



(19) 대한민국특허청(KR)
 (12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2014-0130709
 (43) 공개일자 2014년11월11일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/12 (2006.01) *A61K 39/395* (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) *A61P 1/12* (2006.01)
A61P 39/02 (2006.01) *C12R 1/145* (2006.01)
- (21) 출원번호 10-2014-7026227
- (22) 출원일자(국제) 2013년03월01일
 심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2014년09월19일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2013/028630
- (87) 국제공개번호 WO 2013/130981
 국제공개일자 2013년09월06일
- (30) 우선권주장
 61/605,914 2012년03월02일 미국(US)
 (뒷면에 계속)

- (71) 출원인
 리제너론 파마슈티칼스 인코포레이티드
 미합중국 뉴욕주 10591 타리타운 올드 소우 밀 리
 베 로드 777
- (72) 발명자
 거넷-밴더 앤
 미국 뉴욕 10512 카멜 하빌랜드 로드 76
 아레쿠비에타 카를로스
 미국 뉴욕 10040 뉴욕 네이클 애비뉴 55 아파트먼
 트 6비
 로위 이스라엘
 미국 뉴욕 10522 독스 페리 애플턴 플레이스 42
- (74) 대리인
 송봉식, 정삼영

전체 청구항 수 : 총 38 항

(54) 발명의 명칭 클로스트리듐 디피실리 독소에 대한 사람 항체

(57) 요 약

본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 또는 독소 B에, 또는 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하는 완전한 사람 항체를 제공하며, 조성물은 항체 및 사용 방법을 포함한다. 본 발명의 항체는 클로스트리듐 디피실리의 독소를 중화하는데 유용하고, 따라서 클로스트리듐 디피실리 감염과 관련된 질환 및 증상을 치료하는 수단을 제공하며, 클로스트리듐 디피실리에 의해 유발된 설사, 또는 위막성 대장염의 치료를 포함한다. 항체는 또한 1차 질환의 심각도 및/또는 기간을 방지할 수도 있거나, 또는 클로스트리듐 디피실리의 존재로 인한 질환의 재발, 또는 악화의 횟수, 기간, 및/또는 심각도를 방지할 수도 있다. 본 발명의 항체는 또한 클로스트리듐 디피실리에 의한 감염의 진단에 유용할 수도 있다.

(30) 우선권주장

61/608,255 2012년03월08일 미국(US)

61/717,404 2012년10월23일 미국(US)

특허청구의 범위

청구항 1

클로스트리듐 디피실리 독소 A 또는 독소 B에 특이적으로 결합하거나, 또는 독소 A 및 B 둘 다에 결합하거나, 이것들과 교차 반응하는 분리된 항체로서,

a) 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로부터 선택된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 세 개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOS: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 세 개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하고;

b) 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 내에 함유된 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 및 SEQ ID NOS: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 내에 함유된 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하고;

c) 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하거나, 이것들과 교차 반응하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 18, 34, 50, 66 및 82로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 내에 함유된 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3; 및 SEQ ID NOS: 26, 42, 58, 74 및 90로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 내에 함유된 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는, 분리된 항체.

청구항 2

제1 항에 있어서, 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NO: 146의 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및 (b) SEQ ID NO: 154의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 3

제1 항에 있어서, 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 2/10, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154 및 162/170으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 4

제1 항 또는 제3 항에 있어서, 항체는

- (a) SEQ ID NOS: 4, 100, 116, 132, 148 및 164로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;
- (b) 6, 102, 118, 134, 150 및 166으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;
- (c) SEQ ID NOS: 8, 104, 120, 136, 152 및 168로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;
- (d) SEQ ID NOS: 12, 108, 124, 140, 156, 및 172로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;
- (e) SEQ ID NOS: 14, 110, 126, 142, 158 및 174로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및
- (f) SEQ ID NOS: 16, 112, 128, 144, 160 및 176으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 5

제1 항 내지 제4 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는

- (a) SEQ ID NO: 148의 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;
- (b) SEQ ID NO: 150의 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;

- (c) SEQ ID NO: 152의 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;
- (d) SEQ ID NO: 156의 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;
- (e) SEQ ID NO: 158의 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및
- (f) SEQ ID NO: 160의 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 6

제1 항에 있어서, 항체는 (a) SEQ ID NO: 274의 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및 (b) SEQ ID NO: 282의 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 7

제1 항에 있어서, 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346 및 354/362로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 8

제1 항 또는 제7 항에 있어서, 항체는

- (a) SEQ ID NOS: 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340 및 356으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;
- (b) SEQ ID NOS: 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342 및 358로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;
- (c) SEQ ID NOS: 184, 200, 216, 232, 248, 264, 344 및 360, 312, 328, 344 및 360으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;
- (d) SEQ ID NOS: 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348 및 364로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;
- (e) SEQ ID NOS: 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350 및 366으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및
- (f) SEQ ID NOS: 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 352 및 3680, 336, 352 및 368로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 9

제1 항, 또는 제6 항 내지 제8 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체는 (a) SEQ ID NO: 276으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인,

- (b) SEQ ID NOS: 278로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;
- (c) SEQ ID NOS: 280으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;
- (d) SEQ ID NOS: 284로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;
- (e) SEQ ID NOS: 286으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및
- (f) SEQ ID NOS: 288로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 10

제1 항에 있어서, 항체는 (a) SEQ ID NOs: 18 및 34로부터 선택된 아미노산을 갖는 HCVR; 및 (b) EQ ID NOs: 26 및 42로부터 선택된 아미노산을 갖는 LCVR을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하거나, 이것들과 교차 반응하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 11

제1 항에 있어서, 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 18/26, 34/42, 50/58, 66/74 및 82/90으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하거나, 이것들과 교차 반응하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 12

제1 항 또는 제11 항에 있어서, 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 18/26 및 34/42로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하거나, 이것들과 교차 반응하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 13

제1 항 또는 제11 항에 있어서, 항체는

- (a) SEQ ID NOs: 20, 36, 52, 68, 및 84로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;
- (b) SEQ ID NOs: 22, 38, 54, 70 및 86으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;
- (c) SEQ ID NOs: 24, 40, 56, 72 및 88로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;
- (d) SEQ ID NOs: 28, 44, 60, 76 및 92로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;
- (e) SEQ ID NOs: 30, 46, 62, 78 및 94로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및
- (f) SEQ ID NOs: 32, 48, 64, 80 및 96으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하거나, 이것들과 교차 반응하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 14

제1 항, 제11 항 또는 제13 항 중 어느 한 항에 있어서, 분리된 항체 또는 항원-결합 단편은

- (a) SEQ ID NOs: 20, 및 36으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;
- (b) SEQ ID NOs: 22, 및 38로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;
- (c) SEQ ID NOs: 24, 및 40으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;
- (d) SEQ ID NOs: 28, 및 44로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;
- (e) SEQ ID NOs: 30, 및 46으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및
- (f) SEQ ID NOs: 32, 및 48로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하거나, 이것들과 교차 반응하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편.

청구항 15

제2 항에 있어서, 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인은 SEQ ID NO: 375의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 아미노산 잔기 468-863 내의 에피토프와 상호작용하거나, 또는 이것과 결합하는 분리된 항체, 또는 이것의 항원 결합 단편.

청구항 16

제2 항에 있어서, 에피토프는 EQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO: 375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 724-794, SEQ ID NO: 375의 잔기

799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인 내의 에피토프와 상호작용하거나, 또는 이것과 결합하는 분리된 항체, 또는 이것의 항원 결합 단편.

