



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2011-0138412
 (43) 공개일자 2011년12월27일

(51) Int. Cl.

C07K 16/24 (2006.01) *C12N 15/13* (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) *A61P 37/00* (2006.01)

(21) 출원번호 10-2011-7027346

(22) 출원일자(국제출원일자) 2010년04월16일
 심사청구일자 없음

(85) 번역문제출일자 2011년11월16일

(86) 국제출원번호 PCT/US2010/031406

(87) 국제공개번호 WO 2010/121140
 국제공개일자 2010년10월21일

(30) 우선권주장

61/170,053 2009년04월16일 미국(US)

(71) 출원인

애보트 바이오테라퓨틱스 코포레이션

미국 캘리포니아 94063 레드우드 시티 씨포트 블러바드 1500

(72) 발명자

하딩 피오나 에이

미국 95050 캘리포니아주 산타 클라라 루이스 스트리트 772

아카마츠 요시코

미국 94306 캘리포니아주 팔로 알토 드리스콜 플레이스 514

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

김진희, 강승옥

전체 청구항 수 : 총 80 항

(54) 항-TNF- α 항체 및 그의 용도

(57) 요약

본 발명은 종양 괴사 인자 알파("TNF- α ")에 대한 항체 및 이러한 항체의, 예를 들어 TNF- α 의 활성 및/또는 과생성과 연관된 질환 치료를 위한 용도에 관한 것이다.

(72) 발명자

두브릿지 로버트 비

미국 94002 캘리포니아주 벨몬트 홀리 로드 825

파워스 데이비드 비

미국 94930 캘리포니아주 페어팩스 라이브 오크 애

버뉴 77

특허청구의 범위

청구항 1

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개의 상보성 결정 영역("CDR")을 포함하는 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR은 CDR-L2에 S3K, CDR-L2에 S3R, CDR-L2에 T4H, CDR-L2에 T4Q, CDR-L2에 T4F, CDR-L2에 T4W, CDR-L2에 T4Y, CDR-L2에 L5R, CDR-L2에 L5K, CDR-L2에 Q6R, CDR-H1에 Y2H, CDR-H1에 A3G 및 CDR-H2에 T3N에서 선택된 1 이상의 치환, 및 경우에 따라 표 11 및 13 내지 25 중 1 이상에서 선택된 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하며, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 2

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개 CDR을 포함하는 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR은 CDR-L2에 T4F, CDR-L2에 T4W, CDR-L2에 T4Y, CDR-L2에 L5R, CDR-L2에 L5K, CDR-L2에 Q6R, CDR-H1에 Y2H, CDR-H1에 A3G 및 CDR-H2에 T3N에서 선택된 1 이상의 치환, 및 경우에 따라 표 11 및 13 내지 25 중 1 이상에서 선택된 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하며, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 3

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개 CDR을 포함하는 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR은 CDR-L2에 T4F, CDR-L2에 T4W, CDR-L2에 T4Y, CDR-L2에 L5R, CDR-L2에 L5K, CDR-L2에 Q6R, CDR-H1에 Y2H, CDR-H1에 A3G 및 CDR-H2에 T3N에서 선택된 1 이상의 치환, 및 경우에 따라 표 11 및 13 내지 25 중 1 이상에서 선택된 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하고, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 16개 이하, 15개 이하, 14개 이하, 13개 이하, 12개 이하, 11개 이하, 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하 또는 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 임의의 개별 CDR은 항체 D2E7의 상응하는 CDR 서열과 비교하여 3개를 넘지 않는 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 6

제1항 내지 제5항 중 어느 한 항에 있어서, 임의의 개별 CDR은 항체 D2E7의 상응하는 CDR 서열과 비교하여 2개를 넘지 않는 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 7

제1항 내지 제6항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 S3K를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 S3R을 갖는 것인 항-

TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 T4H를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 T4Q를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 T4F를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 12

제1항 내지 제11항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 T4W를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 13

제1항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 T4Y를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 14

제1항 내지 제13항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 L5R을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 15

제1항 내지 제14항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 L5K를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-L2와 비교하여 CDR-L2에 치환 Q6R을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 17

제1항 내지 제16항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-H1과 비교하여 CDR-H1에 치환 D1G를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 18

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-H1과 비교하여 CDR-H1에 치환 Y2H를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 19

제1항 내지 제18항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-H1과 비교하여 CDR-H1에 치환 A3G를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, D2E7의 CDR-H2와 비교하여 CDR-H2에 치환 T3N을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 각각 단일클론 항체 또는 단일클론 항체의 항-TNF- α 결합 단편인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 각각 인간 또는 인간화 항체, 또는 인간 또는 인간화 항체의 항-TNF- α 결합 단편인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 23

제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 24

제23항에 있어서, IgG1인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 25

제1항 내지 제24항 중 어느 한 항에 있어서, ADCC 활성을 증가시키는 Fc 영역 내 1 이상의 돌연변이를 포함하는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 26

제1항 내지 제25항 중 어느 한 항에 있어서, 비푸코실화된 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 27

제1항 내지 제26항 중 어느 한 항에 있어서, Fc γ R에 대한 결합을 증가시키는 Fc 영역 내 1 이상의 돌연변이를 포함하는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 28

제1항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, ADCC 활성을 감소시키는 Fc 영역 내 1 이상의 돌연변이를 포함하는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 29

제1항 내지 제28항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 1 이상의 돌연변이 이외에, 서열번호 2에 상응하는 V_H 서열 및 서열번호 4에 상응하는 V_L 서열을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 30

제1항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 서열번호 2에 상응하는 V_H 서열 및 서열번호 4에 상응하는 V_L 서열을 갖는 항체의 친화도보다 1.1 내지 4배 높은 친화도를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 31

제30항에 있어서, 서열번호 2에 상응하는 V_H 서열 및 서열번호 4에 상응하는 V_L 서열을 갖는 항체의 친화도 보다 1.5 내지 3배 높은 친화도를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 32

제30항 또는 제31항에 있어서, 친화도는 경쟁 ELISA의 측정값, BIAcore로 분석된 K_D 의 측정값, 또는 둘 모두인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 33

제1항 내지 제32항 중 어느 한 항에 있어서, 정제된 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 34

제33항에 있어서, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 98% 이상의 균질도로 정제되는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 35

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개 CDR을 포함하는 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR은 CDR-L1에 R7Q; A11S; R7Q + A11S; N8T; N8T + A11S; I6T; A11G; I6T + A11G; Q4G; Q4G + A11S; Q4G + A11G; Q4H; Q4H + A11S; Q4R; Q4R + A11S; G5S + A11S; N8S + A11S; I6T + A11S; N8T + A11G에서 선택된 치환 또는 치환의 조합, 및 경우에 따라 표 12 내지 25 중 1 이상에서 선택된 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하며, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 36

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개 CDR을 포함하는 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR은 CDR-L1에 R7Q; A11S; R7Q + A11S; N8T; N8T + A11S; I6T; A11G; I6T + A11G; Q4G; Q4G + A11S; Q4G + A11G; Q4H; Q4H + A11S; Q4R; Q4R + A11S; G5S + A11S; N8S + A11S; I6T + A11S; N8T + A11G에서 선택된 치환 또는 치환의 조합, 및 경우에 따라 표 12 내지 18 중 1 이상에서 선택된 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하고, 6개 CDR은 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 37

제35항 또는 제36항에 있어서, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 16개 이하, 15개 이하, 14개 이하, 13개 이하, 12개 이하, 11개 이하, 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 또는 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 38

제35항 또는 제36항에 있어서, 임의의 개별 CDR은 항체 D2E7의 상응하는 CDR 서열과 비교하여 3개를 넘지 않는 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 39

제35항 또는 제36항에 있어서, 임의의 개별 CDR은 항체 D2E7의 상응하는 CDR 서열과 비교하여 2개를 넘지 않는 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 40

제35항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, CDR-L1은 D2E7의 CDR-L1과 비교하여 치환 Q4R + A11S를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 41

제35항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, CDR-L1은 D2E7의 CDR-L1과 비교하여 치환 Q4G + A11G를 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 42

제35항 내지 제39항에 있어서, CDR-L1은 D2E7의 CDR-L1과 비교하여 치환 Q4H + A11S를 갖는 것인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 43

제35항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, CDR-L1은 D2E7의 CDR-L1과 비교하여 치환 G5S + A11S를 갖는 것인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 44

제35항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, 각각 단일클론 항체 또는 단일클론 항체의 항-TNF-α 결합 단편인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 45

제35항 내지 제44항 중 어느 한 항에 있어서, 각각 인간 또는 인간화 항체, 또는 인간 또는 인간화 항체의 항-TNF-α 결합 단편인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 46

제35항 내지 제45항 중 어느 한 항에 있어서, IgG1인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 47

제46항에 있어서, IgG1인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 48

제35항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, ADCC 활성을 증가시키는 Fc 영역 내 1 이상의 돌연변이를 포함하는 것인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 49

제35항 내지 제48항 중 어느 한 항에 있어서, 비푸코실화된 것인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 50

제35항 내지 제49항 중 어느 한 항에 있어서, Fc γ R에 대한 결합을 증가시키는 Fc 영역 내 1 이상의 돌연변이를 포함하는 것인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 51

제35항 내지 제50항 중 어느 한 항에 있어서, ADCC 활성을 감소시키는 Fc 영역 내 1 이상의 돌연변이를 포함하는 것인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 52

제35항 내지 제51항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 1 이상의 돌연변이 이외에, 서열번호 2에 상응하는 V_H 서열 및 서열번호 4에 상응하는 V_L 서열을 갖는 것인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 53

제35항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, TNF-α에 대한 친화도가 서열번호 2에 상응하는 V_H 서열 및 서열 번호 4에 상응하는 V_L 서열을 갖는 항체의 친화도의 0.75 내지 1.5배인 항-TNF-α 항체 또는 항체의 항-TNF-α 결합 단편.

청구항 54

제35항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, TNF-α에 대한 친화도가 서열번호 2에 상응하는 V_H 서열 및 서열

번호 4에 상응하는 V_L 서열을 갖는 항체의 친화도의 1.1 내지 3배인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 55

제53항 또는 제54항에 있어서, 친화도는 경쟁 ELISA의 측정값, BIAcore로 분석된 K_D 의 측정값, 또는 둘 모두인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 56

제35항 내지 제55항 중 어느 한 항에 있어서, 정제된 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 57

제56항에 있어서, 85% 이상, 90% 이상, 95% 이상 또는 98% 이상의 균질도로 정제되는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 58

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개 CDR을 포함하는 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR은 CDR-L1에 치환 G5S + A11S, 및 경우에 따라 표 11 내지 25 중 1 이상에서 선택된 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하고, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 59

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개 CDR을 포함하는 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR은 CDR-L1에 치환 G5S + A11G, 및 경우에 따라 표 11 내지 25 중 1 이상에서 선택되는 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하고, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 60

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개 CDR을 포함하는 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR은 CDR-L2에 S3N, CDR-L2에 T4V, CDR-L2에 Q6K 및 CDR-H1에 D1G에서 선택된 1 이상의 치환 및 표 11, 12 및 25에서 선택된 1 이상의 치환 또는 치환의 조합, 및 경우에 따라 표 11 내지 25 중 1 이상에서 선택된 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하며, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 61

제60항에 있어서, 상기 CDR은 CDR-L2에 S3N, CDR-L2에 T4V, CDR-L2에 Q6K 및 CDR-H1에 D1G에서 선택된 1 이상의 치환 및 CDR-L2에 S3K, CDR-L2에 S3R, CDR-L2에 T4H, CDR-L2에 T4Q, CDR-L2에 T4F, CDR-L2에 T4W, CDR-L2에 T4Y, CDR-L2에 L5R, CDR-L2에 L5K, CDR-L2에 Q6R, CDR-H1에 Y2H, CDR-H1에 A3G 및 CDR-H2에 T3N에서 선택된 1 이상의 치환을 포함하고, 6개 CDR은 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 62

서열번호 5(CDR-H1), 서열번호 6(CDR-H2), 서열번호 7(CDR-H3), 서열번호 8(CDR-L1), 서열번호 9(CDR-L2) 및 서열번호 10(CDR-H3)에 상응하는 아미노산 서열을 갖는 6개의 상보성 결정 영역("CDR")을 포함하는 항-TNF- α

항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편으로서, 상기 CDR 서열은 항체 D2E7의 CDR 서열이고, 상기 CDR-L2 CDR은

- a. S3K, T4H, L5R 및 Q6R;
- b. S3K, T4Q, L5R 및 Q6K;
- c. S3K, T4Y 및 L5K;
- d. S3K 및 T4Y;
- e. S3N, T4V, L5R 및 Q6K;
- f. S3N, T4W, L5R 및 Q6R;
- g. S3R, T4F 및 L5R;
- h. S3R, T4F, L5R 및 Q6R;
- i. S3R, T4H 및 Q6K;
- j. S3R, T4W, L5K 및 Q6R;
- k. T4H, L5K 및 Q6K;
- l. T4H, L5K 및 Q6R;
- m. T4W, L5R 및 Q6R; 및
- n. T4Y 및 L5R

에서 선택된 치환의 1 이상의 조합을 포함하고,

경우에 따라 상기 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편은 표 11 내지 24 중 1 이상에서 선택된 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함하며, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17 개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 63

제58항 내지 제62항 중 어느 한 항에 있어서, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 16개 이하, 15 개 이하, 14개 이하, 13개 이하, 12개 이하, 11개 이하, 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하 또는 6개 이하의 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 64

제58항 내지 제63항 중 어느 한 항에 있어서, 임의의 개별 CDR은 항체 D2E7의 상응하는 CDR 서열과 비교하여 3 개를 넘지 않는 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 65

제58항 내지 제64항 중 어느 한 항에 있어서, 임의의 개별 CDR은 항체 D2E7의 상응하는 CDR 서열과 비교하여 2 개를 넘지 않는 아미노산 치환을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 66

제58항 내지 제65항 중 어느 한 항에 있어서, 각각 인간 또는 인간화 항체, 또는 인간 또는 인간화 항체의 항-TNF- α 결합 단편인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 67

제58항 내지 제66항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 1 이상의 돌연변이 이외에, 서열번호 2에 상응하는 V_H 서열 및 서열번호 4에 상응하는 V_L 서열을 갖는 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 68

제1항 내지 제67항 중 어느 한 항에 있어서, 이중특이적 항체 또는 이중특이적 항체의 TNF- α 결합 단편인 항-

TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 69

제68항에 있어서, 상기 이중특이적 항체는 TNF- α 및 다른 프로염증성 사이토카인에 특이적인 것인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 70

제69항에 있어서, 상기 프로염증성 사이토카인은 럼포토신, 인터페론- γ 또는 인터루킨-1인 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편.

청구항 71

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 따른 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편 및 약학적 허용 담체를 포함하는 약학 조성물.

청구항 72

제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 따른 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산.

청구항 73

제72항의 핵산을 포함하는 벡터.

청구항 74

제73항에 따른 벡터로 형질전환된 원핵생물 숙주 세포.

청구항 75

제73항에 따른 벡터로 형질전환된 진핵생물 숙주 세포.

청구항 76

제72항의 뉴클레오티드 서열을 발현하도록 조작된 진핵생물 숙주 세포.

청구항 77

제76항에 있어서, 포유동물 숙주 세포인 진핵생물 숙주 세포.

청구항 78

항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편의 제조 방법으로서,

- (a) 제76항 또는 제77항의 진핵생물 숙주 세포를 배양하는 단계; 및
 - (b) 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편을 회수하는 단계
- 를 포함하는 제조 방법.

청구항 79

면역 질환의 치료 방법으로서, 이를 필요로 하는 인간 환자에게 제1항 내지 제70항 중 어느 한 항에 따른 항-TNF- α 항체 또는 항체의 항-TNF- α 결합 단편 또는 제71항에 따른 약학 조성물의 치료 유효량을 투여하는 것을 포함하는 치료 방법.

청구항 80

제79항에 있어서, 면역 질환은 전신 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 갑상선염, 이식편대 숙주 질환, 경피증, 진성 당뇨병, 그레이브스병, 유육종증, 만성 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 또는 크론병인 치료 방법.

명세서

기술분야

1. 관련 출원에 대한 교차 참조

[0001] 본 출원은 2009년 4월 16일에 출원된 미국 가출원 제61/170,053호의 혜택을 청구하고, 이의 내용을 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다.

2. 서열목록에 대한 참조

[0004] 본원과 함께 동시에 제출된 서열목록은 참조하여 본원에 포함시킨다.

3. 본 발명의 분야

[0006] 본 발명은 항-TNF- α 항체, 항-TNF- α 항체를 포함하는 약학 조성물, 및 이러한 항체의 치료적 용도에 관한 것이다.

배경기술

4. 배경기술

[0008] 종양 괴사 인자 알파(TNF- α)는 면역계 세포에 의해 방출되고 이와 상호작용하는 프로염증성 사이토카인이다. TNF- α 는 만성 질환 예컨대 류마티스 관절염, 크론병, 궤양성 대장염 및 다발성 경화증을 포함한, 많은 인간 질환에서 상향조절되는 것으로 확인되었다. 예를 들어, 고농도의 TNF- α 가 류마니스 관절염 환자의 관절 낭액에서 확인되었고 류마티스 관절염의 특징인 관절 파괴 및 병적 염증 둘 모두에서 중요한 역할을 한다.

[0009] 인간 TNF- α 는 17 kDa 단백질이고, 활성형은 동종삼량체로서 존재한다(Pennica et al., 1984, Nature 312:724-729; Davis et al., 1987, Biochemistry 26:1322-1326; Jones et al., 1989, Nature 338:225-228). TNF- α 는 2종의 구조적으로는 관련되지만 기능적으로는 구별되는, 대부분의 세포 유형에서 공동발현되는 세포 표면 수용체, p55 및 p75와 상호작용하여 그 생물학적 영향을 발현한다(Loetscher et al., 1990, Cell 61:351-9; Smith et al., 1990, Science 248(4958):1019-23). p55는 또한 p55R; p55TNFR; CD120a; TNFR I; TNFR 1 및 TNFRSF1a로도 알려져 있다. p75는 또한 p75R; p75TNFR; CD120b; TNFR II; TNFR 2 및 TNFRSF1b로도 알려져 있다. 이들 2 수용체는 또한 TNF- α 에 결합할 수 있는 가용성 분자로서 단백질가수분해적으로 방출된다.

[0010] 질환, 구체적으로 류마티스 관절염의 치료 방법으로서 TNF- α 활성의 억제는 항체 및 가용성 수용체 등과 같은 억제제를 이용하는 수많은 다양한 방법에 의해 실시되었다. 예로는 인간 면역글로불린의 Fc 부분에 연결된 2개의 p75 가용성 TNF-수용체 도메인을 포함하는 재조합 융합 단백질인 상품명 ENBREL®로서 Immunex Corporation에서 판매하는, 에타너셉트가 포함된다. REMICADE®로서 Centocor Corporation에서 판매하는 인플릭시맙은 췄과 동물 항-TNF- α 가변 도메인 및 인간 IgG1 불변 도메인을 갖는 키메라 항체이다. 다른 억제제는 천연 TNF- α 와 삼량체를 형성하고 수용체 결합을 저해하는 조작된 TNF- α 분자를 포함한다(Steed et al., 2003, Science 301:1895-1898; WO 03/033720; WO 01/64889). TNF- α 활성을 억제하는 이러한 현행 방법들은 TNF- α 가 p55와 p75 수용체에 결합하는 것을 차단한다(예를 들어, Mease, 2005, Expert Opin. Biol. Therapy 5(11):1491-1504). HUMIRA®로서 Abbott Laboratories에서 판매하는 아달리무맙은 재조합의, 완전한 인간 항-TNF- α 항체이다(Tussirot and Wendling, 2004, Expert Opin. Pharmacother. 5:581-594). 아달리무맙은 TNF- α 에 특이적으로 결합하여 p55 및 p75 세포 표면 TNF- α 수용체와의 상호작용을 차단한다. 아달리무맙은 또한 표면 TNF- α 발현 세포를 보체-의존적 세포독성("CDC") 및 항체-의존적 세포 매개 세포독성("ADCC")을 통해 시험관 내에서 용해시킨다. 아달리무맙은 림포특신(TNF- β)에 결합하지 않거나 또는 불활성화시키지 않는다. 아달리무맙은 또한 백혈구 이동을 책임지는 부착 분자의 수준을 변화시키는 것을 포함하여($1\text{-}2 \times 10^{-10}$ M의 IC₅₀로 ELAM-1, VCAM-1, 및 ICAM-1), TNF에 의해 유도 또는 조절되는 생물학적 반응을 조절한다.

[0011] 인간 항체임에도 불구하고, 아달리무맙은 인간에 투여시 면역 반응을 유발할 수 있다. 이러한 면역 반응은 순환계로부터 이 항체의 면역 복합체-매개 제거를 일으킬 수 있고, 치료에 적합하지 않은 반복적인 투여를 하게 되어, 환자에 대한 치료 혜택이 감소되고 항체의 재투여를 제한한다.

[0012] 따라서, 예를 들어, 아달리무맙과 비교하여 면역원성이 감소된 변이체 또는 낮은 용량으로 투여할 수 있는 아달

리무맙보다 친화성이 높은 변이체를 생성시킴으로써, 이러한 문제중 하나 이상을 극복한 개선된 항-TNF- α 항체 또는 단편을 제공하려는 요구가 존재한다.

[0013] 섹션 4 또는 본원의 임의의 다른 섹션의 임의의 참조문헌에 대한 인용 또는 확인은 이러한 참조문헌이 본원 내용의 종래 기술로서 입수가능하다는 용인으로 제한되는 것은 아니다.

발명의 내용

5. 발명의 요약

본 발명은 D2E7과 비교하여 감소된 면역원성 및 TNF- α 에 대한 결합성이 개선된 항-TNF- α 항체 D2E7의 변이체에 관한 것이다. D2E7는 본원에서 (아미노에서 카르복시 말단 순서로) CDR-H1(서열번호 5), CDR-H2(서열번호 6) 및 CDR-H3(서열번호 7)이라고 하는, 3개의 중쇄 CDR, 및 본원에서 (아미노에서 카르복시 말단 순서로), CDR-L1(서열번호 8), CDR-L2(서열번호 9) 및 CDR-L3(서열번호 10)이라고 하는 3개의 경쇄 CDR을 갖는다. 본원의 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 대체로 D2E7과 비교하여 1 이상의 CDR에 1 이상의 아미노산 치환을 갖는다.

[0016] 일정 측면에서, 1 이상의 아미노산 치환 또는 치환의 조합은 표 11, 12 및/또는 표 25에서 선택된다. 추가 돌연변이(치환, 결실 또는 삽입)는 표 13-25 중 1 이상에서 선택될 수 있다.

[0017] 일정 측면에서, 본 발명은 D2E7과 비교하여, TNF- α 에 대한 결합성이 개선된, 예를 들어, 친화성이 개선된 항체 D2E7의 항-TNF- α 의 변이체에 관한 것이다. 특정 구체예에서, 본원의 항체는 TNF- α 에 대해 D2E7 보다 높은 친화도, 예를 들어 BIAcore로 측정시 개선된 K_d 및/또는 경쟁 ELISA로 측정시 개선된 친화도를 갖는다.

[0018] 일 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 CDR-L2에 S3K(서열번호 9), CDR-L2에 S3R(서열번호 9), CDR-L2에 S3N(서열번호 9), CDR-L2에 T4H(서열번호 9), CDR-L2에 T4Q(서열번호 9), CDR-L2에 T4V(서열번호 9), CDR-L2에 T4F(서열번호 9), CDR-L2에 T4W(서열번호 9), CDR-L2에 T4Y(서열번호 9); CDR-L2에 L5R(서열번호 9), CDR-L2에 L5K(서열번호 9), CDR-L2에 Q6K(서열번호 9), CDR-L2에 Q6R(서열번호 9), CDR-H1에 D1G(서열번호 5), CDR-H1에 Y2H(서열번호 5); CDR-H1에 A3G(서열번호 5) 및 CDR-H2에 T3N(서열번호 6)에서 선택된 1 이상의 치환을 포함한다. 개선된 친화도 변이체 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편에 도입될 수 있는 추가 돌연변이는 탈면역화 치환, 예컨대 표 11에 기술된 치환과 다른 돌연변이, 예를 들어 이에 제한되는 것은 아니고 표 13 내지 24에 기술된 공지 돌연변이 또는 표 25에 기술된 돌연변이를 포함하여 TNF- α 에 대한 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편의 능력을 파괴하지 않는, 치환일 수 있다.

[0019] 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 CDR-L2에 T4F, CDR-L2에 T4W, CDR-L2에 T4Y, CDR-L2에 L5R, CDR-L2에 L5K, CDR-L2에 Q6R, CDR-H1에 Y2H, CDR-H1에 A3G, 및 CDR-H2에 T3N에서 선택된 1 이상의 치환을 포함한다. 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편에 도입될 수 있는 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합은 표 11 및 13 내지 25 중 1 이상에서 선택될 수 있다.

[0020] 다른 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 CDR-L2에 T4F, CDR-L2에 T4W, CDR-L2에 T4Y, CDR-L2에 L5R, CDR-L2에 L5K, CDR-L2에 Q6R, CDR-H1에 Y2H, CDR-H1에 A3G 및 CDR-H2에 T3N에서 선택된 1 이상의 치환을 포함한다. 이러한 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편에 도입할 수 있는 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합은 표 11 및 13 내지 18 중 1 이상에서 선택할 수 있다.

[0021] 또 다른 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 치환 CDR-L1에 치환 G5S + A11S 또는 G5S + A11G를 포함한다. 이러한 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편에 도입할 수 있는 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합은 표 11 내지 25 중 1 이상에서 선택될 수 있다.

[0022] 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 표 11, 12 및 25에서 선택된 1 이상의 치환과 조합하여 CDR-L2에 S3N, CDR-L2에 T4V, CDR-L2에 Q6K 및 CDR-H1에 D1G에서 선택된 치환을 포함한다. 이러한 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편에 도입할 수 있는 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합은 표 11 내지 24 중 1 이상에서 선택될 수 있다.

[0023] 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 CDR-L2에 S3K, CDR-L2에 S3R, CDR-L2에 T4H, CDR-L2에 T4Q, CDR-L2에 T4F, CDR-L2에 T4W, CDR-L2에 T4Y, CDR-L2에 L5R, CDR-L2에 L5K, CDR-L2에 Q6R, CDR-H1에 Y2H, CDR-H1에 A3G 및 CDR-H2에 T3N에서 선택된 1 이상의 치환과 조합하여 CDR-L2에 S3N, CDR-L2에 T4V, CDR-L2에 Q6K 및 CDR-H1에 D1G에서 선택된 치환을 포함한다.

- [0024] 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 S3K, T4H, L5R 및 Q6R; S3K, T4Q, L5R 및 Q6K; S3K, T4Y 및 L5K; S3K 및 T4Y; S3N, T4V, L5R 및 Q6K; S3N, T4W, L5R 및 Q6R; S3R, T4F 및 L5R; S3R, T4F, L5R 및 Q6R; S3R, T4H 및 Q6K; S3R, T4W, L5K 및 Q6R; T4H, L5K 및 Q6K; T4H, L5K 및 Q6R; T4W, L5R 및 Q6R; 및 T4Y 및 CDR-L2에 L5R에서 선택된 치환의 조합을 포함하고, 6개 CDR은 함께 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는다. 항-TNF- α 항체 또는 항-TNF- α 결합 단편은 경우에 따라 표 11 내지 24 중 1 이상에서 선택할 수 있는 1 이상의 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합을 포함한다.
- [0025] 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 S3K, S3R, S3N, T4F, T4W, T4Y, T4H, T4Q, T4V, L5R, L5K, Q6R 및 CDR-L2에 Q6K에서 선택된 1 이상의 치환 또는 치환의 조합을 포함한다. 이러한 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편에 도입할 수 있는 추가 돌연변이 또는 돌연변이의 조합은 표 11 내지 24 중 1 이상에서 선택될 수 있다.
- [0026] 다른 측면에서, 본 발명은 D2E7과 비교하여 면역원성이 감소된 항-TNF- α 항체 D2E7의 변이체에 관한 것이다. 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 R7Q; A11S; R7Q + A11S; N8T; N8T + A11S; I6T; A11G; I6T + A11G; Q4G; Q4G + A11S; Q4G + A11G; Q4H; Q4H + A11S; Q4R; Q4R + A11S; G5S; G5S + A11S; N8S + A11S; I6T + A11S; 및 N8T + A11G에서 선택된 1 이상의 치환 또는 치환(들)의 조합을 CDR-L1(서열번호 8)에 포함한다. 항원성이 감소된 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편에 도입될 수 있는 추가 돌연변이는 TNF- α 에 대한 결합성을 증가시키는 치환, 예컨대 표 12 및/또는 표 25에 기술된 치환과, 다른 돌연변이, 예를 들어 이에 제한되는 것은 아니고 표 13 내지 25에 기술된 공지 돌연변이를 포함하여, TNF- α 에 결합하는 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편의 능력을 파괴하지 않는 치환을 포함한다.
- [0027] 일정 측면에서, 본원의 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 D2E7의 VH 및 VL 서열과의 서열 동일성이 80% 내지 99%인 VH 및 VL 서열을 가지며, D2E7과 비교하여 1 이상의 CDR에 1 이상의 아미노산 치환을 포함한다. 특정 구체예에서, D2E7의 VH 및 VL 서열과 비교하여 중쇄 및 경쇄에 대한 서열 동일성 비율은 각각 독립적으로 80% 이상, 85% 이상, 90% 이상 또는 95% 이상의 서열 동일성에서 선택된다.
- [0028] 일정 측면에서, 본원의 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 D2E7의 CDR과 비교하여 그들의 CDR에 17개 이하의 아미노산 치환을 갖는다. 그들의 표적 결합 능력을 유지하는 17개 아미노산 치환을 갖는 변이체 항체가 [Bostrom et al., 2009, Science 323:1610-14]에 의해 생성되었다. 본원의 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 또한 항체 D2E7의 CDR 서열과 비교하여 그 CDR에 16개 이하, 15개 이하, 14개 이하, 13개 이하, 12개 이하, 11개 이하, 10개 이하, 9개 이하, 8개 이하, 7개 이하, 6개 이하, 5개 이하, 또는 4개 이하의 아미노산 치환을 갖는다.
- [0029] 특정 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체 또는 항-TNF- α 결합 단편은 독립적으로,
- [0030] . D2E7의 상응하는 CDR과 비교하여 1개 이하, 또는 2개 이하, 또는 3개 이하의 CDR-H1 치환;
- [0031] . D2E7의 상응하는 CDR과 비교하여 1개 이하, 2개 이하, 3개 이하, 4개 이하, 5개 이하 또는 6개 이하의 CDR-H2 치환;
- [0032] . D2E7의 상응하는 CDR과 비교하여 1개 이하, 2개 이하, 3개 이하, 4개 이하, 5개 이하의 CDR-H3 치환;
- [0033] . D2E7의 상응하는 CDR과 비교하여 1개 이하, 2개 이하, 3개 이하, 또는 4개 이하의 CDR-L1 치환;
- [0034] . D2E7의 상응하는 CDR과 비교하여 1 개 이하, 2개 이하, 3개 이하, 또는 4개 이하의 CDR-L2 치환; 및
- [0035] . D2E7의 상응하는 CDR과 비교하여 1개 이하, 2개 이하, 3개 이하, 또는 4개 이하의 CDR-L3 치환을 갖는다.
- [0036] 본원은 D2E7과 비교하여 본 TNF- α 에 대한 친화성 증가 및/또는 면역원성 감소의 개질된 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편을 포함하는 약학 조성물을 또한 제공한다.
- [0037] 일정 측면에서, 본원의 항-TNF- α 항체 또는 항-TNF- α 결합 단편은 이중특이적 항체 또는 이중특이적 항체의 TNF- α 결합 단편일 수 있다. 이중특이적 항체는 TNF- α 및 다른 프로염증성 사이토카인(예컨대, 림포토신, 인터페론- γ , 또는 인터루킨-1)에 특이적일 수 있다.
- [0038] 본원의 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 핵산이, 핵산을 포함하는 벡터로서 제공된다. 부가적으로, 항-TNF- α 항체 또는 항-TNF- α 결합 단편을 코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 벡터로 형질전환된 원핵생물 및 진핵생물 숙주 세포와, 뉴클레오티드 서열을 발현하도록 조작된 진핵생물(예컨대 포유동물) 숙주 세포가 제공된다. 숙주 세포를 배양하는 것에 의해 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α

결합 단편을 제조하는 방법이 또한 제공된다.

