(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2025-0007045
(43) 공개일자 2025년01월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01) *A61P 25/00* (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01) *C07K 14/705* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 16/2875 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2024-7042620(분할)
(22) 출원일자(국제) 2016년02월02일
심사청구일자 없음
(62) 원출원 특허 10-2017-7021029
원출원일자(국제) 2016년02월02일
심사청구일자 2021년01월20일
(85) 번역문제출일자 2024년12월23일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/016165
(87) 국제공개번호 WO 2016/126702
국제공개일자 2016년08월11일
(30) 우선권주장
62/111,261 2015년02월03일 미국(US)

(71) 출원인
에이엘에스 테라피 디벨럽먼트 인스티튜트
미국, 매사추세츠 02472, 워터타운, 스위트 201, 480 아스날 스트리트
(72) 발명자
린세쿰 존 엠.
미국 02130 매사추세츠주 자메이카 플레인 켄톤 로드 19
지앙 빙빙
미국 02135 매사추세츠주 브라이톤 커먼웰스 애비뉴 1455 아파트먼트 417
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희, 김태홍

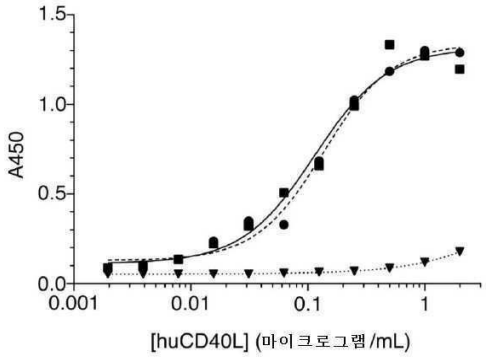
전체 청구항 수 : 총 34 항

(54) 발명의 명칭 **항-CD40L 항체 및 CD40L-관련 질환 또는 장애의 치료 방법**

(57) 요 약

혈소판을 활성화하는 능력이 결여되도록 조작된 항-인간 CD40L 항체 및 CD40L-연관 질환을 갖는 환자를 치료하는 방법.

대 표 도 - 도3



(52) CPC특허분류
A61K 45/06 (2013.01)
A61P 25/00 (2018.01)
A61P 37/06 (2018.01)
C07K 14/70521 (2013.01)
C07K 16/2827 (2013.01)
C07K 2317/24 (2013.01)
C07K 2317/52 (2013.01)
C07K 2319/30 (2013.01)
(72) 발명자
페린 스티븐 엔.
미국 01951 매사추세츠주 뉴버리 노던 블러바드 100
길 알랜
미국 01867-3959 매사추세츠주 리딩 헤더 드라이브 6
길 신시아 에이.
미국 01867-3959 매사추세츠주 리딩 헤더 드라이브 6
비에이라 페르난도 지.
미국 02114 매사추세츠주 보스턴 찰스 스트리트 #337 139에이

명 세 서

청구범위

청구항 1

CD40L에 결합하고, 경쇄 및 중쇄를 포함하는 단리된 항체로서,

(i) 상기 경쇄는 서열번호 1과 적어도 95%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고;

(ii) 상기 중쇄는 가변 중쇄 영역 및 Fc 영역을 포함하되,

a) 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 2와 적어도 95%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; 그리고

b) 상기 Fc 영역은 서열번호 3과 적어도 95%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하며, 상기 Fc 영역은 C11S, C14S 및 P23S로 이루어진 군으로부터 선택된 치환 중 하나 또는 이들의 조합을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 Fc 영역은 아미노산 치환 C5S를 더 포함하는, 단리된 항체.

청구항 3

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 1과 적어도 98%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역은 치환 T33W, S26D 또는 Q27E를 포함하지 않는, 단리된 항체.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역은 치환 R28K을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역은 아미노산 서열 ISCRASQRVSSSTYSYMH(서열번호 15), YASNLES(서열번호 16) 및 QHSWEIPPT(서열번호 17)를 포함하는, 단리된 항체.

청구항 7

제1항 또는 제2항에 있어서, 상기 경쇄 가변 영역은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 8

제1항 내지 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 2와 적어도 98%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 9

제1항 내지 제8항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 치환 T30H, Y33W 또는 S54N을 포함하지 않는, 단리된 항체.

청구항 10

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 치환 K74R을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 11

제1항 내지 제9항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 아미노산 서열 SYYMY(서열번호 18), EINPSNGDTNFNEKFKS(서열번호 19) 및 SDGRNDMDS(서열번호 20)를 포함하는, 단리된 항체.

청구항 12

제1항, 제2항 및 제7항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 중쇄 가변 영역은 상기 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 13

제1항에 있어서,

상기 경쇄 가변 영역은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고,

상기 중쇄 가변 영역은 상기 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하며; 그리고

상기 Fc 영역은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 14

제1항에 있어서,

상기 경쇄 가변 영역은 상기 서열번호 1의 아미노산 서열로 이루어지고;

상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어지며; 그리고

상기 Fc 영역은 서열번호 4의 아미노산 서열로 이루어지는, 단리된 항체.

청구항 15

제1항에 있어서,

상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고;

상기 중쇄 가변 영역은 상기 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함하며; 그리고

상기 Fc 영역은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 16

제1항에 있어서,

상기 경쇄 가변 영역은 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고;

상기 중쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함하며; 그리고

상기 Fc 영역은 서열번호 4의 아미노산 서열을 포함하는, 단리된 항체.

청구항 17

제1항에 있어서, 상기 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어지고, 그리고 상기 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진, 단리된 항체.

청구항 18

제1항에 있어서, 상기 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어지고, 그리고 상기 중쇄는 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진, 단리된 항체.

청구항 19

제1항에 있어서, 상기 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어지고, 그리고 상기 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진, 단리된 항체.

청구항 20

제1항에 있어서, 상기 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어지고, 그리고 상기 중쇄는 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진, 단리된 항체.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 37℃에서 적어도 12시간의 기간 동안 안정한, 단리된 항체.

청구항 22

제1항 내지 제21항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체는 면역원성을 감소시키도록 변형된, 단리된 항체.

청구항 23

CD40L-연관 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게 치료적 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체를 치료하는 방법.

청구항 24

신경변성 또는 신경근 질환 또는 장애; 염증성 또는 면역 질환 또는 장애; 또는 자가면역 질환을 갖는 대상체를 치료하는 방법으로서, 상기 대상체에게 치료적 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체를 치료하는 방법.

청구항 25

제24항에 있어서, 상기 질환 또는 장애는 전신 홍반성 루프스, 제1형 당뇨병, 중증 근무력증, 염증성 장 질환, 면역성 혈소판 감소성 자반증(immune thrombocytopenic purpura) 및 류마티스 관절염으로 이루어진 군으로부터 선택되는 자가면역 질환인, 대상체를 치료하는 방법.

청구항 26

제24항에 있어서, 상기 질환 또는 장애는 대장염, 약물 유발성 루프스 신장염, 이식편대숙주병, 이식 거부반응 및 죽상경화증으로 이루어진 군으로부터 선택된 염증성 또는 면역 질환 또는 장애인, 대상체를 치료하는 방법.

청구항 27

제24항에 있어서, 상기 질환 또는 장애는 알츠하이머병(Alzheimer's Disease), 파킨슨병(Parkinson's Disease), 근위축성 측삭 경화증(Amyotrophic Lateral Sclerosis), 다초점성 운동 신경병증(Multifocal Motor Neuropathy), 원발성 측삭 경화증(Primary Lateral Sclerosis), 척수성 근위축(Spinal Muscular Atrophy), 케네디병(Kennedy's Disease), 또는 척수소뇌 실조증(Spinocerebellar Ataxia)으로 이루어진 군으로부터 선택된 신경변성 장애, 신경근 장애인, 대상체를 치료하는 방법.

청구항 28

제27항에 있어서, 상기 장애는 근위축성 측삭 경화증인, 대상체를 치료하는 방법.

청구항 29

대상체에서 면역 반응 반응을 억제하는 방법으로서, 상기 대상체에게 치료적 유효량의 제1항 내지 제22항 중 어느 한 항에 따른 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체에서 면역 반응을 억제하는 방법.

청구항 30

제25항에 있어서, 상기 면역 반응은 이식편대숙주병, 또는 기관 이식 거부반응인, 대상체에서 면역 반응을 억제하는 방법.

청구항 31

제23항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 항체를 또 다른 치료제와 조합하여 투여하는, 대상체에서 면

역 반응을 억제하는 방법.

청구항 32

제31항에 있어서, 상기 항체를 CD28과 CD86 간의 상호작용을 차단하거나 또는 CD28과 CD80 간의 상호작용을 차단하는 화합물과 조합하여 투여하는, 대상체에서 면역 반응을 억제하는 방법.

청구항 33

제32항에 있어서, CD28과 CD86 간의 상호작용을 차단하거나 또는 CD28과 CD80 간의 상호작용을 차단하는 상기 화합물은 CTLA4-Ig 융합 단백질인, 대상체에서 면역 반응을 억제하는 방법.

청구항 34

제33항에 있어서, CD28과 CD86 간의 상호작용을 차단하거나 또는 CD28과 CD80 간의 상호작용을 차단하는 상기 화합물은 아바타셉트 또는 벨라타셉트 또는 갈릭시맙인, 대상체에서 면역 반응을 억제하는 방법.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원의 상호 참조**

[0002] 본 PCT 출원은 2015년 2월 3일자로 출원된 미국 가출원 62,111,261의 이익을 주장하며, 이의 개시 내용은 이의 전문이 참고로 포함된다.

[0003] **기술분야**

[0004] 항-CD40L 항체, 항체를 포함하는 조성물, 및 CD40L-관련 질환 또는 장애를 치료하기 위해서 이를 사용하는 방법.

[0005] **서열 목록**

[0006] 본 출원은 전자적으로 판독 가능한 포맷으로 본 명세서와 함께 제출된 서열 목록을 함유한다. 전자 서열 목록 파일은 2016년 2월 2에 생성되었고, "384897ST25.txt"로 명명되고, 32.6 KB의 크기를 갖는다. 전자 "384897ST25.txt" 파일의 서열 목록의 전문은 본 명세서에 참고로 포함된다.

