 된다. 그와 같은 용기는, 상태를 진단, 예방, 및/또는 치료하기 위해서 그 자체가 유효한 조성물, 또는 상태를 진단, 예방, 및/또는 치료하기 위해서 유효한 다른 조성물과 조합된 조성물을 수용하고, 무균의 억세스 포트를 갖고 있어도 된다(예를 들어, 용기는 정맥주사용 용액 백이어도 되고, 피하 주사바늘로 뚫리는 스토퍼를 갖는 바이알이어도 된다). 조성물 중에서, 적어도 하나의 활성 성분은, 개시 C의 항체이다. 라벨 또는 첨부 문서는, 조성물이, 선택된 상태를 치료하는데 사용되는 것을 지시하고 있다.

[0949] 더욱이, 제품은, (a) 개시 C의 항체를 포함하는 조성물을 포함하는 제 1 용기, 및 (b) 다른 세포독성제 또는 다른 치료제를 포함하는 조성물을 포함하는 제 2 용기를 포함하고 있어도 된다. 개시 C의 실시태양에 있어서의 제품은, 조성물이 특정 상태를 치료하기 위해서 사용될 수 있음을 나타내고 있는 첨부 문서를 추가로 포함하고 있어도 된다. 대신에, 또는 추가적으로, 제품은, 예를 들어, 주사용 멸균수(BWFI), 인산 완충 생리 식염수, 링거액, 및 덱스트로스 용액 등의 약학적으로 허용되는 완충액을 포함하는 제 2(또는 제 3) 용기를 추가로 포함하고 있어도 된다. 제품은, 상업적 관점 또는 사용자의 입장에서 소망되는, 다른 완충액, 희석액, 필터, 바늘, 및 시린지 등의, 다른 물품을 추가로 포함하고 있어도 된다.

[0950] 본 명세서에 기재된 1 또는 복수의 실시태양 전체의 일부 또는 전부를 임의로 조합한 것도, 기술적으로 모순되지 않는 한 개시 C에 포함됨이, 당업자의 기술 상식에 기초하여 당업자에게는 이해된다.

[0951] 개시 A, B, 또는 C

[0952] 본 명세서에 있어서 인용된 모든 기술 배경 문헌은, 참조에 의해 본 명세서에 원용된다.

[0953] 본 명세서에 있어서, 성구 "및/또는"은, 성구 "및/또는"의 전후의 용어의 조합의 의미를 포함하고, 이것은 이 성구에 의해 적절히 연결되는 용어의 모든 조합을 포함한다고 이해된다.

[0954] 당 명세서에 있어서, 제 1, 제 2, 제 3, 제 4, · · ·등의 용어와 함께 이용되는 경우, 이들 요소는 그들 용어에 의해 한정되어야 하는 것은 아님이 이해된다. 이들 용어는 1개의 요소를 다른 요소와 구별하기 위해서만 이용되고 있는 것으로, 예를 들어, 제 1 요소를 제 2 요소라고 적고, 마찬가지로, 제 2 요소를 제 1 요소라고 적는 것은, 개시 A, B, 및 C의 범위를 일탈하지 않고 가능하다고 이해된다.

[0955] 별도 명확하게 기재하지 않는 한, 또는 문맥에 모순되지 않는 한, 본 명세서에 기재된 단수형으로 표현되는 임의의 용어는, 복수형도 또한 포함하고, 본 명세서에 기재된 복수형으로 표현되는 임의의 용어는, 단수형도 또한 포함한다.

[0956] 본 명세서에서 이용되는 용어는, 특정의 실시태양을 설명하기 위해서만 이용되며, 본 개시를 한정하는 것을 의도하는 것은 아니다. 다른 정의가 명시되어 있지 않은 한, 본 명세서에서 이용되는 용어(기술 용어 및 과학 용어를 포함한다.)는, 개시 A, B, 및 C가 속하는 기술 분야에 있어서의 당업자에 의해 넓게 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는 것으로서 해석되고, 또한, 이상화되거나 또는 과도하게 형식적인 의미에서 해석되어서는 안 된다.

[0957] 본 명세서에서 이용되는 용어 "포함한다"는, 문맥상 분명하게 다른 이해를 해야 할 경우를 제외하고, 기술된 사항(부재, 공정, 요소, 숫자 등)의 존재를 규정하는 것을 의도하는 것이고, 이 용어는 그 이외의 사항(부재, 공정, 요소, 숫자 등)이 존재하는 것을 배제하지 않는다.

[0958] 개시 A, B, 및 C의 실시태양은 모식도를 참조하면서 설명되고, 해당 도는 설명을 위해서 과장되는 경우가 있다.

[0959] 본 명세서에 기재된 수치는, 문맥에 반하지 않는 한, 당업자의 기술 상식에 기초하여, 일정한 폭을 갖는 값이라고 이해되어도 된다. 예를 들어 "1mg"이라고 하는 표현은, 일정한 변동량을 수반하는 "약 1mg"이라고 기재되어 있는 것이라고 이해된다. 예를 들어, "1 내지 5개"라고 하는 표현은, 문맥에 반하지 않는 한, "1개, 2개, 3개, 4개, 5개"로, 각각의 값이 개별 구체적으로 기재되어 있는 것이라고 이해된다.

[0960] **실시예**

[0961] 이하, 개시 A를 실시예 1 내지 4 및 21 내지 23에 의해, 개시 B를 실시예 5 내지 7, 19 및 20에 의해, 개시 C를 실시예 8 내지 19에 의해 각각 구체적으로 설명하지만, 본 개시는 이들 실시예에 제한되는 것은 아니다. 전술한 일반 기재를 고려하면 여러 다른 실시태양이 예상될 수 있음을 이해되고 싶다.

[0962] **실시예 1**

[0963] pI가 상승된 pH 의존적 인간 IL-6 수용체 결합 인간 항체의 제작

[0964] WO2009/125825에 개시되어 있는 Fv4-IgG1은, pH 의존적으로 인간 IL-6 수용체에 결합하는 항체이며, 중쇄로서 VH3-IgG1(서열 번호: 24) 및 경쇄로서 VL3-CK(서열 번호: 32)를 포함한다. Fv4-IgG1의 pI를 상승시키기 위해서, Fv4-IgG1의 가변 영역에 대해서, 음전하를 갖는 아미노산(예를 들어, 아스파라긴산, 글루타민산)의 수를 줄이는 한편으로, 양전하를 갖는 아미노산(예를 들어, 아르기닌, 리신)을 늘리기 위한 아미노산 치환의 도입을 행했다. 구체적으로는, 중쇄인 VH3-IgG1 중, Kabat 넘버링에 따른, 16위의 글루타민산을 글루타민으로, 43위의 글루타민산을 아르기닌으로, 64위의 글루타민을 리신으로, 및 105위의 글루타민산을 글루타민으로 치환하는 것에 의해, pI가 상승된 중쇄로서 VH3(High_pI)-IgG1(서열 번호: 25)을 제작했다. 마찬가지로, 경쇄인 VL3-CK 중, Kabat 넘버링에 따른, 18위의 세린을 아르기닌으로, 24위의 글루타민을 아르기닌으로, 45위의 글루타민산을 리신으로, 79위의 글루타민산을 글루타민으로, 및 107위의 글루타민산을 리신으로 치환하는 것에 의해, pI가 상승된 경쇄로서 VL3(High_pI)-CK(서열 번호: 33)를 제작했다. 한편, VL3-CK의 79위의 치환을 도입할 때에, pI를 상승시키는 목적은 아니지만, 80위의 알라닌을 프롤린으로, 83위의 알라닌을 아이소류신으로 치환하는 개변이 동시에 도입되었다.

[0965] 참고 실시예 2의 방법에 의해, 이하에 나타내는 항체를 제작했다: (a) 중쇄로서 VH3-IgG1 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는, Low_pI-IgG1; (b) 중쇄로서 VH3-IgG1 및 경쇄로서 VL3(High_pI)-CK를 포함하는, Middle_pI-IgG1; 및 (c) 중쇄로서 VH3(High_pI)-IgG1 및 경쇄로서 VL3(High_pI)-CK를 포함하는, High_pI-IgG1.

[0966] 다음에, 제작한 각 항체의 이론 pI의 산출을, GENETYX-SV/RC Ver 9.1.0(GENETYX CORPORATION)을 이용하여 당 기술분야에서 공지의 방법을 이용하여 행했다(예를 들어, Skoog et al., Trends Analyt. Chem. 5(4): 82-83(1986)을 참조되고 싶다). 한편, 항체 분자 내에 있어서, 모든 시스테인의 측쇄는 다이설파이드 결합을 형성하고 있는 것으로 하여, 시스테인 측쇄의 pKa에 대한 기여는 제외하여 계산을 실시했다.

[0967] 산출한 이론 pI값을 표 3에 나타낸다. Low_pI-IgG1의 이론 pI가 6.39였는데 대해, Middle_pI-IgG1은 8.70, High_pI-IgG1은 9.30이며, 이론 pI값이 단계적으로 상승했던 것이 나타났다.

[0968] Fv4-IgG1의 Fc 영역에 아미노산 치환을 도입함으로써, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합성을 부여하여, FcRn를 개재한 세포 내로의 흡수를 촉진시킨 Fv4-IgG1-F11(이하, Low_pI-F11라고 한다) 및 Fv4-IgG1-F939(이하, Low_pI-F939라고 한다)가 WO2011/122011에 개시되어 있다. 더욱이, Fv4-IgG1의 Fc 영역에 아미노산 치환을 도입함으로써, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcγR에 대한 결합성을 증대시켜, FcγR을 개재한 세포 내로의 흡수를 촉진시킨 Fv4-IgG1-F1180(이하, Low_pI- F1180라고 한다)이 WO2013/125667에 개시되어 있다. Fv4-IgG1-F1180에는, 동시에, 엔도솜 내의 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 결합을 증대시킴으로써, 항체의 혈장 중 체류성을 증대시키기 위한 아미노산 개변이 도입되었다. 이들 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 pI를 상승시켜, 이하에 나타내는 항체를 제작했다.

[0969] 구체적으로는, WO2011/122011에 기재된 VH3-IgG1-F11(서열 번호: 30) 및 VH3-IgG1-F939(서열 번호: 26), 및 WO2013/125667에 기재된 VH3-IgG1-F1180(서열 번호: 28) 각각에 대해, Kabat 넘버링에 따른, 16위의 글루타민산을 글루타민으로, 43위의 글루타민산을 아르기닌으로, 64위의 글루타민을 리신으로, 및 105위의 글루타민산을 글루타민으로 각각 치환하는 것에 의해, pI가 상승된 중쇄로서 VH3(High_pI)-F11(서열 번호: 31), VH3(High_pI)-F939(서열 번호: 27), 및 VH3(High_pI)-F1180(서열 번호: 29)을 제작했다.

[0970] 이들 중쇄를 이용하여, 참고 실시예 2의 방법에 의해, 이하의 항체를 제작했다: (1) 중쇄로서 VH3-IgG1-F939 및

경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Low_pI-F939; (2) 중쇄로서 VH3(High_pI)-F939 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Middle_pI-F939; (3) 중쇄로서 VH3(High_pI)-F939 및 경쇄로서 VL3(High_pI)-CK를 포함하는 High_pI-F939; (4) 중쇄로서 VH3-IgG1-F1180 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Low_pI-F1180; (5) 중쇄로서 VH3-IgG1-F1180 및 경쇄로서 VL3(High_pI)-CK를 포함하는 Middle_pI-F1180; (6) 중쇄로서 VH3(High_pI)-F1180 및 경쇄로서 VL3(High_pI)-CK를 포함하는 High_pI-F1180; (7) 중쇄로서 VH3-IgG1-F11 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Low_pI-F11; 및 (8) 중쇄로서 VH3(High_pI)-F11 및 경쇄로서 VL3(High_pI)-CK를 포함하는 High_pI-F11.

[0971] 다음에, 제작한 각 항체의 이론 pI의 산출을, GENETYX-SV/RC Ver 9.1.0(GENETYX CORPORATION)을 이용하여, 전술한 방법과 마찬가지로 실시했다. 산출한 이론 pI값을 표 3에 나타낸다. 모든 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 경우에 있어서, Low_pI, Middle_pI, High_pI의 순서로, 이론 pI값이 단계적으로 상승했다.

표 3

[0972]

항체명	이론 pI
Low_pI-IgG1	6.39
Middle_pI-IgG1	8.70
High_pI-IgG1	9.30
Low_pI-F939	6.67
Middle_pI-F939	8.70
High_pI-F939	9.42
Low_pI-F1180	6.39
Middle_pI-F1180	8.70
High_pI-F1180	9.29
Low_pI-F11	6.39
High_pI-F11	9.28

[0973] **실시예 2**

[0974] pI가 상승된 pH 의존적 결합 항체의 항원 소실 효과

[0975] (2-1) pI를 조절한 pH 의존적 인간 IL-6 수용체 결합 항체의 인비보 어세이

[0976] 실시예 1에서 제작된, 각종의 pH 의존적 인간 IL-6 수용체 결합 항체인 Low_pI-IgG1, High_pI-IgG1, Low_pI-F939, Middle_pI-F939, High_pI-F939, Low_pI-F1180, Middle_pI-F1180 및 High_pI-F1180을 이용한 인비보 어세이가, 이하와 같이 실시되었다.

[0977] 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg line 32 +/+ mouse, Jackson Laboratories, Methods Mol. Biol. 602:93-104(2010))에, 참고 실시예 3의 방법으로 조제되는 가용형 인간 IL-6 수용체("hsIL-6R"이라고도 한다)와, 항인간 IL-6 수용체 항체와, 인간 면역글로불린 제제 상글로포르(Sanglopor)를 동시에 투여한 후의 가용형 인간 IL-6 수용체의 인비보 동태를 평가했다. 가용형 인간 IL-6 수용체, 항인간 IL-6 수용체 항체 및 상글로포르의 혼합 용액을 (각각 5μg/mL, 0.1mg/mL, 100mg/mL의 농도로) 꼬리 정맥에 10mL/kg으로 단회 투여했다. 가용형 인간 IL-6 수용체에 대해서 항인간 IL-6 수용체 항체는 충분량 과잉으로 존재하므로, 가용형 인간 IL-6 수용체는 거의 모두 항체에 결합하고 있다고 생각되었다. 투여 15분 후, 7시간 후, 1일 후, 2일 후, 3일 후, 및 7일 후에 혈액을 채취했다. 채취한 혈액은 즉시 4℃, 15,000rpm으로 15분간 원심 분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지, -20℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존했다.

[0978] (2-2) 전기화학발광법에 의한 혈장 중 가용형 인간 IL-6 수용체 농도 측정

[0979] 마우스의 혈장 중 가용형 인간 IL-6 수용체 농도는 전기화학발광법으로 측정되었다. 250, 125, 62.5, 31.25, 15.61, 7.81, 또는 3.90pg/mL의 농도로 조제된 가용형 인간 IL-6 수용체 검량선 시료 및 50배 이상 희석된 마우스 혈장 어세이 시료를 각각, SULFO-TAG NHS Ester(Meso Scale Discovery)로 루테늄화한 Monoclonal Anti-human IL-6R Antibody(R&D), Biotinylated Anti-human IL-6R Antibody (R&D), 및 인간 IL-6 수용체 결합 항체인 Tocilizumab(CAS number: 375823-41-9)와 혼합한 후, 37℃에서 하룻밤 반응시켰다. Tocilizumab의 종농도는 333μg/mL가 되도록 조제되었다. 그 후, 반응액이 Streptavidin Gold Multi-ARRAY Plate(Meso Scale Discovery)에 분주되었다. 추가로 실온에서 1시간 반응시킨 반응액을 세정 후, Read Buffer T(×4)(Meso Scale Discovery)가 분주되었다. 그 후 즉시 SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)으로 측정이

행해졌다. 가용형 인간 IL-6 수용체 농도는 검량선의 리스폰스에 기초하여 해석 소프트웨어 SOFTmax PRO(Molecular Devices)를 이용하여 산출되었다.

[0980] 정맥내 투여 후의 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스에 있어서 인정된 혈장 중 가용형 인간 IL-6 수용체 농도 추이를 도 1, 도 2, 및 도 3에 나타낸다. 도 1은, 정상 영역이 천연형 IgG1인 경우에 있어서, 가변 영역의 pI를 상승시켰을 때의 항원 소실의 증대 효과를 나타내고 있다. 도 2는, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합성을 부여한 항체(F939)에 있어서, 가변 영역의 pI를 상승시켰을 때의 항원 소실의 증대 효과를 나타내고 있다. 도 3은, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcγR에 대한 결합성을 증대한 항체(F1180)에 있어서, 가변 영역의 pI를 상승시켰을 때의 항원 소실의 증대 효과를 나타내고 있다.

[0981] 어느 경우에 있어서도, 항체의 pI를 상승시키는 것에 의해, pH 의존적 결합 항체에 의한 항원의 소실 속도를 빠르게 하는 것이 가능하다는 것이 나타났다. 또한, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 또는 FcγR에 대한 결합성의 증대를 추가로 부여함으로써, pH 의존적 결합 항체의 pI만을 상승시켰을 경우와 비교하여, 항원의 소실 속도를 한층 더 빠르게 하는 것이 가능하다는 것이 나타났다(도 1과, 도 2 및 3의 비교).

[0982] (2-3) pI를 조절한 pH 의존적 인간 IL-6 수용체 결합 항체의 인비보 인퓨전 어세이

[0983] 실시예 1에서 제작된, 각종의 pH 의존적 인간 IL-6 수용체 결합 항체인 Low_pI-IgG1, High_pI-IgG1, Low_pI-F11, 및 High_pI-F11을 이용한 인비보 어세이가, 이하와 같이 실시되었다.

[0984] 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg line 32 +/+ mouse, Jackson Laboratories, Methods Mol. Biol. 602: 93-104(2010))의 배부 피하에 가용형 인간 IL-6 수용체가 충전된 infusion pump(MINI-OSMOTIC PUMP MODEL2004, alzet)를 매입함으로써, 혈장 중 가용형 인간 IL-6 수용체 농도가 정상 상태로 유지되는 모델 동물이 제작되었다. 그 모델 동물에 대해서 투여된 항인간 IL-6 수용체 항체의 투여 후의 인비보 동태가 평가되었다.

[0985] 구체적으로는, 가용형 인간 IL-6 수용체에 대해서, 마우스 자신이 산생할 수 있을 가능성이 있는 중화 항체의 산생을 억제하기 위해, 당 기술분야에서 공지의 방법으로 취득된 monoclonal anti-mouse CD4 antibody가 꼬리 정맥에 20mg/kg으로 단회 투여되었다. 그 후, 92.8μg/mL의 가용형 인간 IL-6 수용체가 충전된 인퓨전 펌프(infusion pump)가 마우스 배부 피하에 매입되었다. 인퓨전 펌프가 매입된 지 3일 후에, 항인간 IL-6 수용체 항체가 1mg/kg으로 꼬리 정맥에 단회 투여되었다. 항인간 IL-6 수용체 항체의 투여 후 15분, 7시간, 1일, 2일, 3일 혹은 4일, 6일 혹은 7일, 13일 혹은 14일, 20일 혹은 21일, 및 27일 혹은 28일이 경과한 후에 당해 마우스로부터 채혈되었다. 채취된 혈액을 즉시 4℃, 15,000rpm으로 15분간 원심 분리하는 것에 의해, 혈장이 얻어졌다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지, -20℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존되었다.

[0986] (2-4) 전기화학발광법에 의한 혈장 중 hsIL-6R 농도의 측정

[0987] 마우스의 혈장 중 hsIL-6R 농도는 전기화학발광법으로 측정되었다. 250, 125, 62.5, 31.25, 15.61, 7.81, 또는 3.90pg/mL로 조제된 hsIL-6R 검량선 시료 및 50배 이상 희석된 마우스 혈장 어세이 시료를, SULFO-TAG NHS Ester(Meso Scale Discovery)로 루테늄화한 Monoclonal Anti-human IL-6R Antibody(R&D), Biotinylated Anti-human IL-6 R Antibody(R&D) 및 Tocilizumab와 혼합한 후, 37℃에서 하룻밤 반응시켰다. Tocilizumab의 종농도는 333μg/mL가 되도록 조제되었다. 그 후, 반응액이 Streptavidin Gold Multi-ARRAY Plate (Meso Scale Discovery)에 분주되었다. 추가로 실온에서 1시간 반응시킨 반응액을 세정 후, Read Buffer T(×4)(Meso Scale Discovery)가 플레이트에 분주되었다. 그 후 즉시 SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)으로 측정이 행해졌다. hsIL-6R 농도는 검량선의 리스폰스에 기초하여 해석 소프트웨어 SOFTmax PRO(Molecular Devices)를 이용하여 산출되었다.

[0988] 측정된 인간 IL-6 수용체 농도 추이를 도 4에 나타낸다. 천연형 IgG1의 Fc 영역인 Fc 영역을 갖는 항체(High_pI-IgG1)와 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn에 대한 결합이 증대된 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체(High_pI-F11)의 양방에 관해서, 저pI 항체("Low_pI"라고도 한다)를 투여한 경우에 비해, 고pI 항체("High_pI"라고도 한다)를 투여한 경우에, 혈장 중의 가용형 인간 IL-6 수용체 농도가 저하되었다.

[0989] 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 이들 실험에 의해 얻어진 결과는, 이하와 같이 설명하는 것도 가능하다. 투여된 항체의 Fc 영역이 천연형 IgG 항체의 것인 경우, 세포 내로의 흡수는 주로 비특이적인 흡수(피노사이토시스)에 의해 일어나는 것이라고 생각된다. 여기에서, 세포막은 음전하를 가지므로, 투여된 항체-항원의 복합체는, pI가 높은(즉 분자 전체로서의 전하가 양전하측으로 치우쳐 있는) 편이, 보다 세포막에 근접하기 쉽고, 비특이적인 흡수가 일어나기 쉽다고 생각된다. pI가 상승된 항체는, 항원과의 복합체를 형성한 경

우에 있어서도, 원래의 항체와 항원의 복합체에 비해 복합체 전체로서의 pI가 상승하고 있어, 그것에 의해 세포 내로의 흡수가 증가한다고 생각된다. 그 때문에, pH 의존적으로 항원에 결합하는 항체에 대해서, 그 pI를 상승시키는 것에 의해, 혈장 중으로부터의 항원의 소실 속도를 보다 한층 빠르게 하는 것이 가능하고, 혈장 중의 항원 농도를 보다 낮게 유지하는 것이 가능하다.

[0990] 한편, 이들 실시예에서는, 항체의 가변 영역에 있어서, 항체 분자 표면에 노출될 수 있는, 음전하를 갖는 아미노산의 수를 줄이고, 및/또는, 양전하를 갖는 아미노산의 수를 늘리는 아미노산 치환의 도입을 행함으로써, 항체의 pI의 상승을 실현했다. 이러한 pI의 상승에 의해 얻어지는 효과는, 항체를 구성하는 아미노산 서열이나 표적 항원의 종류에 일의적으로(또는 실질적으로) 의존하지 않고, 오히려, 이들이 pI에 의존하는 것이 기대할 수 있음이 당업자에게는 이해할 수 있을 것이다. 예를 들어, WO2007/114319나 WO2009/041643에는, 개략적으로, 이하가 기재되어 있다.

[0991] IgG 항체는 분자량이 충분히 크기 때문에 주대사 경로가 신장 배설은 아니다. Fc를 갖는 IgG 항체는 혈관의 내피 세포를 포함하는 세포에서 발현하고 있는 FcRn의 샐비지 경로에 의해 리사이클되는 것에 의해 긴 반감기를 갖는다는 것이 알려져 있고, IgG는 주로 내피 세포에 있어서 대사되고 있다고 생각되고 있다. 즉, 내피 세포에 비특이적으로 받아들여진 IgG가 FcRn에 결합하는 것에 의해 IgG는 리사이클되고, FcRn에 결합할 수 없었던 분자는 대사된다고 생각되고 있다. FcRn에 대한 결합성을 저하시킨 IgG는 혈중 반감기가 짧아지고, 반대로 FcRn에 대한 결합성을 높임으로써 혈중 반감기를 길게 할 수 있다. 이와 같이, 이전의 IgG의 혈중 동태의 제어 방법은 Fc를 개변함으로써 FcRn에 대한 결합성을 변화시키는 것으로 행해져 왔지만, WO2007/114319(주로 FR 영역에 있어서의 아미노산 치환 기술)나 WO2009/041643(주로 CDR 영역에 있어서의 아미노산 치환 기술)의 실시예에서는, 표적 항원의 종류에 상관없이, 항체의 가변 영역의 pI를 개변함으로써, Fc를 개변하지 않고 혈중 반감기를 제어 가능하다고 하는 것이 나타났다. 내피 세포로의 비특이적인 IgG 항체의 흡수의 속도는, 음전하를 갖는 세포 표면과 IgG 항체의 물리화학적인 쿨롱 상호작용에 의존한다고 생각된다. 그 때문에, IgG 항체의 pI를 저하(상승)시킴으로써 쿨롱 상호작용이 저감(증대)되는 것에 의해 내피 세포로의 비특이적인 흡수가 감소(증대)하는 결과, 내피 세포에 있어서의 대사를 감소(증대)시킴으로써 혈장 중 약물동태를 제어할 수 있었다고 생각된다. 내피 세포와 세포 표면음전하의 쿨롱 상호작용은 물리화학적인 상호작용이므로, 이 상호작용은 항체를 구성하는 아미노산 서열 자체에 일의적으로 의존하지 않는다고 생각된다. 그 때문에, 당 명세서에 제공되는 혈장 중 약물동태의 제어 방법은, 특정의 항체에만 적용되는 것은 아니고, 항체의 가변 영역을 포함하는 임의의 폴리펩티드에 널리 적용 가능하다. 한편, 쿨롱 상호작용의 저감(증대)이란, 인력으로 표시되는 쿨롱력의 감소(증대) 및/또는 척력으로 표시되는 쿨롱력의 증대(감소)를 의미한다.

[0992] 이것을 실현하는 아미노산 치환으로서는, 단독의 아미노산 치환, 혹은 복수의 아미노산 치환의 조합의 어느 것이어도 된다. 몇몇 실시태양에 있어서, 항체 분자의 표면에 노출된 위치에, 단일 아미노산 치환 또는 복수의 아미노산 치환의 조합을 도입하는 방법이 제공된다. 혹은, 도입되는 복수의 아미노산 치환은, 서로 입체 구조적으로 근접하여 배치될 수 있다. 예를 들어, 항체 분자의 표면에 노출될 수 있는 아미노산을, 양전하를 갖는 아미노산(바람직하게는 아르기닌, 또는 리신)으로 치환한 경우나 기존의 양전하를 갖는 아미노산(바람직하게는 아르기닌, 또는 리신)을 이용한 경우에, 이들 아미노산에 입체 구조적으로 근접한 1 또는 복수의 아미노산(경우에 의해, 항체 분자 내에 매입되어 있는 1 또는 복수의 아미노산조차도)을 양전하를 갖는 아미노산으로 추가로 치환함으로써, 결과로서, 입체 구조적으로 근접한 위치에 국소적인 양전하의 밀집 상태를 제작하는 것이 바람직할 가능성이 있는 것에 본 발명자는 상도했다. 여기에서, "입체 구조적으로 근접한 위치"의 정의로서는, 특별히 한정은 되지 않지만, 서로로부터 예를 들어 20Å 이내, 바람직하게는 15Å 이내, 또는 보다 바람직하게는 10Å 이내에, 단일 아미노산 치환 또는 복수의 아미노산 치환이 도입되어 있는 상태가 의미될 수 있다. 목적하는 아미노산 치환이 항체 분자 표면에 노출된 어느 위치에 있는지 여부, 또는 아미노산 치환이 근접한 위치인지 여부는, X선 결정 구조 해석 등, 공지의 방법에 의해 결정 가능하다.

[0993] 이와 같이, 본 발명자는, pI는 분자 전체의 전하 상태를 나타내는 하나의 지표이며, 항체 분자 내에 묻혀 있는 전하도, 항체 분자 표면에 있는 전하도 구별하지 않고 취급되는 것에 주목한 데다가, pI뿐만 아니라, 항체 분자의 표면 전하나 국소적인 전하의 밀집 등의, 전하적인 영향을 폭넓게 종합적으로 고려하여 항체 분자를 제작함으로써, 혈장 중으로부터의 항원의 소실 속도를 보다 한층 빠르게 하는 것이 가능하고, 혈장 중의 항원 농도를 더욱 낮게 유지하는 것이 가능하다는 것에도 상도했다.

[0994] FcRn이나 FcγR과 같은 수용체는, 세포막 상에 발현하고 있고, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 혹은 FcγR에 대한 친화성을 증대시킨 항체는, 주로 이들 Fc 수용체를 통하여 세포 내에 흡수된다고 생각된다. 세포막은 음전하를 갖기 때문에, 투여된 항체-항원의 복합체는, pI가 높은(분자 전체로서의 전하가 양전하 측에 치우쳐 있

는) 편이, 보다 세포막에 근접하기 쉽고, Fc 수용체를 개재한 흡수가 보다 일어나기 쉽다고 생각된다. 그 때문에, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 또는 FcγR에 대한 친화성을 증대시켜, 더욱 pI가 상승된 항체는, 항원과의 복합체를 형성한 경우에 있어서도, Fc 수용체를 개재한 세포 내로의 흡수가 증가하고 있다. 그 때문에, 중성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 또는 FcγR에 대한 친화성을 증대시킨, pH 의존적으로 항원에 결합하는 항체에 대해서도, 그 pI를 상승시키는 것에 의해, 혈장 중으로부터의 항원의 소실 속도를 보다 한층 빠르게 하는 것이 가능하고, 혈장 중의 항원 농도를 보다 낮게 유지하는 것이 가능하다.

[0995] **실시예 3**

[0996] pI가 상승된 pH 의존적 결합 항체의, 세포외 매트릭스에 대한 결합성의 평가

[0997] (3-1) 세포외 매트릭스에 대한 결합능의 평가

[0998] 항체에 대해서, pH 의존적으로 항원에 결합하는 성질을 부여하고, 추가로 pI를 변화시키는 것에 의해, 세포외 매트릭스에 대한 결합능에 어떠한 영향을 주는지를 평가하기 위해서, 이하와 같은 실험을 행했다.

[0999] 실시예 1의 방법과 마찬가지로, IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적인 결합을 나타내는 항체로서, pI가 상이한 3종의 항체 Low_pI-IgG1, Middle_pI-IgG1, 및 High_pI-IgG1을 제작했다. IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적인 결합을 나타내지 않는 통상의 항체로서 WO2009125825에 기재되는 H54(서열 번호: 34) 및 L28(서열 번호: 35)을 포함하는 Low_pI(NPH)-IgG1과, H(WT)(서열 번호: 36) 및 L(WT)(서열 번호: 37)를 포함하는 High_pI(NPH)-IgG1을, 각각 참고 실시예 2의 방법에 의해 제작했다.

[1000] 이들 항체에 대해, 실시예 1의 방법과 마찬가지로, 이론 pI를 산출했다. 산출한 이론 pI를 표 4에 나타낸다. IL-6 수용체에 대해서 pH 의존적인 결합을 나타내지 않는 항체에 대해서도, pH 의존적인 결합을 나타내는 항체와 마찬가지로, 상승된 pI를 갖는 것이 나타났다.

표 4

[1001]

항체명	이론 pI
Low_pI-IgG1	6.39
Middle_pI-IgG1	8.70
High_pI-IgG1	9.30
Low_pI(NPH)-IgG1	6.10
High_pI(NPH)-IgG1	9.35

[1002] (3-2) 전기화학발광(ECL)법에 의한 세포외 매트릭스에 대한 항체 결합의 평가

[1003] TBS(Takara)를 이용하여, 세포외 매트릭스(BD 마트리겔 기저막 매트릭스/BD사제)를 2mg/mL로 희석했다. 희석한 세포외 매트릭스를 MULTI-ARRAY 96well Plate, High bind, Bare(Meso Scale Discovery: MSD사제)에 1well당 5 μL 분주하고, 4℃에서 하룻밤 고상화했다. 그 후, 150mM NaCl, 0.05% Tween20, 0.5% BSA, 및 0.01% NaN_3을 포함하는 20mM ACES buffer, pH 7.4를 분주하여, 블로킹했다. 평가에 제공하는 항체는, 150mM NaCl, 0.05% Tween20, 및 0.01% NaN_3을 포함하는 20mM ACES buffer, pH 7.4(ACES-T buffer)를 이용하여 30, 10, 3 μg/mL로 희석한 후, 150mM NaCl, 0.01% Tween20, 0.1% BSA, 0.01% NaN_3을 포함하는 20mM ACES buffer, pH 7.4(Dilution buffer)를 이용하여 추가로 희석하여, 최종 농도를 각각 10, 3.3, 1 μg/mL로 했다. 블로킹 용액을 제거한 플레이트에, 희석한 항체 용액을 첨가하고, 실온에서 1시간 진탕했다. 항체 용액을 제거하고, 0.25% 글루타르알데하이드를 포함하는 ACES-T buffer를 첨가하고 10분간 정치한 후, 0.05% Tween20을 포함하는 DPBS(와코준야쿠공업사제)로 플레이트를 세정했다. ECL 검출용의 항체는, Goat anti-human IgG(gamma)(Zymed Laboratories사제)를 Sulfo-Tag NHS Ester(MSD사제)를 이용하여 Sulfo-Tag화하여 조제했다. 검출용 항체를 1 μg/mL가 되도록 Dilution buffer로 희석하여 플레이트에 첨가하고, 차광하, 실온에서 1시간 진탕했다. 검출용 항체를 제거하고, MSD Read Buffer T(4x)(MSD사제)를 초순수로 2배 희석한 용액을 첨가한 후, SECTOR Imager 2400(MSD사제)으로 발광량을 측정했다.

[1004] 결과를 도 5에 나타낸다. pH 의존적인 결합성을 나타내는 항체, pH 의존적인 결합성을 나타내지 않는 항체 모두, pI를 상승시키는 것에 의해, 세포외 매트릭스에 대한 결합성이 향상되고 있음이 나타났다. 게다가, 놀랍게도, pI를 상승시키는 것에 의해 세포외 매트릭스에 대한 결합성을 향상시키는 효과는, pH 의존적으로 항원에 결

합하는 항체에 있어서 현저했다. 바꾸어 말하면, pH 의존적으로 항원에 결합하고, 한편 또한 높은 pI를 갖는 항체(High_pI-IgG1)는, 세포외 매트릭스에 대한 친화성이 가장 강하게 보였다.

[1005] 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 이들 실험에 의해 얻어진 결과는, 이하와 같이 설명하는 것도 가능하다. pH 의존적으로 항원에 결합하는 성질을 항체에 부여하기 위한 하나의 방법으로서 항체의 가변 영역에 히스티딘 개변을 도입하는 방법이 알려져 있다(예를 들어, WO2009/125825 참조). 히스티딘은 측쇄에 이미다조일기를 갖고, 중성 pH로부터 염기성 pH의 조건하에 있어서는 전하를 가지지 않지만, 산성 pH 조건하에 있어서는 양전하를 갖는다는 것이 알려져 있다. 이 히스티딘의 성질을 이용하여, 항체의 가변 영역, 특히 항원과의 상호작용 부위의 근방에 위치하는 CDR에 히스티딘을 도입하는 것에 의해, 중성 pH 조건과 산성 pH 조건 사이에서, 항원과의 상호작용 부위에 있어서의 전하적 및 입체 구조적인 환경을 변화시키는 것이 가능하다. 이와 같은 항체는, pH 의존적으로 항원에 대한 친화성이 변화하고 있을 것을 기대할 수 있다. 이와 같은 히스티딘의 도입에 의해 얻어지는 효과는, 항체를 구성하는 아미노산 서열이나 표적 항원의 종류에 일의적으로(또는 실질적으로) 의존하지 않고, 히스티딘을 도입하는 개소 또는 도입된 히스티딘 잔기의 수 등에 의존한다는 것이 당업자에게는 이해할 수 있을 것이다.

[1006] WO2009/041643에는, 개략적으로, 이하가 기재되어 있다: 단백질-단백질 상호작용은 소수 상호작용, 정전 상호작용, 및 수소 결합으로 이루어지고, 그 결합의 강도는 일반적으로 결합 상수(affinity), 또는 겉보기 결합 상수(avidity)로 표현 될 수 있다. 중성 pH 조건하(예를 들어, pH 7.4)와 산성 pH 조건하(예를 들어, pH 5.5 내지 pH 6.0)에서 결합의 강도가 변화하는 pH 의존적인 결합은, 천연에 존재하는 단백질-단백질 상호작용에 의존한다. 예를 들어 전술한 IgG 분자와 IgG 분자의 샐비지 수용체로서 알려져 있는 FcRn의 결합은, 산성 pH 조건하에서 강한 결합을, 중성 pH 조건하에서 극히 약한 결합을 나타낸다. 이들 대부분의 pH 의존적으로 결합이 변화하는 단백질-단백질 상호작용에 있어서는, 히스티딘 잔기가 관여하고 있다. 히스티딘 잔기의 pKa는 6.0 내지 6.5 부근에 존재하기 때문에, 중성 pH 조건과 산성 pH 조건 사이에서 히스티딘 잔기의 양성자의 해리 상태가 변화한다. 즉, 히스티딘 잔기는 중성 pH 조건하에 있어서는 전하를 갖지 않고 중성으로 수소 원자 억셉터로서 기능하고, 산성 pH 조건하에 있어서는 양전하를 가져 수소 원자 도너로서 기능한다. 전술한 IgG 분자-FcRn 상호작용에 있어서도, IgG 분자에 존재하는 히스티딘 잔기가 pH 의존적 결합에 관여하고 있다는 것이 보고되어 있다(Martin et al., Mol. Cell. 7(4):867-877(2001)).

[1007] 그 때문에 단백질-단백질 상호작용에 관여하는 아미노산 잔기를 히스티딘 잔기로 치환하거나, 또는 상호작용 부위에 히스티딘을 도입하는 것에 의해 단백질-단백질 상호작용에 pH 의존성을 부여하는 것이 가능해진다. 항체-항원간의 단백질-단백질 상호작용에 있어서도 그와 같은 시도가 이루어지고 있고, 항난백 라이소자임 항체의 CDR 서열에 히스티딘을 도입하는 것에 의해, 산성 pH 조건하에서 항원에 대한 친화성이 저하된 항체 변이체를 취득하는 것에 성공하고 있다(Ito et al., FEBS Lett. 309(1): 85-88(1992)). 또한, CDR 서열에 히스티딘을 도입하는 것에 의해, 대응하는 항원에, 암 조직의 낮은 pH에서는 특이적으로 항원에 결합하고 중성 pH 조건하에서는 약하게 결합하는 항체가 보고되어 있다(WO2003/105757).

[1008] 한편, pI를 상승시키기 위해서 도입되는 아미노산 잔기는, 바람직하게는, 양전하를 갖는 측쇄를 갖는 리신, 아르기닌, 또는 히스티딘이다. 이들 아미노산 측쇄의 표준적인 pKa는, 리신이 10.5, 아르기닌이 12.5, 그리고 히스티딘이 6.0이다(Skoog et al., Trends Anal. Chem. 5(4):82-83(1986)). 당 기술분야에 있어서 공지인 산염기 평형에 관한 이론에 기초하면, 이들 pKa값이 의미하는 것은, 리신의 측쇄는 pH 10.5의 용액 중에 있어서 50%가 양전하를 갖고, 나머지 50%는 전하를 갖지 않는다는 것이다. 또한, 용액의 pH가 상승함에 따라 리신의 측쇄가 양전하를 갖는 비율은 저하되어, 리신의 pKa보다 pH가 1 높은 pH 11.5의 용액 중에 있어서는 양전하를 갖는 비율은 약 9%가 된다. 반대로, 용액의 pH가 저하됨에 따라 양전하를 갖는 비율은 증가되어, 리신의 pKa보다 pH가 1 낮은 pH 9.5의 용액 중에 있어서는 양전하를 갖는 비율은 약 91%가 된다. 이 이론은, 아르기닌이나 히스티딘에 있어서도 마찬가지로 성립한다. 즉, 리신 또는 아르기닌은, 중성 pH(예를 들어 pH 7.0)의 용액 중에 있어서, 거의 100%가 양전하를 갖지만, 히스티딘은 약 9%가 양전하를 갖는다. 그 때문에, 히스티딘은, 중성 pH 조건하에 있어서 양전하를 갖지만, 그 정도는 리신 또는 아르기닌에 비하면 적기 때문에, pI를 상승시키기 위해서 도입되는 아미노산으로서는, 리신 및 아르기닌이 보다 바람직하다고 생각되어 왔다. 더욱이, Holash et al.(Proc. Natl. Acad. Sci., 99(17): 11393-11398(2002)에 의하면, 세포외 매트릭스에 대한 결합을 증대시키기 위한 개변으로서는, pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것이 효과적이라고 생각되었지만, 상기의 이유에 의해 히스티딘을 도입하는 치환보다 리신 또는 아르기닌을 도입하는 치환이 보다 바람직한 아미노산 개변이라고 생각되고 있었다.

[1009] 당 명세서에 있어서 처음으로 개시되는 바와 같이, pI를 상승시키는 항체 개변과 함께 pH 의존적 항원 결합성을

부여하기 위한 히스티딘 도입을 조합하는 것에 의해, 세포외 매트릭스에 대한 항체의 친화성을 놀라울 정도로 상승적으로 상승시키는 것이 가능하다. 실제로, High_pI-IgG1의 pI가 9.30인데 대해, High_pI(NPH)-IgG1의 pI는 9.35로 High_pI-IgG1의 값이 약간 낮았다. 그럼에도 불구하고, 실제의 세포외 매트릭스에 대한 친화성은, High_pI-IgG1이 분명하게 강해지고 있고, 이것은 세포외 매트릭스에의 친화성은 pI의 높낮이만으로는 반드시 설명하지 못하고, pI를 상승시키는 개변과 히스티딘 개변을 조합하여 도입하는 것의 상승효과를 나타내고 있다고 말할 수 있다. 이 결과는, 놀랄 만한 예상외의 현상이었다.

[1010] 단, 단백질 중에 있어서의 아미노산 측쇄의 pKa는, 주위의 환경에 의한 영향을 크게 받기 때문에, 반드시 상기의 pKa 이론값은 되지 않는 것은 주의가 필요하다. 즉, 상기의 기술은 일반적인 과학적 이론에 기초하여 당 명세서에 있어서 제시되고 있지만, 실제의 단백질 중에 있어서는 많은 예외가 존재할 수 있음을 용이하게 추측할 수 있는 것이다. 예를 들어, Hayes et al., J. Biol. Chem. 250(18):7461-7472(1975)에 있어서는, 미오글로빈에 포함되는 히스티딘의 pKa를 실험적으로 결정한 바, 그 값은 6.0 부근을 중심으로는 하지만, 5.37에서 8.05까지의 변동이 있었던 것이 보고되었다. 당연히, 높은 pKa를 갖는 히스티딘은, 중성 pH 조건하에 있어서 대부분이 양전하를 갖게 된다. 그 때문에, 상기의 이론은, 히스티딘 도입에 의한 pI 상승의 효과를 부정하는 것은 아니고, 실제의 단백질의 입체 구조 중에 있어서는, 리신 또는 아르기닌의 경우에 보이는 것과 마찬가지로, 히스티딘을 도입하는 아미노산 개변에 의해도 pI 상승의 효과가 발휘될 수 있다는 것도 또한, 충분히 일어날 수 있는 것이다.

[1011] **실시예 4**

[1012] 정상 영역에 있어서의 1 아미노산 치환에 의한 pI의 상승

[1013] pH 의존적으로 항원에 결합하는 항체에 대해서, 해당 항체의 가변 영역에 아미노산 치환을 도입하는 것에 의해 해당 항체의 pI를 상승시키는 방법에 대해 기재해 왔다. 더욱이, 항체의 pI를 상승시키는 방법은, 항체 정상 영역에 있어서, 1 아미노산 정도의 적은 치환을 행하는 것에 의해서도 실시 가능하다.

[1014] 항체 정상 영역에 1 아미노산 치환을 가하여 pI를 상승시키는 방법으로서는, 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어 WO2014/145159에 기재된 방법에 의해 실시 가능하다. 정상 영역에 도입하는 아미노산 치환으로서는, 가변 영역의 경우와 마찬가지로, 음전하를 갖는 아미노산(예를 들어, 아스파라긴산 또는 글루타민산)의 수를 줄이는 한편으로, 양전하를 갖는 아미노산(예를 들어, 아르기닌 또는 리신)을 늘리기 위한 아미노산 치환을 도입하는 것이 바람직하다.

[1015] 한정되지 않지만, 정상 영역에 있어서의 아미노산 치환의 도입 위치로서는, 항체 분자의 표면에 아미노산 측쇄가 노출될 수 있는 위치가 바람직하다. 바람직한 예로는, 이와 같은 항체 분자 표면에 노출될 수 있는 개소에, 복수의 아미노산 치환을 조합하여 도입하는 방법을 들 수 있다. 혹은, 도입되는 복수의 아미노산 치환은, 서로 입체 구조적으로 근접한 위치인 것이 바람직하다. 또한, 한정되지 않지만, 도입되는 복수의 아미노산 치환은, 입체 구조적으로 근접한 위치에 복수의 양전하를 갖는 상태가 경우에 따라서는 초래되는, 양전하를 갖는 아미노산으로의 치환인 것이 바람직하다. "입체 구조적으로 근접한 위치"의 정의로서는, 특별히 한정은 되지 않지만, 서로로부터 예를 들어 20Å 이내, 바람직하게는 15Å 이내, 또는 보다 바람직하게는 10Å 이내에, 단일 아미노산 치환 또는 복수의 아미노산 치환이 도입되어 있는 상태가 의미될 수 있다. 목적하는 아미노산 치환이 항체 분자 표면에 노출된 어느 위치에 있는지 여부, 또는 복수 위치의 아미노산 치환이 근접한 위치에 있는지 여부는, X선 결정 구조 해석 등, 공지의 방법에 의해 결정 가능하다.

[1016] 또한, 입체 구조적으로 근접한 위치에 복수의 양전하를 갖게 하는 방법으로서는, 상기의 방법에 더하여, IgG 정상 영역에 있어서, 원래 양전하를 갖고 있는 아미노산을 이용하는 방법도 있다. 이와 같은 양전하를 갖고 있는 아미노산 위치로서는, 예를 들어, (a) EU 넘버링에 따른, 255위, 292위, 301위, 344위, 355위, 또는 416위의 아르기닌; 및 (b) EU 넘버링에 따른, 121위, 133위, 147위, 205위, 210위, 213위, 214위, 218위, 222위, 246위, 248위, 274위, 288위, 290위, 317위, 320위, 322위, 326위, 334위, 338위, 340위, 360위, 370위, 392위, 409위, 414위, 또는 439위의 리신을 들 수 있다. 이들 양전하를 갖는 아미노산에 입체 구조적으로 근접한 위치에 있어서, 양전하를 갖는 아미노산으로의 치환을 행하는 것에 의해, 입체 구조적으로 근접한 위치에 복수의 양전하를 부여하는 것이 가능하다.

[1017] <u>(4-1) pH 의존적 항IgE 결합 항체의 제작</u>

[1018] pH 의존적 항인간 IgE 항체로서 이하의 3종류의 항체를, 참고 실시예 2의 방법에 의해 제작했다: (1) 중쇄로서 Ab1H(서열 번호: 38) 및 경쇄로서 Ab1L(서열 번호: 39)을 포함하는, 통상형의 항체인 Ab1; (2) 중쇄로서 Ab2H

(서열 번호: 40) 및 경쇄로서 Ab2L(서열 번호: 41)를 포함하는, 통상형의 항체인 Ab2; 및 (3) 중쇄로서 Ab3H(서열 번호: 42) 및 경쇄로서 Ab3L(서열 번호: 43)를 포함하는, 통상형의 항체인 Ab3.

[1019] (4-2) 인간 IgE에 대한 결합성에 있어서의 pH 의존성의 평가

[1020] Ab1의 pH 7.4 및 pH 5.8에 있어서의 인간 IgE에 대한 친화성을, 이하와 같이 평가했다. BIACORE T100(GE Healthcare)을 이용하여, 인간 IgE와 Ab1의 속도론적 해석을 행했다. 러닝 버퍼로서 이하의 2종을 이용하여 측정을 행했다: (1) 1.2mM $CaCl_2$/0.05% tween20, 20mM ACES, 150mM NaCl, pH 7.4; 및 (2) 1.2mM $CaCl_2$/0.05% tween20, 20mM ACES, 150mM NaCl, pH 5.8.

[1021] 센서 칩 CM4(GE Healthcare) 상에 아민 커플링법으로 프로틴 A/G(ACTIGEN)를 적당량 고정하고, 거기에 목적하는 항체를 포착시켰다. 다음에, IgE 희석액과 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하고, 센서 칩 상에 포착시킨 항체에 인간 IgE를 상호작용시켰다. 한편, 러닝 버퍼는 상기 (1) 및 (2) 중 한쪽이 이용되고, 인간 IgE의 희석에도 각각의 완충액이 사용되었다. 센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정은 모두 25℃에서 실시되었다. 측정으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 카이네틱스 파라미터인, 결합 속도 상수 ka(1/Ms) 및 해리 속도 상수 kd(1/s)에 기초하여, 각 항체의 인간 IgE에 대한 KD(M)가 산출되었다. 각 파라미터의 산출에는 BIACORE T100 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용되었다.

[1022] Ab2 및 Ab3의 pH 7.4 및 pH 5.8에 있어서의 인간 IgE에 대한 친화성을, 이하와 같이 평가했다. BIACORE T200(GE Healthcare)을 이용하여, 항hIgE 항체의 hIgE에 대한 결합 활성(해리 상수 KD(M))을 평가했다. 러닝 버퍼로서 이하의 2종을 이용하여 측정을 행했다: (1) 1.2mM $CaCl_2$/0.05% tween20, 20mM ACES, 150mM NaCl, pH 7.4; 및 (2) 1.2mM $CaCl_2$/0.05% tween20, 20mM ACES, 150mM NaCl, pH 5.8.

[1023] 화학 합성된 인간 글리피칸 3(별명 GPC3) 단백질 유래 펩타이드(아미노산 서열 VDDAPGNSQQATPKDNEISTFHNLGNVHSPLK(서열 번호: 44)를 갖는다)의 C 말단에 존재하는 Lys에 비오틴을 부가하는 것에 의해 제작한 펩타이드("비오틴화 GPC3 펩타이드")를, 센서 칩 SA(GE Healthcare)에 적당량 첨가하고, 스트렙트 아비딘과 비오틴의 친화성을 이용하여 칩 상에 고정했다. 적당한 농도의 hIgE를 인젝트하고, 비오틴화 GPC3 펩타이드에 포착시키는 것에 의해 칩 상에 고정했다. 애널라이트로서 적절한 농도의 항hIgE 항체를 인젝트하여, 센서 칩 상의 hIgE와 상호작용시켰다. 그 후, 10mM Glycine-HCl, pH 1.5를 인젝트하여, 센서 칩을 재생했다. 측정은 모두 37℃에서 행했다. 측정 결과를 BIACORE T200 Evaluation Software(GE Healthcare)를 이용하여 커브 피팅에 의한 해석에 의해, 결합 속도 상수 ka(1/Ms) 및 해리 속도 상수 kd(1/s)를 산출하고, 그 값에 기초하여 해리 상수 KD(M)를 산출했다.

[1024] 결과를 표 5에 나타낸다. Ab1, Ab2, 및 Ab3의 어느 항체도, 인간 IgE에 대한 결합에는 pH 의존성이 있고, 중성 pH 조건(pH 7.4)에 있어서의 친화성에 비해, 산성 pH 조건(pH 5.8)에 있어서의 친화성이, 극적으로 약해지고 있음이 나타났다. 이것으로부터, 이들 항체를 산 동물에게 투여한 경우에는, 항원인 인간 IgE의 소실을 가속하는 효과를 나타낼 것이 기대된다.

표 5

[1025]

항체명	버퍼 pH 조건	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
Ab1	pH7.4	2.7E+06	6.0E-03	2.3E-09
	pH5.8	1.6E+04	3.9E-02	2.4E-06
Ab2	pH7.4	2.9E+06	4.5E-03	1.5E-09
	pH5.8	5.5E+05	5.3E-02	9.7E-08
Ab3	pH7.4	1.6E+06	7.9E-03	4.9E-09
	pH5.8	1.4E+05	3.3E-02	2.3E-07

[1026] Ab1 내지 Ab3에 대해 실시예 1의 방법과 마찬가지로 산출된 이론 pI값(pI)이, 표 6에 나타나고 있다.

표 6

[1027]

항체명	이론 pI
Ab1	6.77
Ab2	6.48
Ab3	6.48

[1028] (4-3) 정상 영역에 있어서의 단일 아미노산 개변에 의해 pI가 상승된 항체의 제작

[1029] 실시예(4-1)에 있어서 제작된 Ab1은, 정상 영역으로서 인간 천연형 IgG1을 갖는 항체이다. 여기에서, Ab1의 중쇄인 Ab1H의 Fc 영역에 있어서, EU 넘버링에 따른 238위의 프롤린을 아스파라긴산으로 치환하고, EU 넘버링에 따른 298위의 세린을 알라닌으로 치환함으로써, Ab1H-P600을 제작했다. 추가로, Ab1H-P600의 Fc 영역에 표 7-1 및 표 7-2에 나타내는 각종의 단일 아미노산 치환을 도입함으로써, 각종 Fc 개변체를, 참고 실시예 2의 방법으로 각각 제작했다. 한편, 어느 Fc 개변체도, 경쇄로서는 Ab1L(서열 번호: 39)을 사용했다. hFcγRIIb에 대한 이들 항체의 친화성은, P600 개변체와 동등했다(데이터 나타내지 않음).