청구항 17

제1 항 내지 제16 항 중 어느 한 항의 하나 이상의 항체 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 18

제17 항에 있어서, 조성물은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편 및 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편을 포함하며,

a) 독소 A에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로부터 선택된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOs: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하고;

b) 독소 B에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOs: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 19

제17 항 또는 제18 항에 있어서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 146/154의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하고, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NO: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 20

제17 항 내지 제19 항 중 어느 한 항에 있어서,

a) SEQ ID NO: 148의 아미노산을 갖는 HCDR1, SEQ ID NO: 150의 아미노산을 갖는 HCDR2, SEQ ID NO: 152의 아미노산을 갖는 HCDR3, SEQ ID NO: 156의 아미노산을 갖는 LCDR1, SEQ ID NO: 158의 아미노산을 갖는 LCDR2, SEQ ID NO: 160의 아미노산을 갖는 LCDR3을 포함하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 제1 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편;

b) SEQ ID NO: 276의 아미노산을 갖는 HCDR1, SEQ ID NO: 278의 아미노산을 갖는 HCDR2, SEQ ID NO: 280의 아미노산을 갖는 HCDR3, SEQ ID NO: 284의 아미노산을 갖는 LCDR1, SEQ ID NO: 286의 아미노산을 갖는 LCDR2, SEQ ID NO: 288의 아미노산을 갖는 LCDR3을 포함하는, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 제2 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편; 및

c) 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 포함하는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 21

제17 항 내지 제20 항 중 어느 한 항에 있어서, 조성물 내에 함유된 항체는 클로스트리듐 디피실리의 고감염성 균주의 독소 A 및 독소 B를 중화하는데 효과적인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 22

제21 항에 있어서, 클로스트리듐 디피실리의 고감염성 균주는 BI/NAP1/027 균주인 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 23

제22 항에 있어서, BI/NAP1/027 군주는 VA5, VA17, 6336 및 6443으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물.

청구항 24

클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환으로 고통받는 환자를 치료하거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증을 치료하거나, 또는 위험한 환자에서 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환의 발달을 방지하기 위한 방법으로서, 방법은 환자에게 제17 항 내지 제23 항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 유효량을 투여하는 단계를 포함하며, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환이 방지되거나, 심각도 및/또는 기간이 줄어들거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증이 방지되거나, 개선되거나, 또는 클로스트리듐 디피실리의 빈도 및/또는 기간, 또는 이것으로 재발, 또는 악화의 심각도가 감소되는, 방법.

청구항 25

제24 항에 있어서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증은 거식증, 복통, 복부 팽창, 출혈을 동반한 또는 출혈이 없는 설사, 탈수증, 영양실조, 위막성 대장염, 전체 또는 분절 결장 절제술, 열병 및 전신성 감염 (폐렴증), 사망, 클로스트리듐 디피실리 질병 또는 질환의 악화, 및 이식된 조직 또는 기관의 거부반응으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 26

제24 항 또는 제25 항에 있어서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환에 걸릴 위험이 있는 환자는 고령 환자 (≥ 65 살), 기본적인 질병으로 인해 또는 면역 억제 치료제의 투여로 인해 면역력이 손상된 환자, 클로스트리듐 디피실리 감염을 획득하는데 취약하게 할 수도 있는 일부 기본적인 의학적 상태를 갖는 환자, 연장된 기간 (적어도 일주일) 동안 입원한 환자, 연장된 기간 (14일 이상) 동안 광범위한 항생제로 치료된 환자, 암 환자, 이식 환자, 및 위산, 위 식도 역류병 (GERD), 위 및 소장 궤양, 또는 속 쓰림을 감소시키거나 치료하기 위해 위장 질환의 치료에 사용되는, 제한은 아니지만, 양성자 펌프 억제제, 또는 히스타민 H2 수용체 억제제와 같은 약제로 치료 중인 환자로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 방법.

청구항 27

제17 항 내지 제23 항 중 어느 한 항에 있어서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환은 방지되거나, 심각도 및/또는 기간이 줄어들거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증이 방지되거나, 개선되거나, 또는 클로스트리듐 디피실리의 빈도 및/또는 기간, 또는 이것으로 재발, 또는 악화의 심각도가 감소되는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환으로 고통받는 환자를 치료하는데 사용되거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증을 치료하거나, 또는 위험한 환자에서 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환의 발달을 방지하는 약학적 조성물.

청구항 28

클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환은 방지되거나, 심각도 및/또는 기간이 줄어들거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증이 방지되거나, 개선되거나, 또는 클로스트리듐 디피실리의 빈도 및/또는 기간, 또는 이것으로 재발, 또는 악화의 심각도가 감소되는 것을 특징으로 하는, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환으로 고통받는 환자를 치료하는데 사용되거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증을 치료하거나, 또는 위험한 환자에서 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환의 발달을 방지하기 위한 의약품의 제조에 있어서 제17 항 내지 제23 항 중 어느 한 항의 약학적 조성물의 사용.

청구항 29

제27 항 또는 제28 항에 있어서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환에 걸릴 위험이 있는 환자는 고령 환자, 기본적인 질병으로 인해 또는 면역 억제 치료제의 투여로 인해 면역력이 손상된 환자, 클로스트리듐 디피실리 감염을 획득하는데 취약하게 할 수도 있는 일부 기본적인 의학적 상태를 갖는 환자, 연장된 기간 동안 입원한 환자, 연장된 기간 동안 광범위한 항생제로 치료된 환자, 위장 질환 또는 질병의 치료를 위해 양성자 펌프

억제제로 치료중인 환자, 암 환자, 및 이식 환자로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물의 사용.

청구항 30

제29 항에 있어서, 암 환자는 암을 치료하기 위해 항암제로 치료를 경험하고 있거나, 또는 방사선 치료를 경험하고 있는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물의 사용.

청구항 31

제29 항에 있어서, 이식 환자는 조혈모세포 이식, 또는 고체 조직 또는 기관 이식을 받은 환자인 것을 특징으로 하는 약학적 조성물의 사용.

청구항 32

제29 항 또는 제31 항에 있어서, 이식 환자는 면역 억제제, 또는 어떤 이식 거부반응제로 치료되고 있거나, 이식 후 조직 또는 기관 이식 거부반응을 방지하기 위해 약물 양생법으로 치료를 경험하고 있는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물의 사용.

청구항 33

제17 항 내지 제32 항 중 어느 한 항에 있어서, 약학적 조성물은 제2 치료제와 조합하여 환자에게 투여되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물의 사용.

청구항 34

제33 항에 있어서, 제2 치료제는 변성독소, 클로스트리듐 디피실리 백신, 항생제, 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 B에 대한 또 다른 항체, 및 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상을 개선하는데 유용한 어떤 다른 완화 치료로부터 선택되는 것을 특징으로 하는, 약학적 조성물의 사용.

청구항 35

제34 항에 있어서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증은 거식증, 복통, 복부 팽창, 출혈을 동반한 또는 출혈이 없는 설사, 탈수증, 영양실조, 위막성 대장염, 전체 또는 분절 결장 절제술, 열병 및 전신성 감염 (패혈증), 사망, 크로스트리듐 디피실레 질병 또는 질환의 악화, 및 이식된 조직 또는 기관의 거부반응으로 구성된 군으로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 사용.

청구항 36

제1 항 내지 제35 항 중 어느 한 항 내에 함유된 항체를 암호화하는 분리된 핵산.