[0039] 본원의 항-TNF- α 항체 및 항-TNF- α 결합 단편은 면역 질환, 예를 들어 전신 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 갑상선염, 이식편대 속주 질환, 경피증, 진성 당뇨병, 그레이브스병, 유육종증, 만성 염증성 장질환, 케양성 대장염 또는 크론병의 치료에 유용하다.

[0040] 부정 관사 및 정관사는 분명하게 기재되지 않았으면, 특히 출원에서 통상적으로 사용되는 1 이상을 의미하는 것으로 사용됨을 주의한다. 또한, 용어 "또는"은 본원에서, 특히 출원 분야에서 통상적으로 사용되는 이접적 접속사 "또는"이나 접속사 "및"을 의미하는데 사용된다.

[0041] 본 명세서에 언급된 모든 출판물을 참조하여 본원에 포함시킨다. 본원에 포함된 임의의 문서, 법령, 재료, 장치, 물품 등은 오직 본원에 대한 배경을 제공하려는 목적이다. 이들의 일부 또는 전부가 종래 기술의 일부를 형성하거나 또는 본 출원의 우선일 전에 어디에든 존재했기 때문에 본원과 관련된 분야의 통상적인 일반 지식이라고 용인하는 것은 아니다.

[0042] 본원의 특징 및 장점은 이의 구체예의 이하 상세한 설명을 통해 더욱 명확해 질 것이다.

도면의 간단한 설명

6. 표 및 도면의 간단한 설명

표 1은 면역원성을 테스트한 각각 D2E7 VH 웨티드 및 D2E7 VL 웨티드를 보여준다.

표 2는 동정된 D2E7 내 CD4+ T 세포 에피토프를 보여준다. CDR 영역은 밑줄 표시하였다.

표 3은 D2E7 VL 영역 웨티드 에피토프에 대한 HLA 클래스 II 회합 및 반응의 상대 위험도를 보여준다.

표 4는 D2E7 VL CDR1 에피토프 변이체의 서열을 보여준다. 총 99명의 도너를 테스트하였다. 반응자의 명수, 반응자의 비율 및 평균 자극 지수가 테스트된 각 웨티드에 대해 표시되어 있다.

표 5는 D2E7의 면역원성을 낮추기 위한 CDR-L1 내 후보 돌연변이를 보여준다. 표 5의 아미노산 넘버링은 D2E7 경쇄 내 위치에 상응한다.

표 6은 D2E7과 비교하여 유의한 결합 감소를 일으키지 않은 CDR-L1 내 치환에 대한 BIACore 및 ELISA 결과를 보여준다. 표 6 내 아미노산 넘버링은 D2E7 경쇄 내 위치에 상응한다. 결합에 대한 K_D (BIACore로 측정) 및 IC_{50} (ELISA로 측정)의 향상은 "WTx"로 표시하였다. CV%는 전체 값 측정값의 비율로서 표준 편차를 의미한다.

표 7은 D2E7 에피토프에 대한 모든 단일 및 이중 돌연변이에 대한 T-세포 분석 결과를 보여준다. 웨티드 1은 모 웨티드이다. 모 웨티드에 대한 개질형들은 굵은체로 나타냈다.

표 8은 오직 T 세포 분석 결과만을 기반으로 한 바람직한 에피토프 웨티드를 보여준다. 표 8의 아미노산 넘버링은 D2E7 경쇄에서의 위치에 상응한다.

표 9는 바람직한 변이체 에피토프 웨티드를 함유하도록 제작된 항체의 항-증식 생활성을 보여준다. 모체는 미개질 D2E7 항체이다. 표 9에서 아미노산의 넘버링은 D2E7 경쇄에서의 위치에 상응한다.

표 10은 BIACore로 분석한 TNF- α 에 대한 D2E7 및 D2E7 변이체의 결합 동역학을 보여준다. 표 10에서 아미노산의 넘버링은 D2E7 경쇄에서의 위치에 상응한다.

표 11은 그 면역원성을 감소시키기 위해 D2E7-관련 항체에 도입시킬 수 있는 CDR-L1 치환 또는 치환의 조합을 보여준다.

표 12는 D2E7과 비교하여, K_D (BIACore로 분석), 친화도(ELISA로 측정), 또는 둘 모두가 개선된 CDR-L1 외부의 CDR 아미노산 치환을 보여준다. 표 12의 아미노산 넘버링은 D2E7 경쇄 및 중쇄에서의 위치에 상응한다. 결합에 대한 K_D (BIACore로 분석) 및 IC_{50} (ELISA로 측정)의 향상은 "WTx"로 표시하였다. CV%는 전체 값 측정치 비율로서 표준 편차이고 "ND"는 "실시 안함(not done)"을 의미한다.

표 13은 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-H1 내 기지 돌연변이를 보여준다.

표 14는 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-H2 내 기지 돌연변이를 보여준다. 단일 셀에 2개 아미노산이 포함된 것은 CDR에 부가 또는 삽입을 도입시킨 CDR 변이체를 의미한다. 음영표시된 셀은 음영표시된 아미노산 잔기가

결여된 CDR 변이체를 의미한다.

표 15는 본원의 항원에 도입될 수 있는 CDR-H3 내 기지 돌연변이를 보여준다.

표 16은 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-L1 내 기지 돌연변이를 보여준다. 단일 셀 내 2개 아미노산이 포함된 것은 CDR에 부가 또는 삽입을 도입한 CDR 변이체를 의미한다.

표 17은 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-L2 내 기지 돌연변이를 보여준다. 단일 셀에 2개 아미노산이 포함된 것은 CDR에 표시된 부가의 N-말단 아미노산이 도입된 CDR 변이체를 의미한다.

표 18은 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-L3 내 기지 돌연변이를 보여준다. 단일 셀에 2개 아미노산이 포함된 것은 CDR에 표시된 부가의 N-말단 아미노산이 도입된 CDR 변이체를 의미한다.

표 19는 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-H1 내 추가의 기지 돌연변이를 보여준다.

표 20은 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-H2 내 추가의 기지 돌연변이를 보여준다.

표 21은 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-H3 내 추가의 기지 돌연변이를 보여준다.

표 22는 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-L1 내 추가의 기지 돌연변이를 보여준다.

표 23은 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-L2 내 추가의 기지 돌연변이를 보여준다.

표 24는 본원의 항체에 도입될 수 있는 CDR-L3 내 추가의 기지 돌연변이를 보여준다.

표 25는 D2E7과 비교하여 K_D (BIAcore로 분석), 친화도(ELISA로 분석), 또는 둘 모두가 개선된 CDR-L2 내 점 돌연변이의 조합을 보여준다. 점 돌연변이는 본원의 항체에 단독으로 또는 조합되어 도입될 수 있다.

도 1A-1E. 도 1A는 CDR 영역에 밀출친, 굵은체로 표시가 되어 있는, D2E7 중쇄 및 경쇄의 아미노산 서열을 보여준다. 도 1B는 D2E7의 CDR 서열 및 상응하는 서열 식별자를 보여준다. 도 1C는 중쇄 CDR 넘버링과 중쇄 카밧 넘버링 간 대응 차트를 보여준다. 도 1D는 경쇄 CDR 넘버링과 경쇄 카밧 넘버링 간 대응 차트를 보여준다. 도 1E는 미국 특허 제6,090,382호에 공개된 D2E7의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 뉴클레오티드 서열(각각 서열번호 1 및 서열번호 3)을 보여준다.

도 2는 D2E7 VL 웨티드에 대한 반응률(아래) 및 평균 자극 지수(위)를 보여준다.

도 3은 D2E7 VH 웨티드에 대한 평균 자극 지수(위) 및 반응률(아래)을 보여준다. 웨티드 #27은 한 도너에서 변칙 자극 지수를 가지며, 보다 진한 음영으로 표시하였다.

도 4는 D2E7 VL CDR1 에피토프 웨티드 변이체를 보여준다. 오픈 심볼은 데이터세트 내 미개질 모 웨티드의 복수회 재테스트를 의미한다. 필드 심볼은 고유한 웨티드 알라닌 스캔 변이체를 나타낸다. 최고 감소 반응-유도 변이체의 서열을 표시하였다.

도 5는 D2E7 VL CDR1 에피토프 웨티드 변이체를 보여준다. 오픈 심볼은 데이터세트 내 미개질 모 웨티드의 복수회 재테스트를 의미한다. 필드 심볼은 고유한 웨티드 변이체를 나타낸다. 최고 감소 반응-유도 변이체는 원으로 표시하였다. 이 도면은 표 7의 데이터를 그래프로 나타낸 것이다.

도 6은 D2E7 변이체 항체의 경쟁 ELISA 결과를 보여준다. ELISA 플레이트는 TNF- α 로 코팅되었다. 비오틴화된 D2E7을 단일 농도로 모든 웰에 포함시켰고, 변이체 항체를 적정하여 넣었다. IC₅₀ 값을 각 항체에 대해 계산하였다. 실험은 3회 수행하였다. Y축은 모 항체 결합 비율로서 평균 결과를 보여준다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

7. 상세한 설명

7.1 항-TNF- α 항체

본원은 항-TNF- α 항체를 제공한다. 달리 언급하지 않으면, "항체"(Ab)는 특정 항원에 특이적으로 결합하거나, 또는 그와 면역학적으로 반응하는 면역글로불린 분자를 의미하고, 유전자 조작된, 폴리클론, 단일클론, 및 아니면 이에 제한되는 것은 아니고, 키메라 항체, 인간화 항체, 이종접합 항체(예를 들어, 이중특이적 항체, 디아바디, 트리아바디, 및 테트라바디 등)를 포함하는, 항체의 개질형, 및 예를 들어 Fab', F(ab')₂, Fab, Fv, rIgG, 및 scFv 단편을 포함한, 항원의 항원 결합 단편을 포함한다. 또한, 달리 언급하지 않으면, "단일클론 항

"체"(mAb)는 온전한 분자와, 단백질에 특이적으로 결합할 수 있는 항체 단편(예컨대, Fab 및 F(ab')₂ 단편)를 포함함을 의미한다. Fab 및 F(ab')₂ 단편은 온전한 항체의 Fc 단편이 없고, 동물 또는 식물의 순환계에서 보다 신속하게 제거되며, 온전한 항체보다 비특이적 조직 결합이 덜 할 수 있다(Wahl et al., 1983, J. Nucl. Med. 24:316).

[0047] 용어 "scFv"는 전형적인 항체에서 유래하는 중쇄 및 경쇄의 가변 도메인이 결합되어 하나의 쇄를 형성된 단쇄 Fv 항체를 의미한다.

[0048] "VH"는 Fv, scFv 또는 Fab의 중쇄를 포함하여, 항체의 면역글로불린 중쇄의 가변 영역을 의미한다. "VL"은 Fv, scFv, dsFv 또는 Fab의 경쇄를 포함하여, 면역글로불린 경쇄의 가변 영역을 의미한다. 항체(Ab) 및 면역글로불린(Ig)은 동일한 구조적 특징을 갖는 당단백질이다. 항체는 특이적 표적에 대한 결합 특이성을 나타내지만, 면역글로불린은 표적 특이성이 결여된 항체와 다른 항체 유사 분자를 포함한다. 일반적으로 천연 항체 및 면역글로불린은 2개의 동일한 경(L)쇄 및 2개의 동일한 중(H)쇄로 구성된, 약 150,000 달톤의 이종사량체 당단백질이다. 각 중쇄는 아미노 말단에 가변 도메인(VH)과 후속하여 다수의 불변 도메인을 갖는다. 각각의 경쇄는 아미노 말단에 가변 도메인(VL) 및 카르복시 말단에 불변 도메인을 갖는다.

[0049] 본원의 항-TNF-α 항체는 인간 TNF-α에 결합하여 세포내 TNF-α 수용체 활성을 억제한다. 임의의 한 이론에 한정되지 않고, 본 발명자들은 이들 항체가 저친화성 TNF-α 수용체(p75) 및 고친화성 TNF-α 수용체(p55) 둘 모두에 대한 TNF-α의 결합성을 감소시키는 것으로 믿는다.

[0050] 본원의 항-TNF-α 항체는 항체 D2E7(아달리무맙 또는 HUMIRA®로도 알려짐)의 CDR과 서열에 있어 관련있는 상보성 결정 영역(CDR)을 함유한다.

[0051] CDR은 또한 경쇄 및 중쇄 가변 도메인 내 둘 모두에서의 초가변 영역으로도 알려져 있다. 가변 도메인 중 보다 높게 보존된 부분을 프레임워크(FR)라고 한다. 당분야에서 공지되어 있는 바와 같이, 항체의 초가변 영역을 그리는 아미노산 위치/경계는 당분야에 공지된 상황 및 다양한 정의에 따라, 다양할 수 있다. 가변 도메인 내 일부 위치는 하이브리드 초가변 위치로 여겨질 수 있는데 이 경우 이들 위치는 한 세트의 기준 하에서는 초가변 영역 내에 속할 수 있지만 다른 기준 세트 하에서는 초가변 영역 외부일 수 있다. 이들 위치중 1 이상은 또한 연장된 초가변 영역에 존재할 수 있다. 본원은 이들 하이브리드 초가변 위치에 변형을 포함하는 항체를 제공한다. 천연 중쇄 및 경쇄 각각의 가변 도메인은 대개 β-시트 구조를 연결(및 일부 경우 β-시트 구조의 일부를 형성)하는 루프를 형성하는, 3개의 CDR에 의해 연결된, β-시트 구조를 채택함으로써, 4개 FR 영역을 포함한다. 각 쇄의 CDR은 FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4의 순서로 FR 영역에 의해 함께 밀접하게 가까이 존재하고 다른 쇄의 CDR과 함께 항체의 표적 결합 부위를 형성하는데 기여한다(예를 들어, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institute of Health, Bethesda, Md. 1987)). 본원에서 사용되는, 면역글로불린 아미노산 잔기의 넘버링은 달리 언급하지 않으면 [Kabat et al.]의 면역글로불린 아미노산 잔기 넘버링에 따라 이루어진다.

[0052] D2E7의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 서열은 각각 서열번호 2 및 서열번호 4로 표시되고, 각각 서열번호 1 및 서열번호 3에 의해 코딩된다. 또한 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 서열은 도 1A에 도시하였다. D2E7의 CDR의 서열, 및 그들의 상응하는 식별자는 도 1B에 나타내었다. D2E7의 중쇄 및 경쇄 가변 영역의 서열(미국 특허 제6,090,382 호에 공개된 바와 같음)은 도 1C에 나타내었다. 서열번호 2 또는 서열번호 4를 코딩하는 임의의 뉴클레오티드 서열이 본원의 조성을 및 방법에 사용될 수 있다.

[0053] 본원은 또한 D2E7의 CDR 서열과 관련된 CDR 서열을 포함하는 항-TNF-α 항체 단편을 제공한다. 용어 "항체 단편"은 전체 길이 항체의 일부분, 대체로 표적 결합 또는 가변 영역을 의미한다. 항체 단편의 예에는 Fab, Fab', F(ab')₂ 및 Fv 단편을 포함한다. "Fv" 단편은 완전한 표적 인식 및 결합 부위를 함유하는 최소 항체 단편이다. 이 영역은 치밀한, 비공유 회합된 1개 중쇄 및 1개 경쇄의 이량체(VH-VL 이량체)로 이루어진다. 이 구조에서 각 가변 도메인의 3개 CDR은 VH-VL 이량체의 표면 상에 표적 결합 부위가 한정되도록 상호작용한다. 흔히, 6개 CDR이 항체에 표적 결합 특이성을 부여한다. 그러나, 일부 예에서, 단일 가변 도메인(또는 표적에 특이적인 오직 3개 CDR을 포함하는 Fv의 절반)임에도 표적을 인식하고 결합하는 능력을 가질 수 있다. "단쇄 Fv" 또는 "scFv" 단편은 단일 폴리펩티드 쇄 내에 항체의 VH 및 VL 도메인을 포함한다. 일반적으로, Fv 폴리펩티드는 표적 결합을 위해 scFv가 바람직한 구조를 형성할 수 있게 VH와 VL 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 더 포함한다. "단일 도메인 항체"는 TNF-α에 대한 충분한 친화도를 나타내는 단일 VH 또는 VL 도메인으로 구성된다. 특정 구체예에서, 단일 도메인 항체는 카멜리드 항체이다(예를 들어, Riechmann, 1999, Journal of

Immunological Methods 231:25-38).

- [0054] Fab 단편은 경쇄의 불변 도메인 및 중쇄의 제1 불변 도메인(CH_1)을 포함한다. Fab' 단편은 항체 헌지 영역으로부터 1 이상의 시스테인을 포함하여 중쇄 CH_1 도메인의 카르복실 말단에 소수의 잔기가 부가되어 Fab 단편과는 다르다. F(ab') 단편은 F(ab')₂ 웨신 분해 산물의 헌지 시스테인에 이황화 결합을 절단하여 생성된다. 항체 단편의 부가적인 화학 커플링이 당분야의 숙련가에게 알려져 있다.
- [0055] 일정 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 단일클론 항체이다. 본원에서 사용되는 용어 "단일클론 항체"는 하이브리도마 방법으로 제조된 항체에만 한정되지 않는다. 용어 "단일클론 항체"은 임의의 진핵생물, 원핵생물 또는 파지 클론을 포함하여, 단일 클론에서 유도되는 항체를 의미하고 그것이 생성되는 방법을 의미하는 것이 아니다. 본원에서 유용한 단일클론 항체는 하이브리도마, 재조합체, 및 파지 디스플레이법 또는 이의 조합의 이용을 포함하여 당분야에 공지된 다양한 방법을 이용해 제조될 수 있다. 본원의 항-TNF- α 항체는 키메라, 영장류화, 인간화 또는 인간 항체를 포함한다.
- [0056] 본원의 항-TNF- α 항체는 키메라 항체일 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "키메라"는 비인간 면역글로불린, 예컨대 래트 또는 마우스 항체로부터 유래한 가변 서열과, 대체로 인간 면역글로불린 주형에서 선택된 인간 면역글로불린 불변 영역을 갖는 항체를 의미한다. 키메라 항체의 제조 방법은 당분야에서 공지이고, 예를 들어 다음의 문헌들을 참조하고, 이들을 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다: Morrison, 1985, Science 229(4719):1202-7; Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214-221; Gillies et al., 1985, J. Immunol. Methods 125:191-202; 미국 특허 제5,807,715호; 제4,816,567호; 및 제4,816,397호.
- [0057] 본원의 항-TNF- α 항체는 인간화된 것일 수 있다. 비인간(예를 들어, 쥐과동물) 항체의 "인간화" 형태는 비인간 면역글로불린에서 유래된 최소 서열을 함유하는 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 쇄 또는 이의 단편(예컨대 Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ 또는 항체의 다른 표적 결합 서브도메인)이다. 대체로, 인간화 항체는 모든 1 이상, 대체로 2개의, 가변 도메인을 실질적으로 포함하게 되고, 여기서 모든 또는 실질적으로 모든 CDR 영역은 비인간 면역글로불린의 CDR 영역에 해당하며 모든 또는 실질적으로 모든 FR 영역은 인간 면역글로불린 서열의 FR 영역이다. 인간화 항체는 또한 대체로 인간 면역글로불린 공통 서열인, 면역글로불린 불변 영역(Fc)의 일부를 적어도 포함할 수 있다. 항체 인간화 방법은 당분야에 공지이고, 예를 들어 다음의 문헌들을 참조하며, 이를 모두를 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다: Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-7; 미국 특허 제5,530,101호; 제5,585,089호; 제5,693,761호; 제5,693,762호; 및 제6,180,370호(Queen et al.); EP239400; PCT 공개 특허출원 WO 91/09967; 미국 특허 제5,225,539호; EP592106; EP519596; Padlan, 1991, Mol. Immunol., 28:489-498; Studnicka et al., 1994, Prot. Eng. 7:805-814; Roguska et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. 91:969-973; 및 미국 특허 제5,565,332호.
- [0058] 본원의 항-TNF- α 항체는 인간 항체일 수 있다. 완전하게 "인간" 항-TNF- α 항체는 인간 환자의 치료적 처치에 바람직할 수 있다. 본원에서 사용되는 "인간 항체"는 인간 면역글로불린의 아미노산 서열을 갖는 항체를 포함하고 인간 면역글로불린 라이브러리 또는 1 이상의 인간 면역글로불린으로 형질전환되고 내생성 면역글로불린은 발현하지 않는 동물에서 단리된 항체를 포함한다. 인간 항체는 인간 면역글로불린 서열에서 유래된 항체 라이브러리를 이용하는 파지 디스플레이 방법을 포함하는 당분야에 공지된 다양한 방법으로 제조될 수 있다. 예를 들어, 하기 다음의 문헌들을 참조하며, 이를 각각을 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다: 미국 특허 제4,444,887호 및 제4,716,111호; 및 PCT 공개특허출원 WO 98/46645; WO 98/50433; WO 98/24893; WO 98/16654; WO 96/34096; WO 96/33735; 및 WO 91/10741. 인간 항체는 또한 기능성의 내생 면역글로불린은 발현할 수 없지만 인간 면역글로불린은 발현할 수 있는 형질전환 마우스를 이용해 생성될 수 있다. 예를 들어, 다음의 문헌들을 참조하며, 전체로 본원에 이들을 포함시킨다: PCT 공개특허출원 WO 98/24893; WO 92/01047; WO 96/34096; WO 96/33735; 미국 특허 출원 제5,413,923호; 제5,625,126호; 제5,633,425호; 제5,569,825호; 제5,661,016호; 제5,545,806호; 제5,814,318호; 제5,885,793호; 제5,916,771호; 및 제5,939,598호. 또한, 예컨대 Medarex(Princeton, NJ), Astellas Pharma(Deerfield, IL), Amgen(Thousand Oaks, CA) 및 Regeneron(Tarrytown, NY) 등의 회사들이 상기 기술된 것과 유사한 기술을 이용하여 선택 항원에 대한 인간 항체를 제공하고 있다. 완전하게 선택된 에피토프를 인식하는 인간 항체는 "유도 선별법(guided selection)"이라고 하는 기술을 이용해 생성될 수 있다. 이러한 접근법에서 선별된 비인간 단일클론 항체, 예를 들어 마우스 항체가 동일 에피토프를 인식하는 완전한 인간 항체의 선별을 유도하는데 사용된다(Jespers et al., 1988, Biotechnology 12:899-903).

- [0059] 본원의 항-TNF- α 항체는 영장류화될 수 있다. 용어 "영장류화 항체"는 원숭이 가변 영역 및 인간 불변 영역을 포함하는 항체를 의미한다. 영장류화 항체의 제조 방법은 당분야에 공지이다. 예를 들어, 미국 특허 제5,658,570호; 제5,681,722호; 및 제5,693,780호를 참조할 수 있으며, 이들을 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다.
- [0060] 본원의 항-TNF- α 항체는 이중특이적 항체일 수 있다. 이중특이적 항체는 2 이상의 상이한 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 단일클론, 보통은 인간 또는 인간화된, 항체이다. 본원에서, 결합 특이성 중 하나는 TNF- α 에 대한 것이고, 다른 하나는 임의의 다른 항원, 예를 들어 세포-표면 단백질, 수용체, 수용체 서브유닛, 조직-특이적 항원, 바이러스 유래 단백질, 바이러스 코딩된 엔벨로프 단백질, 박테리아 유도된 단백질 또는 박테리아 표면 단백질 등에 대한 것일 수 있다.
- [0061] 본원의 항-TNF- α 항체는 유도체화 항체를 포함한다. 제한없이, 예를 들어, 유도체화 항체는 글리코실화, 아세틸화, PEG화, 인산화, 아미드화, 기지 보호/차단 기에 의한 유도체화, 단백질가수분해 절단, 세포 리간드 또는 다른 단백질에 대한 결합(항체 접합체에 대한 설명 섹션 7.6 참조)에 의해 개질된다. 임의의 수많은 화학적 개질은 이에 제한되는 것은 아니고, 특이적 화학 절단, 아세틸화, 포밀화, 투니카마이신의 물질대사 합성 등을 포함하는 기지 방법으로 수행될 수 있다. 부가적으로, 유도체는 예를 들어, ambrx 방법을 이용하여, 1 이상의 비천연 아미노산을 함유할 수 있다(예를 들어, Wolfson, 2006, Chem. Biol. 13(10):1011-2).
- [0062] 본원의 또 다른 구체예에서, 항-TNF- α 항체 또는 이의 단편은 그 서열이 상응하는 야생형 서열에 대해 1 이상의 불변 영역-매개 생물학적 이펙터 기능을 변경시켜 개질된 항체 또는 항체 단편일 수 있다. 예를 들어, 일부 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 미개질 항체에 대해 1 이상의 불변 영역-매개 생물학적 이펙터 기능이 감소되도록, 예를 들어, Fc 수용체(Fc γ R)에 대한 결합이 감소되도록 개질될 수 있다. Fc γ R 결합은 Fc γ R 상호작용에 필수적인 특정 영역에서 항체의 면역글로불린 불변 영역 절편을 돌연변이시켜 감소시킬 수 있다(예를 들어, Canfield 및 Morrison, 1991, J. Exp. Med. 173:1483-1491; 및 Lund et al., 1991, J. Immunol. 147:2657-2662 참조). 항체의 Fc γ R 결합 능력 감소는 또한 Fc γ R 상호작용에 의존적인 다른 이펙터 기능, 예컨대 옵소닌화, 식세포작용 및 항원-의존적 세포 세포독성("ADCC")을 감소시킬 수 있다.
- [0063] 본원의 다른 구체예에서, 항-TNF- α 항체 또는 이의 단편은 미개질 항체에 대해 1 이상의 불변 영역-매개 생물학적 이펙터 기능이 획득되거나 또는 개선되도록, 예를 들어, Fc γ R 상호작용을 향상시키도록 개질될 수 있다(예를 들어, US 2006/0134709 참조). 예를 들어, 본원의 항-TNF- α 항체는 상응하는 야생형 불변 영역보다 높은 친화도로 Fc γ RIIA, Fc γ RIIB 및/또는 Fc γ RIIIA에 결합하는 불변 영역을 가질 수 있다.
- [0064] 따라서, 본원의 항체는 옵소닌화, 식세포작용 또는 ADCC의 감소 또는 증가를 일으키는 생물학적 활성이 변경될 수 있다. 이러한 변경은 당분야에 공지이다. 예를 들어, ADCC 활성을 감소시키는 항체의 개질은 미국 특허 제5,834,597호에 기술되어 있다. 예시적인 ADCC 저하 변이체는 잔기 236이 결실되고 잔기 234, 235 및 237(EU 넘버링 이용)이 알라닌으로 치환된 "돌연변이체 3"(미국 특허 제5,834,597호의 도 4 참조)에 해당된다.
- [0065] 일부 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 푸코스 수준이 낮거나 또는 결여되어 있다. 푸코스가 결여된 항체는 특히 저용량의 항체에서, ADCC 활성 강화와 관련있었다. 예를 들어, 다음의 문헌들을 참조한다: Shields et al., 2002, J. Biol. Chem. 277:26733-26740; Shinkawa et al., 2003, J. Biol. Chem. 278:3466-73. 푸코실 결여 항체의 제조 방법은 래트 골수종 YB2/0 세포(ATCC CRL 1662)에서의 성장을 포함한다. YB2/0 세포는 폴리펩티드의 푸코실화에 필수적인 효소인, α -1,6-푸코실트랜스퍼라제를 코딩하는 FUT8 mRNA를 낮은 수준으로 발현한다.
- [0066] 또 다른 측면에서, 항-TNF- α 항체 또는 이의 단편은 예를 들어, FcRn 상호작용에 관여하는 특정 영역에서 면역글로불린 불변 영역 절편을 돌연변이시킴으로써, 태아 Fc 수용체, FcRn에 대한 그들의 결합 친화도가 증가 또는 감소되도록 개질된 항체 또는 항체 단편일 수 있다(예를 들어, WO 2005/123780 참조). 특정 구체예에서, IgG 클래스의 항-TNF- α 항체는 중쇄 불변 영역의 아미노산 잔기 250, 314 및 428 중 1 이상이 단독으로, 또는 이의 임의 조합으로, 예컨대 위치 250 및 428에, 또는 위치 250 및 314에, 또는 위치 314 및 428에, 또는 위치 250, 314 및 428에서, 위치 250 및 428과 특정 조합으로 치환되게 돌연변이시킨다. 위치 250의 경우, 아미노산 잔기 치환은 트레오닌 이외에, 이에 제한되는 것은 아니고, 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소루신, 리신, 루신, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 발린, 트립토판 또는 티로신을 포함하는, 임의의 아미노산 잔기일 수 있다. 위치 314의 경우, 아미노산 잔기 치환은 루신 이외에, 이에 제한되는 것은 아니고, 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소루신, 리신, 메티오닌, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 발린, 트립토판

또는 티로신을 포함하는, 임의의 아미노산 잔기일 수 있다. 위치 428의 경우, 아미노산 잔기 치환은 메티오닌 이외에, 이에 제한되는 것은 아니고, 알라닌, 시스테인, 아스파르트산, 글루탐산, 페닐알라닌, 글리신, 히스티딘, 이소루신, 리신, 루신, 아스파라긴, 프롤린, 글루타민, 아르기닌, 세린, 트레오닌, 발린, 트립토판 또는 티로신을 포함하는, 임의의 아미노산 잔기일 수 있다. 적절한 아미노산 치환의 특정 조합은 미국 특허 제 7,217,797호의 표 1에서 확인할 수 있으며, 이러한 표는 전체적으로 참조하여 본원에 포함된다. 이러한 돌연변이는 FcRn에 대한 항체의 결합성을 증가시켜서, 항체를 분해로부터 보호하고 그 반감기를 증가시킨다.