[1030] [표 7-1]

개변체명	P600에 가해진 아미노산 변이	Biacore	Imaging
P600	없음	1.00	1.00
P828	Q196K	1.27	0.98
P829	S337R	0.17	0.89
P830	L358K	1.24	2.35
P831	P387R	3.85	1.30
P836	E345Q	1.85	데이터 없음
P837	E345R	1.88	데이터 없음
P838	D356Q	1.87	데이터 없음
P839	D356N	2.17	데이터 없음
P840	T359K	2.25	데이터 없음
P841	N361R	1.86	데이터 없음
P842	Q362K	2.37	데이터 없음
P843	E380R	-0.04	데이터 없음
P844	E382Q	1.24	데이터 없음
P845	E382K	1.38	데이터 없음
P846	Q386K	1.71	데이터 없음
P847	N389K	1.57	데이터 없음
P848	S415R	1.38	데이터 없음
P849	Q418R	2.21	데이터 없음
P850	Q419K	2.22	데이터 없음
P851	N421R	1.43	1.56
P852	S424K	1.40	데이터 없음
P854	L443R	1.93	데이터 없음
P905	N384R	1.34	2.36
P906	G385R	1.74	1.12
P907	H433R	0.09	3.55
P908	N434R	0.42	1.88
P909	H435R	0.73	0.77
P910	L309R	1.73	1.80
P912	T307R	0.24	1.30
P914	D399R	1.72	3.78
P915	S400R	0.85	2.01
P917	A327R	-0.05	2.49
P918	L328R	-0.06	0.00
P919	P329R	-0.06	0.00

[1031]

[1032] [표 7-2]

P920	A330R	0.01	1.67
P921	P331R	-0.07	0.02
P923	Q311R	1.63	2.88
P924	N315R	2.08	2.66
P925	Y296R	-0.05	0.34
P926	Q295R	-0.06	0.04
P927	E294R	0.25	0.29
P928	E293R	0.20	0.04
P929	P291R	0.47	0.53
P930	A287R	-0.07	0.00
P931	N286R	0.68	1.27
P932	H285R	1.38	1.96
P934	V282R	1.54	1.67
P935	G281R	-0.06	2.14
P937	E272R	0.21	0.56
P938	P271R	-0.06	0.04
P939	D270R	-0.07	0.01
P940	E269R	-0.05	0.01
P941	H268R	0.47	0.44
P942	E258R	데이터 없음	3.07
P944	T256R	데이터 없음	1.49
P945	S254R	데이터 없음	5.70
P946	I253R	데이터 없음	1.05
P947	M252R	데이터 없음	0.94
P948	L251R	데이터 없음	0.13

[1033]

[1034] (4-4) 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 이용한, BIACORE에 의한 인간 FcγRIIb 결합 어세이

[1035] BIACORE(등록상표) T200(GE Healthcare)을 이용하여, 가용형 인간 FcγRIIb(별명 "hFcγRIIb")와 항원-항체 복합체와의, Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 결합 어세이를 행했다. 가용형 hFcγRIIb는, 당업자에게 공지의 방법을 이용하여 His 태그를 부여한 분자형으로서 제작했다. 센서 칩 CM5(GE Healthcare) 상에 His capture kit(GE Healthcare)를 이용하여 아민 커플링법으로 항His 항체를 적당량 고정하고, 그것에 hFcγRIIb를 포착시켰다. 다음에, 항체-항원 복합체와 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착시킨 hFcγRIIb와 상호작용시켰다. 러닝 버퍼에는 20mM N-(2-아세트아마이드)-2-아미노에테인설폰산, 150mM NaCl, 1.2mM $CaCl_2$, 0.05%(w/v) Tween20, pH 7.4를 이용하고, 가용형 hFcγRIIb의 희석에도 각각의 완충액이 사용되었다.

센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정은 모두 25℃에서 행해졌다. 측정으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 binding(RU)에 기초하여 해석을 행하여, P600에서의 결합량을 1.00으로 했을 때의 상대치로 나타낸다. 파라미터의 산출에는 BIACORE(등록상표) T100 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용되었다. 결과를 표 7-1 및 표 7-2(표중, "BIACORE"의 열을 참조) 및 도 6에 나타낸다. 몇몇 Fc 개변체에 있어서, BIACORE(등록상표)의 센서 칩 상에 고정된 hFcγRIIb에 대한 친화성이 증대되어 있음이 나타났다.

[1036] 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 이 결과를 이하와 같이 설명하는 것도 가능하다. BIACORE(등록상표)의 센서 칩은 음전하를 갖는 것이 알려져 있고, 그 전하적인 상태는 세포막 표면에서도 유사하다고 생각할 수 있다. 보다 구체적으로는, 음전하를 갖는 BIACORE의 센서 칩 상에 고정된 hFcγRIIb에 대한, 항원-항체 복합체의 결합성은, 음전하를 갖는 세포막 표면에 존재하는 hFcγRIIb에 대해서, 항원-항체 복합체가 결합하는 양식과 유사할 것이 추측된다.

[1037] Fc 영역에 대해서 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 제작한 항체란, 개변을 도입하기 전과 비교하여, Fc 영역(정상 영역)이 보다 많은 양전하를 갖고 있는 항체이다. 그 때문에, Fc 영역(양전하)과 센서 칩 상(음전하)의 쿨롱 상호작용이, pI를 상승시키는 아미노산 개변에 의해 강해졌다고 생각하는 것이 가능하다. 더욱이, 그 효과는, 음전하를 갖는 세포막 표면에 있어서도 마찬가지로 일어날 것이 기대되므로, 인비보에서도 세포 내로의 흡수 속도를 가속하는 효과를 나타낼 것이 기대된다.

[1038] 상기의 결과로부터, Ab1H-P600의 hFcγRIIb에 대한 결합과 비교한 개변체의 hFcγRIIb에 대한 결합의 비율이 약

1.2배 이상이면, 센서 칩 상의 hFcγRIIb에의 항체의 결합에 대해서 강한 하전 효과를 가질 것으로 보였다. 따라서, 하전 효과를 가져올 것이 기대되는 개변으로서는, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 196위, 282위, 285위, 309위, 311위, 315위, 345위, 356위, 358위, 359위, 361위, 362위, 382위, 384위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 415위, 418위, 419위, 421위, 424위, 또는 443위에의 개변을 들 수 있다. 282위, 309위, 311위, 315위, 345위, 356위, 359위, 361위, 362위, 385위, 386위, 387위, 389위, 399위, 418위, 419위, 또는 443위로의 개변이 바람직하다. 또한, 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은, 아르기닌 또는 리신인 것이 바람직하다. 그와 같은 하전 효과를 기대할 수 있는 아미노산 변이 위치의 다른 예로서, EU 넘버링에 따른 430위의 글루타민산을 들 수 있다. 430위에 도입되는 바람직한 아미노산 치환으로서는, 양전하를 갖는 아르기닌 또는 리신, 혹은 전하를 갖지 않는 잔기 중, 글리신 또는 트레오닌으로 치환하는 것이 바람직하다.

[1039] (4-5) Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 hFcγRIIb 발현 세포에 의한 흡수

[1040] 제작된 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 이용하여, hFcγRIIb 발현 세포주로의 세포내 흡수 속도를 평가하기 위해서, 이하와 같은 어세이를 행했다.

[1041] 공지의 방법을 이용하여, hFcγRIIb를 정상적으로 발현하는 MDCK(Madin-Darby canine kidney) 세포주가 제작되었다. 이 세포를 이용하여, 항원-항체 복합체의 세포내 흡수의 평가를 행했다. 구체적으로는, 인간 IgE(항원)에 대해서, pHrodoRed(Life Technologies)를 이용하여 이미 정해진 프로토콜에 따라 라벨화하고, 배양액 중에서 항체 농도 10.8mg/mL, 항원 농도 12.5mg/mL로 항원-항체 복합체를 형성시켰다. 상기의 hFcγRIIb 정상 발현 MDCK 세포의 배양 플레이트에 대해서, 항원-항체 복합체를 포함하는 배양액을 첨가하고 1시간 인큐베이트한 후, 세포 내에 흡수된 항원의 형광 강도를 InCell Analyzer 6000(GE healthcare)을 이용하여 정량했다. 흡수된 항원량은 P600에서의 값을 1.00으로 했을 때의 상대치로 나타냈다.

[1042] 결과를 표 7-1 및 표 7-2(표 중, "Imaging"의 열을 참조) 및 도 7에 나타낸다. 몇몇 Fc 개변체에 있어서, 세포내에 있어서의 항원 유래의 형광이 강하게 관찰되었다.

[1043] 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 이 결과는 이하와 같이 설명하는 것이 가능하다. 세포 배양액 중에 첨가한 항원과 항체는, 배양액 중에 있어서 항원-항체 복합체를 형성한다. 항원-항체 복합체는, 항체의 Fc 영역을 통하여 세포막 상에 발현한 hFcγRIIb에 결합하여, 수용체 의존적으로 세포로 흡수된다. 이 실험에 사용된 Ab1은 pH 의존적으로 항원에 결합하는 항체이므로, 해당 항체는 해당 항원으로부터 해리하는 것이 가능하다. 해리된 항원은, 전술한 바와 같이 pHrodoRed로 라벨되어 있어 엔도솜 내에 있어서 형광을 발한다. 즉, 대조와 비교하여 세포 내에 있어서의 형광 강도가 보다 강하다고 하는 것은, 항원-항체 복합체의 세포내 흡수가, 보다 빠르게 또는 보다 고빈도로 일어나고 있음을 나타내고 있다고 생각된다.

[1044] 여기에서, Ab1H-P600의 형광 강도와 비교한 개변체의 세포에 흡수된 항원의 형광 강도의 비율이 약 1.05배 이상이면, 세포에 흡수된 항원에 대해서 하전 효과를 갖는다고 보였다. Ab1H-P600의 형광 강도와 비교한 개변체의 세포에 흡수된 항원의 형광 강도의 비율이 약 1.5배 이상이면, 세포에 흡수된 항원에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 보였다. 따라서, 상기의 결과로부터, Fc 영역의 적절한 위치에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해, 개변을 도입하기 전에 비해 세포내 흡수를 가속시키는 것이 가능하다는 것이 나타났다. 이러한 작용을 나타내는 아미노산 개변 위치는, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 253위, 254위, 256위, 258위, 281위, 282위, 285위, 286위, 307위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 358위, 384위, 385위, 387위, 399위, 400위, 421위, 433위, 또는 434위이다. 바람직하게는, EU 넘버링에 따른 254위, 258위, 281위, 282위, 285위, 309위, 311위, 315위, 327위, 330위, 358위, 384위, 399위, 400위, 421위, 433위, 또는 434위로의 개변이다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은, 아르기닌 또는 리신인 것이 바람직하다. 한정은 되지 않지만, 항체의 pI를 상승시키는 것을 목적으로 하여 정상 영역에 도입되는 아미노산 치환의 위치는, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 285위의 아미노산 잔기일 수 있다. 혹은, 다른 예로서는, EU 넘버링에 따른 399위의 아미노산 잔기의 아미노산 치환을 들 수 있다.

[1045] **실시예 5**

[1046] 혈장 중 체류성 개선을 위해서 산성 pH 조건에 있어서의 FcRn 결합을 증대시킨 Fc 개변체의 제작

[1047] 세포 내에 흡수된 IgG 항체는, 엔도솜 내의 산성 pH의 조건하에 있어서, FcRn에 결합하는 것에 의해 혈장 중으로 되돌려진다는 것이 알려져 있다. 그 때문에, IgG 항체는 일반적으로, FcRn에 결합하지 않는 단백질에 비해, 긴 혈장 중 반감기를 갖고 있다. 그 성질을 이용하여, 항체의 Fc 영역에 아미노산 개변을 도입함으로써, 산성 pH 조건에 있어서의 FcRn에 대한 친화성을 증대하여, 항체의 혈장 중 체류성을 증대시키는 방법은 알려져 있다.

구체적으로는, M252Y/S254T/T256E(YTE) 개변(Dall'Acqua et al., J. Biol. Chem. 281:23514-23524(2006))이나, M428L/N434S(LS) 개변(Zalevsky et al., Nat. Biotechnol. 28:157-159(2010)), 및 N434H 개변(Zheng et al., Clinical Pharmacology & Therapeutics 89(2):283-290(2011)) 등의 아미노산 개변에 의해, 산성 pH 조건에 있어서의 FcRn에 대한 친화성을 증대시켜, 항체의 혈장 중 체류성을 향상시키는 방법이 알려져 있다.

[1048] 한편, 상기와 같이, 산성 pH 조건에 있어서의 FcRn 친화성을 증대시킨 Fc 개변체는, 류마토이드 인자(RF)에 대한 바람직하지 않은 친화성을 나타낸다는 것도 알려져 있다(WO2013/046704). 그래서, 류마토이드 인자에 대한 결합성을 저하시켰거나 또는 실질적으로 갖지 않는, 혈장 중 체류성을 개선하는 것이 가능한 Fc 개변체를 제작할 목적으로, 이하의 검토를 실시했다.

[1049] (5-1) 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 제작

[1050] 공지의 개변인 YTE, LS, 또는 N434H를 포함하는 것 등의 산성 pH 조건에 있어서의 FcRn에 대한 친화성을 증대시킨 Fc 개변체와 몇몇 신규 Fc 개변체(F1847m, F1848m, F1886m, F1889m, F1927m, F1168m)를, 이하에 나타내는 바와 같이 제작했다.

[1051] 항인간 IL-6 수용체 항체인 Fv4-IgG1의 중쇄(VH3-IgG1m)의 Fc 영역에, 아미노산 개변을 도입한 중쇄를 코딩하는 서열을, 참고 실시예 1의 방법으로 제작했다. 이들 중쇄를 이용하여, 참고 실시예 2의 방법에 의해, 이하의 항체를 제작했다: (a) 중쇄로서 VH3-IgG1m(서열 번호: 46) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-IgG1; (b) 중쇄로서 VH3-YTE(서열 번호: 47) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-YTE; (c) 중쇄로서 VH3-LS(서열 번호: 48) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-LS; (d) 중쇄로서 VH3-N434H(서열 번호: 49) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-N434H; (e) 중쇄로서 VH3-F1847m(서열 번호: 50) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-F1847m; (f) 중쇄로서 VH3-F1848m(서열 번호: 51) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-F1848m; (g) 중쇄로서 VH3-F1886m(서열 번호: 52) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-F1886m; (h) 중쇄로서 VH3-F1889m(서열 번호: 53) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-F1889m; (i) 중쇄로서 VH3-F1927m(서열 번호: 54) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-F1927m; 및 (j) 중쇄로서 VH3-F1168m(서열 번호: 55) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-F1168m.

[1052] (5-2) 인간 FcRn에 대한 결합의 속도론적 해석

[1053] 중쇄로서 VH3-IgG1m 혹은 상기의 개변체를 포함하고, 또한 경쇄로서 L(WT)(서열 번호: 37)을 포함하는 항체가 참고 실시예 2에 나타낸 방법으로 제작되어, 하기와 같이 인간 FcRn에 대한 결합 활성이 평가되었다.

[1054] BIACORE T100(GE Healthcare)를 이용하여, 인간 FcRn과 각 항체의 속도론적 해석을 행했다. 센서 칩 CM4(GE Healthcare) 상에 아민 커플링법으로 프로틴 L(ACTIGEN)을 적당량 고정하고, 그것에 목적하는 항체를 포착시켰다. 다음에, FcRn 희석액과 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착시킨 항체에 인간 FcRn을 상호작용시켰다. 러닝 버퍼에는 50mM 인산나트륨, 150mM NaCl, 0.05%(w/v) Tween20, pH 6.0을 이용하고, FcRn의 희석에도 각각의 완충액이 사용되었다. 센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정은 모두 25℃에서 실시되었다. 측정으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 카이네틱스 파라미터인 결합 속도 상수 ka(1/Ms), 및 해리 속도 상수 kd(1/s)에 기초하여, 각 항체의, 인간 FcRn에 대한 KD(M)가 산출되었다. 각 파라미터의 산출에는 BIACORE T100 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용되었다.

[1055] 그 결과를 표 8에 나타낸다.

표 8

개변체명	아미노산 변이	pH 6.0에서의 hFcRn에 대한 KD값(nM)
IgG1		1382
LS	M428L/N434S	116
YTE	M252Y/S254T/T256E	148
F1847m	N434A/Y436T/Q438R/S440E	367
F1848m	N434A/Y436V/Q438R/S440E	295
F1886m	M428L/N434A/Y436T/Q438R/S440E	108
F1889m	M428L/N434A/Y436V/Q438R/S440E	103
F1927m	M428L/N434A/Q438R/S440E	125
F1168m	N434A/Q438R/S440E	410

[1056]

[1057] **실시예 6**

[1058] 산성 pH 조건에 있어서의 FcRn 결합성을 증대시킨 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 류마토이드 인자에 대한 친화성의 평가

[1059] 항의약품 항체(ADA)는 치료용 항체의 효과 및 약물동태에 영향을 미쳐, 가끔 심각한 부작용을 가져오는 경우가 있기 때문에, 임상에 있어서의 치료용 항체의 유용성과 약효는 ADA의 산생에 의해 제한될 수 있다. 치료용 항체의 면역원성에는, 많은 요인이 영향을 미치지만, 이펙터 T 세포 에피토프의 존재가 그 요인의 하나이다. 더하여, 치료용 항체의 투여 전부터 환자가 갖고 있는 ADA("기존의 ADA"라고도 한다)의 존재도, 마찬가지로 문제가 있다고 생각된다. 특히, 관절 류머티즘(RA) 등의 자기면역 질환의 환자에 대한 치료용 항체의 경우, 인간 IgG에 대한 자기 항체인 류마토이드 인자(RF)가 "기존의 ADA"의 문제를 일으킬 수 있다. 최근, N434H(Asn434His) 변이를 갖는 인간화 항CD4IgG1 항체가 현저한 류마토이드 인자 결합을 유발한다는 것이 보고되었다(Zheng et al., Clinical Pharmacology & Therapeutics 89(2):283-290(2011)). 상세한 연구에 의해, 인간 IgG1에 있어서의 N434H 변이가, 친인간 IgG1의 것과 비교하여 항체의 Fc 영역에 대한 류마토이드 인자의 결합을 증대시킨다는 것이 확인되었다.

[1060] 류마토이드 인자는 인간 IgG에 대한 폴리클로날 자기 항체이며, 인간 IgG 중의 그들의 에피토프는 클론에 따라 상이하지만, 그들의 에피토프는, CH2/CH3 계면 영역 중, 및 FcRn 결합 에피토프와 중복될 수 있는 CH3 도메인 중에 위치하는 것 같다. 그 때문에, FcRn에 대한 결합 활성(결합 친화성)을 증대시키는 변이는, 류마토이드 인자의 특정 클론에 대한 결합 활성(결합 친화성)을 증대시킬 가능성이 있다.

[1061] 실제로, 산성 pH 또는 중성 pH에 있어서의 FcRn에 대한 친화성이 증대된 Fc에서는, N434H 개변뿐만이 아니라, 그 이외의 많은 아미노산 개변에 의해서도 류마토이드 인자에 대한 Fc의 결합이 마찬가지로 증대한다는 것이 알려져 있다(WO2013/046704).

[1062] 한편, WO2013/046704 중에서, FcRn에 대한 친화성에는 영향을 주지 않고 류마토이드 인자에 대한 친화성을 선택적으로 억제하는 몇몇 아미노산 개변이 예시되고, 그 중에서 2 아미노산 변이의 조합인 Q438R/S440E, Q438R/S440D, Q438K/S440E 및 Q438K/S440D가 나타나 있다. 그래서, 당 명세서에 있어서 처음으로 개시된, 산성 pH 조건에 있어서의 친화성이 새롭게 증대된 Fc에 대해서, Q438R/S440E를 도입함으로써 류마토이드 인자에 대한 결합성을 저하시키는 것이 가능한지 여부를 검증했다.

[1063] (6-1) Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 류마토이드 인자에 대한 결합 어세이

[1064] 류마토이드 인자에 대한 결합 어세이는, 30명의 RA 환자의 개개의 혈청(Proteogenex)을 이용하여, pH 7.4에 있어서의 전기화학발광(ECL)에 의해 행했다. 50배 희석한 혈청 시료, 비오틴 표지한 시험 항체(1μg/mL), 및 SULFO-TAG NHS Ester(Meso Scale Discovery) 표지한 시험 항체(1μg/mL)를 각각 혼합하고, 실온에서 3시간 인큐베이트했다. 그 후, 혼합물을 Streptavidin으로 코팅된 MULTI-ARRAY 96 웰 플레이트(Meso Scale Discovery)에 가하고 플레이트를 실온에서 2시간 인큐베이트하고, 그 후 세정했다. Read Buffer T(×4)(Meso Scale Discovery)를 각 웰에 가한 후, 즉시 플레이트를 SECTOR imager 2400 Reader(Meso Scale Discovery)에 세팅하여, 화학발광을 측정했다.

[1065] 이 어세이의 결과를 도 8 내지 도 17에 나타낸다. 천연형 인간 IgG1을 갖는 Fv4-IgG1(도 8)은, 약한 류마토이드 인자 결합밖에 나타내지 않았는데 반해, FcRn에 대한 결합이 증대된 기존의 Fc 개변체인 Fv4-YTE(도 9), Fv4-LS(도 10), 및 Fv4-N434H(도 11)는 모두, 복수의 도너에 있어서 류마토이드 인자 결합이 유의하게 증대되어 있었다. 한편, FcRn에 대한 결합이 증대된 신규의 Fc 영역 개변체인 Fv4-F1847m(도 12), Fv4-F1848m(도 13), Fv4-F1886m(도 14), Fv4-F1889m(도 15), Fv4-F1927m(도 16), 및 Fv4-F1168m(도 17)에 대해서는, 모두 약한 류마토이드 인자 결합밖에 나타내지 않아, FcRn에 대한 결합이 증대된 개변에 의한 류마토이드 인자 결합을 현저하게 억제할 수 있음이 나타났다.

[1066] 도 18은, 각각의 개변체에 대해, 30명의 RA 환자의 혈청에 있어서의 류마토이드 인자에 대한 결합 친화성의 평균치를 나타낸 것이다. 6종류의 신규의 개변체는 모두, 3종의 기존의 개변체(YTE, LS, N434H)보다 낮은 친화성을 나타내고, 또한 천연형 인간 IgG1과 비교해도, 보다 낮은 류마토이드 인자에 대한 친화성을 나타냈다. 이상으로부터, 관절 류머티즘 등의 자기면역 질환에 대해, FcRn에 대한 친화성이 개선된 치료용 항체의 임상 개발을 고려하는 경우에, 기존의 Fc 개변체에 있어서 염려되는 류마토이드 인자에 관련된 위험은, 당 명세서에 있어서 처음으로 개시된 Fc 개변체에 있어서는 억제되고 있고, 따라서, 기존에 공지된 Fc 개변체보다 안전하게 사용 가능하다는 것이 생각된다.

[1067] **실시예 7**

[1068] 산성 pH 조건에 있어서의 FcRn 결합을 증대시킨 Fc 개변체의, 필리핀 원숭이에 있어서의 PK 평가

[1069] 실시예 7에 있어서, 류마토이드 인자에 대한 결합이 억제되어 있는 것이 확인된, 당 명세서에서 제공되는 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 이용하여, 필리핀 원숭이에 있어서의 혈장 중 체류성의 개선 효과를 이하의 방법으로 평가했다.

[1070] (7-1) 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 제작

[1071] 이하의 항인간 IgE 항체를 제작했다: (a) 중쇄로서 OHBH-IgG1(서열 번호: 56) 및 경쇄로서 OHBL-CK(서열 번호: 57)를 포함하는 OHB-IgG1; (b) 중쇄로서 OHBH-LS(서열 번호: 58) 및 경쇄로서 OHBL-CK를 포함하는 OHB-LS; (c) 중쇄로서 OHBH-N434A(서열 번호: 59) 및 경쇄로서 OHBL-CK를 포함하는 OHB-N434A; (d) 중쇄로서 OHBH-F1847m(서열 번호: 60) 및 경쇄로서 OHBL-CK를 포함하는 OHB-F1847m; (e) 중쇄로서 OHBH-F1848m(서열 번호: 61) 및 경쇄로서 OHBL-CK를 포함하는 OHB-F1848m; (f) 중쇄로서 OHBH-F1886m(서열 번호: 62) 및 경쇄로서 OHBL-CK를 포함하는 OHB-F1886m; (g) 중쇄로서 OHBH-F1889m(서열 번호: 63) 및 경쇄로서 OHBL-CK를 포함하는 OHB-F1889m; 및 (h) 중쇄로서 OHBH-F1927m(서열 번호: 64) 및 경쇄로서 OHBL-CK를 포함하는 OHB-F1927m.

[1072] (7-2) 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 원숭이 PK 어세이

[1073] 필리핀 원숭이에 항인간 IgE 항체를 투여한 후의, 혈장 중 항인간 IgE 항체의 인비보 동태를 평가했다. 항인간 IgE 항체의 용액을 2mg/kg으로 단회 정맥내 투여했다. 투여 후 5분, (2시간), 7시간, 1일, 2일, 3일, (4일), 7일, 14일, 21일, 28일, 35일, 42일, 49일, 및 56일에 채혈을 행했다. 채취한 혈액은 즉시 4℃, 15,000rpm으로 5분간 원심 분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지, -80℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존했다. 항인간 IgE 항체로서는, OHB-IgG1, OHB-LS, OHB-N434A, OHB-F1847m, OHB-F1848m, OHB-F1886m, OHB-F1889m, 및 OHB-F1927m의 8종류를 사용했다.

[1074] (7-3) ELISA에 의한 혈장 중 항인간 IgE 항체의 농도 측정

[1075] 필리핀 원숭이 혈장 중의 항인간 IgE 항체 농도는 ELISA법으로 측정했다. 우선 항인간 IgG κ쇄 항체(Antibody Solution)를 Nunc-Immuno Plate, MaxiSorp (Nalge nunc International)에 분주하고, 4℃에서 하룻밤 정치하여 항인간 IgG κ쇄 항체 고정화 플레이트를 제작했다. 혈장 중 농도로서 640, 320, 160, 80, 40, 20, 또는 10ng/mL의 검량선 시료와, 100배 이상 희석한 필리핀 원숭이 혈장 측정 시료를 조제했다. 이들 검량선 시료 및 혈장 측정 시료에는 필리핀 원숭이 IgE(사내 조제품)가 1μg/ml의 농도로 첨가되도록 제작되었다. 그 후, 항인간 IgG κ쇄 항체 고정화 플레이트에 시료를 분주하고 실온에서 2시간 정치했다. 그 후 HRP-항인간 IgG γ쇄 항체(Southern Biotech)를 분주하고 실온에서 1시간 정치했다. 그 후, TMB Chromogen Solution(Life Technologies)을 기질로서 이용하여 발색 반응을 행하여, 1N-Sulfuric acid(Wako)로 반응 정지 후, 마이크로플레이트 리더로 450nm의 흡광도를 측정했다. 원숭이 혈장 중 항인간 IgE 항체 농도는 검량선의 흡광도로부터 해석 소프트웨어 SOFTmax PRO(Molecular Devices)를 이용하여 산출했다. 측정한 원숭이 혈장 중 항인간 IgE 항체의 농도 추이를 도 19에 나타낸다. 측정한 원숭이 혈장 중 항인간 IgE 항체의 농도 추이로부터, Phoenix

WinNonlin Ver. 6.2(Pharsight Corporation)를 이용하여 모멘트 해석에 의해 소실 클리어런스를 산출했다. 산출한 약물동태학적 파라미터를 표 9에 나타낸다. 혈장 중의 투여 시료에 대한 항체가 양성인 개체로부터의 시료는 원숭이 혈장 중의 항인간 IgE 항체의 농도 추이 및 클리어런스의 산출로부터 제외했다.

표 9

항인간 IgE 항체를 투여 후의 각 투여 검체의 소실 클리어런스

검체명	소실 클리어런스 (mL/일/kg)
OHB-IgG1	9.33
OHB-F1847m	2.83
OHB-F1848m	4.02
OHB-F1886m	1.92
OHB-F1889m	2.39
OHB-F1927m	1.51
OHB-LS	1.80
OHB-N434A	4.36

[1076]

[1077] (7-4) 전기화학발광법에 의한 혈장 중의 투여 시료에 대한 항체의 측정

[1078] 투여 시료에 대한 원숭이 혈장 중 항체는 전기화학발광법으로 측정했다. SULFO-TAG NHS Ester(Meso Scale Discovery)로 루테늄 표지한 투여 시료, EZ-Link Micro Sulfo-NHS-Biotinylation Kit(Pierce)로 비오틴화한 투여 시료, 및 필리핀 원숭이 혈장 측정 시료를 등량 혼합하고, 4℃에서 하룻밤 정치했다. MULTI-ARRAY 96-well Streptavidin Gold Plate(Meso Scale Discovery)에 시료를 첨가 후에 실온에서 2시간 반응시키고, 세정했다. 그 후, Read Buffer T(×4)(Meso Scale Discovery)를 분주하고, 즉시 SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)으로 측정을 행했다.

[1079] 결과, 신규 Fc 개변체는 모두, 천연형 IgG1의 Fc 영역과 비교하여, 대폭적인 혈장 중 체류성의 개선을 나타냄이 확인되었다.

[1080] (7-5) Fc 개변체에 대한 마우스 PK 어세이

[1081] 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합 증대를 위한 Fc 개변체로서 WO2013/046704에 기재된 Fc 개변체인 F1718과 이번에 신규하게 발견된 Fc 개변체인 F1848m을 비교하기 위해서, 이하와 같은 실험을 실시했다.

[1082] Fv4-IgG1(항인간 IL-6 수용체 항체)의 중쇄(VH3-IgG1)의 Fc 영역에 아미노산 개변을 도입한 중쇄를 코딩하는 유전자를, 참고 실시예 1의 방법으로 제작했다. 이들 중쇄를 이용하여, 참고 실시예 2의 방법에 의해, 이하의 항체를 제작했다: (a) 중쇄로서 VH3-IgG1 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-IgG1; 및 (b) 중쇄로서 VH3-F1718(서열 번호: 65) 및 경쇄로서 VL3-CK를 포함하는 Fv4-F1718.

[1083] 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg line 32 +/+ mouse, Jackson Laboratories, Methods Mol. Biol. 602:93-104(2010))의 꼬리 정맥에, 상기 항인간 IL-6 수용체 항체가 1mg/kg으로 단회 투여되었다. 항인간 IL-6 수용체 항체의 투여 후 15분, 7시간, 1일, 2일, 3일, 7일, 14일, 21일, 및 28일에 채혈을 했다. 채취된 혈액을 즉시 4℃, 15,000rpm으로 15분간 원심 분리하는 것에 의해, 혈장이 얻어졌다. 분리된 혈장은, 측정을 실시할 때까지 -20℃ 이하에서 냉동고에 보존되었다.

[1084] (7-6) ELISA에 의한 혈장 중 항인간 IL-6 수용체 항체의 농도 측정

[1085] 마우스 혈장 중의 항인간 IL-6 수용체 항체의 농도는 ELISA로 측정되었다. 우선, Anti-Human IgG(gamma-chain specific) F(ab')2 Fragment of Antibody(SIGMA)를 Nunc-Immuno Plate, MaxiSorp(Nalge nunc International)에 분주하고, 4℃에서 하룻밤 정치하는 것에 의해 Anti-Human IgG 고정화 플레이트가 제작되었다. 혈장 중 농도로서 0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025, 또는 0.0125μg/mL의 항인간 IL-6 수용체 항체를 포함하는 검량선 시료와, 100배 이상 희석된 마우스 혈장 측정 시료가 각각 조제되었다. 이들 검량선 시료 또는 혈장 측정 시료 100μL에 20ng/mL의 가용형 인간 IL-6 수용체가 200μL 가해진 혼합액을, 실온에서 1시간 정치시켰다. 그 후,

당해 혼합액이 각 웰에 분주된 Anti-Human IgG 고정화 플레이트를 실온에서 1시간 정치시켰다. 그 후, Biotinylated Anti-human IL-6R Antibody(R&D)를 가하고 실온에서 1시간 반응시키고, 추가로 Streptavidin-PolyHRP80(Stereospecific Detection Technologies)을 가하고 실온에서 1시간 반응시킨 반응액의 발색 반응이, TMB One Component HRP Microwell Substrate(BioFX Laboratories)를 기질로서 이용하여 행해졌다. 1N-Sulfuric acid(Showa Chemical)를 첨가하는 것에 의해 반응이 정지된 각 웰의 반응액의 450nm의 흡광도가, 마이크로플레이트 리더로 측정되었다. 마우스 혈장 중의 항체 농도는 검량선의 흡광도로부터 해석 소프트웨어 SOFTmax PRO(Molecular Devices)를 이용하여 산출되었다.

[1086] 결과를 도 20에 나타낸다. WO2013/046704에 기재가 있는, 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합 증대를 위한 Fc 개변체인 F1718은, 항체 PK의 연장 효과를 나타내지 않고, 천연형 IgG1의 경우와 동등한 혈장 중 체류성을 나타냈다.

[1087] F1718에는, Fc 영역에 N434Y/Y436V/Q438R/S440E라는 4개소의 변이가 도입되고 있다. 한편, 당 명세서에 있어서 처음으로 개시된 F1848m에는, N434A/Y436V/Q438R/S440E라는 4개소의 변이가 도입되고 있다. 이들 2종류의 Fc에 도입되어 있는 아미노산 변이의 차이는, EU 넘버링에 따른 434위에 도입되어 있는 아미노산 변이가, F1718은 Y(티로신)이며, F1848m는 A(알라닌)이라고 하는 점뿐이다. 실시예(7-2)에 있어서, F1848m은 천연형 IgG1과 비교하여 혈장 중 체류성의 향상을 나타냈지만, F1718은 혈장 중 체류성의 향상을 나타내지 않았다. 이것으로부터, 한정되는 것은 아니지만, 혈장 중 체류성의 향상을 위해서 434위에 도입되는 아미노산 변이로서는, A(알라닌)가 바람직하다는 것이 시사된다.

[1088] (7-7) Fv 개변체의 면역원성 예측 스코어

[1089] 항의약품 항체(ADA)의 산생은, 치료용 항체의 효과 및 약물동태에 영향을 미쳐, 가끔 심각한 부작용을 가져오는 일이 있기 때문에, 임상에 있어서의 치료용 항체의 유용성이나 약효는, ADA의 산생에 의해 제한될 수 있다. 치료용 항체의 면역원성은, 많은 요인에 영향을 받는 것이 알려져 있지만, 특히 치료용 항체가 갖는 이펙터 T 세포 에피토프의 중요성이 특히 다수 보고되어 있다.

[1090] T 세포 에피토프를 예측하기 위한 in silico 툴로서는, Epibase(Lonza), iTope/TCED(Antitope), 및 EpiMatrix(EpiVax) 등이 개발되어 있다. 이들 in silico 툴을 이용하여, 각 아미노산 서열 중의 T 세포 에피토프를 예측할 수 있어(Walle et al., Expert Opin. Biol. Ther. 7(3):405-418(2007)), 치료용 항체의 잠재적인 면역원성 평가가 가능해진다.

[1091] EpiMatrix를 이용하여, 평가되는 Fc 개변체의 면역원성 스코어를 산출했다. EpiMatrix는, 면역원성을 예측하고 싶은 단백질의 아미노산 서열을 9 아미노산마다 단락지은 펩타이드 단편의 서열을 기계적으로 설계하고, 그들에 대해서, 8종류의 주요한 MHC Class II 알렐(DRB1*0101, DRB1*0301, DRB1*0401, DRB1*0701, DRB1*0801, DRB1*1101, DRB1*1301, 및 DRB1*1501)에 대한 결합능을 계산하여, 목적 단백질의 면역원성을 예측하는 시스템이다(Clin. Immunol. 131(2):189-201(2009)).

[1092] WO2013/046704에 기재된 F1718 및 F1756(N434Y/Y436T/Q438R/S440E)은, N434Y 변이를 포함한다. 이것에 대해서, 새롭게 개시된 F1848m 및 F1847m은, N434A 변이를 포함한다.

[1093] 상기와 같이 산출된, 이들 4종류의 개변체, 즉 F1718, F1848m, F1756, 및 F1847m의 면역원성 스코어가, 표 31의 "EpiMatrix 스코어"의 난에 표시되어 있다. 더욱이, EpiMatrix 스코어에 대해, Tregitope의 함유를 고려해 보정된 면역원성 스코어가, "tReg Adjusted Epx 스코어"의 난에 표시되어 있다. Tregitope란, 주로 천연형의 항체 서열 중에 대량으로 존재하는 펩타이드 단편 서열이며, 제어성 T 세포(Treg)를 활성화하는 것에 의해, 면역원성을 억제한다고 생각되고 있는 서열이다.

표 31

[1094]

단백질 서열	변이	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx 스코어
F1718	N434Y/Y436V/Q438R/S440E	-10.97	-32.64
F1848m	N434A/Y436V/Q438R/S440E	-15.38	-37.06
F1756	N434Y/Y436T/Q438R/S440E	-14.05	-35.73
F1847m	N434A/Y436T/Q438R/S440E	-18.4	-40.08

[1095] 이 결과로부터, "EpiMatrix 스코어" 및 "tReg Adjusted Epx 스코어"의 어느 것을 보아도, N434A 개변체인 F1848m 및 F1847m의 면역원성 스코어는, N434Y 개변체와 비교하여 저하되어 있었다. 이것에 의해, 보다 낮은 면역원성 스코어를 위해서 434위에 도입되는 아미노산 변이로서는 A(알라닌)가 바람직하다는 것이 시사된다.

[1096] **실시예 8**

[1097] 인간화 항인간 IL-8 항체의 제작

[1098] (8-1) 인간화 항인간 IL-8 항체 hWS-4의 제작

[1099] 미국 특허 제6,245,894호 중에서 개시되어 있는 인간화 항IL-8 항체는, 인간 IL-8(hIL-8)과 결합하는 것에 의해, 그 생리 작용을 차단한다. 개변된 인간화 항IL-8 항체는, 미국 특허 제6,245,894호에 개시되어 있는 중쇄 및 경쇄의 가변 영역 서열과, 실질적으로 임의의 다양한 공지된 인간 항체의 정상 영역 서열을 조합하여 제작 가능하다. 따라서, 이들 개변된 항체의 인간 항체 정상 영역 서열로서는, 특별히 한정은 되지 않지만, 중쇄 정상 영역으로서 천연형 인간 IgG1 서열 또는 천연형 인간 IgG4 서열을, 경쇄 정상 영역 서열로서 천연형 인간 κ서열을 이용할 수 있다.

[1100] 미국 특허 제6,245,894호 중에서 개시되어 있는 인간화 IL-8 항체 중, 중쇄 가변 영역 RVHg와, 중쇄 정상 영역으로서 천연형 인간 항IgG1 서열을 조합한 hWS4H-IgG1(서열 번호: 83)의 코딩 서열을, 참고 실시예 1의 방법으로 제작했다. 더욱이, 경쇄 가변 영역 RVLa와, 경쇄 정상 영역으로서 천연형 인간 κ서열을 조합한 hWS4L-kOMT(서열 번호: 84)의 코딩 서열을, 참고 실시예 1의 방법으로 제작했다. 상기의 중쇄 및 경쇄를 조합한 항체를 제작하여, 인간화 WS-4 항체(이하, hWS-4)로 했다.

[1101] (8-2) 인간화 항인간 IL-8 항체 Hr9의 제작

[1102] hWS-4에서 사용되고 있는 FR과는 상이한 인간 컨센서스 프레임워크 서열을 이용하여, 새로운 인간화 항체를 제작했다.

[1103] 구체적으로는, 중쇄의 FR1로서 VH3-23과 VH3-64의 하이브리드 서열, FR2로서 VH3-15나 VH3-49 등에서 보이는 서열, FR3으로서 VH3-72에서 보이는 서열(단 Kabat 넘버링에 따른 82a를 제외한다), 및 FR4로서는 JH1에서 보이는 서열을 이용했다. 이들 서열을 hWS-4 중쇄의 CDR 서열과 연결하여, 신규의 인간화 항체의 중쇄인 Hr9-IgG1(서열 번호: 85)을 제작했다.

[1104] 다음에, 중쇄로서 hWS4H-IgG1 및 경쇄로서 hWS4L-kOMT를 갖는 hWS-4와, 중쇄로서 Hr9-IgG1 및 경쇄로서 hWS4L-kOMT를 갖는 Hr9의, 2종류의 항체를 제작했다. 한편, 당 명세서 중의 개시 C를 기재하고 있는 범위에 있어서, 특히 경쇄를 명기하고 싶은 경우에 있어서는, Hr9는 Hr9/hWS4L로도 표기된다. 항체는, FreeStyle 293 F 세포(Invitrogen)를 이용하여, 제품에 첨부된 프로토콜에 따라 발현시켰다. 배양 상청으로부터의 항체의 정제는 참고 실시예 2의 방법으로 행했다. 그 결과, 표 11에 나타내는 양의 항체가 취득되었다. 놀랍게도, Hr9의 발현량은, hWS-4의 발현량의 약 8배였다.

표 11

[1105]

	배지 1mL당의 항체 수량 (μg)
hWS-4	6.4
Hr9	50

[1106] (8-3) hWS-4 및 Hr9의 인간 IL-8 결합 활성

[1107] hWS-4및 Hr9의 인간 IL-8에 대한 결합 친화성을, BIACORE T200(GE Healthcare)을 이용하여 이하와 같이 측정했다.

[1108] 러닝 버퍼는, 0.05% tween20, 20mM ACES, 및 150mM NaCl(pH 7.4)의 조성의 것을 이용했다. 센서 칩 CM4(GE Healthcare) 상에 아민 커플링법으로 프로틴 A/G(PEIRCE)를 적당량 고정하고, 목적하는 항체를 포착했다. 다음에, 인간 IL-8 희석액과 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착시킨 항체에 인간 IL-8을 상호작용시켰다. 한편, 러닝 버퍼는 상기 조성의 용액이 이용되고, 인간 IL-8의 희석에도 당 완충액이 사용되었다. 센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정은 모두 37℃에서 실시되었다. 측정

으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 카이네틱스 파라미터인 결합 속도 상수 kon(1/Ms), 및 해리 속도 상수 koff(1/s)에 기초하여, 각 항체의 인간 IL-8에 대한 KD(M)가 산출되었다. 각 파라미터의 산출에는 BIACORE T200 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용되었다.

[1109] 결과를 표 12에 나타낸다. hWS-4와 Hr9는, 인간 IL-8에 대해서 동등한 결합 친화성을 갖는다는 것이 확인되었다.

표 12

[1110]

항체명	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)
hWS-4	9.74E+05	2.03E-04	2.09E-10
Hr9	1.11E+06	2.17E-04	1.95E-10

[1111] 항체 의약품의 개발에 있어서, 항체 분자의 산생량은 중요한 인자이며, 일반적으로 높은 산생량이 바람직하다. 상기의 검토에 의해, hWS-4의 HVR 서열과 조합시켜야 할, 보다 적절한 인간 컨센서스 프레임워크 유래의 서열이 선택되어, 인간 IL-8에 대한 결합 친화성을 유지한 채로 산생량이 개선된 Hr9를 얻을 수 있었던 것은 특필해야 할 점이다.

[1112] **실시예 9**

[1113] pH 의존적 IL-8 친화성을 갖는 항체의 산생

[1114] (9-1) pH 의존성 부여를 위한 Hr9 개변 항체의 제작

[1115] 실시예 8에서 얻어진 Hr9 항체에 대해서 pH 의존적 IL-8 친화성을 부여하는 것을 목적으로 하여, 시험을 행했다.

[1116] 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, IL-8에 대한 pH 의존적 친화성을 갖는 항체는, 인비보에서 다음과 같은 거동을 나타낼 수 있다. 생물체에게 투여된 당해 항체는, 중성 pH로 유지되고 있는 환경(예를 들어 혈장 중)에 있어서, IL-8에 대해서 강하게 결합하여, 그 기능을 차단할 수 있다. 이와 같은 IL-8과 항체의 복합체의 일부는, 세포막과의 비특이적인 상호작용(피노사이토시스)에 의해 세포 내로 흡수된다(이하, 비특이적인 흡수라고 한다). 엔도솜 내의 산성 pH의 조건하에 있어서는, 상기 항체의 IL-8에 대한 결합 친화성이 약해지기 때문에, 상기 항체는 IL-8로부터 해리된다. 그 후, IL-8로부터 해리된 상기 항체는, FcRn를 통하여 세포 외로 되돌아올 수 있다. 이와 같이 세포 외(혈장 중)로 되돌아온 상기 항체는, 재차 다른 IL-8에 결합하여, 그 기능을 차단하는 것이 가능하다. IL-8에 대해서 pH 의존적 친화성을 갖는 항체는, 상기와 같은 메카니즘에 의해, IL-8에 대해서 복수회 결합하는 것이 가능해진다고 생각할 수 있다.

[1117] 한편, 상기 항체에 보유되고 있는 성질을 갖지 않는 항체의 경우, 1분자의 항체는 1번만 항원을 중화시키는 것이 가능하고, 항원을 복수회 중화시킬 수 없다. 통상, IgG 항체는 2개의 Fab를 갖기 때문에, 1개의 항체 분자는 2분자의 IL-8을 중화시킬 수 있다. 한편, IL-8에 복수회 결합할 수 있는 항체는, 생체 내에 체류하고 있는 한, 몇 번이라도 IL-8에 결합할 수 있다고 생각된다. 예를 들어, 투여되고 나서 소실하기까지 세포 내에 10회 흡수된 pH 의존적 IL-8 결합 항체는, 1분자에서도 최대로 20분자의 IL-8을 중화시키는 것이 가능하다. 그 때문에, 복수회 IL-8에 결합할 수 있는 항체는, 보다 적은 항체량이어도, 많은 IL-8 분자를 중화시킬 수 있다고 하는 이점을 갖는다. 다른 관점에서는, 복수회 IL-8에 결합할 수 있는 항체는, 상기 보유되고 있는 성질을 갖지 않는 동일한 양의 항체를 투여한 경우보다 장기간에 걸쳐서 IL-8을 중화시키는 것이 가능한 상태를 유지할 수 있다고 하는 이점을 갖는다. 또한, 추가로 다른 관점에서는, 복수회 IL-8에 결합할 수 있는 항체는, 상기 보유되고 있는 성질을 갖지 않는 동일한 양의 항체를 투여한 경우보다, 강하게 IL-8의 생물학적 활성을 차단할 수 있다고 하는 이점을 갖는다.

[1118] 이들 이점을 실현하기 위해서, 복수회 IL-8에 결합할 수 있는 항체를 창제하는 것을 목적으로 하여, Hr9-IgG1 및 WS4L-kOMT의 가변 영역에 대해서, 히스티딘을 중심으로 한 아미노산 개변을 도입했다. 구체적으로는, 표 13에 나타내는 개변체를, 참고 실시예 1 및 2의 방법으로 제작했다.

[1119] 한편, 표 13에 있어서 나타나고 있는 "Y97H"와 같은 표기는, Kabat 넘버링에 의해 정의되는 변이 도입 위치와 변이 도입 전의 아미노산, 및 변이 도입 후의 아미노산을 나타낸 것이다. 구체적으로는, "Y97H"라고 표기했을

경우, Kabat 넘버링에 따른 97위의 아미노산 잔기를, Y(티로신)로부터 H(히스티딘)로 치환한 것을 나타내고 있다. 더욱이, 복수의 아미노산 치환을 조합하여 도입했을 경우에는, "N50H/L54H"와 같이 기재한다.

표 13

[1120]

항체명	중쇄에 도입된 변이	경쇄에 도입된 변이
Hr9/WS4L	없음	없음
Hr9/L16	없음	L54H
H89/WS4L	Y97H	없음
H89/L12	Y97H	N50H
H89/L16	Y97H	L54H

[1121] (9-2) pH 의존적 IL-8 친화성

[1122] 실시예 9-1에서 제작된 항체의 인간 IL-8 결합 친화성을, BIACORE T200(GE Healthcare)을 이용하여 이하와 같이 측정했다. 러닝 버퍼는 이하의 2종을 이용했다: (1) 0.05% tween20, 20mM ACES, 150mM NaCl, pH 7.4; 및 (2) 0.05% tween20, 20mM ACES, 150mM NaCl, pH 5.8.

[1123] 센서 칩 CM4(GE Healthcare) 상에 아민 커플링법으로 프로틴 A/G(PIERCE)를 적당량 고정하고, 목적하는 항체를 포착했다. 다음에, 인간 IL-8 희석액과 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착시킨 항체에 인간 IL-8을 상호작용시켰다. 한편, 러닝 버퍼는 상기 중 한쪽이 이용되고, 인간 IL-8의 희석에도 각각의 완충액이 사용되었다. 센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정은 모두 37℃에서 실시되었다. 측정으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 카이네틱스 파라미터인 결합 속도 상수 kon(1/Ms), 및 해리 속도 상수 koff(1/s)에 기초하여 각 항체의 인간 IL-8에 대한 KD(M)가 산출되었다. 각 파라미터의 산출에는 BIACORE T200 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용되었다.

[1124] 결과를 표 14-1에 나타낸다. 우선, 경쇄에 L54H 개변을 포함하는 Hr9/L16은, 중성 pH(pH 7.4)에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성이 Hr9보다 약간 증강하고 있는 한편으로, 산성 pH(pH 5.8)에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성이 저하되어 있었다. 한편, 중쇄에 Y97H 개변을 포함하는 H89와 각종 경쇄를 조합하여 제작한 항IL-8 항체(H89/WS4L, H89/L12, 및 H89/L16)는 모두, 산성 pH에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성은 저하되어 있음과 동시에, 중성 pH에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성도 저하를 나타내고 있었다.

[1125] [표 14-1]

[1126]

항체명	pH	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)	kon 비 (pH7.4/pH5.8)	Koff 비 (pH5.8/pH7.4)	KD 비 (pH5.8/pH7.4)
Hr9	pH 7.4	8.59E+05	2.11E-04	2.46E-10			
(Hr9/WS4L)	pH 5.8	3.23E+05	4.69E-04	1.45E-09	2.7	2.2	5.9
Hr9/L16	pH 7.4	8.90E+05	9.57E-05	1.08E-10			
	pH 5.8	3.91E+04	1.97E-04	5.04E-09	22.8	2.1	46.8
H89/WS4L	pH 7.4	8.51E+05	7.65E-04	8.99E-10			
	pH 5.8	1.62E+05	7.27E-03	4.48E-08	5.2	9.5	49.8
H89/L12	pH 7.4	5.95E+05	2.48E-04	4.17E-10			
	pH 5.8	1.19E+05	3.52E-03	2.96E-08	5.0	14.2	71.0
H89/L16	pH 7.4	6.02E+05	4.21E-04	6.99E-10			
	pH 5.8	1.20E+05	4.22E-03	3.51E-08	5.0	10.0	50.3
H89/L63	pH 7.4	5.37E+05	1.13E-04	2.10E-10			
	pH 5.8	2.62E+05	2.10E-03	8.04E-09	2.1	18.7	38.3
H89/L118	pH 7.4	5.80E+05	2.13E-05	3.67E-11			
	pH 5.8	1.79E+05	3.84E-03	2.15E-08	3.2	180.3	585.0

[1127] (9-3) pH 의존성 부여를 위한 개변 항체의 제작과 평가

[1128] 9-2에서 발견된 유망한 개변의 조합과 새로운 아미노산 변이의 평가를 행하고, 그 결과, 이하의 조합이 발견되었다.

[1129] [표 14-2]

[1130]

항체명	중쇄에 도입된 변이	경쇄에 도입된 변이
H89/L63	Y97H	N50H/L54H
H89/L118	Y97H	N50H/L54H/Q89K

[1131] 개변체를 참고 실시예 1 및 2의 방법으로 제작하고, 실시예 9-2와 마찬가지의 방법으로 인간 IL-8에 대한 결합 친화성을 평가했다.

[1132] 그 결과를 표 14에 아울러 나타낸다. 중쇄로서 H89-IgG1(서열 번호: 86) 및 경쇄로서 L63-kOMT(서열 번호: 87)를 갖는 H89/L63은, 중성 pH(pH 7.4)에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성이 Hr9와 동등한 채로, 산성 pH(pH 5.8)에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성의 저하를 나타냈다. 구체적으로는, H89/L63은, pH 5.8에 있어서의 koff(해리 속도 상수) 및 KD(해리 상수)의 양방이, Hr9보다 커지고 있었다. 이것은, 엔도솜 내의 산성 pH 조건하에 있어서, H89/L63은 인간 IL-8을 해리하기 쉬운 성질을 가지고 있음을 의미하고 있다.