청구항 37

제36 항의 핵산을 포함하는 발현 벡터.

청구항 38

제37 항의 발현 벡터를 포함하는 분리된 숙주 세포.

명세서

기술분야

[0001] 본 발명은 클로스트리듐 디피실리(*Clostridium difficile*)의 독소 A 및/또는 독소 B에 특이적으로 결합하는 사람 항체 및 사람 항체의 항원-결합 단편, 이 항체들을 포함하는 조성물 및 이 항체들을 이용하는 치료 방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 클로스트리듐 디피실리 (*C. difficile*)는 그람 양성, 혐기성, 포자 형성 박테리아이며, 이것은 사람의 병원-감염 소화기 질환의 주된 원인이고, 경증에서 중증의 설사(diarrhea) 및 대장염(colitis)의 범위의 증상을 초래한

다. 앰피실린, 아목시실린, 세팔로스포린, 플루오로퀴놀론 및 클린다마이신과 같은, 광범위한 항생제로의 치료는 정상 장내 세균총(intestinal flora)의 붕괴를 초래할 수도 있으며, 이후 내장의 클로스트리듐 디피실리로의 콜로니화를 허용한다 (Kelly and Lamont, (1998), Ann. Rev. Med. 49:375-90). 클로스트리듐 디피실리 감염의 치료는 광범위한 항생제의 사용을 중단하거나 이를 변형시키는 단계를 수반할 수도 있으며, 예를 들어, 반코마이신, 메트로니다졸, 또는 피닥소마이신과 같은 특정 항클로스트리듐성 항생제로의 치료의 개시가 필요하다.

[0003] 클로스트리듐 디피실리 감염으로 고통받는 환자에서 관찰된 설사 및 염증은 박테리아에 의한 두 가지 독소, 장독소 (독소 A) 및 세포 독소 (독소 B)의 생성으로 인한 것으로 생각된다. 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 B는 GTP아제의 Rho 패밀리의 멤버를 억제하는 고분자량 글루코실트랜스퍼라제이다. 독소 A는 308 kDa의 분자량을 갖고 독소 B는 270 kDa의 분자량을 갖는다. 독소 A 및 독소 B 둘 다는 트레오닌 잔기의 글루코실화에 의해 Rho, Rac 및 Cdc42와 같은 작은 GTP아제를 비활성화시킨다. 이 GTP아제의 억제는 다음으로 이어지는 신호 전달 캐스케이드(cascade)의 폐쇄의 원인이 된다: 세포 골격의 탈폴리머화, 특정 스트레스-활성화된 단백질 키나제의 유전자 전사, 포스파티딜이노시톨 바이포스페이트 합성의 감소, 및 어쩌면 세포 극성의 손실. 세포 골격 구조의 손실은 세포 라운딩(rounding)을 초래하고, 구조의 이 손실은 클로스트리듐 디피실리에 대한 숙주 반응을 설명 할 수도 있다. 독소 B는 세포 라운딩 검정에서 독소 A보다 적어도 1,000배 더 세포 독성이다.

[0004] 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 B는 아미노산 함량이 63% 상동성이고 유사한 3차원 구조를 갖는다 (Davies, AH, (2011), Biochem. J., 436:517-526). 각 독소의 C-말단 3분의 1은 클로스트리듐성 반복 올리고펩ти드 (clostridial repetitive oligopeptide; CROP)로 불리는 서열로 구성되며, 이것들은 고도로 항원성이다. 독소 A 및 B의 나머지 N-말단 3분의 2는 서열 상동성에 관하여 서로 덜 유사하다; 하지만, 그것은 글루코실트랜스퍼라제 활성을 함유하는 각 단백질의 이 부분이다.

[0005] 클로스트리듐 디피실리로 감염된 후 설사 및 염증의 개시에 있어서 독소 A 및/또는 독소 B의 역할에 대한 지원은 동물 모델에서의 관찰에서 유래한다. 예를 들어, 독소의 경구 투여는 질환을 모방한다 (Kelly and Lamont, (1998), Ann. Rev. Med. 49:375-90). 독소 A 및 B가 결핍된 돌연변이는 감소된 또는 변화된 감염성을 갖는다 (Lyras D, O'Connor JR, Howarth PK et al, Nature 458(7242), 1176-1179 (2009); Kuehne SA, Cartman ST, Heap JT, Kelly ML, Cockayne A, Minton NP, Nature 15, 467(7316), 711-713 (2010)..). 게다가, 독소에 대한 단클론성 항체의 투여는 햄스터를 질병으로부터 보호하는 것으로 나타난다 (Gianasca et al., (1999), Infect. Immun. 66(2): 527-38). 병원에서, 연구는 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체의 존재 및 클로스트리듐 디피실리 관련 설사 및 질환 재발에 대한 보호 사이에 관련성이 있다는 것을 나타낸다 (Warny, M. et al., (1994), Inf. Immun. 62(2): 384-389; Kyne, L. et al. (2001), Lancet 357:189-193; Leav, B.A., (2010), Vaccine 28(4):965-969). 항-독소 항체의 개발은 무증상 보균자와 관련된다 (Kyne, L. et al. (2000), NEJM 342(6), 390-397). 게다가, 메트로니다졸 또는 반코마이신과 함께 클로스트리듐 디피실리 항-독소 A 및 항-독소 B 항체의 조합을 사용하는 임상 실험은 클로스트리듐 디피실리로의 재발성 감염율의 감소를 초래하였다 (Lowy, I. et al., (2010), NEJM 362(3): 197-205).

[0006] 클로스트리듐 디피실리 독소 A에 대한 단클론성 항체는 Wilkins, et al.에 의해 미국 특허 제4,879,218호에서 설명되었다. 게다가, Rothman et al.은 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 B와 교차 반응하는 쥐 단클론성 항체를 설명한다. 게다가, Coughlin et al.은 클로스트리듐 디피실리 독소 B에 대하여 특이적인 단클론성 항체를 설명하며, 이것은 독소 A와 교차 반응하지 않는다. 클로스트리듐 디피실리 독소에 대한 다른 항체가 설명된다 (예를 들어, 제US7,151,159호; 제US7,625,559호; 제US8,236,311호; 제US8,257,709호; US 공개 번호 제2009/0087478호; 제US2010/0233182호; 제US2010/0233181호; 제US2012/0288508호; 제US2012/012160호; 제US2011/0020356호; 제US2012/0121607호; 제EP1766093B1호; 제EP1024826B1호; 제EP1568378A1호; 제EP2305303A2호; 제EP2305293A2호; 제EP2405940A1호; 제EP2261253A2호; 제WO2006/121422호; 제WO2011/130650호; 제WO2010/094970호; 제WO2009/108652호; 제WO2011/063346호 및 제WO2005/058353호를 참고하면 된다).