배 경 기 술

[0007] CD40과 이의 리간드 CD40L의 상호작용은 면역 반응을 조절하는 데 중요한 역할을 한다. CD40에 대한 CD40L의 결합은 공자극 분자, 예컨대 CD80 및 CD86을 상향조절하는 CD40 경로의 활성화를 촉발한다. 단클론성 항체에 의한 CD40과 CD40L 간의 상호작용의 차단은 다양한 전임상 모델에서 자가면역성 및 이식편 거부의 예방을 유발하는 것으로 밝혀져 있다. 최근, 근위축성 측삭 경화증(amyotrophic lateral sclerosis)의 마우스 모델에서, CD40L로 안내되는 항체는 질환 발병을 지연시키고, 생존 및 질환의 발병을 연장시키는 것으로 밝혀졌다. (참고로 포함된 미국 특허 번호 8,435,514). 초기 임상 연구에서, 인간화된 항-CD40L 항체 hu5c8은 루프스를 갖는 환자 및 면역성 혈소판 감소성 자반증(immune thrombocytopenic purpura)을 갖는 환자에서 효능을 나타내었다. 그러나, hu5c8로 치료된 환자에서 혈전증의 사건은 실험을 중단시켰다. 추가로, *생체내* 및 전임상 동물 연구는 Fc와 Fc 수용체 FcγRIIa의 상호작용이 혈소판 활성화 및 응집을 야기하였고, 이것이 혈전 색전증 사건을 유발하였다는 것을 규명하였다. Fc 영역에 점 돌연변이를 도입하여 Fc 효과기 기능이 결여된 비글리코실화된(aglycosylated) 항-IC40L IgG1을 제조하는 것을 비롯하여, 면역글로불린 Fc 영역과 FcγRIIa의 상호작용을 감소 또는 제거하기 위해서 다양한 접근법이 행해지고 있다. 다른 접근법은 Fc 영역이 결여된 항체 또는 Fc 영역에서 다수의 아미노산 치환을 함유하는 항체의 단편을 사용한다. 항-CD40L 항체, hu5c8은 인간 환자에서 효능을 나타내었지만, 시중에는 항-CD40L 항체가 존재하지 않는다. 따라서, 혈소판 활성화 또는 응집을 야기하지 않지만, 안정하고 CD40L에 결합하는 인간에게 투여하기 위한 개선된 항-CD40L 항체가 필요하다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 미국특허공개공보 제2007/048300호

(특허문헌 0002) 미국특허공개공보 제2014/099317호

(특허문헌 0003) 미국등록특허 제7,547,438호

발명의 내용

[0009] 본 발명은 혈소판 응집, 및 수반되는 혈전증 위험을 감소 또는 제거하도록 조작된 Fc 도메인을 갖는, 인간 또는 비-인간 영장류에서 사용하기에 적합한 항-CD40L 항체를 제공한다. 본 발명의 일 양상에서, 본 발명은 마우스 항-인간 CD40L 항체 5c8의 인간화된 버전인 항체를 제공한다. 일 실시형태에서 본 발명의 항체는 인간 IgG1 컨센서스 프레임워크를 포함하며, 여기서 가변 경쇄 및 가변 중쇄는 5c8의 CDR 서열을 포함한다.

[0010] 본 발명의 일 양상은 CD40L에 결합하고, 경쇄 및 중쇄를 포함하는 단리된 항체이고, 여기서 (i) 경쇄는 서열번호 1과 적어도 95%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고; (ii) 중쇄는 중쇄 가변 영역 및 Fc 영역을 포함하고, 여기서 a) 중쇄 가변 영역은 서열번호 2와 적어도 95%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고; b) Fc 영역은 서열번호 3과 적어도 95%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 Fc 영역은 C11S, C14S 및 P23S로 이루어진 군으로부터 선택된 치환 중 하나 또는 이들의 조합을 포함한다. 임의로, Fc 영역은 추가의 아미노산 치환 C5S를 포함한다.

[0011] 본 발명의 또 다른 양상은 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명에 따른 항체를 투여하는 단계를 포함하는, CD40L-연관 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법이다. 본 발명의 일 실시형태는 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 단계를 포함하는, 신경변성 또는 신경근 질환 또는 장애; 염증성 또는 면역 질환 또는 장애; 또는 자가면역 질환을 갖는 대상체를 치료하는 방법이다. 본 발명의 또 다른 실시형태는 대상체에게 CD28과 CD86 간의 상호작용을 차단하거나 또는 CD28과 CD80 간의 상호작용을 차단하는 화합물과 조합하여 투여되는, 치료적 유효량의 본 발명에 따른 항체를 투여하는 단계를 포함하는, CD40L-연관 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법이다.

도면의 간단한 설명

[0012] 도 1a, 1b 및 1c는 hu5c8에 대한 중쇄 아미노산 서열(도 1a), JB5에 대한 중쇄 아미노산 서열 (도 1b) 및 JB5-K74R에 대한 중쇄 아미노산 서열(도 1c)을 나타낸 도면. 볼드체 유형으로 나타내어진 아미노산은 5c8에 대한 중쇄 서열과 JB5 및 JB5-K74R에 대한 중쇄 서열 사이에서 상이한 아미노산을 나타낸다.

도 2a 내지 도 2d는 JB5에 대한 경쇄 아미노산 서열(도 2a), JB5-R28K에 대한 경쇄 아미노산 서열(도 2b), hu5c8에 대한 Fc 영역 아미노산 서열(도 2c), 및 JB5에 대한 Fc 영역 아미노산 서열(도 2d)을 나타낸 도면. 볼드체 유형으로 나타내어진 아미노산은 5c8에 대한 경쇄 서열과 JB5-R28K에 대한 경쇄 서열 사이에서 상이한 아미노산, 및 hu5c8에 대한 Fc 영역과 JB5에 대한 Fc 영역 사이에서 상이한 아미노산을 나타낸다.

도 3은 JB5 항체(원, 점선), hu5c8 항체(사각형-실선), 및 대조군 CTLA4-IgG1(삼각형)의 인간 CD40L에 대한 상대적인 결합을 나타낸 그래프.

도 4는 인간 Fc 감마 수용체 단백질의 FCGR1A(원, 실선)(서열번호 22), FCGR2A(원, 점선)(서열번호 23), FCR3A(서열번호 24) 및 FCR3B(서열번호 25) 동형체에 대한 hu5c8 항체의 결합을 나타낸 그래프.

도 5는 JB5 항체가 인간 Fc 감마 수용체 단백질의 FCGR1A(서열번호 22), FCGR2A(서열번호 23), FCR3A(서열번호 24) 또는 FCR3B(서열번호 25) 동형체에 결합하지 않는 것을 나타낸 그래프.

도 6는 30℃에서 크기 배제 칼럼으로부터 실시된 JB5 항체에 대한 분석 크로마토그래피 용리 프로파일을 나타낸 도면.

도 7은 30℃에서 크기 배제 칼럼으로부터 실시된 hu5c8 항체에 대한 분석 크로마토그래피 용리 프로파일을 나타낸 도면.

도 8은 형광 활성화 세포 분류법(fluorescence activated cell sorting: FACS)에 의해서 평가되는 바와 같은, 처리되지 않은 혈소판 샘플(음성 대조군)에 대한 혈소판 활성화 마커 PAC1 항체의 결합을 나타낸 그래프.

도 9는 FACS에 의해서 평가되는 바와 같은, 항-PAC1 항체의 결합을 나타낸 그래프.

도 10은 FACS에 의해서 평가되는 바와 같은, 혈소판을 CD40L과 함께 인큐베이션시킨 후 혈소판에 대한 항-PAC1 항체의 결합을 나타낸 그래프.

도 11은 FACS에 의해서 평가되는 바와 같은, 혈소판을 CD40L과 hu5c8 항체의 면역 복합체와 함께 인큐베이션시킨 후 혈소판에 대한 항-PAC1 항체의 결합을 나타낸 그래프.

도 12는 FACS에 의해서 평가되는 바와 같은, 혈소판을 CD40L과 JB5 항체의 면역 복합체와 함께 인큐베이션시킨 후 혈소판에 대한 항-PAC1 항체의 결합을 나타낸 그래프.

도 13은 FACS에 의해서 평가되는 바와 같은, 혈소판을 CD40L과 hu5c8 $F(ab')_2$의 면역 복합체와 함께 인큐베이션시킨 후 혈소판에 대한 항-PAC1 항체의 결합을 나타낸 그래프.

도 14는 혈소판을 20μM의 ADP, 5㎍/ml의 CD40L, CD40L과 hu5c8의 면역 복합체, CD40L과 JB5 항체의 면역 복합체 또는 CD40L과 hu5c8 $F(ab')_2$의 면역 복합체와 함께 인큐베이션시킨 후 3명의 사람의 혈소판으로부터의 FACS 결과를 나타낸 산점도 그래프.

도 15는 항-CD40L 항체 JB5 및 hu5c8의 가변 경 영역 아미노산 서열(서열번호 1), 항-CD40L 항체 JB5 및 hu5c8의 가변 중 영역 아미노산 서열(서열번호 2), 항-CD40L 항체 hu5c8의 Fc 영역 아미노산 서열(서열번호 3), 항-CD40L 항체 JB5의 Fc 영역 아미노산 서열(서열번호 4), 항-CD40L 항체 JB5-R28K의 가변 경 영역 아미노산 서열(서열번호 5), 항-CD40L 항체 JB5-K74R의 가변 중 영역 아미노산 서열(서열번호 6), 및 항-CD40L 항체 JB5의 경쇄 아미노산 서열(서열번호 7)을 제공한 도면.

도 16은 항-CD40L 항체 JB5를 암호화하는 경쇄 합성 뉴클레오타이드 서열(서열번호 8)을 제공하고(대문자는 엑손을 나타내고, 소문자는 합성 유전자의 인트론 서열을 나타냄), 또한 항-CD40L 항체 JB5의 중쇄 아미노산 서열(서열번호 9)을 제공한 도면.

도 17은 항-CD40L 항체 JB5의 중쇄를 암호화하는 합성 핵산 서열(서열번호 10)을 제공한 도면(대문자는 엑손을 나타내고, 소문자는 합성 유전자의 인트론 서열을 나타냄).

도 18은 항-CD40L 항체 JB5-R28K의 아미노산 서열(서열번호 11), 항-CD40L 항체 JB5-R28K의 경쇄를 암호화하는 합성 핵산 서열(서열번호 12)을 제공하고(대문자는 엑손을 나타내고, 소문자는 합성 유전자의 인트론 서열을 나타냄), 또한 항-CD40L 항체 JB5-K74R의 중쇄 아미노산 서열(서열번호 13)을 제공한 도면.

도 19는 항-CD40L 항체 JB5-K74R의 중쇄를 암호화하는 합성 핵산 서열(서열번호 14)을 제공한 도면(대문자는 엑손을 나타내고, 소문자는 합성 유전자의 인트론 서열을 나타냄).

도 20은 항-CD40L 항체 JB5의 중쇄 및 경쇄의 CDR의 아미노산 서열(각각 서열번호 15 내지 20) 및 hu5C8 중쇄의 아미노산 서열(서열번호 21)을 제공한 도면.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0013] **정의**

[0014] "포함하다", "포함된", "포함하는", "함유하다", "함유하는" 등과 같은 용어는 미국 특허법에서 부여한 의미를 갖고; 이러한 용어는 포괄적이거나 개방성이고, 추가적인 언급되지 않은 요소 또는 방법 단계를 배제하지 않는다. "본질적으로 이루어진" 및 "본질적으로 이루어지다"와 같은 용어는 미국 특허법에서 이들에게 부여한 의미를 갖고; 이러한 용어는 청구된 발명의 기본적인 특징 및 신규 특징에 실질적으로 영향을 미치지 않는 추가적인 구성 성분 또는 단계의 포함을 허용한다. 용어 "이루어지다" 및 "이루어진"은 미국 특허법에서 이들에게 할당한 의미를 갖고; 이러한 용어는 폐쇄형이다.

[0015] 용어 "치료하다", "치료" 등은 치료학적 치료 및 예방 치료를 포함한다. 치료학적 치료는 치료하고자 하는 질환, 병태 또는 장애의 징후 또는 증상을 갖는 대상체의 치료이다. 예방 치료는 질환, 병태 또는 장애의 명시적인 징후를 나타내지 않는 질환, 병태 또는 장애에 취약한 대상체의 치료를 지칭한다. 따라서, 치료는 질병의 징후 또는 증상의 정체, 부분적이거나 전체적인 완화, 또는 감소를 유발할 수 있고, 구체적으로는 비제한적으로 생존 연장을 포함한다.