[1133] 놀랍게도, 중쇄로서 H89-IgG1 및 경쇄로서 L118-kOMT(서열 번호: 88)를 갖는 H89/L118은, 중성 pH 조건에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성(KD)은 Hr9보다 증강하고 있는데 반해, 산성 pH 조건에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성(KD)은 Hr9보다 감약되고 있음이 발견되었다. 특별히 한정은 되지 않지만, 일반적으로 항원에 복수회 결합할 수 있는 항체를 의약품으로서 사용하려면, pH 의존적 항원 결합 항체는, 중성 pH 조건하(예를 들어, 혈장 중)에서 항원을 강하게 중화시키는 것이 가능하도록, 강한 결합 친화성을 갖는(KD가 작은) 것이 바람직하다. 한편, 산성 pH 조건하(예를 들어, 엔도솜 내)에서, 항원을 신속하게 해리하는 것이 가능하도록, 항체는, 해리 속도 상수(koff)가 큰 것, 및/또는 약한 결합 친화성을 갖는(KD가 큰) 것이 바람직하다. H89/L118은, 이들 중성 pH와 산성 pH 조건의 어느 것에 있어서도, Hr9와 비교하여 바람직한 성질을 획득하고 있었다.

[1134] 따라서, Hr9의 중쇄에 대해서 Y97H, 경쇄에 대해서 N50H/L54H/Q89K라는 유용한 아미노산 개변이 발견되었다. 특별히 한정되지는 않지만, 이들 중에서 선택되는 아미노산 개변을 단독으로, 또는 복수 조합하여 도입하는 것에 의해서도, 의약품으로서 우수한 pH 의존적 IL-8 결합 항체가 제작 가능하다는 것이 나타났다.

[1135] 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, pH 의존적 항원 결합 항체를 의약품으로서 이용할 때에 중요한 요소는, 생체 내에 투여된 항체가, 엔도솜 내에 있어서 항원을 해리할 수 있는지 여부라고 생각된다. 그를 위해서는 산성 pH 조건하에 있어서 충분히 결합이 약한(해리 상수; KD가 큰) 것, 또는 충분히 해리 속도가 빠른(해리 속도 상수; koff가 큰) 것이 중요하다고 생각된다. 그래서, BIACORE에 의해 얻어진 H89/L118의 KD 또는 koff가, 인비보의 엔도솜 내에 있어서 항원을 해리하기 위해서 충분한 것인지 여부를, 다음에 나타내는 실험으로 검증했다.

[1136] **실시예 10**

[1137] 마우스 PK 어세이를 위한 고친화성 항체의 제작

[1138] 항체에 의한, 인간 IL-8의 소실 속도에 대한 효과를 마우스에 있어서 확인하는 방법으로서는, 특별히 한정은 되지 않는다. 일례에 있어서, 본 방법은, 항체를 인간 IL-8과 혼합한 상태로 마우스에게 투여하는 것, 및 이어서, 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8의 소실 속도를 비교하는 것을 포함한다.

[1139] 여기에서, 마우스의 PK 어세이에 이용하기 위한 참조 항체는, 중성 pH 및 산성 pH의 조건하에 있어서, 모두 충분히 강한 결합 친화성을 갖는 것이 바람직하다. 그래서, Hr9에 대해서 고친화성을 부여하는 개변을 탐색한 결과, 중쇄로서 H998-IgG1(서열 번호: 89) 및 경쇄로서 L63-kOMT를 갖는 H998/L63이 창제되었다.

[1140] H998/L63을 이용하여, 인간 IL-8의 결합 친화성을 실시예 9-2와 마찬가지의 방법으로 평가했다. 결과로서 얻어진 센서그램을 도 21에 나타낸다.

[1141] H998/L63은, 놀랍게도, 중성 pH와 산성 pH의 어느 조건에 있어서도 느린 해리 속도를 나타내고, 또한, Hr9보다 강한 IL-8 결합 친화성을 가진다는 것을 나타냈다. 그러나, BIACORE의 장치 상의 한계에서, 이와 같이 해리 속도가 느린 단백질-단백질간 상호작용의 경우, 해리 속도 상수(koff), 해리 상수(KD) 등의 해석치를 정확하게 산출하지 못한다는 것이 알려져 있다. H998/L63에 있어서도, 정확한 해석치를 취득할 수가 없었기 때문에, 여기에서는 해석치를 나타내지 않았다. 그렇지만, 당 실험의 결과로부터, H998/L63이 중성과 산성의 어느 pH에 있어서도 매우 강한 결합 친화성을 갖고 있어, 마우스 PK 어세이에 있어서의 비교 대상으로서 이용하는 항체로서 적절하다는 것이 확인되었다.

[1142] **실시예 11**

[1143] pH 의존적 IL-8 결합 항체 H89/L118을 이용한 마우스 PK 어세이

[1144] (11-1) H89/L118을 이용한 마우스 PK 어세이

[1145] 실시예 9에서 제작한 H89/L118과, 실시예 10에서 제작한 H998/L63을 이용하여, 인비보에서의 인간 IL-8 소실 속도의 평가를 실시했다.

[1146] 마우스(C57BL/6J, Charles river)에, 인간 IL-8과, 항인간 IL-8 항체를 동시에 투여한 후의 인간 IL-8의 체내 동태를 평가했다. 인간 IL-8과 항인간 IL-8 항체의 혼합 용액(각각 10μg/mL, 200μg/mL)을 꼬리 정맥에 10mL/kg으로 단회 투여했다. 이 때, 인간 IL-8에 대해서 항인간 IL-8 항체는 충분량 과잉으로 존재하므로, 인간 IL-8은 거의 모두 항체에 결합하고 있다고 생각된다. 투여 5분 후, 2시간 후, 4시간 후, 7시간 후, 1일 후, 2일 후, 3일 후, 7일 후, 14일 후, 21일 후, 및 28일 후에 혈액을 채취했다. 채취한 혈액은 즉시 4℃, 15,000rpm으로 15분 원심 분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지 -20℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존했다.

[1147] (11-2) 혈장 중의 인간 IL-8 농도의 측정

[1148] 마우스 혈장 중의 인간 IL-8 농도는 전기화학발광법으로 측정되었다. 우선, 마우스 IgG의 정상 영역을 포함하는 항인간 IL-8 항체(사내 조제품)를, MULTI-ARRAY 96-well Plate(Meso Scale Discovery)에 분주하고, 실온에서 1시간 정치한 후에, 5% BSA(w/v)를 포함하는 PBS-Tween 용액을 이용하여 실온에서 2시간 블로킹하는 것에 의해 항인간 IL-8 항체 고정화 플레이트가 제작되었다. 혈장 중 농도로서 275, 91.7, 30.6, 10.2, 3.40, 1.13, 또는 0.377ng/mL의 인간 IL-8을 포함하는 검량선 시료와, 25배 이상으로 희석된 마우스 혈장 측정 시료가 조제되었다. 시료를 hWS-4와 혼합하여 37℃에서 하룻밤 반응시켰다. 그 후, 이 혼합액을 항인간 IL-8 항체 고정화 플레이트의 각 웰에 50μL씩 분주하고 나서, 실온에서 1시간 교반시켰다. hWS-4의 종농도는 25μg/mL가 되도록 조제되었다. 그 후, Biotin Mouse Anti-Human Igκ Light Chain(BD Pharmingen)을 실온에서 1시간 반응시키고, 추가로 SULFO-TAG Labeled Streptavidin(Meso Scale Discovery)을 실온에서 1시간 반응시킨 후, Read Buffer T(×1)(Meso Scale Discovery)를 분주하고, 즉시 SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)으로 측정을 행했다. 인간 IL-8 농도는 검량선의 리스폰스에 기초하여 해석 소프트웨어 SOFT Max PRO(Molecular Devices)를 이용하여 산출했다.

[1149] 결과로서 얻어진, 혈장 중 인간 IL-8 농도의 데이터를 도 22에, 또한 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8 클리어런스(CL)의 수치를 표 15에 나타낸다.

표 15

[1150]

항체명	인간 IL-8 CL (mL/d/kg)	
	H998/L63	H89/L118
#1	21.4	472.2
#2	27.5	447.2
#3	24.7	476.0
평균 (N=3)	24.5	465.1
표준 편차	3.0	15.6

[1151] 도 22로부터 분명한 바와 같이, H998/L63과 동시에 투여된 인간 IL-8과 비교하여, H89/L118과 동시에 투여된 인간 IL-8은, 마우스 혈장 중으로부터의 소실이 놀랄 만하게 빠르다는 것이 나타났다. 또한, 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8 소실 속도를 정량적으로 나타내고 있는 CL의 수치는, H89/L118은, H998/L63과 비교하여, 인간 IL-8의 소실 속도를 약 19배 증가시켰음을 나타내고 있다.

[1152] 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 이번에 얻어진 데이터로부터, 다음과 같이 고찰하는 것도 가능하다. 항체와 동시에 투여된 인간 IL-8은, 혈장 중에 있어서 대부분이 항체와 결합하여, 복합체 상태로 존재한다. H998/L63과 결합한 인간 IL-8은, 산성 pH 조건하인 엔도솜 내에 있어서도, 항체의 강한 친화성에 의해 항체와 결합한 상태로 존재할 수 있다. 그 후, H998/L63은, 인간 IL-8과의 복합체를 형성한 채의 상태로 FcRn을 통하여 혈장 중으로 되돌려질 수 있기 때문에, 그 때에 인간 IL-8도 동시에 혈장 중으로 되돌려지게 된다. 그 때문

에, 세포 내에 흡수된 인간 IL-8 중 대부분은, 다시 혈장 중으로 되돌아오게 될 수 있다. 즉, 인간 IL-8의 혈장 중으로부터의 소실 속도는, H998/L63과 동시에 투여하는 것에 의해, 현저하게 저하된다. 한편, 전술한 바와 같이, pH 의존적 IL-8 결합 항체인 H89/L118과 복합체를 형성한 상태로 세포 내에 흡수된 인간 IL-8은, 엔도솜 내의 산성 pH 조건하에 있어서, 항체로부터 해리할 수 있다. 항체로부터 해리한 인간 IL-8은, 라이소솜으로 이행하여 분해된다고 생각된다. 그 때문에, pH 의존적 IL-8 결합 항체는, H998/L63과 같은, 산성 pH 및 중성 pH에서 모두 강한 결합 친화성을 갖는 IL-8 결합 항체와 비교하여, 인간 IL-8의 소실을 유의하게 빠르게 하는 것이 가능하다.

[1153] (11-3) H89/L118의 투여량을 증가시킨 마우스 PK 어세이

[1154] 다음에, H89/L118의 투여량을 변화시켰을 경우의 영향을 검증하는 실험을, 이하와 같이 실시했다. 마우스(C57BL/6J, Charles river)에, 인간 IL-8과, H89/L118(2mg/kg 혹은 8mg/kg)를 동시에 투여한 후의 인간 IL-8의 체내동태를 평가했다. 인간 IL-8(2.5μg/mL)과, 항인간 IL-8 항체(200μg/mL 또는 800μg/mL)의 혼합 용액을 꼬리 정맥에 10mL/kg으로 단회 투여했다. 이 때, 인간 IL-8에 대해서 항인간 IL-8 항체는 충분량 과잉으로 존재하므로, 인간 IL-8은 거의 모두 항체에 결합하고 있다고 생각된다. 투여 5분 후, 7시간 후, 1일 후, 2일 후, 3일 후, 7일 후, 14일 후, 21일 후, 및 28일 후에 혈액을 채취했다. 채취한 혈액은 즉시 4℃, 15,000rpm으로 15분 원심 분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지 -20℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존했다.

[1155] 마우스 혈장 중의 인간 IL-8 농도 측정은, 실시예 11-2와 마찬가지의 방법으로 실시했다. 결과로서 얻어진, 혈장 중 인간 IL-8 농도의 데이터를 도 23에, 또 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8 클리어런스(CL)의 수치를 표 16에 나타낸다.

표 16

[1156]

	인간 IL-8 CL (mL/d/kg)	
항체명	H89/L118	H89/L118
항체 투여량	2 mg/kg	8 mg/kg
#1	181.2	93.0
#2	237	101.6
#3	247	114.5
평균 (N = 3)	**221.8**	**103.0**
표준 편차	35.6	10.8

[1157] 결과로서, H89/L118을 2mg/kg으로 투여한 군과 비교하여, 8mg/kg의 항체를 투여한 군은, 인간 IL-8의 소실 속도가 2배 정도 느려지는 것이 확인되었다.

[1158] 이하, 과학적 배경에 기초하여 발명자들이 상기의 결과를 가져올 가능성이 있는 요인 중 하나를 추측한 내용을 기술하지만, 개시 C의 내용이 이하의 고찰의 내용으로 한정된다고 하는 것은 아니다.

[1159] 엔도솜 내로부터 FcRn을 통하여 혈장 중으로 되돌려지는 항체 중, 인간 IL-8이 결합하고 있지만 비율은 낮은 편이 바람직하다. 엔도솜 내에 존재하는 인간 IL-8에 주목하면, 이쪽은 항체와 결합하고 있지 않는 유리형의 비율이 높은 편이 바람직하다. pH 의존적 IL-8 친화성을 갖지 않는 항체와 함께 인간 IL-8이 투여되었을 경우는, 엔도솜 내에 있어서, 대부분의(100%에 가까운) 인간 IL-8은 항체와 복합체를 형성한 상태로 존재한다고 생각되고, 유리형은 적다(0%에 가깝다)고 생각된다. 한편, pH 의존적 IL-8 결합 항체(예를 들어 H89/L118)와 함께 투여되었을 경우는, 엔도솜 내에 있어서, 어느 정도의 비율의 인간 IL-8은 유리형으로서 존재하고 있을 것이다. 이 때의 유리형의 비율은, 가상적으로이지만, 이하와 같이 이해하는 것도 가능하다: [엔도솜 내에 있어서의 유리형 인간 IL-8의 비율(%)]=[엔도솜 내의 유리형 인간 IL-8 농도]÷[엔도솜 내의 전체 인간 IL-8 농도]×100

[1160] 상기 식과 같이 이해되는, 엔도솜 내에 있어서의 유리형 인간 IL-8의 비율은, 보다 높은 것이 바람직하고, 예를 들어 0%보다는 20%가 바람직하고, 20%보다는40%가 바람직하고, 40%보다는 60%가 바람직하고, 60%보다는 80%가 바람직하고, 80%보다는 100%가 바람직하다.

[1161] 따라서, 상기의 엔도솜 내에 있어서의 유리형 인간 IL-8의 비율과, 산성 pH에 있어서의 인간 IL-8에 대한 결합 친화성(KD) 및/또는 해리 속도 상수(koff)에는, 상관이 있다. 즉, 산성 pH에 있어서의 인간 IL-8에 대한 결합

친화성이 약할수록, 및/또는 해리 속도가 클수록, 엔도솜 내에 있어서 유리형 인간 IL-8의 비율은 높다. 그렇지만, 엔도솜 내에 있어서의 유리형 인간 IL-8의 비율을 100%에 가깝게 할 수 있는 pH 의존적 IL-8 결합 항체의 경우, 결합 친화성을 더욱 약하게 하는 것, 및/또는 산성 pH에 있어서의 해리 속도를 높이는 것은, 반드시 유리형 인간 IL-8의 비율을 효과적으로 증가시키는 것으로는 연결되지 않는다. 예를 들어, 유리형 인간 IL-8의 비율을, 99.9%로부터 99.99%로 개선했다고 해도, 그 개선의 정도는 유의하지 않을 것이라는 점은 용이하게 이해할 수 있다.

[1162] 또한, 일반적인 화학 평형의 이론에 따르면, 항IL-8 항체와 인간 IL-8이 공존하고, 그들의 결합 반응과 해리 반응이 평형 상태에 이르고 있는 경우에 있어서, 유리형 인간 IL-8의 비율은, 항체 농도, 항원 농도, 및 해리 상수(KD)의 3자에 의해 일의적으로 결정된다. 여기에서, 항체 농도가 높은 경우, 항원 농도가 높은 경우, 또는 해리 상수(KD)가 작은 경우에는, 복합체가 형성되기 쉬워져, 유리형 인간 IL-8의 비율은 저하된다. 한편, 항체 농도가 낮은 경우, 항원 농도가 낮은 경우, 또는 해리 상수(KD)가 큰 경우에는, 복합체가 형성되기 어려워져, 유리형 인간 IL-8의 비율은 증가한다.

[1163] 여기에서, 이번 시험에 있어서, H89/L118을 8mg/kg 투여한 경우의 인간 IL-8의 소실 속도는, 2mg/kg의 항체를 투여한 경우에 비해 느려지고 있었다. 이것은 즉, 엔도솜 내에 있어서, 8mg/kg의 항체를 투여한 경우의 유리형 인간 IL-8의 비율이, 2mg/kg의 항체를 투여한 경우에 비해 저하된 것을 시사하고 있다. 이 저하의 이유는, 항체의 투여량을 4배로 증가시킨 것에 의해, 엔도솜 내의 항체 농도가 증가하여, 엔도솜 내에서의 IL-8과 항체의 복합체의 형성이 되기 쉬워졌기 때문이라고 추측된다. 즉, 항체의 투여량을 증가시킨 투여군에 있어서는, 엔도솜 내의 유리형 인간 IL-8의 비율이 저하되었기 때문에, 인간 IL-8의 소실 속도가 저하되었다. 이것은 또한, 8mg/kg의 항체 투여 시에는, H89/L118의 산성 pH 조건하에 있어서의 해리 상수(KD)의 크기가, 유리형 인간 IL-8을 100%에 가깝게 하기 위해서는 불충분하다는 것을 시사하고 있다. 즉, 산성 pH 조건하에 있어서, 보다 큰 해리 상수(KD)를 갖는(보다 결합이 약한) 항체이면, 8mg/kg의 항체를 투여한 경우에 있어서도, 유리형 IL-8이 100%에 가까운 상태, 및, 2mg/kg의 항체를 투여한 경우와 동등한 인간 IL-8 소실 속도를 실현한다고 생각된다.

[1164] 이상에 기초하면 목적하는 pH 의존적 IL-8 결합 항체가, 엔도솜 내에 있어서 유리형 인간 IL-8의 비율을 100%에 가까이까지 달성할 수 있을지 여부를 확인하기 위해서, 특별히 한정은 되지 않지만, 인비보에 있어서의 항원 소실 효과의 정도를 상승시킬 여지가 있을지 여부를 검증하는 것이 가능하다. 예를 들어 어느 방법에서는, H89/L118보다 산성 pH에 있어서의 결합 친화성을 약하게 한, 및/또는 산성 pH에 있어서의 해리 속도를 빠르게 한 새로운 pH 의존적 IL-8 결합 항체를 이용했을 때의 인간 IL-8 소실 속도를, H89/L118을 이용했을 때의 IL-8 소실 속도와 비교한다. 상기의 새로운 pH 의존적 IL-8 결합 항체가, H89/L118과 동등한 인간 IL-8 소실 속도를 나타냈을 경우, H89/L118의 산성 pH에 있어서의 결합 친화성 및/또는 해리 속도는, 엔도솜 내에 있어서 유리형 인간 IL-8의 비율을 100%에 가깝게 하기 위해서 이미 충분한 레벨에 있다는 것을 시사하고 있다고 말할 수 있다. 한편, 상기의 새로운 pH 의존적 IL-8 결합 항체가, 보다 높은 인간 IL-8 소실 속도를 나타냈을 경우, H89/L118의 산성 pH에 있어서의 결합 친화성 및/또는 해리 속도는, 개선의 여지가 있음을 시사하고 있다고 말할 수 있다.

[1165] **실시예 12**

[1166] pH 의존적 IL-8 결합 항체 H553/L118의 제작과 평가

[1167] (12-1) pH 의존적 IL-8 결합능을 갖는 항체 H553/L118의 제작

[1168] 그래서, 본 발명자들은, H89/L118보다도 더욱, 산성 pH 조건하에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성을 약하게, 및/또는 해리 속도를 빠르게 한 항체의 제작을 시도했다.

[1169] H89/L118을 기본으로 하고, 히스티딘을 중심으로 한 아미노산 개변을 도입하여, 표 17에 나타내는 개변 항체를 실시예 9와 마찬가지의 방법으로 제작했다. 또한, 실시예 9-2와 마찬가지의 방법으로, 이들 항체의 인간 IL-8 결합 친화성을 측정했다.

[1170] 결과의 일부를 표 17에 나타낸다. 중쇄로서 H553-IgG1(서열 번호: 90) 및 경쇄로서 L118-k0MT를 포함하는 항체 H553/L118과, 중쇄로서 H496-IgG1(서열 번호: 101) 및 경쇄로서 L118-k0MT를 포함하는 항체 H496/L118이, H89/L118보다 더욱 pH 의존성이 증대되어 있다는 것이 나타났다.

표 17

[1171]

항체명	pH	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)	kon 비 (pH7.4/pH5.8)	koff 비 (pH5.8/pH7.4)	KD 비 (pH5.8/pH7.4)
H89/L118	pH 7.4	9.45E+05	1.14E-04	1.21E-10			
	pH 5.8	1.23E+05	3.90E-03	3.18E-08	7.7	34.2	263.0
H496/L118	pH 7.4	1.29E+06	5.03E-05	3.91E-11			
	pH 5.8	1.78E+05	5.47E-03	3.07E-08	7.2	108.6	785.0
H553/L118	pH 7.4	1.15E+06	1.13E-04	9.76E-11			
	pH 5.8	6.14E+05	3.05E-02	4.97E-08	1.9	270.7	509.3

[1172] 취득된 H553/L118에는, H89/L118의 중쇄에 대해서 Y55H와 R57P라고 하는 2종류의 아미노산 개변이 도입되고 있다. 한편, H89/L118의 중쇄에 대해서 R57P만이 도입되고 있는 H496/L118은, H89/L118과 비교하면 중성 pH에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성은 증강하고 있지만, 산성 pH에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성은 거의 변화하고 있지 않다. 즉, H89/L118에 도입된 R57P 개변은, 산성 pH에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성은 변화시키지 않고, 중성 pH에 있어서의 결합 친화성만을 증강하는 개변이다. 더욱이, H496/L118의 중쇄에 대해서 Y55H 개변이 도입된 H553/L118은, H89/L118과 비교하면, 중성 pH에 있어서의 결합 친화성은 유지 또는 약간 증강되어 있는 한편으로, 산성 pH에 있어서의 결합 친화성은 저하되어 있었다. 즉, Y55H와 R57P라고 하는 2종류의 아미노산 개변을 조합하여 H89/L118에 도입하는 것은, 중성 pH에 있어서의 결합 친화성은 유지 또는 약간 증강시키면서, 산성 pH에 있어서의 결합 친화성은 저하시킨다고 하는 성질을 보다 한층 증강시키는 것을 가능하게 했다.

[1173] (12-2) H553/L118을 이용한 마우스 PK 어세이

[1174] H553/L118을 이용하여, 마우스에 있어서의 인간 IL-8 소실 속도의 평가를, 실시예 11-2와 마찬가지의 방법으로 실시했다. 결과로서 얻어진, 혈장 중 인간 IL-8 농도의 데이터를 도 24에, 또한 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8 클리어런스(CL)의 수치를 표 18에 나타낸다.

표 18

[1175]

	인간 IL-8 CL (mL/d/kg)			
항체명	H89/L118	H89/L118	H553/L118	H553/L118
항체 투여량	2 mg/kg	8 mg/kg	2 mg/kg	8 mg/kg
#1	181.2	93.0	250	256.6
#2	237	101.6	245	248.4
#3	247	114.5	249	244.1
평균(N = 3)	**221.8**	**103.0**	**248**	**249.7**
표준 편차	35.6	10.8	3	6.4

[1176] 결과로서, 2mg/kg의 항체를 투여한 마우스의 데이터의 비교에 있어서는, H553/L118과 H89/L118 사이에 큰 차이는 보이지 않았지만, 8mg/kg의 항체를 투여한 마우스의 데이터의 비교에 있어서는, H553/L118이 H89/L118과 비교하여 2.5배 정도로 인간 IL-8의 소실을 빠르게 하고 있음이 확인되었다. 다른 관점에서는, H553/L118은, 2mg/kg과 8mg/kg 사이에 인간 IL-8 소실 속도의 차이가 보이지 않고, H89/L118과 같은 항체의 투여량의 증가에 의한 항원 소실 속도의 저하는 보이지 않았다.

[1177] 특별히 한정은 되지 않지만, 이와 같은 결과가 얻어진 이유의 하나로서, 다음과 같이 고찰하는 것도 가능하다. H553/L118은, 2mg/kg의 항체를 투여한 경우와 8mg/kg의 항체를 투여한 경우에서 동등한 인간 IL-8 소실 속도를 나타내고 있었다. 이것은, H553/L118은 산성 pH에 있어서의 IL-8 결합이 충분히 약하기 때문에, 8mg/kg 투여의 조건에 있어서도, 엔도솜 내의 유리형 IL-8의 비율이 100%에 가까운 레벨에 도달할 수 있다는 것을 나타낼 수 있다. 이것은 즉, H89/L118은, 2mg/kg의 용량에 있어서는, 최대한의 인간 IL-8 소실 효과를 달성하는 것이 가능하지만, 8mg/kg 정도의 고용량이 되면, 그 효과가 감약될 가능성이 있음을 시사하고 있다. 한편, H553/L118은, 8mg/kg의 고용량에 있어서도 역시, 최대한의 인간 IL-8 소실 효과를 달성하는 것이 가능하다.

[1178] (12-3) H553/L118을 이용한 안정성 평가

[1179] H553/L118은, 마우스에 있어서 현저하게 H89/L118보다 인간 IL-8의 소실을 빠르게 하는 것이 가능한 항체임이 나타났다. 한편, 이 항체가 인비보에서 장기간에 걸쳐서 인간 IL-8의 저해 효과를 지속하기 위해서는, 투여된 항체가 인비보(예를 들어 혈장 중)에 존재하고 있는 기간 중, IL-8 중화 활성이 안정되게 유지되는 것(당해 항

체의 IL-8 중화 활성에 있어서의 안정성)도 또한 중요하다. 그래서, 이하에 나타내는 방법으로, 이들 항체의 마우스 혈장 중에 있어서의 당해 안정성을 평가했다.

[1180] 마우스 혈장은, C57BL/6J(Charles river)의 혈액으로부터 당 기술분야에서 공지된 방법으로 채취했다. 200μL의 200mM PBS(Sigma, P4417)를 마우스 혈장 800μL에 첨가하고 1mL로 했다. 또한, 방부제로서 아자이드화 나트륨을 종농도 0.1%첨가했다. 더욱, 각 항체(Hr9, H89/L118, 및 H553/L118)를 종농도 0.2mg/mL가 되도록, 상기의 마우스 혈장에 첨가했다. 이 시점에서 시료의 일부를 채취하여, Initial 시료로 했다. 나머지 시료는 40℃에서 보관했다. 보관 개시부터 1주간 및 2주간이 경과한 시점에서, 시료의 각각 일부를 채취하여, 1주간 보존 시료 및 2주간 보존 시료로 했다. 한편, 모든 시료는 각 분석까지 -80℃에서 동결 보관했다.

[1181] 다음에, 마우스 혈장 중에 포함되는 항IL-8 항체의, 인간 IL-8에 대한 중화 활성의 평가를 다음과 같이 행했다: 인간 IL-8의 수용체로서 CXCR1 및 CXCR2가 알려져 있다. PathHunter(등록상표) CHO-K1 CXCR2 β-Arrestin Cell Line(DiscoveRx사, Cat.# 93-0202C2)는, 인간 CXCR2를 발현하고, 인간 IL-8에 의한 시그널이 전달되었을 때에 화학발광을 나타내도록, 인공적으로 제작된 세포주이다. 특별히 한정은 되지 않지만, 이 세포를 이용하여, 항인간 IL-8 항체가 가지는 인간 IL-8에 대한 중화 활성을 평가하는 것이 가능하다. 당해 세포의 배양액 중에, 인간 IL-8을 첨가하면, 첨가한 인간 IL-8의 농도에 의존한 양식으로, 어느 양의 화학발광을 나타낸다. 인간 IL-8과 항인간 IL-8 항체를 아울러 배양액 중에 첨가한 경우는, 항인간 IL-8 항체는 인간 IL-8과 결합하는 것에 의해, 인간 IL-8의 시그널 전달을 차단할 수 있다. 그 결과로서, 인간 IL-8의 첨가에 의해 일어나는 화학발광은 항인간 IL-8 항체에 의해 저해되어 항체를 첨가하고 있지 않는 경우에 비하면 약한 화학발광을 나타내거나, 또는 전혀 화학발광을 나타내지 않게 된다. 그 때문에, 항체가 가지는 인간 IL-8 중화 활성이 강할수록 화학발광의 정도는 약해지고, 항체가 가지는 인간 IL-8 중화 활성이 약할수록 화학발광의 정도는 강해지게 된다.

[1182] 이것은, 마우스 혈장 중에 첨가하여 일정 기간 보존한 항체에 있어서도 마찬가지이다. 마우스 혈장 중에서 보존하는 것에 의해, 중화 활성이 변화하지 않는 항체이면, 상기의 화학발광의 정도는 보존의 전후에서 변화하지 않을 것이다. 한편, 마우스 혈장 중에서 보존하는 것에 의해, 중화 활성이 저하되는 항체의 경우는, 보존 후의 항체를 이용했을 경우의 화학발광의 정도는, 보존 전에 비해 증가하게 된다.

[1183] 그래서, 상기의 세포주를 이용하여, 마우스 혈장 중에 보존한 항체가, 중화 활성을 유지하고 있는지 여부를 검증했다. 우선, 세포주를 AssayComplete(tm) Cell Plating 0 Reagent에 현탁하여, 384well plate에 5000cells/well씩 파종했다. 세포의 배양 개시부터 1일 후에, 인간 IL-8의 첨가 농도를 결정하기 위한 시험을 이하와 같이 행했다. 최종 인간 IL-8 농도로서 45nM(400ng/mL)로부터 0.098nM(0.1ng/mL)을 포함하도록, 인간 IL-8 용액을 단계적으로 희석한 것을 세포 배양액에 첨가했다. 다음에, 제품 프로토콜에 따라 검출 시약을 첨가하고, 화학발광 검출 장치를 이용하여 상대 화학발광량을 검출했다. 그 결과에 의해, 세포의 인간 IL-8에 대한 반응성을 확인하여, 항인간 IL-8 항체의 중화 활성을 확인하기 위해서 적절한 인간 IL-8 농도를 결정했다. 여기에서는, 인간 IL-8 농도는 2nM로 했다.

[1184] 다음에, 전술한 항인간 IL-8 항체를 첨가한 마우스 혈장을 이용하여, 거기에 포함되는 항체의 중화 활성의 평가를 행했다. 상기에서 결정한 농도의 인간 IL-8과 전술한 항인간 IL-8 항체를 포함하는 마우스 혈장을 세포 배양물에 첨가했다. 여기에서, 첨가하는 마우스 혈장의 양은, 항인간 IL-8 항체 농도로서 2μg/mL(13.3nM)로부터 0.016μg/mL(0.1nM)의 범위에서 단계적으로 포함되도록 결정되었다. 다음에, 제품 프로토콜에 따라 검출 시약을 첨가하고, 화학발광 검출 장치를 이용하여 상대 화학발광량을 검출했다.

[1185] 여기에서, 인간 IL-8 및 항체를 첨가하고 있지 않는 웰의 상대 화학발광량 평균을 0%, 인간 IL-8만을 첨가하고, 항체를 첨가하고 있지 않은 웰의 상대 화학발광량 평균을 100%로 했을 때의, 각 항체 농도에 있어서의 상대 화학발광량의 상대치를 산출했다.

[1186] 인간 CXCR2 발현 세포를 이용한 인간 IL-8 저해 어세이의 결과를, Initial 시료(마우스 혈장 중의 보존 처리 없음)의 결과를 도 25a에, 40℃에서 1주간 보존한 시료의 결과를 도 25b에, 40℃에서 2주간 보존한 시료의 결과를 도 25c에, 각각 나타냈다.

[1187] 그 결과, Hr9 및 H89/L118은, 마우스 혈장 중에서 보존한 전후에서 인간 IL-8 중화 활성에 차이는 보이지 않았다. 한편, H553/L118은 2주간의 보존에 의해, 인간 IL-8 중화 활성의 저하가 보였다. 이것으로부터, H553/L118은, Hr9나 H89/L118과 비교하여, 마우스 혈장 중에 있어서 인간 IL-8 중화 활성이 저하되기 쉽고, IL-8 중화 활성의 면에서 불안정한 성질을 갖는 항체임이 나타났다.

[1188] **실시예 13**

[1189] in silico 시스템을 이용하는 면역원성 예측 스코어를 저감시킨 항체의 제작

[1190] (13-1) 각종 IL-8 결합 항체의 면역원성 예측 스코어

[1191] 항의약품 항체(ADA)의 산생은, 치료용 항체의 효과 및 약물동태에 영향을 미쳐, 가끔 심각한 부작용을 가져오는 경우가 있기 때문에, 임상에 있어서의 치료용 항체의 유용성이나 약효는, ADA의 산생에 의해 제한될 수 있다. 치료용 항체의 면역원성은, 많은 요인에 영향을 받는 것이 알려져 있지만, 치료용 항체 중의 이펙터 T 세포 에피토프의 중요성을 설명하는 다수의 보고가 있다.

[1192] T세포 에피토프를 예측하기 위한 in silico 툴로서는, Epibase(Lonza), iTope/TCED(Antitope), 및 EpiMatrix(EpiVax) 등이 개발되어 있다. 이들의 in silico 툴을 이용하여, 각 아미노산 서열 중의 T 세포 에피토프를 예측할 수 있고(Walle et al., Expert Opin. Biol. Ther. 7(3):405-418(2007)), 치료용 항체의 잠재적인 면역원성 평가가 가능해진다.

[1193] 여기에서, EpiMatrix를 이용하여, 각 항IL-8 항체의 면역원성 스코어를 산출했다. EpiMatrix는, 면역원성을 예측하고 싶은 단백질의 아미노산 서열을 9 아미노산마다 단락지은 펩타이드 단편의 서열을 기계적으로 설계하고, 그들에 관해서, 8종류의 주요한 MHC Class II 알렐(DRB1*0101, DRB1*0301, DRB1*0401, DRB1*0701, DRB1*0801, DRB1*1101, DRB1*1301, 및 DRB1*1501)에 대한 결합능을 계산하여, 목적 단백질의 면역원성을 예측하는 시스템이다. (De Groot et al., Clin. Immunol. 131(2):189-201(2009))

[1194] 상기와 같이 산출된, 각 항IL-8 항체의 중쇄 및 경쇄의 면역원성 스코어가, 표 19의 "EpiMatrix 스코어"의 난에 나타나고 있다. 더욱이, EpiMatrix 스코어에 대해, Tregitope의 함유를 고려하여 보정된 면역원성 스코어가, "tReg Adjusted Epx 스코어"의 난에 나타나고 있다. Tregitope란, 주로 천연형의 항체 서열 중에 대량으로 존재하는 펩타이드 단편 서열이며, 제어성 T 세포(Treg)를 활성화하는 것에 의해, 면역원성을 억제한다고 생각되고 있는 서열이다.

[1195] 또한, 이들 스코어에 대해, 중쇄와 경쇄의 스코어를 합계한 것이, "합계"란에 나타나고 있다.

표 19

[1196]

	중쇄		경쇄		합계	
항체명	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx 스코어	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx 스코어	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx 스코어
hWS-4	62.44	12.18	22.64	-23.89	85.08	-11.71
Hr9	56.52	6.27	22.64	-23.89	79.16	-17.62
H89/L118	57.99	7.74	7.16	-39.36	65.15	-31.62
H496/L118	54.13	3.87	7.16	-39.36	61.29	-35.49
H553/L118	47.88	-2.37	7.16	-39.36	55.04	-41.73

[1197] 이 결과로부터, "EpiMatrix 스코어" 및 "tReg Adjusted Epx 스코어"의 어느 것을 보아도, H89/L118, H496/L118, 및 H553/L118의 면역원성 스코어는, 공지의 인간화 항인간 IL-8 항체인 hWS-4와 비교하여 저하되어 있었음이 나타났다.

[1198] 더욱이, EpiMatrix에서는, 중쇄와 경쇄의 스코어를 고려한 데다가, 항체 분자 전체적으로 예측되는 ADA 발생 빈도를, 각종 시판 항체의 실제의 ADA 발생 빈도와 비교하는 것도 가능하다. 그와 같은 해석을 실시한 결과가, 도 26에 나타나고 있다. 한편, 시스템의 관계 상, 도 26에 있어서는, hWS-4는 "WS4", Hr9는 "HR9", H89/L118은 "H89L118", H496/L118은 "H496L118", H553/L118은 "H553L118"라고 각각 표기되고 있다.

[1199] 도 26에 나타나고 있는 바와 같이, 각종의 시판 항체의 인간에 있어서의 ADA의 발생 빈도는, Campath(Alemtuzumab)는 45%, Rituxan(Rituximab)은 27%, Zenapax(Daclizumab)는 14%인 것이 알려져 있다. 한편, 공지의 인간화 항인간 IL-8 항체인 hWS-4의 아미노산 서열로부터 예측된 ADA 발생 빈도는 10.42%였지만, 당 명세서에 있어서 새롭게 발견된 H89/L118(5.52%), H496/L118(4.67%), 또는 H553/L118(3.45%)은, hWS-4와 비교하면 유의하게 저하되어 있었다.

[1200] (13-2) 면역원성 예측 스코어를 저감시킨 개변 항체의 제작

[1201] 상기한 바와 같이, H89/L118, H496/L118, 및 H553/L118의 면역원성 스코어는, hWS-4와 비교하여 저하되어 있었지만, 표 19로부터 분명한 바와 같이, 중쇄의 면역원성 스코어는 경쇄에 비하면 높고, 특히 중쇄의 아미노산 서열은, 면역원성의 관점에서 아직 개선의 여지가 있음을 시사하고 있다. 그래서, H496의 중쇄 가변 영역으로부터, 면역원성 스코어를 저하시키는 것이 가능한 아미노산 개변의 탐색을 행했다. 예의 탐색을 행한 결과, Kabat 넘버링에 따른 52c위의 알라닌을 아스파라긴산으로 치환시킨 H496v1, 81위의 글루타민을 트레오닌으로 치환시킨 H496v2, 및 82b위의 세린을 아스파라긴산으로 치환시킨 H496v3의 3종류의 개변체가 발견되었다. 또한, 이들 3종의 개변을 모두 포함하는 H1004가 제작되었다.

[1202] 실시예 13-1과 마찬가지의 방법으로, 면역원성 스코어를 산출한 결과를 표 20에 나타낸다.

표 20

[1203]

	중쇄		경쇄		합계	
항체명	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx스코어	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx스코어	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx스코어
H496/L118	54.13	3.87	7.16	-39.36	61.29	-35.49
H496v1/L118	32.17	-18.08	7.16	-39.36	39.33	-57.44
H496v2/L118	45.26	-5.00	7.16	-39.36	52.42	-44.36
H496v3/L118	38.27	-11.98	7.16	-39.36	45.43	-51.34
H1004/L118	10.79	-39.47	7.16	-39.36	17.95	-78.83
H1004/L395	10.79	-39.47	7.79	-38.74	18.58	-78.21

[1204] 단독 개변을 포함하는 H496v1, H496v2, 및 H496v3의 3종류의 중쇄는, 모두 H496와 비교하여 면역원성 스코어의 저하를 나타냈다. 더욱, 3종류의 개변의 조합을 포함하는 H1004에 있어서는, 현저한 면역원성 스코어의 개선을 달성하고 있었다.

[1205] 여기에서, H1004와 조합하기 적절한 경쇄로서는, L118에 더하여, L395가 발견되었다. 그 때문에, 면역원성 스코어의 산출에 있어서는, L118 및 L395의 양자와 조합한 것을 산출했다. 표 20에 나타나고 있는 바와 같이, 중쇄와 경쇄를 조합한 것인 H1004/L118 및 H1004/L395도 또한, 매우 낮은 면역원성 스코어를 나타내고 있었다.

[1206] 다음에, 이들 조합에 대해, 실시예 13-1과 마찬가지의 양식으로, ADA 발생 빈도를 예측했다. 그 결과를 도 27에 나타낸다. 한편, 도 27에 있어서는, H496v1/L118은 "V1", H496v2/L118은 "V2", H496v3/L118은 "V3", H1004/L118은 "H1004L118", H1004/L395는 "H1004L395"라고 각각 표기되고 있다.

[1207] 놀랍게도, 면역원성 스코어를 현저하게 저감시킨 H1004/L118 및 H1004/L395는, ADA 발생 빈도의 예측치에 대해서도 개선하고 있어, 0%라고 하는 예측치를 나타내고 있었다.

[1208] (13-3) H1004/L395의 IL-8 결합 친화성의 측정

[1209] 중쇄로서 H1004-IgG1m(서열 번호: 91) 및 경쇄로서 L395-kOMT(서열 번호: 82)를 포함하는 항체인 H1004/L395를 제작했다. H1004/L395의 인간 IL-8에 대한 결합 친화성을, BIACORE T200(GE Healthcare)을 이용하여 이하와 같이 측정했다.

[1210] 러닝 버퍼는, 이하의 2종을 이용하여 각각의 온도에서 측정을 행했다: (1) 0.05% tween20, 40mM ACES, 150mM NaCl, pH 7.4, 40℃; 및 (2) 0.05% tween20, 40mM ACES, 150mM NaCl, pH 5.8, 37℃.

[1211] 센서 칩 CM4(GE Healthcare) 상에 아민 커플링법으로 프로틴 A/G(PIERCE)를 적당량 고정하고, 목적하는 항체를 포착했다. 다음에, 인간 IL-8 희석액과 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착시킨 항체에 인간 IL-8을 상호작용시켰다. 한편, 러닝 버퍼는 상기의 어느 하나가 이용되고, 인간 IL-8의 희석에도 각각의 완충액이 사용되었다. 센서 칩의 재생에는 25mM NaOH 및 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 카이네틱스 파라미터인 결합 속도 상수 kon(1/Ms), 및 해리 속도 상수 koff(1/s)에 기초하여 각 항체의 인간 IL-8에 대한 KD(M)가 산출되었다. 각 파라미터의 산출에는 BIACORE T200 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용되었다.

[1212] 측정 결과를 표 21에 나타낸다. 면역원성 스코어를 저감시킨 H1004/L395는, H89/L118과 비교하여, 중성 pH에 있어서의 인간 IL-8에의 KD는 동등했지만, 산성 pH에 있어서의 KD 및 koff는 증가하고 있어, 엔도솜 내에 있어서 IL-8을 해리하기 쉬운 성질을 갖고 있음이 나타났다.

[1213] [표 21-1]

[1214]

항체명	pH	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)	kon 비 (pH7.4/pH5.8)	koff 비 (pH5.8/pH7.4)	KD 비 (pH5.8/pH7.4)
H89/L118	pH 7.4	7.51E+05	1.29E-04	1.72E-10			
	pH 5.8	1.29E+05	6.28E-03	4.88E-08	5.8	48.7	283.7
H1004/L395	pH 7.4	1.02E+06	1.55E-04	1.51E-10			
	pH 5.8	3.06E+05	3.38E-02	1.10E-07	3.3	218.1	728.5

[1215] **실시예 14**

[1216] pH 의존적 IL-8 결합 항체 H1009/L395의 제작과 평가

[1217] (14-1) 각종 pH 의존적 IL-8 결합 항체의 제작

[1218] 실시예 13에 나타낸 검토에 의해, pH 의존적 IL-8 결합능을 갖고 또한 저감된 면역원성 스코어도 갖는 H1004/L395가 취득되었다. 다음에, 이들 바람직한 성질과 마우스 혈장 중에 있어서의 안정성을 양립한 개변체의 창제를 목표로 하여, 예의 검토를 행했다.

[1219] H1004/L395를 기본으로, 각종의 개변을 도입하여, 이하의 개변 항체를 제작했다.

[1220] [표 21-2]

중쇄

[1221]

H1004	A52cD/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H0932	A52cD/G54H/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1000	D31E/A52cD/G54H/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1009	A52cD/G54Y/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1022	A52cD/G54H/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1023	A52cD/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1028	A52cD/G54Y/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1029	S30D/D31K/A52cD/G54H/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1031	S30D/D31K/A52cD/G54H/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1032	S30D/D31K/A52cD/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1037	S30D/D31K/A52cD/G54Y/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1040	D31E/A52cD/G54H/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1041	D31E/A52cD/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1046	D31E/A52cD/G54Y/Y55H/T56H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1047	S30D/D31K/A52cD/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1048	D31E/A52cD/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1049	S30D/D31K/A52cD/G54Y/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H
H1050	D31E/A52cD/G54Y/Y55H/R57P/Q81T/S82bD/Y97H

[1222] [표 21-3]

[1223]

L395	N50K/L54H/Q89K
L442	S31E/N50K/L54H/Q89K

[1224] 상기의 18종류의 중쇄를 2종의 경쇄와 조합하여, 합계 36종류의 항체를 제작했다. 이들 항체에 대해, 이하에 나타내는 바와 같이 각종의 평가를 실시했다.

[1225] 중성 및 산성 pH 조건하에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성을, 실시예 13-3의 방법과 마찬가지의 양식으로 측정했다. 그 결과 중, pH 7.4에 있어서의 KD, pH 5.8에 있어서의 KD 및 koff에 대해, 표 22에 나타낸다.

[1226] 다음에, 이하에 나타내는 방법으로 PBS 중에서 보존한 경우의 IL-8의 결합에 있어서의 안정성 평가를 실시했다.

[1227] 각각의 항체를 DPBS(Sigma-Aldrich)에 대해서 하룻밤 투석을 행한 후, 각 항체의 농도를 0.1mg/mL가 되도록 조제했다. 이 시점에서 항체 시료의 일부를 채취하여, Initial 시료로 했다. 나머지 시료는 50℃에서 1주간 보관한 후, 회수하여 열가속 시험용 시료로 했다.

[1228] 다음에, Initial 시료 및 열가속 시험용 시료를 이용하여, BIACORE에 의한 IL-8 결합 친화성의 측정을 이하와 같이 실시했다.

[1229] BIACORE T200(GE Healthcare)을 이용하여, 개변 항체에 대한 인간 IL-8의 결합량 해석을 행했다. 러닝 버퍼로서 0.05% tween20, 40mM ACES, 150mM NaCl, pH 7.4를 이용하여 40℃에서 측정을 행했다.

[1230] 센서 칩 CM4(GE Healthcare) 상에 아민 커플링법으로 프로틴 A/G(PIERCE)를 적당량 고정하고, 목적하는 항체를 포착했다. 다음에, 인간 IL-8 희석액과 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착시킨 항체에 인간 IL-8을 상호작용시켰다. 인간 IL-8의 희석에도 러닝 버퍼가 사용되었다. 센서 칩의 재생에는 25mM NaOH 및 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정으로 얻어진 인간 IL-8의 결합량과 그 결합량을 얻었을 때의 항체 포착량을 BIACORE T200 Evaluation Software(GE Healthcare)를 이용하여 추출했다.

[1231] Initial 시료 및 열가속 시험용 시료에 관해서, 항체 포착량 1000RU 당의 인간 IL-8의 결합량을 산출했다. 추가로, Initial 시료의 인간 IL-8의 결합량에 대한 열가속 시험용 시료의 인간 IL-8의 결합량의 비를 산출했다.

[1232] 결과로서 얻어진, Initial 시료와 열가속 시험용 시료의 IL-8 결합량의 비를, 표 22에 아울러 나타낸다.

표 22

[1233]

항체	pH7.4 KD	pH5.8 KD	pH5.8 koff	IL-8 결합량의 비 (열가속/Initial)
H0089/L0118	1.7E-10	4.9E-08	6.3E-03	0.61
H0932/L0395	1.6E-10	1.1E-07	5.7E-02	0.56
H0932/L0442	2.1E-10	7.9E-08	2.2E-02	0.56
H1000/L0395	1.4E-10	8.9E-08	2.0E-02	0.57
H1000/L0442	2.0E-10	7.1E-08	1.7E-02	0.57
H1004/L0395	1.5E-10	1.1E-07	3.4E-02	0.58
H1004/L0442	2.2E-10	7.7E-08	2.0E-02	0.59
H1009/L0395	7.1E-11	8.7E-08	1.0E-02	0.64
H1009/L0442	1.1E-10	6.3E-08	6.0E-03	0.64
H1022/L0395	2.7E-10	2.9E-07	1.2E+01	0.47
H1022/L0442	3.6E-10	1.8E-07	2.0E-02	0.46
H1023/L0395	7.6E-11	9.2E-08	1.8E-02	0.54
H1023/L0442	1.2E-10	7.1E-08	1.7E-02	0.55
H1028/L0395	1.8E-10	2.1E-07	1.0E+01	0.55
H1028/L0442	2.4E-10	1.4E-07	1.3E-01	0.56
H1029/L0395	8.6E-11	5.5E-08	8.0E-03	0.59
H1029/L0442	1.4E-10	4.8E-08	8.5E-03	0.58
H1031/L0395	1.5E-10	9.9E-08	4.6E-02	0.48
H1031/L0442	2.1E-10	8.9E-08	3.9E-02	0.47
H1032/L0395	4.2E-11	5.0E-08	4.1E-03	0.61
H1032/L0442	7.8E-11	4.3E-08	5.9E-03	0.61
H1037/L0395	9.4E-11	7.0E-08	1.5E-02	0.55
H1037/L0442	1.3E-10	6.1E-08	1.5E-02	0.57
H1040/L0395	2.6E-10	2.4E-07	4.6E-02	0.44
H1040/L0442	3.4E-10	1.4E-07	2.1E+01	0.49
H1041/L0395	8.0E-11	7.1E-08	1.3E-02	0.55
H1041/L0442	1.2E-10	6.1E-08	1.5E-02	0.56
H1046/L0395	1.8E-10	1.6E-07	1.2E-02	0.56
H1046/L0442	2.3E-10	1.1E-07	1.2E-02	0.55
H1047/L0395	9.5E-11	4.7E-08	6.0E-03	0.65
H1047/L0442	1.5E-10	4.7E-08	4.6E-03	0.64
H1048/L0395	1.5E-10	9.0E-08	6.4E-03	0.59
H1048/L0442	2.1E-10	6.7E-08	1.5E-02	0.59
H1049/L0395	2.5E-11	3.8E-08	4.0E-03	0.65
H1049/L0442	5.3E-11	3.3E-08	4.5E-03	0.65
H1050/L0395	6.6E-11	7.7E-08	5.0E-03	0.64
H1050/L0442	9.9E-11	5.4E-08	7.6E-03	0.64

[1234] 상기 검토에 의해, 중쇄로서 H1009-IgG1m(서열 번호: 92) 및 경쇄로서 L395-kOMT를 포함하는 항체인, H1009/L395가 얻어졌다.

[1235] 표 22에 나타나고 있는 바와 같이, H1009/L395에서는, H89/L118과 비교하여 중성 pH에 있어서의 인간 IL-8 결합 친화성이 약간 증대된 한편으로, 산성 pH에 있어서의 결합 친화성이 저하되어 있어, 즉 pH 의존성이 보다 강해져 있었다. 또한, PBS 중에서 50℃라고 하는 가혹한 조건에 노출했을 경우의, IL-8 결합에 있어서의 안정성은, H1009/L395에서는 H89/L118보다 약간 증대했다.

[1236] 이들로부터, H1009/L395는, pH 의존적 IL-8 결합능을 가지면서, 마우스 혈장 중에서의 중화 활성도 안정되게 유지될 가능성이 있는 항체로서 선정되었다.

[1237] (14-2) H1009/L395의 안정성 평가

[1238] 다음에, 실시예 12-3의 방법과 마찬가지로, H1009/L395의 IL-8 중화 활성이, 마우스 혈장 중에 있어서 안정되게 유지되는지 여부를 평가했다. 여기에서는, 후에 실시예 19에 있어서, 그 상세가 기술되는 H1009/L395-F1886s를 이용했다. 이 항체는, H1009/L395와 동일한 가변 영역을 갖고, 정상 영역은, 천연형 인간 IgG1에 비해, 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 결합을 증강하는 개변과, FcγR에 대한 결합을 저감하기 위한 개변을 갖는다. H1009/L395의 인간 IL-8에 대한 결합 및 IL-8의 중화 활성은, 이 항체의 가변 영역, 특히 HVR을 중심으로 한 영역이 담당하고 있고, 정상 영역에 도입된 개변이 영향을 주지는 않는다고 생각된다.

[1239] 마우스 혈장 중에 있어서의 안정성 평가는, 다음과 같이 실시했다. 마우스 혈장 585μL에 대해, 200mM 인산 완충액(pH 6.7)을 150μL첨가했다. 다음에, 방부제로서 아자이드화 나트륨을 종농도 0.1% 첨가했다. 각 항체(Hr9, H89/L118, 또는 H1009/L395-F1886s)에 대해 종농도 0.4mg/mL가 되도록, 상기의 마우스 혈장에 첨가했다. 이 시점에서 시료의 일부를 채취하여, Initial 시료로 했다. 나머지 시료는 40℃에서 보관했다. 보관 개시로부터 1주간 및 2주일 후에, 각각의 시료의 일부를 채취하여, 1주간 보존 시료 및 2주간 보존 시료로 했다. 한편, 모든 시료는 각 분석까지 -80℃에서 동결 보관했다.