발명의 내용

해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 클로스트리듐 디피실리 (*C. difficile*)에 의해 생산된 독소 A 또는 독소 B에 특이적으로 결합하거나, 또는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하는 완전한 사람 단클론성 항체 (mAbs) 및 이것이의 항원-결합 단편 (즉, 독소 A 및 독소 B 둘 다와 교차 반응하는 사람 단클론성 항체)을 제공한다. 이러한 항체는 독소 A 또는 독소 B, 또는 둘 다와 관련된 독성을 중화시키는데 유용할 수도 있고, 이와 같이, 1차 클로스

트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환의 심각도를 줄이거나, 또는 질환 재발의 횟수, 기간, 또는 심각도를 감소 시키거나, 또는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상을 개선하기 위해 작용할 수도 있다. 이러한 항체는 단독으로 또는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환을 치료하는데 유용한 2차 약제와 함께 사용될 수도 있다. 특정 구체예에서, 독소 A, 독소 B, 또는 둘 다에 특이적인 항체는 1차 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환의 심각도를 줄이거나, 또는 질환 재발의 횟수, 기간, 또는 심각도를 감소시키거나, 또는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상을 개선하기 위해 2차 약제와 함께 치료적으로 제공될 수도 있다. 특정 구체예에서, 항체는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환에 걸릴 위험이 있는 환자를 보호하기 위한 독립형(stand-alone) 치료로서 예방적으로 사용될 수도 있다. 예를 들어, 특정 환자 집단은 클로스트리듐 디피실리 질병 또는 질환에 걸릴 위험이 있을 수도 있으며, 고령 환자, 또는 클로스트리듐 디피실리 감염에 취약하게 할 수도 있는 만성적 및/또는 부수적 기본적 의학적 조건을 갖는 환자를 포함한다. 다른 위험한 환자 집단은 장기간 병원에 입원하고 정상적인 장내 세균총을 붕괴시킬 수도 있고 클로스트리듐 디피실리로의 감염에 취약하게 할 수도 있는 광범위한 항생제를 섭취하고 있는 환자를 포함한다. 더 최근의 데이터는 양성자 펌프 억제제 (proton pump inhibitor; PPI)를 섭취하고 있는 환자가 클로스트리듐 디피실리-관련 설사에 걸릴 위험이 있다는 것을 제안한다 (Yearsley, K. et al. (2006), Aliment. Pharmacol. Ther. 24(4):613-619; Lowe, D.O., et al. Clin. Infect. Dis. (2006), 43(10): 1272-1276). 클로스트리듐 디피실리 감염에 걸릴 위험이 있는 다른 환자 집단은 제한되는 것은 아니지만, 항암제, 특정 암을 치료하기 위한 일반적인 방사선 치료, 또는 이식 후 조작 또는 기관 이식 거부를 방지하기 위한 약물 또는 약물 양생법(drug regimen)과 같은, 어떤 타입의 면역 억제 요법을 경험하고 있는 환자도 포함한다. 조혈모세포 이식(hematopoietic stem cell transplant; HSCT)을 받는 환자는 장기 입원, 광범위한 항생제의 수령 및 장내 점막의 화학요법-관련 붕괴 때문에 클로스트리듐 디피실리 감염에 걸릴 위험이 특히 더 클 수도 있다 (Thibault, A. et al., ((1991), Infect. Control Hosp. Epidemiol. 12:345-8; Anand, A. et al. (1993), Clin. Infect. Dis. 17:109-13). 고체 기관 이식을 받은 환자는 또한 클로스트리듐 디피실리 감염에 걸릴 위험에 있을 수도 있다. 자가면역 질환으로 고통받는 환자, 또는 투석 환자가 위험한 집단에 포함된다. 더 최근의 연구는 자가조직(autologous) 또는 동종이계(allogeneic) HSCT를 받은 환자는 클로스트리듐 디피실리 감염에 걸릴 위험이 더 클 뿐만 아니라, 이 환자들은 또한 위장성 대숙주성이식편병 (gastrointestinal graft versus host disease; GI-GVHD)에 걸릴 위험이 더 크다는 것을 입증하였다 (Alonso, C.D., et. al. (2012), Clin Inf. Dis, 54:1053-1063). 이 연구는 클로스트리듐 디피실리 감염이 HSCT에 이은 빈번한 조기 합병증이라는 것을 분명하게 입증하는 한편, 클로스트리듐 디피실리 감염 (CDI) 및 위장관을 수반하는 GVHD 사이의 정확한 관계 또는 상호작용은 더 상세히 조사될 필요가 있다. 이 환자 집단들 중 어떤 것도, 본 발명의 항체가 단독으로 또는 메트로니다졸, 반코마이신 또는 피닥소마이신과 같은 2차 약제와 함께 제공될 때, 본 발명의 항체로의 치료로부터 이익을 얻을 수 있다.

[0008] 본 발명의 항체는 전체 길이 (예를 들어, IgG1 또는 IgG4 항체)일 수 있거나 또는 항원-결합 부분 (예를 들어, Fab, F(ab')2 또는 scFv 단편)만을 포함할 수도 있고, 기능성에 영향을 미치도록, 예를 들어, 나머지 효과기 기능을 제거하도록 변형될 수도 있다 (Reddy et al., (2000), J. Immunol. 164:1925-1933).

[0009] 따라서, 첫 번째 양태에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에, 또는 독소 B에 결합하거나, 또는 이것의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하거나 이것들과 교차 반응하는 분리된 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며,

[0010] a) 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 세 개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 및 SEQ ID NOs: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 아미노산 서열 내에 함유된 세 개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하고,

[0011] b) 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 내에 함유된 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3, 및 SEQ ID NOs: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 내에 함유된 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하고,

[0012] c) 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하거나, 이것들과 교차 반응하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 18, 34, 50, 66 및 82로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 내에 함

유된 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3, 및 SEQ ID NOS: 26, 42, 58, 74 및 90으로 구성된 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 내에 함유된 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함한다.

[0013] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 사람 단클론성 항체는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A (CBD-A: SEQ ID NO: 375) 및 독소 B (CBD-B:SEQ ID NO: 376) 둘 다의 카르복시 밀단 수용체 결합 도메인 (CBD)에 특이적으로 결합한다.

[0014] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 10^{-7} M 이하인 K_D로 독소 A 및 독소 B와 결합한다.

[0015] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 18, 34, 50, 66 및 82로 구성된 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 및 SEQ ID NOS: 26, 42, 58, 74 및 90로 구성된 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)를 포함한다. HCVR 및 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 확인하기 위한 방법 및 기술은 업계에 잘 알려져 있고 본원에서 개시된, 명시된 HCVR 및/또는 LCVR 아미노산 서열 내에서 CDR을 확인하는데 사용될 수 있다. CDR의 경계를 확인하는데 사용될 수 있는 예시적인 규칙은, 예를 들어, Kabat 정의, Chothia 정의, 및 AbM 정의를 포함한다. 일반적인 용어에서, Kabat 정의는 서열 가변성을 기반으로 하고, Chothia 정의는 구조적 루프 영역의 위치를 기반으로 하며, AbM 정의는 Kabat 및 Chothia 접근법 사이의 절충안이다. 예를 들어, Kabat, "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., (1997), J. Mol. Biol. 273:927-948; 및 Martin et al., (1989), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272를 참고하면 된다. 공개적 데이터베이스는 또한 항체 내에서 CDR 서열을 확인하는데 이용 가능하다.

[0016] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 18, 34, 50, 66 및 82로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함한다.

[0017] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 26, 42, 58, 74 및 90으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다.

[0018] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NOS: 18, 34, 50, 66 및 82로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및 (b) SEQ ID NOS: 26, 42, 58, 74 및 90으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다.

[0019] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은

[0020] (a) SEQ ID NOS: 20, 36, 52, 68, 및 84로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인,

[0021] (b) SEQ ID NOS: 22, 38, 54, 70 및 86으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인,

[0022] (c) SEQ ID NOS: 24, 40, 56, 72 및 88로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인,

[0023] (d) SEQ ID NOS: 28, 44, 60, 76 및 92로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인,

[0024] (f) SEQ ID NOS: 30, 46, 62, 78 및 94로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인, 및

[0025] (g) SEQ ID NOS: 32, 48, 64, 80 및 96으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함한다.