[0067] 또 다른 측면에서, 항-TNF- α 항체는 예를 들어, 다음의 문헌에 기술된 바와 같이, 초가변 영역 중 1 이상에 1 이상의 아미노산이 삽입된다: Jung and Pluckthun, 1997, Protein Engineering 10:9, 959-966; Yazaki et al., 2004, Protein Eng. Des Sel. 17(5):481-9. Epub 2004 Aug 17; 및 미국 특허출원 제2007/0280931호.

[0068] 7.2 핵산 및 발현 시스템

[0069] 본 발명의 본원의 항-TNF- α 항체를 코딩하는 핵산 분자 및 숙주 세포를 포함한다.

[0070] 본원의 항-TNF- α 항체는 숙주 세포에서 면역글로불린 경쇄 및 중쇄 유전자를 재조합 발현시켜 제조할 수 있다. 항체를 재조합적으로 발현시키기 위해, 숙주 세포는 항체의 면역글로불린 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 DNA 단편을 보유한 1 이상의 재조합 발현 벡터로 형질감염되어 경쇄와 중쇄가 숙주 세포에서 발현되고, 경우에 따라 숙주 세포를 배양하는 배지로 분비되어, 그 배지로부터 항체를 회수할 수 있다. 예컨대 하기의 문헌들에 기술된 바와 같이, 표준 재조합 DNA 방법론을 사용해 항체 중쇄 및 경쇄 유전자를 얻고, 재조합 발현 벡터에 이들 유전자를 도입시켜, 이러한 벡터를 숙주 세포에 도입시킬 수 있다: Molecular Cloning; A Laboratory Manual, Second Edition (Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds), Cold Spring Harbor, N. Y., 1989), Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel, F.M. et al., eds., Greene Publishing Associates, 1989) 및 미국 특허 제 4,816,397호.

[0071] 일 구체예에서, 항-TNF- α 항체는 D2E7과 유사하지만, 1 이상의 CDR에 변화가 존재한다(이하에 "D2E7-관련"이라고 함). 다른 구체예에서, 항-TNF- α 항체는 D2E7과 유사하지만 1 이상의 프레임워크 영역에 변화가 존재한다. 또 다른 구체예에서, 항-TNF- α 항체는 D2E7과 유사하지만 1 이상의 CDR 및 1 이상의 프레임워크 영역에 변화가 존재한다. 이러한 항-TNF- α 항체를 코딩하는 핵산을 생성하기 위해, 경쇄 및 중쇄 가변 영역을 코딩하는 DNA 단편을 먼저 얻는다. 이들 DNA는 예를 들어 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 이용하여 경쇄 및 중쇄 가변 서열을 코딩하는 배선 또는 cDNA를 증폭 및 변형시켜 얻을 수 있다. 인간 중쇄 및 경쇄 가변 영역 유전자에 대한 배선 DNA 서열은 당분야에 공지이다(예를 들어, "VBASE" 인간 배선 서열 데이터베이스; Kabat, E. A. et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242; Tomlinson et al., 1992, J. Mol. Biol. 22T:116-198; 및 Cox et al., 1994, Eur. J. Immunol. 24:827-836; 이를 각 내용을 참조하여 본원에 포함시킴). 도 1C에 도시된 바와 같은 서열, 즉 D2E7의 중쇄 또는 경쇄 가변 영역을 코딩하는 DNA 단편을 합성하고 통상의 돌연변이유발법을 이용하여 돌연변이유발용 주형으로 사용해 본원에 기술된 바와 같은 변이체를 생성한다; 다르게는, 변이체를 코딩하는 DNA 단편을 직접 합성할 수 있다.

[0072] D2E7 또는 D2E7-관련 VH 및 VL 절편을 코딩하는 DNA 단편을 얻으면, 이들 DNA 단편은, 예를 들어 가변 영역 유전자를 전체 길이 항체 쇄 유전자로, Fab 단편 유전자로 또는 scFv 유전자로 전환하기 위해, 표준 재조합 DNA 방법에 의해 더욱 조작될 수 있다. 이들 조작시에, VL- 또는 VH-코딩 DNA 단편은 다른 단백질, 예컨대 항체 불변 영역 또는 탄성 링커를 코딩하는 다른 DNA 단편에 작동적으로 연결된다. 본원에서 사용되는 "작동적으로 연결"은 2개의 DNA 단편이 연결되어 2개 DNA 단편에 의해 코딩되는 아미노산 서열이 인프레임으로 존재하게 되는 것을 의미하려는 것이다.

[0073] VH 영역을 코딩하는 단리된 DNA는 중쇄 불변 영역(CH_1 , CH_2 , CH_3 및 경우에 따라 CH_4)을 코딩하는 다른 DNA 분자에 VH-코딩 DNA를 작동적으로 연결시킴으로써 전체 길이 중쇄 유전자로 전환시킬 수 있다. 인간 중쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당분야에 공지되어 있고(예를 들어, 이하 문헌 참조: Kabat, E.A. et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242), 이들 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭법에 의해 얻을 수 있다. 중쇄 불변 영역은 IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA, IgE, IgM 또는 IgD 불변 영역일 수 있지만, 일정 구체예에서는, IgG₁ 또는 IgG₄ 불변 영역이다. Fab 단편 중쇄 유전자의 경우, VH-코딩 DNA는 오직 중쇄 CH_1 불변 영역만을 코딩하는 다른 DNA 분자에 작동적으로 연결될 수 있다.

[0074]

VL 영역을 코딩하는 단리된 DNA는 경쇄 불변 영역, CL을 코딩하는 다른 DNA 분자에 VL-코딩 DNA를 작동적으로 연결시킴으로써 전체 길이 경쇄 유전자(또한 Fab 경쇄 유전자)로 전환시킬 수 있다. 인간 경쇄 불변 영역 유전자의 서열은 당분야에 공지되어 있고(예를 들어, 이하 문헌 참조: Kabat, E. A. et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition (U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)), 이를 영역을 포함하는 DNA 단편은 표준 PCR 증폭법으로 얻을 수 있다. 경쇄 불변 영역은 카파 또는 람다 불변 영역일 수 있지만, 일정 구체예에서는, 카파 불변 영역이다. scFv 유전자를 생성시키기 위해, VH 및 VL-코딩 DNA 단편은 탄성 링커를 코딩하는 다른 단편, 예를 들어 아미노산 서열(Gly₄-Ser)₃을 코딩하는 다른 단편에 작동적으로 연결되어, VH 및 VL 서열은 탄성 링커에 의해 VL과 VH 영역이 연결된, 연속되는 단일쇄 단백질로서 발현될 수 있다(예를 들어, 이하 문헌 참조: Bird et al., 1988, Science 242:423-426; Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., 1990, Nature 348:552-554).

[0075]

본원의 항-TNF-α 항체를 발현하기 위해, 상기에 기술된 바와 같이 얻은, 부분 또는 전체길이 경쇄 및 중쇄를 코딩하는 DNA는 발현 벡터에 삽입되어 이 유전자가 전사 및 번역 제어 서열에 작동적으로 연결된다. 여기서, 용어 "작동적으로 연결"은 항체 유전자가 벡터에 결찰되어 벡터 내 전사 및 번역 제어 서열이 항체 유전자의 전사 및 번역을 조절하는 그 목적 기능을 실시한다는 것을 의미하고자 한다. 발현 벡터 및 발현 제어 서열은 사용되는 발현 숙주 세포와 상용성으로 선택된다. 항체 경쇄 유전자 및 항체 중쇄 유전자는 개별 벡터로 삽입되거나, 보다 전형적으로는, 양 유전자가 동일 발현 벡터에 삽입된다.

[0076]

항체 유전자는 표준 방법(예를 들어, 항체 유전자 단편 및 벡터 상의 상보적 제한효소 부위의 결찰, 또는 제한효소 부위가 존재하지 않으면 블런트 말단 결찰)에 의해 발현 벡터로 삽입된다. D2E7 또는 D2E7-관련 경쇄 또는 중쇄 서열의 삽입 전에, 발현 벡터는 이미 항체 불변 영역 서열을 보유할 수 있다. 예를 들어, D2E7 또는 D2E7-관련 VH 및 VL 서열을 전체 길이 항체 유전자로 전환시키는 것은, VH 절편이 벡터 내 CH 절편(들)에 작동적으로 연결되고 VL 절편이 벡터내 CL 절편에 작동적으로 연결되도록, 각각 중쇄 불변 및 경쇄 불변 영역을 이미 코딩하는 발현 벡터에 그들을 삽입시키는 것이다. 부가적으로 또는 다르게, 재조합 발현 벡터는 숙주 세포로부터 항체 쇄의 분비를 촉진하는 신호 펩티드를 코딩할 수 있다. 항체 쇄 유전자는 신호 펩티드가 인프레임으로 항체 쇄 유전자의 아미노 말단에 연결되도록 벡터에 클로닝될 수 있다. 신호 펩티드는 면역글로불린 신호 펩티드 또는 이종성 신호 펩티드(즉, 비면역글로불린 단백질 유래의 신호 펩티드)일 수 있다.

[0077]

항체 쇄 유전자외에도, 본원의 재조합 발현 벡터는 숙주 세포 내 항체 쇄 유전자의 발현을 제어하는 조절 서열을 보유한다. 용어 "조절 서열"은 항체 쇄 유전자의 전사 또는 번역을 제어하는 프로모터, 인핸서 및 다른 발현 제어 성분(예를 들어, 폴리아데닐화 신호)을 포함시키고자 한다. 이러한 조절 서열은, 예를 들어 다음의 문헌에 기술되어 있다: Goeddel, Gene Expression Technology: Methods in Enzymology 185(Academic Press, San Diego, CA, 1990). 조절 서열의 선별을 포함하여, 발현 벡터의 디자인은 형질전환되는 숙주 세포, 목적 단백질의 발현도 등의 인자들에 따라 좌우될 수 있음을 당분야의 숙련가는 이해할 것이다. 포유동물 숙주 세포 발현에 적절한 조절 서열은 포유동물 세포에서 고수준의 단백질 발현을 유도하는 바이러스 성분들, 예컨대 사이토메갈로바이러스(CMV)(CMV 프로모터/인핸서), 원숭이 바이러스 40(SV40)(예컨대 SV40 프로모터/인핸서), 아데노바이러스(예를 들어, 아데노바이러스 주요 후기 프로모터(AdMLP)) 및 폴리오마에서 유래하는 프로모터 및/또는 인핸서를 포함한다. 바이러스 조절 성분, 및 그 서열에 대한 추가 설명은, 예를 들어, 이하 문헌들을 참조한다: 예를 들어, 미국 특허 제5,168,062호(Stinski), 미국 특허 제4,510,245호(Bell et al.) 및 미국 특허 제4,968,615호(Schaffner et al.).

[0078]

항체 쇄 유전자 및 조절 서열 이외에도, 본원의 재조합 발현 벡터는 숙주 세포에서 벡터의 복제(예를 들어, 복제 원점)를 조절하는 서열 및 선별 마커 유전자 등과 같은 추가 서열을 보유할 수 있다. 선별 마커 유전자는 벡터가 도입된 숙주 세포의 선별을 용이하게 한다(예를 들어, 미국 특허 제4,399,216호, 제4,634,665호 및 제5,179,017호, 모두 Axel et al.). 예를 들어, 전형적으로, 선별 마커 유전자는 G418, 푸로마이신, 블라스티시딘, 하이그로마이신 또는 메토트렉세이트 등과 같은 약물에 대한 내성을 벡터가 도입된 숙주 세포에 부여한다. 적절한 선별 마커 유전자는 디히드로폴레이트 리덕타제(DHFR) 유전자(메토트렉세이트 선별/증폭을 이용하는 DHFR⁻ 숙주 세포에서 사용) 및 neo 유전자(G418 선별용)를 포함한다. 경쇄 및 중쇄 발현을 위해, 중쇄 및 경쇄를 코딩하는 발현 벡터(들)은 표준 방법에 의해 숙주 세포를 형질감염시킨다. 다양한 형태의 용어 "형질감염"은 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포로 외생성 DNA를 도입하는데 통상적으로 사용되는 다양한 기술들, 예를 들어, 전기천공, 리포펙션, 칼슘-인산 침전법, DEAE-덱스트란 형질감염 등을 포함시키려는 것이다.

- [0079] 원핵생물 또는 진핵생물 숙주 세포에서 본원의 항체를 발현시키는 것이 가능하다. 일정 구체예에서, 항체의 발현은 적합하게 풀딩되고 면역학적으로 활성인 항체의 최적 분비를 위해, 진핵생물 세포, 예를 들어 포유동물 숙주 세포에서 실시한다. 본원의 재조합 항체의 발현을 위한 예시적인 포유동물 숙주 세포는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포(예를 들어 [Kaufman and Sharp, 1982, Mol. Biol. 159:601-621]에 기술된 바와 같은, DHFR 선별 마커를 이용하는, [Urlaub and Chasin, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220]에 기술된 DHFR⁻ CHO 세포 포함), NS0 골수종 세포, COS 세포, 293 세포 및 SP2/0 세포를 포함한다. 항체 유전자를 코딩하는 재조합 발현 벡터를 포유동물 숙주 세포에 도입할 경우, 항체는 숙주 세포에서 항체가 발현되거나 또는 숙주 세포를 성장시키는 배양 배지로 항체가 분비되는데 충분한 시간 동안 숙주 세포를 배양하여 생성된다. 항체는 표준 단백질 정제법을 이용해 배양 배지로부터 회수될 수 있다. 숙주 세포는 또한 온전한 항체의 일부, 예컨대 Fab 단편 또는 scFv 분자를 생성시키는데 사용될 수 있다. 상기 기술된 방법에 대한 별법이 본원의 범주에 포함됨을 이해한다. 예를 들어, 본원의 항-TNF-α 항체의 경쇄 또는 중쇄(둘 모두는 아님)를 코딩하는 DNA로 숙주 세포를 형질감염시키는 것이 바람직할 수 있다.
- [0080] 재조합 DNA 방법인 또한 TNF-α에 결합하는데 필수적이지 않은 경쇄나 중쇄 또는 둘 모두를 코딩하는 DNA의 일부 또는 전부를 제거하는데 사용될 수 있다. 이러한 절단형 DNA 분자로부터 발현된 분자도 역시 본원이 항체에 포함된다.
- [0081] 또한, 표준 화학 가교법에 의하여 제2 항체에 본원의 항체를 가교시킴으로써 한 중쇄 및 한 경쇄는 본원의 항체이고 다른 경쇄 및 중쇄는 TNF-α 이외의 항체에 특이적인 이중기능성 항체를 제조할 수 있다. 이중기능성 항체는 또한 이중기능성 항체를 코딩하도록 조작된 핵산을 발현하여 생성시킬 수 있다.
- [0082] 일정 구체예에서, 이중 특이적 항체, 즉 동일한 결합 부위를 이용하여 TNF-α 및 미관련 항원에 결합하는 항체는 경쇄 및/또는 중쇄 CDR 내 아미노산 잔기를 돌연변이시킴으로써 제조할 수 있다. 다양한 구체예에서, TNF-α 및 다른 항원, 예를 들어 다른 프로염증성 사이토카인(예컨대 램포톡신, 인터페론-γ, 또는 인터루킨-1)에 결합하는 이중 특이적 항체는 항원 결합 부위의 주변부 내 아미노산 잔기를 돌연변이시킴으로써 생성시킬 수 있다(예를 들어, 이하 문헌 참조: Bostrom et al., 2009, Science 323:1610-1614). 이중 기능성 항체는 이중 특이적 항체를 코딩하도록 조작된 핵산을 발현시켜 생성시킬 수 있다.
- [0083] 본원의 항-TNF-α 항체의 재조합 발현을 위해, 숙주 세포는 2종의 본원에 따른 발현 벡터로 공동형질감염될 수 있는데, 제1 벡터는 중쇄 유래 폴리펩티드를 코딩하고 제2 벡터는 경쇄 유래 폴리펩티드를 코딩하는 것이다. 대체로, 각각 이를 2종의 벡터는 개별적인 선별 마커를 함유한다. 다르게, 중쇄 및 경쇄 폴리펩티드 둘 모두를 코딩하는 단일 벡터를 사용할 수 있다.
- [0084] D2E7 또는 D2E7의 CDR 서열과 관련있는 CDR 서열을 갖는 항-TNF-α 항체의 1 이상의 부분을 코딩하는 핵산이 생성되면, 추가의 변경 또는 돌연변이를 코딩 서열에 도입시켜, 예를 들어 상이한 CDR 서열을 갖는 항체, Fc 수용체에 대한 친화도가 감소된 항체, 또는 상이한 서브클래스의 항체를 코딩하는 핵산을 생성시킬 수 있다.
- [0085] 본원의 항-TNF-α 항체는 또한 화학 합성법으로도 제조할 수 있다(예를 들어, 이하 문헌에 기술된 방법에 의함: Solid Phase 펩티드 Synthesis, 2nd ed., 1984 The Pierce Chemical Co., Rockford, Ill.). 변이체 항체는 또한 무세포 플랫폼을 이용해 생성시킬 수 있다. 예를 들어, Chu et al., Biochemia No. 2, 2001 (Roche Molecular Biologicals) 참조).
- [0086] 본원의 항-TNF-α 항체가 재조합 발현에 의해 생성되면, 면역글로불린 분자의 정제를 위해 당분야 알려져 있는 임의의 방법, 예를 들어, 크로마토그래피(예컨대, 이온 교환법, 친화도, 특히 단백질 A 또는 단백질 G 선별 이후 TNF-α에 의한 친화도에 의한 크로마토그래피, 및 크기별 컬럼 크로마토그래피), 원심분리, 차등 가용화법, 또는 단백질 정제를 위한 임의의 다른 표준법에 의해 정제할 수 있다. 또한, 본원의 항-TNF-α 항체 또는 이의 단편을 본원에 기술되거나 아니면 당분야에 공지된 이종성 폴리펩티드 서열에 응합시켜 정제를 용이하게 할 수 있다.
- [0087] 단리되면, 항-TNF-α 항체는 필요할 경우, 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피(예를 들어, Fisher, Laboratory Techniques In Biochemistry and Molecular Biology(Work and Burdon, eds., Elsevier, 1980) 참조), 또는 Superdex™ 75 컬럼(Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden) 상에서의 겔 침투 크로마토그래피에 의해 추가 정제될 수 있다.
- [0088] 7.3 항-TNF-α 항체의 생물학적 활성

- [0089] 일정 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 확실한 생물학적 활성, 예컨대 TNF- α 와의 결합을 위해 D2E7과 경쟁하는 활성 또는 TNF- α 활성을 중화하는 활성을 갖는다.
- [0090] 따라서, 일정 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 TNF- α 와의 결합에 대해 D2E7과 경쟁한다. TNF- α 와의 결합에 대한 경쟁능은 경쟁 분석법을 이용해 테스트할 수 있다. 경쟁 분석법의 일례에서, TNF- α 는 TNF- α 용액을 플레이트와 접촉(예를 들어, PBS 중 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 밤새 4°C에서)시켜서, 고체 표면, 예를 들어, 마이크로웰 플레이트에 부착된다. 이 플레이트를 세척(예를 들어, PBS 중 0.1% Tween 20) 및 블로킹(예를 들어, 수퍼블록에서(Thermo Scientific, Rockford, IL))시킨다. 포화량 이하 양의 비오틴화 D2E7(80 ng/mL) 및 미표지화 D2E7 ("기준" 항체) 또는 경쟁 항-TNF- α 항체("테스트" 항체)의 혼합물의, ELISA 완충액(예를 들어, PBS 중 1% BSA 및 0.1% Tween 20) 중 연속 희석물(예를 들어, 2.8 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 8.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 또는 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도)을 웰에 부가하고 플레이트를 가볍게 진탕하면서 1시간 동안 항온반응시킨다. 이 플레이트를 세척하고, ELISA 완충액에 희석된 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ HRP-접합된 스트렙타비딘을 각 웰에 부가한 후 1시간 동안 이 플레이트를 항온반응시킨다. 플레이트를 세척하고 기질(예를 들어, TMB, Biofx Laboratories Inc., Owings Mills, MD)을 부가하여 결합된 항체를 검출하였다. 이 반응은 중지 완충액(예를 들어, Bio FX Stop Reagents, Biofx Laboratories Inc., Owings Mills, MD)을 부가하여 종결시키고 마이크로플레이트 판독기(예를 들어, VERSAmax, Molecular Devices, Sunnyvale, CA)를 이용해 650 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 경쟁 분석의 별법을 또한 이용하여, 본원의 항-TNF- α 항체와 D2E7 간 경쟁성을 테스트할 수도 있다. 예를 들어, 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체를 기준 항체로 사용하고 D2E7을 테스트 항체로 사용한다. 추가적으로, 가용성 TNF- α 대신, 배양되는 세포 표면(예를 들어, 포유동물 세포 예컨대 293S) 상에 발현되는 막 결합 TNF- α 를 사용할 수 있다. 다르게, 가용성 D2E7 및 테스트 항체 대신, 배양되는 세포 표면(예를 들어, 포유동물 세포 예컨대 293c18) 상에 발현되는 것을 역시 사용할 수 있다. 일반적으로, 약 10⁴ 내지 10⁶ 형질감염체, 예를 들어, 약 10⁵ 형질감염체가 사용된다. 다른 형식의 경쟁 분석법이 당분야에 알려져 있고 사용될 수 있다.
- [0091] 다양한 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 항-TNF- α 항체가 0.08 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도 또는 임의의 상기 값 사이 범위 농도(예를 들어, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 범위의 농도)로 사용될 때, 표지된 D2E7의 결합을 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 임의의 상기 값 사이 범위의 비율(예를 들어, 본원의 항-TNF- α 항체는 표지된 D2E7의 결합을 50% 내지 70% 감소시킴) 만큼 감소시킨다.
- [0092] 다른 구체예에서, D2E7은 본원에 기술된 표지화 항-TNF- α 항체의 결합을, D2E7이 0.4 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도 또는 임의의 상기 값 사이 범위의 농도(예를 들어, 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 내지 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 범위의 농도)로 사용될 경우, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 임의의 상기 값 사이 범위의 비율(예를 들어, D2E7은 본원의 표지된 항-TNF- α 항체의 결합을 50% 내지 70% 감소시킴) 만큼 감소시킨다.
- [0093] 다른 측면에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 시험관 내 분석, 예컨대 세포의 세포독성, 유사분열유도, 사이토카인 유도 및 부착 분자 유도 분석 범위에서 TNF- α 활성을 억제한다. 다르게, 본원의 항-TNF- α 항체의 활성, 예컨대 역 신호전달 유도능, 사이토카인 유도능, 부착 분자, CDC 및 ADCC의 유도능은 세포 상에서 천연적으로 또는 재조합적으로 발현된 막 결합 TNF- α 를 이용하는 시험관 내 분석법으로 측정될 수 있다. TNF- α 에 감응성인 세포(예를 들어, L929)를 이용하여 가용성 TNF- α 세포독성의 억제도를 측정하는 예시적인 TNF- α 중화 분석법을 이하에 기술한다. 다른 TNF- α 세포독성 분석법을 또한 사용하여 본원의 항-TNF- α 항체의 활성을 평가할 수 있다.
- [0094] 따라서, 예시적인 구체예에서, 항-TNF- α 세포독성 분석법은 3×10^4 젖과동물 L929 세포를 평면 바닥 96웰 마이크로타이터 플레이트의 개별 웰에 플레이팅하는 것을 포함한다. 세포는 밤새 37°C에 습도 5% CO₂ 인큐베이터에서 항온반응된다. 다음날, 항-TNF- α 항체의 연속 희석물(예를 들어, 0.712 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.949 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1.69 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 2.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 또는 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$)을 25 μl 의 무혈청 배지로 준비하고 세포에 부가하였다(예를 들어, 150 μl 배양물 중 최종 농도가 119 ng/mL, 158 ng/mL, 211 ng/mL, 282 ng/mL, 375 ng/mL 또는 500 ng/mL). 37°C, 5% CO₂에서 2시간 항온반응 후, TNF- α 를 최종 농도 40 ng/mL(예를 들어, 240 ng/mL을 25 μl)로 부가하고 세포를 48 시간 동안 37°C, 5% CO₂에서 추가 항온반응시켰다. 웰들을 생존능 분석법(예를 들어, CellTiter-Blue, Promega, Madison, WI)을 이용해 대조군 플레이트(일정 구체예에서, 항-TNF- α 항체와 항온반응시키지 않은 TNF- α 로 처리된 것, 예를 들어, 이소타입 대조군 항체와 항온반응시킨 것 및 다른 구체예에서는 D2E7로 처리된

것)와 비교하여 세포독성에 대해 채점하였다. TNF-α 중화 분석법에 대한 다른 형식이 당분야에 공지되어 있고 사용될 수 있다.

[0095] 다양한 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 항-TNF-α 항체를 2 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 0.1 µg/ml, 0.2 µg/ml, 1 µg/ml, 2 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 또는 임의의 상기 값 사이 범위의 농도(예를 들어, 1 µg/ml 내지 5 µg/ml 범위의 농도)로 사용할 경우, TNF-α를 30% 이상, 40% 이상, 50% 이상, 60% 이상, 70% 이상, 80% 이상, 90% 이상, 또는 임의의 상기 값 사이 범위의 비율(예를 들어, 본원의 항-TNF-α 항체는 TNF-α 활성을 50% 내지 70% 중화시킴) 만큼 중화시킨다. 일부 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 TNF-α를 중화시키는 D2E7처럼 80% 이상 유효, 90% 이상 유효, 100% 이상 유효, 110% 이상 유효, 125% 이상 유효, 또는 150% 이상 유효하고, 최대 110% 유효하거나, 최대 125% 유효하거나, 최대 150% 유효하거나, 최대 200% 유효하거나, 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위로 유효(예를 들어, TNF-α의 중화에 대해 D2E7의 80% 내지 125% 유효 또는 125% 내지 200% 유효)하다.

[0096] 일정 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 TNF-α에 대해 높은 결합 친화도를 갖는다. 특정 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 비(specific) 회합속도 상수(k_{on} 또는 k_a 값), 해리 속도 상수(k_{off} 또는 k_d 값), 친화 상수(K_A 값), 해리 상수(K_D 값) 및/또는 IC_{50} 값을 갖는다. 일정 측면에서, 이러한 값은 하기 구체예로부터 선택된다.

7.4 항-TNF-α 항체의 동역학적 특성

[0098] 특정 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 적어도 $10^5 M^{-1}s^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^5 M^{-1}s^{-1}$, 적어도 $10^6 M^{-1}s^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$, 적어도 $10^7 M^{-1}s^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^7 M^{-1}s^{-1}$, 적어도 $10^8 M^{-1}s^{-1}$ 의 k_{on} 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위(예를 들어, 5×10^5 내지 $5 \times 10^6 M^{-1}s^{-1}$ 또는 10^7 내지 $10^8 M^{-1}s^{-1}$)의 k_{on} 으로 TNF-α에 결합한다.

[0099] 다른 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 $5 \times 10^{-1} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-1} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-2} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-2} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-3} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-3} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-4} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-5} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-6} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-6} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-7} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-7} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-8} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-8} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-9} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-9} s^{-1}$ 또는 그 이하, $5 \times 10^{-10} s^{-1}$ 또는 그 이하, $10^{-10} s^{-1}$ 또는 그 이하의 k_{off} 속도, 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위(예를 들어, 5×10^{-4} 내지 $10^{-6} s^{-1}$, 또는 5×10^{-5} 내지 $5 \times 10^{-8} s^{-1}$)의 k_{off} 속도로 TNF-α에 결합한다.