[1240] 인간 CXCR2 발현 세포를 이용한 인간 IL-8 중화 활성 측정은, 실시예 12-3과 마찬가지의 방법으로 실시했다. 다만, 항인간 IL-8 항체의 중화 활성을 확인하기 위해서 이용한 인간 IL-8 농도는, 이번은 1.2nM로 실시했다.

[1241] 상기의 항체와 인간 CXCR2 발현 세포를 이용하여 얻어진 인간 IL-8 저해 어세이의 결과는, 도 28a에 Initial 시료(마우스 혈장 중의 보존 처리 없음)의 결과를, 도 28b에 40℃에서 1주간 보존한 시료의 결과를, 도 28c에 40℃에서 2주간 보존한 시료의 결과를, 각각 나타낸다.

[1242] 그 결과, 놀랍게도, H1009/L395-F1886s는, 마우스 혈장 중에서 40℃에서 2주간 보존한 경우에 있어서도, 인간 IL-8의 중화 활성이 유지되고 있고, H553/L118보다 IL-8 중화 활성이 안정되게 유지되고 있었다.

[1243] (14-3) H1009/L395를 이용한 마우스 PK 어세이

[1244] H1009/H395의 마우스에 있어서의 인간 IL-8 소실 속도를, 다음에 나타내는 방법으로 평가했다. 항체로서는 H1009/L395, H553/L118 및 H998/L63을 이용했다. 마우스에 대한 투여 및 채혈, 마우스 혈장 중의 인간 IL-8 농도 측정은 실시예 11에 나타낸 방법으로 실시했다.

[1245] 결과로서 얻어진, 혈장 중 인간 IL-8 농도의 데이터를 도 29에, 또한 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8 클리어런스(CL)의 수치를 표 23에 나타낸다.

표 23

[1246]

	인간 IL-8 CL (mL/d/kg)		
항체명	H998/L63	H553/L118	H1009/L395
#1	21.4	773.2	705.0
#2	27.5	497.6	777.3
#3	24.7	879.8	737.7
평균 (N = 3)	**24.5**	**716.9**	**740.0**
표준 편차	3.0	197.2	36.2

[1247] 결과, H1009/L395를 2mg/kg으로 투여했을 때의 마우스에 있어서의 인간 IL-8 소실 속도는, H553/L118과 동일 정도이며, H1009/L395는, 엔도솜 내에 있어서의 유리형 IL-8을 100% 가까이까지 달성하고 있음이 나타났다. 또한, 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8 소실 속도를 정량적으로 나타내는 클리어런스(CL)의 값은, H998/L63보다 30배 정도 높음이 나타났다.

[1248] 특별히 한정은 되지 않지만, 인간 IL-8의 소실 속도를 증가시키는 효과에 대해서는, 다음과 같이 해석하는 것이 가능하다. 일반적으로, 항원 농도가 거의 일정하게 유지되고 있는 생체 내에 있어서는, 항원의 산생 속도와 소실 속도도 또한, 거의 일정하게 유지되어 있게 된다. 이 상태에 항체를 투여하면, 항원의 산생 속도가 영향을 받지 않는 경우에 있어서도, 항원의 소실 속도는, 항원이 항체와의 복합체를 형성하는 것에 의해 변화할 수 있

다. 일반적으로는, 항원의 소실 속도는 항체의 소실 속도에 비해 크기 때문에, 그와 같은 경우는, 항체와 복합체를 형성한 항원의 소실 속도는 저하된다. 항원의 소실 속도가 저하되면, 혈장 중의 항원 농도가 상승되지만, 그 때의 상승 정도는 항원 단독 시의 소실 속도와 항원의 복합체 형성 시의 소실 속도의 비에 의해서도 규정될 수 있다. 즉, 항원 단독 시의 소실 속도에 비해, 복합체 형성 시의 소실 속도가 1/10로 저하되었을 경우는, 항체가 투여된 생체의 혈장 중의 항원 농도는 항체 투여 전의 약 10배에까지 상승할 수 있다. 여기에서, 이들 소실 속도로서 클리어런스(CL)를 이용하는 것도 가능하다. 즉, 생체에 대해서 항체를 투여한 후에 일어나는 항원 농도의 상승(항원의 축적)은, 항체 투여 전과 항체 투여 후 각각의 상태에 있어서의 항원 CL에 의해 규정된다고 생각할 수 있다.

[1249] 여기에서, H998/L63과 H1009/L395를 투여했을 때의 인간 IL-8의 CL에 약 30배의 차이가 있었다고 하는 것은, 인간에 이들 항체를 투여했을 때에 일어나는, 혈장 중 인간 IL-8 농도의 상승 정도에, 약 30배의 차이가 생길 수 있는 것을 시사하고 있다. 더욱이, 혈장 중 인간 IL-8 농도에 30배의 차이가 생긴다고 하는 것은, 각각의 상황에 있어서 인간 IL-8의 생물학적 활성을 완전하게 차단하기 위해서 필요한 항체의 양도 또한, 약 30배의 차이가 생길 수 있다고 하는 것이 된다. 즉, H1009/L395는, H998/L63에 비해, 30분의 1 정도의 지극히 소량의 항체로, 혈장 중 IL-8의 생물학적 활성을 차단하는 것이 가능하다. 또한, H1009/L395와 H998/L63 각각을 동일 투여량으로 인간에게 투여한 경우에는, H1009/L395가 보다 강하고, 한편, 보다 장기간에 걸쳐 IL-8의 생물학적 활성을 차단하는 것이 가능하게 된다. 또한, 장기간에 걸쳐 IL-8의 생물학적 활성을 차단하기 위해서는, 그 IL-8 중화 활성이 안정되게 유지되는 것이 필요하다. 실시예 14에 있어서 나타난 것처럼, H1009/L395는 마우스 혈장을 이용한 실험으로부터, 장기간에 걸쳐서 그 인간 IL-8 중화 활성을 유지할 수 있는 것이 분명해지고 있다. 이들 특필해야 할 성질을 갖는 H1009/L395는, 인비보에서 IL-8을 중화시키는 효과라고 하는 관점에서 우수한 효과를 갖는 항체라는 것도 나타났다.

[1250] **실시예 15**

[1251] pH 의존적 IL-8 결합 항체 H1009/L395를 이용한 세포외 매트릭스에 대한 결합성의 평가

[1252] 실시예 14에서 나타난, H1009/L395의 30배로 우수한 인간 IL-8 소실 효과는, 놀랄만한 효과였다. pH 의존적 항원 결합 항체를 투여했을 때의 항원 소실 속도는, 항체와 항원의 복합체가 세포 내에 흡수되는 속도에 의존한다는 것이 알려져 있다. 즉, 항원-항체의 복합체가 형성되었을 때에, 복합체가 형성되지 않을 때와 비교하여 세포 내에 pH 의존적 항원 결합 항체가 흡수되는 속도가 증대하면, pH 의존적 항체에 의한 항원 소실 효과가 증가할 수 있다. 세포 내에 항체가 흡수되는 속도를 증강시키는 방법에는, 중성 pH 조건에서의 FcRn 결합능을 항체에 부여하는 방법(WO2011/122011)이나 항체의 FcγR에 대한 결합능을 증강하는 방법(WO2013/047752), 다가의 항체와 다가의 항원을 포함하는 복합체의 형성의 촉진을 이용한 방법(WO 2013/081143)이 포함된다.

[1253] 그렇지만, H1009/L395의 정상 영역에 있어서 상기 기술은 이용되지 않았다. 또한, IL-8은 호모이량체를 형성하는 것이 알려져 있지만, H1009/L395는 인간 IL-8의 호모이량체의 형성면을 인식하기 때문에, H1009/L395가 결합한 인간 IL-8은 단량체 상태가 된다는 것이 분명해지고 있다. 그 때문에, 이 항체는 다가의 복합체를 형성하지는 않는다.

[1254] 즉, H1009/L395에 대해서는, 상기 기술이 사용되어 있지 않지만, H1009/L395는 30배의 인간 IL-8 소실 효과를 나타내고 있었다.

[1255] 그래서 발명자들은, H1009/L395로 대표되는 pH 의존적 IL-8 결합 항체의 상기 특성을 가져올 가능성이 있는 요인의 하나로서, 다음과 같은 고찰을 행했다. 단, 이하는 어디까지나 발명자들이 기술적 배경에 기초하여 추측한 가능성의 하나이며, 개시 C의 내용이 이하의 고찰 내용으로 한정되는 것은 아니다.

[1256] 인간 IL-8은, 높은 등전점(pI)을 갖는 단백질이며, 공지의 방법으로 계산되는 이론 등전점은 대략 10이다. 즉, 중성 pH의 조건하에 있어서는, 인간 IL-8은 양전하측으로 치우친 전하를 갖는 단백질이다. H1009/L395로 대표되는 pH 의존적 IL-8 결합 항체도 또한, 양전하측으로 치우친 전하를 갖는 단백질이며, H1009/L395의 이론 등전점은 대략 9이다. 즉, 원래 높은 등전점을 갖고, 양전하가 풍부한 단백질인 H1009/L395가, 높은 등전점을 갖는 인간 IL-8과 결합하여 생기는 복합체는, H1009/L395 단독보다 등전점이 상승된다.

[1257] 실시예 3에서 나타낸 바와 같이, 항체의 양전하의 수를 증가시키는 것, 및/또는 음전하의 수를 감소시키는 것을 포함하는, 항체의 등전점의 상승은, 항체-항원 복합체의 세포 내로의 비특이적인 흡수의 증가라고 생각하는 것도 가능하다. 항IL-8 항체와 높은 등전점을 갖는 인간 IL-8 사이에 형성된 복합체의 등전점은, 항IL-8 항체 단독의 등전점보다 높고, 이 복합체는 보다 용이하게 세포 내로 흡수될 수 있다.

[1258] 전술한 바와 같이, 세포외 매트릭스에 대한 친화성도 또한, 세포내 흡수에 영향을 줄 가능성이 있는 인자의 하나이다. 그래서, 세포외 매트릭스에 대한 항체 단독의 결합성과 인간 IL-8과 항체의 복합체의 결합성이 상이한지 여부를 검증했다.

[1259] ECL(전기화학발광)법에 의한 세포외 매트릭스에 대한 항체 결합량의 평가

[1260] TBS(Takara, T903)를 이용하여, 세포외 매트릭스(BD 마트리겔 기저막 매트릭스/BD사제)를 2mg/mL로 희석했다. 희석한 세포외 매트릭스를 MULTI-ARRAY 96well Plate, High bind, Bare(Meso Scale Discovery: MSD사제)에 1well당 5μL 분주하고, 4℃에서 하룻밤 고상화했다. 그 후, 블로킹은, 150mM NaCl, 0.05% Tween20, 0.5% BSA, 및 0.01% NaN_3을 포함하는 20mM ACES buffer, pH 7.4를 이용하여 행했다.

[1261] 또한, 평가에 제공하는 항체를 다음과 같이 조정했다. 단독으로 첨가되는 항체 시료는, 각 항체를 Buffer 1(150mM NaCl, 0.05% Tween20, 및 0.01% NaN_3을 포함하는 20mM ACES buffer, pH 7.4)을 이용하여 9μg/mL로 각각 희석한 후, 종농도 3μg/mL까지 Buffer 2(150mM NaCl, 0.05% Tween20, 0.1% BSA, 및 0.01% NaN_3을 포함하는 20mM ACES buffer, pH 7.4)를 이용하여 추가로 희석하는 것에 의해, 조제했다.

[1262] 한편, 인간 IL-8과의 복합체로서 첨가되는 항체 시료는, 항체의 10배의 몰 농도의 인간 IL-8을 항체 시료에 첨가한 다음, Buffer-1을 이용하여 항체 농도가 9μg/mL가 되도록 각각 희석된 후, 최종 항체 농도가 각각 3μg/mL가 되도록, Buffer-2에 의해 더욱 희석되었다. 한편, 이 때 인간 IL-8 농도는 약 0.6μg/mL였다. 복합체를 형성시키기 위해서, 실온에서 1시간 진탕했다.

[1263] 다음에, 블로킹 용액을 제거한 플레이트에, 항체 단독 또는 복합체로서의 항체의 용액을 첨가하여, 실온에서 1시간 진탕했다. 그 후, 항체 단독 혹은 복합체의 용액을 제거하고, 0.25% 글루타르알데하이드를 포함하는 Buffer-1을 첨가하여 10분간 정치한 후, 0.05% Tween20을 포함하는 DPBS(와코준야쿠공업사제)로 세정했다. ECL 검출용 항체는, Goat anti-human IgG(gamma)(Zymed Laboratories사제)를 Sulfo-Tag NHS Ester(MSD사제)를 이용하여 Sulfo-Tag화하여 조제했다. ECL 검출용 항체를 1μg/mL가 되도록 Buffer-2로 희석하고 플레이트에 첨가하여, 차광하, 실온에서 1시간 진탕했다. ECL 검출용 항체를 제거하고, MSD Read Buffer T(4x)(MSD사제)를 초순수로 2배 희석한 용액을 첨가한 후, SECTOR Imager 2400(MSD사제)을 이용하여 발광량을 측정했다.

[1264] 결과를 도 30에 나타낸다. 흥미롭게도, H1009/L395 등의 항IL-8 항체는 모두, 항체 단독(-IL8)으로는 거의 세포외 매트릭스에 대한 결합이 보이지 않았지만, 인간 IL-8(+hIL8)과의 복합체를 형성하여, 세포외 매트릭스에 결합했다.

[1265] 항IL-8 항체가, 상기와 같이 인간 IL-8과 결합하는 것에 의해, 세포외 매트릭스에 대한 친화성을 획득한다고 하는 성질은, 밝혀져 있지 않다. 또한, 한정은 되지 않지만, 이와 같은 성질을 pH 의존적 IL-8 결합 항체와 조합하여, 보다 효율적으로 IL-8의 소실 속도를 증대시키는 것도 가능하다.

[1266] **실시예 16**

[1267] FcRn 비결합 항체를 이용한 마우스 PK 어세이

[1268] 마우스에 있어서, pH 의존적 IL-8 결합 항체가 인간 IL-8과의 복합체를 형성하여, 그 복합체의 세포 내로의 흡수가 증가하는지 여부를, 이하에 나타내는 방법을 이용하여 확인했다.

[1269] 우선, H1009/L395의 가변 영역과, 각종 Fc 수용체에 대한 결합 친화성을 결손하고 있는 Fc 영역을 갖는 항체 개변체를 제작했다. 구체적으로는, 산성 pH 조건하에 있어서의 인간 FcRn에 대한 결합능을 결실시키는 개변으로서 중쇄인 H1009-IgG1에 대해서, EU 넘버링에 따른 253위의 아이소류신을 알라닌으로, 254위의 세린을 아스파라긴산으로의 치환에 제공했다. 또한, 마우스 FcγR에 대한 결합을 결실시키는 개변으로서 235위의 류신을 아르기닌으로, 236위의 글리신을 아르기닌으로, 239위의 세린을 리신으로 치환했다. 이들 4개의 개변을 포함하는 중쇄로서 H1009-F1942m(서열 번호: 93)을 제작했다. 또한, 중쇄로서 H1009-F1942m 및 경쇄로서 L395-kOMT를 포함하는, H1009/L395-F1942m을 제작했다.

[1270] 이 Fc 영역을 갖는 항체는, 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 결합 친화성을 결손하고 있기 때문에, 엔도솜 내로부터 혈장 중으로의 이행이 일어나지 않는다. 그 때문에, 이와 같은 항체는 생체 내에 있어서, 천연형 Fc 영역을 포함하는 항체에 비해, 신속하게 혈장 중으로부터 소실된다. 이 때, 천연형 Fc 영역을 포함하는 항체는 세포 내에 흡수된 후, FcRn에 의한 샐비지를 받지 않았던 일부의 항체만이 라이소솜으로 이행하여 분해되지만, FcRn에 대한 결합 친화성을 포함하지 않는 Fc 영역을 포함하는 항체의 경우는, 세포 내에 흡수된 항체의 전부가

라이소솜으로 분해된다. 즉, 이와 같은 개변 Fc 영역을 포함하는 항체의 경우는, 투여한 항체의 혈장 중으로부터의 소실 속도는, 세포 내에 흡수되는 속도와 동일하다고 생각할 수도 있다. 즉, FcRn에 대한 결합 친화성을 결손시킨 항체의 혈장 중으로부터의 소실 속도를 측정하는 것에 의해서도, 당해 항체의 세포 내에 흡수되는 속도를 확인하는 것이 가능하다.

[1271] 그래서, 이 H1009/L395-F1942m과 인간 IL-8이 형성한 복합체의 세포 내로의 흡수가, H1009/L395-F1942m 단독의 도입보다 증가하는지 여부를 검증했다. 구체적으로는, 당해 항체를 단독으로 투여한 경우와, 인간 IL-8과의 복합체를 형성시켜 투여한 경우에서, 당해 항체의 혈장 중으로부터의 소실 속도가 변화되는지 여부를 검증했다.

[1272] 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg line 32 +/+ mouse, Jackson Laboratories, Methods Mol Biol. 602:93-104(2010))에, 항인간 IL-8 항체만을 투여한 경우와, 인간 IL-8과 항인간 IL-8 항체를 동시에 투여한 경우의 각각에서, 항인간 IL-8 항체의 체내동태를 평가했다. 항인간 IL-8 항체 용액(200μg/mL) 및, 인간 IL-8(10μg/mL)과 항인간 IL-8 항체(200μg/mL)의 혼합 용액의 각각을, 꼬리 정맥에 10mL/kg으로 단회 투여했다. 이 때, 인간 IL-8에 대해서 항인간 IL-8 항체는 충분량 과잉으로 존재하므로, 인간 IL-8은 거의 모두 항체에 결합하고 있다고 생각된다. 투여 5분 후, 2시간 후, 7시간 후, 1일 후, 및 2일 후에 혈액을 채취했다. 채취한 혈액은 즉시 4℃, 15,000rpm으로 15분 원심 분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지 -20℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존했다.

[1273] 마우스 혈장 중의 항인간 IL-8 항체 농도는 전기화학발광법에 따라 측정되었다. 우선, 5% BSA(w/v)를 포함하는 PBS-Tween 용액을 이용하여 실온에서 하룻밤 블로킹된 Streptavidin Gold Multi-ARRAY Plate(Meso Scale Discovery)에, Anti-Human Kappa Light Chain Goat IgG Biotin(IBL)을 실온에서 1시간 반응시키는 것에 의해 항인간 항체 고정 플레이트가 제작되었다. 혈장 중 농도 3.20, 1.60, 0.800, 0.400, 0.200, 0.100, 및 0.0500 μg/mL의 항인간 IL-8 항체를 포함하는 검량선용 시료와 100배 이상으로 희석된 마우스 혈장 측정용 시료가 조제되었다. 각 시료는, 인간 IL-8과 혼합된 후에 항인간 항체 고정화 플레이트의 각 웰에 50μL로 분주되어, 실온에서 1시간 교반되었다. 인간 IL-8의 종농도는 333ng/mL가 되도록 조제되었다.

[1274] 그 후, 상기 플레이트에, 마우스 IgG의 정상 영역을 포함하는 항인간 IL-8 항체(사내 조제품)를 가하고 실온에서 1시간 반응시켰다. 추가로 SULFO-TAG NHS Ester(Meso Scale Discovery)로 루테늄화한 Anti-Mouse IgG(BECKMAN COULTER)를 상기 플레이트에 가하고 1시간 반응시킨 후, Read Buffer T(×1)(Meso Scale Discovery)를 당해 플레이트에 분주하고, 즉시 SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)으로 측정을 행했다. 항인간 IL-8 항체 농도는 검량선의 리스폰스에 기초하여 해석 소프트웨어 SOFTmax PRO(Molecular Devices)를 이용하여 산출했다.

[1275] 결과로서 얻어진, 마우스 혈장 중의 항체 농도를 도 31에, 또한 각각의 조건에 있어서의 항체의 클리어런스를 표 24에 나타낸다.

표 24

[1276]

항체명	IL8	CL
	μg/kg	mL/d/kg
H1009/L395-F1942m	-	134
H1009/L395-F1942m	100	291

[1277] H1009/L395-F1942m과 인간 IL-8의 복합체의 세포 내로의 흡수 속도가 H1009/L395-F1942m의 흡수 속도보다 적어도 2.2배로 상승하고 있는 것이 나타났다. 한편, 여기에서 "적어도 2.2배"라고 표기한 것은, 실제로는 5배, 10배, 또는 30배라고 하는 수치일 가능성의 하나로서 이하와 같은 이유도 들 수 있기 때문이다. 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8의 소실 속도는, H1009/L395-F1942m의 소실 속도에 비해 매우 빠르기 때문에, 혈장 중에 있어서 인간 IL-8이 결합한 H1009/L395-F1942m의 비율은, 투여 후 신속하게 저하되어 버린다. 즉, 인간 IL-8과 동시에 투여한 경우에 있어서도, 혈장 중에 존재하는 H1009/L395-F1942m의 전부가 인간 IL-8에 결합한 상태에 있는 것은 아니고, 오히려, 투여 후 7시간 정도의 시점에서 이미, 대부분은 유리형으로서 존재하게 된다. 그와 같은 조건에서 흡수 속도의 평가가 실시되고 있기 때문에, H1009/L395-F1942m과 인간 IL-8의 복합체의 세포내 흡수 속도가 H1009/L395-F1942m의 흡수 속도보다, 실제로는 5배, 10배, 또는 30배 증대했다고 해도, 이 실험계에 있어서는 그 일부만이 결과에 반영되기 때문에, 2.2배 정도의 효과로서 나타나 버릴 가능성도 생길 수 있다. 즉, 여기에서 얻어진 결과로부터, H1009/L395와 IL-8의 복합체의 세포 내로의 흡수 속도는, 인비보에서의 실제

의 H1009/L395의 세포 내로의 흡수 속도보다 증가하는 것이 나타났지만, 한편으로, 그 효과가 2.2배라고 하는 수치에 전혀 한정되는 것은 아니다.

[1278] 특별히 한정은 되지 않지만, 지금까지 얻어진 지견으로부터, 다음과 같은 해석을 행할 수도 있다. pH 의존적 IL-8 결합 항체인 H1009/L395는, 인간 IL-8과 복합체를 형성하면, 그 복합체는, 항체 단독으로 존재하는 경우와 비교하여, 보다 등전점이 높고, 양전하에 치우친 상태가 된다. 동시에, 그 복합체의 세포외 매트릭스에 대한 친화성이 항체 단독의 친화성보다 증대되어 있다. 등전점의 상승이나, 세포외 매트릭스에 대한 결합 증강이라고 하는 성질은, 인비보에서, 세포 내로의 항체의 흡수를 촉진시키는 인자로서 생각할 수 있다. 더욱이, 마우스를 이용한 실험으로부터, H1009/L395와 인간 IL-8의 복합체의 세포 내로의 흡수 속도가 H1009/L395의 흡수 속도보다 2.2배 이상으로 증대되는 것이 나타났다. 이상으로부터, 이론적인 설명부와 인비트로에서의 성질, 인비보에서의 현상이 일관되게, H1009/L395가 인간 IL-8과 복합체를 형성하여, 세포 내로의 흡수가 촉진되어 인간 IL-8의 소실을 현저하게 증가시키고 있다는 가설을 지지하고 있다.

[1279] 지금까지도, IL-8에 대한 항체는 몇 가지인가 보고가 있지만, IL-8과의 복합체를 형성했을 때의 세포외 매트릭스에 대한 결합 친화성의 증대나, 상기 복합체의 세포 내로의 흡수의 증가는 지금까지 보고가 없다.

[1280] 또한, 항IL-8 항체의 세포 내로의 흡수의 증가가 IL-8과의 복합체를 형성했을 때에 보인다는 것에 기초하여, 혈장 중에 있어서 IL-8과 복합체를 형성한 항IL-8 항체는 신속하게 세포 내에 흡수되는 한편으로, IL-8과의 복합체를 형성하고 있지 않는 유리형의 항체는, 세포 내에는 흡수되지 않고서 체류하기 쉽다고 생각하는 것도 가능하다. 이 경우, 항IL-8 항체가 pH 의존성일 때는, 일단 세포 내에 흡수된 항IL-8 항체가 세포 내에서 IL-8 분자를 해리 후에 다시 세포 외로 되돌아가, 별도의 IL-8 분자와 결합하는 것이 가능해지기 때문에, 복합체 형성시의 세포 내로의 흡수 증가는, IL-8을 보다 강하게 제거한다고 하는 추가적인 효과를 갖는다고 생각하는 것도 가능하다. 즉, 세포외 매트릭스에 대한 결합이 증대된 항IL-8 항체나 세포내 흡수가 증가한 항IL-8 항체를 선택하는 것도, 개시 C의 다른 실시태양이라고 생각된다.

[1281] **실시예 17**

[1282] pH 의존적 IL-8 결합 항체 H1009/L395의 in silico 시스템을 이용하는 면역원성 예측

[1283] 다음에, H1009/L395에 대해, 실시예 13-1과 마찬가지의 방법으로, 면역원성 스코어 및 ADA 발생 빈도의 예측을 행했다. 그 결과를 표 25 및 도 32에 나타낸다. 한편, 도 32에 있어서, H1009/L395는, "H1009L395"라고 표기되고 있다.

표 25

[1284]

	중쇄		경쇄		합계	
항체명	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx 스코어	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx 스코어	EpiMatrix 스코어	tReg Adjusted Epx 스코어
hWS-4	62.44	12.18	22.64	-23.89	85.08	-11.71
H1004/L395	10.79	-39.47	7.79	-38.74	18.58	-78.21
H1009/L395	9.62	-40.64	7.79	-38.74	17.41	-79.38

[1285] 표 25의 결과로부터, H1009/L395는, H1004/L395와 동일한 정도로, 면역원성 스코어가 낮다는 것이 나타나고 있다. 또한, 도 32의 결과로부터, H1009/L395에 있어서 예측된 ADA 발생 빈도는 0%로, 이쪽도 H1004/L395와 마찬가지였다.

[1286] 이상으로부터, H1009/L395에 있어서 예측되는 면역원성은, 공지의 항인간 IL-8 항체인 hWS-4와 비교하여, 큰폭으로 저하되어 있었다. 이것으로부터, H1009/L395는 인간에 있어서의 면역원성이 극히 낮고, 장기에 걸쳐 안정되게, 항IL-8 중화 활성을 지속하는 것이 가능하다고 생각된다.

[1287] **실시예 18**

[1288] 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 결합능을 증강시킨 H89/L118 개변체를 이용한 필리핀 원숭이 PK 어세이

[1289] 지금까지의 실시예에 기재와 같이, pH 의존적 IL-8 결합 항체 H1009/L395는, 천연형 IgG1을 정상 영역으로서 갖는 경우에 있어서, 매우 우수한 성질을 갖는 항체이다. 그렇지만, 아미노산 치환을 정상 영역에 포함하는 항체, 예를 들어 실시예 5에서 예시된, 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합을 증강시킨 Fc 영역을 포함하는 항체라고

해도 이용 가능하다. 거기서, 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합을 증강시킨 Fc 영역이 pH 의존적 IL-8 결합 항체에 있어서도 기능한다는 것을, H89/L118을 이용하여 확인했다.

[1290] (18-1) 산성 pH에 있어서의 FcRn 결합을 증강시킨 H89/L118의 Fc 영역 개변 항체의 제작

[1291] H89/L118의 Fc 영역에 대해서, 실시예 5-1에 기재된, 각종 FcRn 결합 증강 개변을 도입했다. 구체적으로는, H89-IgG1의 Fc 영역에 대해서, F1847m, F1848m, F1886m, F1889m, F1927m, 및 F1168m에 이용되고 있는 개변을 도입하여, 이하의 개변체를 제작했다: (a) 중쇄로서 H89-IgG1m(서열 번호: 94) 및 경쇄로서 L118-KOMT를 포함하는 H89/L118-IgG1; (b) 중쇄로서 H89-F1168m(서열 번호: 95) 및 경쇄로서 L118-KOMT를 포함하는 H89/L118-F1168m; (c) 중쇄로서 H89-F1847m(서열 번호: 96) 및 경쇄로서 L118-KOMT를 포함하는 H89/L118-F1847m; (d) 중쇄로서 H89-F1848m(서열 번호: 97) 및 경쇄로서 L118-KOMT를 포함하는 H89/L118-F1848m; (e) 중쇄로서 H89-F1886m(서열 번호: 98) 및 경쇄로서 L118-KOMT를 포함하는 H89/L118-F1886m; (f) 중쇄로서 H89-F1889m(서열 번호: 99) 및 경쇄로서 L118-KOMT를 포함하는 H89/L118-F1889m; 및 (g) 중쇄로서 H89-F1927m(서열 번호: 100) 및 경쇄로서 L118-KOMT를 포함하는 H89/L118-F1927m.

[1292] 이들 항체를 이용한 필리핀 원숭이 PK 어세이를, 다음에 나타내는 방법으로 실시했다.

[1293] (18-2) 신규 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 필리핀 원숭이 PK 어세이

[1294] 필리핀 원숭이에, 항인간 IL-8 항체를 투여한 후의 항인간 IL-8 항체의 체내동태를 평가했다. 항인간 IL-8 항체 용액을 2mg/kg으로 단회 정맥내 투여했다. 투여 5분 후, 4시간 후, 1일 후, 2일 후, 3일 후, 7일 후, 10일 후, 14일 후, 21일 후, 28일 후, 35일 후, 42일 후, 49일 후, 및 56일 후에 혈액을 채취했다. 채취한 혈액은 즉시 4℃, 15,000rpm으로 10분 원심 분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지 -60℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존했다.

[1295] 필리핀 원숭이 혈장 중의 항인간 IL-8 항체 농도는 전기화학발광법에 따라 측정되었다. 우선, Anti-hKappa Capture Ab(Antibody Solutions)가 MULTI-ARRAY 96-well Plate(Meso Scale Discovery)에 분주되어 실온에서 1시간 교반되었다. 그 후, 5% BSA(w/v)를 포함하는 PBS-Tween 용액을 이용하여 실온에서 2시간 블로킹함으로써 항인간 항체 고정화 플레이트가 제작되었다. 혈장 중 농도 40.0, 13.3, 4.44, 1.48, 0.494, 0.165, 및 0.0549 μg/mL의 항인간 IL-8 항체를 포함하는 검량선용 시료와 500배 이상으로 희석된 필리핀 원숭이 혈장 측정용 시료가 조제되어 항인간 항체 고정화 플레이트의 각 웰에 당해 용액 50μL가 분주되고 나서, 실온에서 1시간 교반되었다. 그 후, 상기 플레이트에, Anti-hKappa Reporter Ab, Biotin conjugate(Antibody Solutions)를 가하고 실온에서 1시간 반응시켰다. 추가로 SULFO-TAG Labeled Streptavidin(Meso Scale Discovery)을 가하고 실온에서 1시간 반응시킨 후, Read Buffer T(×1)(Meso Scale Discovery)를 당해 플레이트에 분주하고, 즉시 SECTOR Imager 2400(Meso Scale Discovery)으로 측정을 실시했다. 항인간 IL-8 항체 농도는 검량선의 리스폰스에 기초하여 해석 소프트웨어 SOFT Max PRO(Molecular Devices)를 이용하여 산출했다.

[1296] 결과로서 얻어진 각 항체의 반감기(t1/2) 및 클리어런스(CL)를 표 26에, 필리핀 원숭이 혈장 중 항체 농도 추이를 도 33에 각각 나타낸다.

표 26

[1297]

항체명	t1/2 일	CL mL/d/kg
H89/L118-IgG1	11.9	2.95
H89/L118-F1168m	24.1	3.21
H89/L118-F1847m	27.9	2.09
H89/L118-F1848m	25.3	1.74
H89/L118-F1886m	45.1	1.34
H89/L118-F1889m	39.5	1.75
H89/L118-F1927m	30.3	2.13

[1298] 이상의 결과로부터, 어느 Fc 영역 개변체도, 천연형 IgG1의 Fc 영역을 갖는 항체에 비해 장기간의 혈장 중 체류성이 확인되었다. 특히, H89/L118-F1886m이 가장 바람직한 혈중 동태를 나타냈다.

[1299] **실시예 19**

[1300] FcγR에 대한 결합능을 저하시킨 Fc 영역

[1301] 천연형 인간 IgG1은, 그 Fc 영역이 각종의 면역계 세포 상의 Fcγ 수용체(이하, FcγR라고 표기한다)와 결합하여, 대상으로 하는 세포에 대해서 ADCC나 ADCP와 같은 이펙터 기능을 나타낸다는 것이 알려져 있다.

[1302] 한편, IL-8은 가용형 사이토카인이며, 의약품으로서 사용되는 항IL-8 항체는, 주로, IL-8이 과잉으로 존재하고 있는 부위에 있어서 그 기능을 중화시켜, 약리 작용을 나타낼 것이 기대된다. 이와 같은 IL-8이 과잉으로 존재하고 있는 부위로서는, 특별히 한정은 되지 않지만, 예를 들어 염증 부위가 상정될 수 있다. 일반적으로, 이와 같은 염증 부위에 있어서는, 각종 면역 세포가 모이고, 게다가 활성화되고 있다는 것이 알려져 있다. 이들 세포에 Fc 수용체를 개재하여 의도치 않은 활성화 시그널을 전달하는 것이나, 의도치 않은 세포에 대해서 ADCC, ADCP와 같은 활성을 유도하는 것은, 반드시 바람직하지는 않다. 그 때문에, 특별히 한정은 되지 않지만, 안전성의 관점에서는, 인비보 투여되는 항IL-8 항체는, FcγR에 대해서 낮은 친화성을 갖는 것이 바람직하다고 생각될 수 있다.

[1303] (19-1) FcγR에 대한 결합을 저하시킨 개변 항체의 제작

[1304] 각종의 인간 및 필리핀 원숭이 FcγR에 대한 결합능을 저하시키는 것을 목적으로 하여, H1009/L395-F1886m의 Fc 영역에 대해서 추가로 아미노산 개변을 도입했다. 구체적으로는, 중쇄인 H1009-F1886m에 대해서, EU 넘버링에 따른 235위의 L을 R로, 236위의 G를 R로, 및 239위의 S를 K로, 각각 치환을 행하여 H1009-F1886s(서열 번호: 81)를 제작했다. 마찬가지로, H1009-F1886m에 대해서, EU 넘버링에 따른 235위의 L을 R로, 및 236위의 G를 R로 치환하고, 추가로 EU 넘버링에 따른 327위에서 331위까지의 영역을 인간 천연형 IgG4 서열의 것으로 치환하여, H1009-F1974m(서열 번호: 80)을 제작했다. 이들 중쇄와 경쇄로서 L395-k0MT를 갖는 항체로서 H1009/L395-F1886s 및 H1009/L395-F1974m을 제작했다.

[1305] (19-2) 각종 인간 FcγR에 대한 친화성의 확인

[1306] 다음에, H1009/L395-F1886s 또는 H1009/L395-F1974m의, 인간 또는 필리핀 원숭이의 가용형 FcγRIa 또는 FcγRIIIa에 대한 친화성을, 다음에 나타내는 방법으로 확인했다.

[1307] H1009/L395-F1886s 또는 H1009/L395-F1974m의, BIACORE T200(GE Healthcare)를 이용한, 인간 또는 필리핀 원숭이의 가용형 FcγRIa 또는 FcγRIIIa의 결합에 대한 어세이를 행했다. 인간 및 필리핀 원숭이 각각의 가용형 FcγRIa 및 FcγRIIIa는, 당업자에게 공지의 방법으로 His 태그를 부여한 분자형으로서 제작했다. 센서 칩 CM4(GE Healthcare) 상에 아민 커플링법으로 rProtein L(BioVision)을 적당량 고정하고, 목적하는 항체를 포착했다. 다음에, 가용형 FcγRIa 혹은 FcγRIIIa와 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착시킨 항체에 상호작용시켰다. 한편, 러닝 버퍼는 HBS-EP+(GE Healthcare)를 이용하고, 가용형 FcγRIa 혹은 FcγRIIIa의 희석에도 HBS-EP+가 이용되었다. 센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정은 모두 20℃에서 실시되었다.

[1308] 결과를 도 34에 나타낸다. 여기에서, 인간 FcγRIa, 인간 FcγRIIIa, 필리핀 원숭이 FcγRIa, 필리핀 원숭이 FcγRIIIa의 순서로, hFcγRIa, hFcγRIIIa, cynoFcγRIa, cynoFcγRIIIa라고 기재되어 있다. H1009/L395-F1886m은 어느 FcγR에 대해서도 결합하는 것이 나타난 것에 반해, H1009/L395-F1886s 및 H1009/L395-F1974m은, 어느 FcγR에 대해서도 결합하지 않음이 확인되었다.

[1309] (19-3) Fc 개변체의 마우스 IL-8 소실 어세이

[1310] 다음에, H1009/L395-F1886s 및 H1009/L395-F1974m에 대해, 마우스에 있어서의 인간 IL-8 소실 속도 및 항체의 혈장 중 체류성을, 이하에 나타내는 실험으로 확인했다. 한편, 여기에서는, H1009/L395-F1886s의 항체 투여량을 증가시키는 것에 의한 영향도 포함하여 평가하기 위해서, H1009/L395-F1886s에 관해서는 투여량을 2mg/kg, 5mg/kg, 및 10mg/kg의 3점을 이용하여 평가를 행했다.

[1311] 인간 FcRn 트랜스제닉 마우스(B6.mFcRn-/-.hFcRn Tg line 32 +/+ mouse, Jackson Laboratories, Methods Mol. Biol. 602:93-104(2010))에, 인간 IL-8과 항인간 IL-8 항체를 동시에 투여한 후의 인간 IL-8의 체내동태를 평가했다. 인간 IL-8(10μg/mL)과 항인간 IL-8 항체(200μg/mL, 500μg/mL 또는 1000μg/mL)의 혼합 용액을 꼬리 정맥에 10mL/kg으로 단회 투여했다. 이 때, 인간 IL-8에 대해서 항인간 IL-8 항체는 충분량 과잉으로 존재하므로, 인간 IL-8은 거의 전부 항체에 결합하고 있다고 생각된다. 투여 5분 후, 2시간 후, 4시간 후, 7시간 후, 1일 후, 2일 후, 3일 후, 7일 후, 14일 후, 21일 후, 및 28일 후에 혈액을 채취했다. 채취한 혈액은 즉시

4℃, 15,000rpm으로 15분 원심 분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지 -20℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존했다.

[1312] 마우스 혈장 중의 인간 IL-8 농도 측정은, 실시예 11과 마찬가지의 방법으로 실시했다. 결과로서 얻어진, 혈장 중 인간 IL-8 농도의 데이터를 도 35에, 또한 마우스 혈장 중으로부터의 인간 IL-8 클리어런스(CL)의 수치를 표 27에 나타낸다.

[1313] 우선, 2mg/kg의 투여군의 비교에 있어서, 천연형 IgG1의 Fc 영역을 포함하는 H1009/L395와 개변 Fc 영역을 포함하는 H1009/L395-F1886s는, 동등한 인간 IL-8 소실 효과를 갖는다는 것이 나타났다.

[1314] 다음에, H1009/L395-F1886s의 항체 투여량을 변화시켰을 경우는, 투여 후 1일의 시점에서의 혈장 중 IL-8 농도에는 약간의 차가 보였지만, 인간 IL-8 클리어런스의 값으로서는 투여량 2mg/kg과 10mg/kg에서 유의한 차이는 보이지 않았다. 이것은, H1009/L395의 가변 영역을 포함하는 항체는, 고용량으로 투여되었을 경우에도 충분한 IL-8 소실 효과를 나타낸다는 것을 강하게 시사한다.

표 27

[1315]

항체명	투여량	인간IL-8 CL (mL/d/kg)
H1009/L395	2 mg/kg	740
H1009/L395-F1886s	2 mg/kg	628
H1009/L395-F1886s	5 mg/kg	458
H1009/L395-F1886s	10 mg/kg	560

[1316] (19-4) Fc 개변체의 필리핀 원숭이 PK 어세이

[1317] 다음에, H1009/L395-F1886s 또는 H1009/L395-F1974m을 이용하여, 필리핀 원숭이에 있어서의 항체의 혈장 중 체류성을 이하에 나타내는 방법으로 검증했다.

[1318] 필리핀 원숭이에, 항인간 IL-8 항체를 단독으로 투여한 경우, 또는 인간 IL-8 및 항인간 IL-8 항체를 동시에 투여한 경우의, 항인간 IL-8 항체의 체내동태를 평가했다. 항인간 IL-8 항체 용액(2mg/mL) 또는, 인간 IL-8(100μg/kg) 및 항인간 IL-8 항체(2mg/kg)의 혼합 용액을 1mL/kg으로 단회 정맥내 투여했다. 투여 5분 후, 4시간 후, 1일 후, 2일 후, 3일 후, 7일 후, 10일 후, 14일 후, 21일 후, 28일 후 35일 후, 42일 후, 49일 후, 및 56일 후에 혈액을 채취했다. 채취한 혈액은 즉시 4℃, 15,000rpm으로 10분 원심 분리하여, 혈장을 얻었다. 분리한 혈장은, 측정을 실시할 때까지 -60℃ 이하로 설정된 냉동고에 보존했다.

[1319] 필리핀 원숭이 혈장 중의 항인간 IL-8 항체 농도의 측정은, 실시예 18의 방법으로 실시했다. 결과로서 얻어진, 혈장 중 항인간 IL-8 항체 농도의 데이터를 도 36에, 또한 필리핀 원숭이 혈장 중으로부터의 항인간 IL-8 항체의 반감기(t1/2) 및 클리어런스(CL)의 수치를 표 28에 나타낸다.

[1320] 우선, 천연형 인간 IgG1의 Fc 영역을 갖는 Hr9 및 H89/L118과 비교하여, 기능이 개량된 Fc 영역을 갖는 H1009/L395-F1886s는, 혈장 중 체류성이 유의하게 연장되고 있다는 것이 나타났다.

[1321] 더욱이, H1009/L395-F1886s는, 인간 IL-8과 동시에 투여되었을 경우에 있어서도, 당해 항체가 단독으로 투여되었을 경우와 동등한 혈장 중 농도 추이를 나타냈다. 특별히 한정되는 것은 아니지만, 이것으로부터, 다음과 같이 고찰하는 것도 가능하다. 전술한 바와 같이, H1009/L395와 인간 IL-8의 복합체의 세포 내로의 흡수는 H1009/L395 단독의 흡수보다 증가하고 있음이 나타나고 있다. 일반적으로, 고분자량의 단백질은, 비특이적 또는 수용체 의존적으로 세포 내에 흡수된 후, 라이소솜으로 이행하여, 라이소솜에 존재하는 각종의 분해 효소에 의해 분해된다고 생각되고 있다. 그 때문에, 당해 단백질의 세포 내로의 흡수 속도가 상승하면, 그 혈장 중 체류성도 악화되는 방향으로 나아갈 것으로 생각된다. 그렇지만, 항체의 경우는, 엔도솜 내에 존재하는 FcRn에 의해 혈장 중으로 되돌려지는 성질을 갖기 때문에, FcRn에 의한 샐비지가 충분히 기능하고 있는 한에 있어서, 세포내 흡수 속도가 증가한 경우에 있어서도, 혈장 중 체류성에는 영향을 주지 않을 것이 생각된다. 여기에서, H1009/L395-F1886s는, 인간 IL-8과 동시에 필리핀 원숭이에게 투여된 경우에 있어서도, 혈장 중 체류성에 대한 영향은 보이지 않았다. 이것은, H1009/L395-F1886s는, 항체의 세포내 흡수 속도는 증가해도, FcRn에 의해 충분히 샐비지되어 혈장 중으로 되돌아오는 것이 되어 있을 가능성을 나타내고 있다.

[1322] 더욱이, 또 한 종류의 Fc 개변체인 H1009/L395-F1974m도, H1009/L395-F1886s와 동등한 혈장 중 체류성을 나타

내고 있었다. 전술한 바와 같이, 이들 Fc 개변체는 각종 FcγR에 대한 결합능을 저하시키기 위한 개변으로서, 상이한 것이 도입되고 있지만, 그들은 항체 자신의 혈장 중 체류성에 영향을 주지 않는다는 것이 나타나고 있다. 이상으로부터, H1009/L395-F1886s 및 H1009/L395-F1974m 모두, 필리핀 원숭이에 있어서의 혈장 중 체류성은, 천연형 IgG1의 Fc 영역을 갖는 항체와 비교하여 현저하게 개선되어, 극히 양호하다는 것이 나타났다.

표 28

[1323]

	t1/2	CL
	일	mL/d/kg
Hr9	20.26	3.72
H89/L118	11.88	2.95
H1009/L395-F1886s	35.75	1.64
H1009/L395-F1886s +hIL-8	72.24	1.11
H1009/L395-F1974m +hIL-8	43.78	1.60

[1324] 이상의 실시예로부터 나타난 바와 같이, H1009/L395는, pH 의존적 IL-8 결합능과, 또한 IL-8과의 복합체가 세포 내에 신속하게 흡수된다고 하는 특징을 포함하는 것에 의해, 인간 IL-8의 인비보에서의 소실 속도를 현저하게 상승시키는 항체로서 처음으로 실현된 것이다. 더욱이, 중성 pH 조건하에 있어서의 이 항체의 IL-8에 대한 결합 친화성도 또한 공지의 hWS-4 항체와 비교하면 상승되어 있어, 이 항체는, 혈장 중 등의 중성 pH 조건하에 있어서, 보다 강하게 인간 IL-8을 중화시키는 것이 가능하다. 더하여, 혈장 중의 조건하에 있어서 우수한 안정성을 갖고, 인비보 투여된 후에도 IL-8 중화 활성이 저하되지 않는 항체이다. 또한, hWS-4와 비교하면 산생량이 큰폭으로 개선된 Hr9에 기초하여 제작된 H1009/L395는, 산생량의 관점에서 제조에 적절한 항체가 되고 있다. 더욱이, in silico의 면역원성 예측에서는, 그 면역원성은 매우 낮은 스코어를 나타내고 있어, 해당 스코어는 공지의 hWS-4 항체나 기존의 시판 항체의 몇몇과 비교해도 큰폭으로 낮다. 즉, H1009/L395는 인간에 있어서 ADA를 거의 발생시키지 않고서, 장기에 걸쳐 안전하게 사용하는 것이 가능하다고 하는 것이 기대된다. 따라서, H1009/L395는, 공지의 항인간 IL-8 항체와 비교하여, 다양한 관점에서의 개선이 나타난 항체이며, 의약품으로서 매우 유용하다.

[1325] 천연형 IgG의 Fc 영역을 갖는 H1009/L395는, 상기한 바와 같이 충분히 유용하지만, 기능이 개량된 Fc 영역을 포함하는 H1009/L395의 개변체도 또한, 그 유용성이 개선된 항체로서 적절히 사용하는 것이 가능하다. 구체적으로는, 산성 pH 조건하에 있어서의 FcRn 결합을 증대시키고, 혈장 중 체류성을 연장하여, 보다 장기간에 걸쳐 효과를 지속하는 것이 가능하다. 또한, FcγR에 대한 결합능을 저하시키는 개변이 도입된 Fc 영역을 포함하는 개변체는, 투여된 생체 내에서의 의도치 않은 면역 세포 활성화나 세포 상해활성의 발생을 회피하기 위한, 안전성이 높은 치료용 항체로서 사용하는 것이 가능하다. 이와 같은 Fc 개변체로서는, 당 명세서 중에서 실시된 F1886s 또는 F1974m을 이용하는 것이 특히 바람직하지만, 이들 Fc 개변체로 한정되는 것은 아니고, Fc 개변체가 마찬가지의 기능을 갖고 있는 한, 다른 개변 Fc 영역을 포함하는 치료용 항체도 개시 C의 일 태양으로서 사용된다.

[1326] 결과로서, 당해 발명자들이 예의 연구를 행하여 제작된 H1009/L395-F1886s 및 H1009/L395-F1974m을 포함하는 개시 C의 항체는, 장기간에 걸쳐서, 또한 안전하게, 인간 IL-8의 생물학적 활성을 강하게 저해하는 상태를 유지하는 것이 가능하다. 본 명세서에 있어서, 기존의 항IL-8 항체에서는 달성할 수 없는 레벨이 실현되어, 개시 C의 이들 항체는, 극히 완성도가 높은 항IL-8 항체 의약품으로서 그 사용이 기대된다.

[1327] **실시예 20**

[1328] 항제IXa/X인자 이중특이성 항체

[1329] WO2012/067176에 개시된 인간화 항제IXa/X인자 이중특이성 항체는, 인간 제IXa 인자 및 제X인자에 결합하여, 혈액의 공응집 활성을 유도한다. 본 실시예에 있어서는, WO2012/067176에 기재된 인간화 항제IXa/X인자 이중특이성 항체인 F8M(Q499-z121/J327-z119/L404-k: H쇄(서열 번호: 330)/H쇄(서열 번호: 331) 공통의 L쇄(서열 번호: 332))을 이용하고, F8M은 2개의 상이한 H쇄와 2개의 동일한 공통되는 L쇄를 포함한다. F8M은, WO2012/067176의 실시예에 기재된 방법에 따라 제작했다.

[1330] (20-1) 항제IXa/X인자 이중특이성 항체의 제작

[1331] F8M에 근거하는 항제IXa/X인자 이중특이성 항체로서, 이하의 3종류의 항체를, 참조 실시예 2의 방법에 따라 제작했다: (a) 중쇄로서 F8M-F1847mv1(서열 번호: 323) 및 F8M-F1847mv2(서열 번호: 324) 및 경쇄로서 F8ML(서열 번호: 325)을 포함하는, 통상형의 항체인 F8M-F1847mv; (b) 중쇄로서 F8M-F1868mv1(서열 번호: 326) 및 F8M-F1868mv2(서열 번호: 327) 및 경쇄로서 F8ML(서열 번호: 325)을 포함하는, 통상형의 항체인 F8M-F1868mv; 및 (c) 중쇄로서 F8M-F1927mv1(서열 번호: 328) 및 F8M-F1927mv2(서열 번호: 329) 및 경쇄로서 F8ML(서열 번호: 325)을 포함하는, 통상형의 항체인 F8M-F1927mv.

[1332] 중쇄 서열은, FcRn 결합의 증대 및 류마토이드 인자 결합의 감소에 관해서 전술한 실시예 5에서 언급된 것과 동일한 Fc 개변체 서열을 이하와 같이 포함한다.

표 29

[1333]

서열명	실시예 5에 있어서의 명칭
F8M-F1847mv1 (SEQ ID NO:323)	F1847m
F8M-F1847mv2 (SEQ ID NO:324)	F1847m
F8M-F1868mv1 (SEQ ID NO:326)	F1868m
F8M-F1868mv2 (SEQ ID NO:327)	F1868m
F8M-F1927mv1 (SEQ ID NO:328)	F1927m
F8M-F1927mv2 (SEQ ID NO:329)	F1927m

[1334] (20-2) 필리핀 원숭이에 있어서의 모노클로날 항체 F8M-F1847mv, F8M-F1868mv, 및 F8M-F1927mv의 약물동태 시험

[1335] 수컷 필리핀 원숭이에게 용량 0.6mg/kg의 단회 정맥내 볼러스 투여를 행한 후, 모노클로날 항체 F8M-F1847mv, F8M-F1868mv, 및 F8M-F1927mv의 약물동태를 각각 평가했다. F8M-F1847mv, F8M-F1868mv, 및 F8M-F1927mv의 혈장 농도를, 샌드위치 ELISA에 의해 결정했다. 약물동태 파라미터는, WinNonlin ver 6.4 소프트웨어를 이용하여 산출했다. 표 30에 나타나는 바와 같이, F8M-F1847mv, F8M-F1868mv, 및 F8M-F1927mv의 반감기는, 각각 29.3일, 54.5일, 및 35.0일이었다. 다른 날에, 필리핀 원숭이를 이용하여 용량 6mg/kg으로 F8M의 PK 시험을 행하여, 반감기가 19.4일인 것을 발견했다. F8M-F1847mv, F8M-F1868mv, 및 F8M-F1927mv의 반감기는 F8M보다 길다는 것이 밝혀졌다. 이것에 의해, 전술한 실시예 5에서 언급된 것과 동일한 Fc 영역 서열 개변에 의해 항제IXa/X인자 이중특이성 항체의 반감기를 연장할 수 있었다는 것이 시사된다.

표 30

수컷 필리핀 원숭이에게 정맥내 투여한 후의
F8M-F1847mv、F8M-F1868mv、F8M-F1927mv、및 F8M 의 반감기

[1336]

	F8M-F1847mv	F8M-F1868mv	F8M-F1927mv	F8M
반감기 (일)	29.3	54.5	35.0	19.4

[1337] **실시예 21**

[1338] pI 상승 Fab 개변체를 이용한 혈장으로부터의 IgE의 클리어런스의 평가

[1339] 인간 IgE의 클리어런스를 증대시키기 위해, 본 실시예에 있어서는, pH 의존적 항원 결합 항체를 이용하여 항체의 Fab 부분에 있어서의 pI 상승 치환을 평가했다. 항체 가변 영역에 아미노산 치환을 가하여 pI를 상승시키는 방법은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, WO2007/114319또는 WO2009/041643에 기재된 방법에 의해 실시 가능하다. 가변 영역에 도입하는 아미노산 치환으로서는, 음전하를 갖는 아미노산(예를 들어, 아스파라긴산 및 글루타민산)의 수를 줄이는 한편으로, 양전하를 갖는 아미노산(예를 들어, 아르기닌 및 리신)을 늘리는 것이 바람직하다. 또한, 아미노산 치환은, 항체 가변 영역의 어떠한 위치에 도입되어도 된다. 특별히 한정되지 않지만, 아미노산 치환의 도입 부위로서는, 항체 분자의 표면에 아미노산 측쇄가 노출될 수 있는 위치가 바람직하다.