[0026] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 사람 항체 또는 이것의 항원 결합 단편은 각각 SEQ ID NO: 20, 22 및 24의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열 및 각각 SEQ ID NO: 28, 30 및 32의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열을 포함한다.

[0027] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 사람 항체 또는 이것의 항원 결합 단편은 각각 SEQ ID NO: 36, 38 및 40의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열 및 각각

SEQ ID NO: 44, 46 및 48의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열을 포함한다.

[0028] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 18/26, 34/42, 50/58, 66/74 및 82/90으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍을 포함한다.

[0029] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 18/26 및 34/42의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0030] 한 구체예에서, 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인 내의 애피토프(epitope)로서, 항체는 SEQ ID NOs: 18/26 및 34/42로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열쌍을 포함하는 애피토프; 또는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인 외부의 애피토프로서, 항체는 SEQ ID NOs: 50/58, 66/74 및 82/90으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 애피토프에 결합한다.

[0031] 한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며, 항체 또는 이것의 단편은 (i) SEQ ID NO: 18, 34, 50, 66 및 82로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCVR을 포함하고; (ii) SEQ ID NO: 26, 42, 58, 74 및 90으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 포함하고; (iii) SEQ ID NO: 24, 40, 56, 72 및 88로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 32, 48, 64, 80 및 96으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하고; (iv) SEQ ID NO: 20, 36, 52, 68 및 84로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 22, 38, 54, 70 및 86으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 28, 44, 60, 76 및 92로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 30, 46, 62, 78 및 94로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR2 도메인을 포함하고; (v) 10^{-9} M 이하의 K_d 로 독소 A 및 독소 B에 결합하는, 특성 중 하나 이상을 나타낸다.

[0032] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원 결합 단편은 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8$ 을 포함하며, X^1 은 Gly이고, X^2 는 Phe, Val, 또는 lie이고, X^3 은 Thr, Ala, 또는 Ser이고, X^4 는 Phe 또는 Leu이고, X^5 는 Ser, Arg, 또는 Asn이고, X^6 은 Gly, Thr, Asp, 또는 Ser이고, X^7 은 His, 또는 Tyr이고, X^8 은 Gly, 또는 Glu인, HCDR1 서열 (SEQ ID NO: 381); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8$ 포함하며, X^1 은 lie이고, X2는 Leu, Ser, 또는 Asp이고, X3은 Tyr, Phe, 또는 Ser이고, X4는 Asp, 또는 Ser이고, X5는 Gly, X6은 Ser, Gly, Asp, 또는 Thr이고, X7은 Ser, His, 또는 lie이고, X8은 Glu, Gin, 또는 lie인, HCDR2 서열 (SEQ ID NO: 382); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}-X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}$ 을 포함하며, X^1 은 Ala, 또는 Val이고, X^2 는 Lys, 또는 Arg이고, X^3 은 Gly, 또는 Glu이고, X^4 는 Ser, 또는 Arg이고, X^5 는 lie, Asp, 또는 Tyr이고, X^6 은 Leu, Ser, 또는 Asp이고, X^7 은 Asn, Ser, Gin, 또는 His이고, X^8 은 Arg, Tyr, 또는 Ser이고, X^9 은 Pro, 또는 Gly이고, X^{10} 은 Phe, 또는 Tyr이고, X^{11} 은 Asp, Gly, 또는 Tyr이고, X^{12} 는 Tyr이고, X^{13} 은 Phe, Leu이거나 없고, X^{14} 는 Gly이거나 없고, X^{15} 는 Met이거나 없고, X^{16} 은 Asp이거나 없고, X^{17} 은 Val이거나 없는, HCDR3 서열 (SEQ ID NO: 383); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}-X^{11}-X^{12}$ 를 포함하며, X^1 은 Gin이고, X^2 는 Ser, 또는 Glu이고, X^3 은 lie, Val, 또는 Thr이고, X^4 는 Leu, 또는 Asp이고, X^5 는 Phe, Lys, 또

는 Asn이고, X^6 은 Ser, 또는 Trp이고, X^7 은 Ser이거나 없고, X^8 은 Asn, Asp이거나 없고, X^9 는 Asn이거나 없고, X^{10} 은 Lys이거나 없고, X^{11} 은 Ile, Asn이거나 없고, X^{12} 는 Tyr이거나 없는, LCDR1 서열 (SEQ ID NO: 384); 식 $X^1-X^2-X^3$ 을 포함하며, X^1 은 Trp, Lys, 또는 Arg이고, X^2 는 Ala 또는 Thr이고, X^3 은 Ser인, LCDR2 서열 (SEQ ID NO: 385); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9$ 를 포함하며, X^1 은 Gin 또는 His이고, X^2 는 Gin, 또는 Glu이고, X^3 은 Tyr이고, X^4 는 Tyr, 또는 Asn이고, X^5 는 Thr, 또는 Ser이고, X^6 은 Leu, Ala, 또는 Tyr이고, X^7 은 Pro, Phe, 또는 Ser이고, X^8 은 Leu, Phe, 또는 Arg이고 X^9 는 Thr, 또는 Ala인, LCDR3 서열 (SEQ ID NO: 386)을 포함한다.

[0033] 한 구체예에서, 본 발명은 독소 A of 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며, 항체는 SEQ ID NOs: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOs: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다.

[0034] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함한다.

[0035] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다.

[0036] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NOs: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및 (b) SEQ ID NO: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다.

[0037] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은

[0038] (a) SEQ ID NOs: 4, 100, 116, 132, 148 및 164로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인;

[0039] (b) SEQ ID NOs: 6, 102, 118, 134, 150 및 166으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인;

[0040] (c) SEQ ID NOs: 8, 104, 120, 136, 152 및 168로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인;

[0041] (d) SEQ ID NOs: 12, 108, 124, 140, 156, 및 172로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인;

[0042] (e) SEQ ID NOs: 14, 110, 126, 142, 158 및 174로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인; 및

[0043] (f) SEQ ID NOs: 16, 112, 128, 144, 160 및 176으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함한다.

[0044] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 각각 SEQ ID NO: 148, 150 및 152의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열, 및 각각 SEQ ID NO: 156, 158 및 160의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열을 포함한다.

[0045] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 2/10, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154 및 162/170으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0046] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결

합 단편은 SEQ ID NOs: 146/154의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0047] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디파실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 클로스트리듐 디파실리의 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인 내의 에피토프로서, 항체는 SEQ ID NOs: 2/10, 98/106, 130/138, 146/154 및 162/170으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 에피토프, 또는 클로스트리듐 디파실리의 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 외부의 에피토프로서, 항체는 SEQ ID NOs: 114/122의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 에피토프에 결합한다.

[0048] 한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디파실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며, 항체 또는 이것의 단편은 (i) SEQ ID NO: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCVR을 포함하고; (ii) SEQ ID NO: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCVR을 포함하고; (iii) SEQ ID NO: 8, 104, 120, 136, 152 및 168로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 16, 112, 128, 144, 160 및 176으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하고; (iv) SEQ ID NO: 4, 100, 116, 132, 148 및 164로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 6, 102, 118, 134, 150 및 166로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 12, 108, 124, 140, 156 및 172로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 14, 110, 126, 142, 158 및 174로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR2 도메인을 포함하고; (v) 10^{-9} M 이하의 K_D 를 입증하고; (vi) 세포 생존력 검정에서 약 7 pM 내지 약 65 pM의 범위의 IC50으로 독소 A의 중화를 입증하는 (32 pM의 농도에서), 특성 중 하나 이상을 나타낸다.