[0100] 다른 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 적어도 $10^{11} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{11} nM^{-1}$, 적어도 $10^{12} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{12} nM^{-1}$, 적어도 $10^{13} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{13} nM^{-1}$, 적어도 $10^{14} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{14} nM^{-1}$, 적어도 $10^{15} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{15} nM^{-1}$, 적어도 $10^{16} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{16} nM^{-1}$, 적어도 $10^{17} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{17} nM^{-1}$, 적어도 $10^{18} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{18} nM^{-1}$, 적어도 $10^{19} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{19} nM^{-1}$, 적어도 $10^{20} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{20} nM^{-1}$, 적어도 $10^{21} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{21} nM^{-1}$, 적어도 $10^{22} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{22} nM^{-1}$, 적어도 $10^{23} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{23} nM^{-1}$, 적어도 $10^{24} nM^{-1}$, 적어도 $5 \times 10^{24} nM^{-1}$ 의 K_A (k_{on}/k_{off}) 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위(예를 들어, 5×10^{14} 내지 $10^{22} nM^{-1}$, 또는 10^{11} 내지 $5 \times 10^{18} nM^{-1}$)의 K_A 로 TNF-α에 결합한다.

[0101] 다른 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 $5 \times 10^7 nM$ 또는 그 이하, $10^7 nM$ 또는 그 이하, $5 \times 10^6 nM$ 또는 그 이하, $10^6 nM$ 또는 그 이하, $5 \times 10^5 nM$ 또는 그 이하, $10^5 nM$ 또는 그 이하, $5 \times 10^4 nM$ 또는 그 이하, $10^4 nM$ 또는 그 이하, $5 \times 10^3 nM$ 또는 그 이하, $10^3 nM$ 또는 그 이하, $5 \times 10^2 nM$ 또는 그 이하, $100 nM$ 또는 그 이하, $90 nM$ 또는 그 이하, $80 nM$ 또는 그 이하, $70 nM$ 또는 그 이하, $60 nM$ 또는 그 이하, $50 nM$ 또는 그 이하, $20 nM$ 또는 그 이하, $15 nM$ 또는 그 이하, $10 nM$ 또는 그 이하, $5 nM$ 또는 그 이하, $3.8 nM$ 또는 그 이하,

2 nM 또는 그 이하, 1.5 nM 또는 그 이하, 1 nM 또는 그 이하, 5×10^{-1} nM 또는 그 이하, 10^{-1} nM 또는 그 이하, 5×10^{-2} nM 또는 그 이하, 10^{-2} nM 또는 그 이하, 5×10^{-3} nM 또는 그 이하, 10^{-3} nM 또는 그 이하, 5×10^{-4} nM 또는 그 이하, 10^{-4} nM 또는 그 이하, 5×10^{-5} nM 또는 그 이하, 10^{-5} nM 또는 그 이하, 5×10^{-6} nM 또는 그 이하, 10^{-6} nM 또는 그 이하의 $K_D(k_{off}/k_{on})$, 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위(예를 들어, 5×10^{-7} 내지 50 nM, 또는 15 nM 내지 5×10^{-3} nM)의 K_D 로 TNF-α에 결합한다.

[0102] 일정한 특정 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 대략 0.1 nM 내지 대략 1 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 2 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 3 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 4 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 5 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 6 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 7 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 8 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 9 nM, 또는 대략 0.1 nM 내지 대략 10 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 0.1 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 1 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 2 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 3 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 4 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 5 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 6 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 7 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 8 nM, 또는 대략 0.01 nM 내지 대략 9 nM, 또는 대략 0.6 nM 내지 대략 1.1 nM, 또는 대략 0.7 nM 내지 대략 1.2 nM, 또는 대략 0.5 내지 대략 5 nM의 $K_D(k_{off}/k_{on})$ 로 TNF-α에 결합한다. 다른 특정 구체예에서, 항-TNF-α 항체는 약 5 nM, 약 3.5 nM, 약 1.5 nM, 약 1 nM, 약 0.5 nM, 약 0.1 nM, 약 0.05 nM 또는 약 0.01 nM의 $K_D(k_{off}/k_{on})$ 로 TNF-α에 결합한다. 특정 구체예에서, $K_D(k_{off}/k_{on})$ 값은 당분야에 공지되거나 또는 본원에 기술된 분석법, 예를 들어 ELISA, 등온 적정 열량계(ITC), BIACore, 또는 형광 편광 분석법으로 결정된다.

[0103] 일부 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 TNF-α에 결합하여 TNF-α가 p55, p75 또는 둘 모두에 결합하는 것을 5×10^7 nM 미만, 10^7 nM 미만, 5×10^6 nM 미만, 10^6 nM 미만, 5×10^5 nM 미만, 10^5 nM 미만, 5×10^4 nM 미만, 10^4 nM 미만, 5×10^3 nM 미만, 10^3 nM 미만, 5×10^2 nM 미만, 100 nM 미만, 90 nM 미만, 80 nM 미만, 70 nM 미만, 65 nM, 60 nM 미만, 50 nM 미만, 40 nM 미만, 30 nM 미만, 25 nM 미만, 20 nM 미만, 15 nM 미만, 12 nM 미만, 10 nM 미만, 5 nM 미만, 1 nM 미만, 5×10^{-1} nM 미만, 10^{-1} nM 미만, 5×10^{-2} nM 미만, 10^{-2} nM 미만, 5×10^{-3} nM 미만, 10^{-3} nM 미만, 5×10^{-4} nM 미만 또는 10^{-4} nM 미만의 IC_{50} 값, 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위(예를 들어, 5×10^7 내지 50 nM, 또는 15 nM 내지 5×10^{-3} nM)의 IC_{50} 값으로 억제한다. IC_{50} 값은 당분야에 공지되거나 또는 본원에 기술된 방법, 예를 들어 ELISA에 따라 측정될 수 있다.

[0104] 다른 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 TNF-α에 결합하여, TNF-α를, 5×10^7 nM 미만, 10^7 nM 미만, 5×10^6 nM 미만, 10^6 nM 미만, 5×10^5 nM 미만, 10^5 nM 미만, 5×10^4 nM 미만, 10^4 nM 미만, 5×10^3 nM 미만, 10^3 nM 미만, 5×10^2 nM 미만, 100 nM 미만, 90 nM 미만, 80 nM 미만, 70 nM 미만, 65 nM, 60 nM 미만, 50 nM 미만, 40 nM 미만, 30 nM 미만, 25 nM 미만, 20 nM 미만, 15 nM 미만, 12 nM 미만, 10 nM 미만, 5 nM 미만, 1 nM 미만, 5×10^{-1} nM 미만, 10^{-1} nM 미만, 5×10^{-2} nM 미만, 10^{-2} nM 미만, 5×10^{-3} nM 미만, 10^{-3} nM 미만, 5×10^{-4} nM 미만, 또는 10^{-4} nM 미만의 IC_{50} , 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위(예를 들어, 5×10^7 내지 50 nM, 또는 15 nM 내지 5×10^{-3} nM)의 IC_{50} 값으로 중화시킨다. 항-TNF-α 항체의 IC_{50} 값을 측정하는데 사용할 수 있는 예시적인 중화 분석법은 이하 섹션 7.5에 기술한다.

[0105] 일정 특정 구체예에서, 항-TNF-α 항체는 TNF-α에 결합하여, 대략 1 nM 내지 대략 10 nM, 대략 1 nM 내지 대략 15 nM, 대략 1 nM 내지 대략 20 nM, 대략 1 nM 내지 대략 25 nM, 대략 1 nM 내지 대략 30 nM, 대략 1 nM 내지 대략 40 nM, 대략 1 nM 내지 대략 50 nM, 대략 10 nM 내지 대략 10^2 nM, 대략 10^2 nM 내지 대략 10^3 nM, 대략 10 nM 내지 대략 10^4 nM, 대략 10^4 nM 내지 대략 10^5 nM, 대략 10^5 nM 내지 대략 10^6 nM, 또는 대략 10^6 nM 내지 대략 10^7 nM의 IC_{50} 값으로, TNF-α가 p55, p75 또는 둘 모두에 결합하는 것을 억제하거나, 또는 TNF-α 중화 분석시 TNF-α 활성을 억제한다.

- [0106] 다른 특정 구체예에서, 항-TNF- α 항체는 TNF- α 에 결합하여, 대략 5 nM 내지 대략 10 nM, 대략 5 nM 및 대략 15 nM, 대략 10 nM 및 대략 15 nM, 대략 10 nM 내지 대략 20 nM, 대략 10 nM 내지 대략 30 nM, 대략 10 nM 내지 대략 40 nM, 대략 10 nM 내지 대략 50 nM, 대략 1 nM 내지 대략 100 nM, 대략 10 nM 내지 대략 100 nM, 대략 20 nM 내지 대략 100 nM, 대략 30 nM 내지 대략 100 nM, 대략 40 nM 내지 대략 100 nM, 대략 50 nM 내지 대략 100 nM, 대략 15 nM 내지 대략 25 nM, 또는 대략 15 nM 내지 대략 20 nM의 IC₅₀ 값으로, TNF- α 가 p55, p75 또는 둘 모두에 결합하는 것을 억제하거나, 또는 TNF- α 중화 분석 시 TNF- α 활성을 억제한다.
- [0107] 상기 구체예의 일정 측면에서, IC₅₀은 0.001 μ M, 0.005 μ M, 0.01 μ M, 0.05 μ M, 0.1 μ M, 0.5 μ M, 1 μ M, 10 μ M, 20 μ M, 30 μ M, 40 μ M, 50 μ M, 60 μ M, 70 μ M, 80 μ M, 90 μ M, 100 μ M, 200 μ M, 300 μ M, 400 μ M, 500 μ M, 600 μ M, 700 μ M, 800 μ M, 900 μ M, 1000 μ M의 농도 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위 농도(예를 들어, 0.01 내지 50 μ M, 또는 10 μ M 내지 100 μ M)의 TNF- α 존재 하에 측정된다.
- [0108] 일정 구체예에서, 본원의 항체의 특성은 비교 분석시 D2E7 항체와 견줄만하거나, 또는 그보다 개선된다. 예를 들어, 일정 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 D2E7의 k_{on}의 0.2x 내지 5x의 k_{on} 속도 범위, 예를 들어, D2E7의 k_{on}의 0.2x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.3x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.4x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.5x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.6x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.7x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.8x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.9x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 1x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 1.1x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 1.2x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 1.3x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 1.4x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 1.5x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 1.75x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 2x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 2.25x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 2.5x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 2.75x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 3x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 3.5x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 4x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 4.5x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 5x의 k_{on}, 또는 상기 값의 임의 쌍 범위의 k_{on}, 예를 들어, D2E7의 k_{on}의 0.7x-1.5x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.9x-1.3x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.8x-2x의 k_{on}, D2E7의 k_{on}의 0.9x-3x의 k_{on} 등으로 TNF- α 에 결합한다.
- [0109] 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 D2E7의 k_{off}의 0.2x 내지 5x의 k_{off} 범위의 k_{off} 속도, 예를 들어, D2E7의 k_{off}의 0.2x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.3x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.4x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.5x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.6x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.7x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.8x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.9x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 1x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 1.1x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 1.2x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 1.3x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 1.4x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 1.5x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 1.75x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 2x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 2.25x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 2.5x의 D2E7, D2E7의 k_{off}의 2.75x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 3x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 3.5x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 4x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 4.5x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 5x의 k_{off}, 또는 상기 값의 임의 쌍 범위의 k_{off}, 예를 들어, D2E7의 k_{off}의 0.7x-1.5x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.9x-1.3x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.8x-2x의 k_{off}, D2E7의 k_{off}의 0.9x-3x의 k_{off} 등으로, TNF- α 에 결합한다.
- [0110] 다른 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 D2E7의 K_A의 0.04x 내지 25x 범위의 K_A(k_{on}/k_{off}), 예를 들어, D2E7의 K_A의 0.04x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.1x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.25x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.5x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.6x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.7x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.8x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.9x의 K_A, D2E7의 K_A의 1x의 K_A, D2E7의 K_A의 1.1x의 K_A, D2E7의 K_A의 1.25x의 K_A, D2E7의 K_A의 1.5x의 K_A, D2E7의 K_A의 1.75x의 K_A, D2E7의 K_A의 2x의 K_A, D2E7의 K_A의 2.5x의 K_A, D2E7의 K_A의 3x의 K_A, D2E7의 K_A의 4x의 K_A, D2E7의 K_A의 4x%의 K_A, D2E7의 K_A의 5x의 K_A, D2E7의 K_A의 7.5x의 K_A, D2E7의 K_A의 10x의 K_A, D2E7의 K_A의 12.5x의 K_A, D2E7의 K_A의 15x의 K_A, D2E7의 K_A의 20x의 K_A, D2E7의 K_A의 25x의 K_A, 또는 상기 값의 임의 쌍 범위의 K_A, 예를 들어, D2E7의 K_A의 0.7x-1.25x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.9x-1.5x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.9x-2x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.8x-1.75x의 K_A, D2E7의 K_A의 0.9x-5x의 K_A, 또는 본원에 기술된 k_{on} 및 k_{off} 속도로 계산할 수 있는 임의의 값 또는 범위의 K_A로 TNF- α 에 결합한다.
- [0111] 다른 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 D2E7의 K_D의 0.04x 내지 25x 범위의 K_D(k_{off}/k_{on}), 예를 들어, D2E7의 K_D의 0.04x의 K_D, D2E7의 K_D의 0.1x의 K_D, D2E7의 K_D의 0.25x의 K_D, D2E7의 K_D의 0.5x의 K_D, D2E7의 K_D의 0.6x의

K_D , D2E7의 K_D 의 0.7x의 K_D , D2E7의 K_D 의 0.8x의 K_D , D2E7의 K_D 의 0.9x의 K_D , D2E7의 K_D 의 1x의 K_D , D2E7의 K_D 의 1.1x의 K_D , D2E7의 K_D 의 1.25x의 K_D , D2E7의 K_D 의 1.5x의 K_D , D2E7의 K_D 의 1.75x의 K_D , D2E7의 K_D 의 2x의 K_D , D2E7의 K_D 의 2.5x의 K_D , D2E7의 K_D 의 3x의 K_D , D2E7의 K_D 의 4x의 K_D , D2E7의 K_D 의 4x%의 K_D , D2E7의 K_D 의 5x의 K_D , D2E7의 K_D 의 7.5x의 K_D , D2E7의 K_D 의 10x의 K_D , D2E7의 K_D 의 12.5x의 K_D , D2E7의 K_D 의 15x의 K_D , D2E7의 K_D 의 20x의 K_D , D2E7의 K_D 의 25x의 K_D , 또는 상기 값의 임의 쌍 사이 범위의 K_D , 예를 들어, D2E7의 K_D 의 0.7x-1.25x의 K_D , D2E7의 K_D 의 0.9x-1.5x의 K_D , D2E7의 K_D 의 0.9x-2x의 K_D , D2E7의 K_D 의 0.8x-1.75x의 K_D , D2E7의 K_D 의 0.9x-5x의 K_D , 또는 본원에 기술된 k_{on} 및 k_{off} 속도로 계산할 수 있는 임의의 값 또는 범위의 K_D 로 TNF- α 에 결합한다.

[0112] 일부 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 TNF- α 에 결합하여, D2E7의 IC_{50} 의 50% 내지 200% 범위의 IC_{50} 값, 예를 들어, D2E7의 IC_{50} 의 50%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 60%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 70%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 75%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 80%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 90%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 95%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 100%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 110%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 120%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 125%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 130%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 140%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 150%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 160%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 170%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 175%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 180%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 190%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 200%의 IC_{50} , 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위의 IC_{50} , 예를 들어, D2E7의 IC_{50} 의 75%-125%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 90%-130%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 95%-125%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 90%-110%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 90%-180%의 IC_{50} , 또는 D2E7의 IC_{50} 의 80%-175%의 IC_{50} 에서, TNF- α 가 p55, p75 또는 둘 모두에 결합하는 것을 억제한다. 다른 구체예에서, 단일 CDR 치환으로 IC_{50} 가 D2E7과 비교하여 상기와 같이 차이가 나도록 할 수 있지만, 본원의 항-TNF- α 항체는 D2E7과 비교하여 이러한 치환 및 16개 이하의 추가 치환을 포함할 수 있다.

[0113] 다른 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 TNF- α 에 결합하여, D2E7의 IC_{50} 의 50% 내지 200% 범위의 IC_{50} 값, 예를 들어, D2E7의 IC_{50} 의 50%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 60%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 70%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 75%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 80%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 90%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 95%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 100%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 110%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 120%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 125%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 130%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 140%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 150%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 160%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 170%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 175%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 180%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 190%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 200%의 IC_{50} , 또는 상기 값의 임의 쌍 사이의 임의 범위의 IC_{50} , 예를 들어, D2E7의 IC_{50} 의 75%-125%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 90%-130%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 95%-125%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 90%-110%의 IC_{50} , D2E7의 IC_{50} 의 90%-180%의 IC_{50} , 또는 D2E7의 IC_{50} 의 80%-175%의 IC_{50} 값으로, TNF- α 를 중화시킨다. 다른 구체예에서, 단일 CDR 치환으로 D2E7과 비교하여 IC_{50} 값이 상기의 차이가 나도록 할 수 있지만, 본원의 항-TNF- α 항체는 D2E7과 비교하여 이러한 치환 및 16개 이하의 추가 치환을 포함할 수 있다.

7.5 항-TNF- α 항체의 면역원성 감소

[0115] 일정 측면에서, 본원은 D2E7과 비교하여 면역원성이 감소된 항-TNF- α 항체를 제공한다. 본원은 또한 D2E7의 CDR과 비교하여 그들 CDR에 복수의 아미노산 치환을 갖는 항-TNF- α 항체를 제공하며, 이때 1 이상의 치환은 D2E7과 비교하여 항원의 면역원성을 감소시킨다. 일정 구체예에서, 면역원성 감소는 1 이상의 T 세포 에피토프를 제거 또는 완화시키게 되는 1 이상의 아미노산 치환에 의한 결과이다.

[0116] 일정 측면에서, 면역원성이 감소된 본원의 항-TNF- α 항체는 D2E7과 비교하여 유사하거나 또는 개선된 생물학적 활성, 예를 들어 TNF- α 에 대한 친화도 또는 TNF- α 활성의 중화성을 갖는다. 이러한 특성은, 예를 들어 상기 섹션 7.3에 기술된 방법으로 테스트할 수 있다.

[0117] 일정 구체예에서, 본원의 TNF- α 항체의 면역원성은 D2E7 항체와 비교하여 감소된다. 이러한 항체는 대체로 서열번호 81 및/또는 서열번호 82, 및/또는 서열번호 83에 상응하는 영역 내 중쇄 및/또는 경쇄 가변 영역에 대해 변이 서열을 갖는다. 대체로 항체는, 본원에서 1, 2 또는 모든 3개 영역에 최대 4 또는 5개 치환이

고려되지만, 서열번호 81, 서열번호 82, 및 서열번호 83에 상응하는 1, 2 또는 모든 3개 서열에 1, 2 또는 3개 아미노산 치환을 갖게 된다.

[0118] D2E7과 비교하여 낮은 면역원성을 갖는 항체를 생성하는 예시적인 CDR-L1 치환은 표 11에 열거되어 있다. 본원의 항체는 표 11에 열거된 임의의 치환 또는 치환의 조합, 및 경우에 따라, 단독으로 또는 조합하여, 1 이상의 추가 치환, 예컨대 임의의 표 12-25의 CDR 돌연변이를 포함할 수 있다.

[0119] 본원에서 사용되는 용어, "면역원성 감소"는 서열번호 81, 서열번호 82 또는 서열번호 83과 비교하여 변이 서열이 각각 서열번호 81, 서열번호 82 또는 서열번호 83의 웨티드와 비교하여 말초혈 단핵구 세포의 증식 반응 감소를 유발하는 것을 의미한다. 증식 반응을 평가하는데 사용될 수 있는 예시적인 증식 분석법은 이하 섹션 8에 기술한다. 증식 반응 감소는 반응자의 비율, 자극 지수, 또는 둘 모두의 관점으로 반영될 수 있다.

[0120] 다른 구체예에서, 서열번호 81, 서열번호 82 또는 서열번호 83의 서열을 갖는 웨티드와 비교하여, 변이 서열은 적어도 25% 적은 반응자, 적어도 30% 적은 반응자, 적어도 35% 적은 반응자, 적어도 40% 적은 반응자, 적어도 45% 적은 반응자, 적어도 50% 적은 반응자, 적어도 60% 적은 반응자, 적어도 65% 적은 반응자, 적어도 70% 적은 반응자, 적어도 75% 적은 반응자, 적어도 80% 적은 반응자, 적어도 85% 적은 반응자, 적어도 90% 적은 반응자, 적어도 95% 적은 반응자, 100% 적은 반응자, 또는 또는 상기 값의 임의 값 사이 범위의 반응자 감소율, 예를 들어 25%-75% 적은 반응자, 50%-90% 적은 반응자, 60%-100% 적은 반응자, 70%-90% 적은 반응자 등이 그 결과로서 일어난다.

[0121] 다른 구체예에서, 변이 서열은 각각 서열번호 81, 서열번호 82 또는 서열번호 83의 웨티드에 의해 유도되는 자극 지수보다 적어도 5% 낮거나, 적어도 10% 낮거나, 적어도 15% 낮거나, 적어도 20% 낮거나, 적어도 25% 낮거나, 적어도 30% 낮거나, 적어도 35% 낮거나, 또는 적어도 40% 낮은 자극 지수가 그 결과로서 생성되거나, 또는 서열번호 81, 서열번호 82 또는 서열번호 83의 웨티드와 비교하여 임의의 상기 값 사이 범위만큼 감소된 자극 지수, 예를 들어 5%-20% 낮거나, 10%-30% 낮거나, 25%-35% 낮거나, 30%-40% 낮은 자극 지수가 그 결과로서 생성된다.

[0122] D2E7과 비교하여 면역원성이 감소된 항-TNF- α 항체의 예시적인 구체예는 표 11에 기술된 CDR 치환 중 1 이상 또는 치환의 조합을 포함한다.

7.6 항체 접합체

[0124] 본원의 항-TNF- α 항체는, 예를 들어, TNF- α 에 대한 결합이 공유 결합에 의해 방해받지 않도록, 항체에 임의 유형의 분자를 공유 결합시켜 개질된 항체 접합체를 포함한다.

[0125] 일정 측면에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 이펙터 모이어티 또는 표지에 접합될 수 있다. 본원에서 사용되는 용어 "이펙터 모이어티"는 예를 들어, 항신생물체, 약물, 특신, 생물학적 활성 단백질, 예를 들면, 효소, 다른 항체 또는 항체 단편, 합성 또는 천연 발생 중합체, 핵산(예를 들어, DNA 및 RNA), 방사성핵종, 특히 방사성요오드, 방사성동위원소, 퀄레이트화 금속, 나노입자 및 수용체 그룹 예컨대 형광발광 화합물 또는 NMR이나 ESR 발광계로 검출될 수 있는 화합물을 포함한다.

[0126] 일례에서, 항-TNF- α 항체는 이펙터 모이어티, 예컨대 세포독성제, 방사성핵종 또는 약물 모이어티에 접합되어 소정의 생물학적 반응이 개질될 수 있다. 이펙터 모이어티는 단백질 또는 폴리펩ти드, 예컨대 제한없이, 예를 들어 특신(예컨대 아브린, 리신 A, 슈도모나스 외독소, 또는 디프테리아 독소 등), 신호전달 분자(예컨대, α -인터페론, β -인터페론, 신경 성장 인자, 혈소판 유래 성장 인자 또는 조직 플라스미노겐 활성인자), 혈전제 또는 항-혈관생성제(예를 들어, 안지오페이션 또는 엔도스테틴) 또는 생물학적 반응 개질제 예컨대 사이토카인 또는 성장 인자(예를 들어, 인터루킨-1(IL-1), 인터루킨-2(IL-2), 인터루킨-6 (IL-6), 그레뉼로사이트 마크로파지 콜로니 자극 인자(GM-CSF), 그레뉼로사이트 콜로니 자극 인자(G-CSF), 또는 신경 성장 인자(NGF))일 수 있다.

[0127] 다른 예에서, 이펙터 모이어티는 세포독소 또는 세포독성제일 수 있다. 세포독소 및 세포독성제의 예로는 턱솔, 사이토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티듐 브로마이드, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테노포시드, 빙크리스틴, 빈블라스틴, 콜키신, 독소루비신, 다우노라비신, 디히드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데하드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤 및 푸로마이신 및 이의 유사체 또는 동종체 등이 포함된다.

[0128] 이펙터 모이어티는 또한, 이에 제한없이, 항대사물질(예를 들어, 메토트렉세이트, 6-머캅토퓨린, 6-티오구아닌, 사이타라빈, 5-플루오로우라실 데카르바진), 알킬화제(예를 들어, 메클로레타민, 티오에파 클로람부실, 멜վ란,

카르무스틴(BSNU) 및 로무스틴(CNU), 사이클로토스파미드, 부설판, 디브로모만니톨, 스트렙토조토신, 미토마이신 C5 및 시스-디클로로디아민 플래티넘 (II)(DDP) 시스플라틴), 안트라사이클린(예를 들어, 다우노루비신(이전에 다우노마이신) 및 독소루비신), 항생제(예를 들어, 닥티노마이신(이전에 약티노마이신), 블레오마이신, 미트라마이신, 안트라마이신(AMC), 칼리케아미신 또는 두오카르마이신), 및 항유사분열제(예를 들어, 빈크리스틴 및 빈블라스틴)를 포함한다.

[0129] 다른 이펙터 모이어티는 방사성핵종, 예컨대 이에 제한되는 것은 아니고, ^{111}In 및 ^{90}Y , Lu^{177} , 비스무쓰 213 , 칼리포늄 252 , 이리듐 192 및 텅스텐 188 /레늄 188 및 약물, 예컨대 이에 제한되지 안으나, 알킬포스포콜린, 토포이소머라제 I 억제제, 탁소이드 및 수라민을 포함한다.

[0130] 이러한 이펙터 모이어티를 항체에 접합시키는 방법은 당분야에 공지이다(예를 들어, Hellstrom et al., Controlled Drug Delivery, 2nd Ed., at pp. 623-53 (Robinson et al., eds., 1987)); Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58, 및 Dubowchik et al., 1999, Pharmacology and Therapeutics 83:67-123).

[0131] 일례에서, 항체 또는 이의 단편은 다른 단백질(또는 이의 일부분; 예를 들어 단백질의 적어도 10, 20 또는 50 아미노산 부분)에, 항체의 N 말단 또는 C 말단을 통해 또는 내부적으로, 공유 결합(예를 들어, 웨티드 결합)에 의해 융합된다. 항체, 또는 이의 단편은 항체의 불변 도메인의 N 말단에서 다른 단백질에 연결될 수 있다. 재조합 DNA 방법을 사용하여, 예를 들어 WO 86/01533 및 EP0392745에 기술된 바와 같이, 이러한 융합체를 생성시킬 수 있다. 다른 예에서, 이펙터 분자는 생체 내에서 반감기를 증가시킬 수 있고/있거나, 상피 장벽을 가로질러 면역계로의 항체 전달을 증강시킬 수 있다. 이러한 유형의 적합한 이펙터 분자의 예로는, 중합체, 알부민, 알부민 결합 단백질 또는 알부민 결합 화합물, 예컨대 WO 2005/117984에 기술된 것들이 포함된다.

[0132] 일정 측면에서, 항-TNF-α 항체는 소형 분자 특신에 접합된다. 일정한 예시 구체예에서, 본원의 항-TNF-α 항체는 돌라스타틴 또는 돌라스타틴 웨티드 유사체 또는 유도체, 예를 들어, 오리스타틴(미국 특허 제5,635,483호 및 제5,780,588호)에 접합된다. 돌라스타틴 또는 오리스타틴 약물 모이어티는 그 N(아미노) 말단, C(카르복실) 말단을 통하여거나 또는 내부적으로 항체에 부착될 수 있다(WO 02/088172). 예시적인 오리스타틴 구체에는 N-말단 연결된 모노메틸우리스타틴 약물 모이어티 DE 및 DF를 포함하고, 예컨대 미국 특허 제 7,498,298호에 개시된 것이며, 이 문헌을 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다(예를 들어, 링커 및 링커에 접합된 MMAE 및 MMAF 등과 같은 모노메틸발린 화합물의 제조 방법 등을 개시하고 있음).

[0133] 다른 예시적인 구체예에서, 소형 분자 특신은 이에 제한되지 않으나, 칼리케아미신, 마이탄신(미국 특허 제 5,208,020호), 트리코텐, 및 CC1065를 포함한다. 본원의 일 구체예에서, 항체는 1 이상의 마이탄신 분자(예를 들어, 항체 분자 당 약 1 내지 약 10 마이탄신 분자)에 접합된다. 마이탄신은, 예를 들어 May-SH3로 환원되어 항체와 반응할 수 있는 May-SS-Me로 전환되어(Chari et al., 1992, Cancer Research 52: 127-131) 마이탄시노이드-항체 또는 마이탄시노이드-Fc 융합 접합체를 생성할 수 있다. 또한 사용될 수 있는 칼리케아미신의 구조 유사체는 이에 제한되는 것은 아니고, $\gamma_1^1\gamma_3^1$, γ_3^1 , N-아세틸- γ_1^1 , PSAG, 및 Θ_1^1 을 포함한다(Hinman et al., 1993, Cancer Research 53:3336-3342; Lode et al., 1998, Cancer Research 58:2925-2928; 미국 특허 제 5,714,586호; 미국 특허 제5,712,374호; 미국 특허 제5,264,586호; 미국 특허 제5,773,001호).