[1340] (21-1) 가변 영역의 아미노산의 개변에 의해 pI가 상승된 항체의 제작

[1341] 시험한 항체는, 표 32 및 33에 정리하고 있다.

[1342] pI를 상승시키는 치환 H32R을 Ab1H(서열 번호: 38)에 도입하는 것에 의해, 중쇄 Ab1H003(H003이라고도 불리는, 서열 번호: 144)을 조제했다. 표 32에 나타낸 각 치환을, 참조 실시예 1에 나타내는 방법에 따라 Ab1H에 도입하는 것에 의해, 다른 중쇄 개변체도 조제했다. 모든 중쇄 개변체는, 경쇄로서 Ab1L(서열 번호: 39)과 함께 발현시켰다. 이 항체의 pH 의존적 결합 프로필은, 표 5(Ab1)에 정리하고 있다.

[1343] 마찬가지로, 본 발명자들은 경쇄에 있어서의, pI를 상승시키는 치환도 평가했다.

[1344] pI를 상승시키는 치환 G16K를 Ab1L에 도입하는 것에 의해, 경쇄Ab1L001T(L001이라고도 불리는, 서열 번호: 164)를 조제했다. 표 33에 나타낸 각 치환을, 참조 실시예 1에 나타내는 방법에 따라 Ab1L에 도입하는 것에 의해, 다른 경쇄 개변체도 조제했다. 모든 경쇄 개변체는, 중쇄로서 Ab1H와 함께 발현시켰다.

표 32

본 실시예에서 평가한 Ab1H의 중쇄 개변체

[1345]

			Imaging	BIACORE
시료명 (H쇄／L쇄)	개변체		배율	배율
Ab1H/Ab1L	원래의 Ab1		1.00	1.00
Ab1H003/Ab1L	H003	H32R	데이터 없음	데이터 없음
Ab1H005m/Ab1L	H005	P41R/G44R	1.73	0.92
Ab1H010/Ab1L	H010	T77R	1.68	1.05
Ab1H012/Ab1L	H012	D82aN/S82bR	2.71	0.96
Ab1H013/Ab1L	H013	D82aG/S82bR	2.95	1.02
Ab1H014/Ab1L	H014	D82aS/S82bR	2.36	0.91
Ab1H016/Ab1L	H016	E85G	1.51	1.04
Ab1H018/Ab1L	H018	A93K	0.00	-0.01
Ab1H026m/Ab1L	H026	P41R/G44R/T77R	0.76	데이터 없음
Ab1H027/Ab1L	H027	T77R/D82aN/S82bR	2.78	1.21
Ab1H028/Ab1L	H028	T77R/D82aG/S82bR	3.04	1.37
Ab1H029/Ab1L	H029	T77R/D82aS/S82bR	1.80	1.33
Ab1H030/Ab1L	H030	T77R/E85G	1.50	1.27
Ab1H031m/Ab1L	H031	T77R/A93K	0.03	0.06
Ab1H032/Ab1L	H032	D82aG/S82bR/E85G	0.52	데이터 없음
Ab1H034/Ab1L	H034	Q13K	1.12	1.21
Ab1H035/Ab1L	H035	G15R	0.06	1.28
Ab1H039/Ab1L	H039	S64K	0.77	1.57
Ab1H041m/Ab1L	H041	Q105R	1.03	1.52
Ab1H045/Ab1L	H045	S82bR	2.00	0.76

표 33

본 실시예에서 평가한 Ab1L의 경쇄 개변체

			Imaging	BIACORE
시료명 (H쇄/L쇄)	개변체		배율	배율
Ab1H/Ab1L	원래의 Ab1		1.00	1.00
Ab1H/Ab1L001	L001	G16K	2.11	1.03
Ab1H/ Ab1L002	L002	Q24R/E27Q	1.43	1.03
Ab1H/ Ab1L003	L003	Q24R/E27R	3.14	1.09
Ab1H/ Ab1L004	L004	Q24K/E27K	1.42	1.01
Ab1H/ Ab1L005	L005	A25K/S26K	1.82	0.84
Ab1H/ Ab1L006	L006	A25R/S26R	6.82	1.18
Ab1H/ Ab1L007	L007	Q37R	1.82	1.06
Ab1H/ Ab1L008	L008	G41R/Q42K	1.70	1.07
Ab1H/ Ab1L009	L009	L46R/Y49K	0.02	-0.02
Ab1H/ Ab1L010	L010	S52R/S56R	2.72	0.98
Ab1H/ Ab1L011	L011	S52K/S56K	1.21	1.02
Ab1H/ Ab1L012	L012	S65R/T69R	1.28	0.97
Ab1H/ Ab1L013	L013	T74K/S77R	3.31	1.70
Ab1H/ Ab1L014	L014	S76R/Q79K	4.47	1.08
Ab1H/ Ab1L015	L015	G16K/Q24R/E27R	2.11	1.25
Ab1H/ Ab1L016	L016	Q24R/E27R/Q37R	3.33	1.36
Ab1H/ Ab1L017	L017	Q24R/E27R/G41R/Q42K	2.90	1.27
Ab1H/ Ab1L018	L018	Q24R/E27R/L46R/Y49K	0.01	0.07
Ab1H/ Ab1L019	L019	Q24R/E27R/S52R/S56R	3.88	1.17
Ab1H/ Ab1L020	L020	Q24R/E27R/S52K/S56K	4.61	1.22
Ab1H/ Ab1L021	L021	Q24R/E27R/S65R/T69R	11.43	1.36
Ab1H/ Ab1L022	L022	Q24R/E27R/T74K/S77R	19.05	1.45
Ab1H/ Ab1L023	L023	Q24R/E27R/S76R/Q79K	13.15	1.39
Ab1H/ Ab1L024	L024	G16K/A25R/S26R	0.73	데이터 없음
Ab1H/ Ab1L025	L025	A25R/S26R/Q37R	2.03	1.39
Ab1H/ Ab1L026	L026	A25R/S26R/G41R/Q42K	1.28	데이터 없음
Ab1H/ Ab1L028	L028	A25R/S26R/S52R/S56R	6.33	1.46
Ab1H/ Ab1L029	L029	A25R/S26R/S52K/S56K	9.84	1.23
Ab1H/ Ab1L030	L030	A25R/S26R/S65R/T69R	7.19	1.16
Ab1H/ Ab1L032	L032	A25R/S26R/S76R/Q79K	2.67	데이터 없음
Ab1H/ Ab1L033	L033	Q24R/E27R/G41R/Q42K/S65R/T69R	6.68	1.26
Ab1H/ Ab1L034	L034	Q24R/E27R/S52R/S56R/S65R/T69R	9.81	1.71
Ab1H/ Ab1L035	L035	Q24R/E27R/S65R/T69R/T74K/S77R	19.56	1.49
Ab1H/ Ab1L036	L036	Q24R/E27R/S65R/T69R/S76R/Q79K	17.04	1.48
Ab1H/ Ab1L037	L037	Q24R/E27R/G41R/Q42K/T74K/S77R	8.62	1.38
Ab1H/ Ab1L038	L038	Q24R/E27R/S52R/S56R/T74K/S77R	15.13	1.47
Ab1H/ Ab1L039	L039	Q24R/E27R/T74K/S76R/S77R/Q79K	26.95	0.99
Ab1H/ Ab1L040	L040	Q24R/E27R/G41R/Q42K/S76R/Q79K	5.29	1.23
Ab1H/ Ab1L041	L041	Q24R/E27R/S52R/S56R/S76R/Q79K	11.86	1.35
Ab1H/ Ab1L061	L061	Q42K/S76R	4.86	1.02
Ab1H/ Ab1L062	L062	S65R/Q79K	2.93	0.98

[1346]

[1347] (21-2) pI 상승 개변체를 이용한, BIACORE에 의한 인간 FcγRIIb 결합 어세이

[1348] 제작된 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체에 관해서, BIACORE T200(GE Healthcare)을 이용하여, 가용형 인간 FcγRIIb와 항원-항체 복합체의 결합 어세이를 행했다. 가용형 인간 FcγRIIb(NCBI accession NM_004001.3)는, 당기술분야에서 공지의 방법으로 His 태그를 부여한 분자형으로서 제작했다. 센서 칩 CM5(GE Healthcare) 상에 His capture kit(GE Healthcare)를 이용하여 아민 커플링법으로 항His 항체를 적당량 고정하고, 인간 FcγRIIb를 포착했다. 다음에, 항체-항원 복합체와 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착된 인간 FcγRIIb와 상호작용시켰다. 러닝 버퍼에는 20mM N-(2-아세트아마이드)-2-아미노에테인설폰산, 150mM NaCl, 1.2mM $CaCl_2$, 및 0.05%(w/v) Tween20, pH 7.4를 이용하고, 가용형 인간 FcγRIIb의 희석에도 각각의 완충액이 사용되었다. 센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정은 모두 25℃에서 실시되었다. 측정으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 binding(RU)에 기초하여 해석을 행하여, Ab1H/Ab1L(본래의 Ab1)의 결합량을 1.00으로 한 경우의 상대치로 나타낸다. 파라미터의 산출에는 BIACORE T100 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용되었다.

[1349] SPR 해석의 결과를 표 32 및 표 33에 정리하고 있다. 몇몇 개변체에 있어서, BIACORE의 센서 칩 상에 고정된 인간 FcγRIIb에 대한 결합성이 증대되어 있음이 나타났다.

[1350] 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 제작한 항체란, 개변을 도입하기 전과 비교하여, 가변 영역이 보다 많은 양전하를 가지고 있는 항체이다. 그 때문에, 가변 영역(양전하)과 센서 칩 표면(음전하)의 쿨롱 상호작용이, pI를 상승시키는 아미노산 개변에 의해 강해지고 있다고 생각된다. 더욱이, 그와 같은 효과는, 동일하게 음전하를 갖는 세포막 표면에 있어서도 마찬가지로 일어나는 것이 기대되므로, 이들은 인비보에서의 세포 내로의 흡수 속도를 가속하는 효과를 나타낼 것도 기대된다.

[1351] 여기에서, 본래의 Ab1의 hFcγRIIb에 대한 결합과 비교하여 개변체의 hFcγRIIb에 대한 결합이 약 1.2배 이상이면, 센서 칩 상의 hFcγRIIb에 대한 항체의 결합에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 보였다.

[1352] pI 상승 중쇄 개변체 중에서, Q13K, G15R, S64K, T77R, D82aN, D82aG, D82aS, S82bR, E85G, 또는 Q105R 치환(Kabat 넘버링에 따른)을 단독으로 또는 조합하여 갖는 항체는, hFcγRIIb에 대한 보다 강한 결합을 나타냈다. 중쇄에 있어서의 이 단일 아미노산 치환 또는 이들의 치환의 조합은, 센서 칩 상의 hFcγRIIb에 대한 결합에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 따라서, 항체의 중쇄 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 인비보에서의 세포내로의 흡수 속도 또는 흡수 비율을 가속하는 효과를 나타낼 것이 기대되는 1개 또는 복수의 위치에는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른 13위, 15위, 64위, 77위, 82a위, 82b위, 85위, 및 105위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은 아스파라긴, 글리신, 세린, 아르기닌, 또는 리신일 수 있고, 아르기닌 또는 리신인 것이 바람직하다.

[1353] pI 상승 경쇄 개변체 중에서, G16K, Q24R, A25R, S26R, E27R, Q37R, G41R, Q42K, S52K, S52R, S56K, S56R, S65R, T69R, T74K, S76R, S77R, Q79K 치환(Kabat 넘버링에 따른)을 단독으로 또는 조합하여 갖는 항체는, 인간 FcγRIIb에 대한 보다 강한 결합을 나타낸다. 경쇄에 있어서의 이 단일 아미노산 치환 또는 이들의 치환의 조합은, 센서 칩 상의 인간 FcγRIIb에 대한 결합에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 따라서, 항체의 경쇄 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 인비보에서의 세포 내로의 흡수 속도 또는 흡수 비율을 가속하는 효과를 나타낼 것이 기대되는 1개 또는 복수의 위치에는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른 16위, 24위, 25위, 26위, 27위, 37위, 41위, 42위, 52위, 56위, 65위, 69위, 74위, 76위, 77위, 및 79위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은, 아르기닌 또는 리신일 수 있다.

[1354] (21-3) pI 상승 Fab 영역 개변체를 포함하는 항체의 세포 흡수

[1355] 제작된 Fab 영역 개변체를 포함하는 항체를 이용하여, hFcγRIIb 발현 세포주로의 세포내 흡수 속도를 평가하기 위해서, 상기 (4-5)와 마찬가지의 어세이를 실시하고, 단, 도입된 항원량은 Ab1H/Ab1L(본래의 Ab1)의 값을 1.00으로 했을 때의 상대치로 나타냈다.

[1356] 세포 도입의 정량적 결과를, 표 32 및 33에 정리한다. 몇몇 Fc 개변체에 있어서, 세포 내에 있어서의 항원 유래의 강한 형광이 관찰되었다. 여기에서, 본래의 Ab1의 형광 강도와 비교하여 개변체의 세포 내에 흡수된 항원의 형광 강도가 약 1.5배 이상이면, 세포 내에 흡수된 항원에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 보였다.

[1357] pI 상승 중쇄 개변체 중에서, P41R, G44R, T77R, D82aN, D82aG, D82aS, S82bR, 또는 E85G 치환(Kabat 넘버링에 따른)을 단독으로 또는 조합하여 갖는 항체는, 세포 내로의 보다 강한 항원 흡수를 나타냈다. 중쇄에 있어서의 이 단일 아미노산 치환 또는 이들의 치환의 조합은, 세포 내로의 항원-항체 복합체 흡수에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 따라서, 항체의 중쇄 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 세포 내로의 항원-항체 복합체의 흡수를 보다 빨리 또는 보다 고빈도로 일으킬 것이 기대되는 1개 또는 복수의 위치에는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른 41위, 44위, 77위, 82a위, 82b위, 또는 85위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은 아스파라긴, 글리신, 세린, 아르기닌, 또는 리신일 수 있고, 아르기닌 또는 리신인 것이 바람직하다.

[1358] pI 상승 경쇄 개변체 중에서, G16K, Q24R, A25R, A25K, S26R, S26K, E27R, E27Q, E27K, Q37R, G41R, Q42K, S52K, S52R, S56R, S65R, T69R, T74K, S76R, S77R, 또는 Q79K 치환(Kabat 넘버링에 따른)을 단독으로 또는 조합하여 갖는 항체는, 세포 내로의 보다 강한 항원 흡수를 나타냈다. 경쇄에 있어서의 이 단일 아미노산 치환 또는 이들의 치환의 조합은, 세포 내로의 항원-항체 복합체 흡수에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 4개 이상의 아미노산 치환을 갖는 개변체는, 그것보다 적은 아미노산 치환을 가지는 개변체보다도 강한 하전 효과를 나타내는 경향이 있다. 항체의 경쇄 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 세포 내로의 항원-항체 복합체의 흡수를 보다 빨리 또는 보다 고빈도로 일으킬 것이 기대되는 1개 또는 복수의 위치에는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른 16위, 24위, 25위, 26위, 27위, 37위, 41위, 42위, 52위, 56위, 65위, 69위, 74위, 76위, 77위, 또는 79위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은 글

루타민, 아르기닌, 또는 리신일 수 있고, 아르기닌 또는 리신인 것이 바람직하다.

[1359] 특정의 이론에 구속되는 것은 아니지만, 이 결과는 이하와 같이 설명하는 것이 가능하다. 세포 배양액 중에 첨가한 항원과 항체는, 배양액 중에 있어서 항원-항체 복합체를 형성한다. 항원-항체 복합체는, 항체의 Fc 영역을 통하여 세포막 상에 발현한 인간 FcγRIIb에 결합하여, 수용체 의존적으로 세포로 흡수된다. 이 실험에 사용된 항체는 pH 의존적으로 항원에 결합하므로, 세포 내의 엔도솜 중(산성 pH 조건)에 있어서, 해당 항체는 해당 항원으로부터 해리되는 것이 가능하다. 해리된 항원은 라이소솜에 수송되어 축적되므로, 세포 내에서 형광을 발한다. 따라서, 세포 내에 있어서의 형광 강도가 강하다고 하는 것은, 항원-항체 복합체의 세포내 흡수가 보다 빠르고 또는 보다 고빈도로 일어나고 있는 것을 나타내고 있다고 생각된다.

[1360] (21-4) 마우스 동시 투여 모델에 있어서의 인간 IgE의 클리어런스의 평가

[1361] 몇 가지 pH 의존적 항원 결합 항IgE 항체(본래의 Ab1, Ab1H/Ab1L013, Ab1H/Ab1L014, Ab1H/Ab1L007)를 마우스 동시 투여 모델에 있어서 시험하여, 그들이 혈장으로부터의 IgE의 클리어런스를 가속하는 능력을 평가했다. 동시 투여 모델에 있어서는, C57BL6J 마우스(Jackson Laboratories)에, 항IgE 항체와 미리 혼합한 IgE를 단회 정맥내 투여에 의해 각각 투여했다. 모든 군에게, 1.0mg/kg의 항IgE 항체를 포함하는 0.2mg/kg의 IgE를 투여했다. 혈장 중의 IgE 농도의 합계는, 항IgE ELISA에 의해 결정했다. 우선, 항인간 IgE(클론 107, MABTECH)를 마이크로 웰 플레이트(Nalge nunc International)에 분주하고, 실온에서 2시간 또는 4℃에서 하룻밤 정치하여, 항인간 IgE 항체 고정화 플레이트가 제작되었다. 검량선 시료 및 시료를 과잉량의 항IgE 항체(사내에서 조제)와 혼합하여, 균일한 구조의 면역 복합체를 형성시켰다. 이들 시료를 항인간 IgE 항체 고정화 플레이트에 첨가하고, 4℃에서 하룻밤 정치했다. 다음에, 이들 시료를 인간 GPC3 코어 단백질(사내에서 조제), 비오틴화 항GPC3 항체(사내에서 조제), Streptavidin Poly HRP80 Conjugate(Stereospecific Detection Technologies)와, 1시간에 걸쳐 차례로 반응시켰다. 그 후, SuperSignal(등록상표) ELISA Pico Chemiluminescent Substrate(Thermo Fisher Scientific)를 첨가했다. SpectraMax M2(Molecular Devices)를 이용하여 화학발광을 판독했다. 인간 IgE의 농도를, SOFTmax PRO(Molecular Devices)를 이용하여 산출했다. 도 37은, C57BL6J 마우스에 있어서의 혈장 중 IgE 농도의 시간 프로파일을 기재하고 있다.

[1362] pI 상승 pH 의존적 항원 결합 Fab 개변체의 투여 후의, 혈장 중의 총 IgE 농도는, 본래의 Ab1보다 낮았다. 이들 결과는, pI가 높은 pH 의존적 항원 결합 개변체의 항원-항체 면역 복합체가 보다 강력하게 FcγR 등의 세포막 수용체에 결합할 수 있고, 그것에 의해 항원-항체 면역 복합체의 세포성 흡수가 증대한다는 것을 나타내고 있다. 세포에 흡수된 항원은, 엔도솜 내부에서 항체로부터 효과적으로 방출될 수 있고, 이것에 의해, IgE의 소실이 가속된다. 인비트로 시험에서 약한 효과를 나타낸 Ab1H/Ab1L007로 처치된 마우스의 IgE 농도는, 다른 pI 상승 Fab 개변체를 포함하는 항체보다 높았다. 이들 결과는, 인비보에서의 혈장으로부터의 항원의 클리어런스의 평가의 추정에 관해서, InCell Analyzer 6000에 의한 형광 강도를 이용하는 상기의 인비트로 시스템의 감도는, 상기의 인비트로 BIACORE 시스템보다 높을 가능성이 있다는 것도 시사하고 있다.

[1363] **실시예 22**

[1364] pI 상승 Fab 개변체를 이용한 혈장으로부터의 C5의 클리어런스의 평가

[1365] 인간 IgE의 클리어런스를 증대시키기 위해, 본 실시예에 있어서는, pH 의존적 항원 결합 항체를 이용하여 항체의 Fab 부분에 있어서의 pI 상승 치환을 평가했다.

[1366] (22-1) C5의 조제 [재조합 인간 C5의 발현 및 정제]

[1367] 재조합 인간 C5(NCBI GenBank 억세션 번호: NP_001726. 2, 서열 번호: 207)를, FreeStyle293-F 세포계(Thermo Fisher, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 일과적으로 발현시켰다. 인간 C5를 발현하는 순화 배지를 등량의 밀리Q수로 희석한 후, Q-sepharose FF 또는 Q-sepharose HP 음이온 교환 컬럼(GE healthcare, Uppsala, Sweden)에 어플라이하고, 계속해서 NaCl 구배에 의한 용출을 행했다. 인간 C5를 포함하는 획분을 풀링(pooling)한 후, 염농도 및 pH를 각각 80mM NaCl 및 pH 6.4로 조정했다. 얻어진 시료를, SP-sepharose HP 양이온 교환 컬럼(GE healthcare, Uppsala, Sweden)에 적용하고, NaCl 구배에 의해 용출시켰다. 인간 C5를 포함하는 획분을 풀링하여, CHT ceramic Hydroxyapatite 컬럼(Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)에 제공했다. 다음에 인간 C5 용출액을 Superdex 200 겔 여과 컬럼(GE healthcare, Uppsala, Sweden)에 어플라이했다. 인간 C5를 포함하는 획분을 풀링하여, -150℃에서 보존했다. 시험에는, 사내 조제한 재조합 인간 C5 또는 혈장 유래의 인간 C5(CALBIOCHEM, Cat#204888)의 어느 하나를 이용했다.

[1368] 재조합 필리핀 원숭이 C5(NCBI GenBank 억세션 번호: XP_005580972, 서열 번호: 208)의 발현 및 정제는, 인간

대응물과 완전히 동일한 방법으로 행했다.

[1369] (22-2) 합성 칼슘 라이브러리의 조제

[1370] 합성 인간 중쇄 라이브러리로서 사용한 항체 중쇄 가변 영역의 유전자 라이브러리는, 10종의 중쇄 라이브러리로 이루어지는 것이었다. 생식세포계 프레임워크인 VH1-2, VH1-69, VH3-23, VH3-66, VH3-72, VH4-59, VH4-61, VH4-b, VH5-51, 및 VH6-1이, 이 라이브러리를 위해서, 인간 B 세포의 레퍼터리에 있어서의 생식세포 계열 빈도 및 V 유전자 패밀리의 생물 물리학적 특성에 기초하여 선택되었다. 합성 인간 중쇄 라이브러리는 인간 B 세포의 항체 레퍼터리를 모방하여 항체 결합 부위에 다양성을 가지게 하고 있다.

[1371] 항체 경쇄 가변 영역의 유전자 라이브러리는, 칼슘 결합 모티프를 갖도록 설계되고, 또한 인간 B 세포의 항체 레퍼터리에 따라서 항원 인식에 기여할 수 있는 위치에 있어서 다양화되고 있다. 항원에 대한 칼슘 의존적 결합성을 위한 특징을 발휘하는 항체 경쇄 가변 영역의 유전자 라이브러리의 설계는, WO 2012/073992에 기재되어 있다.

[1372] (de Heard et al., Meth. Mol. Biol. 178:87-100(2002))를 참조하여, 중쇄 가변 영역 라이브러리와 경쇄 가변 영역 라이브러리의 조합을 파지미드 벡터 삽입하여, 파지 라이브러리를 구축했다. 파지미드 벡터의 Fab와 pIII 단백질 사이의 링커 영역에, 트립신 분해 부위를 도입했다. Fab 디스플레이 파지의 조제를 위해, gene III의 N2와 CT 도메인 사이에 트립신 분해 부위를 갖는 개변 M13KO7 헬퍼 파지를 이용했다.

[1373] (22-3) 칼슘 의존적 항C5 항체의 단리

[1374] BSA 및 $CaCl_2$를 각각 종농도 4% 및 1.2mM 포함하는 TBS로, 파지 디스플레이 라이브러리를 희석했다. 패닝법으로서, 일반적인 프로토콜을 참조하여 종래의 자기(磁氣) 비즈 선택을 적용했다(Junutula et al., J. Immunol. Methods 332(1-2):41-52(2008), D'Mello et al., J. Immunol. Methods 247 (1-2):191-203(2001), Yeung et al., Biotechnol. Prog. 18(2):212-220(2002), Jensen et al., Mol. Cell Proteomics 2(2):61-69(2003)). 자기 비즈로서는 NeutrAvidin으로 코팅된 비즈(NeutrAvidin으로 코팅된 Sera-Mag SpeedBeads) 또는 Streptavidin으로 코팅된 비즈(Dynabeads M-280 Streptavidin)를 적용했다. 인간 C5(CALBIOCHEM, Cat#204888)를, EZ-Link NHS-PEG4-Biotin(PIERCE, Cat No. 21329)으로 표지했다.

[1375] 제 1 라운드의 파지 선택으로, 파지 디스플레이 라이브러리를 비오틴화 인간 C5(312.5 nM)와 함께 실온에서 60분간 인큐베이트했다. 그 후, 결합 Fab 개변체를 제시한 파지를 자기 비즈를 이용하여 포착했다.

[1376] 비즈와 함께 실온에서 15분간 인큐베이트한 후, 비즈를, 1.2mM $CaCl_2$ 및 0.1% Tween20을 포함하는 1mL의 TBS를 이용하여 3회 세정하고, 1.2mM $CaCl_2$를 포함하는 1mL의 TBS를 이용하여 2회 세정했다. 15분간, 1mg/mL의 트립신을 포함하는 TBS에 비즈를 재현탁하는 것에 의해, 파지를 용출시켰다. 용출시킨 파지를 ER2738에 감염시키고, 헬퍼 파지를 이용하여 레스큐했다. 레스큐된 파지를 폴리에틸렌 글리콜로 침전시키고, BSA 및 $CaCl_2$를 각각 종농도 4% 및 1.2mM 포함하는 TBS에 재현탁하여, 다음 라운드의 패닝에 사용했다.

[1377] 제 1 라운드의 패닝 후, 칼슘 이온 존재하에서 항체가 보다 강하게 C5에 결합하는 칼슘 의존성에 관해서, 파지를 선발했다. 제 2 및 제 3 라운드에서는, 50nM(제 2 라운드) 또는 12.5nM(제 3 라운드)의 비오틴화 항원을 사용한 것 이외에는 제 1 라운드와 동일한 양식으로 패닝을 실시하고, 0.1mL의 용출 완충액(50mM MES, 2mM EDTA, 150mM NaCl, pH 5.5)을 이용하여 마지막 용출을 실시하고, 1μL의 100mg/mL 트립신에 접촉시켜 칼슘 의존성에 관한 선발을 행했다. 선발 후, 선발된 파지 클론을 IgG 형태로 전환했다.

[1378] 전환한 IgG 항체의 인간 C5에 대한 결합능을, 이하의 2종류의 상이한 조건하에서 평가했다: Octet RED384 시스템(Pall Life Sciences)을 이용한, 30℃에 있어서의 1.2mM $CaCl_2$-pH 7.4(20mM MES, 150mM NaCl, 1.2mM $CaCl_2$)에서의 결합과 해리, 및, 1.2mM $CaCl_2$-pH 7.4(20mM MES, 150mM NaCl, 1.2mM $CaCl_2$)에서의 결합과 3μM $CaCl_2$-pH 5.8(20mM MES, 150mM NaCl, 3μM $CaCl_2$)에서의 해리. 25개의 pH-칼슘 의존적 항원 결합 클론을 단리했다. 이들 항체의 센서그램을 도 38에 나타낸다.

[1379] (22-4) 항C5 이중특이성 항체의 동정

[1380] 실시예 B-3에서 단리된 클론으로부터, pH 또는 칼슘 의존적 항C5 항체 클론 9개를 추가적인 해석을 위해서 선발했다(CFP0008, 0011, 0015, 0016, 0017, 0018, 0019, 0020, 0021). 항체의 물리화학적 특성 등의 성질을 개선하기 위해서, 당업자에게 주지의 방법에 따라, CFP0016 중쇄 가변 영역에 몇몇 아미노산 치환을 도입했다.

CFP0016 대신에, CFP0016의 이 개변체 CFP0016H019를 추가적인 해석에 이용했다. 이들 9개의 항체의 VH 및 VL 영역의 아미노산 서열을, 표 34에 나타낸다. 이 표에 있어서, 괄호 내에 기재된 명칭은 약칭을 나타낸다.

표 34

선택한 항체의 클론명 및 아미노산 서열

클론명	VH 명	VH SEQ ID	VL 명	VL SEQ ID
CFP0008 (08)	CFP0008H (08H)	NO: 209	CFP0008L (08L)	NO: 210
CFP0011 (11)	CFP0011H (11H)	NO: 211	CFP0011L (11L)	NO: 212
CFP0015 (15)	CFP0015H (15H)	NO: 213	CFP0015L (15L)	NO: 214
CFP0016H019 (16H019)	CFP0016H019 (16H019)	NO: 215	CFP0016L (16L)	NO: 216
CFP0017 (17)	CFP0017H (17H)	NO: 217	CFP0017L (17L)	NO: 218
CFP0018 (18)	CFP0018H (18H)	NO: 219	CFP0018L (18L)	NO: 220
CFP0019 (19)	CFP0019H (19H)	NO: 221	CFP0019L (19L)	NO: 222
CFP0020 (20)	CFP0020H (20H)	NO: 223	CFP0020L (20L)	NO: 224
CFP0021 (21)	CFP0021H (21H)	NO: 225	CFP0021L (21L)	NO: 226

[1381]

[1382] 항체 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 갖는 전장 유전자를 당업자에게 주지의 방법에 따라 합성하여, 조제했다. 중쇄 및 경쇄를 발현하는 벡터는, 얻어진 핵외 유전자 단편을 포유동물 세포 내에서의 발현용의 벡터에 삽입하는 것에 의해, 조제했다. 얻어진 발현 벡터를, 당업자에게 주지의 방법에 따라 서열 결정했다. 항체의 발현을 위해서, 조제한 핵외 유전자를 FreeStyle293-F 세포주(Thermo Fisher Scientific)에 일과적으로 트랜스펙트했다. 발현 항체의 순화 배지로부터의 정제는, rProtein A Sepharose Fast Flow(GE Healthcare)를 사용하여, 당업자에게 주지의 방법에 따라 행했다.

[1383] (22-5) pH 의존적 항C5 이중특이성 항체의 제작 및 특징 결정

[1384] C5의 2종류의 상이한 에피토프를 인식하는 이중특이성 항체는, CFP0020과 CFP0018의 조합에 의해 제작되었다. 이중특이성 항체는, 항체의 각 결합 부위에 Fab가 상이한 2종류의 클론을 갖는 IgG 형식으로서 조제되고, 당업자에게 주지의 방법을 이용하여 조제된다. 이 이중특이성 IgG 항체에 있어서, 2종류의 중쇄는, 해당 2종류의 중쇄의 헤테로 이량체가 효율적으로 형성되도록, 서로 상이한 중쇄 정상 영역(G1dP1, 서열 번호: 227 및 G1dN1, 서열 번호: 228)을 포함한다. 항C5 MAb "X"와 항C5 MAb "Y"의 결합 부위를 포함하는 항C5 이중특이성 항체를, "X//Y"로 나타낸다.

[1385] 당업자에게 주지의 방법에 의해 몇몇 아미노산 치환을 중쇄 및 경쇄 CDR에 도입하는 것에 의해, 본 발명자들은, 20//18의 경쇄 공유화 개변체를 얻고, 이것을 "최적화 20//18"(2개의 중쇄 CFP0020H0261-G1dP1, 서열 번호: 229와 CFP0018H0012-G1dN1, 서열 번호: 230, 및 공통의 경쇄 CFP0020L233-k0, 서열 번호: 231로 이루어진다)이라고 이름 붙였다.

[1386] 재조합 인간 C5에 대한 최적화 20//18의 반응 속도 파라미터를, BIACORE T200 기기(GE Healthcare)를 이용하여, 37℃에서, 2종류의 상이한 조건하에서 평가했다(예를 들어 (A) pH 7.4에서 결합 및 해리, 및 (B) pH 7.4에서 결합, pH 5.8에서 해리). Series SCM4(GE Healthcare, 카탈로그 번호 BR-1005-34) 상에 아민 커플링법으로, 프로틴 A/G(Pierce, 카탈로그 번호 21186) 또는 항인간 IgG(Fc) 항체(Human Antibody Capture Kit에 포함된다; GE Healthcare, 카탈로그 번호 BR-1008-39)를 고정했다. 고정화 분자에 항C5 항체를 포착시킨 후, 인간 C5를 인젝트했다. 사용한 러닝 버퍼는 ACES pH 7.4 및 pH 5.8(20mM ACES, 150mM NaCl, 1.2mM $CaCl_2$, 0.05% Tween 20)이었다. BIACORE T200 Evaluation software, 버전 2.0(GE Healthcare)을 이용하여, 1:1 결합-RI(벌크 효과 조정 없음) 모델과 센서그램을 피팅시키는 것에 의해, 양방의 pH 조건에서의 반응 속도 파라미터를 결정했다. 반응 속도 파라미터인, pH 7.4에서의 결합 속도(ka), 해리 속도(kd), 및 결합 친화성(KD), 및 각 pH 조건의 해리 국면에서의 산출만에 의해 결정한 해리 속도(kd)를, 표 35에 기재한다. 최적화 20//18은, 인간 C5에 대한 pH 7.4에서의 해리 속도와 비교하여, pH 5.8에서 보다 신속한 해리를 나타냈다.

표 35

2개의 상이한 조건하에서의 인간 C5에 대한 20//18개변체의 카이네틱스 파라미터

[1387]

	pH 7.4			pH 7.4	pH 5.8
	ka	kd	KD	kd (해리만)	
최적화20//18	3.17E+05	1.87E-04	5.89E-10	1.36E-04	4.84E-02

[1388] (22-6) 가변 영역의 아미노산의 개변에 의해 pI가 상승된 항체의 제작

[1389] 시험한 항체는, 표 36 및 37에 정리하고 있다.

[1390] pI를 상승시키는 치환 P41R/G44R을 CFP0020H0261-G1dP1(서열 번호: 229)에 도입하는 것에 의해, 중쇄 CFP0020H0261-001-G1dP1(20H001이라고도 불리는, 서열 번호: 232)을 조제했다. 마찬가지로, pI를 상승시키는 치환 T77R/E85R을 CFP0018H0012-G1dN1(서열 번호: 230)에 도입하는 것에 의해, 중쇄 CFP0018H0012-002-G1dN1(18H002라고도 불리는, 서열 번호: 251)을 조제했다. 표 36에 나타낸 각 치환을, 참조 실시예 1에 나타내는 방법에 따라 CFP0020H0261-G1dP1 및 CFP0018H0012-G1dN1에 각각 도입하는 것에 의해, 다른 중쇄 개변체도 조제했다. 중쇄 개변체의 CFP0020H0261-G1dP1 개변체 및 CFP0018H0012-G1dN1 개변체의 양방은, 경쇄로서 CFP0020L233-k0(서열 번호: 231)과 함께 발현시켜, 이중특이성 항체를 얻었다.

[1391] 마찬가지로, 본 발명자들은 경쇄에 있어서의, pI를 상승시키는 치환도 평가했다. pI를 상승시키는 치환 G16K를 CFP0020L233-k0에 도입하는 것에 의해, 경쇄 CFP0020L233-001-k0(20L233-001이라고도 불리는, 서열 번호: 271)을 조제했다. 표 37에 나타낸 각 치환을, 참조 실시예 1에 나타내는 방법에 따라 CFP0020L233-k0에 도입하는 것에 의해, 다른 경쇄 개변체도 조제했다. 모든 경쇄 개변체는, 중쇄로서 CFP0020H0261-G1dP1 및 CFP0018H0012-G1dN1과 함께 발현시켜, 이중특이성 항체를 얻었다.

표 36

본 실시예에서 평가한 CFP0020H0261-001-G1dP1
및 CFP0018H0012-001-G1dN1의 중쇄 개변체

[1392]

시료명 (중쇄1/중쇄2/경쇄)	개변체	변이 (중쇄1)	변이 (중쇄2)	Imaging 배율	BIACORE 배율
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-k0	원래의 Ab2			1.00	1.00
CFP0020H0261-001-G1dP1 /CFP0018H0012-002-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H001/ 18H002	P41R/G44R	T77R/E85G	2.27	0.91
CFP0020H0261-002-G1dP1 /CFP0018H0012-002-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H002/ 18H002	Q77R/A85R	T77R/E85G	2.46	1.09
CFP0020H0261-003-G1dP1 /CFP0018H0012-003-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H003/ 18H003	L18R	G8R	1.69	0.97
CFP0020H0261-005-G1dP1 /CFP0018H0012-005-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H005/ 18H005	S15R	G15R	1.36	0.96
CFP0020H0261-008-G1dP1 /CFP0018H0012-008-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H008/ 18H008	G32R	Y32R	0.00	0.20
CFP0020H0261-009-G1dP1 /CFP0018H0012-009-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H009/ 18H009	Q39K	Q39K	1.45	1.01
CFP0020H0261-013-G1dP1 /CFP0018H0012-013-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H013/ 18H013	L63R	F63R	2.64	1.52
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-014-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H/ 18H014	-	Q64K	0.86	0.80
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-016-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H/ 18H016	-	F63R/Q64K	1.90	1.08
CFP0020H0261-018-G1dP1 /CFP0018H0012-018-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H018/ 18H018	Q77R	T77R	2.80	0.96

[1393]

CFP0020H0261-019-G1dP1 /CFP0018H0012-019-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H019/ 18H019	L82K	L82K	2.47	1.61
CFP0020H0261-020-G1dP1 /CFP0018H0012-020-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H020/ 18H020	S82aN/S82bR	S82aN/S82bR	1.45	0.93
CFP0020H0261-021-G1dP1 /CFP0018H0012-021-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H021/ 18H021	S82aG/S82bR	S82aG/S82bR	0.74	0.85
CFP0020H0261-022-G1dP1 /CFP0018H0012-022-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H022/ 18H022	S82bR	S82bR	1.25	0.86
CFP0020H0261-023-G1dP1 /CFP0018H0012-023-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H023/ 18H023	V82cR	L82cR	0.58	0.52
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-024-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H/ 18H024	-	E85G	0.99	0.72
CFP0020H0261-025-G1dP1 /CFP0018H0012-025-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H025/ 18H025	D86G	D86G	0.68	0.76
CFP0020H0261-026-G1dP1 /CFP0018H0012-026-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H026/ 18H026	A93K	A93K	0.01	0.23
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-027-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H/ 18H027	-	Q105R	1.22	0.79
CFP0020H0261-032-G1dP1 /CFP0018H0012-032-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H032/ 18H032	L82K/S82bR	L82K/S82bR	1.47	2.25
CFP0020H0261-035-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H035/ 18H	S82bR/T83R	-	1.03	1.15
CFP0020H0261-036-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H036/ 18H	T83R	-	2.02	1.05
CFP0020H0261-037-G1dP1 /CFP0018H0012-037-G1dN1 /CFP0020L233-k0	20H037/ 18H037	V71R/A85G	A71R/E85G	0.34	0.49

표 37

본 실시예에서 평가한 CFP0020L233의 경쇄 개변체

[1394]

시료명	개변체	변이	Imaging 배율	BIACORE 배율
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-k0	원래의 Ab2		1.00	1.00
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-001-k0	20L233-001	G16K	2.20	1.59
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1	20L233-002	Q27R	1.08	0.92

[1395]

/CFP0020L233-002-k0				
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-003-k0	20L233-003	A25R/S26R	0.38	0.32
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-004-k0	20L233-004	S52K/S56K	1.24	0.75
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-005-k0	20L233-005	T74K/S77R	3.32	1.83
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-006-k0	20L233-006	S76R/Q79K	4.85	1.89
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-007-k0	20L233-007	Q27K	1.18	0.95
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-008-k0	20L233-008	A25K/S26K	0.29	0.29
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-009-k0	20L233-009	Q37R	0.99	0.78
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-010-k0	20L233-010	G41R	1.77	1.01
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-011-k0	20L233-011	L46R/Y49K	0.00	0.14
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-012-k0	20L233-012	S52R/S56R	1.02	0.68
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-013-k0	20L233-013	S65R/T69R	1.24	데이터 없음
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-016-k0	20L233-016	G41R/T74K/S77R	6.58	1.96
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-017-k0	20L233-017	L46R/Y49K/T74K/S77R	0.00	0.18
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-018-k0	20L233-018	S52R/S56R/T74K/S77R	46.97	1.43
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-019-k0	20L233-019	S65R/T69R/T74K/S77R	53.25	7.72
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-021-k0	20L233-021	Q27R/S76R/Q79K	20.90	1.77
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-022-k0	20L233-022	G41R/S76R/Q79K	27.3	2.04

CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-023-k0	20L233-023	L46R/Y49K/S76R/Q79K	0.2	0.18
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-024-k0	20L233-024	S52R/S56R/S76R/Q79K	114.7	2.16
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-025-k0	20L233-025	S65R/T69R/S76R/Q79K	75.6	3.18
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-027-k0	20L233-027	Q27R/G41R/T74K/S77R	4.1	2.24
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-028-k0	20L233-028	G41R/S52R/S56R/T74K/S77R	18.1	1.94
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-029-k0	20L233-029	G41R/S65R/T69R/T74K/S77R	28.8	9.63
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-031-k0	20L233-031	Q27R/S52R/S56R/T74K/S77R	21.0	1.78
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-032-k0	20L233-032	S52R/S56R/S65R/T69R/T74K/S77R	64.1	11.09
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-034-k0	20L233-034	Q27R/S65R/T69R/T74K/S77R	30.5	8.61
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-036-k0	20L233-036	Q27R/G41R/S76R/Q79K	14.5	2.45
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-037-k0	20L233-037	G41R/S52R/S56R/S76R/Q79K	53.0	2.43
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-038-k0	20L233-038	G41R/S65R/T69R/S76R/Q79K	45.9	4.24
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-040-k0	20L233-040	Q27R/S52R/S56R/S76R/Q79K	61.6	2.32
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-041-k0	20L233-041	S52R/S56R/S65R/T69R/S76R/Q79K	96.2	5.28
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-043-k0	20L233-043	Q27R/S65R/T69R/S76R/Q79K	49.3	3.51
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-044-k0	20L233-044	S76R	1.61	1.25
CFP0020H0261-G1dP1 /CFP0018H0012-G1dN1 /CFP0020L233-045-k0	20L233-045	S65R/Q79K	3.66	1.46

[1396]

[1397] (22-7) pI 상승 개변체를 이용한, BIACORE에 의한 인간 FcγRIIb 결합 어세이

[1398] 제작된 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체에 관해서, BIACORE T200(GE Healthcare)을 이용하여, 가용형 hFcγRIIb와 항원-항체 복합체의 결합 어세이를 행했다. 가용형 hFcγRIIb는, 당 기술분야에서 공지의 방법으로 His 태그를 부여한 분자형으로서 제작했다. 센서 칩 CM5(GE Healthcare) 상에 His capture kit(GE Healthcare)를 이용하여 아민 커플링법으로 항His 항체를 적당량 고정하고, hFcγRIIb를 포착했다. 다음에, 항체-항원 복합체와 러닝 버퍼(참조 용액으로서)를 인젝트하여, 센서 칩 상에 포착된 hFcγRIIb와 상호작용시켰다. 러닝 버퍼에는 20mM N-(2-아세트아마이드)-2-아미노에테인설폰산, 150mM NaCl, 1.2mM $CaCl_2$, 및 0.05%(w/v) Tween20, pH 7.4를 이용하고, 가용형 hFcγRIIb의 희석에도 각각의 완충액이 사용되었다. 센서 칩의 재생에는 10mM 글리신-HCl, pH 1.5가 이용되었다. 측정은 모두 25℃에서 실시되었다. 측정으로 얻어진 센서그램으로부터 산출된 binding(RU)에 기초하여 해석을 행하여, CFP0020H0261-G1dP1/CFP0018H0012-G1dN1/CFP0020L233-k0(본래의 Ab2)의 결합량을 1.00으로 했을 경우의 상대치로 나타낸다. 파라미터의 산출에는 BIACORE T100 Evaluation Software(GE Healthcare)가 이용되었다.

[1399] SPR 해석의 결과를 표 36 및 표 37에 정리하고 있다. 몇몇 개변체에 있어서, BIACORE의 센서 칩 상에 고정된 hFcγRIIb에 대한 결합성이 증대되어 있음이 나타났다. 여기에서, 본래의 Ab2의 hFcγRIIb에 대한 결합과 비교하여 개변체의 hFcγRIIb에 대한 결합이 약 1.2배 이상이면, 센서 칩 상의 hFcγRIIb에 대한 항체의 결합에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 보였다.

[1400] pI 상승 중쇄 개변체 중에서, L63R, F63R, L82K, 또는 S82bR 치환(Kabat 넘버링에 따른)을 갖는 항체는, hFcγRIIb에 대한 보다 강한 결합을 나타냈다. 중쇄에 있어서의 이 단일 아미노산 치환 또는 이들의 치환의 조합은,

센서 칩 상의 hFcγRIIb에 대한 결합에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 따라서, 항체의 중쇄 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 인비보에서의 세포 내로의 흡수 속도 또는 흡수 비율을 가속하는 효과를 나타낼 것이 기대되는 1개 또는 복수의 위치에는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른 63위, 82위, 또는 82b위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은 아르기닌 또는 리신일 수 있다.

[1401] pI 상승 경쇄 개변체 중에서, G16K, Q27R, G41R, S52R, S56R, S65R, T69R, T74K, S76R, S77R, 또는 Q79K 치환(Kabat 넘버링에 따른)을 갖는 항체는, hFcγRIIb에 대한 보다 강한 결합을 나타냈다. 경쇄에 있어서의 이 단일 아미노산 치환 또는 이들의 치환의 조합은, 센서 칩 상의 인간 FcγRIIb에 대한 결합에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 따라서, 항체의 경쇄 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 인비보에서의 세포 내로의 흡수 속도 또는 흡수 비율을 가속하는 효과를 나타낼 것이 기대되는 1개 또는 복수의 위치에는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른 16위, 27위, 41위, 52위, 56위, 65위, 69위, 74위, 76위, 77위, 또는 79위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은, 아르기닌 또는 리신일 수 있다. 4개 이상의 아미노산 치환을 갖는 개변체는, 그보다 적은 아미노산 치환을 가지는 개변체보다 강한 하전 효과를 나타내는 경향이 있다.

[1402] (22-8) pI 상승 Fab 영역 개변체를 포함하는 항체의 세포 흡수

[1403] 제작된 Fab 영역 개변체를 포함하는 항체를 이용하여, hFcγRIIb 발현 세포주로의 세포내 흡수 속도를 평가하기 위해서, 이하의 어세이를 실시했다.

[1404] 공지의 방법을 이용하여, hFcγRIIb를 정상적으로 발현하는 MDCK(Madin-Darby canine kidney) 세포주가 제작되었다. 이 세포를 이용하여, 항원-항체 복합체의 세포내 흡수의 평가를 행했다. 구체적으로는, 인간 C5에 대해서, Alexa555(Life Technologies)를 이용하여 이미 정해진 프로토콜에 따라 라벨화하고, 배양액 중에서 항체 농도 10mg/mL 및 항원 농도 10mg/mL로 항원-항체 복합체를 형성시켰다. 상기의 hFcγRIIb 정상 발현 MDCK 세포의 배양 플레이트에 대해서, 항원-항체 복합체를 포함하는 배양액을 첨가하여 1시간 인큐베이트한 후, 세포 내에 흡수된 항원의 형광 강도를 InCell Analyzer6000(GE healthcare)을 이용하여 정량했다. 도입된 항원량은 본래의 Ab2의 값을 1.00으로 했을 때의 상대치로 나타냈다.

[1405] 세포 흡수의 정량적 결과를, 표 36 및 37에 정리했다. 몇몇 중쇄 개변체 및 경쇄 개변체에 있어서, 세포 내에 있어서의 항원 유래의 강한 형광이 관찰되었다. 여기에서, 본래의 Ab2의 형광 강도와 비교하여 개변체의 세포 내에 흡수된 항원의 형광 강도가 약 1.5배 이상이면, 세포 내에 흡수된 항원에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 보였다.

[1406] pI 상승 중쇄 개변체 중에서, G8R, L18R, Q39K, P41R, G44R, L63R, F63R, Q64K, Q77R, T77R, L82K, S82aN, S82bR, T83R, A85R, 또는 E85G 치환(Kabat 넘버링에 따른)을 갖는 항체는, 세포 내로의 보다 강한 항원 흡수를 나타냈다. 중쇄에 있어서의 이 단일 아미노산 치환 또는 이들의 치환의 조합은, 세포 내로의 항원-항체 복합체 흡수에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 따라서, 항체의 중쇄 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 세포 내로의 항원-항체 복합체의 흡수를 보다 빨리 또는 보다 고빈도로 일으킬 것이 기대되는 1개 또는 복수의 위치에는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른 8위, 18위, 39위, 41위, 44위, 63위, 64위, 77위, 82위, 82a위, 82b위, 83위, 또는 85위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은 아스파라긴, 글리신, 세린, 아르기닌, 또는 리신일 수 있고, 아르기닌 또는 리신인 것이 바람직하다.

[1407] pI 상승 경쇄 개변체 중에서, G16K, Q27R, S27R, G41R, S52R, S56R, S65R, T69R, T74K, S76R, S77R, 또는 Q79K 치환(Kabat 넘버링에 따른)을 갖는 항체는, 세포 내로의 보다 강한 항원 흡수를 나타냈다. 경쇄에 있어서의 이 단일 아미노산 치환 또는 이들의 치환의 조합은, 세포 내로의 항원-항체 복합체 흡수에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 4개 이상의 아미노산 치환을 갖는 개변체는, 그보다 적은 아미노산 치환을 갖는 개변체보다 강한 하전 효과를 나타내는 경향이 있다. 실시예 21(21-3)에 나타나고 있는 바와 같이, 42K 치환과 76R 치환의 조합은 IgE 항체에 있어서 효과적이다. 그렇지만, C5 항체의 경우, Kabat 넘버링 42위의 아미노산은 이미 리신이며, 따라서 본 발명자들은, 76R의 단일 치환에 의해 42K/76R의 하전 효과를 관찰할 수 있다. 76R 치환을 갖는 개변체가 C5 항체에 있어서도 강한 하전 효과를 가지고 있었다고 하는 사실은, 42K/76R의 조합이 항원을 불문하고 강한 하전 효과를 갖는다는 것을 나타내고 있다. 따라서, 항체의 경쇄 가변 영역에 pI를 상승시키는 개변을 도입하는 것에 의해 세포 내로의 항원-항체 복합체의 흡수를 보다 빨리 또는 보다 고빈도로 일으킬 것이 기대되는 1개 또는 복수의 위치에는, 예를 들어, Kabat 넘버링에 따른 16위, 27위, 41위, 52위, 56위, 65위, 69위, 74위, 76위, 77위, 또는 79위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은 아르

기닌 또는 리신일 수 있다.

[1408] (22-9) 마우스 동시 투여 모델에 있어서의 C5의 클리어런스의 평가

[1409] 몇 가지 항C5 이중특이성 항체(본래의 Ab2, 20L233-005, 20L233-006, 및 20L233-009)를 마우스 동시 투여 모델에 있어서 시험하여, 그들이 혈장으로부터의 C5의 클리어런스를 가속하는 능력을 평가했다. 동시 투여 모델에 있어서는, C57BL6J 마우스(Jackson Laboratories)에, 항C5 이중특이성 항체와 미리 혼합한 C5를 단회 정맥내 투여에 의해 각각 투여했다. 모든 군에게, 1.0mg/kg의 항C5 이중특이성 항체를 수반하는 0.1mg/kg의 C5를 투여했다. 혈장 중의 C5 농도의 합계는, 항C5 ECLIA에 의해 결정했다. 우선, 항인간 C5 마우스 IgG를 ECL 플레이트에 분주하고, 5℃에서 하룻밤 정치하여, 항인간 C5 마우스 IgG 고정화 플레이트가 제작되었다. 검량선 시료 및 시료를 항인간 C5 토끼 IgG와 혼합했다. 이들 시료를 항인간 C5 마우스 IgG 고정화 플레이트에 첨가하고, 실온에서 1시간 정치했다. 다음에, 이들 시료를, HRP를 컨주게이트시킨 항토끼 IgG(Jackson Immuno Research)와 반응시켰다. 플레이트를 실온에서 1시간 인큐베이트한 후, 설포 태그를 컨주게이트시킨 항HRP 항체를 첨가했다. Sector Imager 2400(Meso Scale discovery)을 이용하여 ECL 시그널을 판독했다. 인간 C5의 농도를, SOFTmax PRO(Molecular Devices)를 이용하여 검량선에 있어서의 ECL 시그널로부터 산출했다. 도 39는, C57BL6J 마우스에 있어서의 혈장 중 C5 농도의 시간 프로파일을 기재하고 있다.