[0049] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디파실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원 결합 단편은 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8$ 을 포함하며, X^1 은 Gly, 또는 Arg이고, X^2 는 Phe이고, X^3 은 Asn, 또는 Thr이고, X^4 는 Phe이고, X^5 는 Gly, Ser, Asn, 또는 Thr이고, X^6 은 Thr, Ser, Asn, 또는 Asp이고, X^7 은 His, Tyr, 또는 Phe이고 X^8 은 Asp, Val, Ala, 또는 Tyr인, HCDR1 서열 (SEQ ID NO: 387); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8$ 을 포함하며, X^1 은 Leu, 또는 Ile이고, X^2 는 Thr, Gly, Ser, 또는 Trp이고, X^3 은 Ser, Thr, Gly, 또는 Phe이고, X^4 는 Thr, Val, Tyr, Val, Asp, 또는 Gly이고, X^5 는 Gly, X^6 은 Gly, Asp, Ser, 또는 Ala이고, X^7 은 Ser, Thr, Asn, 또는 Ala이고, X^8 은 Ala, Thr, Glu, Lys이거나 없는, HCDR2 서열 (SEQ ID NO: 388); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}-X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}-X^{17}-X^{18}-X^{19}-X^{20}-X^{21}-X^{22}-X^{23}-X^{24}$ 를 포함하며, X^1 은 Ala이고, X^2 는 Lys, 또는 Arg이고, X^3 은 Thr, Asp, 또는 Ser이고, X^4 는 Phe, Arg, His, Ala, 또는 Leu이고, X^5 는 Asn, Gly, 또는 Lys이고, X^6 은 Trp, Gly, Asp, 또는 Ile이고, X^7 은 Asn, Ala, 또는 Phe이고, X^8 은 Ser, Asn, Tyr, Gly, 또는 Asp이고, X^9 는 Tyr, Ile, Ala, Thr, Glu, 또는 Leu이고, X^{10} 은 Phe, Tyr, Ser, Gly이거나 없고, X^{11} 은 Asp. Ser, Gly이거나 없고, X^{12} 는 Tyr, Phe, Ser, Pro이거나 없고, X^{13} 은 Tyr, Leu이거나 없고, X^{14} 는 Tyr, Phe이거나 없고, X^{15} 는 Gly, Asn, Asp이거나 없고, X^{16} 은 Met, Arg, Tyr이거나 없고, X^{17} 은 Asp이거나 없고, X^{18} 은 Tyr, Val이거나 없고, X^{19} 은 Tyr이거나 없고, X^{20} 은 Tyr이거나 없고, X^{21} 은 Gly이거나 없고, X^{22} 은 Met이거나 없고, X^{23} 은 Asp이거나 없고, X^{24} 는 Val이거나 없는, HCDR3 서열 (SEQ ID NO: 389); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7$ 을 포함하며, X^1 은

Gin이고, X²는 Ser, Asp, 또는 Thr이고, X³은 lie, 또는 Val이고, X⁴는 Ser이고, X⁵는 Thr, Asn, 또는 Ser이고, X⁶은 Tyr, Trp, Phe, 또는 Ser이고 X⁷은 Tyr이거나 없는, LCDR1 서열 (SEQ ID NO: 390); 식 X¹-X²-X³을 포함하며, X¹은 Gly, Ala, Lys, 또는 Thr이고, X²는 Ala, Thr, 또는 Val이고 X³은 Ser인, LCDR2 서열 (SEQ ID NO: 391); 식 X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷-X⁸-X⁹-X¹⁰을 포함하며, X¹은 Gin이거나 없고, X²는 Gin, Lys이거나 없고, X³은 Tyr, Asn이거나 없고, X⁴는 Gly, Asn, Thr, Tyr, His이거나 없고, X⁵는 Asn, Ser이거나 없고, X⁶은 Ser, Ala, Tyr, Asp, Trp이거나 없고, X⁷은 Leu, Pro, Ser이거나 없고, X⁸은 Tyr, Phe, Arg, Pro이거나 없고, X⁹는 Thr, Tyr이거나 없고, X¹⁰은 Thr인, LCDR3 서열 (SEQ ID NO: 392)을 포함한다.

- [0050] 한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며, 항체는 SEQ ID NOs: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3), 및 SEQ ID NOs: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)를 포함한다.
- [0051] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR을 포함한다.
- [0052] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다.
- [0053] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 (a) SEQ ID NOs: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및 (b) SEQ ID NO: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함한다.
- [0054] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은
- [0055] (a) SEQ ID NOs: 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340 및 356으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR1 도메인,
- [0056] (b) SEQ ID NOs: 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342 및 358로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR2 도메인,
- [0057] (c) SEQ ID NOs: 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328, 344 및 360으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCDR3 도메인,
- [0058] (d) SEQ ID NOs: 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348 및 364로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR1 도메인,
- [0059] (e) SEQ ID NOs: 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350 및 366으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR2 도메인,
- [0060] (f) SEQ ID NOs: 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336, 352 및 368로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함한다.
- [0061] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 각각 SEQ ID NO: 276, 278 및 280의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3 아미노산 서열 및 각각 SEQ ID NO: 284, 286 및 288의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 아미노산 서열을 포함한다.
- [0062] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOs: 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314,

322/330, 338/346 및 354/362로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0063] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편SEQ ID NOs: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0064] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 사람 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 클로스트리듐 디피실리의 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인 내의 에피토프로서, 항체는 SEQ ID NOs: 178/186의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 에피토프; 또는 클로스트리듐 디피실리의 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인 외부의 에피토프로서, 항체는 SEQ ID NOs: 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282 및 290/298로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는 에피토프를 포함한다.

[0065] 한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며, 항체 또는 이들의 단편은 (i) SEQ ID NO: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCVR을 포함하고; (ii) SEQ ID NO: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336, 352 및 368로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR3 도메인, 및 SEQ ID NO: 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342 및 358로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR3 도메인을 포함하고; (iii) SEQ ID NO: 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 296, 312, 328, 344 및 360로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCDR1 도메인, 및 SEQ ID NO: 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348 및 364로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350 및 366으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCDR2 도메인을 포함하고; (v) 10^{-9} M 이하의 K_D 를 입증하고; (vi) 세포 생존력 검정에서 약 25 pM 내지 약 320 pM의 범위의 IC50으로 독소 B의 중화를 입증하는 (0.03 pM의 농도에서), 특성 중 하나 이상을 나타낸다.