[0016] 약"은 일부 약간의 부정확성(값의 정확치에 일부 접근함; 그 값에 대략적으로 또는 타당하게 근접함; 거의)을

허용하는 언급된 수치 값을 나타낸다. "약"에 의해서 제공된 부정확성이 관련 기술 분야에서 이러한 일상적인 의미로 달리 이해되지 않는 경우, 본 명세서에서 사용되는 바와 같은 "약"은 그러한 파라미터의 일상적인 측정 방법 및 사용 방법으로부터 발생할 수 있는 적어도 변화를 나타낸다. 또한, 범위의 개시는 모든 값, 및 전체 범위 내의 추가의 분할된 범위의 개시 내용을 포함한다.

[0017] 접속사 "또는"의 사용은 "중 적어도 하나"와 상호 교환 가능하게 사용된다. 예를 들어: 조성물이 A 또는 B를 포함하는 경우, 방법은 A 및 B 중 적어도 하나를 포함해야 하지만, 또한 A 및 B 둘 모두를 포함할 수 있다. 마찬가지로, "A, B, C 또는 D"를 포함하는 조성물은 A, B, C 및 D의 군 중 적어도 하나를 포함해야 하지만, 또한 A, B, C 및 D 중 전부 또는 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0018] 아미노산 치환은 본래 아미노산, 명시된 서열에서의 아미노산의 위치 및 대체 아미노산이 식별되는 관습에 의해서 나타내어지고, 예를 들어 C11S는 폴리펩타이드 서열의 위치 11에서 시스테인이 세린으로 대체된 것을 나타낼 것이다.

[0019] "5c8"은 CD40L에 결합하고, 수탁 번호 HB10916을 갖는 ATCC로부터 입수 가능한 하이브리도마에 의해서 생산되고, 미국 특허 5,474,771에 기술된 마우스 항-인간 항체를 지칭한다. "hu5c8"은 5c8의 인간화된 버전을 지칭하며, 이의 서열은 문헌[Karpusas, et al., Structure vol. 9, pp 321-329, (2001)]에 개시되어 있다.

[0020] 폴리펩타이드 또는 아미노산 서열들 간의 % 일치성이 본 명세서에 언급되어 있다. 두 서열 간의 % 일치성은 갭의 수 및 각각의 갭(이것은 두 서열의 최적의 정렬을 위해서 도입될 필요가 있음)의 길이를 고려하여, 서열에 의해서 공유되는 동일한 위치의 수의 함수이다. 일치성은 "국지적인 일치성" 또는 "총괄적인 일치성"으로서 측정될 수 있다. 국지적인 일치성은 그러한 서열의 스트링들 간의 매치에 의해서 결정되는 바와 같은 폴리펩타이들 간의 서열 관련성 정도를 지칭한다. 총괄적인 일치성은 참조 폴리펩타이드의 전장과 비교한 폴리펩타이드의 서열 관련성 정도를 지칭한다. 달리 명시되지 않는 한, 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 일치성은 총괄적인 일치성을 의미한다. 본 개시 내용의 목적을 위해서, 총괄적인 일치성에 대한 백분율은 니들만(Needleman) 및 번치(Wunsch)((1970) J. Mol. (Biol. 48:444-453) 알고리즘을 사용하여, 12의 갭 페널티, 4의 갭 연장 페널티, 및 5의 프레임쉬프트 갭 페널티로 블라섬(Blossum) 62 스코어링 매트릭스를 사용하여 계산한다. 니들만 및 번취 알고리즘을 도입한 다수의 대중적인 사용 가능한 소프트웨어 프로그램, 예를 들어 GCG 소프트웨어 패키지의 GAP 프로그램이 존재한다.

[0021] CD40L은 CD154, gp39, T-BAM, 5c8 항원, 또는 TNF 관련 활성화 단백질(TRAP)로서 공지되어 있다.

[0022] **실시형태**

[0023] 본 발명은 CD40L-연관 질환 또는 장애를 갖는 환자를 치료하기 위한 치료학적 항-인간 CD40L 항체 및 본 발명의 항체의 사용 방법을 제공한다. 본 발명의 다양한 예시적인 실시형태가 제공되지만, 본 발명은 개시된 실시형태가 아니라 청구범위에 의해서 제한되고자 한다.

[0024] 발명의 일 양상에서, 본 발명은 혈소판 활성화를 예방하도록 변형된 Fc 도메인을 갖는, hu5c8의 가변 경쇄 및 가변 중쇄 CDR 서열을 갖는 인간 IgG1 컨센서스 프레임워크를 포함하는 항-CD40L 항체 hu5c8의 변형된 버전인 항체를 제공한다.

[0025] 표 1은 본 출원에 언급된 서열번호의 설명을 제공한다.

표 1

서열번호	서열의 설명
1	경쇄 가변 영역 아미노산 서열 (hu5c8 및 JB5)
2	중쇄 가변 영역 아미노산 서열 (hu5c8 및 JB5)
3	Fc 영역 아미노산 서열 (hu5c8)
4	JB5 Fc 영역 아미노산 서열
5	JB5-R28K 경쇄 가변 영역 아미노산 서열
6	JB5-K74R 중쇄 가변 영역 아미노산 서열
7	JB5 경쇄 아미노산 서열
8	JB5 경쇄 핵산 서열
9	JB5 중쇄 아미노산 서열
10	JB5 중쇄 핵산 서열
11	JB5-R28K 경쇄 아미노산 서열
12	JB5-R28K 경쇄 합성 유전자 핵산 서열
13	JB5-K74R 중쇄 아미노산 서열
14	JB5-K74R 중쇄 합성 유전자 핵산 서열
15	JB5 가변 경쇄 아미노산 서열의 CDR-1
16	JB5 가변 경쇄 아미노산 서열의 CDR-2
17	JB5 가변 경쇄 아미노산 서열의 CDR-3
18	JB5 가변 중쇄 아미노산 서열의 CDR-1
19	JB5 가변 중쇄 아미노산 서열의 CDR-2
20	JB5 가변 중쇄 아미노산 서열의 CDR-3
21	Hu5c8 중쇄 아미노산 서열

[0026]

[0027] 일 실시형태(실시형태 A)는 CD40L에 결합하고, 경쇄 및 중쇄를 포함하는 단리된 항체이고, 여기서 경쇄는 서열번호 1과 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96% 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98% 또는 적어도 99%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 경쇄 가변 영역을 포함하고, 중쇄는 가변 중쇄 영역 및 Fc 영역을 포함하고, 여기서 중쇄 가변 영역은 서열번호 2와 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, Fc 영역은 서열번호 3과 적어도 적어도 90%, 또는 적어도 91%, 또는 적어도 92%, 또는 적어도 93%, 또는 적어도 94%, 또는 적어도 95%, 또는 적어도 96%, 또는 적어도 97%, 또는 적어도 98%, 또는 적어도 99%의 서열 일치성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 여기서 Fc 영역은 C11S, C14S 및 P23S로 이루어진 군으로부터 선택된 치환 중 하나 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0028] 또 다른 실시형태(실시형태 B)는 실시형태 A에 따른 단리된 항체이며, 여기서 Fc 영역은 아미노산 치환 C5S를 추가로 포함한다.

[0029] 실시형태 A 및 B의 변경에서, 항체는 치환 T33W, S26D, 및 Q27E 중 어느 것도 포함하지 않는 경쇄 가변 영역을 포함한다.

[0030] 실시형태 A 및 B의 다른 변형에서, 경쇄 가변 영역은 치환 R28K를 포함한다.

[0031] 실시형태 A 및 B의 일부 변형에서, 중쇄 및 경쇄의 CDR은 표 2에 열거된 서열을 갖는다.

표 2

CDR1 경쇄	ISCRASQRVSSSTYSYMH(서열번호 15)
CDR2 경쇄	YASNLES(서열번호 16)
CDR3 경쇄	QHSWEIPPT(서열번호 17)
CDR1 중쇄	SYYMY(서열번호 18)
CDR2 중쇄	EINPSNGDTNFNEKFKS(서열번호 19)
CDR3 중쇄	SDGRNDMDS(서열번호 20)

[0032]

[0033] 실시형태 A 및 B의 추가의 다른 변형에서, 경쇄 가변 영역은 아미노산 서열 ICRRASQRVSSSTYSYMH(서열번호 15)를 포함한다. 추가로 다른 실시형태에서, 경쇄 가변 영역은 아미노산 서열 ICRRASQRVSSSTYSYMH(서열번호 15), 및 아미노산 서열 YASNLES(서열번호 16)와 QHSWEIPPT(서열번호 17) 중 하나 또는 둘 모두를 포함한다.

[0034] 실시형태 A 및 B의 일부 변형에서, 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함한다. 추가로 다른 실시형태에서 경쇄 가변 영역은 서열번호 1의 아미노산으로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어진다. 다른 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어진다. 추가의 다른 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열을 포함한다. 추가로 다른 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어진다. 추가의 다른 실시형태에서, 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0035] 실시형태 A 및 B의 다른 변형에서, 항체는 치환 T30H, Y33W, 또는 S54N 중 어느 것도 포함하지 않는 중쇄 가변 영역을 포함한다. 실시형태 A 및 B의 항체의 일부 실시형태에서, 경쇄 가변 영역은 치환 T33W, S26D, 및 Q27E 중 어느 것도 포함하지 않는다. 실시형태 A 및 B의 다른 변형에서, 경쇄 가변 영역은 치환 T33W, S26D, 및 Q27E 중 어느 것도 포함하지 않고, 중쇄 가변 영역은 치환 T30H, Y33W, 또는 S54N 중 어느 것도 포함하지 않는다.

[0036] 실시형태 A 및 B의 추가로 다른 변형에서, 중쇄 가변 영역은 치환 K74R을 포함한다. 일 실시형태에서 중쇄 가변 영역은 아미노산 서열 SYYMY(서열번호 18), EINPSNGDTNFNEKFKS(서열번호 19), 및 SDGRNDMDS(서열번호 20) 중 하나 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0037] 또 다른 실시형태에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열을 포함한다. 추가로 또 다른 실시형태에서 중쇄 가변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어진다. 추가의 또 다른 실시형태에서 중쇄 가변 영역은 서열번호 2의 아미노산 서열로 이루어진다. 일부 실시형태에서, 중쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열을 포함한다. 추가로 다른 실시형태에서 중쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열로 본질적으로 이루어진다. 추가의 다른 실시형태에서 중쇄 가변 영역은 서열번호 6의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0038] 본 발명의 일 실시형태는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 1의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0039] 본 발명의 또 다른 실시형태는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어지고, 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0040] 추가로 또 다른 실시형태는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄 가변 영역은 서열번호 5의 아미노산 서열을 포함하고, 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0041] 추가의 또 다른 실시형태는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어지고, 중쇄는 서열번호 9의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0042] 추가로 또 다른 실시형태는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 7의 아미노산 서열로 이루어지고, 중쇄는 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0043] 또 다른 실시형태는 단리된 항체이며, 여기서 경쇄는 서열번호 11의 아미노산 서열로 이루어지고, 중쇄는 서열번호 13의 아미노산 서열로 이루어진다.

[0044] 바람직한 실시형태에서, 본 발명의 항체는 37℃에서 적어도 12시간의 기간 동안 안정하다.