[0134] 본원의 항체는 또한 표적 전달을 위해 리포솜에 접합될 수 있다(예를 들어, Park et al., 1997, Adv. Pharmacol. 40:399-335; Marty & Schwendener, 2004, Methods in Molecular Medicine 109:389-401).

[0135] 일례에서, 본원의 항체는 폴리(에틸렌글리콜)(PEG) 모이어티에 부착될 수 있다. 일 특정 예에서, 항체는 항체 단편이고 PEG 부분은 항체 단편에 위치하는 임의의 이용가능한 아미노산 측쇄 또는 말단 아미노산 작용기, 예를 들어 임의의 유리 아미노, 이미노, 티올, 히드록실 또는 카르복실 기를 통해 부착될 수 있다. 이러한 아미노산은 항체 단편에 천연적으로 존재하거나 또는 재조합 DNA 방법을 이용해 단편으로 조작될 수 있다. 예를 들어, 미국 특허 제5,219,996호를 참조한다. 복수 부위를 사용해 2개 이상의 PEG 분자를 부착시킬 수 있다. PEG 모이어티는 항체 단편에 위치하는 1 이상의 시스테인 잔기의 티올 기를 통해 공유 결합될 수 있다. 티올기가 부착 지점으로서 사용되는 경우, 적절하게 활성화된 이펙터 모이어티(예를 들어, 티올 선택적 유도체 예컨대 말레이미드 및 시스테인 유도체)가 사용될 수 있다.

[0136] 특정 예에서, 항-TNF-α 항체 접합체는 예를 들어, EP0948544에 개시된 방법에 따라, PEG와, 즉 PEG(폴리(에틸렌글리콜))가 공유 결합된, 개질 Fab' 단편이다. 또한, 이하의 문헌들을 참조한다: Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications, (J. Milton Harris (ed.), Plenum Press, New York,

1992); Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications, (J. Milton Harris and S. Zalipsky, eds., American Chemical Society, Washington D.C., 1997); 및 Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences, (M. Aslam 및 A. Dent, eds., Grove Publishers, New York, 1998); 및 Chapman, 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 54:531-545. PEG는 힌지 영역 내 시스테인에 결합될 수 있다. 일례에서, PEG-개질 Fab' 단편은 개질된 힌지 영역 내에 단일 티올 기에 공유 결합된 말레이미드 기를 갖는다. 리신 잔기는 말레이미드 기에 공유 결합될 수 있고 리신 잔기 상의 아민 기 각각에 분자량의 대략 20,000 Da인 메톡시폴리(에틸렌글리콜)중합체가 부착될 수 있다. Fab' 단편에 부착된 PEG의 총 분자량은 따라서, 대략 40,000 Da이다.

[0137] 본원에서 사용시 단어 "표지"는 본원의 항-TNF- α 항체에 직접 또는 간접 접합될 수 있는 검출가능한 화합물 또는 조성물을 의미한다. 표지는 자체로 검출가능하거나(예를 들어, 방사성동위원소 표지 또는 형광발광 표지), 효소 표지인 경우에는, 검출가능한 기질 화합물 또는 조성물의 화학적 변화를 측매할 수 있다. 유용한 형광발광 모이어티는 이에 제한되는 것은 아니고, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 5-디메틸아민-1-나프탈렌설포닐 클로라이드, 파이코에리쓰린 등을 포함한다. 유용한 효소 표지는 이에 제한되는 것은 아니고, 알칼리 포스파타아제, 홀스래디쉬 퍼옥시다아제, 글루코스 옥시다아제 등을 포함한다.

[0138] 특히, 진단 목적에 유용한 추가의 항-TNF- α 항체 접합체를 이하 섹션 7.7에 기술한다.

7.7 항-TNF- α 항체의 진단 용도

[0140] 예를 들어, 비오텐화, 홀스래디쉬 퍼옥시다아제, 또는 임의의 다른 검출가능한 모이어티(섹션 7.6에 기술된 것들 포함)에 의해 개질된 항체들을 포함하여, 본원의 항-TNF- α 항체는 진단 목적으로 유리하게 사용될 수 있다.

[0141] 구체적으로, 항-TNF- α 항체는 이에 제한되는 것은 아니고, 시험관 내 및 생체 내 진단 방법을 포함하여, TNF- α 를 정제 또는 검출하는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 이들 항체는 생물학적 샘플에서 TNF- α 의 농도를 양적으로 그리고 질적으로 측정하기 위한 면역분석법에서 이용된다. 이하 문현을 참조하며, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다: Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Second Edition(Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1988). 일 구체예에서, 본원의 항-TNF- α 항체는 혈청에서 TNF- α 의 농도를 검출 및 정량하는데 사용될 수 있다.

[0142] 본원은 또한 진단제에 접합된 항체 또는 이의 단편을 포함한다. 항체는 진단적으로, 예를 들어, 특정 세포, 조직 또는 혈청에서 목적 표적의 발현을 검출하거나; 또는 예를 들어 소정 치료 계획의 효율을 결정하기 위해 임상 검사 과정의 일부로서 면역학적 반응의 발생 또는 진행을 모니터링하는데 사용될 수 있다. 검출은 검출가능한 기질에 항체를 커플링시켜 용이하게 할 수 있다. 검출가능한 기질의 예로는 각종 효소, 보결분자단, 형광발광재, 발광재, 생물발광재, 방사능재, 양전자 방출 단층촬영을 이용한 양전자 방출 금속, 및 비방사능 상자성 금속 이온이 포함된다. 검출가능한 기질은 당분야에 공지된 방법을 이용해 중간체(예를 들어, 당분야에 공지된 링커)를 통해, 간접적으로 또는 항체(또는 이의 단편)에 직접 커플링 또는 접합될 수 있다. 효소 표지의 예로는 루시페라아제(예를 들어, 반딧불이 루시페라아제 및 박테리아 루시페라아제; 미국 특허 제4,737,456호), 루시페린, 2,3-디히드로프탈라진디온, 말레이트 데히드로게나아제, 우레아제, 퍼옥시다아제 예컨대 폴스래디쉬 퍼옥시다아제(HRPO), 알칼리 포스파타아제, β -갈락토시다아제, 아세틸콜린에스테라아제, 글루코아밀라아제, 라이소자임, 사카라이드 옥시다아제(예를 들어, 글루코스 옥시다아제, 갈락토스 옥시다아제 및 글루코스-6-포스페이트 데히드로게나아제), 복소환 옥시다아제(예컨대 우리카아제 및 크산틴 옥시다아제), 락토퍼옥시다아제, 미크로퍼옥시다아제 등이 포함된다. 적절한 부결분자단 착체의 예에는 스트렙타비딘/비오텐 및 아비딘/비오텐이 포함되고; 적절한 형광발광재의 예에는 염벨리페론, 플루오레세인, 플루오레세인 이소티오시아네이트, 로다민, 디클로로티아지닐아민 플루오레세인, 단실 클로라이드 또는 파이코에리쓰린이 포함되며; 발광재의 예에는 루미놀이 포함되고; 생물발광재의 예에는 루시페라아제, 루시페린, 및 애쿠오린이 포함되며; 적절한 방사능재의 예에는 ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In 또는 ^{99}Tc 이 포함된다.

[0143] 본원은 TNF- α 의 발현 검출을 위해 제공되고, 이는 본원의 1 이상의 항-TNF- α 항체(경우에 따라 검출가능한 모이어티에 접합됨)를 이용해 생물학적 샘플(개체의 세포, 조직, 또는 체액)을 접촉시키는 단계, 및 샘플이 TNF- α 발현에 양성인지 여부를 검출하거나, 또는 대조군 샘플과 비교하여 샘플 발현이 변경(예를 들어, 감소 또는 증가)되었는지 여부를 검출하는 단계를 포함한다.

[0144] 본 발명의 방법을 이용해 진단할 수 있는 질환은 이에 제한되지 않으나, 본원에 기술된 질환들을 포함한다. 일정 구체예에서, 조직 또는 체액은 말초혈, 말초혈 백혈구, 생검 조직 예컨대 폐 또는 피부 생검, 및 조직이다.

[0145] 7.8 항-TNF- α 항체를 이용한 치료 방법

7.8.1 임상적 혜택

[0147] 본원의 항-TNF- α 항체는 염증성 질환과 각종 면역 및 자가면역 병태의 증상 또는 질병을 치료하는데 유용하다. 본원의 항-TNF- α 항체를 이용해 치료될 수 있는 TNF- α 관련 병태 및 질환은 이에 제한되는 것은 아니고, 이하의 것들을 포함한다:

[0148] . 급성 및 만성 면역 및 자가면역 병태, 예컨대 전신 홍반성 루푸스, 류마티스 관절염, 갑상선염, 이식편대 속 주 질환, 경피증, 진성 당뇨병, 그레이브스병 등;

[0149] . 이에 제한되는 것은 아니고, 패혈증 증후군, 악액질, 급성 또는 만성 박테리아 감염으로 인한 순환 혀탈 및 쇼크, 급성 및 만성 기생충 및/또는 박테리아, 바이러스 또는 진균 감염 질환, 예컨대 AIDS(후유증 예컨대 악액질, 자가면역 질병, AIDS 복합 치매증 및 감염증 포함)를 포함하는 감염증;

[0150] . 만성 염증성 병태 예컨대 유육종증, 만성 염증성 장질환, 궤양성 대장염, 및 크론병 및 혈관 염증성 병태, 예컨대 이에 제한되는 것은 아니고, 파종성 혈관내 응고증, 아데름성동맥경화증, 및 카와사키병을 포함하는 염증성 질환, 예컨대 만성 염증성 병태 및 혈관 염증성 병태;

[0151] . 이에 제한되는 것은 아니고, 탈수초성 질환, 예컨대 다발성 경화증 및 급성 횡단성 척수염; 추체외로 및 소뇌 질병, 예컨대 피질척수계의 병변; 기저액 질병 또는 소뇌 질병; 과운동성 질환 예컨대 현팅تون의 무도병 및 노인 무도병, 약물 유도성 운동 질병, 예컨대 CNS, 도파민 수용체를 차단하는 약물에 의해 유도된 질병; 저운동성 질환, 예컨대 파킨슨병; 진행성 핵상 마비, 소뇌 및 척수소뇌 질병, 예컨대 소뇌의 무구조 병변(astrostructural lesion); 척수소뇌 변성증(척수성 운동실조, 프리드리히 운동실조, 소뇌 피질 변성증, 다발신경계 변성증 (Mencel, Dejerine-Thomas, Shi-Drager, 및 Machado-Joseph); 및 전신성 질병(레프섬병, 무베타지방단백혈증, 운동실조증, 모세혈관확장증 및 미토콘드리아 다발계 질병); 탈수초성 코어 질병, 예컨대 다발성 경화증, 급성 횡단성 척수염; 운동 단위의 질병, 예컨대 신경성 근위축증(전각 세포 변성증, 예컨대 근위축성 측생 경화증, 유아 척수성 근위축증 및 아동 척수성 근위축증); 알츠하이머병; 중년의 다운 증후군; 미만성 루이소체 질환; 루이소체형 노인성 치매, 베르니케-코르사코프 증후군; 만성 알콜중독; 크로이츠펠츠-야콥 질환; 아급성경화성 범뇌염, 할례로르덴-스파츠 질환, 및 권투선수 치매, 또는 이의 임의 서브셋을 포함하는, 신경퇴행성 질환;

[0152] . TNF- α 분비 종양을 포함하는 악성 병상 또는 TNF- α 가 관여하는 다른 악성종양, 예컨대 이에 제한되는 것은 아니고, 백혈병(급성, 만성 골수성, 만성 림프구성 및/또는 골수이형성 증후군); 림프종(호지킨 림프종 및 비호지킨 림프종, 예컨대 악성 림프종(버킷 림프종 또는 균상 식육종), 및

[0153] . 알콜-유도성 간염.

[0154] 일정 특정 구체예에서, 본원의 항체는 하기 질환 중 1 이상을 치료하는데 사용된다:

[0155] . 중간 내지 중증의 성인 류마티스 관절염(RA).

[0156] . 4세 이상 아동의 중간 내지 중증 다관절성 소아 특발성 관절염(JIA).

[0157] . 성인의 건선성 관절염(PsA).

[0158] . 성인의 강직성 척추염(AS).

[0159] . 통상의 치료에 충분히 반응하지 않는 성인의 중간 내지 중증 크론병(CD).

[0160] . 성인의 중간 내지 중증 만성 판상 건선(Ps).

[0161] 따라서, 본원은 이를 필요로하는 환자에서 임의의 상기 질환을 치료하는 방법을 제공하며, 이 방법은 환자에게 본원의 항-TNF- α 항체를 투여하는 것을 포함한다. 경우에 따라, 상기 투여는 예를 들어, 1일, 2일, 3일, 5일, 1주, 2주, 3주, 1개월, 5주, 6주, 7주, 8주, 2개월, 또는 3개월 이후에 반복된다. 반복 투여는 동일 용량이거나 또는 상이한 용량일 수 있다. 투여는 1회, 2회, 3회, 4회, 5회, 6회, 7회, 8회, 9회, 10회, 또는 그 이상 반복 될 수 있다. 예를 들어, 일정한 투약 계획에 따라 환자는 장기간, 예를 들어 6개월, 1년 또는 그 이상 동안 항-TNF- α 요법을 받는다. 환자에 투여되는 항-TNF- α 항체의 양은 일정 구체예에서, 치료 유효량이다. 본원에서 사용되는 TNF- α 항체의 "치료 유효"량은 단일 투여량으로서 또는 치료 계획 과정 동안, 예를 들어 1주, 2주, 3주, 1 개월, 3개월, 6개월, 1년, 또는 그 이상 동안 투여될 수 있다. 예시적인 치료 계획은 이하 섹션 7.11에 기술된다.

- [0162] 본원에 따라서, 질환의 치료는 임의의 임상 병기 또는 정후로 임의 질환 형태를 갖는 것으로 이미 진단받은 환자의 치료; 질환의 증상 또는 정후의 발병 또는 진행 또는 악화 또는 심화의 지연; 및/또는 질환의 중증도 예방 및/또는 감소를 포함한다.
- [0163] 본원의 항-TNF- α 항체가 투여되는 "피험체" 또는 "환자"는 바람직하게 포유동물 예컨대 비영장류(예를 들어, 소, 돼지, 말, 고양이, 개, 래트 등) 또는 영장류(예를 들어, 원숭이 또는 인간) 등이다. 일정 구체예에서, 피험체 또는 환자는 인간이다. 일정 측면에서, 인간은 소아 환자이다. 다른 측면에서, 인간은 성인 환자이다.
- [0164] **7.9 약학 조성물 및 투여 경로**
- [0165] 본원의 항-TNF- α 항체, 및 경우에 따라 1 이상의 추가 치료제, 예컨대 이하 섹션 7.10에 기술된 병용 치료제를 포함하는 조성물이 제공된다. 일반적으로 조성물은 보통 약학적 허용 담체를 포함하게 되는 멸균된, 약학 조성물의 일부로서 제공된다. 이 조성물은 임의의 적합한 형태일 수 있다(환자에 투여되는 대상 방법에 따름).
- [0166] 본원의 항-TNF- α 항체는 다양한 경로, 예컨대 경구, 경피, 피하, 비강내, 정맥내, 근육내, 안내, 국소적, 척추강내 및 뇌실내로 투여될 수 있다. 임의의 주어진 상황에서 가장 적합한 투여 경로는 구체적인 항체, 피험체, 및 질환의 성질 및 중증도 및 피험체의 신체 상태에 따라 좌우된다.
- [0167] 본원에 기술된 정후의 치료를 위해, 본원의 항-TNF- α 항체의 유효 용량은 단회(예를 들어, 볼러스) 투여, 복수회 투여 또는 연속 투여 당 약 0.001 내지 약 75 mg/kg의 범위이거나, 또는 단회(예를 들어, 볼러스) 투여, 복수회 투여 또는 연속 투여 당 혈청 ml 당 0.01-5000 μ g/ml의 혈청 농도가 달성되는 범위이거나, 또는 치료하려는 병태, 투여 경로 및 피험체의 연령, 체중 및 상태에 따른 임의의 유효 범위 또는 그 이내의 값 범위일 수 있다. 일정 구체예에서, 각 용량은 체중 1 킬로그램 당 약 0.5 μ g 내지 약 50 μ g 범위, 예를 들어 체중 1 킬로그램 당 약 3 μ g 내지 약 30 μ g 범위이다. 항체는 수용액으로서 제형화되고 피하 주사로 투여될 수 있다.
- [0168] 약학 조성물은 용량 당 본원의 항-TNF- α 항체의 예정량을 함유하는 단위 용량 형태로 알맞게 존재할 수 있다. 이러한 단위는 예를 들어 제한없이 5 mg 내지 5 g, 예를 들어, 10 mg 내지 1 g, 또는 20 내지 50 mg을 함유할 수 있다. 본원에 사용하기 위한 약학적 허용 담체는 예를 들어, 치료하려는 병태 또는 투여 경로에 따라 다양한 형태를 취할 수 있다.
- [0169] 본원의 항-TNF- α 항체의 치료 제형은 원하는 순도의 항체를 당분야에서 통상 이용되는 선택적인 약학적 허용 담체, 부형제 또는 안정제(모두 본원에서는 "담체"라고 함), 즉 완충제, 안정화제, 보존제, 등장화제, 비이온성 계면활성제, 항산화제, 및 각종 첨가제와 혼합하여 수용액 또는 동결건조 제형으로서 보관용으로 제조될 수 있다. 이하 문헌을 참조한다: Remington's Pharmaceutical Sciences, 16th edition(Osol, ed. 1980). 이러한 첨가제는 적용되는 용량 및 농도에서 수용자에게 무독성이어야만 한다.
- [0170] 완충제는 생리적 조건과 비슷한 범위로 pH를 유지하는 것을 돋는다. 이들은 약 2 mM 내지 약 50 mM 범위의 농도로 존재할 수 있다. 본원에서 사용하기 적합한 완충제는 유기산 및 무기산 및 이의 염 예컨대 시트레이트 완충제(예를 들어, 모노나트륨 시트레이트-디나트륨 시트레이트 혼합물, 시트르산-트리나트륨 시트레이트 혼합물, 시트르산-모노나트륨 시트레이트 혼합물 등), 숙시네이트 완충제(예를 들어, 숙신산-모노나트륨 숙시네이트 혼합물, 숙신산-수산화나트륨 혼합물, 숙신산-디나트륨 숙시네이트 혼합물 등), 타르트레이트 완충제(예를 들어, 타르타르산-타르타르산나트륨 혼합물, 타르타르산-타르타르산칼륨 혼합물, 타르타르산-수산화나트륨 혼합물 등), 푸마레이트 완충제(예를 들어, 푸마르산-모노나트륨 푸마레이트 혼합물, 푸마르산-디나트륨 푸마레이트 혼합물, 모노나트륨 푸마레이트-디나트륨 푸마레이트 혼합물 등), 글루코네이트 완충제(예를 들어, 글루콘산-글루콘산나트륨 혼합물, 글루콘산-수산화나트륨 혼합물, 글루콘산-글루콘산칼륨 혼합물 등), 옥살레이트 완충제(예를 들어, 옥살산-옥살란나트륨 혼합물, 옥살란-수산화나트륨 혼합물, 옥살란-옥살산칼륨 혼합물 등), 락테이트 완충제(예를 들어, 락트산-락트산나트륨 혼합물, 락트산-수산화나트륨 혼합물, 락트산-락트산칼륨 혼합물 등), 및 아세테이트 완충제(예를 들어, 아세트산-아세트산나트륨 혼합물, 아세트산-수산화나트륨 혼합물 등)을 포함한다. 부가적으로, 포스페이트 완충제, 히스티딘 완충제 및 트리메틸아민 염 예컨대 트리스가 사용될 수 있다.
- [0171] 보존제가 미생물 성장을 지연시키기 위해 부가될 수 있고, 0.2%-1% (w/v) 범위의 양으로 부가될 수 있다. 본원에서 사용하기 적합한 보존제는 폐놀, 벤질알콜, 메타-크레졸, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드, 벤즈알코늄 할라이드(예를 들어, 클로라이드, 브로마이드 및 요오다이드), 헥사메토늄 클로라이드, 및 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레소르시놀, 시클로헥사놀, 및 3-펜탄올을 포함한다. 등장화제는 때때로 "안정화제"로도 알려져 있으며 이는 본원의 액체 조성물의 등장성을 보장하기 위해 부가될 수 있고, 다가 당알콜, 예를 들어, 3가 또는 고급 당알콜, 예컨대 글리세린, 에리쓰리톨,

아라비톨, 크실리톨, 솔미톨 및 만니톨 등을 포함할 수 있다. 안정화제는 광범위한 부형제 카테고리들을 의미하는데, 그 기능이 벌크화제부터 치료제를 가용화시키거나 또는 용기벽에 부착이나 변성을 방지하는 첨가제까지 다양할 수 있다. 전형적인 안정화제는 다가 당알콜(상기 열거한 것); 아미노산, 예컨대 아르기닌, 리신, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 알라닌, 오르니틴, L-루신, 2-페닐알라닌, 글루탐산, 트레오닌, 등, 유기당 또는 당알콜, 예컨대 락토스, 트레할로스, 스타키요스, 만니톨, 솔비톨, 크실리톨, 리비톨, 마이오이니시톨, 갈락티톨, 글리세롤 등, 예를 들어 사이클리톨 예컨대 이노시톨; 폴리에틸렌글리콜; 아미노산 중합체; 황 함유 환원제, 예컨대 우레아, 글루타티온, 티옥트산, 나트륨 티오클리콜레이트, α-모노티오클리세롤 및 나트륨 티오설페이트; 저분자량 폴리펩티드(예를 들어, 10개 잔기 이하의 펩티드); 단백질 예컨대 인간 혈청 알부민, 소혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐파롤리돈 단당류, 예컨대 크실로스, 만노스, 프룩토스, 글루코스; 이당류 예컨대 락토스, 말토스, 수크로스 및 삼당류 예컨대 라피노스; 및 다당류 예컨대 헥스트란을 포함한다. 안정화제는 활성 단백질의 중량부 당 0.1 내지 10,000 중량부 범위로 존재할 수 있다.

[0172] 비이온성 계면활성제 또는 세제("습윤제"라고도 알려짐)가 첨가되어 치료제의 가용화를 돋고, 교반에 의한 응집으로부터 치료제 단백질을 보호하며, 또한 단백질의 변성이 일어나지 않고 전단응력 표면에 제형이 노출될 수 있게 한다. 적절한 비이온성 계면활성제는 폴리솔베이트(20, 80 등), 폴리옥사머(184, 188 등), Pluronic 폴리올, 폴리옥시에틸렌 솔비탄 모노에테르(TWEEN®-20, TWEEN®-80 등) 등을 포함한다. 비이온성 계면활성제는 약 0.05 mg/ml 내지 약 1.0 mg/ml의 범위, 예를 들어 약 0.07 mg/ml 내지 약 0.2 mg/ml의 범위로 존재할 수 있다.

[0173] 추가적인 각종 부형제에는 벌크화제(예를 들어, 전분), 킬레이트화제(예를 들어, EDTA), 항산화제(예를 들어, 아스코르브산, 메티오닌, 비타민 E), 및 공용매 등이 포함된다. 본원의 항-TNF-α 항체에 적합한 추가 제형은 미국 공개 특허출원 제2004/0033228 A1호에 기술되어 있으며, 그 내용을 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다.

[0174] 본원의 제형은 또한 본원의 항-TNF-α 항체에 부가하여 병용 치료제를 함유할 수 있다. 적절한 병용 치료제의 예는 이하 섹션 7.10에 제공한다.

[0175] 피하 투여를 위한 투약 스케줄은 질환 유형, 질환 중증도, 및 항-TNF-α 항체에 대한 환자 감응도를 포함한 다수의 인자에 따라 6개월 단위, 5개월 단위, 4개월 단위, 3개월 단위, 2개월 단위로 1회, 1개월 내지 2주 단위, 1주 단위, 또는 1일 단위로 1회 등 다양할 수 있다.

[0176] 투여되는 본원의 항-TNF-α 항체는 특정 항체, 자가면역 또는 염증성 질환의 유형, 피험체, 질환의 성질 및 중증도, 피험체의 신체 상태, 치료 계획(예를 들어, 병용 치료제의 사용 여부 등), 및 선택된 투여 경로에 따라 다양하며; 적절한 용량은 당분야의 숙련가가 쉽게 결정할 수 있다.

[0177] 인간 및 동물에서의 자가면역 또는 염증성 질환의 치료 및/또는 예방을 위해, 항-TNF-α 항체를 포함하는 약학 조성물은 임의의 적절한 투여 경로, 예컨대 주사 및 항체 기반 임상 산물에 대해 당분야에 공지된 다른 투여 경로를 이용해 치료 또는 예방 유효 용량(예를 들어, 자가면역 또는 염증성 질환의 억제 및/또는 자가면역 또는 염증성 질환 증상의 경감을 일으키는 용량)으로 환자(예를 들어, 인간 피험체)에게 투여될 수 있다.

[0178] 본원의 항-TNF-α 항체의 최적량 및 개별 용량 간격은 치료하려는 병태의 성질 및 정도, 투여 형태, 경로 및 부위, 치료하려는 특정 피험체의 연령 및 상태에 따라 결정되고, 의사가 최종적으로 사용되는 적정 용량을 결정하게 된다는 점은 당분야의 숙련가가 인지하는 바이다. 이러한 투약은 적절하다면 자주 반복될 수 있다. 부작용이 일어나면 투약량 및/또는 빈도는 정상적인 임상 실시에 따라 변경되거나 또는 줄일 수 있다.

7.10 병용 요법

[0180] 본원의 항-TNF-α 항체를 활용할 수 있는 병용 방법을 이하에 기술한다. 본원의 병용 방법은 2 이상의 제제를 환자에 투여하는 것을 포함하고, 제1 제제는 본원의 항-TNF-α 항체이고, 추가 제제(들)는 병용 치료제이다. 항-TNF-α 항체 및 병용 치료제(들)은 동시에, 순차적으로 또는 개별적으로 투여될 수 있다.

[0181] 본 발명의 병용 치료 방법은 단독으로 치료적으로 유효한 양으로 투여된 항-TNF-α 항체 또는 병용 치료제가 제공하는 부가 효과 이상의 치료적 잇점을 줄 수 있다.

[0182] 본 발명의 방법에서, 본원의 항-TNF-α 항체 및 병용 치료제는 동시에 또는 연속적으로, 동시발생적으로 투여될 수 있다. 본원에서 사용시, 본원의 항-TNF-α 항체 및 병용 치료제는 이들이 환자이 동일한 날에 투여되면, 예를 들어 동일 환자 방문 동안 투여되면 연속적으로 투여된다고 할 수 있다. 연속 투여는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 또는 8 시간 떨어져 실시될 수 있다. 대조적으로, 본원의 항-TNF-α 항체 및 병용 치료제는 이들이 다른 날 환

자에 투여되면, 예를 들어, 본원의 항-TNF- α 항체 및 병용 치료제가 1-일, 2-일 또는 3-일, 1주, 2주 또는 1개 월 간격으로 투여될 수 있으면 개별적으로 투여된다고 한다. 본원의 방법에서 본원의 항-TNF- α 항체의 투여는 병용 치료제의 투여에 앞서 또는 후속하여 실시될 수 있다.