[0066] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원 결합 단편은 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}$ 을 포함하며, X^1 은 Gly이고, X^2 는 Phe, Asp, 또는 Tyr이고, X^3 은 Thr, Asn, Ser, 또는 Val이고, X^4 는 Phe, 또는 Val이고, X^5 는 Ser, Arg, Lys, Glu, 또는 Thr이고, X^6 은 Ser, lie, Asp, 또는 Arg이고, X^7 은 Phe, Tyr, 또는 Asn이고, X^8 은 Gly, Ala, Ser, 또는 Tyr이고, X^9 는 Ala이거나 없고 X^{10} 은 Ala이거나 없는, HCDR1 서열 (SEQ ID NO: 393); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9$ 를 포함하며, X^1 은 lie, 또는 Thr이고, X^2 는 Ser, Gly, Tyr, 또는 Asn이고, X^3 은 Thr, Gly, Tyr, Trp, Pro, 또는 Ser이고, X^4 는 Asp, Ser, Asn, Arg, Lys, 또는 Asp이고, X^5 는 Gly, Ser, 또는 Thr이고, X^6 은 Ser, Asp, Gly, Lys, 또는 Asn이고, X^7 은 Lys, Arg, Asn, Ser, Trp, 또는 Gly이고, X^8 은 Lys, Thr, lie, 또는 Tyr이고, X^9 는 His이거나 없는, HCDR2 서열 (SEQ ID NO: 394); 식 $X^1-X^2-X^3-X^4-X^5-X^6-X^7-X^8-X^9-X^{10}-X^{11}-X^{12}-X^{13}-X^{14}-X^{15}-X^{16}$ 을 포함하며, X^1 은 Ala, 또는 Val이고, X^2 는 Arg, Lys, Thr, 또는 Ser이고, X^3 은 Val, Gly, Asp, Arg, 또는 Tyr이고, X^4 는 Gly, Trp, Arg, Lys, 또는 Asn이고, X^5 는 Glu, Tyr, Arg, Ser, 또는 Trp이고, X^6 은 Leu, Tyr, Ser, Pro, 또는 Asn이고, X^7 은 Leu, Asp, Tyr, Ser, 또는 Asp이고, X^8 은 Asn, Ser, Phe, Lys, Arg, Asp, 또는 Gly이고, X^9 는 Tyr, Gly, Phe,

Asp, Trp, 또는 Val이고, X¹⁰은 Ser, Tyr, Asn, Asp이거나 없고, X¹¹은 Tyr, Leu, Val, Gly이거나 없고, X¹²는 Tyr, Leu, Phe, Val이거나 없고, X¹³은 Asn, Gly, Asp, Phe이거나 없고, X¹⁴는 Tyr, Met, Asp이거나 없고, X¹⁵는 Asp, Tyr이거나 없고, X¹⁶은 Val이거나 없는, LCDR3 서열 (SEQ ID NO: 395); 식 X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷을 포함하며, X¹은 Gin, Leu, 또는 Arg이고, X²는 Gly, Asp, 또는 Ser이고, X³은 lie, 또는 Val이고, X⁴는 Arg, Ser, Gly, 또는 Tyr이고, X⁵는 Ser, 또는 Asn이고, X⁶은 Trp, His, Asn, Phe, Ser, 또는 Asp이고, X⁷은 Tyr이거나 없는, LCDR1 서열 (SEQ ID NO: 396); 식 X¹-X²-X³을 포함하며, X¹은 Ala, Ser, Asp, 또는 Gly이고, X²는 Ala, 또는 Thr이고, X³은 Ser인, LCDR2 서열 (SEQ ID NO: 397); 식 X¹-X²-X³-X⁴-X⁵-X⁶-X⁷-X⁸-X⁹를 포함하며, X¹은 Gin, His, 또는 Leu이고, X²는 Gin이고, X³은 Ala, Tyr, Arg, Asp, His, 또는 Val이고, X⁴는 Tyr, Gly, Asn, Ser, lie, 또는 Lys이고, X⁵는 Ser, Leu, Pro, lie, Asn, Thr, 또는 Gly이고, X⁶은 Phe, Tyr, Trp, 또는 Ser이고, X⁷은 Pro이고, X⁸은 Leu, Pro, Phe, Val, 또는 Tyr이고 X⁹는 Thr인, LCDR3 서열 (SEQ ID NO: 398)을 포함한다.

[0067]

한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 특이적 결합에 대하여, SEQ ID NOs: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)의 상보성 결정 영역 (CDRs); 및 SEQ ID NOs: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR)의 CDR을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편과 경쟁하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0068]

관련 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 특이적 결합에 대하여, SEQ ID NOs: 18/26, 34/42, 146/154 및 274/282로 구성된 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 서열 쌍 내에 함유된 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편과 경쟁하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0069]

한 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NOs: 2, 18, 34, 50, 66, 82, 98, 114, 130, 146, 162, 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 중쇄 가변 영역 (HCVR)의 CDR; 및 SEQ ID NOs: 10, 26, 42, 58, 74, 90, 106, 122, 138, 154, 170, 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 경쇄 가변 영역 (LCVR)의 CDR을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편과 같은, 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B 상의 에피토프에 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0070]

관련된 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NOs: 18/26, 34/42, 146/154, 274/282로 구성된 군으로부터 선택된 중쇄 및 경쇄 서열 쌍 내에 함유된 중쇄 및 경쇄 CDR을 포함하는 항체 또는 항원-결합 단편과 같은, 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B 상의 에피토프에 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0071]

본 발명의 특정 구체예에서, 항체는 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 아미노산 잔기 468-863과 상호작용하거나, 또는 이에 결합할 수도 있으며, 이것의 서열은 SEQ ID NO: 375에서 나타난다. 이 영역은 SEQ ID NO: 378 (전체 길이 독소 A)의 잔기 2315-2710의 범위에 있는 아미노산 잔기와 일치한다. 본 발명의 특정 구체예에서, 항체는 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 에피토프와 상호작용하거나, 또는 이에 결합할 수도 있으며, 에피토프는 SEQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO: 375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 724-794, SEQ ID NO: 375의 잔기 799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863로 구성된 군으로부터 선택된다. 이 잔기들은 SEQ ID NO: 378을 갖는 전체 길이 독소 A 서열에서 발견된 아미노산 서열과 일치하며, 특정 영역은 SEQ ID NO: 378의 잔기 2315-2335, SEQ ID NO: 378의 잔기 2357-2377, SEQ ID NO: 378의 잔기 2449-2457, SEQ ID NO: 378의 잔기 2491-2550, SEQ ID NO: 378의 잔기 2571-2641, SEQ ID NO: 378의 잔기 2646-2661 및 SEQ ID NO: 378의 잔기 2705-2710으로 확인된다. 한 구체예에서, SEQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO: 375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 724-794, SEQ ID NO: 375의 잔기 799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863으로 구성된 군으로부터 선택된, 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 에피토프에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 항체는 SEQ ID NOs: 146/154의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 한 구체예에서, SEQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO:

375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 724-794, SEQ ID NO: 375의 잔기 799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863으로 구성된 군으로부터 선택된, 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 에피토프에 결합하거나 또는 이와 상호작용하는 항체는 약학적 조성물에서 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 2차 항체와 결합된다. 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B와 상호작용하거나 또는 이에 결합하는 이 2차 항체는 SEQ ID NOs: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0072] 두 번째 양태에서, 본 발명은 항-독소 A 및/또는 항-독소 B 항체 또는 이것의 단편을 암호화하는 핵산 분자를 제공한다. 본 발명의 핵산을 운반하는 재조합 밸현 백터, 및 이러한 백터가 도입되는 숙주 세포가 또한 본 발명에 의해 포함되며, 항체의 생산을 허용하는 조건 하에서 숙주 세포를 배양함으로써 항체를 생산하고, 생산된 항체를 회수하는 방법과 같다.

[0073] 한 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 1, 17, 33, 49, 65, 81, 97, 113, 129, 145, 161, 177, 193, 209, 225, 241, 257, 273, 289, 305, 321, 337 및 353으로 구성된 군으로부터 선택된 핵산 서열 또는 이것의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 암호화된 HCVR을 포함하는 항체 또는 이들의 단편을 제공한다.