[0045] 또 다른 양상에서, 본 개시 내용은 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 단계를 포함하는

CD40L-연관 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법을 제공한다. 본 발명의 항체, 또는 이의 혼합물은 대상체에게 단일요법으로서 투여될 수 있는데, 단일요법이란 본 명세서에서 사용되는 바와 같이, 항체가 근본적인 질환 또는 장애의 치료가 제공되는 환자에게 투여되는 유일한 치료제인 것을 의미한다고 고려된다. 본 발명의 항체를 사용한 단일요법은 다른 약물의 투여를 배제하지 않는데, 다른 약물의 비제한적인 예는 근육 이완제, 비스테로이드성 항-염증성 약물, 진통제, 및 항우울제이다. 따라서, 본 발명의 다양한 실시형태에서, 본 발명의 항체 중 하나 또는 이의 혼합물은 근본적인 질환 또는 장애의 치료에 제공되는 유일한 치료제이다.

[0046] 본 발명의 항체, 또는 이의 혼합물은 다른 치료제와 조합하여 투여될 수 있다고 고려된다. "와 조합하여"라는 것은 치료제들을 상이한 시기에, 상이한 빈도로, 동시에 또는 단일 투여 형태로 조합하여 투여하는 것을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0047] 일 실시형태는 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 단계를 포함하는 신경변성 또는 신경근 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법이다. 신경변성 또는 신경근 질환 및 장애는 알츠하이머병(Alzheimer's Disease), 파킨슨병(Parkinson's Disease), 근위축성 측삭 경화증, 다초점성 운동 신경병증(Multifocal Motor Neuropathy), 원발성 측삭 경화증(Primary Lateral Sclerosis), 척수성 근위축(Spinal Muscular Atrophy), 케네디병(Kennedy's Disease), 및 척수소뇌 실조증(Spinocerebellar Ataxia)을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0048] 또 다른 실시형태는 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 단계를 포함하는 근위축성 측삭 경화증을 갖는 대상체를 치료하는 방법이다.

[0049] 본 발명의 일 실시형태는 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 단계를 포함하는 염증성 또는 면역 질환 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는 방법이다. 염증성 또는 면역 질환 및 장애는 대장염, 약물 유발성 루프스 신장염, 이식편대숙주병, 이식 거부반응 및 죽상경화증을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0050] 추가의 또 다른 실시형태는 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 단계를 포함하는 자가면역 질환을 갖는 대상체를 치료하는 방법이다. 자가면역 질환은 전신 홍반성 루프스, 제1형 당뇨병, 중증 근무력증, 염증성 장 질환, 면역성 혈소판 감소성 자반증 및 류마티스 관절염을 포함하지만 이에 제한되는 것은 아니다.

[0051] 추가로 또 다른 실시형태는 대상체에게 치료적 유효량의 본 발명의 항체를 투여하는 단계를 포함하는 대상체에서 면역 반응을 억제하는 방법이다. 일 실시형태에서 면역 반응은 이식편대숙주병이다. 또 다른 실시형태에서 면역 반응은 기관 이식 거부반응이다.

[0052] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 단일요법으로서 투여된다. 일 실시형태에서 항체는 JB5이고, 단일요법으로서 투여된다. 또 다른 실시형태에서 항체 JB5-K74R은 단일요법으로서 투여된다. 추가로 또 다른 실시형태에서 항체 JB5-R28K는 단일요법으로서 투여된다. 추가의 또 다른 실시형태에서 항체 JB5-R28K-K74R은 단일요법으로서 투여된다.

[0053] 본 발명에 따른 방법의 일부 실시형태에서, 항체는 또 다른 치료제와 조합하여 투여된다.

[0054] 일부 실시형태에서, 본 발명의 항체는 CD28과 CD86 간의 상호작용을 차단하거나 또는 CD28과 CD80 간의 상호작용을 차단하는 화합물과 조합하여 투여된다.

[0055] 일부 실시형태에서 CD28과 CD86 간의 상호작용을 차단하거나 또는 CD28과 CD80 간의 상호작용을 차단하는 화합물은 CTLA4-Ig 융합 단백질이다. 일 실시형태에서 D28과 CD86 간의 상호작용을 차단하거나 또는 CD28과 CD80 간의 상호작용을 차단하는 화합물은 아바타셉트 또는 벨라타셉트 또는 갈릭시맙이다.

[0056] **약제학적 조성물 및 투여 방법**

[0057] 상기 장애 중 임의의 것을 치료하기 위해서, 본 개시 내용의 방법에 따라서 사용하기 위한 약제학적 조성물은 1종 이상의 생리학적으로 허용 가능한 담체를 사용하여 종래의 방식으로 제형화될 수 있다. 약제학적으로 허용 가능한 담체는 부분적으로는 투여될 특정 조성물, 뿐만 아니라 조성물을 투여하는 데 사용되는 특정 방법에 의해서 결정된다. 따라서, 본 개시 내용의 방법에 유용한 화합물의 매우 다양한 적합한 제형이 존재한다(예를 들어, 문헌[Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th ed., Gennaro et al. Eds., Lippincott Williams and Wilkins, 2000] 참고).

[0058] 비경구 투여에 적합한 제형은 수성 또는 비수성 등장성 멸균 주사 용액을 포함하며, 이것은 항산화제, 완충제, 정균제 및 제형을 의도되는 수용자의 혈액과 등장성이 되도록 하는 용질, 및 현탁제, 가용화제, 증점제, 안정제

및 보존제를 포함할 수 있는 수성 및 비수성 멸균 현탁물을 포함한다.

[0059] 본 개시 내용에 따라서 화합물은 임의의 적합한 수단에 의해서 투여될 수 있는데, 이는 치료하고자 하는 장애의 유형 및 화합물 자체의 본성에 따라서 달라질 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 항체의 경우, 투여 경로는 바람직하게는 비경구, 예를 들어 근육내, 정맥내, 동맥내, 복강내 또는 피하를 포함한다. 바람직하게는, 비경구 투여는 주사, 가장 바람직하게는 정맥내, 근육내 또는 피하 주사에 의해서 제공된다. 투여될 양은 다양한 인자, 예컨대 임상적인 증상, 개체의 체중 및 다른 약물의 투여 여부에 좌우될 것이다. 적절한 투여 형태, 투여량 및 투여 경로의 결정은 약제학적 분야 및 의학 분야의 통상의 기술자의 수준 이내이다.

[0060] **실시예**

[0061] 하기 실시예는 본 발명의 항체를 제조 및 시험하는 방법을 설명한다. 일반적으로 분자 생물학 및 면역학 분야에서 접하는 기술된 조건 및 파라미터의 적합한 변형 및 개작은 관련 기술 분야의 통상의 기술자에게 자명할 것이다.

[0062] **실시예 1: 항체 생산**

[0063] 본 발명의 항체를 생산하기 위해서, 포유동물 세포, 예컨대 중국 햄스터 난소(Chinese Hamster Ovary: CHO) 세포에서의 발현에 적합하도록 목적하는 항체의 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 핵산 서열을 설계하였다. 이어서, 핵산을 인공적으로 합성하고, 표준 분자 생물 기술을 사용하여 항체 발현 벡터 BPJPuro 내에서 결찰하였다. BPJPuro는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포에서 면역글로불린의 선택적이고 안정한 발현에 최적화된 이중 유전자 포유동물 발현 벡터이다. 이어서 벡터를 CHO 세포 내로 형질감염시키고, 안정한 형질감염체를 선택하였다.

[0064] JB5 항체의 생산

[0065] 서열번호 9의 아미노산 서열을 갖는 중쇄를 암호화하는 핵산(서열번호 10), 및 서열번호 7의 아미노산 서열을 갖는 경쇄를 암호화하는 핵산(서열번호 8)을 합성하고, 항체 발현 벡터 BPJPuro 내에서 결찰하였다.

[0066] 중쇄 및 경쇄를 암호화하는 생성된 발현 벡터를 리포좀 매개 형질감염을 사용하여 CHO주(line)(CHO SA, 셀렉티스 에스에이(Cellectis SA), 프랑스 파리 소재) 내로 형질감염시켰다. 프로마이신 선택에 의해서 안정한 형질감염체를 단리하고, 서브클로닝하여 클론 세포주를 제공하였다. 후보물질 세포주를 무혈청 현탁 배양에 적응시키고, IgG 생산 및 강한 성장에 대해서 스크리닝하였다. 세포주 중 하나를 선택하고, JB5라 명명하였고, 그 세포주를 파일럿 스케일 생물반응기에서 배양하고, 순차적인 농축, 단백질 A/G 친화도 크로마토그래피, 및 크기 배제 크로마토그래피에 의해서 컨디셔닝된 배지로부터 항체 JB5를 정제하였다.

[0067] **실시예 2: CD40L 결합 검정법**

[0068] 3 부품 샌드위치 ELISA 검정법을 사용하여 모 항체 hu5c8에 대한 JB5 항체의 결합 속도론을 측정하였다. PBS 250㎕의 3회 세척을 사용하여 모든 세척을 수행하였다. 96-웰 폴리스티렌 플레이트를 100㎕/웰의 JB5 또는 hu5c8 항체(2㎍/ml)를 사용하여 16시간 동안 4℃에서 코팅하였다. 플레이트를 세척하고, 이어서 2% 소 혈청 알부민/PBS로 1시간 동안 실온에서 차단하였다. 플레이트를 세척하고, 재조합 인간 CD40L 단백질(산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology), 미국 캘리포니아주 산타 크루즈 소재)을 2000ng/ml에서 출발하여 2-배 희석까지 적정하여 플레이트에 첨가하였다. 결합 및 세척 후에, 결합된 CD40L 단백질을 100㎕의 비오티닐화된 염소 항-인간 CD40L 다클론성 항체(200ng/ml) 및 100㎕의 스트렙타비딘-호스래디쉬(horseradish) 퍼옥시다제 접합체를 100ng/ml로 사용하여 검출하였다. 크로마젠(chromagen) TMB(3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘) 및 450nm에서의 흡수의 분광광도계 분석법을 사용하여 비색계 검출을 수행하였다. 생성된 결합 곡선(도 3)은 JB5(원)가 모 항체 항체 hu5c8(사각형)과 비교하여 상당히 유사한 CD40L 결합을 갖는 것을 나타낸다. JB5와 동일한 Fc 도메인을 갖는 대조군 단백질 CTLA4-IgG1(삼각형)은 어떠한 유의한 결합도 나타내지 않았다. hu5c8 및 JB5에 대한 EC50 계산치는 각각 114 및 137nM이었다. JB5-R28K 및 JB5-K74R은 JB5의 결합과 유사한 결합을 나타내었다.