- [0183] 비제한적인 예로서, 본원의 항-TNF- α 항체 및 병용 치료제는 일정 기간 동안 동시발생적으로 투여되고, 이후 본원의 항-TNF- α 항체 및 병용 투여제를 교대하는 2차 시기가 후속될 수 있다.
- [0184] 본원의 항-TNF- α 항체와 병용 치료제를 투여하는 것의 잠재적인 상승 효과 때문에, 이러한 제제는 제제들 중 하나 또는 둘 모두가 단독으로 투여되는 경우, 치료적으로 유효하지 않은 양으로 투여될 수 있다.
- [0185] 일정 측면에서, 병용 치료제는 항류마티스제, 항염증제, 화학요법제, 방사선치료제, 면역억제제 또는 세포독성제이다.
- [0186] 항류마티스제는 이에 제한되는 것은 아니고, 오라노핀, 아자티오프린, 클로로퀸, D-페니실아민, 금 나트륨 티오말레이트 히드록시클로로퀸, 마이오크리신 및 설파살라진 메토트렉세이트를 포함한다.
- [0187] 항염증제는 이에 제한되는 것은 아니고, 텍사메타손, 멘타사, 메살라진, 아사콜, 코데인 포스페이트, 베노릴레이트, 펜부펜, 나프로신, 디클로페낙, 에토돌락 및 인도메타신, 아스피린 및 이부프로펜을 포함한다.
- [0188] 화학요법제는 이에 제한되는 것은 아니고, 방사능 분자, 세포 생존능에 유해한 임의의 제제를 포함하는 세포독소 또는 세포독성제라고도 하는 특신, 제제, 화학요법 화합물을 함유하는 리포솜 또는 다른 소포체를 포함한다. 적절한 화학요법제의 예로는 이에 제한되는 것은 아니고, 1-데히드로테스토스테론, 5-플루오로우라실 데카르바진, 6-머캅토퓨린, 6-티오구아닌, 악티노마이신 D, 아드리아마이신, 알데스류킨, 알킬화제, 알로퓨리놀 나트륨, 알트레타민, 아미포스틴, 아나스트로졸, 안트라마이신(AMC), 항유사분열제, 시스디클로로디아민 플래티늄(II)(DDP) 시스플라틴, 디아미노 디클로로 플라티늄, 안트라사이클린, 항생제, 항대사물질제, 아스파라기나아제, BCG 생백신(방광내), 베타메타손 나트륨 포스페이트 및 베타메타손 아세테이트, 비칼루타미드, 블레오마이신 설페이트, 부설판, 칼슘 류코우오린, 칼리케아미신, 카페시타빈, 칼보플라틴, 로무스틴(CCNU), 카르무스틴(BSNU), 클로람부실, 시스플라틴, 클라드리빈, 콜키신, 접합된 에스트로겐, 사이클로포스파미드, 사이클로토스파미드, 사이타라빈, 사이타라빈, 사이토칼라신 B 사이톡산, 다카라바진, 닉티노마이신, 닉티노마이신(이전에 악티노마이신), 다우니루비신 HCL, 다우노루비신 사이트레이트, 테닐루킨 디프티톡스, 텍스라족산, 디프로모만니톨, 디히드록시 안트라신 디온, 도세탁센, 돌라세트론 메실레이트, 독소루비신 HCL, 드로나비놀, *E. coli* L-아스파라기나아제, 에올로식시맙, 에메틴, 에포에틴- α , 어위니아 L-아스파라기나아제, 에스테르화 에스트로겐, 에스트라디올, 에스트라무스틴 포스페이트 나트륨, 에티디움 프로마이드, 에티닐 에스트라디올, 에티드로네이트, 에토폭시드 시트로로롭 인자, 에토폭시드 포스페이트, 필그라스팀, 플록수리딘, 플루코나졸, 플루다라빈 포스페이트, 플루오로우라실, 플루타미드, 폴린산, 쟈시타빈 HCL, 글루코코르티코이드, 고세렐린 아세테이트, 그라미시딘 D, 그라니세트론 HCL, 히드록시우레아, 이다루비신 HCL, 이포스파미드, 인터페론 α -2b, 이리노테칸 HCL, 레트로졸, 류코보린 칼슘, 류프롤리드 아세테이트, 레바미솔 HCL, 리도카인, 로무스틴, 마이탄시노이드, 메클로레타민 HCL, 메드록시프로게스테론 아세테이트, 메게스트롤 아세테이트, 멜팔란 HCL, 머캅티퓨린, 메스나, 메토트렉세이트, 메틸테스토스테론, 미트라마이신, 미토마이신 C, 미토탄, 미톡산트론, 닐루타미드, 옥트레오티드 아세테이트, 온단세트론 HCL, 팍클리탁센, 파미드로네이트 디나트륨, 펜토스타틴, 필로카르핀 HCL, 폴리마이신, 카르무스틴 이식물과 폴리페프로산 20, 포르피며 나트륨, 프로카인, 프로카르바진 HCL, 프로프라놀롤, 리툭시맙, 사르그라모스팀, 스트렙토조토신, 타목시펜, 탁솔, 페니포시드, 테노포시드, 테스툴락톤, 테트라카인, 티오에파 클로람부실, 티오구아닌, 티오텐파, 토포테칸 HCL, 토레미펜 시트레이트, 트라스투주맙, 트레티노인, 발루비신, 빈블라스틴 설페이트, 및 비노렐빈 타르트레이트가 포함된다.
- [0189] 본원의 또 다른 측면에서, 병용 치료제는 본원의 항-TNF- α 항체 이외의 TNF- α 길항제이다. 이러한 TNF- α 길항제의 예에는, 이에 제한되는 것은 아니고, 가용성 TNF- α 수용체; 에타너셉트(ENBREL™; Immunex) 또는 이의 단편, 유도체 또는 유사체; 인플릭시맙(REMICADE®; Centocor) 또는 이의 유도체, 유사체 또는 항원 결합 단편; 인터페론- γ -활성화 마크로파지(Oswald et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:8676-8680), TNFR-IgG(Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539)를 통해 TNF- α 생성을 차단하는 것으로 알려진, IL-10; 젖과동물 생성물 TBP-1(Serono/Yeda); 백신 CytoTAb(Protherics); 안티센스 분자 104838 (ISIS); 웹티드 RDP-58(SangStat); 탈리도미드(Celgene); CDC-801(Celgene); DPC-333(Dupont); VX-745(Vertex); AGIX-4207(AtheroGenics); ITF-2357(Italfarmaco); NPI-13021-31(Nereus); SCIO-469(SCios); TACE 타게터(Immunix/AHP); CLX-120500(Calyx); 티아졸로피림(Dynavax); 오라노핀(Ridaura)(SmithKline Beecham Pharmaceuticals); 퀴나크린(mepacrine dichlorohydrate); 테니답(Enablex); 멜라닌(Large Scale

Biological); 및 Uriach에 의한 항-p38 MAPK 제제가 포함된다.

[0190] 항-TNF- α 항체와의 병용에 유용한 추가적인 제2 치료제 및 이러한 제2 치료제와의 병용 요법이 유용한 구체적인 정후는 WO 2004/004633에 개시되어 있으며, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다.

7.11 치료 계획

[0192] 본원은 본원의 항-TNF- α 항체의 투여를 포함하는 치료 계획을 제공한다. 이 치료 계획은 환자의 연령, 체중 및 질환 상태에 따라 다양하다. 치료 계획은 2주 내지 무기한으로 계속될 수 있다. 특정 구체예에서, 치료 계획은 2 주 내지 6 개월, 3 개월 내지 5년, 6 개월 내지 1 또는 2년, 8 개월 내지 18 개월 동안 계속된다. 치료 계획은 비가변적 용량 계획이거나 또는 다가변적 용량 계획일 수 있고, 예를 들어 WO 2005/110452을 참조하며, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다.

[0193] 이하에 기술된 용량의 예시적 계획의 경우, 항-TNF- α 항체는 피하 투여용의 멸균된, 보존제 무함유 용액으로서 투여될 수 있다.

[0194] 일정 구체예에서, 약물 제품은 1 mL의 사전충전이 유리 시린지 내에 포함된 1회용, 사전충전된 펜으로서, 또는 1회 용량의, 1 mL 사전충전된 유리 시린지로서 공급된다. 성인 환자의 경우, 일정 구체예에서, 시린지는 본원의 항-TNF- α 항체를 포함하는 0.8 mL의 약학적 허용 용액을 전달한다. 특정 구체예에서, 항체이외에도, 용액은 4.93 mg의 염화나트륨, 0.69 mg의 1염기성 인산나트륨 2수화물, 1.22 mg의 2염기성 인산나트륨 2수화물, 0.24 mg의 시트르산나트륨, 1.04 mg의 시트르산 1수화물, 9.6 mg 만니톨, 0.8 mg 폴리솔베이트 80, 및 주사용 물(USP)과 pH 조정용으로 필요에 따라 부가되는 수산화나트륨을 함유한다. 소아 환자의 경우, 일정 구체예에서, 시린지는 본원의 항-TNF- α 항체를 포함하는 0.4 mL의 약학적 허용 용액을 전달한다. 특정 구체예에서, 항체 이외에도, 용액은 2.47 mg의 염화나트륨, 0.34 mg 1염기성 인산나트류 2수화물, 0.61 mg 2염기성 인산나트륨 2수화물, 0.12 mg 시트르산나트륨, 0.52 mg 시트르산 1수화물, 4.8 mg 만니톨, 0.4 mg 폴리솔베이트 80, 및 주사용 물(USP)과 pH 조정을 위해 필요에 따라 부가되는 수산화나트륨을 함유한다.

[0195] 류마티스 관절염, 건선성 관절염, 및 강직성 척추염의 치료를 위해, 본원의 항-TNF- α 항체는 일정한 비제한 구체예에서 격주로 10 내지 50 mg(예를 들어, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg 또는 50 mg)의 용량이 투여될 수 있다. 메토트렉세이트, 글루코코르티코이드, 살리실레이트, 비스테로이드성 항염증제(NSAID), 진통제 또는 다른 질환-변성 항류마티스제(DMARD)가 본원의 항-TNF- α 항체를 이용한 치료동안 계속된다. 류마티스 관절염의 경우, 부수된 메토트렉세이트를 투약하지 않은 일부 환자는 격주에서 매주로 투약 빈도를 증가시켜 부가적 혜택을 얻을 수 있다.

[0196] 아동 특발성 관절염의 치료 경우, 본원의 항-TNF- α 항체는 환자의 체중에 따른 용량이 투여된다. 일정한 비제한 구체예에서, 체중이 15 kg(33 lbs) 내지 30 kg(66 lbs) 이하인 소아 환자에 대한 용량은 격주로 5 내지 25 mg(예를 들어, 5 mg, 7.5 mg, 10 mg, 12.5 mg, 15 mg, 20 mg, 또는 25 mg) 범위이다. 일정한 비제한적 구체예에서, 체중이 30 kg(66 lbs)을 넘는 소아 환자에 대한 용량은 격주 당 10 내지 50 mg(예를 들어, 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg, 30 mg, 35 mg, 40 mg, 45 mg 또는 50 mg) 범위이다. 메토트렉세이트, 글로코코르티코이드, 살리실레이트, NSAIDs 또는 진통제가 항-TNF- α 항체의 치료 동안 계속될 수 있다.

[0197] 크론병의 치료를 위해, 본원의 항-TNF- α 항체는 일정한 비제한 구체예에서, 40-280 mg(예를 들어, 40 mg, 80 mg, 100 mg, 120 mg, 140 mg, 160 mg, 180 mg, 200 mg, 240 mg 또는 280 mg)의 용량이 초기(1일에 또는 1일 내지 2일 간에 나누어)에 투여된 후, 2주 후에(15일), 초기 용량의 대략 40% 내지 60%(예를 들어, 50%)의 용량이 후속 투여된다. 2주 후에(29일), 초기 용량의 20% 내지 30%(예를 들어, 25%)의 유지 용량이 격주로 투여된다. 아미노살리실레이트, 코르티코스테로이드, 및/또는 면역조절제(예를 들어, 6-머캅토퓨린 및 아자티오프린)이 항-TNF- α 항체를 이용한 치료 동안 계속될 수 있다.

[0198] 판상 건선의 치료를 위해, 본원의 항-TNF- α 항체는 일정한 비제한 구체예에서, 40~160 mg(예를 들어, 40 mg, 80 mg, 100 mg, 120 mg, 140 mg 또는 160 mg)의 용량이 초기에 투여된 후, 격주로 주어진 초기 용량의 절반을 초기 용량 1주 후에 시작한다.

7.12 진단 및 약학 키트

[0200] 본원은 본원의 항-TNF- α 항체(항체 접합체 포함)를 함유하는 약학 키트를 포함한다. 약학 키트는 본원의 항-TNF- α 항체(예를 들어, 동결건조형 또는 수용액으로서) 및 이하 중 1 이상을 포함하는 팩키지이다:

- [0201] . 예를 들어, 상기 섹션 7.10에 기술된 바와 같은 병용 치료제;
- [0202] . 항-TNF- α 항체 투여용 디바이스, 예를 들어, 펜, 바늘 및/또는 시린지; 및
- [0203] . 항체가 동결건조형인 경우 항체를 재현탁하기 위한 약학 등급수 또는 완충액.
- [0204] 일정 측면에서, 항-TNF- α 항체의 각 단위 용량이 개별적으로 포장되고, 키트는 1 이상의 단위 용량(예를 들어, 2회 단위 용량, 3회 단위 용량, 4회 단위 용량, 5회 단위 용량, 8회 단위 용량, 10회 단위 용량, 또는 그 이상)을 함유한다. 특정 구체예에서, 1 이상의 단위 용량은 각각 시린지 또는 펜에 수용된다.
- [0205] 본원의 항-TNF- α 항체(항체 접합체 포함)를 함유하는 진단 키트가 또한 본원에 포함된다. 진단 키트는 본원의 항-TNF- α 항체(예를 들어, 동결건조형 또는 수용액으로서) 및 진단 분석 수행에 유용한 1 이상의 시약을 포함하는 팩키지이다. 항-TNF- α 항체가 효소로 표지된 경우, 키트는 효소가 필요로하는 보조인자 및 기질(예를 들어, 검출가능한 발색단 또는 형광단을 제공하는 기질 전구체)을 포함할 수 있다. 또한, 다른 첨가제, 예컨대 안정화제, 완충제(예를 들어, 차단 완충제 또는 용해 완충제) 등을 포함할 수 있다. 일정 구체예에서, 진단 키트에 포함되는 항-TNF- α 항체는 고체 표면 상에 고정되거나, 또는 항체가 고정될 수 있는 표면(예를 들어, 슬라이드)에 키트에 포함된다. 다양한 시약의 상대량은 분석 감도를 실질적으로 최적화하는 시약 용액 내 농도를 제공하도록 광범위하게 다양할 수 있다. 특정 구체예에서, 항체 및 1 이상의 시약은 용해시 적정 농도의 시약 용액을 제공하게 되는 부형제를 포함하여, 일반적으로 동결건조된, 건조 분말로서 제공된다(개별적으로 또는 조합하여).
- [0206] **8. 실시예 1: D2E7의 탈면역화 변이체의 동정**
- [0207] **8.1 재료 및 방법**
- [0208] **8.1.1 웨티드**
- [0209] 웨티드는 Mimotopes(Adelaide, Australia)의 멀티-핀 포맷을 이용해 합성하였다. D2E7 경쇄 및 중쇄 V 영역의 서열은 총 69 웨티드에 대해 12개 아미노산(도 1 및 표 1)이 중첩되는 15-머 웨티드로서 합성하였다. 도착된 웨티드는 동결건조된 것이고 대략 1-2 mg/ml으로 DMSO(Sigma-Aldrich)에 재현탁하였다. 스톡 웨티드는 -20°C에 냉동시켰다.
- [0210] **8.1.2 인간 말초혈 단핵구 세포**
- [0211] 커뮤니티 도너의 벼피 코트 산물을 스텐포드 혈액 센터(Palo Alto, CA)에서 구매하였다. 벼피 코트를 칼슘 또는 마그네슘을 함유하지 않는 DPBS와 1:1(v:v)로 희석하였다. 희석된 벼피 코트 물질(25-35 mL)을 12.5 mL의 FicollPaque-PLUS(GE Healthcare)를 함유하는 50 mL 코니칼 원심분리 튜브(Sarstedt 또는 Costar) 바닥에 깔았다. 샘플을 실온에서 30분간 900 g로 원심분리하였다. 말초혈 단핵 세포(PBMC)를 계면으로부터 회수하였다. DPBS를 부가하여 최종 부피가 50 mL이 되게 하였고 세포를 350 g에서 5분간 원심분리하였다. 펠렛화된 세포를 DPBS에 재현탁하고 계측하였다.
- [0212] **8.1.3 수지상 세포**
- [0213] 수지상 세포의 단리를 위해, T75 배양 플라스크(Costar)에 총 벼피 30 mL AIM V 배지(Invitrogen) 중 10^8 개의 신선하게 단리된 PBMC를 퍼종하였다. 과량의 PBMC는 5×10^7 세포/mL로 90% 태아소 혈청(FCS), 10% DMSO 중에서 -80°C에 냉동시켰다. T75 플라스크는 2시간 동안 5% CO₂에 37°C에서 항온반응시켰다. 미부착 세포를 제거하고, 부착된 단층은 DPBS로 세척하였다. 단핵구로부터 수지상 세포를 분화시키기 위해, 800 units/mL의 GM-CSF(R&D Systems) 및 500 units/mL의 IL-4(R&D Systems)를 함유하는 30 mL의 AIM V 배지를 부가하였다. 플라스크는 5일 동안 항온반응시켰다. 5일에, IL-1 α (Endogen) 및 TNF- α (Endogen)를 50 pg/mL 및 0.2 ng/mL로 부가하였다. 플라스크는 2일간 더 항온반응시켰다. 7일에, 수지상 세포는 10 mM EDTA 및 16.5~33 μ g/mL 미토마이신 C의 최종 농도가 되도록 0.5~1.0 mg 미토마이신 C(Sigma-Aldrich)를 함유하는 100 mM EDTA 3 mL을 부가하여 회수하였다. 다르게, 수지상 세포는 고정을 위해 4,000 rads로 조사하였다. 플라스크는 추가 시간 동안 37°C 및 5% CO₂에서 항온반응시켰다. 수지상 세포를 회수하고 AIM V 배지로 2-3회 세척하였다.
- [0214] **8.1.4 세포 배양**
- [0215] 7일에, 이전에 냉동된 자가 PBMC를 37°C 수조에서 신속하게 해동시켰다. 세포를 즉시 DPBS 또는 AIM V 배지에

희석하고 350 g에서 5분간 원심분리하였다. CD4+ 세포를 자성 비드(Easy-Sep CD4+ kit, Stem Cell Technologies)를 이용한 음성 선별을 통해 농축시켰다. 자가 CD4+ T 세포 및 수지상 세포는 96웰 등근 바닥 플레이트(Costar 9077)의 웰 당 2×10^4 수지 세포 당 2×10^5 CD4+ T 세포로 하여 공동배양하였다. 펩티드를 대략 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 부가하였다. 대조군 웰은 DMSO(Sigma) 비허클을 단독으로 0.25% v:v로 함유하였다. 양성 대조군은 0.25%의 DMSO 및 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 과상풍 톡소이드(List Biologicals or CalBioChem)를 함유시켰다. 배양물을 5일간 항온배양하였다. 5일에, 웰 당 0.25 μCi 의 삼중 티미딘(Amersham or GE Healthcare)을 부가하였다. 6일에 배양물을 팩커드 필터메이트 세포 회수기를 이용해 필터매트에 회수하였다. Wallac MicroBeta 1450 섬광 계측기(Perkin Elmer)를 이용해 섬광 계측을 수행하였다.

[0216] 8.1.5 데이터 분석

평균 백그라운드 CPM 값은 6 내지 12회 반복물에서 얻은 개별 실험을 평균내어 계산하였다. 4개의 양성 대조군 웰의 CPM 값을 평균내었다. 각 펩티드의 이중실험 또는 삼중실험 웰을 평균내었다. 양성 대조군 및 펩티드 웰에 대한 자극 지수 값은 평균 대조군값으로 평균 실험 CPM 값을 나누어 계산하였다. 데이터세트에 포함시키기 위해, 과상풍 톡소이드 양성 대조군 웰에 3.0이 넘는 자극 지수가 요구되었다. 자극 지수가 2.95 또는 그 이상으로 나오는 임의의 펩티드에 대한 반응을 주목하였다. 81명의 도너 그룹에서 얻은 말초혈 샘플을 이용해 펩티드를 테스트하였다. 모든 펩티드에 대한 반응을 수집하였다. 테스트한 각 펩티드에 대해, 2.96 이상의 자극 지수로 반응하는 도너 세트의 비율을 계산하였다. 또한, 모든 도너에 대한 평균 자극 지수를 계산하였다.

[0218] 8.1.6 HLA 유전자형 분석

HLA DRB1 및 HLA DQB1 대립유전자를 시판되는 Dynal RELI 타이핑 키트(Invitrogen, UK)를 이용해 각 도너에 대해 결정하였다. 저염격 SSO 결과를 기록하였다. HLA 연관성을 카이 제곱 검정법(1 자유도)을 이용해 임의의 소정 펩티드에 대한 반응도에 대해 결정하였다. 대립유전자가 반응자 및 비반응자 개체군 둘 모두에 존재한 경우, 상대 위험값을 기록하였다.

[0220] 8.1.7 D2E7 변이 항체의 경쟁 ELISA

4°C에서 밤새 PBS 중 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 TNF- α 용액과 플레이트를 접촉시켜, TNF- α 를 마이크로웰 플레이트에 부착시켰다. 이 플레이트를 PBS 중 0.1% Tween 20으로 세척하고 Superblock(Thermo Scientific, Rockford, IL)으로 차단하였다. ELISA 완충액(예를 들어, PBS 중 1% BSA 및 0.1% Tween 20) 중 연속 희석(2.8 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 8.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 또는 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도)된 포화 이하량의 비오틴화 D2E7(80 ng/ml) 및 미표지화 D2E7("기준" 항체) 또는 경쟁 항-TNF- α 항체("테스트" 항체)의 혼합물을 웰에 부가하고 플레이트를 가볍게 진탕하면서 1시간 동안 항온반응시켰다. 플레이트를 세척하고, ELISA 완충액에 희석된 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ HRP-접합된 스트렙타비딘을 각 웰에 부가하고 플레이트를 1시간 동안 항온반응시켰다. 플레이트를 세척하고 결합된 항체는 TMB(Biofx Laboratories Inc., Owings Mills, MD)를 부가하여 검출하였다. 반응은 종결 완충액(예를 들어, Bio FX 종결 시약, Biofx Laboratories Inc., Owings Mills, MD)을 부가하여 완료시켰고 마이크로플레이트 판독기(예를 들어, VERSAmax, Molecular Devices, Sunnyvale, CA)를 이용해 650 nm에서 흡광도를 측정하였다. IC₅₀ 값을 각 항체에 대해 계산하였다. 실험은 3회 수행하였고, 평균 결과는 모 항체 결합 결과의 비율로서 나타내었다.

[0222] 8.1.8 생분석법

3 $\times 10^4$ 젖과동물 L929 세포를 등근바닥 96웰 마이크로타이터 플레이트의 개별 웰에 플레이팅하였다. 세포를 밤새 37°C에 습윤 5% CO₂ 인큐베이터에서 항온배양하였다. 다음날, 항-TNF- α 항체의 연속 희석물(예를 들어, 0.712 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.949 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1.27 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1.69 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 2.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 또는 3 $\mu\text{g}/\text{ml}$)을 무혈청 배지 25 μl 에 준비하고 세포에 부가하였다(150 μl 배양물 중 최종 농도가 119 ng/ml, 158 ng/ml, 211 ng/ml, 282 ng/ml, 375 ng/ml 또는 500 ng/ml이 되도록 부가). 5% CO₂에 37°C에서 2시간 동안 항온반응 후, 25 μl 의 240 ng/ml TNF- α 용액을, 최종 농도 40 ng/ml이 되도록 부가하고, 세포를 추가 48시간 동안 5% CO₂에 37°C에서 항온배양하였다. 웰들은 CellTiter-Blue 생존능 분석(Promega, Madison, WI)을 이용하여, TNF- α 로 처리하였지만 이소타입 대조군 항체 또는 모항체, D2E7로 처리된, 대조군 플레이트와 비교하여 세포독성에 대해 채점하였다. IC₅₀ 값을 결정하고 모 D2E7 결과의 비율로서 나타내었다.

[0224] 8.1.9 BIACore에 의한 D2E7 변이체의 동역학 분석

항-TNF- α 항체의 결합 친화도는 BIACore 2000 및 3000 표면 플라즈몬 공명 시스템(BIACore, GE Healthcare,

Piscataway, NJ)을 이용해 측정하였다. 다클론 염소 항-인간 Fc 항체(Jackson Immunoresearch)를 우선 표준 BIAcore 아민 커플링 시약(N-에틸-N'-디메틸아미노-프로필카르보디이미드, EDC; N-히드록시숙신이미드, NHS; 및 에탄올아민 HCl, pH 8.5)을 이용해 바이오센서 표면에 고정시킨 후, 5 μl /분의 저유속으로 평행 표면 상에서 항-TNF- α 항체(D2E7 및 D2E7 변이체)의 포획을 실시하였다. RL는 낮게 유지하여 25-60 RU의 낮은 Rmax가 되게 하였다. 항체의 무포획은 음성 대조군으로서 사용하기 위한 기준 표면에서 실시하였다. 이후, 회합을 모니터링하기 위해 3분간 80 μl /분의 유속으로 모든 유세포에 TNF- α 를 주입한 후, 해리 층을 모니터링하기 위해 30분 흐름의 HBS-P 러닝 완충액(10 mM HEPES, 150 mM 염화나트륨, 0.005% P-20, pH 7.4)을 주입하였다. 각 사이클에서, 0 nM 내지 128 nM 범위에서 4배씩 증가시킨 6가지의 다른 TNF 농도로, TNF- α (R&D systems, Minneapolis, MN)를 표면 상에 주입하였다. 표면은 각 사이클의 종결시 2회의 간략한 펄스로 100 μl /분 유속의 1.5% H₃PO₄를 이용해 재생시켰다.

[0226] 각각의 TNF- α 및 항체 쌍의 결합 동역학은 BIAevaluate 프로그램을 이용하여 상이한 농도의 TNF- α 에서 수집된 센소그램 데이터의 전반적인 분석으로 산출하였다. 기준 표면 및 완충액만 있는 대조군(0 nM의 TNF- α)으로부터의 백그라운드 값을 제거하기 위해 이중 기준을 적용하였다. 각 결합쌍의 해리 상수(K_D), 회합 속도(k_{on}) 및 해리 속도 상수(k_{off})는 질량 이동 모델과 1:1 랑비르 결합을 이용해 센소그램의 회합 및 해리 층을 동시에 적합화 시켜 얻었다. 각 실험 세트는 3회 개별적으로 수행하였다.

8.2 결과

8.2.1 D2E7 VH 및 VL 영역 내 CD4+ T 세포 에피토프의 동정

[0229] CD4+ T 세포 에피토프 웨티드는 81 도너 세트 내에서 웨티드에 대한 반응률을 분석하여 동정하였다. 평균 반응률 및 표준 편차는 D2E7 중쇄 및 경쇄를 형성하는 테스트된 모든 웨티드에 대해 산출하였다. 평균 백그라운드 반응보다 높거나 또는 동등한 반응률 더하기 3 표준 편차가 가능한 CD4+ T 세포 에피토프로 고려되었다. D2E7 경쇄 V 영역의 경우, 32개 웨티드를 테스트하였는데(도 2) 그 결과 평균 백그라운드 반응률이 5.09 + 3.53%였다. 백그라운드보다 높은 3 표준 편차는 15.68%로 결정되었다. 위치 8에 한 웨티드는 D2E7 경쇄 웨티드 데이터세트에서 이러한 수준의 반응도를 나타내었고, 반응률은 17.28%이었다(도 2). 또한 위치 11에서의 웨티드는 12.35%의 매우 높은 반응률을 나타내었다. D2E7 중쇄 V 영역의 경우, 37개 웨티드를 테스트하였다(도 3). 평균 백그라운드 반응률은 2.64 + 2.04%였다. 백그라운드보다 높은 3 표준 편차는 8.78%였다. D2E7 중쇄 데이터세트 중 한 웨티드, #20는 반응률이 8.64%에 달하였다(도 3).

[0230] 평균 자극 지수는 이 데이터세트 내 모든 웨티드에 대해 산출되었다. 경쇄 웨티드 #8은 1.97 + 0.08 s.e.m의 높은 평균 자극 지수를 갖는다. 위치 #11의 웨티드는 1.63 + 0.32 s.e.m의 평균 자극 지수를 보였다. 경쇄 데이터세트의 웨티드 #27은 평균 SI가 1.83이었다. 이러한 결과는 한 도너가 이 웨티드에 대해 29의 흔치 않게 높은 자극 지수를 갖기 때문이다. 중쇄 웨티드 #20은 평균 자극 지수값이 1.34 + 0.05 s.e.m이었다. 이러한 모든 값들은 2개의 데이터 세트에서의 모든 웨티드에 대한 평균 자극 지수보다 유의하게 높은 것이다(모든 68개 중쇄 및 경쇄 웨티드에 대해 1.02 + 0.02).

[0231] 이들 데이터는 D2E7 내에 2개의 주요한 CD4+ T 세포 에피토프 영역이 존재함을 시사한다(표 2). VH 영역에서는, 에피토프가 프레임워크 2 및 CDR2의 연결점을 포함하는 웨티드 위치 20에서 확인된다. 표 2에서, CDR-유래의 아미노산은 밀줄로 표시되어 있다. 경쇄에서, 1개가 넘는 CD4+ T 세포 에피토프를 함유할 수 있는 거대 영역은 웨티드 #8 및 #11을 포함한다. 이들 웨티드는 경쇄의 프레임워크 1, CDR1 및 프레임워크 2의 섹션에 걸쳐있다.

8.2.2 VL 에피토프 웨티드에 대한 반응과 HLA 연관성

[0233] 웨티드 데이터세트에서 모든 81 도너의 HLA 클래스 II 유전자형은 저염격 SSO PCR-기반 방법을 이용해 결정되었다. 2개의 VL 웨티드에 대한 반응과 특정 HLA 대립유전자 존재 간 연관성을 카이 제곱 검정법으로 결정하였다. 피서 P값과 상대 위험도는 모든 HLA 유형 및 2 웨티드에 대해 결정하였다(표 3). 임의의 HLA DR 또는 DQ 유형과 VL 웨티드 #8(T22-Y36)에 대한 반응간에 어떠한 유의한 관련성도 존재하지 않았다. 이러한 결과는 이 웨티드가 광범위하게 불규칙한 방식으로 HLA 클래스 II 분자에 결합할 수 있다는 것을 의미한다. VL 웨티드 #11(N31-K45)에 대한 CD4+ T 세포 증식 반응은 HLA-DQ2 존재와 밀접하게 연관되었다($p = 0.003$; 상대 위험도 = 7.7). HLA-DR3가 HLA-DQ2와 연관 불균형이므로, 이 웨티드에 대한 반응과 HLA-DR3 간에 연관성이 존재할 수 있지만 통계적 유의성에 도달하지는 않았다($p = 0.10$; 상대 위험도 3.3). HLA-DQ2 이외에도, HLA-DR12 및 N31-K45에 대한 반응간 연관성이 확인되었다($p = 0.03$; 상대 위험도 5.2). VH 웨티드 #20에 대한 HLA 반응은 전체 반응자가 너무 적어서 테스트하지 않았다. 2 VL 웨티드에 대한 반응자는 개별적이므로, 이들이 2개의 개별 웨티드 에피토

프를 나타낸다고 결론지을 수 있다. 따라서, D2E7 VH 및 VL 영역은 3개의 두드러진 웨티드 에피토프 영역을 포함한다.