[1410] 본 시험에서 조사된, pI 상승 치환을 갖는 모든 이중특이성 항체는, 본래의 Ab2와 비교하여, 혈장으로부터의 신속한 C5 클리어런스를 나타냈다. 따라서, 경쇄의 T74K/S77R, S76R/Q79K, 및 Q37R에 있어서의 아미노산 치환은 인비보에 있어서도 C5 항체 면역 복합체의 소실을 가속할 것이 시사된다. 더욱이, 20L233-005 및 20L233-006의 C5 소실은 20L233-009의 그것보다 빠르며, 이는 인비트로 이미징 및 BIACORE 분석과 일치하고 있었다. 이들 결과는, InCell Analyzer 6000에 의한 형광 강도를 이용하는 인비트로 시스템 또는 상기의 인비트로 BIACORE 시스템 중 어느 것하에서 시험되고, 인비보에 있어서의 혈장으로부터의 항원의 클리어런스에는 기여하지 않을 것이 다라고 생각되는 위치에서조차, 보다 감도가 높은 인비보 시스템의 사용에 의해, 그것에 기여하고 있다는 것이 발견될 수 있음을 시사하고 있다. 이들 결과는, 인비보에서의 혈장으로부터의 항원의 클리어런스의 평가의 추정에 관해서, InCell Analyzer 6000에 의한 형광 강도를 이용하는 상기의 인비트로 시스템의 감도는, 상기의 인비트로 BIACORE 시스템보다 높을 가능성이 있다는 것도 시사하고 있다.

[1411] **실시예 23**

[1412] pI 상승 Fc 개변체를 이용한 혈장으로부터의 IgE의 클리어런스의 평가

[1413] 인간 IgE 또는 인간 C5의 클리어런스를 증대시키기 위해, pH 의존적 항체를 이용하여 항체의 Fc 부분에 있어서의 pI 상승 치환을 평가했다. pI를 상승시키기 위해서 항체 정상 영역에 아미노산 치환을 부가하는 방법은 특별히 한정되지 않지만, 예를 들어, WO2014/145159에 기재된 방법에 의해 실시할 수 있다.

[1414] (23-1) 정상 영역의 단일 아미노산 개변에 의해 pI가 상승된 항체의 제작

[1415] 시험한 항체는, 표 38에 정리하고 있다. pI를 상승시키는 치환 Q311K를 Ab1H에 도입하는 것에 의해, 중쇄 Ab1H-P1394m(서열 번호: 307)을 조제했다. 표 38에 나타낸 각 치환을, 참조 실시예 1에 나타내는 방법에 따라 Ab1H에 도입하는 것에 의해, 다른 중쇄 개변체도 조제했다. 모든 중쇄 개변체는, 경쇄로서 Ab1L과 함께 발현시켰다.

표 38

[1416]

항체명 (중쇄/경쇄)	개변체	변이	Imaging 배율	BIACORE 배율
Ab1H/Ab1L	원래의 Ab1	-	1.00	1.00
Ab1H-P1394m/Ab1L	P1394m	Q311K	1.31	1.18
Ab1H-P1398m/Ab1L	P1398m	D413K	3.45	1.23
Ab1H-P1466m/Ab1L	P1466m	Q311R	1.90	1.22
Ab1H-P1468m/Ab1L	P1468m	N315R	1.42	1.13
Ab1H-P1469m/Ab1L	P1469m	N315K	1.93	1.13
Ab1H-P1470m/Ab1L	P1470m	N384R	1.50	1.19
Ab1H-P1471m/Ab1L	P1471m	N384K	0.71	1.19
Ab1H-P1480m/Ab1L	P1480m	Q342R	1.08	1.03
Ab1H-P1481m/Ab1L	P1481m	Q342K	1.83	1.08
Ab1H-P1482m/Ab1L	P1482m	P343R	4.90	1.46
Ab1H-P1483m/Ab1L	P1483m	P343K	1.99	1.02
Ab1H-P1512m/Ab1L	P1512m	D401R	2.98	1.24
Ab1H-P1513m/Ab1L	P1513m	D401K	2.57	1.21
Ab1H-P1514m/Ab1L	P1514m	G402R	1.22	1.20
Ab1H-P1515m/Ab1L	P1515m	G402K	0.93	1.19
Ab1H-P1653m/Ab1L	P1653m	D413R	3.96	0.79

[1417] (23-2) pI 상승 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체를 이용한, BIACORE에 의한 인간 FcγRIIb 결합 어세이

[1418] 표 38에 기재한 항체의 사용에 의해 형성된 항원-항체 복합체의 FcRγRIIb 결합에 대한 하전 효과를 평가하기 위해서, 실시예 21(21-2)에 기재된 것과 마찬가지로 FcRγRIIb 결합 어세이를 실시했다. 어세이 결과를 표 38에 나타낸다. 여기에서, 본래의 Ab1의 hFcγRIIb에 대한 결합과 비교하여 개변체의 hFcγRIIb에 대한 결합이 약 1.2배 이상이면, 센서 칩 상의 hFcγRIIb에 대한 항체의 결합에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 보였다.

[1419] 본래의 Ab1로부터의 단일 아미노산 치환을 갖는, pI 상승 개변체 중에서, P1398m, P1466m, P1482m, P1512m, P1513m, 및 P1514m 등의 몇 가지 개변에 의해 제작된 항원-항체 복합체는, hFcγRIIb에 대한 가장 강한 결합을 나타냈다. D413K, Q311R, P343R, D401R, D401K, G402R, Q311K, N384R, N384K, 또는 G402K에 있어서의 이 단일 아미노산 치환은, 센서 칩 상의 hFcγRIIb에 대한 결합에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 따라서, 항체의 정상 영역 또는 Fc 영역에 pI를 상승시키는 단일의 개변을 도입하는 것에 의해 인비보에서의 세포 내로의 흡수 속도 또는 비율을 가속하는 효과를 나타내는 것이 기대되는 위치에는, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 311위, 343위, 384위, 401위, 402위, 또는 413위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은 아르기닌 또는 리신일 수 있다.

[1420] (23-3) pI 상승 Fc 영역 개변체를 포함하는 항체의 세포 흡수

[1421] 표 38에 기재한 항체에 의해 형성된 항원-항체 복합체의 세포내 흡수를 평가하기 위해서, 실시예 21(21-3)에 기재된 것과 마찬가지로 세포 이미징 어세이를 실시했다. 어세이 결과를 표 38에 나타낸다. 여기에서, 본래의 Ab1의 형광 강도와 비교하여 개변체의 세포 내에 흡수된 항원의 형광 강도가 약 1.5배 이상이면, 세포 내에 흡수된 항원에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 보였다.

[1422] 본래의 Ab1로부터의 단일 아미노산 치환을 갖는, pI 상승 개변체 중에서, P1398m, P1466m, P1469m, P1470m, P1481m, P1482m, P1483m, P1512m, P1513m, 및 P1653m 등의 몇 가지 개변에 의해 제작된 항원-항체 복합체는, 세포 내로의 보다 강한 항원 흡수를 나타냈다. D413K, Q311R, N315K, N384R, Q342K, P343R, P343K, D401R, D401K, 또는 D413R에 있어서의 이 단일 아미노산 치환은, 세포 내로의 항원-항체 복합체 흡수에 대해서 강한 하전 효과를 갖는다고 추정된다. 따라서, 항체의 정상 영역 또는 Fc 영역에 pI를 상승시키는 단일의 개변을 도입하는 것에 의해 세포 내로의 항원-항체 복합체의 흡수를 보다 빨리 또는 보다 고빈도로 일으킬 것이 기대되는 위치에는, 예를 들어, EU 넘버링에 따른 311위, 315위, 342위, 343위, 384위, 401위, 또는 413위가 포함될 수 있다. 그와 같은 위치에 도입되는 아미노산 치환은 아르기닌 또는 리신일 수 있다.

[1423] (23-4) 마우스 동시 투여 모델에 있어서의 인간 IgE의 클리어런스의 평가

[1424] 몇 가지 pH 의존적 항원 결합 항IgE 항체(본래의 Ab1, P1466m, P1469m, P1470m, P1480m, P1482m, P1512m, P1653m)를 마우스 동시 투여 모델에 있어서 시험하여, 그들이 혈장으로부터의 IgE의 클리어런스를 가속하는 능

력을 평가했다. 어세이는, 실시예 21(21-4)에 기재된 것과 마찬가지로 실시했다. 도 40은, C57BL6J 마우스에 있어서의 혈장 중 농도의 시간 프로파일을 기재하고 있다.

[1425] P1480m을 제외한 pI 상승 pH 의존적 항원 결합 개변체(단일 아미노산 치환만)의 투여 후의, 혈장 중의 총 IgE 농도는, 본래의 Ab1보다 낮았다. 어느 쪽의 인비트로 시험에서도 약한 효과를 나타낸 P1480m은, IgE의 소실을 가속하지 않았다. 더욱이, pH 의존적 항원 결합을 수반하지 않는, pI가 높은 개변체로 처리한 마우스에 있어서의 혈장 중의 총 IgE 농도는, pI가 높은 pH 의존적 항원 결합 개변체보다 유의하게 높았다(데이터는 나타내지 않음). 이들 결과는, pI를 상승시키는 개변의 도입에 의해, 항원-항체 면역 복합체의 세포성 흡수가 증대함을 나타내고 있다. pH 의존적 항원 결합 항체와의 복합체 상태로 세포에 흡수된 항원은, 엔도솜 내부에서 항체로부터 효과적으로 방출될 수 있고, 이것에 의해, IgE의 소실이 가속된다. 이들 결과는, 상기의 인비트로 BIACORE 시스템하에서 시험되어 인비보에 있어서의 혈장으로부터의 항원의 클리어런스에는 기여하지 않을 것이라고 생각되는 치환 위치에서조차, 보다 감도가 높은 인비보 시스템의 사용에 의해, 그것에 기여하고 있다는 것이 발견될 수 있음을 시사하고 있다. 이들 결과는, 인비보에서의 혈장으로부터의 항원의 클리어런스의 평가의 추정에 관해서, InCell Analyzer 6000에 의한 형광 강도를 이용하는 상기의 인비트로 시스템의 감도는, 상기의 인비트로 BIACORE 시스템보다 높을 가능성이 있음도 시사하고 있다.

[1426] **참고 실시예 1**

[1427] 아미노산이 치환된 IgG 항체의 발현 벡터의 구축

[1428] QuikChange Site-Directed Mutagenesis Kit(Stratagene)를 이용하여, 첨부 설명서 기재의 방법으로 제작된 변이체를 포함하는 핵외 유전자 단편을 동물 세포 발현 벡터에 삽입하는 것에 의해, 목적하는 H쇄 발현 벡터 및 L쇄 발현 벡터가 제작되었다. 얻어진 발현 벡터의 염기 서열은 당업자에게 공지의 방법으로 결정되었다.

[1429] **참고 실시예 2**

[1430] IgG 항체의 발현과 정제

[1431] 항체의 발현은 이하의 방법을 이용하여 행해졌다. 인간 태아 신장암세포 유래 HEK293H주(Invitrogen)를 10% Fetal Bovine Serum(Invitrogen)을 포함하는 DMEM 배지(Invitrogen)에 현탁하고, 5 내지 6×10^5세포/mL의 세포 밀도로 접착 세포용 디쉬(직경 10cm, CORNING)의 각 디쉬에 10mL씩 시딩하고, CO_2 인큐베이터(37℃, 5% CO_2) 내에서 일주야 배양한 후에, 배지를 흡인 제거하고, CHO-S-SFM-II(Invitrogen) 배지 6.9mL를 첨가했다. 조제한 핵외 유전자를 리포펙션법에 의해 세포에 도입했다. 얻어진 배양 상청을 회수한 후, 원심분리(약 2000g, 5분간, 실온)하여 세포를 제거하고, 추가로 0.22μm 필터 MILLEX(등록상표)-GV(Millipore)를 통과시켜 멸균하여, 배양 상청을 얻었다. 얻어진 배양 상청으로부터 항체를 rProtein A SepharoseTM Fast Flow(Amersham Biosciences)를 이용하여 당 기술분야에서 공지의 방법으로 정제했다. 정제 항체의 농도는, 분광 광도계를 이용하여 280nm에서의 흡광도를 측정했다. 얻어진 값으로부터 Pace et al., Protein Science 4 : 2411-2423(1995)에 기재된 방법에 의해 산출된 흡광 계수를 이용하여 항체 농도를 산출했다.

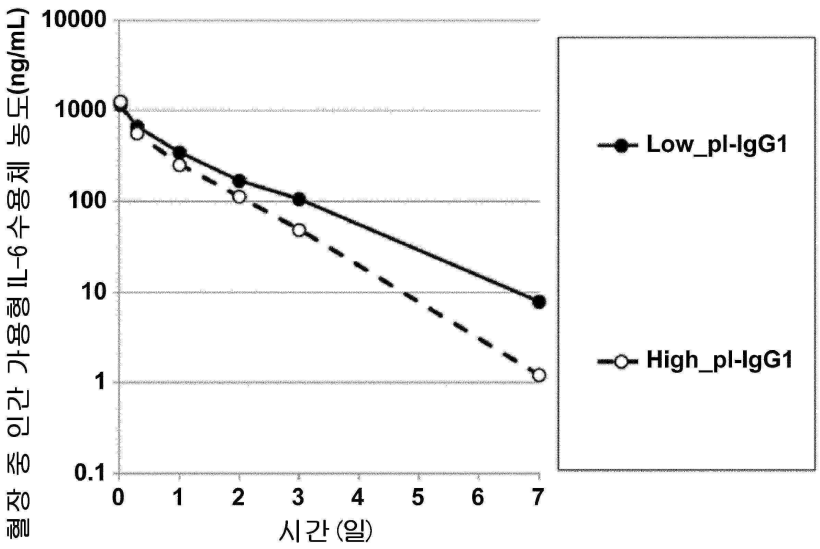
[1432] **참고 실시예 3**

[1433] 가용형 인간 IL-6 수용체의 조제

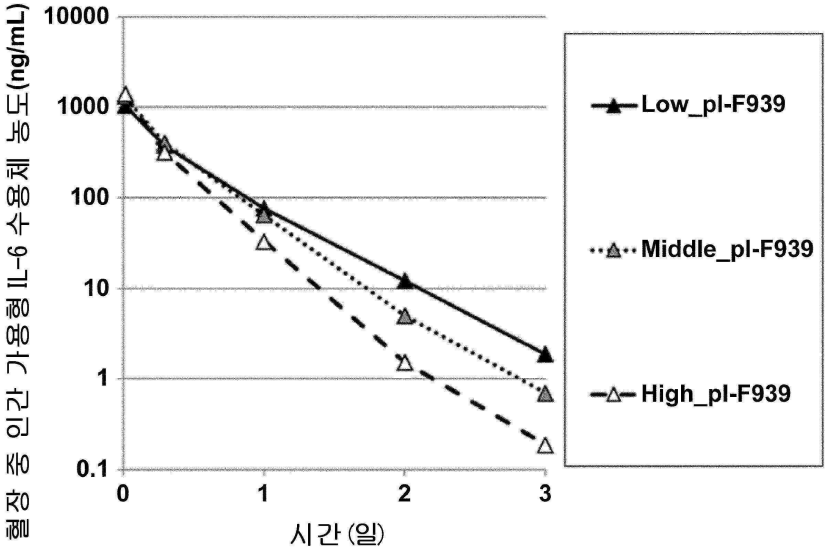
[1434] 항원인 재조합 가용성 인간 IL-6 수용체는 이하와 같이 조제되었다. Mullberg et al., J. Immunol. 152: 4958-4968(1994)에서 보고되어 있는 N 말단측 1번째로부터 357번째의 아미노산 서열로 이루어지는 가용형 인간 IL-6 수용체를 정상적으로 발현하는 CHO 세포주가 당업자에게 공지의 방법으로 구축되었다. 당해 CHO주를 배양하는 것에 의해, 가용형 인간 IL-6 수용체를 발현시켰다. 얻어진 당해 CHO주의 배양 상청으로부터, Blue Sepharose 6FF 컬럼 크로마토그래피, 겔 여과 컬럼 크로마토그래피의 2공정에 의해 가용형 인간 IL-6 수용체가 정제되었다. 최종 공정에 있어서 메인 피크로서 용출된 획분이 최종 정제품으로서 이용되었다.

도면

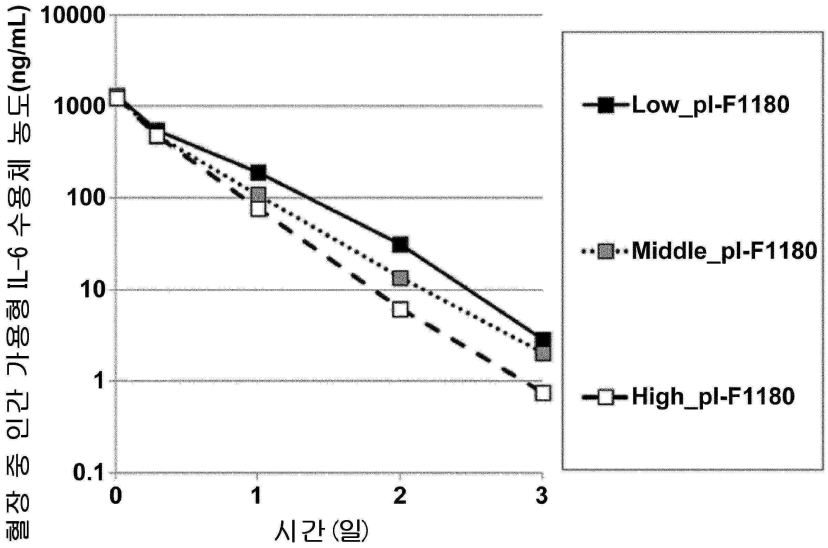
도면1


혈장 중 인간 가용형 IL-6 수용체 농도(ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0.1
0
1
2
3
4
5
6
7
시간 (일)
Low_pl-IgG1
High_pl-IgG1

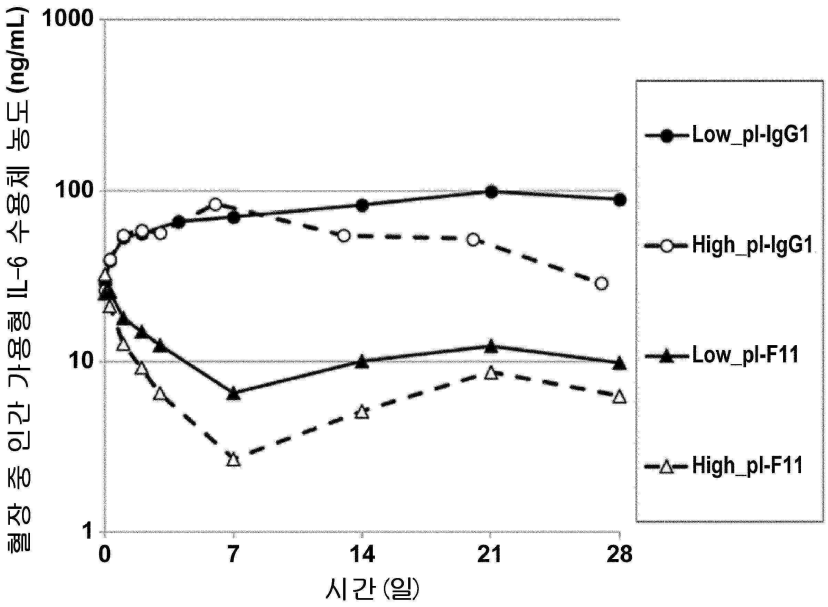
도면2


혈장 중 인간 가용형 IL-6 수용체 농도(ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0.1
0
1
2
3
시간 (일)
Low_pl-F939
Middle_pl-F939
High_pl-F939

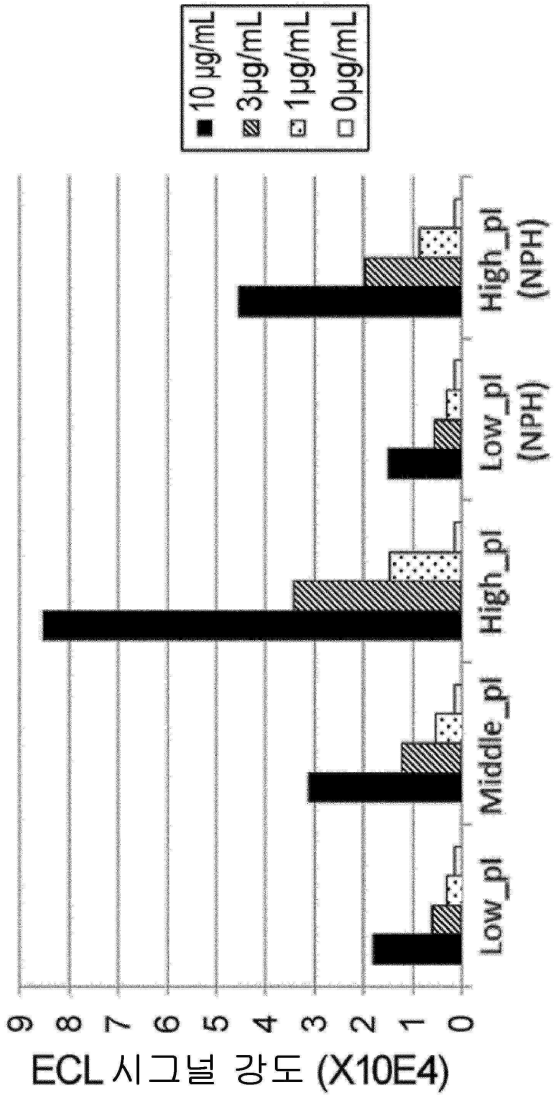
도면3


혈장 중 인간 가용형 IL-6 수용체 농도(ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0.1
0
1
2
3
시간 (일)
Low_pI-F1180
Middle_pI-F1180
High_pI-F1180

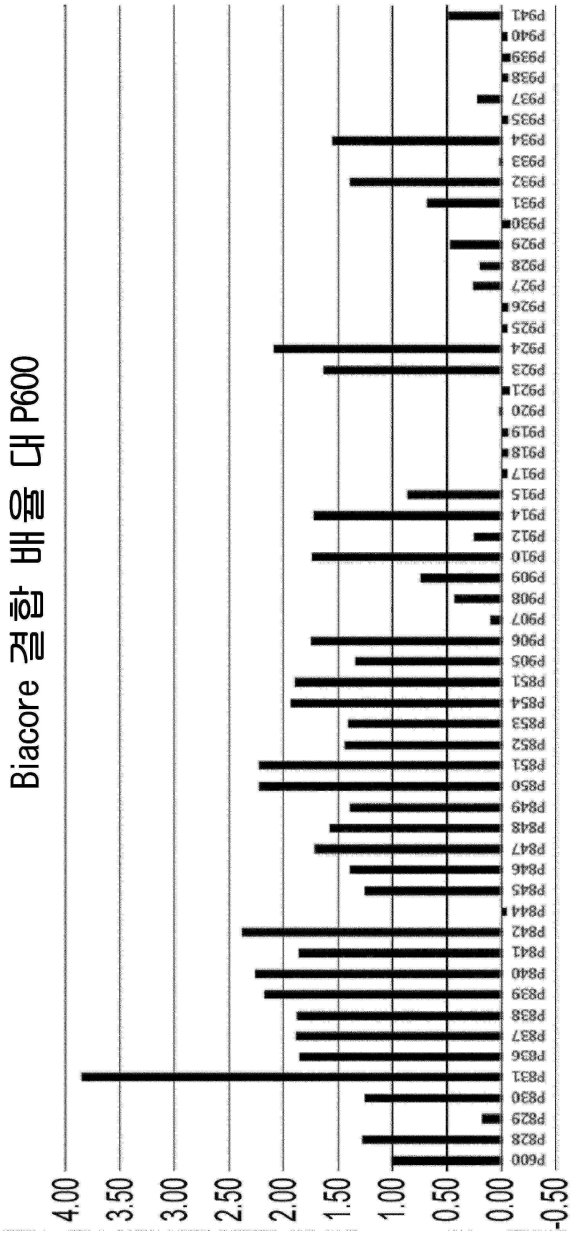
도면4


혈장 중 인간 가용형 IL-6 수용체 농도 (ng/mL)
1000
100
10
1
0
7
14
21
28
시간 (일)
Low_pI-IgG1
High_pI-IgG1
Low_pI-F11
High_pI-F11

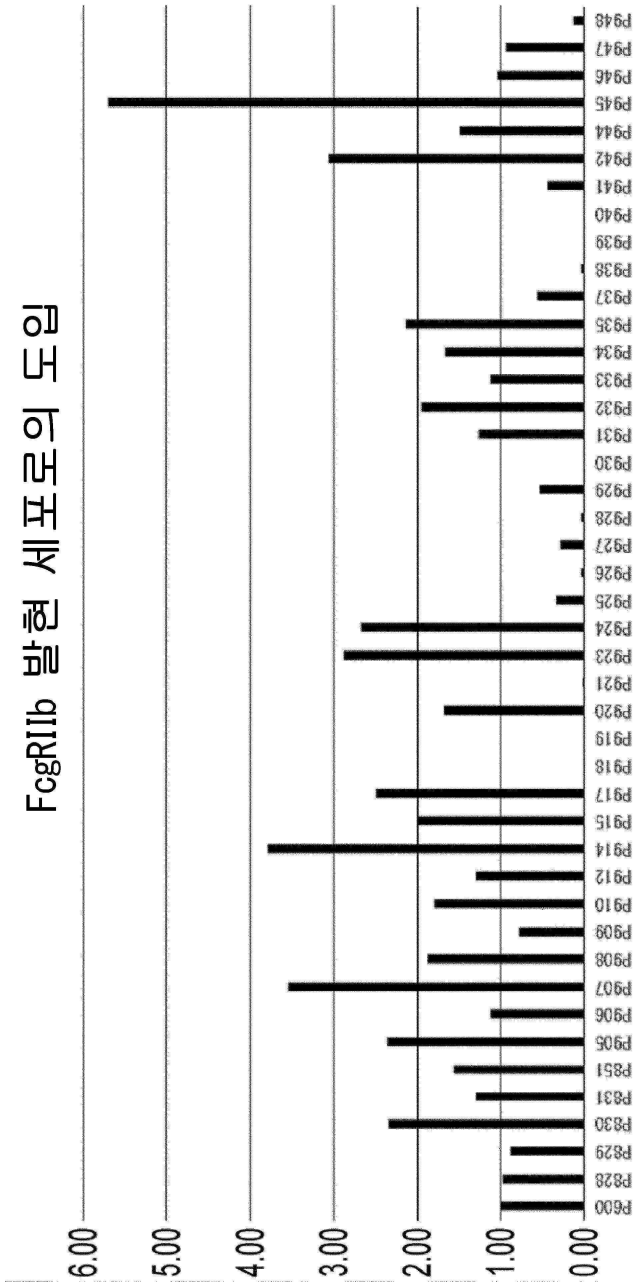
도면5


10 μg/mL
3μg/mL
1μg/mL
0μg/mL
Low_pI
Middle_pI
High_pI
Low_pI (NPH)
High_pI (NPH)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
ECL 시그널 강도 (X10E4)

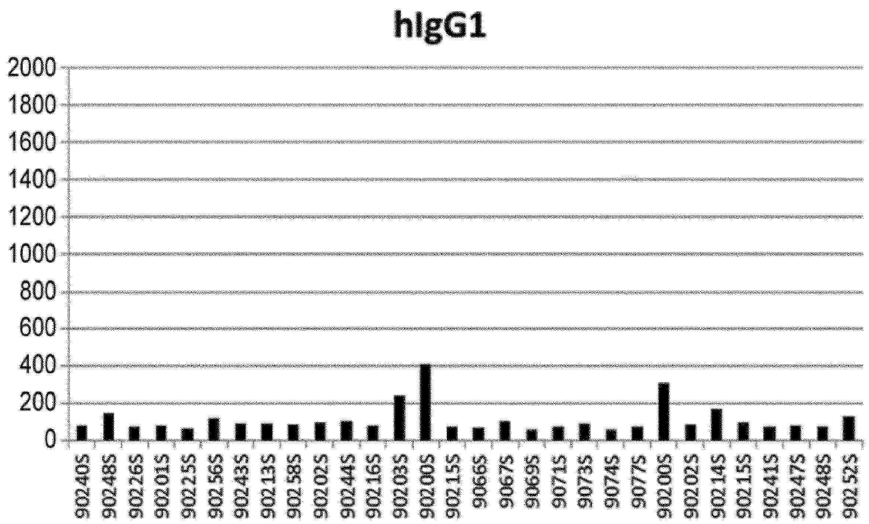
도면6


Biacore 결합 배율 대 P600
4.00
3.50
3.00
2.50
2.00
1.50
1.00
0.50
0.00
-0.50
P600
P828
P829
P830
P831
P836
P837
P838
P839
P840
P841
P842
P844
P845
P846
P847
P848
P849
P850
P851
P852
P853
P854
P851
P905
P906
P907
P908
P909
P910
P912
P914
P915
P917
P918
P919
P920
P921
P923
P924
P925
P926
P927
P928
P929
P930
P931
P932
P933
P934
P935
P937
P938
P939
P940
P941

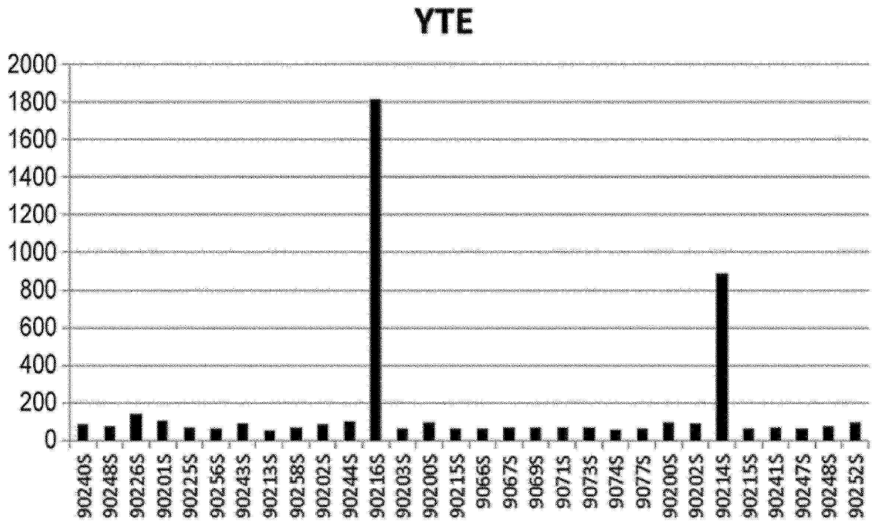
도면7


FcgRIIb 발현 세포로의 도입
6.00
5.00
4.00
3.00
2.00
1.00
0.00
P600
P828
P829
P830
P831
P851
P905
P906
P907
P908
P909
P910
P912
P914
P915
P917
P918
P919
P920
P921
P923
P924
P925
P926
P927
P928
P929
P930
P931
P932
P933
P934
P935
P937
P938
P939
P940
P941
P942
P944
P945
P946
P947
P948

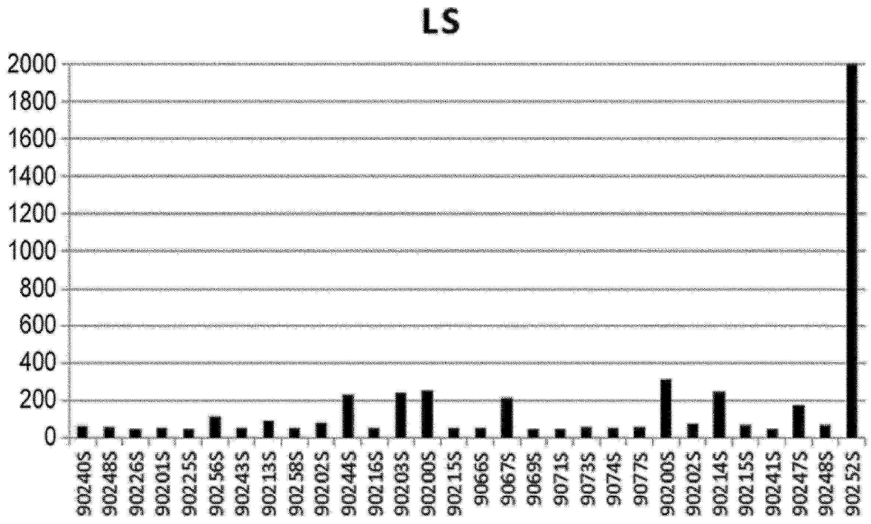
도면8


hIgG1
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
902405
902485
902265
902015
902255
902565
902435
902135
902585
902025
902445
902165
902035
902005
902155
90665
90675
90695
90715
90735
90745
90775
902005
902025
902145
902155
902415
902475
902485
902525

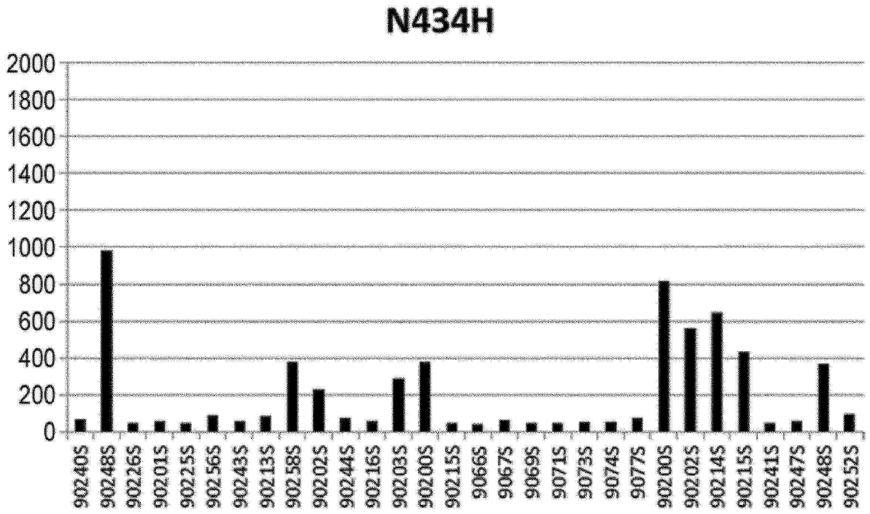
도면9


YTE
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
902405
902485
902265
902015
902255
902565
902435
902135
902585
902025
902445
902165
902035
902005
902155
90665
90675
90695
90715
90735
90745
90775
902005
902025
902145
902155
902415
902475
902485
902525

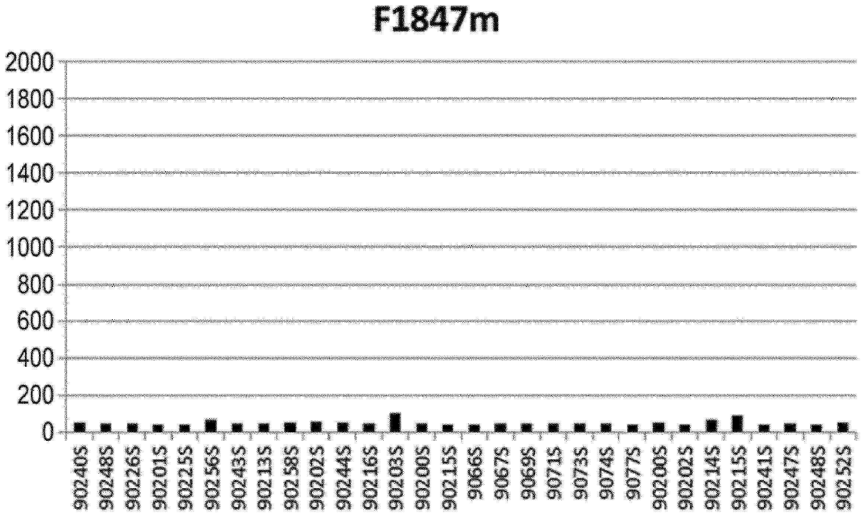
도면10


LS
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
902405
902485
902265
902015
902255
902565
902435
902135
902585
902025
902445
902165
902035
902005
902155
90665
90675
90695
90715
90735
90745
90775
902005
902025
902145
902155
902415
902475
902485
902525

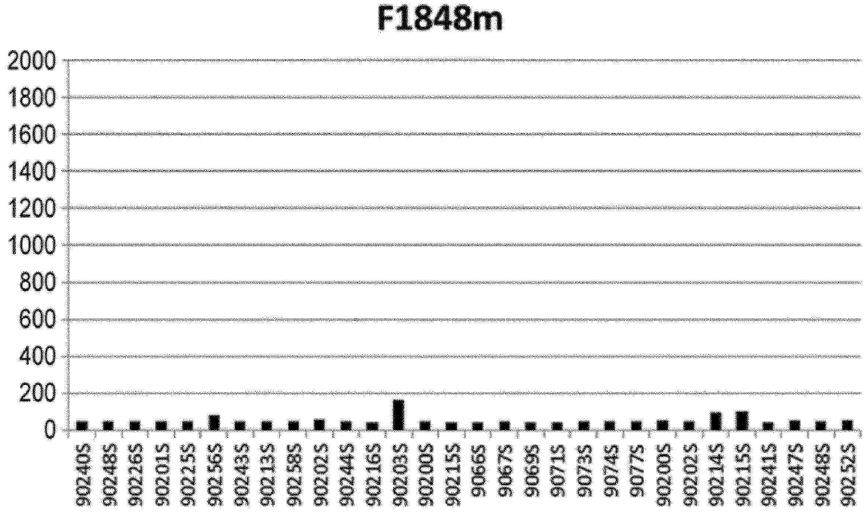
도면11



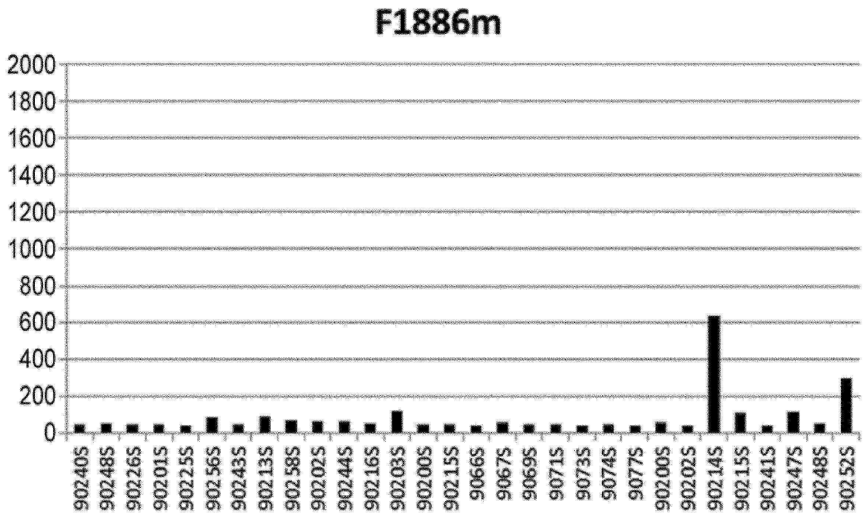
도면12



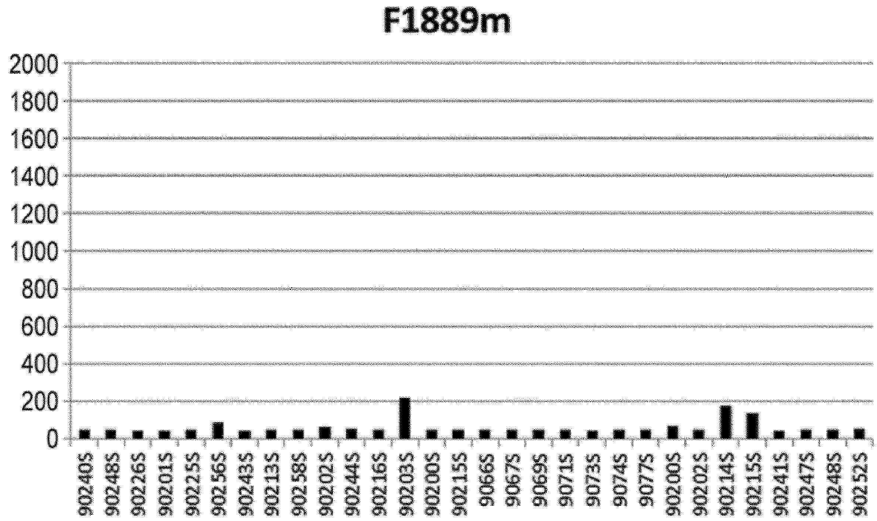
도면13



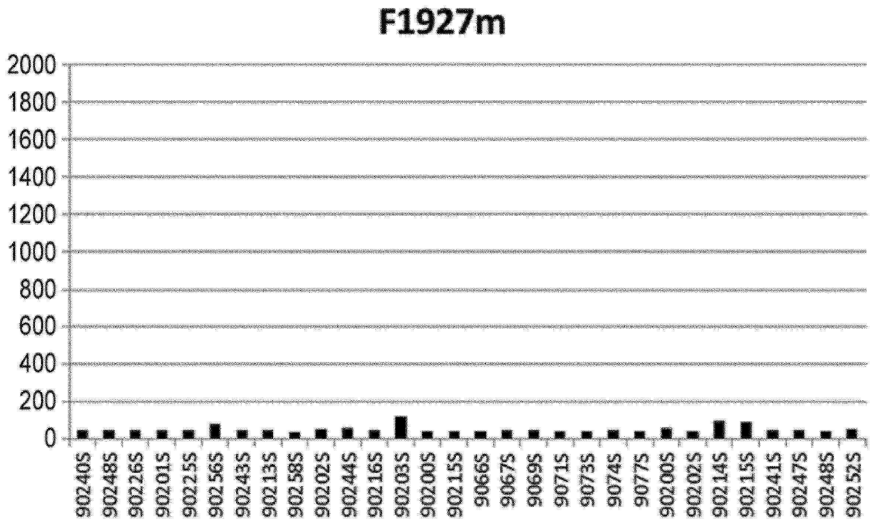
도면14



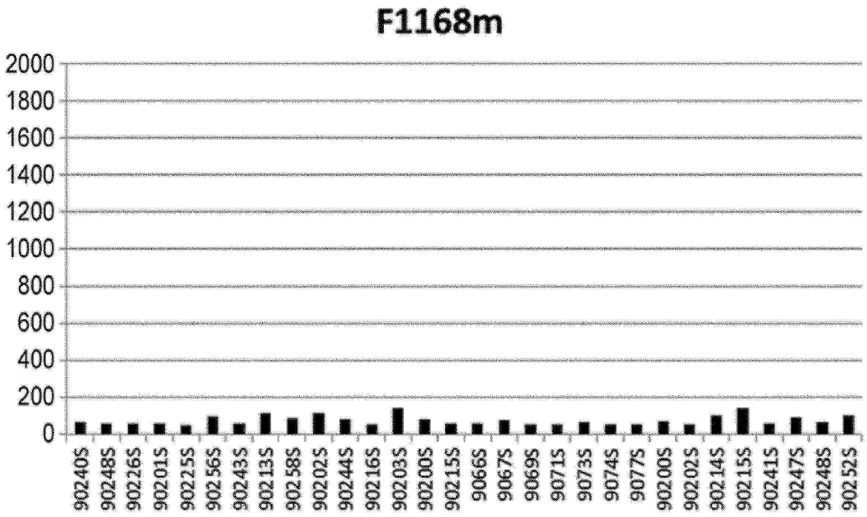
도면15



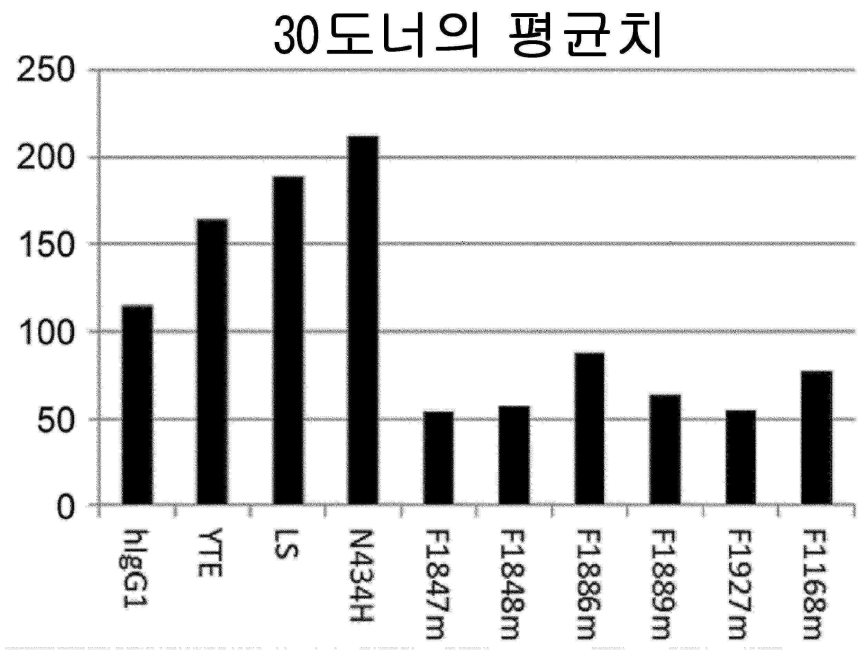
도면16



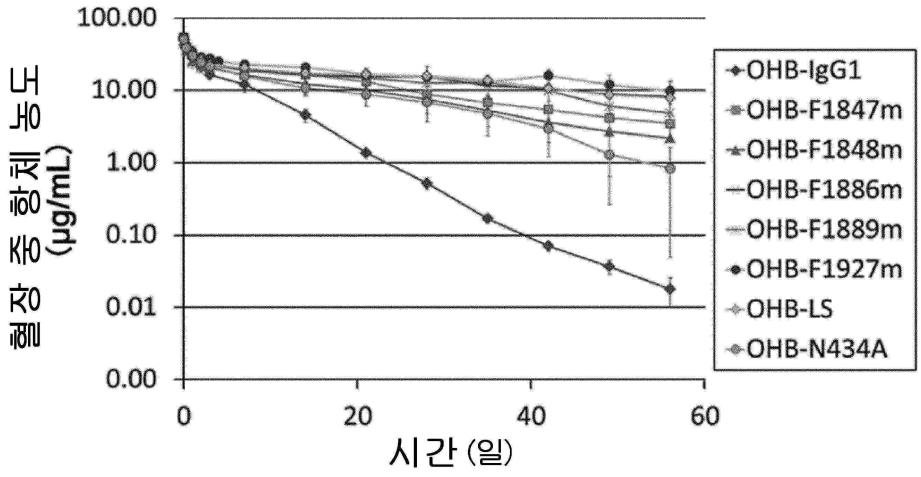
도면17


F1168m
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
90240S
90248S
90226S
90201S
90225S
90256S
90243S
90213S
90258S
90202S
90244S
90216S
90203S
90200S
90215S
90066S
90067S
90069S
90071S
90073S
90074S
90077S
90200S
90202S
90214S
90215S
90241S
90247S
90248S
90252S

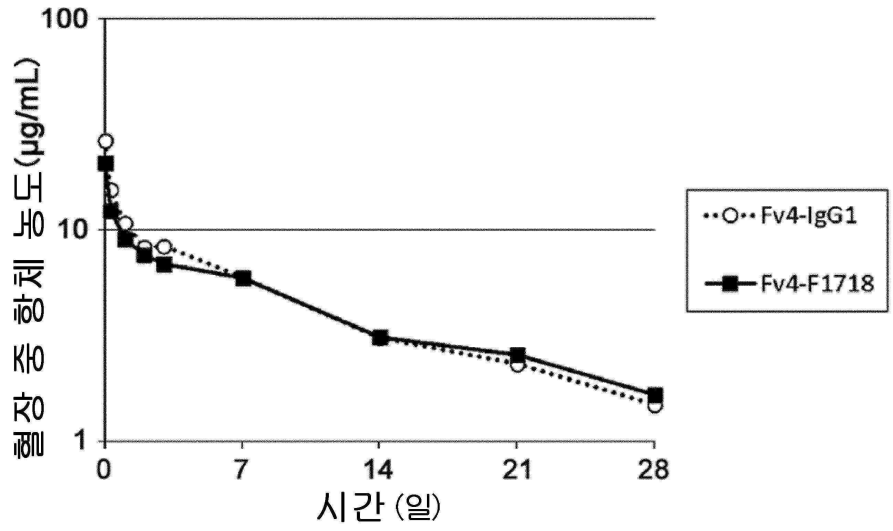
도면18


30도너의 평균치
250
200
150
100
50
0
hIgG1
YTE
LS
N434H
F1847m
F1848m
F1886m
F1889m
F1927m
F1168m

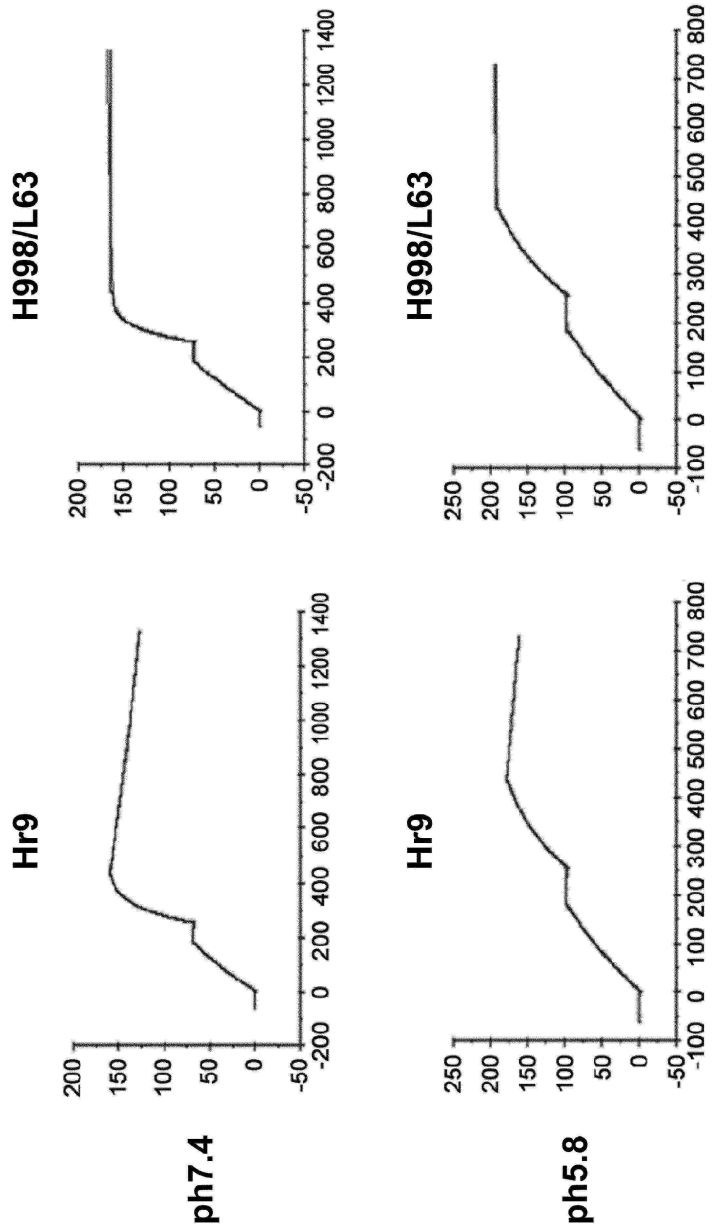
도면19


100.00
10.00
1.00
0.10
0.01
0.00
혈장 중 항체 농도 (μg/mL)
0
20
40
60
시간 (일)
OHB-IgG1
OHB-F1847m
OHB-F1848m
OHB-F1886m
OHB-F1889m
OHB-F1927m
OHB-LS
OHB-N434A