[0069] **실시예 3: Fc 감마 수용체 결합 검정법**

[0070] hu5c8/인간 Fc 감마 수용체 결합 검정법

[0071] 고체상 ELISA 결합 검정법을 수행하여 모 hu5c8 항체에 대한 4종의 인간 Fc 감마 수용체 동형체의 결합 수준을 측정하였다. 100㎕/웰의 hu5c8 항체(인산염 완충 염수 중의 2㎍/ml)를 96 웰 폴리스티렌 플레이트의 웰에 넣고, 16시간 동안 4℃에서 인큐베이션시켰다. 플레이트를 차단하고, 재조합 인간 Fc 감마 수용체(FCGR) 단백질(산타

크루즈 바이오테크놀로지, 미국 캘리포니아주 산타 크루즈 소재)을 5㎍/ml의 출발 농도로 2-배 희석까지 적정하였다. 하기와 같은 4종의 재조합 FCGR 동형체를 별개로 시험하였다: FCGR1A(CD64)(서열번호 22), FCGR2A(CD32)(서열번호 23), FCGR3A(CD16a)(서열번호 24), FCGR3B(CD16b)(서열번호 25). 결합 및 세척 후, 적절한 FCGR 동형체 특이적인 뮤린(murine) 단클론성 항체(1000ng/ml) 및 호스래디쉬 퍼옥시다제 접합체 염소 항-마우스 IgG 검출자 항체를 사용하여 FCGR을 검출하였다. 크로마젠 TMB(3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘) 및 450nm에서의 흡수의 분광광도계 분석법을 사용하여 비색계 검출을 수행하였다. 생성된 결합 곡선(도 4)은 모 hu5c8 항체가 높은 친화도로 활성화된 혈소판 상에서 발현되는 높은 친화도 FCGR1A(원, 실선) 수용체(서열번호 22) 및 FCGR2A 수용체(원, 점선)(서열번호 23)에 결합한다는 것을 예증한다. hu5c8 항체는 FCR3A(서열번호 24) 또는 FCR3B(서열번호 25) 동형체에 대해서는 어떤 결합도 나타내지 않았다.

[0072] JB5-인간 Fc 감마 수용체 결합 검정법

[0073] 고체상 결합 검정법을 사용하여 돌연변이 JB5 항체에 대한 인간 Fc 감마 수용체 동형체의 결합을 시험하였다. 100㎕/웰의 JB5(인산염 완충 염수 중의 2㎍/ml)를 16시간 동안 96 웰 폴리스티렌 플레이트 상에 코팅하였다. 플레이트를 차단하고, 재조합 인간 Fc 감마 수용체(FCGR) 단백질(산타 크루즈 바이오테크놀로지, 미국 캘리포니아주 산타 크루즈 소재)을 5㎍/ml의 출발 농도로 2-배 희석까지 적정하였다. 하기와 같은 4종의 재조합 FCGR 동형체를 별개로 시험하였다: FCGR1A(CD64)(서열번호 22), FCGR2A(CD32)(서열번호 23), FCGR3A(CD16a)(서열번호 24), FCGR3B(CD16b)(서열번호 25). 결합 및 세척 후, 적절한 FCGR 동형체 특이적인 뮤린 단클론성 항체(1000ng/ml) 및 호스래디쉬 퍼옥시다제 접합체 염소 항-마우스 IgG 검출자 항체를 사용하여 FCGR을 검출하였다. 크로마젠 TMB(3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘) 및 450nm에서의 흡수의 분광광도계 분석법을 사용하여 비색계 검출을 수행하였다. 생성된 결합 곡선(도 5)은 이러한 검정법에서, JB5 항체가 활성화된 혈소판 상에서 발현되는 높은 친화도 FCGR1A 수용체(서열번호 22)와 FCGR2A 수용체(서열번호 23) 모두에 결합하지 않는다는 것을 예증한다. 모 hu5c8 항체와 마찬가지로, FCGR3A(서열번호 24) 또는 FCGR3B(서열번호 25)에 대해서는 어떤 결합도 관찰되지 않았다.

[0074] **실시예 4: 22℃ 및 37℃에서의 JB5의 안정성**

[0075] JB5는 야생형 IgG1 항체에서 다이설파이드 연결 중 3개가 결여되어 있기 때문에, 항체가 안정한지, 즉 사량체의 완전 무손상(intact) 항체로서 존재하는지를 측정하기 위해서 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 JB5를 시험하였다. 3개의 다이설파이드 연결을 갖는 Hu5c8을 대조군으로서 사용하였다.

[0076] 2회의 실험을 수행하였고, 각각 JB5를 hu5c8과 비교하였다. 제1 실험에서, 크로마토그래피 전 및 그 동안 항체를 실온(22℃)에 놓았다. *생체내* 조건을 모의실험하기 위해서, 제2 실험에서 30℃에서의 크로마토그래피 이전에 항체를 인간 혈장 중에서 37℃에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. PBS 중의 20 마이크로그램의 JB5 또는 hu5c8을 프리-칼럼 필터 TSK젤 가드(TSKgel Guard) SW xl, (6.0mm x 4.0cm, 7㎛ 비드 칼럼)이 장치된 TSK 젤 G3000SW(7.8mm x 30cm, 5㎛ 비드 칼럼)(토소 바이오사이언스(Tosoh Bioscience), 미국 펜실배니아주 킹 오브 프러시아 소재) 내에 주사하였다. 이동상은 PBS였고, 용리 속도는 1.0mL/분이었고, 흡광도는 280nm에서 측정하였다. 22℃ 및 30℃ 둘 모두에서, JB5는 분자량 관찰치 183kDa(도 6)을 가졌고, hu5c8(도 7)은 사량체성 2가 형태인 항체와 일치하는 164kDa의 MW를 가졌다. hu5c8 항체와 JB5 간의 관찰치 19 kDa 차이는 JB5의 Fc 도메인의 증가된 글리코실화로 인한 것일 수 있다.

[0077] **실시예 5: 혈소판 활성화의 제거**

[0078] CD40L 면역 복합체 매개 혈소판 활성화에 대한 JB5의 효과를 측정하기 위해서, 항체를 혈소판 세포 표면 마커 단백질 PAC-1을 유도하는 이의 능력에 대해서 검정하였다. 전혈을 건강한 지원자로부터 3.2%의 Na 시트레이트 튜브에 채혈하고, 처음 2ml는 폐기하였다. 15분 동안 120g에서 원심분리하여 혈소판 풍부 혈장을 제조하고, 인산염 완충 염수를 사용하여 혈소판수를 $1x10^5$세포/ml로 정규화하였다. 실온에서 15분 동안 예비인큐베이션시킴으로써 재조합 인간 CD40L(산타 크루즈 바이오테크놀로지, 미국 캘리포니아주 산타 크루즈 소재)과 시험 항체 hu5c8, JB5, 및 hu5c8 $F(ab')_2$의 면역 복합체를 3:1(0.6944나노몰(nmole) CD40L:0.2315나노몰 항체)의 CD40L:항체 몰비로 제조하였다. 면역 복합체 혼합물을 정규화된 PBS/혈소판 용액 중에서 5㎍/ml CD40L의 최종 농도로 희석하고, 37℃에서 30분 동안 인큐베이션시켰다. 음성 대조군은 처리되지 않은 혈소판 및 CD40L 단독이었다. 정규화된 PBS-혈소판 용액 중의 20마이크로몰의 최종 농도로 ADP를 첨가함으로써 혈소판 활성화 양성 대조군을 제조하였다. 30분 인큐베이션시킨 후, 항-인간 PAC-1-FITC 접합된 항체를 모든 샘플에 첨가하고, 15분 동안 인큐베이션시켰다. 샘플을 2% 파라폼알데하이드:PBS 완충제 중에 1:1로 희석하고, 얼음 상에서 30분 동안 고정화

시키고, 100g에서, 5분 동안 원심분리하여 세포를 펠렛화하였다. 세포를 PBS 중에 재현탁하였다. 형광 활성화 세포 분류법(FACS)을 구아바 이지사이트 유세포 분석기(Guava easyCyte flow cytometer)(이엠디 밀리포어, 인코퍼레이티드(EMD Millipore, Inc.), 미국 매사추세스주 빌러리카 소재) 상에서 수행하였다. 플로우조(FlowJo) 소프트웨어(플로우조, 엘엘씨(FlowJo, LLC), 미국 오레온주 애쉬랜드 소재)를 사용하여 입수-후 분석을 수행하였다.

[0079] 처리되지 않은 혈소판 대조군 샘플을 사용하여 음성 및 양성 PAC-1 활성화 게이트(도 8)를 설정하였다. 20마이크로몰의 ADP로 활성화된 혈소판은 PAC-1 세포 표면 발현에서 유의한 증가를 가졌다(도 9). 공개된 관찰과 일치하게(예를 들어, 문헌[Mirabet, M., et al., *Molecular Immunology* 45, 937-944 (2008)] 참고), CD40L 단독은 낮은 수준에서 혈소판을 활성화시킬 수 있었다(도 10). 이러한 활성화는 CD40L은 hu5c8 항체와 함께 면역 복합체로서 존재하는 경우 상당히 증가되었다(도 11). 이에 반해서, CD40L과 복합된 조작된 항체 JB5는 매우 낮은 수준의 혈소판 활성화를 예증하였다(도 12). 이러한 CD40L:JB5 면역 복합체의 활성화 가능성 감소는 FcR 상호작용의 손실에 의해서 매개되는데, 그 이유는 hu5c8 F(ab')2:CD40L 면역 복합체(도 13) 또한 hu5c8-IgG1:CD40L 면역 복합체(도 11)에 비해서 혈소판을 활성화시키지 않았기 때문이다. 도 14은 혈소판을 20μM의 ADP, 5μg/ml의 CD40L, CD40L과 hu5c8의 면역 복합체, CD40L과 JB5 항체의 면역 복합체 또는 CD40L과 hu5c8 $F(ab')_2$의 면역 복합체와 함께 인큐베이션시킨 후 3명의 사람의 혈소판으로부터의 혈소판 활성화 결과를 나타낸다. JB5 면역 복합체는 CD40L과 hu5c8 $F(ab')_2$ 혈소판의 면역 복합체와 비교할 경우 유의한 혈소판 활성화를 나타내지 않았다($p < 0.34$(짝지워지지 않은 T 시험, 2 테일드(tailed); t=1.013, df=4). 추가로, JB5 면역 복합체는 hu5c8 면역 복합체와 비교할 경우 유의하게 더 낮은 혈소판 활성화를 나타내었다($p < 0.005$(짝지워지지 않은 T 시험, 2 테일드; t=5.586, df=4).

[0080] 본 개시 내용의 다수의 실시형태가 기술되어 있지만, 기본적인 실시예를 관련 기술 분야의 통상의 기술자가 변경하여 본 발명의 방법 및 공정을 사용 또는 포함하는 다른 실시양태를 제공할 수 있다는 것은 자명하다. 실시형태 및 실시예는 설명의 목적을 위함이고, 본 개시 내용을 제한하는 것으로서 해석되지 않아야 하고, 오히려 첨부된 청구범위가 본 발명의 범주를 한정한다.