8.2.3 면역원성이 감소된 변이체의 동정

알라닌 스캔 변이: D2E7 경쇄의 21 아미노산 서열은 T22-Y36 및 N31-K45에 에피토프를 포함한다. 선택된 21 아미노산 서열은 C23-K45였다. 알라닌 변이를 각 아미노산에 도입하였다(표 4). 99 도너 세트를 변이 웨티드를 이용해 테스트하였다(도 4). 모 21-머를 웨티드 세트 내에 4회 생성시켰다. 이들 4 복제물은 분석 재현성을 위한 대조군으로서 제공된다. 평균 모 웨티드 반응은 8.3%이고, CV%는 30%이다. 따라서, 5.8% 보다 낮은 평균 비율의 변이 웨티드는 반응률이 저하된 것으로 간주할 수 있다. 가장 저하된 변이체는 C23A(2.02%) 및 P40A(3.03%, 도 4 참조)였다. 위치 23의 시스테인은 불변이고, 따라서 전체 단백질 내에서 변이를 위한 양호한 후보물이 아니다. 프롤린 잔기의 고유한 성질로 인해, 이 잔기의 변이도 역시 기능성 변이 항체를 생성하지 못할 것으로 보인다. 제3 후보물은 Y32A(4.04%)이다. 부가적으로, 5.05%의 평균 반응률을 보이는 다수의 변이체가 존재한다. 이러한 변화도 역시 유효할 수 있지만 감소된 면역원성 및 기능적 활성에 대해 전체 단백질로서 테스트할 필요는 없다.

D2E7 VH 에피토프 웨티드의 서열을 기반으로 하는 알라닌-변이된 웨티드 세트를 또한 테스트하였다(데이타 도시하지 않음). 복제 테스트에서 미개질된 모 웨티드의 반응률은 매우 낮았다. 따라서, 이 웨티드는 더 이상 실험 하지 않았다.

항원 결합 실험: D2E7의 CDR-L1 영역에 대해 종합적인 돌연변이 분석을 수행하였다. 돌연변이 분석과 함께 수행된 항원-결합 실험을 기초로, TNF- α 에 대한 항체의 친화도를 유의하게 감소시키지 않은 CDR-L1 영역 내 후보 아미노산 치환 세트를 동정하였다(표 5). 후보 CDR-L1 치환을 포함하는 몇몇 변이 항체를 BIACore 및 ELISA를 이용해 분석하였다(표 6). 전체 항체 분자에 대한 친화도는 유지하면서 아미노산 서열이 변경된 특성을 갖는 CDR-L1 영역 내 아미노산 변이를 함유하는 웨티드를 생성시켰다(표 7). 개질된 에피토프 웨티드는 단일 아미노산 변형, 또는 이중 변형으로서 테스트하였다. 이중 변형은 위치 32에 글루타민 또는 글리신을 함유하거나, 또는 위치 34에 세린 또는 글리신을 함유한다. 모 21-머 웨티드의 2 합성물을 포함하여 총 79 웨티드를 테스트하였다. 총 102 도너를 변이 웨티드를 이용하여 테스트하였고, 그 결과를 도 5에 도시하였다. 모 웨티드의 평균 반응률은 10.3 + 2.1%였다. 모체로부터의 3 표준 편차보다 낮은 반응률의 경우, 반응률은 4% 보다 낮을 수 있다. 모 웨티드에 대한 평균 자극 지수는 1.49 + 0.15였다. 모체 반응보다 낮은 3 표준 편차에 도달한 자극 지수의 경우 1.03 또는 그 이하일 수 있다.

Y32G 및 Y32Q 돌연변이의 후속 친화도 측정값은 이 아미노산 변형이 항원 결합에 대해 음성적 영향을 준다는 것을 보여주었다. 따라서, 이러한 변형을 보유한 모든 웨티드는 분석에서 제외졌다. 총 10 웨티드를 후속 실험을 위해 선택하였다. 모든 선택된 웨티드는 반응률이 4% 보다 낮았다. 그러나, 어떠한 웨티드도 평균 모체 반응률 이하의 자극 지수 3 표준 편차를 보여주지 않았다(표 8).

8.2.4 개질된 D2E7 변이 항체의 친화도 및 생활성 테스트

10개의 변이 D2E7 VL 영역 컨스트럭트를 미개질 VH 영역과 함께 인간 IgG₁-함유 플라스미드에 클로닝하고, 일시적 형질감염을 통해 293T/17 세포주에서 발현시킨 후, 항체를 단백질 A 또는 단백질 G 친화도에 의해 정제하였다. 정제된 항체를 경쟁 ELISA 분석에서 TNF- α 결합에 대해 테스트하였다. 모든 10개의 변이체는 미개질 D2E7 항체와 TNF- α 결합에 대해 경쟁하였다. 그러나, Q27R + A34S 변이체의 대략 균등한 친화도 부터, N31S+ A34S 변이체의 친화도 10x 감소 까지, 다양한 범위의 친화도가 나타났다(도 6).

TNF- α 독성 생분석을 수행하였다. L292 세포를 96웰 플레이트에 파종하고 일정 농도의 TNF- α 를 배양 배지에 부가하였다. 변이 항체를 배지에 적적하였다. EC₅₀ 값을 각 변이체에 대해 결정하였다(표 9). 유사하게, 변이체 Q27R + A34S는 모 D2E7 항체와 대략 균등한 EC₅₀ 값을 나타내었다.

마지막으로, TNF- α 에 대한 항체의 친화도를 BIACore 분석으로 확인하였다(표 10). 테스트한 10개 변이체 중에서, Q27H + A34S, Q27R + A34S 및 G28S + A34S 변이체는 모두 D2E7과 유사한 회합 및 해리 속도를 보였다. 변이체에 대한 최종 친화도 값은, 이를 실험에서 114 pM로 측정된 친화도를 갖는 D2E7과 비교하여 130 pM 범위에 있었다.

9. 실시예 2: TNF- α 에 대한 친화도가 증가한 D2E7 변이체의 동정

[0244] D2E7 항체에 대해 D2E7과 비교하여 TNF- α 에 대한 친화도가 증가한 돌연변이체를 동정하기 위한 종합 돌연변이 분석법을 수행하였다. TNF- α 에 대한 친화도가 증가된 후보 돌연변이들은 ELISA 및 BIACore를 통해 분석하여 D2E7과 비교되는 그들의 특징을 검증하였다.

[0245] 9.1 재료 및 방법

[0246] 9.1.1 경쟁 ELISA

[0247] 경쟁 ELISA 분석을 섹션 8.1.7에 기술된 바와 같이 실시하였다. ELISA는 2회 반복하였고 IC₅₀의 평균 배수 향상을 WT/x로 나타내었다.

[0248] 9.1.2 BIACore

[0249] BIACore 분석을 섹션 8.1.9에 기술된 대로 실시하였다.

[0250] 9.2 결과

[0251] D2E7 보다 개선된 K_D(BIACore로 측정시), ELISA에서의 개선된 경쟁능, 또는 둘 모두를 갖는 D2E7의 CDR 변이체를 표 12 및 25에 나타내었다.

10. 특정 구체예, 참조문헌의 인용

[0253] 본원에서 인용되는 모든 공개물, 특히, 출원 및 다른 문헌들은 각 개별 공개물, 특히, 특히 출원 또는 다른 문서들이 모든 목적을 위해 참조되어 포함된다고 개별적으로 표시된 것과 동일한 정도로 모든 목적을 위해 그들 전체를 참조하여 본원에 포함된다.

[0254] 다양한 특정 구체예를 예시하고 기술하였지만, 본 발명의 범주를 벗어나지 않고 다양한 변화를 가할 수 있음을 자명하다.

표 1

D2E7 중쇄 펩티드		D2E7 경쇄 펩티드	
서열번호	펩티드 서열	서열번호	펩티드 서열
11	EVQLVESGGGLVQPG	48	DIQMTQSPSSLSASV
12	LVESGGGLVQPGRLS	49	MTQSPSSLSASVGDR
13	SGGGLVQPGRLSLRS	50	SPSSLSASVGDRVTI
14	GLVQPGRLSLRSCAA	51	SLSASVGDRVTITCR
15	QPGRLSLRSCAASGF	52	ASVGDRVTITCRASQ
16	RSLRLSCAASGFTFD	53	GDRVTTITCRASQGIR
17	RLSCAASGFTFDY	54	VTITCRASQGIRNYL
18	CAASGFTFDYAMHW	55	TCRASQGIRNYLAWY
19	SGFTFDYAMHWVRQ	56	ASQGIRNYLAWYQQK
20	TFDDYAMHWVRQAPG	57	GIRNYLAWYQQKPGK
21	DYAMHWVRQAPGKGL	58	NYLAWYQQKPGKAPK
22	MHWVRQAPGKGLEWV	59	AIWQQKPGKAPKLLI
23	VRQAPGKGLEWVSAI	60	QQKPGKAPKLLIYAA
24	APGKGLEWVSAITWN	61	PGKAPKLLIYAASTL
25	KGLEWVSAITWNSGH	62	APKLLIYAASTLQSG
26	EWVSAITWNSGHIDY	63	LLIYAASTLQSGVPS
27	SAITWNNSGHIDYADS	64	YAASTLQSGVPSRFS
28	TWNNSGHIDYADSVEG	65	STLQSGVPSRFSGSG
29	SGHIDYADSVEGRFT	66	QSGVPSRFSGSGSGT
30	IDYADSVEGRFTISR	67	VPSRFSGSGSGTDFT
31	ADSVEGRFTISRDNA	68	RFSGSGSGTDFTLTI
32	VEGRFTISRDNAKNS	69	GSGSGTDFTLTISSL
33	RFTISRDNAKNSLYL	70	SGTDFTLTISSLQPE
34	ISRDNAKNSLYLQMN	71	DFTLTISSLQPEDVA
35	DNAKNSLYLQMNSLR	72	LTISSLQPEDVATYY
36	KNSLYLQMNSLRAED	73	SSLQPEDVATYYCQR
37	LYLQMNSLRAEDTA	74	QPEDVATYYCQRYNR
38	QMNSLRAEDTAVYYC	75	DVATYYCQRYNRAPY
39	SLRAEDTAVYYCAKV	76	DVATYYCQRYNRAPY
40	AEDTAVYYCAKVSYL	77	TYYCQRYNRAPYTFG
41	TAVYYCAKVSYLS	78	CQRYNRAPYTFGQGT
42	YYCAKVSYLS	79	YNRAPYTFGQGTKVE
43	AKVSYLS	80	RAPYTFGQGTKEIK
44	SYLSTASSLDYWGQG		
45	STASSLDYWGQGT		
46	TVS		
47	SLDYWGQGT		

[0255]

표 2

영역	펩티드 번호	서열	서열번호
VH	20	IDYADSVEGRFTISR	81
VL	8	TCRASQGIRNYLAWY	82
VL	11	NYLAWYQQKPGKAPK	83

[0256]

표 3

영역	펩티드 번호	펩티드	HLA	피셔 P	상대 위험도
VL	8	T22-Y36	없음		
VL	11	N31-K45	DQ2	0.003	7.7
VL	11		DR3	0.1	3.3
VL	11		DR12	0.03	5.2

[0257]

표 4

에피토프 변이 펩티드	펩티드 번호	서열번호	# 반응자	n	% 반응자	평균 SI
CRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPK	1	84	11	99	11.11	1.49
ARASQGIRNYLAWYQQKPGKAPK	2	85	2	99	2.02	1.24
CAASQGIRNYLAWYQQKPGKAPK	3	86	7	99	7.07	1.24
CRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPK	4	87	5	99	5.05	1.28
CRAAQGIRNYLAWYQQKPGKAPK	5	88	9	99	9.09	1.42
CRASAGIRNYLAWYQQKPGKAPK	6	89	11	99	11.11	1.44
CRASQAIRNYLAWYQQKPGKAPK	7	90	5	99	5.05	1.24
CRASQGARNYLAWYQQKPGKAPK	8	91	5	99	5.05	1.33
CRASQGIANYLAWYQQKPGKAPK	9	92	10	99	11.11	1.63
CRASQGIRAYLAWYQQKPGKAPK	10	93	5	99	5.05	1.16
CRASQGIRNALAWYQQKPGKAPK	11	94	4	99	4.04	1.20
CRASQGIRNYAAWYQQKPGKAPK	12	95	6	99	6.06	1.30
CRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPK	13	96	9	99	9.09	1.49
CRASQGIRNYLAAYQQKPGKAPK	14	97	10	99	10.10	1.49
CRASQGIRNYLAWAQQQKPGKAPK	15	98	10	99	10.10	2.00
CRASQGIRNYLAWYAQAKPGKAPK	16	99	9	99	9.09	1.38
CRASQGIRNYLAWYQAKPGKAPK	17	100	12	99	12.12	1.47
CRASQGIRNYLAWYQQAPGKAPK	18	101	6	99	6.06	1.41
CRASQGIRNYLAWYQQKAGKAPK	19	102	3	99	3.03	1.17
CRASQGIRNYLAWYQQKPAKPK	20	103	8	99	8.08	1.61
CRASQGIRNYLAWYQQKPGAAPK	21	104	10	99	10.10	1.79
CRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPK	22	105	8	99	8.08	1.46
CRASQGIRNYLAWYQQKPGKAAC	23	106	6	99	6.06	1.30
CRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPA	24	107	12	99	12.12	1.62

[0258]

표 5

WT CDR-L1 서열번호 8	위치	후보 치환
R	24	-
A	25	W
S	26	-
Q	27	G, H, R, T
G	28	S
I	29	T, V
R	30	Q
N	31	S, T
Y	32	-
L	33	E
A	34	G, S

[0259]

표 6

변이체	BiAcore						ELISA WT/x
	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (pM)	n	CV%	WT/x	
A25W	1.14E+6	2.21E-4	195	3	12	0.59	1.26
Q27R	9.96E+5	1.04E-4	106	3	15	1.09	1.27
Q27T	1.10E+6	1.43E-4	131	3	10	0.89	0.86
I29V	1.27E+6	9.45E-5	74	3	15	1.56	1.03
R30Q	1.42E+6	3.32E-4	240	3	23	0.48	0.30
L33E	1.23E+6	1.54E-4	126	3	14	0.92	0.69
WT	1.13E+6	1.31E-4	116	3	14	1.00	1.00

[0260]

표 7

에피토프 변이 펩티드	서열 번호	# 반응자	n	% 반응자	평균 SI
TCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPK	108	12	102	11.76	1.60
TCRASNGIRNYLAWYQQKPGKAPK	109	12	102	11.76	1.79
TCRASGGIRNYLAWYQQKPGKAPK	110	18	102	17.65	2.59
TCRASHGIRNYLAWYQQKPGKAPK	111	7	102	6.86	1.34
TCRASSGIRNYLAWYQQKPGKAPK	112	19	102	18.63	3.50
TCRASRGIRNYLAWYQQKPGKAPK	113	12	102	11.76	2.25
TCRASQSIRNYLAWYQQKPGKAPK	114	15	102	14.71	2.09
TCRASQHIRNYLAWYQQKPGKAPK	115	12	102	11.76	1.58
TCRASQNIRNYLAWYQQKPGKAPK	116	7	102	6.86	1.36
TCRASQGVNRNYLAWYQQKPGKAPK	117	11	102	10.78	1.59
TCRASQGTRNYLAWYQQKPGKAPK	118	6	102	5.88	1.33
TCRASQGIQNYLAWYQQKPGKAPK	119	3	102	2.94	1.33
TCRASQGIRGYLAWYQQKPGKAPK	120	19	102	18.63	2.58
TCRASQGIRTYLAWYQQKFGKAPK	121	5	102	4.90	1.09
TCRASQGIRSQLAWYQQKPGKAPK	122	3	102	2.94	1.14
TCRASQGIRNSLAWYQQKPGKAPK	123	5	102	4.90	1.21
TCRASQGIRNYLGWYQQKPGKAPK	124	4	102	3.92	1.27
TCRASQGIRNLYLAWYQQKPGKAPK	125	5	102	4.90	1.27
TCRASNGIRNQLAWYQQKPGKAPK	126	2	102	1.96	1.23
TCRASGGIRNQLAWYQQKPGKAPK	127	14	102	13.73	2.12
TCRASHGIRNQLAWYQQKPGKAPK	128	6	102	5.88	1.42
TCRASSGIRNQLAWYQQKPGKAPK	129	3	102	2.94	1.18
TCRASRGIRNQLAWYQQKPGKAPK	130	3	102	2.94	0.97
TCRASQSIRNQLAWYQQKPGKAPK	131	3	102	2.94	1.21
TCRASQHIRNQLAWYQQKPGKAPK	132	21	102	20.59	2.07
TCRASQNIRNQLAWYQQKPGKAPK	133	7	102	6.86	1.39
TCRASQGVNRNQLAWYQQKPGKAPK	134	3	102	2.94	1.12
TCRASQGTRNQLAWYQQKPGKAPK	135	18	102	17.65	2.48
TCRASQGIQNQLAWYQQKPGKAPK	136	5	102	4.90	1.10
TCRASQGIRGQLAWYQQKPGKAPK	137	4	102	3.92	1.12
TCRASQGIRTQLAWYQQKPGKAPK	138	2	102	1.96	1.21
TCRASQGIRSQLAWYQQKPGKAPK	139	3	102	2.94	1.26
TCRASQGIRSQLGWYQQKPGKAPK	140	7	102	6.86	1.36
TCRASQGIRSQLSWYQQKPGKAPK	141	4	102	3.92	1.25
TCRASNGIRNSLAWYQQKPGKAPK	142	1	102	0.98	1.07
TCRASGGIRNSLAWYQQKPGKAPK	143	1	102	0.98	1.08
TCRASHGIRNSLAWYQQKPGKAPK	144	6	102	5.88	1.22
TCRASSGIRNSLAWYQQKPGKAPK	145	2	102	1.96	1.14
TCRASRGIRNSLAWYQQKPGKAPK	146	5	102	4.90	1.41

[0261]

에피토프 변이 펩티드	서열 번호	# 반응자	n	% 반응자	평균 SI
TCRASQSI RN SLAWYQQKPGKAPK	147	7	102	6.86	1.48
TCRASQH IRN SLAWYQQKPGKAPK	148	12	102	11.76	1.66
TCRASQNI RN SLAWYQQKPGKAPK	149	2	102	1.96	1.21
TCRASQGV RNSL AWYQQKPGKAPK	150	3	102	2.94	1.04
TCRASQGTR NSL AWYQQKPGKAPK	151	3	102	2.94	1.03
TCRASQGI QNSL AWYQQKPGKAPK	152	1	102	0.98	0.94
TCRASQGIR GS L AWYQQKPGKAPK	153	2	102	1.96	1.11
TCRASQGIR TSL AWYQQKPGKAPK	154	0	102	0.00	0.99
TCRASQGIR S L AWYQQKPGKAPK	155	1	102	0.98	1.11
TCRASQGIR N S LGW YQQKPGKAPK	156	9	102	8.82	1.51
TCRASQGIR N S L WYQQKPGKAPK	157	6	102	5.88	1.47
TCRASNGI RN LGW YQQKPGKAPK	158	5	102	4.90	1.36
TCRASQGIR NYLGW YQQKPGKAPK	159	3	102	2.94	1.10
TCRASHGIR NYLGW YQQKPGKAPK	160	4	102	3.92	1.19
TCRASSGIR NYLGW YQQKPGKAPK	161	4	102	3.92	1.18
TCRASRGIR NYLGW YQQKPGKAPK	162	4	102	3.92	1.33
TCRASQSIR NYLGW YQQKPGKAPK	163	7	102	6.86	1.49
TCRASQH IRN LGW YQQKPGKAPK	164	6	102	5.88	1.32
TCRASQNI RN LGW YQQKPGKAPK	165	5	102	4.90	1.39
TCRASQGV RNYLGW YQQKPGKAPK	166	5	102	4.90	1.18
TCRASQGTR NYLGW YQQKPGKAPK	167	2	102	1.96	1.18
TCRASQGI QNYLGW YQQKPGKAPK	168	5	102	4.90	1.26
TCRASQGIR GYL GW YQQKPGKAPK	169	6	102	5.88	1.34
TCRASQGIR TYLGW YQQKPGKAPK	170	3	102	2.94	1.10
TCRASQGIR SYLGW YQQKPGKAPK	171	5	102	4.90	1.35
TCRASNGI RN S L WYQQKPGKAPK	172	14	102	13.73	1.67
TCRASGGI RN S L WYQQKPGKAPK	173	12	102	11.76	1.59
TCRASHGIR NYLS WYQQKPGKAPK	174	3	102	2.94	1.26
TCRASSGIR NYLS WYQQKPGKAPK	175	8	102	7.84	1.29

[0262]

표 8

펩티드	에피토프 변이 펩티드	서열번호	순위	n	% 반응자	평균 SI
R30Q/A34S	TCRASQGI QNYLSWYQQKPGKAPK	176	1	102	0.98	1.23
N31T/A34S	TCRASQGIR TYL SWYQQKPGKAPK	177	1	102	0.98	1.01
I29T/A34G	TCRASQGTR NYLGW YQQKPGKAPK	167	2	102	1.96	1.18
R30Q	TCRASQGI QNYL AWYQQKPGKAPK	119	3	102	2.94	1.33
Q27G/A34G	TCRASGGI RN LGW YQQKPGKAPK	159	3	102	2.94	1.10
N31T/A34G	TCRASQGIR TYLGW YQQKPGKAPK	170	3	102	2.94	1.10
Q27H/A34S	TCRASHGIR NYLSWYQQKPGKAPK	174	3	102	2.94	1.26
Q27R/A34S	TCRASRGIR NYLSWYQQKPGKAPK	178	3	102	2.94	1.06
G28S/A34S	TCRASQSI RN S L WYQQKPGKAPK	179	3	102	2.94	1.16
N31S/A34S	TCRASQGIR SYLGW YQQKPGKAPK	180	3	102	2.94	1.15

[0263]

표 9

펩티드	IC ₅₀ (nM)	WT 대비 편차
I29T/A34G	1.24	0.77
N31T/A34G	1.52	0.63
R30Q/A34S	1.30	0.73
R30Q	1.20	0.79
Q27G/A34G	1.07	0.89
Q27H/A34S	1.02	0.94
Q27R/A34S	0.97	0.98
G28S/A34S	1.08	0.88
N31T/A34S	1.35	0.71
N31S/A34S	1.49	0.64
모체	0.95	1.00

[0264]

표 10

변이체	BIAcore						WT/x
	k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (pM)	n	CV %		
I29T/A34G	9.87 E+5	6.49 E-4	657	3	7	0.18	
N31T/A34G	2.31 E+6	3.19 E-3	1440	3	13	0.08	
R30Q/A34S	1.17 E+6	6.03 E-4	520	3	17	0.22	
R30Q	1.42 E+6	3.32 E-4	240	3	23	0.48	
Q27G/A34G	1.11 E+6	2.89 E-4	262	3	16	0.44	
Q27H/A34S	1.16 E+6	1.54 E-4	133	3	10	0.87	
Q27R/A34S	9.82 E+5	1.24 E-4	128	3	19	0.91	
G28S/A34S	1.18 E+6	1.53 E-4	131	3	11	0.89	
N31T/A34S	1.31 E+6	1.46 E-3	1110	3	4	0.10	
N31S/A34S	1.64 E+6	1.93 E-3	1220	3	20	0.10	
WT	1.13 E+6	1.31 E-4	116	3	14	1.00	

[0265]

표 11

CDR-L1 WT & 변이체 서열번호												
8 (WT)	R	A	S	Q	G	I	R	N	Y	L	A	
181						Q						
182										S		
183						Q				S		
184							T					
185							T			S		
186						T						
187									G			
188						T			G			
189				G								
190				G					S			
191				G					G			
192							T		G			
193				H								
194				H					S			
195				R								
196				R					S			
197					S							
198				S					S			
199						S			S			
200						T			S			
201							T		G			

[0266]

표 12

변이체	쇄	CDR	BIAcore						ELISA	WT/x
			k_{on} (1/Ms)	k_{off} (1/s)	K_D (pM)	n	CV%	WT/x		
T53F	VL	2	1.21E+6	9.49E-5	79	3	7	1.47	1.54	
T53W	VL	2	1.03E+6	9.38E-5	91	3	7	1.27	1.92	
T53Y	VL	2	1.18e+6	9.56E-5	82	4	17	1.42	ND	
L54R	VL	2	1.27E+6	1.14E-4	91	3	13	1.28	1.82	
L54K	VL	2	1.12E+6	9.17E-5	82	3	7	1.42	1.25	
Q55R	VL	2	1.19E+6	1.14E-4	96	3	13	1.22	1.33	
D31G	VH	1	1.51E+6	8.13E-5	55	3	13	2.11	0.97	
Y32H	VH	1	1.32 E+6	1.00E-4	78	4	24	1.49	ND	
A33G	VH	1	1.40E+6	2.13E-4	153	3	19	0.76	1.30	
T52N	VH	2	1.65E+6	1.60E-4	99	3	18	1.18	0.94	
WT			1.13E+6	1.31E-4	116	3	14	1.00	1.00	

[0267]

표 13

CDR-H1 WT & 변이체 서열번호		D	Y	A	M	H
5 (WT)						
202			T			
203	E					
204	Q	H		L		
205	Q	H				
206	H			L		
207	Q					
208	H					
209	Y					

[0268]

표 14

CDR-H2 WT & 변이체 서열번호		A	I	T	W	N	S	G	H	I	D	Y	A	D	S	V	E	G
6 (WT)																		
210	PA																	
211																		

[0269]

표 15

CDR-H3 WT & 변이체 서열번호		V	S	Y	L	S	T	A	S	S	L	D	Y
7 (WT)		PV										X	
212	PA												
213	PA												
214	PA							S					
215												N	
216												X	
217	A							S					
218	V											Q	
219	A											Q	
220								S					
221	A											E	
222	A						S					N	
223	A						S					K	
224	A						S					D	
225	A						S	F					
226												A	
227	A						S					E	
228							S					N	
229										A			
230											A		
231	A												
232		A											
233			A										
234				A									
235					A								
236						A							
237							A						
238												Q X	
239												Q	
240			A	S	T	G	P		V	F	P	L	
241		H											
242	H									Q		H H	
243	Q												
244	K												
245	P												
246									P				
247										P			
248											P		
249											S		
250	A												
251	A							S			H		
252	A	F				S					E		

[0270]

표 16

CDR-L1 WT & 변이체 서열번호											
8 (WT)	R	A	S	Q	G	I	R	N	Y	L	A
253	PR									D	G
254											
255								S			
256		R					S				
257				S				SN			
258				E							
259	H		K								
260			L								
261							S	S			
262		S									
263	H		R	R							
264	H		R	R		L					
265	H		R	K		L					
266	H		R	K							
267	H			K							
268	H		K	R							
269	H		K	K							
270	H		R	E							
271	H										
273	G										
274			K								
275				K							
276					K						
277						L					
278			Y								

[0271]

표 17

CDR-L2 WT & 변이체 서열번호							
9 (WT)	A	A	S	T	L	Q	S
279	PA						
280			S		L	H	
281			S			P	
282			S		L	R	
283			S		L	K	
284			S			Q	
285			S		L	P	
286			S		L	Q	
287					L	K	
288			A				
289					F		
290						K	
291			L				
292						L	
293						P	
294				S			
295		Y					

[0272]

표 18

CDR-L3 WT & 변이체 서열번호	Q	R	Y	N	R	A	P	Y	T
10 (WT)									
296	PQ	K							
297	PQ							X	
298	PQ							A	
299		K							
300								A	
301								X	
302								T	
303		K		S				A	
304		K						A	
305		K		N					
306		K	S	S					
307		K		S					
308		K		S				Y	
309		K		S				N	
310		K	T	S					
311		K						N	
312		K		S	A			S	
313	Q		S			D			
314	K		S	D					
315	K	I	S						
316	K			P					
317			D						
318			A						
319			A						
320					A				
321						A			
322	P	E	D	F		T		Y	
323	S	D		F		T		Y	
324			D	K	P				
325				K	P				
326			D		P				
327			D						
328				K					
329					P				
330	K		Q						
331	K		S	S				A	
332	A								
333	A								
334		A							
335	P	E	D	V		T		Y	
336	P	E	D	V	A			Y	

[0273]

표 19

CDR-H1 WT & 변이체 서열번호	D	Y	A	M	H
5 (WT)					
337	N				
338	T				
339	R				
340		F			
341		Q			
342			I		

[0274]

표 20

CDR-H2 WT & 변이체 서열번호																	
6 (WT)	A	I	T	W	N	S	G	H	I	D	Y	A	D	S	V	E	G
343	G																
344									T								
345								V									
346													R				
347														N			

[0275]

표 21

CDR-H3 WT & 변이체 서열번호												
7 (WT)	V	S	Y	L	S	T	A	S	S	L	D	Y
348								P				

[0276]

표 22

CDR-L1 WT & 변이체 서열번호												
8 (WT)	R	A	S	Q	G	I	R	N	Y	L	A	
349	L											
350	A											
351	T											
352		S										
353		G										
354		T										
355			T									
356				M								
357				V								
358				W								
359					P							
360					R							
361					L							
362						V						

[0277]

표 23

CDR-L2 WT & 변이체 서열번호							
9 (WT)	A	A	S	T	L	Q	S
363			G				
364			W				
365				G			
366					S		
367					T		
368						I	
369							R

[0278]

표 24

CDR-L3 WT & 변이체 서열번호		Q	R	Y	N	R	A	P	Y	T
10 (WT)				I						
370					Q					
371				M						
372					S					
373						Q				
374						A				
375						S				
376						M				
377						E				
378						V				
379										

[0279]