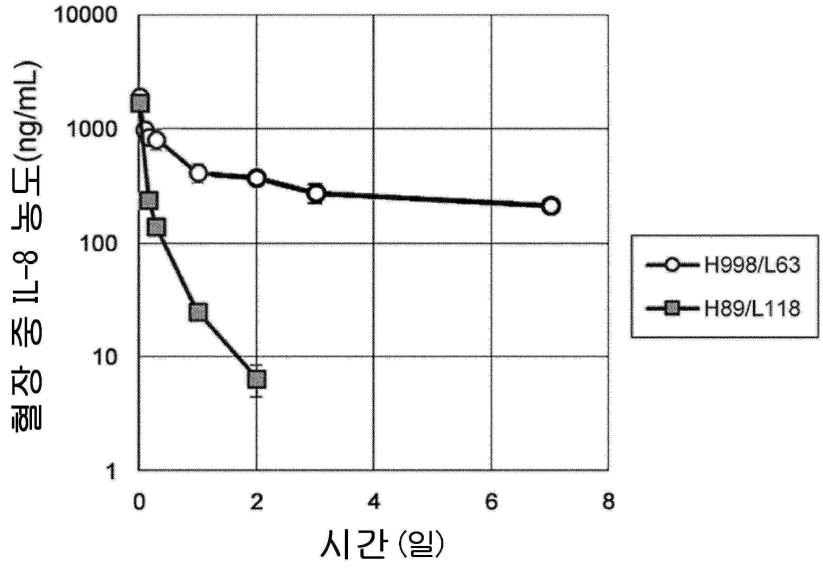
도면20


100
10
1
혈장 중 항체 농도 (μg/mL)
0
7
14
21
28
시간 (일)
Fv4-IgG1
Fv4-F1718

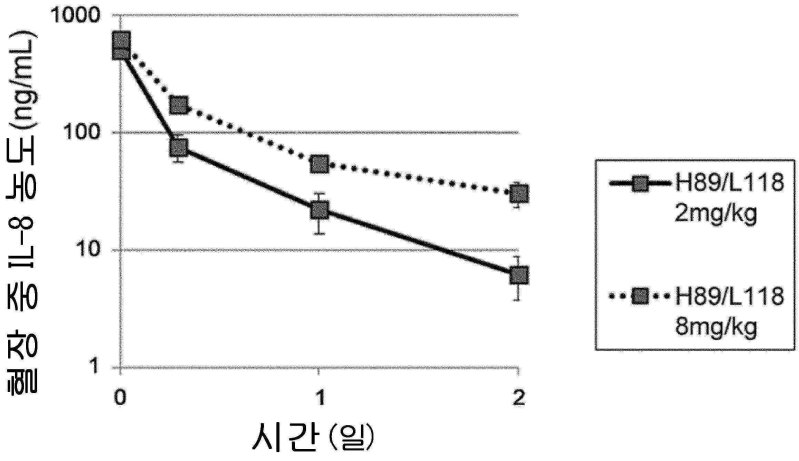
도면21



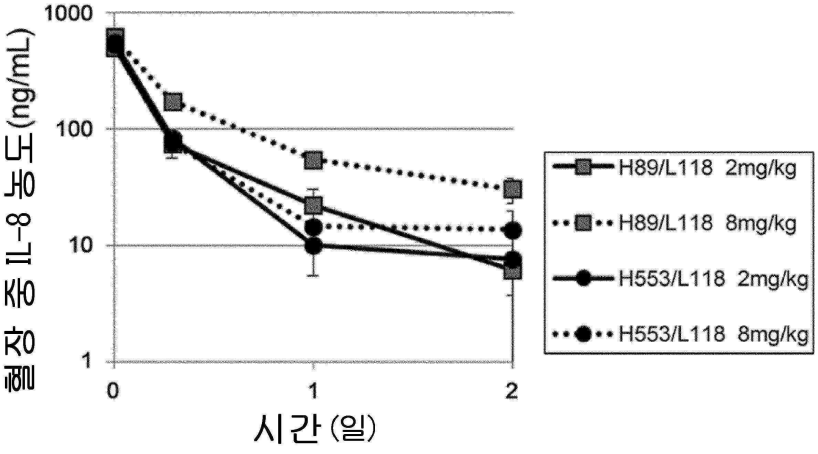
도면22



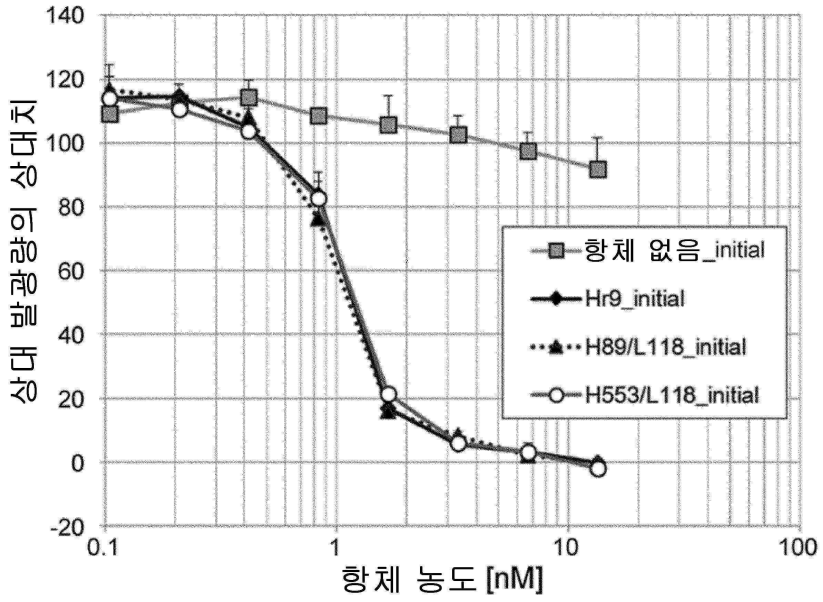
도면23



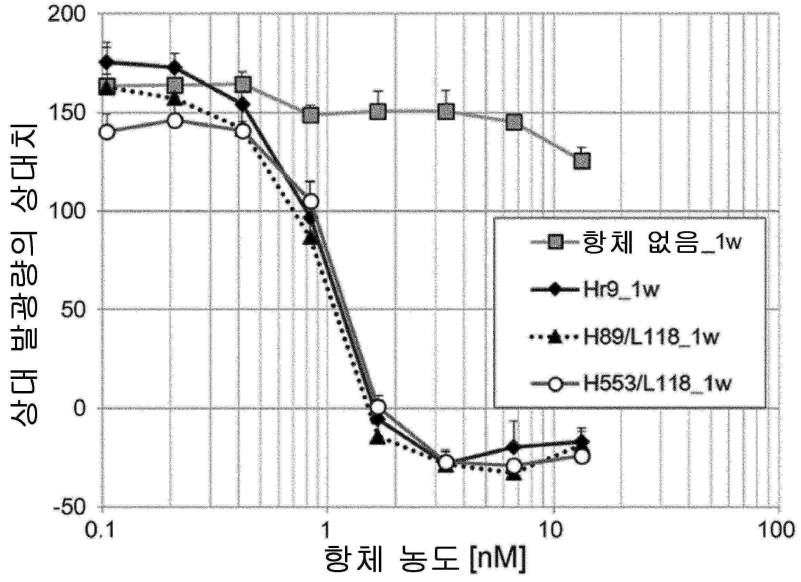
도면24



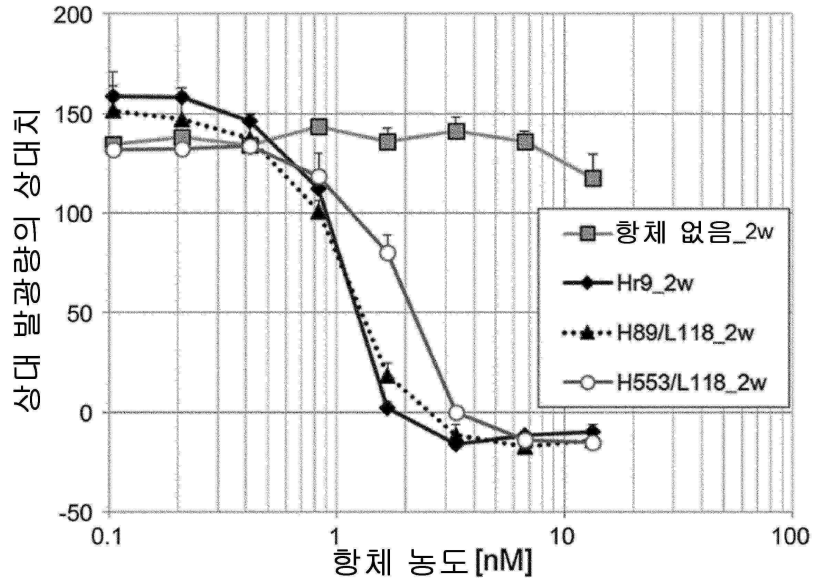
도면25a


140
120
100
80
60
40
20
0
-20
0.1
1
10
100
상대 발광량의 상대치
항체 농도 [nM]
항체 없음_initial
Hr9_initial
H89/L118_initial
H553/L118_initial

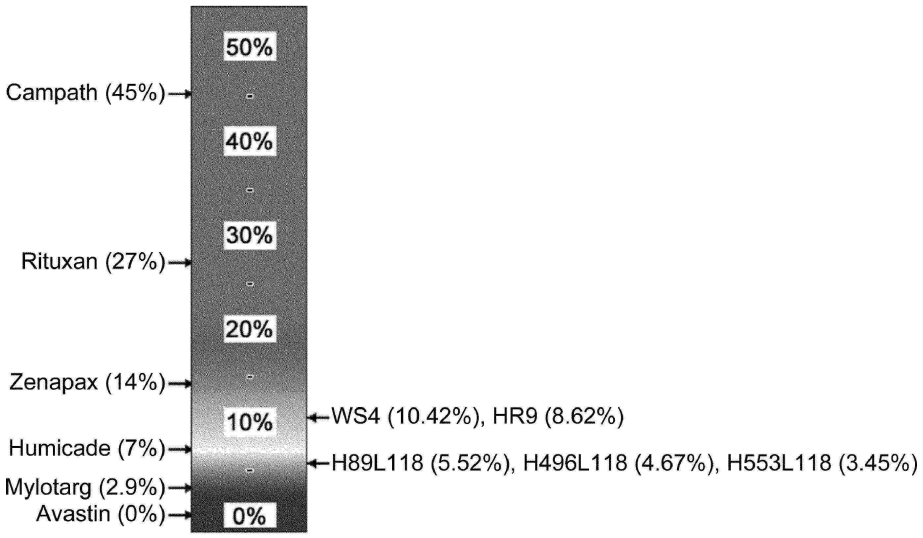
도면25b


200
150
100
50
0
-50
0.1
1
10
100
상대 발광량의 상대치
항체 농도 [nM]
항체 없음_1w
Hr9_1w
H89/L118_1w
H553/L118_1w

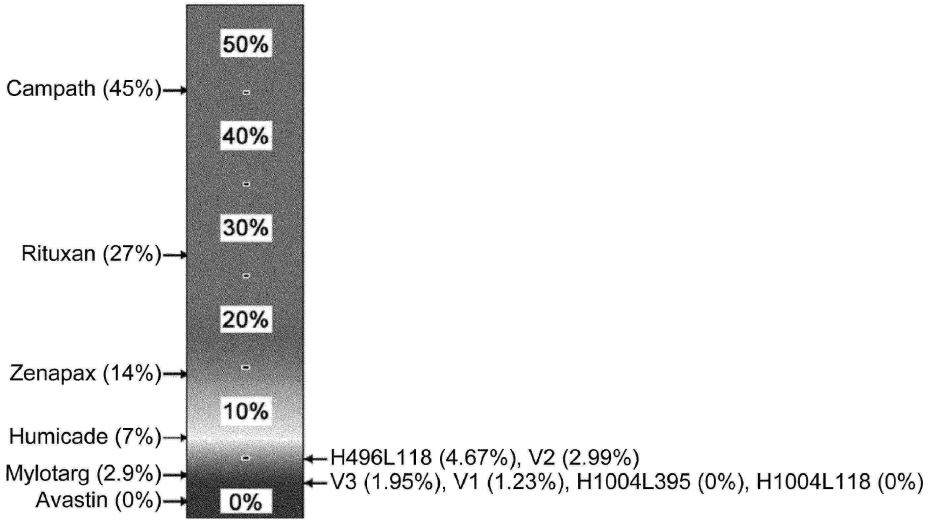
도면25c


200
150
100
50
0
-50
0.1
1
10
100
상대 발광량의 상대치
항체 농도 [nM]
항체 없음_2w
Hr9_2w
H89/L118_2w
H553/L118_2w

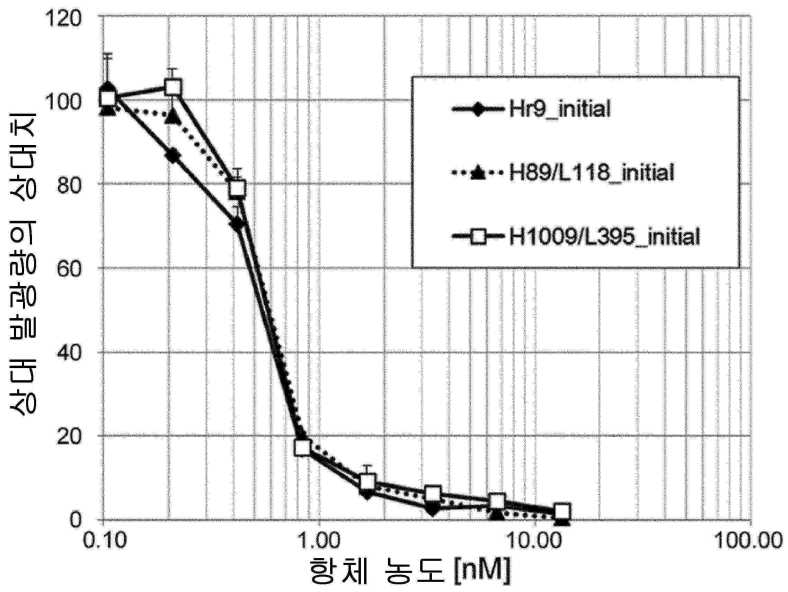
도면26


50%
40%
30%
20%
10%
0%
Campath (45%)
Rituxan (27%)
Zenapax (14%)
Humicade (7%)
Mylotarg (2.9%)
Avastin (0%)
WS4 (10.42%), HR9 (8.62%)
H89L118 (5.52%), H496L118 (4.67%), H553L118 (3.45%)

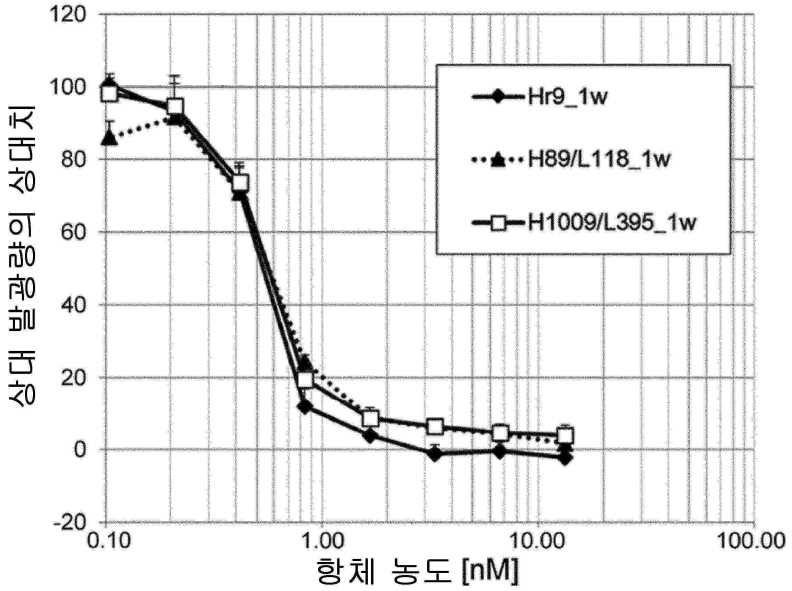
도면27


50%
40%
30%
20%
10%
0%
Campath (45%)
Rituxan (27%)
Zenapax (14%)
Humicade (7%)
Mylotarg (2.9%)
Avastin (0%)
H496L118 (4.67%), V2 (2.99%)
V3 (1.95%), V1 (1.23%), H1004L395 (0%), H1004L118 (0%)

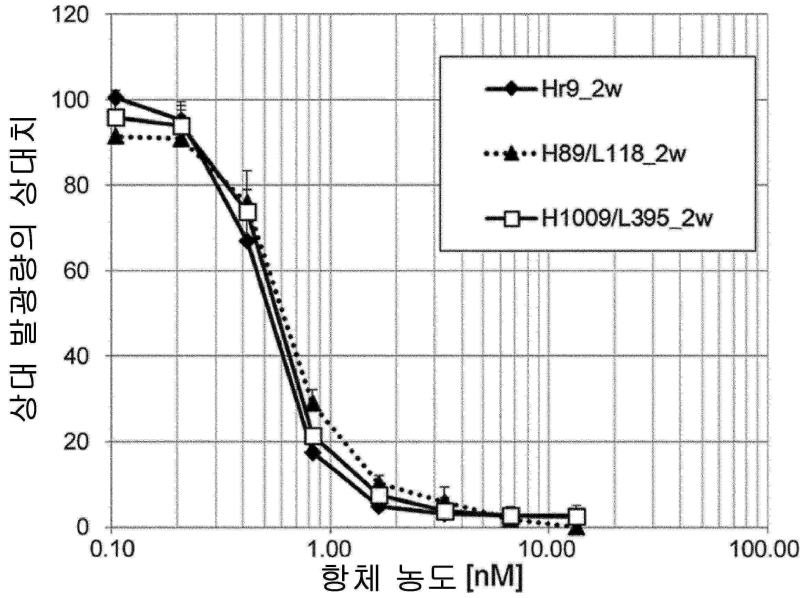
도면28a


120
100
80
60
40
20
0
0.10
1.00
10.00
100.00
상대 발광량의 상대치
항체 농도 [nM]
Hr9_initial
H89/L118_initial
H1009/L395_initial

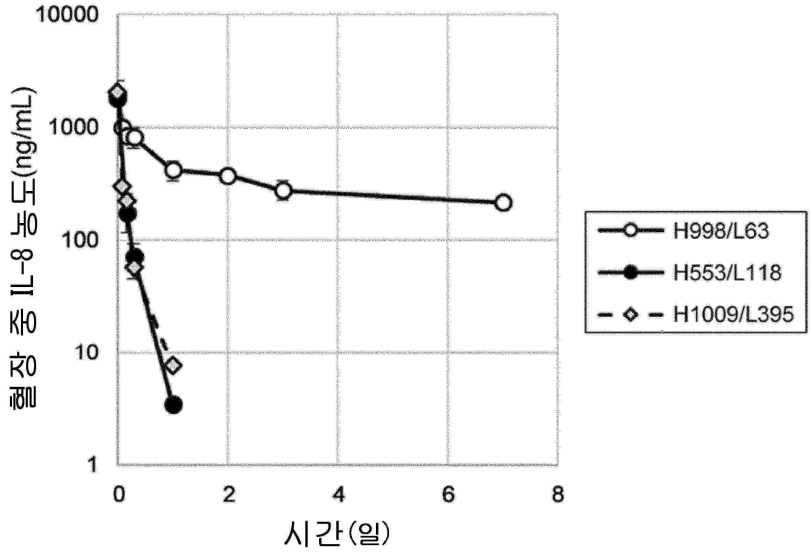
도면28b


120
100
80
60
40
20
0
-20
0.10
1.00
10.00
100.00
상대 발광량의 상대치
항체 농도 [nM]
Hr9_1w
H89/L118_1w
H1009/L395_1w

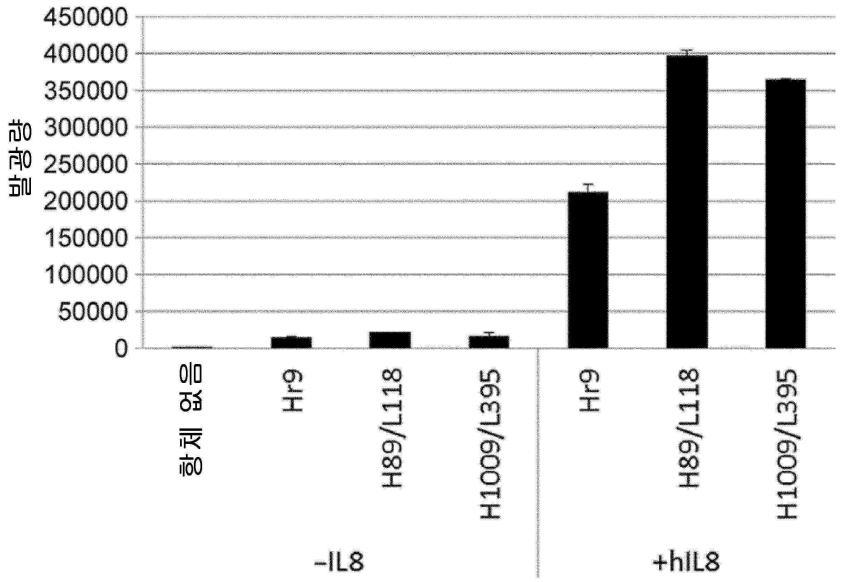
도면28c


120
100
80
60
40
20
0
0.10
1.00
10.00
100.00
상대 발광량의 상대치
항체 농도 [nM]
Hr9_2w
H89/L118_2w
H1009/L395_2w

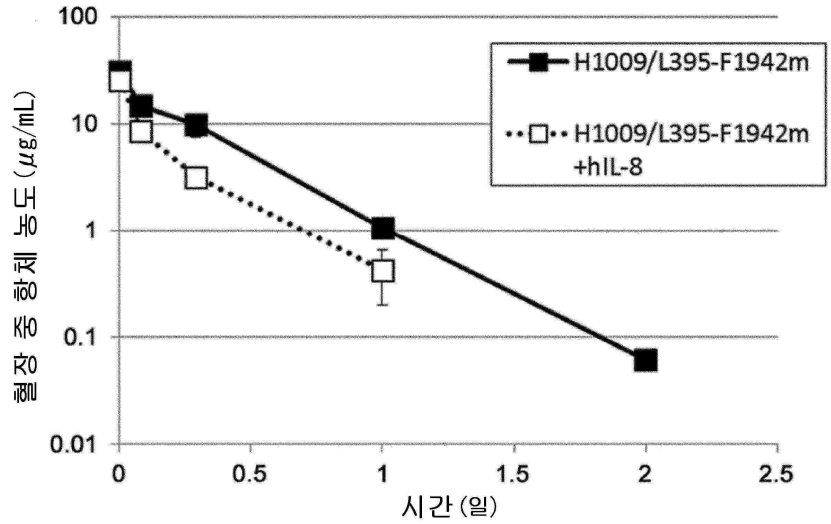
도면29


10000
1000
100
10
1
혈장 중 IL-8 농도(ng/mL)
0
2
4
6
8
시간(일)
H998/L63
H553/L118
H1009/L395

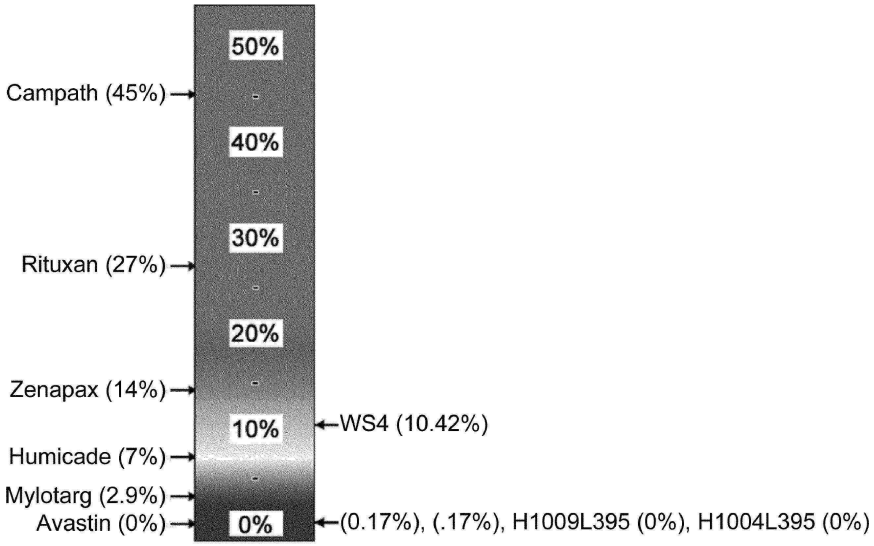
도면30


450000
400000
350000
300000
250000
200000
150000
100000
50000
0
발광량
항체 없음
Hr9
H89/L118
H1009/L395
Hr9
H89/L118
H1009/L395
-IL8
+hIL8

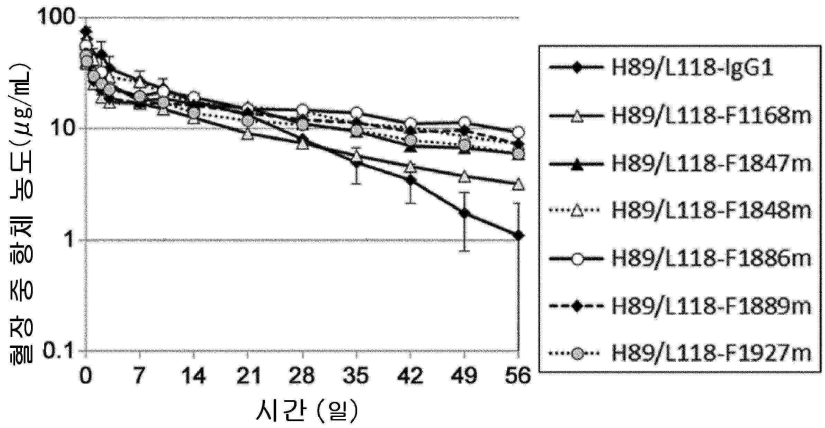
도면31



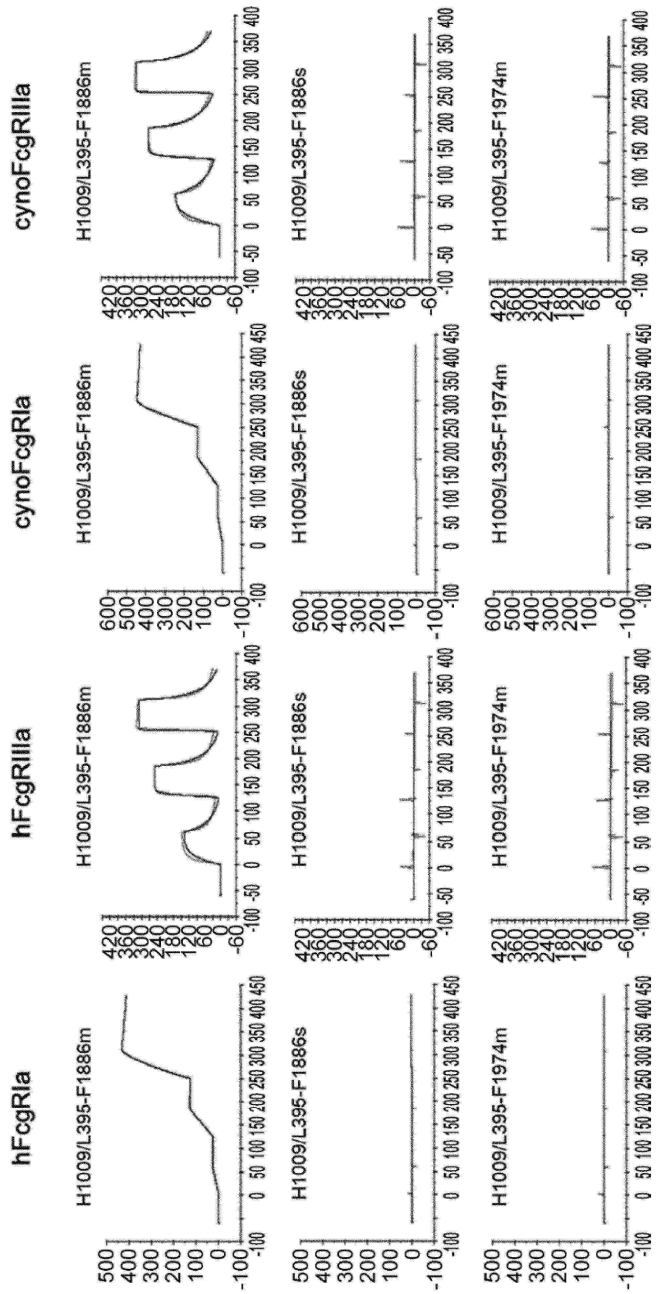
도면32



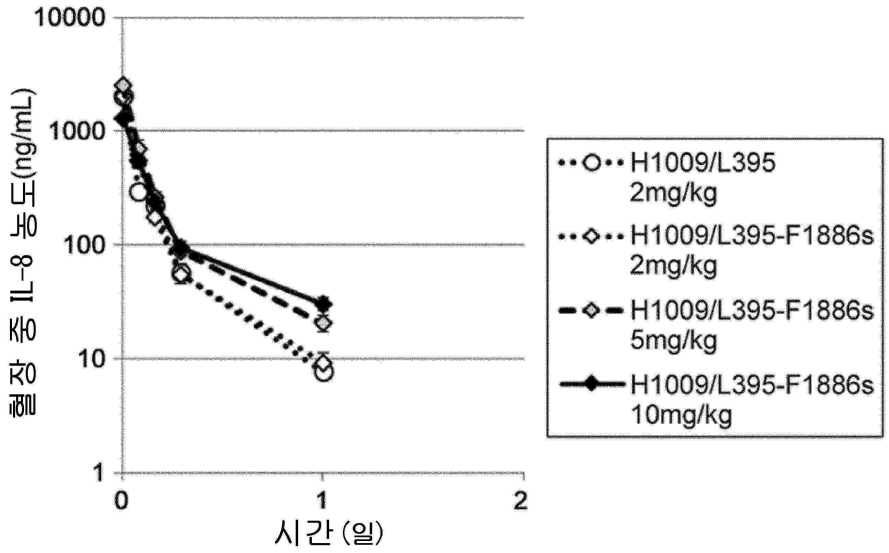
도면33



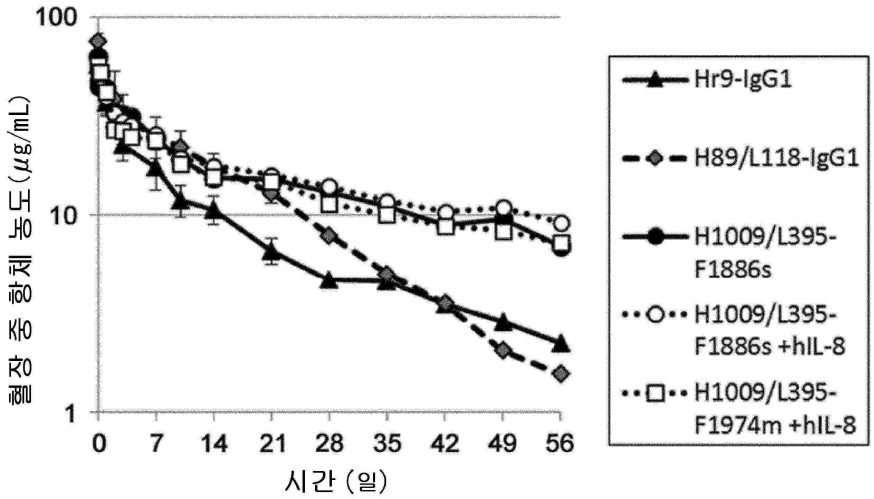
도면34


hFcgRIa
hFcgRIIIa
cynoFcgRIa
cynoFcgRIIIa
H1009/L395-F1886m
H1009/L395-F1886s
H1009/L395-F1974m

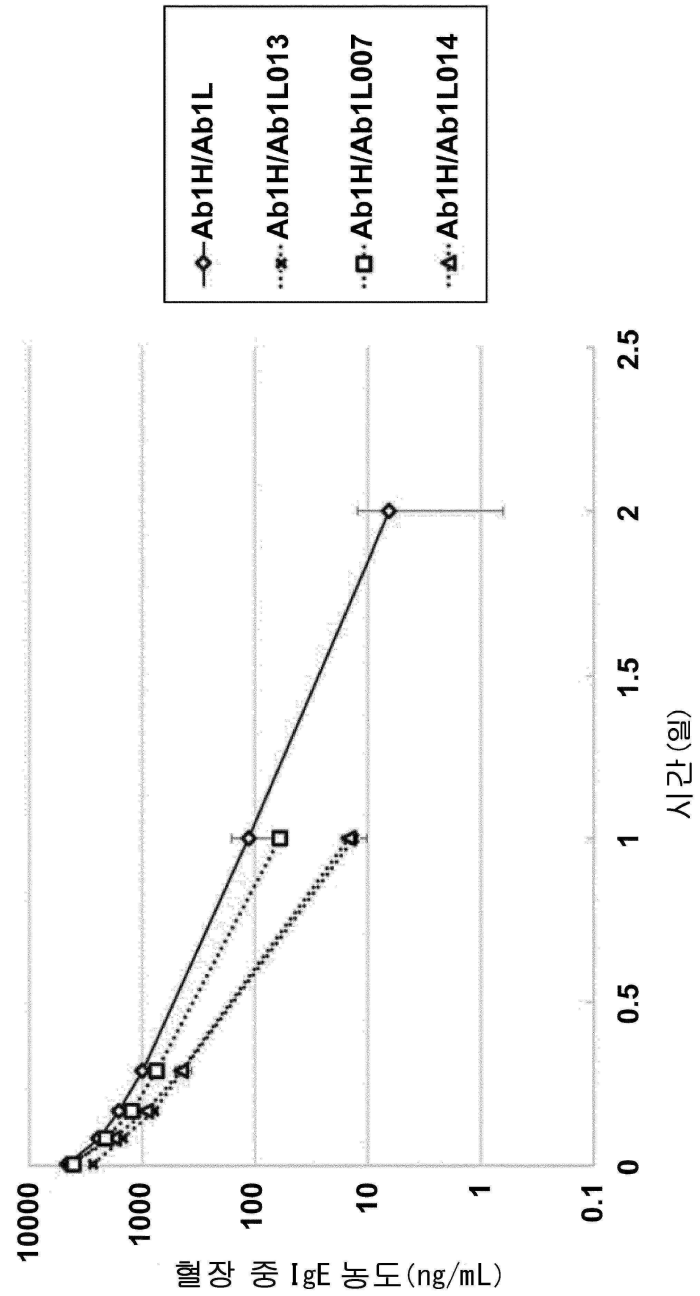
도면35


10000
1000
100
10
1
혈장 중 IL-8 농도(ng/mL)
0
1
2
시간 (일)
H1009/L395 2mg/kg
H1009/L395-F1886s 2mg/kg
H1009/L395-F1886s 5mg/kg
H1009/L395-F1886s 10mg/kg

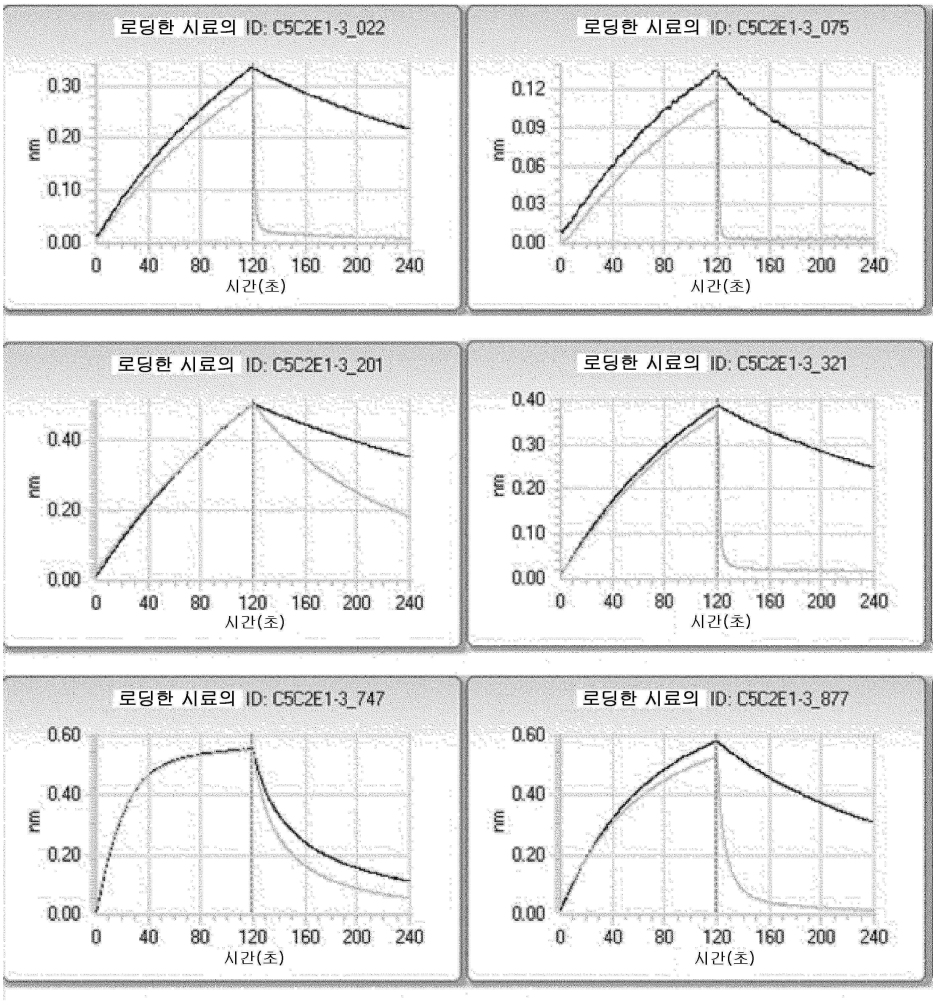
도면36


100
10
1
혈장 중 항체 농도 (μg/mL)
0
7
14
21
28
35
42
49
56
시간 (일)
Hr9-IgG1
H89/L118-IgG1
H1009/L395-F1886s
H1009/L395-F1886s +hIL-8
H1009/L395-F1974m +hIL-8

도면37

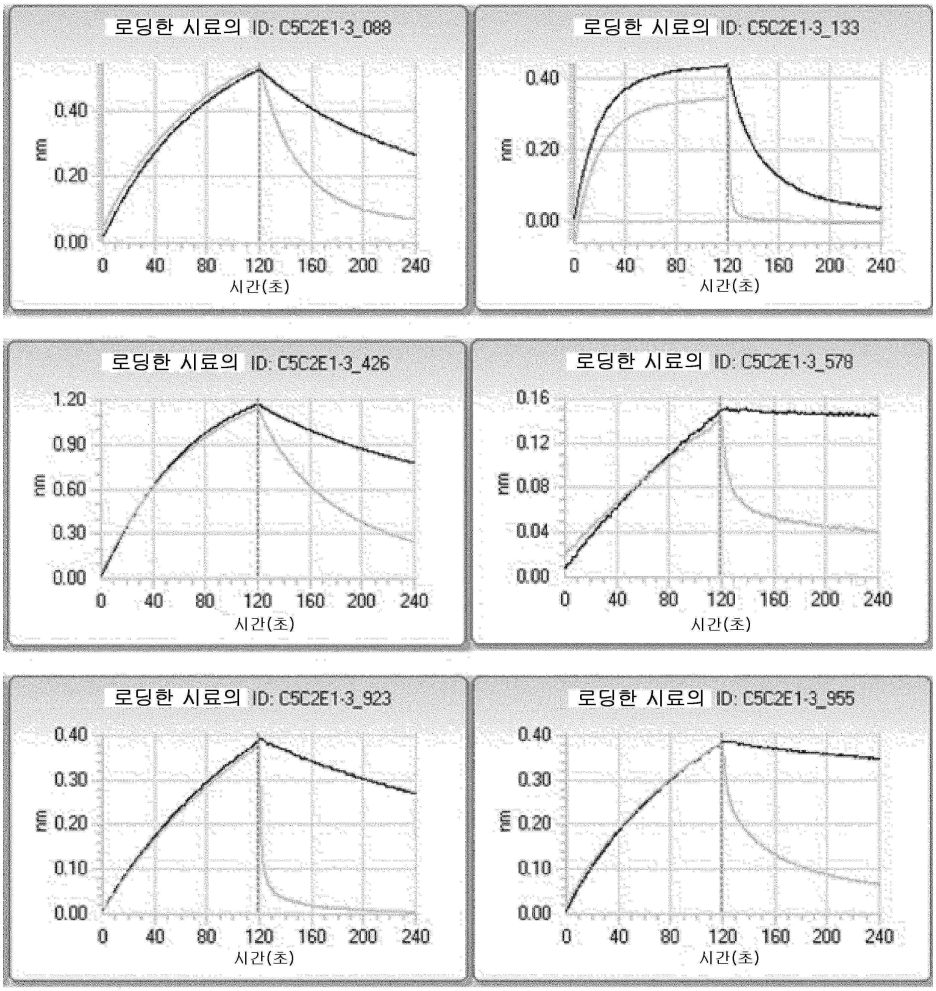

Ab1H/Ab1L
Ab1H/Ab1L013
Ab1H/Ab1L007
Ab1H/Ab1L014
혈장 중 IgE 농도(ng/mL)
10000
1000
100
10
1
0.1
0
0.5
1
1.5
2
2.5
시간(일)

도면38a



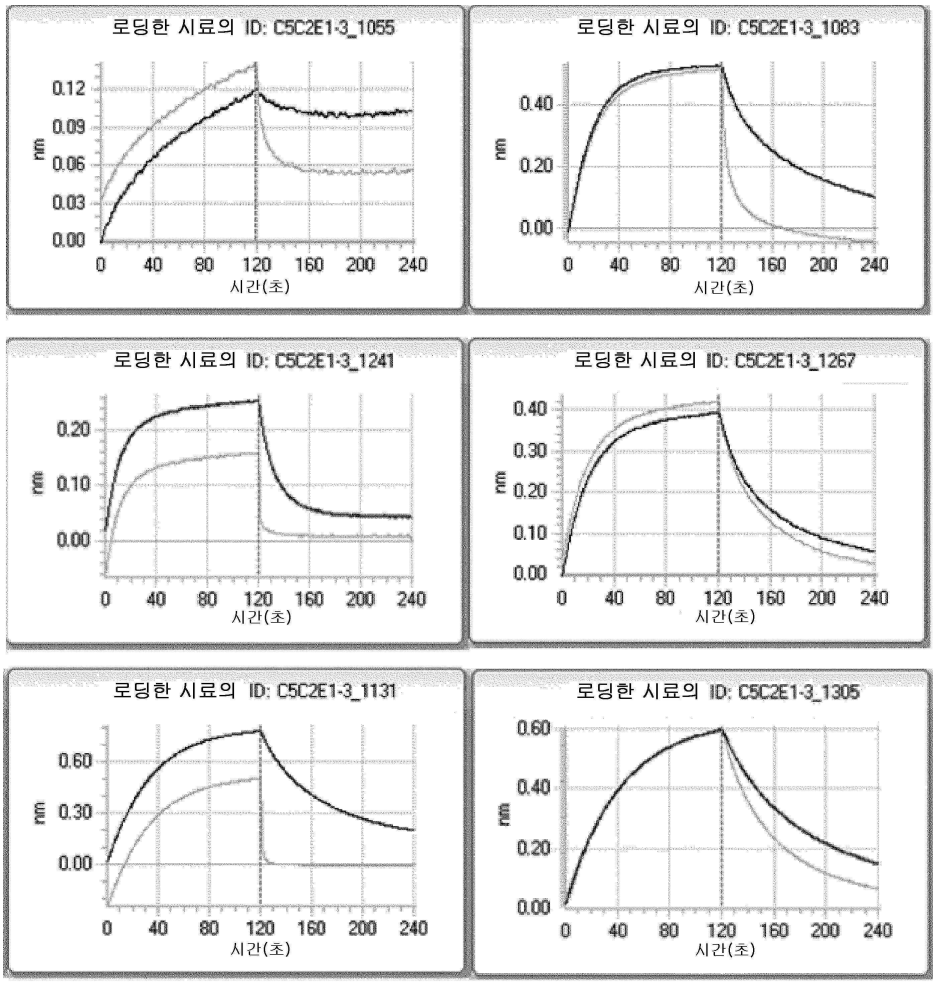
— 결합: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4, 해리: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4
— 결합: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4, 해리: 3μM $CaCl_2$-pH5.8

도면38b



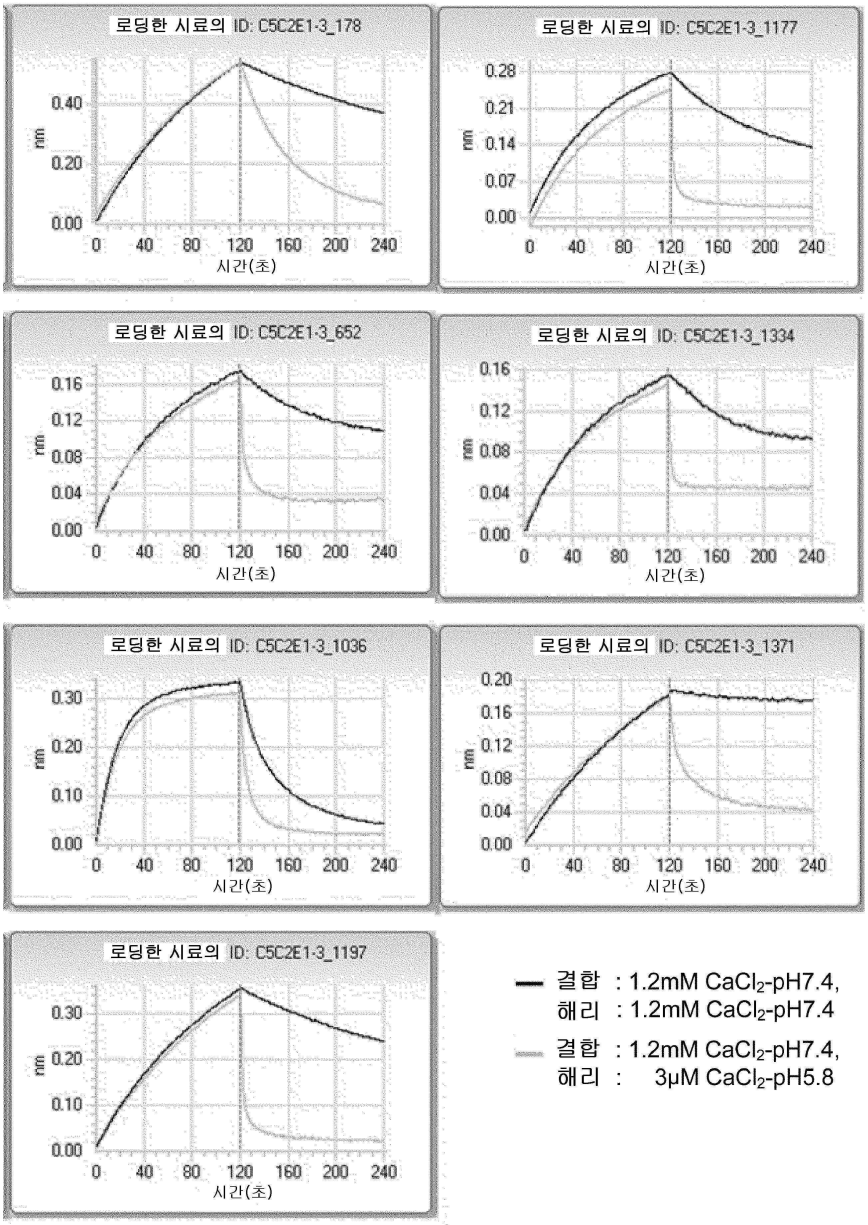
— 결합: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4, 해리: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4
— 결합: 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4, 해리: 3μM $CaCl_2$-pH5.8

도면38c

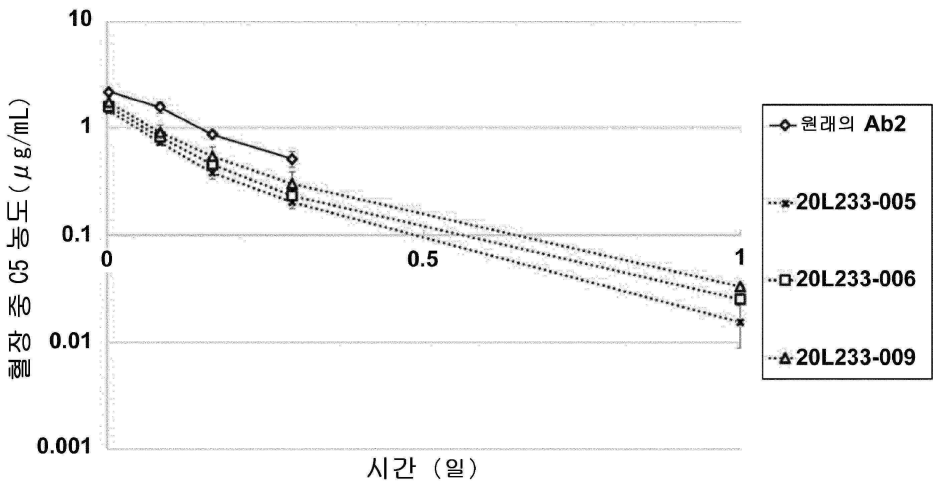


— 결합 : 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4, 해리 : 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4
— 결합 : 1.2mM $CaCl_2$-pH7.4, 해리 : 3μM $CaCl_2$-pH5.8

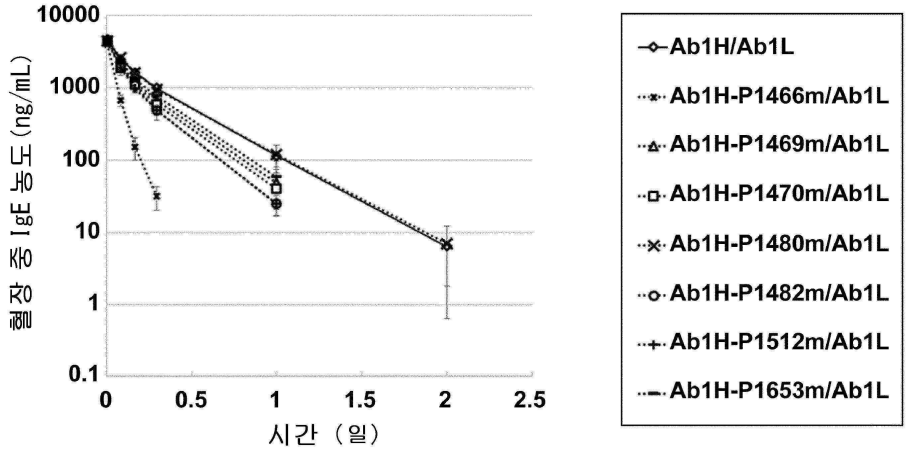
도면38d


로딩한 시료의 ID: C5C2E1-3_178
로딩한 시료의 ID: C5C2E1-3_1177
로딩한 시료의 ID: C5C2E1-3_652
로딩한 시료의 ID: C5C2E1-3_1334
로딩한 시료의 ID: C5C2E1-3_1036
로딩한 시료의 ID: C5C2E1-3_1371
로딩한 시료의 ID: C5C2E1-3_1197
nm
시간(초)
결합 : 1.2mM CaCl2-pH7.4,
해리 : 1.2mM CaCl2-pH7.4
결합 : 1.2mM CaCl2-pH7.4,
해리 : 3μM CaCl2-pH5.8

도면39


혈장 중 C5 농도 (μg/mL)
시간 (일)
원래의 Ab2
20L233-005
20L233-006
20L233-009

도면40



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA

<120> IL-8-BINDING ANTIBODIES AND USES THEREOF

<130> C1-A1502Y1P2

<150> JP 2015-185254

<151> 2015-09-18

<160> 332

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Vk1

<400> 1

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

85 90 95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys
100 105

<210> 2
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Vk2
<400> 2
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
1 5 10 15
Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

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

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

<210> 3
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Vk3
<400> 3

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

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

<210> 4
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Vk4
<400> 4
Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Glu Ser Leu Val Leu Ser Leu Gly
1 5 10 15
Gly Thr Ala Thr Ile Asn Cys Arg Ser Ser Gln Ser Val Leu Tyr Ser
20 25 30
Ser Asn Asn Lys Asn Tyr Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45
Pro Pro Thr Leu Leu Phe Ser Trp Ala Ser Ile Arg Asp Ser Gly Val

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

Tyr Tyr Arg Ala Pro Ser Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Gln Ile Lys
100 105 110

<210> 5

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 6RL#9-IgG1

<400> 5

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
20 25 30

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

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

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

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

Ala Arg Asp Asp Pro Gly Gly Gly Glu Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 6

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> 6KC4-1#85-IgG1

<400> 6

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

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Ser Ser Ser Gly Ser Thr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 7

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Calcium-Binding Domain

<400> 7

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

1 5 10 15

Asp Lys Val Asn Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Asp Ile Asp Asp Asp

20 25 30

Met Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Glu Ala Ala Ile Phe Ile Ile

35 40 45

Gln Glu Ala Thr Thr Leu Val Pro Gly Ile Ser Pro Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Asn Asn Ile Glu Ser

65 70 75 80

Glu Asp Ala Ala Tyr Tyr Phe Cys Leu Gln His Asp Asn Phe Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 8

<211> 115

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 8

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ala Leu Asp Pro Lys Thr Gly Asp Thr Ala Tyr Ser Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Phe Tyr Ser Tyr Thr Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr

100 105 110

Val Ser Ser

115

<210> 9

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 9

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

1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser

20 25 30

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

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

<210> 10

<211> 449

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 10

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

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

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

130 135 140

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

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

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

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

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

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

<210> 11
<211> 214
<212> PRT
<213> Homo Sapian
<400> 11
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

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

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

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 12

<211> 433

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 12

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

35 40 45

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

100 105 110

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

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

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

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Lys

<210> 13

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 13

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

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

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

<210> 14
<211> 445
<212> PRT
<213> Homo Sapian
<400> 14

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

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

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

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

<210> 15
<211> 219
<212> PRT
<213> Homo Sapian
<400> 15

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

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

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

130 135 140

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

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

<210> 16
<211> 447
<212> PRT
<213> Homo Sapian
<400> 16

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

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

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 17

<211> 214

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 17

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Phe

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Glu Ser Pro Leu

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 18

<211> 330

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

195 200 205

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

260 265 270

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

<210> 19
<211> 326
<212> PRT
<213> Homo Sapian
<400> 19

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

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

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

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

245 250 255

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

260 265 270

Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Ser Leu Ser Pro Gly Lys

325

<210> 20

<211> 377

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 20

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Val Glu Leu Lys Thr Pro Leu Gly Asp Thr Thr His Thr Cys Pro