도면

도면1a

중쇄 hu5c8(서열번호 21)

QVQLVQSGAE VVKPGASVKL SCKASGYIFT SYYMYWVKQA PGQGLEWIGE
INPSNGDTNF NEKFKSKATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCTRSD
GRNDMDSWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY
FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI
CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS VFLFPPKPKD
TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST
YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY
TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD
SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK

도면1b

중쇄 JB5(서열번호 9)

QVQLVQSGAE VVKPGASVKL SCKASGYIFT SYYMYWVKQA PGQGLEWIGE
INPSNGDTNF NEKFKSKATL TVDKSASTAY MELSSLRSED TAVYYCTRSD
GRNDMDSWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY
FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI
CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS **S**DKTHT**S**PP**S** PAPELLGG**S**S VFLFPPKPKD
TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST
YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY
TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD
SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK

도면1c

중쇄 JB5-K74R(서열번호 13)

QVQLVQSGAE VVKPGASVKL SCKASGYIFT SYYMYWVKQA PGQGLEWIGE
INPSNGDTNF NEKFKSKATL TVD**R**SASTAY MELSSLRSED TAVYYCTRSD
GRNDMDSWGQ GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY
FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI
CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS **S**DKTHT**S**PP**S** PAPELLGG**S**S VFLFPPKPKD
TLMISRTPEV TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST
YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY
TLPPSRDELT KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTPPVLD
SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK

도면2a

경쇄 JB5(서열번호 7)

DIVLTQSPAT LSVSPGERAT ISCRASQRVS SSTYSYMHWY QQKPGQPPKL
LIKYASNLES GVPARFSGSG SGTDFTLTIS SVEPEDFATY YCQHSWEIPP
TFGGGTKLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV
THQGLSSPVT KSFNRGEC

도면2b

경쇄 JB5-R28K(서열번호 11)

DIVLTQSPAT LSVSPGEKAT ISCRASQ**K**VS SSTYSYMHWY QQKPGQPPKL
LIKYASNLES GVPARFSGSG SGTDFTLTIS SVEPEDFATY YCQHSWEIPP
TFGGGTKLEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLS STLTLSKADY EKHKVYACEV
THQGLSSPVT KSFNRGEC

도면2c

hu5c8 의 Fc 영역(서열번호 3)

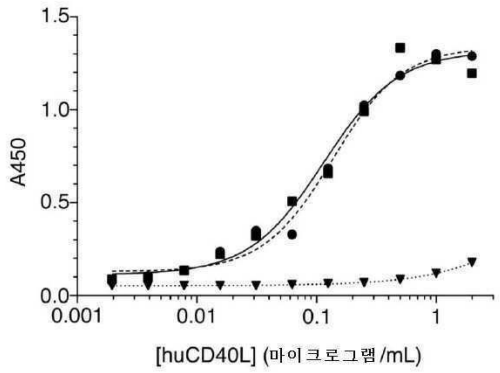
EPKSCDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD
VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN
GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL
TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS
RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK

도면2d

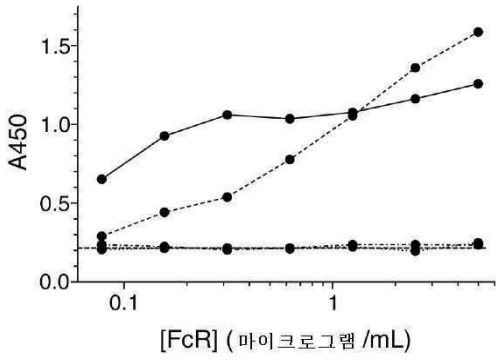
JB5 의 Fc 영역(서열번호 4)

EPKS**S**DKTHT **S**PP**S**PAPELL GG**S**SVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD
VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN
GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL
TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS
RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK

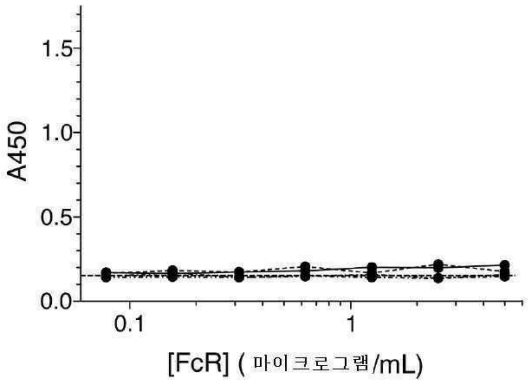
도면3



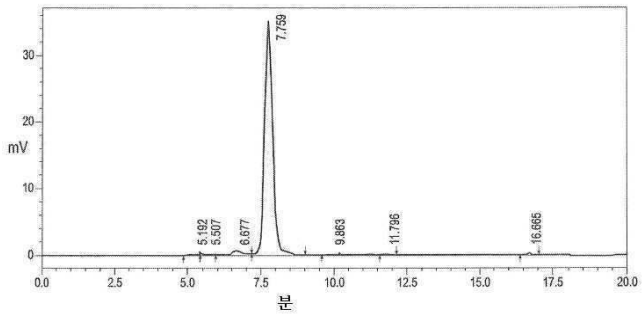
도면4



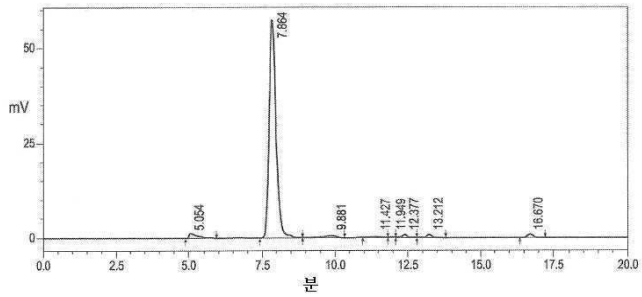
도면5


A450
1.5
1.0
0.5
0.0
0.1
1
[FcR] (마이크로그램/mL)

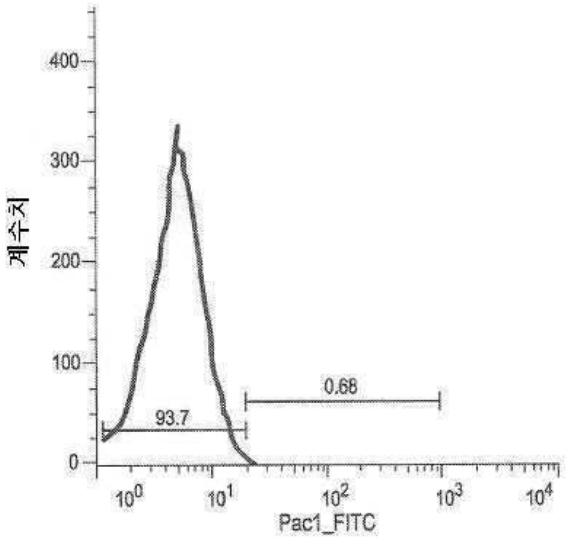
도면6


mV
30
20
10
0
7.759
5.192
5.507
6.677
9.863
11.796
16.666
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
12.5
15.0
17.5
20.0
분

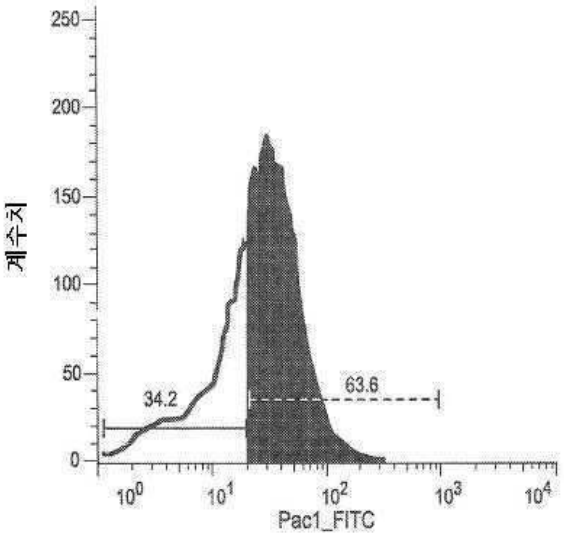
도면7


mV
50
25
0
7.864
5.054
9.881
11.427
11.949
12.377
13.212
16.670
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
12.5
15.0
17.5
20.0
분

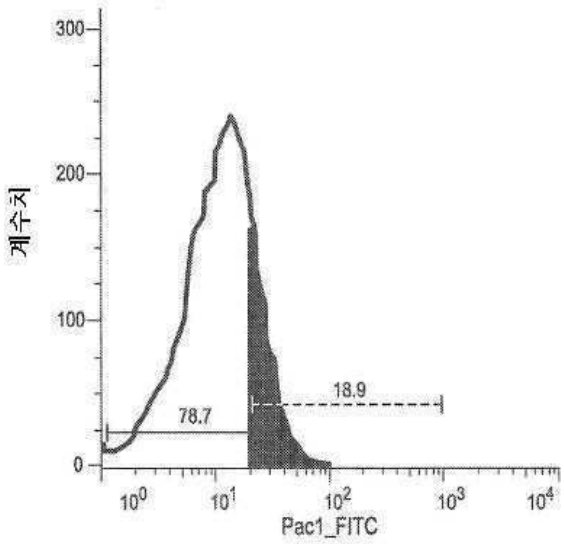
도면8


400
300
200
100
0
계수치
93.7
0.68
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
Pac1_FITC

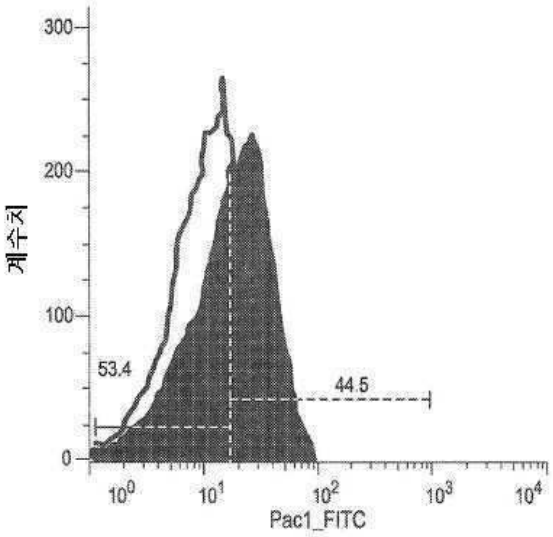
도면9


250
200
150
100
50
0
계수치
34.2
63.6
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
Pac1_FITC

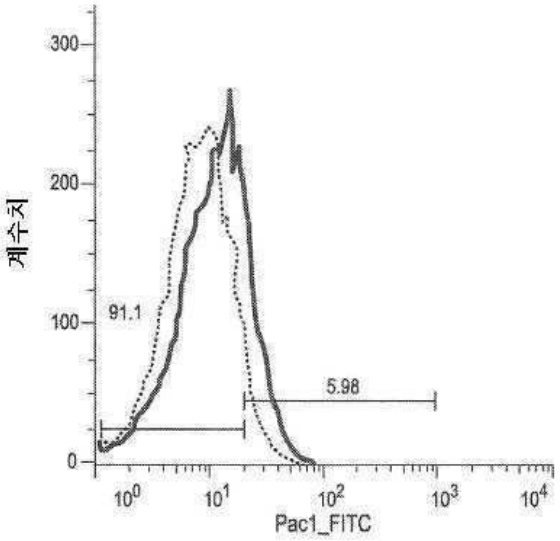
도면10


300
200
100
0
계수치
78.7
18.9
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
Pac1_FITC

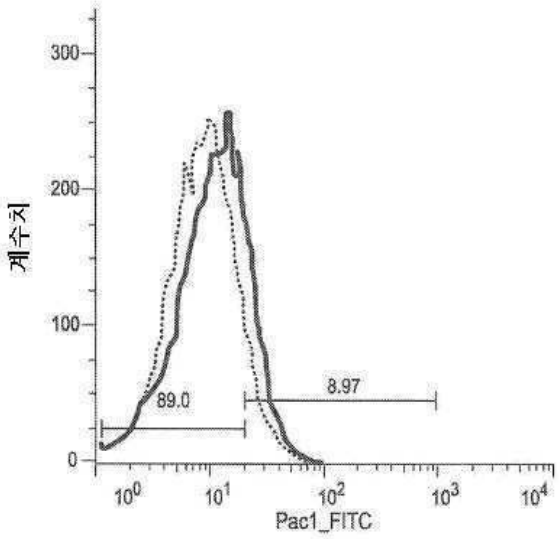
도면11


300
200
100
0
계수치
53.4
44.5
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
Pac1_FITC