표 25

CDR-L2 WT & 변이체 서열번호	CDR L2 서열						Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KA (1/M)	pM	WT 대비 배수
	A	A	S	T	L	Q					
9 (WT)							1.42E+06	1.98E-04	7.07E+09	144	1.00
380			K	H	R	R	8.26E+05	1.88E-04	4.43E+09	226	0.63
381			K	Q	R	K	9.15E+05	2.43E-04	3.76E+09	267	0.54
382			K	Y	K		1.12E+06	1.49E-04	7.51E+09	134	1.07
383			K	Y			1.18E+06	1.58E-04	7.55E+09	134	1.07
384			N	V	R	K	1.28E+06	1.46E-04	9.03E+09	113	1.27
385			N	W	R	R	1.20E+06	7.78E-05	1.54E+10	65	2.20
386			R	F	R		1.06E+06	1.17E-04	9.04E+09	111	1.29
387			R	F	R	R	5.74E+06	2.13E-04	2.06E+10	62	2.32
388			R	H		K	8.05E+05	2.79E-04	2.99E+09	345	0.42
389			R	W	K	R	7.69E+05	2.05E-04	3.83E+09	271	0.53
390			H	K	K		1.15E+06	1.03E-04	1.14E+10	89	1.62
391			H	K	R		8.96E+05	2.49E-04	3.60E+09	278	0.52
392			W	R	R		9.81E+05	1.75E-04	5.65E+09	177	0.81
272			Y	R			1.98E+06	8.24E-05	2.47E+10	43	3.37

[0280]

도면

도면 1a

D2E7(Humira) VH (서열번호 2)

EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSA
ITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYSLS
TASSLDYWGQQTLTVSS

D2E7 (Humira) VL (서열번호 4)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAAST
LQSGVPSRFSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQQGTKE
 IK

도면1b

항체쇄	CDR No.	서열	서열번호
중쇄	1	DYAMH	5
중쇄	2	AITWNSGHIDYADSVEG	6
중쇄	3	VSYLSTASSLDY	7
경쇄	1	RASQGIRNYLA	8
경쇄	2	AASTLQS	9
경쇄	3	QRYNRAPYT	10

도면1c

항체쇄	CDR No.	서열번호	잔기	CDR 4// 위치	Kabat No.
중쇄	1	5	D	1	31
			Y	2	32
			A	3	33
			M	4	34
			H	5	35
중쇄	2	6	A	1	50
			I	2	51
			T	3	52
			W	4	53
			N	5	54
			S	6	55
			G	7	56
			H	8	57
			I	9	58
			D	10	59
			Y	11	60
			A	12	61
			D	13	62
			S	14	63
			V	15	64
			E	16	65
			G	17	66
중쇄	3	7	V	1	99
			S	2	100
			Y	3	101
			L	4	102
			S	5	103
			T	6	104
			A	7	105
			S	8	106
			S	9	107
			L	10	108
			D	11	109
			Y	12	110

도면1d

항체쇄	CDR No.	서열번호	잔기	CDR L// 위치	Kabat No.
경쇄	1	8	R	1	24
			A	2	25
			S	3	26
			Q	4	27
			G	5	28
			I	6	29
			R	7	30
			N	8	31
			Y	9	32
			L	10	33
			A	11	34
경쇄	2	9	A	1	50
			A	2	51
			S	3	52
			T	4	53
			L	5	54
경쇄	3	10	Q	1	89
			R	2	90
			Y	3	91
			N	4	92
			R	5	93
			A	6	94
			P	7	95
			Y	8	96
			T	9	97

도면1e

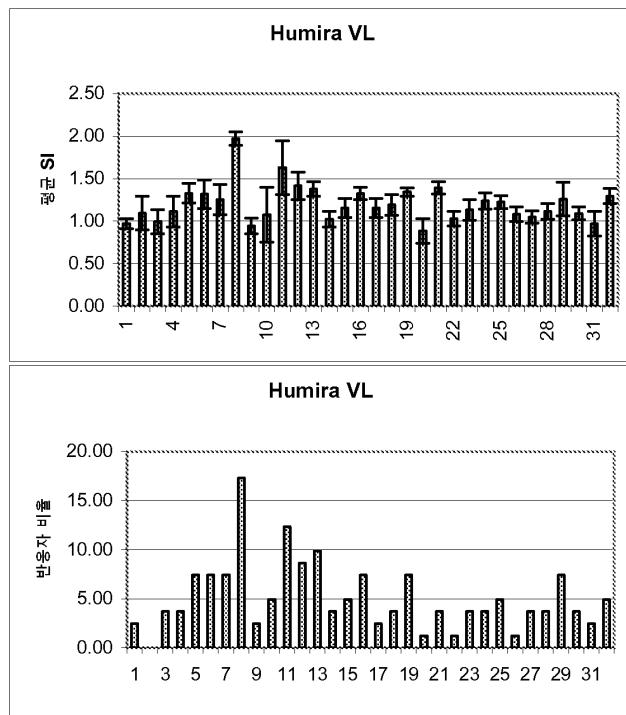
GAGGTGCAGC TGGTGGAGTC TGGGGGAGGC TTGGTACAGC CCGGCAGGTC CCTGAGACTC 60
 TCCTGTGCGG CCTCTGGATT CACCTTTGAT GATTATGCCA TGCACTGGGT CCGGCAAGCT 120
 CCAGGGAAGG GCCTTGAATG GGTCTCAGCT ATCACTTGGA ATAGTGGTCA CATAGACTAT 180
 GCGGACTCTG TGGAGGGCCG ATTCAACCAC TCCAGAGACA ACGCCAAGAA CTCCCTGTAT 240
 CTGCAAATGA ACAGTCTGAG AGCTGAGGAT ACGGCCGTAT ATTACTGTGC GAAAGTCTCG 300
 TACCTTAGCA CCCGTCCTC CCTTGACTAT TGGGGCCAAG GTACCCCTGGT CACCGTCTCG 360
 AGT 363

D2E7 중쇄의 뉴클레오티드 서열 (서열번호 1)

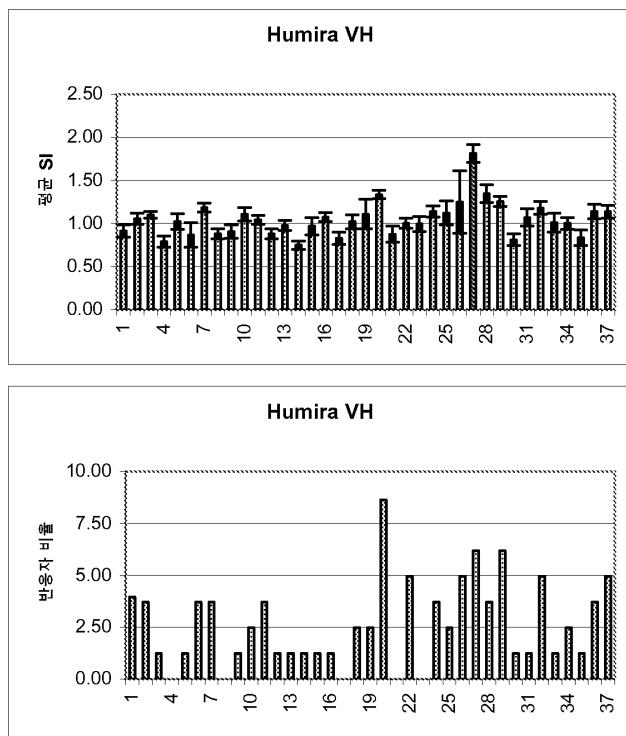
GACATCCAGA TGACCCAGTC TCCATCCTCC CTGTCTGCAT CTGTAGGGGA CAGAGTCACC 60
 ATCACTTGTGTC GGGCAAGTCA GGGCATCAGA AATTACTTAG CCTGGTATCA GCAAAAACCA 120
 GGGAAAGCCC CTAAGCTCCT GATCTATGCT GCATCCACTT TGCAATCAGG GGTCCCATCT 180
 CGGTCAGTG GCAGTGGATC TGGGACAGAT TTCACTCTCA CCATCAGCAG CCTACAGCCT 240
 GAAGATGTTG CAACTTATTA CTGTCAAAGG TATAACCGTG CACCGTATAC TTTTGGCCAG 300
 GGGACCAAGG TGGAAATCAA A 321

D2E7 경쇄의 뉴클레오티드 서열 (서열번호 3)

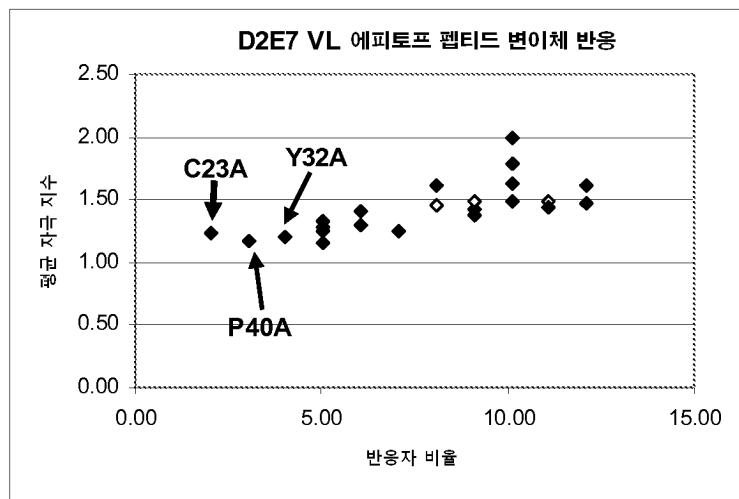
도면2



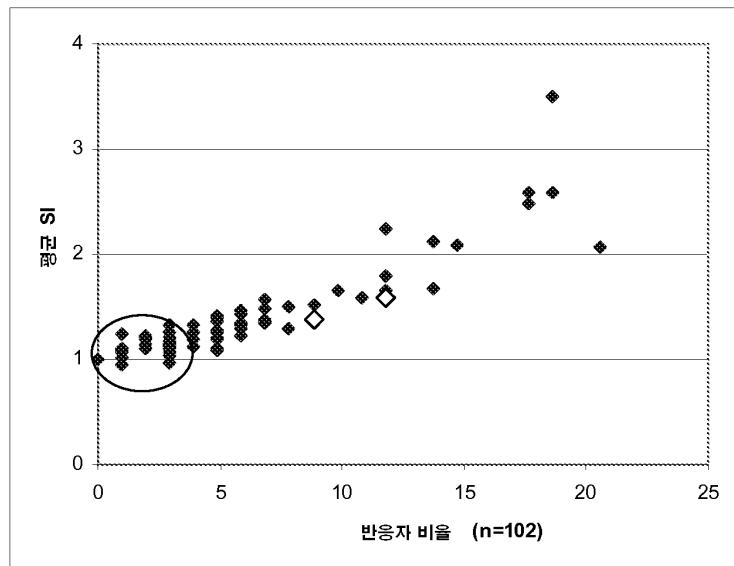
도면3



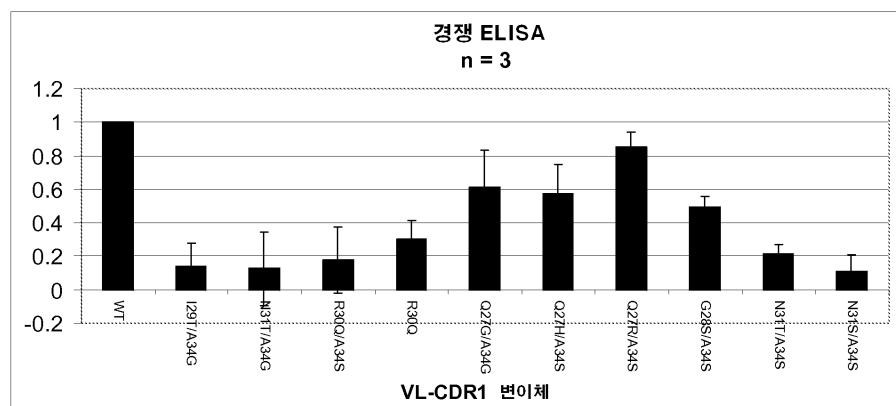
도면4



도면5



도면6



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> FACET BIOTECH CORPORATION

<120> ANTI-TNF-ALPHA ANTIBODIES AND THEIR USES

<130> 381493-221WO (104005)

<140><141><150> 61/170,053

<151> 2009-04-16

<160> 343

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 1

gaggtgcagc tggtgaggc tgggggaggc ttggtagcgc cggcaggc cctgagactc	60
--	----

tcctgtgcgg cctctggatt cacctttgat gattatgcc tgcactgggt ccggcaagct	120
--	-----

ccagggagg gcctggaatg ggtctcagct atcacttgaa atagtggtca catagactat	180
--	-----

gcggactctg tggagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctccctgtat	240
---	-----

ctgcaaatga acagtctgag agctgaggat acggccgtat attactgtgc gaaagtctcg	300
---	-----

taccttagca ccgcgtcctc ctttgactat tggggcaag gtaccctggt caccgtctcg	360
--	-----

agt	363
-----	-----

<210> 2

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 2

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

100 105

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

ISSN: 1062-1024 • Description of Artificial Sensors and Schedules

1000-1000-1000

1400-8

ggatgttgcacatttttcgtccaaaggatccccgttgcacatatacgtttttggccgg 300

gggaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 4

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 4

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 Gly Ile Arg Asn Tyr

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala 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 Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 5

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 5

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 6

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 6

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu

1	5	10	15
Gly			

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 7

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 8

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400

> 8

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1	5	10
---	---	----

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 9

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 10

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 11

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

1 5 10 15

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 12

Leu Val Glu Ser Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu

1 5 10 15

<210> 13

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 13

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser

1 5 10 15

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 14

Gly Leu Val Gln Pro Gly Arg Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala

1 5 10 15

<210> 15

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 15

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

1 5 10 15

<210> 16

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 16

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

1 5 10 15

<210> 17

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 17

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5 10 15

<210

> 18

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 18

Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His Trp

1 5 10 15

<210> 19

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 19

Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 20

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 20

Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 21

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

Asp Tyr Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 22

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 22

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

1 5 10 15

<210> 23

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile

1 5 10 15

<210> 24

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 24

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

1 5 10 15

<210

> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 25

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His

1 5 10 15

<210> 26

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 26

Glu Trp Val Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 27

Ser Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 28

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 28

Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 29

Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly Arg Phe Thr

1 5 10 15

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 30

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

1 5 10 15

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 31

Ala Asp Ser Val Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala

1 5 10 15

<210

> 32

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 32

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

1 5 10 15

<210> 33

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 33

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

1 5 10 15

<210> 34

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 34

Ile Ser Arg Pro Arg Thr Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn

1 5 10 15

<210> 35

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 35

Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg

1 5 10 15

<210> 36

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 36

Lys Asn Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp

1 5 10 15

<210> 37

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 37

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

1 5 10 15

<210> 38

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 38

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

1 5 10 15

<210

> 39

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

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

1 5 10 15

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

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

1 5 10 15

<210> 41

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala

1 5 10 15

<210> 42

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

Tyr Tyr Cys Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu

1 5 10 15

<210> 43

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 43

Ala Lys Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr Trp

1 5 10 15

<210> 44

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 44

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

1 5 10 15

<210> 45

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 45

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

1 5 10 15

<210>

> 46

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

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

1 5 10 15

<210> 47

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

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

1 5 10 15

<210> 48

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 48

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

1 5 10 15

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

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

1 5 10 15

<210> 50

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 50

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

1 5 10 15

<210> 51

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 51

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

1 5 10 15

<210> 52

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 52

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

1 5 10 15

<210>

> 53

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

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

1 5 10 15

<210> 54

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu

1 5 10 15

<210> 55

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr

1 5 10 15

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 56

Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys

1 5 10 15

<210> 57

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 57

Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

1 5 10 15

<210> 58

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

1 5 10 15

<210> 59

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

1 5 10 15

<210>

> 60

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala

1 5 10 15

<210> 61

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 61

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

1 5 10 15

<210> 62

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 62

Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly

1 5 10 15

<210> 63

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 63

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

1 5 10 15

<210> 64

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 64

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

1 5 10 15

<210> 65

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 65

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

1 5 10 15

<210> 66

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 66

Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr

1 5 10 15

<210

> 67

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 67

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

1 5 10 15

<210> 68

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

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

1 5 10 15

<210> 69

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

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

1 5 10 15

<210> 70

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

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

1 5 10 15

<210> 71

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 71

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala

1 5 10 15

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

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

<210> 73

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 73

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg
1 5 10 15

<210>

> 74

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg

1 5 10 15

<210> 75

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 75

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr

1 5 10 15

<210> 76

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 76

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr

1 5 10 15

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr Phe Gly

1 5 10 15

<210> 78

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 78

Cys Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr

1 5 10 15

<210> 79

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu

1 5 10 15

<210> 80

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 80

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

1 5 10 15

<210

> 81

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 81

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

1 5 10 15

<210> 82

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 82

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 83

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 83

Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 84

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 85

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 85

Ala Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 86

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 86

Cys Ala Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 87

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 87

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 88

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 88

Cys Arg Ala Ala Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 89

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 89

Cys Arg Ala Ser Ala Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 90

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 90

Cys Arg Ala Ser Gln Ala Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 91

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 91

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ala Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 92

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 92

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ala Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 93

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 93

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ala Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 94

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 94

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Ala Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 95

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 95

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Ala Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 96

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 96

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 97

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 97

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Ala Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 98

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 98

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Ala Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 99

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 99

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Ala Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 100

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223>

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

<400> 100

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Ala

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 101

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 101

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Ala Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 102

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 102

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Ala Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 103

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 103

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Ala Lys Ala Pro Lys

20

<210> 104

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 104

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Ala Ala Pro Lys

20

<210> 105

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 105

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 106

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 106

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Ala Lys

20

<210> 107

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 107

Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln

1 5 10 15

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Ala

20

<210> 108

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 108

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 109

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 109

Thr Cys Arg Ala Ser Asn Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 110

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 110

Thr Cys Arg Ala Ser Gly Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 111

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 111

Thr Cys Arg Ala Ser His Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 112

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 112

Thr Cys Arg Ala Ser Ser Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210>

> 113

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 113

Thr Cys Arg Ala Ser Arg Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 114

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 114

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 115

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 115

Thr Cys Arg Ala Ser Gln His Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 116

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 116

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 117

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 117

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 118

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 118

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Thr Arg Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 119

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 119

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gln Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210

> 120

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 120

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Gly Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 121

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 121

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Phe Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 122

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 122

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 123

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 123

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 124

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 124

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 125

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 125

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 126

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 126

Thr Cys Arg Ala Ser Asn Gly Ile Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210>

> 127

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 127

Thr Cys Arg Ala Ser Gly Gly Ile Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 128

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 128

Thr Cys Arg Ala Ser His Gly Ile Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 129

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 129

Thr Cys Arg Ala Ser Ser Gly Ile Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 130

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 130

Thr Cys Arg Ala Ser Arg Gly Ile Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 131

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

221> source

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

<400> 131

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1	5	10	15
---	---	----	----

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 132

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

Thr Cys Arg Ala Ser Gln His Ile Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 133

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 133

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210

> 134

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 134

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 135

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 135

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Thr Arg Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1

5

10

15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 136

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 136

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gln Asn Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1

5

10

15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 137

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 137

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Gly Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 138

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 138

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 139

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 139

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Gln Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 140

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 140

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Gln Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210

> 141

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 141

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Gln Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 142

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 142

Thr Cys Arg Ala Ser Asn Gly Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 143

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 143

Thr Cys Arg Ala Ser Gly Gly Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 144

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 144

Thr Cys Arg Ala Ser His Gly Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 145

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 145

Thr Cys Arg Ala Ser Ser Gly Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 146

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 146

Thr Cys Arg Ala Ser Arg Gly Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 147

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 147

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210

> 148

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 148

Thr Cys Arg Ala Ser Gln His Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 149

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 149

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 150

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 150

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 151

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 151

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Thr Arg Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 152

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

peptide"

<400> 152

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gln Asn Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 153

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 153

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Gly Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 154

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 154

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210>

> 155

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 155

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Ser Leu Ala Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 156

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 156

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Ser Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 157

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 157

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Ser Leu Ser Trp Tyr Gln

1

5

10

15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 158

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 158

Thr Cys Arg Ala Ser Asn Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1

5

10

15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 159

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

221> source

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

<400> 159

Thr Cys Arg Ala Ser Gly Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 160

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 160

Thr Cys Arg Ala Ser His Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 161

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 161

Thr Cys Arg Ala Ser Ser Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210

> 162

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 162

Thr Cys Arg Ala Ser Arg Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 163

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 163

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 164

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 164

Thr Cys Arg Ala Ser Gln His Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 165

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 165

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 166

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 166

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Val Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 167

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 167

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Thr Arg Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Phe Lys

20

<210> 168

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 168

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gln Asn Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210

> 169

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 169

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Gly Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 170

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
peptide"

<400> 170

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 171

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 171

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Tyr Leu Gly Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 172

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 172

Thr Cys Arg Ala Ser Asn Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 173

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 173

Thr Cys Arg Ala Ser Gly Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 174

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 174

Thr Cys Arg Ala Ser His Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 175

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 175

Thr Cys Arg Ala Ser Ser Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210

> 176

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 176

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gln Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 177

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 177

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 178

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 178

Thr Cys Arg Ala Ser Arg Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 179

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 179

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 180

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

221> source

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

<400> 180

Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Tyr Leu Ser Trp Tyr Gln

1 5 10 15

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys

20

<210> 181

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 181

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 182

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 182

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 183

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 183

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gln Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 184

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 184

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 185

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 185

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Gln Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 186

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 186

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 187

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 187

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 188

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 188

Arg Ala Ser Gln Gly Thr Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 189

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 189

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Gly

1 5 10

<210> 190

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 190

Arg Ala Ser Gln Gly Thr Arg Asn Tyr Leu Gly

1 5 10

<210> 191

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 191

Arg Ala Ser Gly Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 192

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 192

Arg Ala Ser Gly Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 193

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 193

Arg Ala Ser Gly Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Gly

1 5 10

<210> 194

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 194

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Tyr Leu Gly

1 5 10

<210> 195

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 195

Arg Ala Ser His Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 196

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 196

Arg Ala Ser His Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 197

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 197

Arg Ala Ser Arg Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 198

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 198

Arg Ala Ser Arg Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 199

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 199

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 200

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 200

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Asn Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 201

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 201

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Ser Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 202

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 202

Arg Ala Ser Gln Gly Thr Arg Tyr Leu Ser

1 5 10

<210> 203

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 203

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Thr Tyr Leu Gly

1 5 10

<210> 204

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 204

Asp Tyr Ala Met His

1 5

<210> 205

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 205

Asp Tyr Thr Met His

1 5

<210> 206

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 206

Glu Tyr Ala Met His

1 5

<210> 207

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 207

Gln His Ala Leu His

1 5

<210> 208

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 208

Gln His Ala Met His

1 5

<210> 209

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 209

His Tyr Ala Leu His

1 5

<210> 210

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 210

Gln Tyr Ala Met His

1 5

<210>

211

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 211

His Tyr Ala Met His

1 5

<210> 212

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 212

Tyr Tyr Ala Met His

1 5

<210> 213

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<

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

<400> 213

Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu

1 5 10 15

Gly

<210> 214

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 214

Pro Ala Ile Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val

1 5 10 15

Glu Gly

<210> 215

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 215

Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Val Glu Gly

1 5 10 15

<210> 216

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 216

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 217

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> MOD_RES

<222> (13)..(13)

<223> Any amino acid

<400> 217

Pro Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Xaa

1	5	10
---	---	----

<210> 218

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 218

Pro Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 219

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 219

Pro Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 220

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 220

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Asn

1	5	10
---	---	----

<210> 221

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Any amino acid

<400> 221

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Xaa

1	5	10
---	---	----

<210> 222

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 222

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 223

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 223

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Gln Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 224

<211> 12

<212>

PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 224

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Gln Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 225

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 225

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 226

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 226

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Glu Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 227

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 227

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Asn

1 5 10

<210> 228

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 228

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

1 5 10

<210> 229

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 229

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Asp

1 5 10

<210> 230

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 230

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Phe Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 231

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 231

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Ala

1 5 10

<210> 232

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 232

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 233

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 233

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Asp Asn

1 5 10

<210> 234

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 234

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Ala Asp Tyr

1 5 10

<210> 235

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 235

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Ala Tyr

1 5 10

<210> 236

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 236

Val Ala Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 237

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 237

Val Ser Ala Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 238

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 238

Val Ser Tyr Ala Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 239

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 239

Val Ser Tyr Leu Ala Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 240

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 240

Val Ser Tyr Leu Ser Ala Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 241

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 241

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ala Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 242

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 242

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ala Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 243

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (12)..(12)

<223> Any amino acid

<400> 243

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Gln Xaa

1 5 10

<210> 244

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 244

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Gln Tyr

1 5 10

<210> 245

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 245

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

1 5 10

<210> 246

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 246

Val His Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 247

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 247

Val His Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Gln Leu His His

1	5	10
---	---	----

<210> 248

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 248

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

1	5	10
---	---	----

<210> 249

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 249

Val Lys Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1	5	10
---	---	----

<210> 250

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 250

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

1 5 10

<210> 251

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 251

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

1 5 10

<210> 252

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 252

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Pro Tyr

1 5 10

<210> 253

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 253

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

1 5 10

<210> 254

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 254

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Ser

1 5 10

<210> 255

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 255

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu Asp Tyr

1 5 10

<210> 256

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 256

Ala Ser Tyr Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu His Tyr

1 5 10

<210> 257

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 257

Ala Ser Phe Leu Ser Thr Ser Ser Ser Leu Glu Tyr

1 5 10

<210> 258

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 258

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 259

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 259

Pro Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 260

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 260

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asp Leu Gly

1 5 10

<210> 261

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 261

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 262

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 262

Arg Ala Arg Gln Gly Ile Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 263

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 263

Arg Ala Ser Gln Ser Ile Arg Ser Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 264

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 264

Arg Ala Ser Gln Glu Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 265

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 265

His Ala Ser Gln Lys Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 266

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 266

Arg Ala Ser Leu Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 267

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 267

Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 268

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 268

Arg Ala Ser Ser Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 269

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 269

His Ala Ser Arg Arg Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 270

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 270

His Ala Ser Arg Arg Ile Leu Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 271

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 271

His Ala Ser Arg Lys Ile Leu Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 272

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 272

His Ala Ser Arg Lys Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 273

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 273

His Ala Ser Gln Lys Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 274

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 274

His Ala Ser Lys Arg Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 275

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 275

His Ala Ser Lys Lys Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 276

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 276

His Ala Ser Arg Glu Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 277

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 277

His Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 278

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 278

Gly Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 279

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 279

Arg Ala Ser Lys Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 280

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 280

Arg Ala Ser Gln Lys Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 281

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 281

Arg Ala Ser Gln Gly Lys Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 282

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 282

Arg Ala Ser Gln Gly Leu Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 283

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 283

Arg Ala Ser Tyr Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 284

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 284

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 285

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 285

Pro Ala Ala Ser Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 286

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 286

Ala Ala Ser Ser Leu Leu His

1 5

<210> 287

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 287

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Pro

1 5

<210> 288

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 288

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Arg

1 5

<210> 289

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 289

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Lys

1 5

<210> 290

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 290

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Gln

1 5

<210> 291

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 291

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Pro

1 5

<210> 292

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 292

Ala Ala Ser Ser Leu Leu Gln

1 5

<210> 293

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 293

Ala Ala Ser Thr Leu Leu Lys

1 5

<210> 294

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 294

Ala Ala Ser Ala Leu Gln Ser

1 5

<210> 295

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 295

Ala Ala Ser Thr Phe Gln Ser

1 5

<210> 296

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 296

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Lys

1 5

<210> 297

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<

<220><221> source

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

<400> 297

Ala Ala Leu Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 298

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 298

Ala Ala Ser Thr Leu Leu Ser

1 5

<210> 299

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 299

Ala Ala Ser Thr Leu Gln Pro

1 5

<210> 300

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 300

Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser

1 5

<210> 301

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 301

Ala Ala Tyr Thr Leu Gln Ser

1 5

<210> 302

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 302

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 303

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 303

Pro Gln Lys Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5 10

<210> 304
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic peptide"

<220><221> MOD_RES

<222> (10)..(10)

<223> Any amino acid

<400> 304

Pro Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Xaa

1 5 10

<210> 305

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 305

Pro Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Ala

1 5 10

<210> 306

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 306

Gln Lys Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 307

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 307

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Ala

1 5

<210> 308

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> MOD_RES

<222> (9)..(9)

<223> Any amino acid

<400> 308

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Xaa

1 5

<210> 309

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 309

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 310

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 310

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Ala

1 5

<210> 311

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 311

Gln Lys Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Ala

1 5

<210> 312

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 312

Gln Lys Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 313

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 313

Gln Lys Tyr Ser Ser Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 314

<211

> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 314

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 315

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 315

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Tyr

1 5

<210> 316

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 316

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Tyr Asn

1 5

<210> 317

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 317

Gln Lys Tyr Thr Ser Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 318

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 318

Gln Lys Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Asn

1 5

<210> 319

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 319

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Ala Tyr Ser

1 5

<210> 320

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 320

Gln Gln Tyr Asn Ser Ala Pro Asp Thr

1 5

<210> 321

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 321

Gln Lys Tyr Asn Ser Asp Pro Tyr Thr

1 5

<210> 322

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

peptide"

<400> 322

Gln Lys Tyr Ile Ser Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 323

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 323

Gln Lys Tyr Asn Arg Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 324

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 324

Gln Arg Tyr Asn Asp Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 325

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 325

Gln Arg Tyr Ala Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 326

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 326

Gln Arg Tyr Asn Ala Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 327

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 327

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Ala Tyr Thr

1 5

<210> 328

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 328

Gln Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Ala Thr

1 5

<210> 329

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 329

Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr

1 5

<210> 330

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 330

Gln Ser Asp Asn Phe Ala Thr Tyr Tyr

1 5

<210> 331

<211

> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 331

Gln Arg Tyr Asp Lys Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 332

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 332

Gln Arg Tyr Asn Lys Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 333

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 333

Gln Arg Tyr Asp Arg Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 334

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 334

Gln Arg Tyr Asp Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 335

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 335

Gln Arg Tyr Asn Lys Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 336

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 336

Gln Arg Tyr Asn Arg Pro Pro Tyr Thr

1 5

<210> 337

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 337

Gln Lys Tyr Gln Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 338

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 338

Gln Lys Tyr Ser Ser Ala Pro Tyr Ala

1 5

<210> 339

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 339

Ala Arg Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 340

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 340

Gln Ala Tyr Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 341

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 341

Gln Arg Ala Asn Arg Ala Pro Tyr Thr

1 5

<210> 342

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 342

Gln Pro Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr

1 5

<210> 343

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 343

Gln Pro Glu Asp Val Ala Ala Tyr Tyr

1

5