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Lys Trp Tyr

195 200 205

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

210 215 220

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu 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> 21

<211> 327

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 21

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

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

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

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr
65 70 75 80

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

Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
115 120 125

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
130 135 140

Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
145 150 155 160

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
165 170 175

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
180 185 190

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

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

210 215 220

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser

305 310 315 320

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

325

<210> 22

<211> 107

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 22

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

100 105

<210> 23

<211> 105

<212> PRT

<213> Homo Sapian

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser

100 105

<210> 24

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-IgG1

<400> 24

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 25

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3(High_pI)-IgG1

<400> 25

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

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

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 26

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-IgG1-F939

<400> 26

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Ala Leu His Tyr His Val Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 27

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3(High_pI)-F939

<400> 27

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

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

275 280 285

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

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

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

<210> 28
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH3-IgG1-F1180
<400> 28
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp

20 25 30

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

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

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

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 29

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3(High_pI)-F1180

<400> 29

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

```
        35                  40                  45
Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

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

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

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

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

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

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

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

<210> 30
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH3-IgG1-F11
<400> 30

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

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

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

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

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

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

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 31

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3(High_pI)-F11

<400> 31

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

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

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

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

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

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

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

<210> 32
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VL3-CK
<400> 32
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Thr Asp Ile Ser Ser His
20 25 30
Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Glu Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Tyr Gly Ser His Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 33

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VL3(High_pI)-CK

<400> 33

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Thr Asp Ile Ser Ser His

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Gly Ser His Leu Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 34

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H54

<400> 34

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

1 5 10 15

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

```
            20                  25                  30
Gln Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
        35                  40                  45
Ile Gly Tyr Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

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

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

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

                245                 250                 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
```

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 35

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L28

<400> 35

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

1 5 10 15

Asp Ser Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

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

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

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

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

<210> 36
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H(WT)
<400> 36
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Arg Pro Ser Gln

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

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

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

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

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

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

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

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

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

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

<210> 37

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L(WT)

<400> 37

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Ser Tyr

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 38

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H

<400> 38

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

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

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

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

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

<210> 39
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1L
<400> 39

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

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

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

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215
<210> 40
<211> 444
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab2H

<400> 40

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

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe Asn
20 25 30

Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp Ile Gly
35 40 45

Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys Gly
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Lys Thr Ser Thr Ala Val Asp Leu Lys Ile Thr
65 70 75 80

Ser Pro Thr Thr Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala Arg Val Asp
85 90 95

Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440

<210> 41

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab2L

<400> 41

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

Gly Thr Val Thr Ile Asn Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ser
20 25 30

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

Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Lys Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Asp Leu Glu Cys
65 70 75 80

Ala Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Phe Ile Ser Ser
85 90 95

Thr Asp Phe Asn Ala Phe Gly Gly Gly Thr Glu Val Val Val Lys Arg
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

<210> 42

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab3H

<400> 42

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

1 5 10 15

Leu Thr Leu Thr Cys Thr Thr Ser Val Phe Asp Leu Ser Ser Tyr Tyr

20 25 30

Trp Ile Cys Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Gln Met Thr Ser Leu Thr Ala Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Gly Gly Ile Tyr Gly Gly Asp Gly Phe Asn Leu Trp Gly Pro Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 43

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab3L

<400> 43

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

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

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

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

<210> 44

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hGPC3-derived peptide

<400> 44

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

1 5 10 15

Glu Ile Ser Thr Phe His Asn Leu Gly Asn Val His Ser Pro Leu Lys

20 25 30

<210> 45

<400> 45

000

<210> 46

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-IgG1m

<400> 46

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 47

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-YTE

<400> 47

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

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

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

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

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

<210> 48

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-LS

<400> 48

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

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

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

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

Gln Gly Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

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

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

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

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 49

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-N434H

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

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

<210> 50
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH3-F1847m
<400> 50
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

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

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

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 51

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-F1848m

<400> 51

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

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

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

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

370 375 380

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

<210> 52
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH3-F1886m
<400> 52
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30
His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp
35 40 45
Ile Gly Phe Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Asn Tyr Asn Pro Ser Leu

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

115 120 125

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

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

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

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu

420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 53

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-F1889m

<400> 53

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 54
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> VH3-F1927m
<400> 54
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly His Ser Ile Ser His Asp
20 25 30
His Ala Trp Ser Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Glu Gly Leu Glu Trp

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

100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

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

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

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

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

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 55

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-F1168m

<400> 55

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

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

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

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

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

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

<210> 56
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> OHBH-IgG1
<400> 56
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe

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

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 57

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> OHBL-CK

<400> 57

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Asn Ile Tyr Ser Ser

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Tyr Phe Ile Ser Ser

85 90 95

Thr Asp Phe Asn Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 58

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> OHBH-LS

<400> 58

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe

20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

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

<210> 59
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> OHBH-N434A
<400> 59
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
20 25 30

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

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

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

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

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

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

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

<210> 60

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> OHBH-F1847m

<400> 60

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe

20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 61

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> OHBH-F1848m

<400> 61

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe

20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

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

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

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

385 390 395 400

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

<210> 62
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> OHBH-F1886m
<400> 62

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

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

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

130 135 140

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

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

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

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu

420 425 430

Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 63

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> OHBH-F1889m

<400> 63

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

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe

20 25 30

Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Ile Thr Asn Met Asp Pro Val Asp Thr Ala Thr Tyr Phe Cys Ala

85 90 95

Arg Val Asp Ser Ser Gly Trp Gly Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

<210> 64
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> OHBH-F1927m
<400> 64
Gln Val Thr Leu Lys Glu Ser Gly Gly Arg Leu Val Lys Pro Thr Glu
1 5 10 15
Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Phe Ser Leu Ser Ser Phe
20 25 30
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45
Gly Ala Val Ser Thr Gly Gly Ser Ala Tyr Tyr Ala Lys Trp Ala Lys

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

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

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

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

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

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

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

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu

420 425 430

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

435 440 445

<210> 65

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VH3-F1718

<400> 65

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

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

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

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

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

Ala Leu His Tyr His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 66
<211> 77
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> IL8 molecule
<400> 66
Ala Val Leu Pro Arg Ser Ala Lys Glu Leu Arg Cys Gln Cys Ile Lys
1 5 10 15
Thr Tyr Ser Lys Pro Phe His Pro Lys Phe Ile Lys Glu Leu Arg Val
20 25 30
Ile Glu Ser Gly Pro His Cys Ala Asn Thr Glu Ile Ile Val Lys Leu

35 40 45
Ser Asp Gly Arg Glu Leu Cys Leu Asp Pro Lys Glu Asn Trp Val Gln
50 55 60
Arg Val Val Glu Lys Phe Leu Lys Arg Ala Glu Asn Ser
65 70 75
<210> 67
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> HVR-H1of WS4
<400> 67
Asp Tyr Tyr Leu Ser
1 5
<210> 68
<211> 19
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H2 of WS4

<400> 68

Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H3 of WS4

<400> 69

Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr

1 5 10

<210> 70

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L1 of WS4

<400> 70

Arg Ala Ser Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 71

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2 of WS4

<400> 71

Asn Ala Lys Thr Leu Ala Asp

1 5

<210> 72

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3 of WS4

<400> 72

Gln His His Phe Gly Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 73

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H2 of H1009

<400> 73

Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala Ser

1 5 10 15

Val Lys Gly

<210> 74

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H3 of H1009

<400> 74

Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr

1 5 10

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2 of L395

<400> 75

Lys Ala Lys Thr His Ala Asp

1 5

<210> 76

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3 of L395

<400> 76

Lys His His Phe Gly Phe Pro Arg Thr

1 5

<210> 77

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain variable region of Hr9

<400> 77

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 78

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Heavy chain variable region of H1009

<400> 78

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

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

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 79

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Light chain variable region of L395

<400> 79

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys His His Phe Gly Phe Pro Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 80

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H1009-F1974m

<400> 80

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

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

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

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

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 81
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H1009-F1886s
<400> 81

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

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

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

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

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

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

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

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 82
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L395-kOMT
<400
> 82

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

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

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

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

<210> 83
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> hWS4H-IgG1
<400> 83
Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

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

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

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

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

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

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

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

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

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

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

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

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

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 84

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hWS4L-kOMT

<400> 84

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Phe Pro Arg

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 85

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Hr9-IgG1

<400> 85

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 86
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H89-IgG1
<400> 86

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 87

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L63-k0MT

<400> 87

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Ala Lys Thr His Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Phe Gly Phe Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 88
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L118-k0MT
<400> 88
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Glu Ile Ile Tyr Ser Tyr
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His Ala Lys Thr His Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys His His Phe Gly Phe Pro Arg
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 89
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H998-IgG1
<400> 89
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Leu Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Glu Asn Tyr Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 90

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H553-IgG1

<400

> 90

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

```
            20                  25                  30
Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
        35                  40                  45
Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
    50                  55                  60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65                  70                  75                  80
Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
                85                  90                  95
Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
            100                 105                 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
        115                 120                 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
    130                 135                 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145                 150                 155                 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
                165                 170                 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
            180                 185                 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
        195                 200                 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
    210                 215                 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225                 230                 235                 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
                245                 250                 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
            260                 265                 270
```

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 91
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H1004-IgG1m
<400> 91
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Gly Tyr Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 92

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H1009-IgG1m

<400> 92

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr

20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr

85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 93
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> 1009-F1942m
<400> 93

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Asp Asn Tyr His Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Thr Met Ser Asp Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Arg
225 230 235 240

Arg Gly Pro Lys Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ala Asp Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 94

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H89-IgG1m

<400

> 94

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 95
<211> 450
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H89-F1168m

<400> 95

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 96
<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H89-F1847m

<400> 96

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 97

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H89-F1848m

<400> 97

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro

450

<210> 98

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H89-F1886m

<400

> 98

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Leu His Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 99
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H89-F1889m
<400> 99

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80
Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95
Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Leu His Glu Ala Leu His Ala His Val Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 100

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H89-F1927m

<400> 100

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Arg Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430

Leu His Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 101

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H496-IgG1

<400> 101

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Tyr Leu Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Gly Leu Ile Arg Asn Lys Ala Asn Gly Tyr Thr Pro Glu Tyr Ser Ala
50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser
65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Glu Asn His Arg Tyr Asp Val Glu Leu Ala Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445
Ser Pro
450

<210> 102
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> HVR-H1
<400> 102

Ser Tyr Gly Met Leu
1 5

<210> 103
<211> 17
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> HVR-H2
<400> 103
Asp Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15
Gly

<210> 104
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> HVR-H3

<400> 104

Asp Arg Ile Ala Val Ala Asp Tyr

1 5

<210> 105

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L1

<400> 105

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 106

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2

<400> 106

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 107

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3

<400> 107

Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Phe Thr

1 5

<210> 108

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H1

<400> 108

Asn Tyr Gly Met His

1 5

<210> 109

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H2

<400> 109

Val Ile Tyr Phe Glu Gly Ser Asn Lys Tyr Asn Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 110

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H3

<400> 110

Ser Pro Tyr Gly Asp Tyr Leu Asp Tyr

1 5

<210> 111

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L1

<400> 111

Arg Ala Ser Gln Thr Ile Asp Tyr Asn Tyr Leu His

1 5 10

<210> 112

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2

<400> 112

Gly Thr Phe Ile Arg Ala Thr

1 5

<210> 113

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3

<400> 113

Gln Gln Phe Gly Arg Ser Pro Leu Thr

1 5

<210> 114

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H1

<400> 114

Ser Tyr Gly Met Leu

1 5

<210> 115

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H2

<400> 115

Asp Ile Ser Tyr Asp Gly Ser Asn Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 116

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H3

<400> 116

Asp Arg Ile Ala Val Ala Asp Tyr

1 5

<210> 117

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L1

<400> 117

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser Phe Leu Ala

1 5 10

<210> 118

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2

<400> 118

Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 119

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3

<400> 119

Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Phe Thr

1 5

<210> 120

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H1

<400> 120

Gly Tyr Tyr Trp Thr

1 5

<210> 121

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H2

<400> 121

Glu Val Ile His His Gly Ser Thr Asn Tyr Ser Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 122

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H3

<400> 122

Gly Gly Ala Ala Ala Ala Leu Asp Ser

1 5

<210> 123

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L1

<400> 123

Lys Ser Ser Gln Ser Val Leu Phe Ser Ser Asn Asn Arg Lys Tyr Leu

1 5 10 15

Ala

<210> 124

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2

<400> 124

Trp Ala Ser Thr Arg Glu Ser

1 5

<210> 125

<211> 9

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3

<400> 125

Gln Gln Tyr Tyr Ser Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 126

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H1

<400> 126

Ser Tyr Trp Met His

1 5

<210> 127

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H2

<400> 127

Glu Ile Asp Pro Ser Asp Ser Asn Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 128

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H3

<400> 128

Glu Leu Leu His Ala Val Tyr

1 5

<210> 129

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L1

<400> 129

Thr Ala Ser Gln Asp Ile His Lys Tyr Ile Ser

1 5 10

<210> 130

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2

<400> 130

Thr Ser Thr Leu Gln Pro

1 5

<210> 131

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3

<400> 131

Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Trp Thr

1 5

<210> 132

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H1

<400> 132

Asn Tyr Trp Ile Val

1 5

<210> 133

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H2

<400> 133

Asp Leu Tyr Ser Gly Gly Gly Tyr Thr Phe Tyr Ser Glu Asn Phe Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 134

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H3

<400> 134

Ser Gly Tyr Asp Arg Thr Trp Phe Ala His

1 5 10

<210> 135

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L1

<400> 135

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Glu Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 136

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2

<400> 136

Tyr Ala Thr Arg Leu Ala Asp

1 5

<210> 137

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3

<400> 137

Leu Gln His Gly Glu Ser Pro Pro Thr

1 5

<210> 138

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H1

<400> 138

His Tyr Gly Met Tyr

1 5

<210> 139

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H2

<400> 139

Val Ile Trp Tyr Asp Gly Ser Tyr Glu Tyr Asn Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 140

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-H3

<400> 140

Asp Arg Val Gly Leu Phe Asp Tyr

1 5

<210> 141

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L1

<400> 141

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 142

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L2

<400> 142

Gly Pro Ser Ser Arg Ala Thr

1 5

<210> 143

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HVR-L3

<400> 143

Gln Gln Tyr Ala Gly Ser Leu Thr

1 5

<210> 144

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H003

<400> 144

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn Arg

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 145

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H005

<400> 145

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Lys Arg Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 146
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H010
<400> 146

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 147

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H012

<400> 147

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 148

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H013

<400> 148

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

```
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
        35                  40                  45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser


    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
Gln Ile Gly Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe


        115                 120                 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
    130                 135                 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145                 150                 155                 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
                165                 170                 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser


            180                 185                 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
        195                 200                 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
    210                 215                 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225                 230                 235                 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser


                245                 250                 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
            260                 265                 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
```

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 149

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H014

<400> 149

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 150
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H016
<400> 150

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 151

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H018

<400> 151

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 152
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H026
<400> 152

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Arg Gly Lys Arg Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 153

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H027

<400> 153

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 154
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H028
<400> 154
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Gly Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 155

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H029

<400> 155

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Ser Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 156
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H030
<400> 156
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 157

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H031

<400> 157

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Arg Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Lys

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 158
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H032
<400> 158
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Gly Arg Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 159

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H034

<400> 159

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Lys Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
<210> 160
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> H035
<400> 160
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Arg Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 161

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H039

<400> 161

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 162

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H041

<400> 162

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Arg Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 163

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> H045

<400> 163

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Arg Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 164
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L001
<400> 164
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Lys
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95
Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 165

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L002

<400> 165

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 166

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L003

<400> 166

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 167

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L004

<400> 167

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Lys Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 168

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L005

<400> 168

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Lys Lys Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 169

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L006

<400> 169

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 170

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L007

<400> 170

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 171

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L008

<400> 171

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 172

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L009

<400> 172

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Lys Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 173

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L010

<400> 173

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 174
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L011
<400> 174

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Lys Thr Leu Ala Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 175

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L012

<400> 175

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 176

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L013

<400> 176

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 177

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L014

<400> 177

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 178

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L015

<400> 178

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Lys

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 179

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L016

<400> 179

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 180

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L017

<400> 180

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 181

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L018

<400> 181

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Arg Leu Ile

35 40 45

Lys Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 182

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L019

<400> 182

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 183

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L020

<400> 183

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Lys Thr Leu Ala Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 184

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L021

<400> 184

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95
Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 185

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L022

<400> 185

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95
Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 186

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L023

<400> 186

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 187

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L024

<400> 187

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Lys

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 188
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L025
<400> 188
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95
Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 189
<211> 217
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> L026
<400> 189
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95
Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 190

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L028

<400> 190

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 191

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L029

<400> 191

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Lys Thr Leu Ala Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 192

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L030

<400> 192

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 193

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L032

<400> 193

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Arg Arg Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 194

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L033

<400> 194

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 195

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L034

<400> 195

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 196

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L035

<400> 196

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 197

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L036

<400> 197

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Arg Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95
Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205
Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 198

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L037

<400> 198

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His
85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 199

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L038

<400> 199

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95
Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110
Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu
115 120 125
Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro
130 135 140
Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160
Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr
165 170 175
Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His
180 185 190
Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val
195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 200

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L039

<400> 200

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Lys Ile Arg Arg Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 201

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L040

<400> 201

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 202

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L041

<400> 202

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Arg Thr Leu Ala Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 203

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L061

<400> 203

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Arg Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 204

<211> 217

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L062

<400> 204

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Ser Glu Ser Ile Tyr Ser Gly

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Asp His Ser Thr Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Glu Tyr Ala Leu Thr Ile Ser Ser Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ala Asp Tyr Ala His His

85 90 95

Ser Asp Asn Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr

100 105 110

Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu

115 120 125

Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro

130 135 140

Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly

145 150 155 160

Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr

165 170 175

Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His

180 185 190

Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val

195 200 205

Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 205

<400> 205

000

<210> 206

<400> 206

000

<210> 207

<211> 1676

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Recombinant human C5

<400> 207

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr

1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg

20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu

35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe

50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln

65 70 75 80

Asn Ser Ala Ile Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln

85 90 95

Asn Pro Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser

100 105 110

Lys Ser Lys Arg Met Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile

115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg

130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val

145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Val Asp Met Val Glu Glu

165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser

180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Lys Ala Lys Tyr Lys Glu Asp

195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Tyr Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu

210 215 220

Pro His Phe Ser Val Ser Ile Glu Pro Glu Tyr Asn Phe Ile Gly Tyr

225 230 235 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr

245 250 255

Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg

260 265 270

Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln

275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Gln Val Thr Phe Asp Ser Glu

290 295 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn

305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe

325 330 335

Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr

340 345 350

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro

355 360 365

Tyr Pro Ile Lys Val Gln Val Lys Asp Ser Leu Asp Gln Leu Val Gly

370 375 380

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu

385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Asp Pro Ser Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly

405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Leu Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu

420 425 430

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Glu Glu Asn Gln Ala

435 440 445

Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr

450 455 460

Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu

465 470 475 480

His Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile

485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe

500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Phe Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile

515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr

530 535 540

Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
545 550 555 560
Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
565 570 575
Pro Asp Ala Asp Ala Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met

580 585 590
Ala Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Ala Ala Val Asp Ser Ala
595 600 605
Val Tyr Gly Val Gln Arg Gly Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
610 615 620
Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
625 630 635 640
Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn

645 650 655
Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
660 665 670
Leu Arg Pro Arg Arg Thr Leu Gln Lys Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala
675 680 685
Lys Tyr Lys His Ser Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Ala Cys
690 695 700
Val Asn Asn Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Leu

705 710 715 720
Gly Pro Arg Cys Ile Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser
725 730 735
Gln Leu Arg Ala Asn Ile Ser His Lys Asp Met Gln Leu Gly Arg Leu
740 745 750
His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr
755 760 765
Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys

770 775 780
Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Leu Thr Thr Trp Glu Ile Gln

785 790 795 800

Gly Val Gly Ile Ser Asn Thr Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Val Lys

805 810 815

Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser

820 825 830

Val Val Arg Gly Glu Gln Ile Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr

835 840 845

Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly

850 855 860

Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser

865 870 875 880

Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Ser His Leu Val

885 890 895

Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu His Asn Ile Asn Phe

900 905 910

Ser Leu Glu Thr Trp Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Thr Leu Arg

915 920 925

Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Val Thr Leu

930 935 940

Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Ile Ser Arg Arg Lys Glu Phe Pro

945 950 955 960

Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Glu Ile Lys Arg Ile

965 970 975

Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Ile Leu Ser Ala Val Leu

980 985 990

Ser Gln Glu Gly Ile Asn Ile Leu Thr His Leu Pro Lys Gly Ser Ala

995 1000 1005

Glu Ala Glu Leu Met Ser Val Val Pro Val Phe Tyr Val Phe His

1010 1015 1020

Tyr Leu Glu Thr Gly Asn His Trp Asn Ile Phe His Ser Asp Pro

1025 1030 1035

Leu Ile Glu Lys Gln Lys Leu Lys Lys Lys Leu Lys Glu Gly Met
1040 1045 1050
Leu Ser Ile Met Ser Tyr Arg Asn Ala Asp Tyr Ser Tyr Ser Val
1055 1060 1065
Trp Lys Gly Gly Ser Ala Ser Thr Trp Leu Thr Ala Phe Ala Leu
1070 1075 1080
Arg Val Leu Gly Gln Val Asn Lys Tyr Val Glu Gln Asn Gln Asn

1085 1090 1095
Ser Ile Cys Asn Ser Leu Leu Trp Leu Val Glu Asn Tyr Gln Leu
1100 1105 1110
Asp Asn Gly Ser Phe Lys Glu Asn Ser Gln Tyr Gln Pro Ile Lys
1115 1120 1125
Leu Gln Gly Thr Leu Pro Val Glu Ala Arg Glu Asn Ser Leu Tyr
1130 1135 1140
Leu Thr Ala Phe Thr Val Ile Gly Ile Arg Lys Ala Phe Asp Ile

1145 1150 1155
Cys Pro Leu Val Lys Ile Asp Thr Ala Leu Ile Lys Ala Asp Asn
1160 1165 1170
Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ala Gln Ser Thr Phe Thr Leu
1175 1180 1185
Ala Ile Ser Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp Lys Thr His Pro
1190 1195 1200
Gln Phe Arg Ser Ile Val Ser Ala Leu Lys Arg Glu Ala Leu Val

1205 1210 1215
Lys Gly Asn Pro Pro Ile Tyr Arg Phe Trp Lys Asp Asn Leu Gln
1220 1225 1230
His Lys Asp Ser Ser Val Pro Asn Thr Gly Thr Ala Arg Met Val
1235 1240 1245
Glu Thr Thr Ala Tyr Ala Leu Leu Thr Ser Leu Asn Leu Lys Asp
1250 1255 1260
Ile Asn Tyr Val Asn Pro Val Ile Lys Trp Leu Ser Glu Glu Gln

1265 1270 1275

Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp Thr Ile Asn Ala

1280 1285 1290

Ile Glu Gly Leu Thr Glu Tyr Ser Leu Leu Val Lys Gln Leu Arg

1295 1300 1305

Leu Ser Met Asp Ile Asp Val Ser Tyr Lys His Lys Gly Ala Leu

1310 1315 1320

His Asn Tyr Lys Met Thr Asp Lys Asn Phe Leu Gly Arg Pro Val

1325 1330 1335

Glu Val Leu Leu Asn Asp Asp Leu Ile Val Ser Thr Gly Phe Gly

1340 1345 1350

Ser Gly Leu Ala Thr Val His Val Thr Thr Val Val His Lys Thr

1355 1360 1365

Ser Thr Ser Glu Glu Val Cys Ser Phe Tyr Leu Lys Ile Asp Thr

1370 1375 1380

Gln Asp Ile Glu Ala Ser His Tyr Arg Gly Tyr Gly Asn Ser Asp

1385 1390 1395

Tyr Lys Arg Ile Val Ala Cys Ala Ser Tyr Lys Pro Ser Arg Glu

1400 1405 1410

Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met Asp Ile Ser Leu

1415 1420 1425

Pro Thr Gly Ile Ser Ala Asn Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu Val

1430 1435 1440

Glu Gly Val Asp Gln Leu Phe Thr Asp Tyr Gln Ile Lys Asp Gly

1445 1450 1455

His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser Ser Asp Phe Leu

1460 1465 1470

Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Glu Val Gly Phe Leu

1475 1480 1485

Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His Arg Pro Asp Lys

1490 1495 1500

Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser Thr Ser Asn Ile Lys Ile Gln Lys

1505 1510 1515

Val Cys Glu Gly Ala Ala Cys Lys Cys Val Glu Ala Asp Cys Gly

1520 1525 1530

Gln Met Gln Glu Glu Leu Asp Leu Thr Ile Ser Ala Glu Thr Arg

1535 1540 1545

Lys Gln Thr Ala Cys Lys Pro Glu Ile Ala Tyr Ala Tyr Lys Val

1550 1555 1560

Ser Ile Thr Ser Ile Thr Val Glu Asn Val Phe Val Lys Tyr Lys

1565 1570 1575

Ala Thr Leu Leu Asp Ile Tyr Lys Thr Gly Glu Ala Val Ala Glu

1580 1585 1590

Lys Asp Ser Glu Ile Thr Phe Ile Lys Lys Val Thr Cys Thr Asn

1595 1600 1605

Ala Glu Leu Val Lys Gly Arg Gln Tyr Leu Ile Met Gly Lys Glu

1610 1615 1620

Ala Leu Gln Ile Lys Tyr Asn Phe Ser Phe Arg Tyr Ile Tyr Pro

1625 1630 1635

Leu Asp Ser Leu Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Arg Asp Thr Thr

1640 1645 1650

Cys Ser Ser Cys Gln Ala Phe Leu Ala Asn Leu Asp Glu Phe Ala

1655 1660 1665

Glu Asp Ile Phe Leu Asn Gly Cys

1670 1675

<210> 208

<211> 1676

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> cynomolgus monkey C5

<400> 208

Met Gly Leu Leu Gly Ile Leu Cys Phe Leu Ile Phe Leu Gly Lys Thr

1 5 10 15

Trp Gly Gln Glu Gln Thr Tyr Val Ile Ser Ala Pro Lys Ile Phe Arg

20 25 30

Val Gly Ala Ser Glu Asn Ile Val Ile Gln Val Tyr Gly Tyr Thr Glu

35 40 45

Ala Phe Asp Ala Thr Ile Ser Ile Lys Ser Tyr Pro Asp Lys Lys Phe

50 55 60

Ser Tyr Ser Ser Gly His Val His Leu Ser Ser Glu Asn Lys Phe Gln

65 70 75 80

Asn Ser Ala Val Leu Thr Ile Gln Pro Lys Gln Leu Pro Gly Gly Gln

85 90 95

Asn Gln Val Ser Tyr Val Tyr Leu Glu Val Val Ser Lys His Phe Ser

100 105 110

Lys Ser Lys Lys Ile Pro Ile Thr Tyr Asp Asn Gly Phe Leu Phe Ile

115 120 125

His Thr Asp Lys Pro Val Tyr Thr Pro Asp Gln Ser Val Lys Val Arg

130 135 140

Val Tyr Ser Leu Asn Asp Asp Leu Lys Pro Ala Lys Arg Glu Thr Val

145 150 155 160

Leu Thr Phe Ile Asp Pro Glu Gly Ser Glu Ile Asp Met Val Glu Glu

165 170 175

Ile Asp His Ile Gly Ile Ile Ser Phe Pro Asp Phe Lys Ile Pro Ser

180 185 190

Asn Pro Arg Tyr Gly Met Trp Thr Ile Gln Ala Lys Tyr Lys Glu Asp

195 200 205

Phe Ser Thr Thr Gly Thr Ala Phe Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu

210 215 220

Pro His Phe Ser Val Ser Val Glu Pro Glu Ser Asn Phe Ile Gly Tyr

225 230 235 240

Lys Asn Phe Lys Asn Phe Glu Ile Thr Ile Lys Ala Arg Tyr Phe Tyr

245 250 255

Asn Lys Val Val Thr Glu Ala Asp Val Tyr Ile Thr Phe Gly Ile Arg
260 265 270

Glu Asp Leu Lys Asp Asp Gln Lys Glu Met Met Gln Thr Ala Met Gln
275 280 285

Asn Thr Met Leu Ile Asn Gly Ile Ala Glu Val Thr Phe Asp Ser Glu
290 295 300

Thr Ala Val Lys Glu Leu Ser Tyr Tyr Ser Leu Glu Asp Leu Asn Asn
305 310 315 320

Lys Tyr Leu Tyr Ile Ala Val Thr Val Ile Glu Ser Thr Gly Gly Phe
325 330 335

Ser Glu Glu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Lys Tyr Val Leu Ser Pro Tyr
340 345 350

Lys Leu Asn Leu Val Ala Thr Pro Leu Phe Leu Lys Pro Gly Ile Pro
355 360 365

Tyr Ser Ile Lys Val Gln Val Lys Asp Ala Leu Asp Gln Leu Val Gly
370 375 380

Gly Val Pro Val Thr Leu Asn Ala Gln Thr Ile Asp Val Asn Gln Glu
385 390 395 400

Thr Ser Asp Leu Glu Pro Arg Lys Ser Val Thr Arg Val Asp Asp Gly
405 410 415

Val Ala Ser Phe Val Val Asn Leu Pro Ser Gly Val Thr Val Leu Glu
420 425 430

Phe Asn Val Lys Thr Asp Ala Pro Asp Leu Pro Asp Glu Asn Gln Ala
435 440 445

Arg Glu Gly Tyr Arg Ala Ile Ala Tyr Ser Ser Leu Ser Gln Ser Tyr
450 455 460

Leu Tyr Ile Asp Trp Thr Asp Asn His Lys Ala Leu Leu Val Gly Glu
465 470 475 480

Tyr Leu Asn Ile Ile Val Thr Pro Lys Ser Pro Tyr Ile Asp Lys Ile
485 490 495

Thr His Tyr Asn Tyr Leu Ile Leu Ser Lys Gly Lys Ile Ile His Phe

500 505 510

Gly Thr Arg Glu Lys Leu Ser Asp Ala Ser Tyr Gln Ser Ile Asn Ile
515 520 525

Pro Val Thr Gln Asn Met Val Pro Ser Ser Arg Leu Leu Val Tyr Tyr
530 535 540

Ile Val Thr Gly Glu Gln Thr Ala Glu Leu Val Ser Asp Ser Val Trp
545 550 555 560

Leu Asn Ile Glu Glu Lys Cys Gly Asn Gln Leu Gln Val His Leu Ser
565 570 575

Pro Asp Ala Asp Thr Tyr Ser Pro Gly Gln Thr Val Ser Leu Asn Met
580 585 590

Val Thr Gly Met Asp Ser Trp Val Ala Leu Thr Ala Val Asp Ser Ala
595 600 605

Val Tyr Gly Val Gln Arg Arg Ala Lys Lys Pro Leu Glu Arg Val Phe
610 615 620

Gln Phe Leu Glu Lys Ser Asp Leu Gly Cys Gly Ala Gly Gly Gly Leu
625 630 635 640

Asn Asn Ala Asn Val Phe His Leu Ala Gly Leu Thr Phe Leu Thr Asn
645 650 655

Ala Asn Ala Asp Asp Ser Gln Glu Asn Asp Glu Pro Cys Lys Glu Ile
660 665 670

Ile Arg Pro Arg Arg Met Leu Gln Glu Lys Ile Glu Glu Ile Ala Ala
675 680 685

Lys Tyr Lys His Leu Val Val Lys Lys Cys Cys Tyr Asp Gly Val Arg
690 695 700

Ile Asn His Asp Glu Thr Cys Glu Gln Arg Ala Ala Arg Ile Ser Val
705 710 715 720

Gly Pro Arg Cys Val Lys Ala Phe Thr Glu Cys Cys Val Val Ala Ser
725 730 735

Gln Leu Arg Ala Asn Asn Ser His Lys Asp Leu Gln Leu Gly Arg Leu
740 745 750

His Met Lys Thr Leu Leu Pro Val Ser Lys Pro Glu Ile Arg Ser Tyr
755 760 765

Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Glu Val His Leu Val Pro Arg Arg Lys
770 775 780
Gln Leu Gln Phe Ala Leu Pro Asp Ser Val Thr Thr Trp Glu Ile Gln
785 790 795 800
Gly Val Gly Ile Ser Asn Ser Gly Ile Cys Val Ala Asp Thr Ile Lys
805 810 815
Ala Lys Val Phe Lys Asp Val Phe Leu Glu Met Asn Ile Pro Tyr Ser
820 825 830

Val Val Arg Gly Glu Gln Val Gln Leu Lys Gly Thr Val Tyr Asn Tyr
835 840 845
Arg Thr Ser Gly Met Gln Phe Cys Val Lys Met Ser Ala Val Glu Gly
850 855 860
Ile Cys Thr Ser Glu Ser Pro Val Ile Asp His Gln Gly Thr Lys Ser
865 870 875 880
Ser Lys Cys Val Arg Gln Lys Val Glu Gly Ser Ser Asn His Leu Val
885 890 895

Thr Phe Thr Val Leu Pro Leu Glu Ile Gly Leu Gln Asn Ile Asn Phe
900 905 910
Ser Leu Glu Thr Ser Phe Gly Lys Glu Ile Leu Val Lys Ser Leu Arg
915 920 925
Val Val Pro Glu Gly Val Lys Arg Glu Ser Tyr Ser Gly Ile Thr Leu
930 935 940
Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Gly Thr Ile Ser Arg Arg Lys Glu Phe Pro
945 950 955 960

Tyr Arg Ile Pro Leu Asp Leu Val Pro Lys Thr Glu Ile Lys Arg Ile
965 970 975
Leu Ser Val Lys Gly Leu Leu Val Gly Glu Ile Leu Ser Ala Val Leu
980 985 990
Ser Arg Glu Gly Ile Asn Ile Leu Thr His Leu Pro Lys Gly Ser Ala

995 1000 1005

Glu Ala Glu Leu Met Ser Val Val Pro Val Phe Tyr Val Phe His

1010 1015 1020

Tyr Leu Glu Thr Gly Asn His Trp Asn Ile Phe His Ser Asp Pro

1025 1030 1035

Leu Ile Glu Lys Arg Asn Leu Glu Lys Lys Leu Lys Glu Gly Met

1040 1045 1050

Val Ser Ile Met Ser Tyr Arg Asn Ala Asp Tyr Ser Tyr Ser Val

1055 1060 1065

Trp Lys Gly Gly Ser Ala Ser Thr Trp Leu Thr Ala Phe Ala Leu

1070 1075 1080

Arg Val Leu Gly Gln Val His Lys Tyr Val Glu Gln Asn Gln Asn

1085 1090 1095

Ser Ile Cys Asn Ser Leu Leu Trp Leu Val Glu Asn Tyr Gln Leu

1100 1105 1110

Asp Asn Gly Ser Phe Lys Glu Asn Ser Gln Tyr Gln Pro Ile Lys

1115 1120 1125

Leu Gln Gly Thr Leu Pro Val Glu Ala Arg Glu Asn Ser Leu Tyr

1130 1135 1140

Leu Thr Ala Phe Thr Val Ile Gly Ile Arg Lys Ala Phe Asp Ile

1145 1150 1155

Cys Pro Leu Val Lys Ile Asn Thr Ala Leu Ile Lys Ala Asp Thr

1160 1165 1170

Phe Leu Leu Glu Asn Thr Leu Pro Ala Gln Ser Thr Phe Thr Leu

1175 1180 1185

Ala Ile Ser Ala Tyr Ala Leu Ser Leu Gly Asp Lys Thr His Pro

1190 1195 1200

Gln Phe Arg Ser Ile Val Ser Ala Leu Lys Arg Glu Ala Leu Val

1205 1210 1215

Lys Gly Asn Pro Pro Ile Tyr Arg Phe Trp Lys Asp Ser Leu Gln

1220 1225 1230

His Lys Asp Ser Ser Val Pro Asn Thr Gly Thr Ala Arg Met Val
1235 1240 1245
Glu Thr Thr Ala Tyr Ala Leu Leu Thr Ser Leu Asn Leu Lys Asp
1250 1255 1260

Ile Asn Tyr Val Asn Pro Ile Ile Lys Trp Leu Ser Glu Glu Gln
1265 1270 1275
Arg Tyr Gly Gly Gly Phe Tyr Ser Thr Gln Asp Thr Ile Asn Ala
1280 1285 1290
Ile Glu Gly Leu Thr Glu Tyr Ser Leu Leu Val Lys Gln Leu Arg
1295 1300 1305
Leu Asn Met Asp Ile Asp Val Ala Tyr Lys His Lys Gly Pro Leu
1310 1315 1320

His Asn Tyr Lys Met Thr Asp Lys Asn Phe Leu Gly Arg Pro Val
1325 1330 1335
Glu Val Leu Leu Asn Asp Asp Leu Val Val Ser Thr Gly Phe Gly
1340 1345 1350
Ser Gly Leu Ala Thr Val His Val Thr Thr Val Val His Lys Thr
1355 1360 1365
Ser Thr Ser Glu Glu Val Cys Ser Phe Tyr Leu Lys Ile Asp Thr
1370 1375 1380

Gln Asp Ile Glu Ala Ser His Tyr Arg Gly Tyr Gly Asn Ser Asp
1385 1390 1395
Tyr Lys Arg Ile Val Ala Cys Ala Ser Tyr Lys Pro Ser Lys Glu
1400 1405 1410
Glu Ser Ser Ser Gly Ser Ser His Ala Val Met Asp Ile Ser Leu
1415 1420 1425
Pro Thr Gly Ile Asn Ala Asn Glu Glu Asp Leu Lys Ala Leu Val
1430 1435 1440

Glu Gly Val Asp Gln Leu Phe Thr Asp Tyr Gln Ile Lys Asp Gly
1445 1450 1455
His Val Ile Leu Gln Leu Asn Ser Ile Pro Ser Ser Asp Phe Leu

1460 1465 1470

Cys Val Arg Phe Arg Ile Phe Glu Leu Phe Glu Val Gly Phe Leu

1475 1480 1485

Ser Pro Ala Thr Phe Thr Val Tyr Glu Tyr His Arg Pro Asp Lys

1490 1495 1500

Gln Cys Thr Met Phe Tyr Ser Thr Ser Asn Ile Lys Ile Gln Lys

1505 1510 1515

Val Cys Glu Gly Ala Thr Cys Lys Cys Ile Glu Ala Asp Cys Gly

1520 1525 1530

Gln Met Gln Lys Glu Leu Asp Leu Thr Ile Ser Ala Glu Thr Arg

1535 1540 1545

Lys Gln Thr Ala Cys Asn Pro Glu Ile Ala Tyr Ala Tyr Lys Val

1550 1555 1560

Ile Ile Thr Ser Ile Thr Thr Glu Asn Val Phe Val Lys Tyr Lys

1565 1570 1575

Ala Thr Leu Leu Asp Ile Tyr Lys Thr Gly Glu Ala Val Ala Glu

1580 1585 1590

Lys Asp Ser Glu Ile Thr Phe Ile Lys Lys Val Thr Cys Thr Asn

1595 1600 1605

Ala Glu Leu Val Lys Gly Arg Gln Tyr Leu Ile Met Gly Lys Glu

1610 1615 1620

Ala Leu Gln Ile Lys Tyr Asn Phe Thr Phe Arg Tyr Ile Tyr Pro

1625 1630 1635

Leu Asp Ser Leu Thr Trp Ile Glu Tyr Trp Pro Arg Asp Thr Thr

1640 1645 1650

Cys Ser Ser Cys Gln Ala Phe Leu Ala Asn Leu Asp Glu Phe Ala

1655 1660 1665

Glu Asp Ile Phe Leu Asn Gly Cys

1670 1675

<210> 209

<211> 126

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0008H

<400> 209

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Val His Ile Lys Tyr Met Ile Gln Tyr Tyr Tyr Gly Ala
100 105 110
Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 210

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0008L

<400> 210

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Gly Ser Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 211

<211> 127

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0011H

<400> 211

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Met Ser Glu Phe Leu Gly Trp Ser Asn Tyr Tyr Ser Tyr

100 105 110

Pro Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120 125

<210> 212

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0011L

<400> 212

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asp Asn Ser Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 213

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0015H

<400> 213

Gln Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gly Asp Gln Ile Trp Tyr Asp Gln Trp Tyr Tyr Phe Asp Met
100 105 110
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 214
<211> 107

<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0015L
<400> 214

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Ser Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 215
<211> 122
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0016H019

<400> 215

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15
Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
20 25 30
Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Asp Pro Tyr Tyr Ser Tyr Pro Trp Ser Thr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 216

<211> 107

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0016L

<400> 216

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asn Asn Leu Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 217

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0017H

<400> 217

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gly Gly Trp Trp Gly Gly Ala Leu Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 218

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0017L

<400> 218

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr His Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asp Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 219

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H

<400> 219

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 220

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018L

<400> 220

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 221

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0019H

<400> 221

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Tyr Val Trp Leu Gly Gly Pro Thr Tyr Met Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 222

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0019L

<400> 222

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Asp Gly Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 223

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H

<400> 223

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr Ser Thr Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 224

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L

<400> 224

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Asp Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 225

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0021H

<400> 225

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asp His

20 25 30

Tyr Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Gly Arg Thr Arg Asn Lys Ala Asn Ser Tyr Thr Thr Glu Tyr Ala Ala

50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ser Lys Asn Ser

65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr
85 90 95

Tyr Cys Ala Arg Thr Gly Met Met Tyr Trp Gly Ile Phe Asp Val Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 226

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0021L

<400> 226

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Glu Asp Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr His Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asp Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 227

<211> 328

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> G1dP1

<400> 227

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15

Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu
225 230 235 240

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 228
<211> 328
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> G1dN1
<400> 228
Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
1 5 10 15
Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30
Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45
Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80
Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95
Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
100 105 110

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
115 120 125

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
130 135 140
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
145 150 155 160
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
165 170 175
Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
180 185 190

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
195 200 205
Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
210 215 220
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
225 230 235 240
Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
245 250 255

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
260 265 270
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320

Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
325

<210> 229
<211> 450
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-G1dP1_optimized 20 heavy chain

<400> 229

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 230

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-G1dN1_optimized 18 heavy chain

<400> 230

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 231

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-k0_optimized 20//18 light chain

<400> 231

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 232

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-001-G1dP1

<400> 232

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Arg Gly Lys Arg Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 233

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-002-G1dP1

<400> 233

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Arg Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Arg Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
435 440 445

Ser Pro
450

<210> 234

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-003-G1dP1

<400> 234

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Arg Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190
Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
245 250 255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
290 295 300
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
305 310 315 320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
340 345 350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
355 360 365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
370 375 380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
405 410 415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 235

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-005-G1dP1

<400> 235

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Arg Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
420 425 430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445
Ser Pro
450

<210> 236
<211> 450
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020H0261-008-G1dP1
<400> 236
Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Arg
20 25 30
Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45
Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60
Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 237

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-009-G1dP1

<400> 237

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Lys Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 238

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-013-G1dP1

<400> 238

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Arg

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 239

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-018-G1dP1

<400> 239

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Arg Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 240

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-019-G1dP1

<400> 240

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Lys Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 241

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-020-G1dP1

<400> 241

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Asn Arg Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 242

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-021-G1dP1

<400> 242

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Gly Arg Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 243

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-022-G1dP1

<400> 243

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80
Leu Lys Leu Ser Arg Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
260 265 270
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
275 280 285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 244

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-023-G1dP1

<400> 244

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Arg Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 245

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-025-G1dP1

<400> 245

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Gly Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 246

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-026-G1dP1

<400> 246

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Lys Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 247

<211> 450

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-032-G1dP1

<400> 247

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Lys Ser Arg Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 248

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-035-G1dP1

<400> 248

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Arg Val Arg Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 249

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-036-G1dP1

<400> 249

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu
1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly
20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp
35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu
50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser
65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Arg Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 250

<211> 450

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020H0261-037-G1dP1

<400> 250

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Glu

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Val Ser Gly Tyr Ser Ile Ser Ser Gly

20 25 30

Tyr Tyr Trp Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp

35 40 45

Ile Gly Ser Ile Tyr His Ser Gly Ser Thr Tyr Tyr Asn Lys Lys Leu

50 55 60

Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser

65 70 75 80

Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg His Asp Pro Thr Trp Tyr His His Gly Tyr Phe Asp Tyr Trp

100 105 110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro

115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr

130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr

145 150 155 160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro

165 170 175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

180 185 190

Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn

195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser

210 215 220

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu

225 230 235 240

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

245 250 255

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

260 265 270

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

275 280 285

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

290 295 300

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

305 310 315 320

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro

325 330 335

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

340 345 350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Lys Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val

355 360 365

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val

370 375 380

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

385 390 395 400

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr

405 410 415

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

420 425 430

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

435 440 445

Ser Pro

450

<210> 251

<211> 447

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-002-G1dN1

<400> 251

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Arg Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 252

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-003-G1dN1

<400> 252

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Arg Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 253

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-005-G1dN1

<400> 253

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Arg Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 254

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-008-G1dN1

<400> 254

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Arg
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 255

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-009-G1dN1

<400> 255

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Lys Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 256

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-013-G1dN1

<400> 256

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Arg

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 257

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-014-G1dN1

<400> 257

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445
<210> 258

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-016-G1dN1

<400> 258

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Arg
50 55 60

Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 259

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-018-G1dN1

<400> 259

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Arg Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 260

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-019-G1dN1

<400> 260

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Lys Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 261

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-020-G1dN1

<400> 261

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 262
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-021-G1dN1

<400> 262

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Gly Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 263

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-022-G1dN1

<400> 263

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 264

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-023-G1dN1

<400> 264

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Arg Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 265
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0018H0012-024-G1dN1
<400> 265

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 266

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-025-G1dN1

<400> 266

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Gly Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 267

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-026-G1dN1

<400> 267

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30
Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Lys Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 268
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0018H0012-027-G1dN1
<400> 268
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Arg Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 269

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-032-G1dN1

<400> 269

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Lys Ser Arg Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 270

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0018H0012-037-G1dN1

<400> 270

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser

1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr

20 25 30

Ser Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gly Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Gln Leu Tyr Gly Tyr Tyr Glu Leu Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 271

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-001-k0

<400> 271

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Lys

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 272
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-002-k0
<400> 272

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 273
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-003-k0

<400> 273

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Arg Arg Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 274

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-004-k0

<400> 274

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Lys Glu Leu Gln Lys Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 275

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-005-k0

<400> 275

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 276

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-006-k0

<400> 276

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 277

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-007-k0

<400> 277

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 278
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-008-k0
<400> 278
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Lys Lys Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 279
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-009-k0
<400> 279
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Arg Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 280
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-010-k0
<400> 280
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 281
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-011-k0
<400> 281
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Lys Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 282
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-012-k0
<400> 282
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 283
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-013-k0
<400> 283
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 284
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-016-k0

<400> 284
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 285
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-017-k0
<400> 285
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45
Lys Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 286
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-018-k0

<400> 286

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 287

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-019-k0

<400> 287

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 288

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-021-k0

<400> 288

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 289

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-022-k0

<400> 289

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 290

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-023-k0

<400> 290

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Lys Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 291

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-024-k0

<400> 291

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 292
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-025-k0
<400> 292
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 293
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-027-k0
<400> 293
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 294
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-028-k0
<400> 294
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 295
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-029-k0
<400> 295
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 296
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-031-k0
<400> 296
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 297
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-032-k0
<400> 297
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 298
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-034-k0
<400> 298
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Lys Ile Ser Arg Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 299
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-036-k0
<400> 299

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 300
<211> 214
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-037-k0

<400> 300

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 301

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-038-k0

<400> 301

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 302

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-040-k0

<400> 302

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile His Asn Asp

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 303

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-041-k0

<400> 303

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Glu Ala Arg Glu Leu Gln Arg Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 304
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-043-k0
<400> 304
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Arg Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Arg Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 305
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> CFP0020L233-044-k0
<400> 305
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 306
<211> 214
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220><223> CFP0020L233-045-k0
<400> 306
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile His Asn Asp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Glu Ala Ser Glu Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Arg Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Lys Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Tyr Ser Ser Tyr Pro Tyr
85 90 95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210
<210> 307
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1H-P1394m
<400> 307
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Lys Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445
<210> 308
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1H-P1398m
<400> 308
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Lys Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 309

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H-P1466m

<400> 309

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Arg Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 310

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H-P1468m

<400> 310

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Arg Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 311

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H-P1469m

<400> 311

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Lys Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 312
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1H-P1470m
<400> 312
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Arg Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 313

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H-P1471m

<400> 313

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Lys Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 314
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1H-P1480m
<400> 314
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Arg Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 315

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H-P1481m

<400> 315

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Lys Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 316
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1H-P1482m
<400> 316

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Arg Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 317

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H-P1483m

<400> 317

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Lys Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 318
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1H-P1512m
<400> 318
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Arg Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 319

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H-P1513m

<400> 319

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
385 390 395 400
Asp Ser Lys Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430
Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 320
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1H-P1514m
<400> 320
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val
35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
210 215 220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
225 230 235 240
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
260 265 270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
275 280 285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
290 295 300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
325 330 335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
340 345 350
Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
355 360 365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Arg Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 321

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Ab1H-P1515m

<400> 321

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His

20 25 30

Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45

Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu

65 70 75 80

Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala

85 90 95

Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe

115 120 125

Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu

130 135 140

Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp

145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Lys Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
405 410 415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 322
<211> 447
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Ab1H-P1653m
<400> 322

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Asn His
20 25 30
Asp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Tyr Val

35 40 45
Ser Ile Ile Asn Thr Tyr Gly Asn His Trp Tyr Ala Asn Trp Ala Ser
50 55 60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80
Gln Ile Asp Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95
Arg Glu Thr His His Gly Ser Ser Gly Ile Asp His Trp Gly Gln Gly

100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys

210 215 220

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro

225 230 235 240

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser

245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp

260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn

275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val

290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu

305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys

325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr

340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr

355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu

370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Arg Lys

405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu

420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440 445

<210> 323

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F8M-F1847mv1

<400> 323

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr

20 25 30

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 324
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> F8M-F1847mv2
<400> 324

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60
Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Ala His Thr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 325

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F8ML

<400> 325

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 326

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F8M-F1868mv1

<400> 326

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr

20 25 30

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val

195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys

210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp
405 410 415
Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
420 425 430

Glu Ala Leu His Ala His Thr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 327

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F8M-F1868mv1

<400> 327

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60
Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly

100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu

165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser

180 185 190

Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205

Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

210 215 220

Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe

225 230 235 240

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro

245 250 255

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val

290 295 300

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys

305 310 315 320

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val

355 360 365

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly

370 375 380

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His

420 425 430

Ala His Thr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 328

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F8M-F1927mv1

<400> 328

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr

20 25 30

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe
165 170 175
Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val
180 185 190
Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val
195 200 205
Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys
210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly
225 230 235 240
Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile
245 250 255
Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu
260 265 270
Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His
275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg
290 295 300
Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys
305 310 315 320
Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu
325 330 335
Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu
355 360 365
Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp
370 375 380
Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val
385 390 395 400
Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His
420 425 430
Glu Ala Leu His Ala His Tyr Thr Arg Lys Glu Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 329
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> F8M-F1927mv2
<400> 329

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60
Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160

Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175
Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro
195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro

210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Arg Arg Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr

275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser
325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro

340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp
385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp

405 410 415

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu His Glu Ala Leu His

420 425 430

Ala His Tyr Thr Arg Glu Glu Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 330

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Q499-z121

<400> 330

Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Tyr Tyr

20 25 30

Asp Ile Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ser Ile Ser Pro Ser Gly Gln Ser Thr Tyr Tyr Arg Arg Glu Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Thr Gly Arg Glu Tyr Gly Gly Gly Trp Tyr Phe Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly

115 120 125

Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser

130 135 140

Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val

145 150 155 160

Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe

165 170 175

Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val

180 185 190

Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val

195 200 205

Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys

210 215 220

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly

225 230 235 240

Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile

245 250 255

Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu

260 265 270

Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His

275 280 285

Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg

290 295 300

Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys

305 310 315 320

Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu

325 330 335

Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr

340 345 350

Thr Leu Pro Pro Ser Gln Lys Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu

355 360 365

Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp

370 375 380

Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val

385 390 395 400

Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp

405 410 415

Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His
420 425 430
Glu Ala Leu His Asn Arg Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro
435 440 445

<210> 331
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> J327-z119
<400> 331

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Leu Lys Lys Pro Gly Ala
1 5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Asn
20 25 30
Asn Met Asp Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45
Gly Asp Ile Asn Thr Arg Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asn Glu Glu Phe
50 55 60
Gln Asp Arg Val Ile Met Thr Val Asp Lys Ser Thr Asp Thr Ala Tyr
65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr His Cys
85 90 95
Ala Arg Arg Lys Ser Tyr Gly Tyr Tyr Leu Asp Glu Trp Gly Glu Gly
100 105 110
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
115 120 125
Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu
130 135 140
Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
145 150 155 160
Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
165 170 175

Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
180 185 190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro

195 200 205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro
210 215 220
Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe
225 230 235 240
Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
245 250 255
Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

260 265 270
Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
275 280 285
Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val
290 295 300
Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys
305 310 315 320
Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser

325 330 335
Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro
340 345 350
Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val
355 360 365
Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly
370 375 380
Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp

385 390 395 400
Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp
405 410 415
Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His

420 425 430

Asn His Tyr Thr Gln Glu Ser Leu Ser Leu Ser Pro

435 440

<210> 332

<211> 214

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> L404-k

<400> 332

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Arg Asn Ile Glu Arg Gln

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Glu Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gln Ala Ser Arg Lys Glu Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Arg Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Asp Pro Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr

180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210