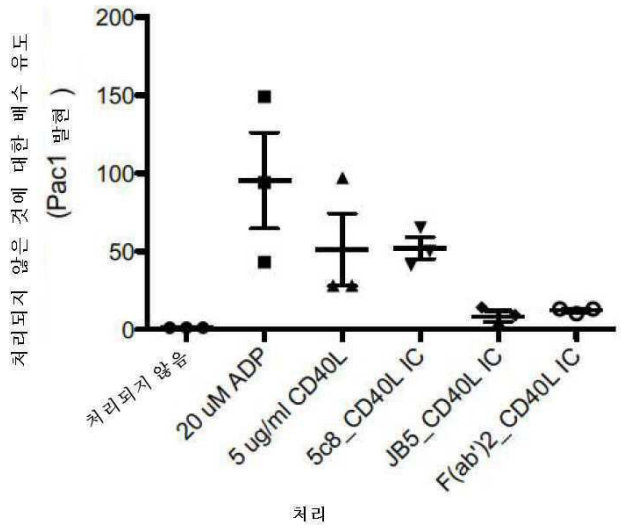
도면12


300
200
100
0
계수치
91.1
5.98
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
Pac1_FITC

도면13


300
200
100
0
계수치
89.0
8.97
10^0
10^1
10^2
10^3
10^4
Pac1_FITC

도면14



도면15

서열 번호	설명	서열
1	hu5c8 및 JB5 VL 영역	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIK
2	hu5c8 및 JB5 VH 영역	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSS
3	Fc 영역	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
4	JB5 Fc 영역	EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
5	JB5-R28K VL 영역	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQKVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIK
6	JB5-K74R VH 영역	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDRSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSS
7	JB5 경쇄 아미노산 서열	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC

도면16

서열번호	설명	서열
8	JB 경쇄 뉴클레오타이드 서열	GACATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCCCCCGGCG A GAGGGCCACCATCTCCTGCAGGGCCTCCCAGAGGGTGTCCTCCTCCACC T ACTCCTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCT G CTGATCAAGTACGCCTCCAACCTGGAGTCCGGCGTGCCCGCCAGGTTCT C CGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAG C CCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTCCTGGGAGATCCCCCC C ACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGgaaatcaaaCGTACGGTGGCTGCAC C ATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACT G CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGT A CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTG T CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTG A CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGT C ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAG A GTGTTAGTGA
9	JB5 중쇄 아미노산 서열	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG E INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRS D GRNDMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKD Y FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTY I CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPK D TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS T YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQV Y TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVL D SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면17

서열번호	설명	서열
10	JB5 중쇄 핵산 서열	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGGTGAAGCCCGGCGCCTC CGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATCTTCACCTCCTACTACA TGTACTGGGTGAAGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAG ATCAACCCCTCCAACGGCGACACCAACTTCAACGAGAAGTTCAAGTCCAA GGCCACCCTGACCGTGGACAAGTCCGCCTCCACCGCCTACATGGAGCTGT CCTCCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGGTCCGAC GGCAGGAACGACATGGACTCCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTC CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCAGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGg *tgagaggccagcacagggagggagggtgtctgctggaagccaggctcagc* *gctcctgcctggacgcatcccggctatgcagccccagtccagggcagcaa* *ggcaggccccgtctgcctcttcaccggaggcctctgcccgccccactca* *tgctcagggagagggtctttctggctttttccccaggctctgggcaggcac* *aggctaggtgcccctaacccaggccctgcacacaaaggggcaggtgctgg* *gctcagacctgccaagagccatatccgggaggaccctgccctgacctaa* *gcccaccccaaaggccaaactctccactccctcagctcggacaccttctc* *tcctcccagattccagtaactcccaatcttctctctgcag*AGCCCAAATC TAGTGACAAAACTCACACAAGCCCACCGAGCCCAGgtaagccagcccagg *cctcgccctccagctcaaggcgggacaggtgccctagagtagcctgcatc* *cagggacaggccccagccgggtgctgacacgtccacctccatctcttcct* *cag*CACCTGAACTCCTGGGGGGATCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGgtgggacccgtgggggtg *cgagggccacatggacagaggccggctcggcccaccctctgccctgagag* *tgaccgctgtaccaacctctgtccctacag*GGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA *taatga*

도면18

서열번호	설명	서열
11	JB5-R28K 경쇄 아미노산 서열	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQKVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPKL LIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEIPP TFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKV QWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEV THQGLSSPVTKSFNRGEC
12	JB5-R28K 경쇄 핵산 서열	GACATCGTGCTGACCCAGTCCCCCGCCACCCTGTCCGTGTCCCCCGGCGA GAGGGCCACCATCTCCTGCAGGGCCTCCCAGAAGGTGTCCTCCTCCACCT ACTCCTACATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCCGGCCAGCCCCCCAAGCTG CTGATCAAGTACGCCTCCAACCTGGAGTCCGGCGTGCCCGCCAGGTTCTC CGGCTCCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGACCATCTCCTCCGTGGAGC CCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCACTCCTGGGAGATCCCCCCC ACCTTCGGCGGCGGCACCAAGCTGgaaatcaaaCGTACGGTGGCTGCACC ATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAACTG CCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTA CAGTGGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCTGA CGCTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTC ACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGA GTGTTAGTGA
13	JB5-K74R 중쇄 아미노산	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIGE INPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDRSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRSD GRNDMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI CNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLD SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

도면19

서열번호	설명	서열
14	JB5-K74R 중쇄 핵산 서열	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGCGCCGAGGTGGTGAAGCCCGGCGCCTC CGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCCTCCGGCTACATCTTCACCTCCTACTACA TGTACTGGGTGAAGCAGGCCCCCGGCCAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAG ATCAACCCCTCCAACGGCGACACCAACTTCAACGAGAAGTTCAAGTCCAA GGCCACCCTGACCGTGGACAGGTCCGCCTCCACCGCCTACATGGAGCTGT CCTCCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCACCAGGTCCGAC GGCAGGAACGACATGGACTCCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTC CTCCGCTAGCACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTCCA AGAGCACCTCTGGGGGCACAGCAGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTAC TTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGAACTCAGGCGCCCTGACCAGCGG CGTGCACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCTCAGGACTCTACTCCCTCA GCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATC TGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTG*gt gagaggccagcacagggagggagggtgtctgctggaagccaggctcagc gctcctgcctggacgcatccccggctatgcagccccagtccagggcagcaa ggcaggccccgtctgcctcttcaccccggaggcctctgccccgccccactca tgctcagggagagggtcttctggctttttccccaggctctgggcaggcac aggctaggtgcccctaacccaggccctgcacacaaaggggcaggtgctgg gctcagacctgccaagagccatatccgggaggaccctgcccctgacctaa gcccaccccaaaggccaaactctccactccctcagctcggacacctttct cctccccagattccagtaactcccaatcttctctctgcag*AGCCCAAATC TAGTGACAAAACTCACACAAGCCCACCGAGCCCAG*gtaagccagcccagg cctcgccctccagctcaaggcgggacaggtgccctagagtagcctgcatc cagggacaggccccagccgggtgctgacacgtccacctccatctcttcct cag*CACCTGAACTCCTGGGGGGATCCTCAGTCTTCCTCTTCCCCCCAAAA CCCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGT GGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGG ACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTAC AACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACCAGGACTG GCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCAG CCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCAAAG*gtgggacccgtgggggtg cgagggccacatggacagaggccggctcggcccaccctctgccctgagag tgaccgctgtaccaacctctgtccctacag*GGCAGCCCCGAGAACCACAG GTGTACACCCTGCCCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTCAG CCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGT GGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTG CTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAA GAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGG CTCTGCACAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCCGGGTAAA *taatga*

도면20

서열번호	설명	서열
15	JB5 CDR-L1	ISCRASQRVSSSTYSYMH
16	JB5 CDR-L2	YASNLES
17	JB5 CDR-L3	QHSWEIPPT
18	JB5 CDR-H1	SYYMY
19	JB5 CDR-H2	EINPSNGDTNFNEKFKS
20	JB5 CDR-H3	SDGRNDMDS
21	Hu5c8 중쇄	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> ALS THERAPY DEVELOPMENT INSTITUTE

<120> ANTI-CD40L ANTIBODIES AND METHODS FOR TREATING CD40L-RELATED DISEASES OR DISORDERS

<130> 224823-384897

<150> PCT/US2016/016165

<151> 2016-02-02

<150> 62/111,261

<151> 2015-02-03

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 1

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser

20 25 30

Thr Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Val Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Trp

85 90 95

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

100 105 110

<210> 2

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 2

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Asp Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Ser Asp Gly Arg Asn Asp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 3

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 3

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 4

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 4

Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

195 200 205

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

210 215 220

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys

225 230

<210> 5

<211> 111

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 5

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15
Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Lys Val Ser Ser Ser

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

85 90 95
Glu Ile Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 6

<211> 118

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 6

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

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

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

85 90 95

Thr Arg Ser Asp Gly Arg Asn Asp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 7

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 7

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser

20 25 30

Thr Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Val Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Trp

85 90 95

Glu Ile Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 8

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 8

gacatcgtgc tgacccagtc ccccgccacc ctgtccgtgt cccccggcga gagggccacc 60

atctcctgca gggcctccca gagggtgtcc tcctccacct actcctacat gcactggtac 120

cagcagaagc ccggccagcc ccccaagctg ctgatcaagt acgcctccaa cctggagtcc 180

ggcgtgcccg ccaggttctc cggctccggc tccggcaccg acttcaccct gaccatctcc 240

tccgtggagc ccgaggactt cgccacctac tactgccagc actcctggga gatccccccc 300

accttcggcg gcggcaccaa gctggaaatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 360

atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420

aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540

agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600

acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttagtga 660

<210> 9

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 9

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Asp Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Arg Ser Asp Gly Arg Asn Asp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

His Thr Ser Pro Pro Ser Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

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

435 440 445

<210> 10

<211> 1956

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 10

caggtgcagc tggtgcagtc cggcgccgag gtggtgaagc ccggcgcctc cgtgaagctg 60

tcctgcaagg cctccggcta catcttcacc tcctactaca tgtactgggt gaagcaggcc 120

cccggccagg gcctggagtg gatcggcgag atcaacccct ccaacggcga caccaacttc 180

aacgagaagt tcaagtccaa ggccaccctg accgtggaca agtccgcctc caccgcctac 240

atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgccgtgt actactgcac caggtccgac 300

ggcaggaacg acatggactc ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgtc ctccgctagc 360

accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420

gcagccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 600

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagttgg tgagaggcca 660

gcacagggag ggagggtgtc tgctggaagc caggctcagc gctcctgcct ggacgcatcc 720

cggctatgca gccccagtcc agggcagcaa ggcaggcccc gtctgcctct tcacccggag 780

gcctctgccc gccccactca tgctcaggga gagggtcttc tggctttttc cccaggctct 840

gggcaggcac aggctaggtg cccctaaccc aggccctgca cacaaagggg caggtgctgg 900

gctcagacct gccaagagcc atatccggga ggaccctgcc cctgacctaa gcccacccca 960

aaggccaaac tctccactcc ctcagctcgg acaccttctc tcctcccaga ttccagtaac 1020

tcccaatctt ctctctgcag agcccaaatc tagtgacaaa actcacacaa gcccaccgag 1080

cccaggtaag ccagcccagg cctcgccctc cagctcaagg cgggacaggt gccctagagt 1140

agcctgcatc cagggacagg ccccagccgg gtgctgacac gtccacctcc atctcttcct 1200

cagcacctga actcctgggg ggatcctcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca 1260

ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag 1320

accctgaggt caagttcaac tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa 1380

agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc 1440

accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag 1500

cccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aaggtgggac ccgtggggtg cgagggccac 1560

atggacagag gccggctcgg cccaccctct gccctgagag tgaccgctgt accaacctct 1620

gtccctacag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 1680

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1740

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1800

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1860

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 1920

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa taatga 1956

<210> 11

<211> 218

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 11

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Lys Val Ser Ser Ser

20 25 30

Thr Tyr Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Ser Val Glu Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ser Trp

85 90 95

Glu Ile Pro Pro Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 12

<211> 660

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 12

gacatcgtgc tgacccagtc ccccgccacc ctgtccgtgt cccccggcga gagggccacc 60

atctcctgca gggcctccca gaaggtgtcc tcctccacct actcctacat gcactggtac 120

cagcagaagc ccggccagcc ccccaagctg ctgatcaagt acgcctccaa cctggagtcc 180

ggcgtgcccg ccaggttctc cggctccggc tccggcaccg acttcaccct gaccatctcc 240

tccgtggagc ccgaggactt cgccacctac tactgccagc actcctggga gatccccccc 300

accttcggcg gcggcaccaa gctggaaatc aaacgtacgg tggctgcacc atctgtcttc 360

atcttcccgc catctgatga gcagttgaaa tctggaactg cctctgttgt gtgcctgctg 420

aataacttct atcccagaga ggccaaagta cagtggaagg tggataacgc cctccaatcg 480

ggtaactccc aggagagtgt cacagagcag gacagcaagg acagcaccta cagcctcagc 540

agcaccctga cgctgagcaa agcagactac gagaaacaca aagtctacgc ctgcgaagtc 600

acccatcagg gcctgagctc gcccgtcaca aagagcttca acaggggaga gtgttagtga 660

<210> 13

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

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

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

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

275 280 285

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

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

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

<210> 14
<211> 1956
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Synthetically Generated Sequence
<400> 14

caggtgcagc tggtgcagtc cggcgccgag gtggtgaagc ccggcgcctc cgtgaagctg 60
tcctgcaagg cctccggcta catcttcacc tcctactaca tgtactgggt gaagcaggcc 120

cccggccagg gcctggagtg gatcggcgag atcaacccct ccaacggcga caccaacttc 180
aacgagaagt tcaagtccaa ggccaccctg accgtggaca ggtccgcctc caccgcctac 240

atggagctgt cctccctgag gtccgaggac accgccgtgt actactgcac caggtccgac 300

ggcaggaacg acatggactc ctggggccag ggcaccctgg tgaccgtgtc ctccgctagc 360

accaagggcc catcggtctt ccccctggca ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca 420

gcagccctgg gctgcctggt caaggactac ttccccgaac cggtgacggt gtcgtggaac 480

tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc 540

tactccctca gcagcgtggt gaccgtgccc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc 600

tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtggaca agaaagttgg tgagaggcca 660

gcacagggag ggagggtgtc tgctggaagc caggctcagc gctcctgcct ggacgcatcc 720

cggctatgca gccccagtcc agggcagcaa ggcaggcccc gtctgcctct tcacccggag 780

gcctctgccc gccccactca tgctcaggga gagggtcttc tggctttttc cccaggctct 840

gggcaggcac aggctaggtg cccctaaccc aggccctgca cacaaagggg caggtgctgg 900

gctcagacct gccaagagcc atatccggga ggaccctgcc cctgacctaa gcccacccca 960

aaggccaaac tctccactcc ctcagctcgg acaccttctc tcctcccaga ttccagtaac 1020

tcccaatctt ctctctgcag agcccaaatc tagtgacaaa actcacacaa gcccaccgag 1080

cccaggtaag ccagcccagg cctcgccctc cagctcaagg cgggacaggt gccctagagt 1140

agcctgcatc cagggacagg ccccagccgg gtgctgacac gtccacctcc atctcttcct 1200

cagcacctga actcctgggg ggatcctcag tcttcctctt ccccccaaaa cccaaggaca 1260

ccctcatgat ctcccggacc cctgaggtca catgcgtggt ggtggacgtg agccacgaag 1320

accctgaggt caagttcaac tggtacgtgg acggcgtgga ggtgcataat gccaagacaa 1380

agccgcggga ggagcagtac aacagcacgt accgtgtggt cagcgtcctc accgtcctgc 1440

accaggactg gctgaatggc aaggagtaca agtgcaaggt ctccaacaaa gccctcccag 1500

cccccatcga gaaaaccatc tccaaagcca aaggtgggac ccgtggggtg cgagggccac 1560

atggacagag gccggctcgg cccaccctct gccctgagag tgaccgctgt accaacctct 1620

gtccctacag ggcagccccg agaaccacag gtgtacaccc tgcccccatc ccgggatgag 1680

ctgaccaaga accaggtcag cctgacctgc ctggtcaaag gcttctatcc cagcgacatc 1740

gccgtggagt gggagagcaa tgggcagccg gagaacaact acaagaccac gcctcccgtg 1800

ctggactccg acggctcctt cttcctctac agcaagctca ccgtggacaa gagcaggtgg 1860

cagcagggga acgtcttctc atgctccgtg atgcatgagg ctctgcacaa ccactacaca 1920

cagaagagcc tctccctgtc tccgggtaaa taatga 1956

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 15

Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Arg Val Ser Ser Ser Thr Tyr Ser Tyr

1 5 10 15

Met His

<210

> 16

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 16

Tyr Ala Ser Asn Leu Glu Ser

1 5

<210> 17

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 17

Gln His Ser Trp Glu Ile Pro Pro Thr

1 5

<210> 18

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 18

Ser Tyr Tyr Met Tyr

1 5

<210> 19

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 19

Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Asp Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe Lys

1 5 10 15

Ser

<210> 20

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 20

Ser Asp Gly Arg Asn Asp Met Asp Ser

1 5

<210> 21

<211> 448

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Synthetically Generated Sequence

<400> 21

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Tyr Met Tyr Trp Val Lys Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Glu Ile Asn Pro Ser Asn Gly Asp Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Thr Arg Ser Asp Gly Arg Asn Asp Met Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110
Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro

115 120 125
Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
130 135 140
Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
145 150 155 160
Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
165 170 175
Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser

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

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

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala

420 425 430

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

435 440 445

<210> 22

<211> 374

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 22

Met Trp Phe Leu Thr Thr Leu Leu Leu Trp Val Pro Val Asp Gly Gln

1 5 10 15

Val Asp Thr Thr Lys Ala Val Ile Thr Leu Gln Pro Pro Trp Val Ser

20 25 30

Val Phe Gln Glu Glu Thr Val Thr Leu His Cys Glu Val Leu His Leu

35 40 45

Pro Gly Ser Ser Ser Thr Gln Trp Phe Leu Asn Gly Thr Ala Thr Gln

50 55 60

Thr Ser Thr Pro Ser Tyr Arg Ile Thr Ser Ala Ser Val Asn Asp Ser

65 70 75 80

Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Arg Gly Leu Ser Gly Arg Ser Asp Pro Ile

85 90 95

Gln Leu Glu Ile His Arg Gly Trp Leu Leu Leu Gln Val Ser Ser Arg
100 105 110

Val Phe Thr Glu Gly Glu Pro Leu Ala Leu Arg Cys His Ala Trp Lys
115 120 125
Asp Lys Leu Val Tyr Asn Val Leu Tyr Tyr Arg Asn Gly Lys Ala Phe
130 135 140
Lys Phe Phe His Trp Asn Ser Asn Leu Thr Ile Leu Lys Thr Asn Ile
145 150 155 160
Ser His Asn Gly Thr Tyr His Cys Ser Gly Met Gly Lys His Arg Tyr
165 170 175

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

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

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

340 345 350

Cys Gln Glu Gln Lys Glu Glu Gln Leu Gln Glu Gly Val His Arg Lys

355 360 365

Glu Pro Gln Gly Ala Thr

370

<210> 23

<211> 317

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 23

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

1 5 10 15

Trp Leu Leu Gln Pro Leu Thr Val Leu Leu Leu Leu Ala Ser Ala Asp

20 25 30

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

35 40 45

Trp Ile Asn Val Leu Gln Glu Asp Ser Val Thr Leu Thr Cys Gln Gly

50 55 60

Ala Arg Ser Pro Glu Ser Asp Ser Ile Gln Trp Phe His Asn Gly Asn

65 70 75 80

Leu Ile Pro Thr His Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Phe Lys Ala Asn Asn

85 90 95

Asn Asp Ser Gly Glu Tyr Thr Cys Gln Thr Gly Gln Thr Ser Leu Ser

100 105 110

Asp Pro Val His Leu Thr Val Leu Ser Glu Trp Leu Val Leu Gln Thr

115 120 125

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

130 135 140

Ser Trp Lys Asp Lys Pro Leu Val Lys Val Thr Phe Phe Gln Asn Gly

145 150 155 160

Lys Ser Gln Lys Phe Ser His Leu Asp Pro Thr Phe Ser Ile Pro Gln

165 170 175

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

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

Leu Thr Leu Pro Pro Asn Asp His Val Asn Ser Asn Asn
305 310 315

<210> 24
<211> 254
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 24
Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala
1 5 10 15
Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30
Gln Trp Tyr Arg Val Leu Glu Lys Asp Ser Val Thr Leu Lys Cys Gln

35 40 45
Gly Ala Tyr Ser Pro Glu Asp Asn Ser Thr Gln Trp Phe His Asn Glu

50 55 60

Ser Leu Ile Ser Ser Gln Ala Ser Ser Tyr Phe Ile Asp Ala Ala Thr

65 70 75 80

Val Asp Asp Ser Gly Glu Tyr Arg Cys Gln Thr Asn Leu Ser Thr Leu

85 90 95

Ser Asp Pro Val Gln Leu Glu Val His Ile Gly Trp Leu Leu Leu Gln

100 105 110

Ala Pro Arg Trp Val Phe Lys Glu Glu Asp Pro Ile His Leu Arg Cys

115 120 125

His Ser Trp Lys Asn Thr Ala Leu His Lys Val Thr Tyr Leu Gln Asn

130 135 140

Gly Lys Gly Arg Lys Tyr Phe His His Asn Ser Asp Phe Tyr Ile Pro

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Val Ser Phe Cys Leu Val Met Val Leu Leu Phe Ala Val Asp Thr Gly

210 215 220

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile Arg Ser Ser Thr Arg Asp Trp

225 230 235 240

Lys Asp His Lys Phe Lys Trp Arg Lys Asp Pro Gln Asp Lys

245 250

<210> 25

<211> 233

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 25

Met Trp Gln Leu Leu Leu Pro Thr Ala Leu Leu Leu Leu Val Ser Ala

1 5 10 15

Gly Met Arg Thr Glu Asp Leu Pro Lys Ala Val Val Phe Leu Glu Pro
20 25 30

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

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

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

Leu Tyr Phe Ser Val Lys Thr Asn Ile
225 230