[0074] 한 구체예에서, HCVR은 SEQ ID NO: 17, 33, 145 및 273으로 구성된 군으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0075] 한 구체예에서, 항체 또는 이것의 단편은 SEQ ID NO: 9, 25, 41, 57, 73, 89, 105, 121, 137, 153, 169, 185, 201, 217, 233, 249, 265, 281, 297, 313, 329, 345 및 361로 구성된 군으로부터 선택된 핵산 서열, 또는 이것의 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 상동성을 갖는 실질적으로 동일한 서열에 의해 암호화된 LCVR을 더 포함한다.

[0076] 한 구체예에서, LCVR은 SEQ ID NO: 25, 41, 153 및 281로 구성된 군으로부터 선택된 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0077] 한 구체예에서, 본 발명은 또한 SEQ ID NO: 7, 23, 39, 55, 71, 87, 103, 119, 135, 151, 167, 183, 199, 215, 231, 247, 263, 279, 295, 311, 327, 343 및 359로 구성된 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열에 의해 암호화된 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 15, 31, 47, 63, 79, 95, 111, 127, 143, 159, 175, 191, 207, 223, 239, 255, 271, 287, 303, 319, 335, 351 및 367로 구성된 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열에 의해 암호화된 LCDR3 도메인을 포함하는 항체 또는 항체의 항원-결합 단편을 제공한다.

[0078] 한 구체예에서, 본 발명은 SEQ ID NO: 3, 19, 35, 51, 67, 83, 99, 115, 131, 147, 163, 179, 195, 211, 227, 243, 259, 275, 291, 307, 323, 339 및 355로 구성된 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열에 의해 암호화된 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 5, 21, 37, 53, 69, 85, 101, 117, 133, 149, 165, 181, 197, 213, 229, 245, 261, 277, 293, 309, 325, 341 및 357로 구성된 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열에 의해 암호화된 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 11, 27, 43, 59, 75, 91, 107, 123, 139, 155, 171, 187, 203, 219, 235, 251, 267, 283, 299, 315, 331, 347 및 363으로 구성된 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열에 의해 암호화된 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 13, 29, 45, 61, 77, 93, 109, 125, 141, 157, 173, 189, 205, 221, 237, 253, 269, 285, 301, 317, 333, 349 및 365로 구성된 군으로부터 선택된 뉴클레오티드 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열에 의해 암호화된 LCDR2 도메인을 더 포함하는 항체 또는 이것의 단편을 제공한다.

[0079] 세 번째 양태에서, 본 발명은 V_H, D_H 및 J_H 생식세포 계열 서열로부터 유래된 뉴클레오티드 서열 세그먼트에 의해 암호화된 HCVR, 및 V_K 및 J_K 생식세포 계열 서열로부터 유래된 뉴클레오티드 서열 세그먼트에 의해 암호화된 LCVR을 포함하는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 특이적인 사람 항체 또는 항원-결합 단편을 특징으로 하며, 조합은 표 2에서 나타난 바와 같다.

[0080] 본 발명은 변형된 글리코실화 패턴을 갖는 항체를 포함한다. 일부 적용에서, 바람직하지 않은 글리코실화 부위

를 제거하기 위한 변형, 또는, 예를 들어, 항체 의존적 세포 독성 (ADCC) 기능을 증가시키기 위한 푸코스 모이 어티의 제거는 유용할 수도 있다 (Shield et al. (2002) JBC 277:26733을 참고하면 된다). 다른 적용에서, 갈락토실화의 변형은 보체 의존적 세포 독성 (CDC)을 변형시키기 위해 만들어질 수 있다.

- [0081] 네 번째 양태에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 또는 독소 B에 결합하거나, 또는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하는 적어도 하나의 분리된 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 제공한다. 한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에만 특이적으로 결합하는 분리된 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 제공한다. 한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에만 특이적으로 결합하는 분리된 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 제공한다. 한 구체예에서, 본 발명은 두 개의 완전한 사람 단클론성 항체 또는 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 제공하는데, 하나는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하고 또 하나는 이것의 독소 B에 특이적으로 결합한다. 한 구체예에서, 본 발명은 하나의 이중 결합 완전한 사람 단클론성 항체 (독소 A 및 돋소 B 둘 다에 결합하는 항체)를 포함하는 약학적 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 제공한다. 한 구체예에서, 본 발명은 두 개의 이중 결합 완전한 사람 단클론성 항체 (독소 A 및 돋소 B 둘 다에 결합하는 항체)를 포함하는 약학적 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 제공한다. 약학적 조성물에서 사용된 이중 항체는 독소 A 또는 돋소 B 상의 같은 에피토프를 인식하고 및/또는 이에 결합할 수도 있거나, 또는 독소 A 또는 돋소 B 상의 다른 에피토프를 인식하고 및/또는 이에 결합할 수도 있다. 본원에서 설명된 항체의 어떤 조합도 이러한 치료가 필요한 환자 집단에서 원하는 결과를 달성하기 위한 약학적 조성물에서 사용될 수 있는 것으로 이해되어야 한다. 예를 들어, 돋소 A만을 인식하고 및/또는 이것에만 결합하는 두 개의 항체가 조성물에서 사용될 수 있다. 대안으로, 돋소 B만을 인식하고 및/또는 이것에만 결합하는 두 개의 항체가 조성물에서 사용될 수 있다. 한 구체예에서, 돋소 A 또는 돋소 B 만을 인식/이것에만 결합하는 하나의 항체는 조성물에서 이중 결합 항체와 결합될 수도 있다. 한 구체예에서, 돋소 A만을 인식/이것에만 결합하는 하나의 항체는 돋소 B만을 인식/이것에만 결합하는 하나의 항체와 결합될 수도 있고 이 조합은 조성물에서 사용될 수도 있다.
- [0082] 한 구체예에서, 약학적 조성물은 본원에서 설명된 특성 중 하나 이상을 갖는 클로스트리듐 디피실리의 돋소 A 및 돋소 B 둘 다의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인에 결합하는 완전한 사람 단클론성 항체를 포함한다. 클로스트리듐 디피실리의 돋소 A 및 돋소 B 둘 다의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인에 결합하는 항체는 10^{-7} M 이하의 K_D 로 돋소 A 및 돋소 B에 결합한다.
- [0083] 한 구체예에서, 조성물은 클로스트리듐 디피실리의 돋소 A 및 돋소 B 둘 다에 결합하는 항체를 포함하고 SEQ ID NOS: 18/26, 34/42, 50/58, 66/74 및 82/90으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 갖는다.
- [0084] 한 구체예에서, 조성물은 클로스트리듐 디피실리의 돋소 A 및 돋소 B 둘 다에 결합하는 항체를 포함하고 SEQ ID NOS: 18/26 및 34/42로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 갖는다.
- [0085] 한 구체예에서, 약학적 조성물은 클로스트리듐 디피실리 돋소에 결합하는 적어도 하나의 항체를 포함하며, 항체는 다음으로부터 선택된다:
- [0086] a) 클로스트리듐 디피실리의 돋소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, 항체는 SEQ ID NOS: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOS: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편;
- [0087] b) 클로스트리듐 디피실리의 돋소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, 항체는 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOS: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하는 분리된 항체 또는 이것의 항원-결합 단편;

- [0088] c) 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합/이것들과 교차 반응하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편으로서, 항체는 SEQ ID NOS: 18, 34, 50, 66 및 82로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOS: 26, 42, 58, 74 및 90으로 구성된 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)를 포함하는 분리된 항체 또는 항원-결합 단편.
- [0089] 한 구체예에서, 약학적 조성물은, 본원에 설명된 바와 같이, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 제1 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편, 및 본원에 설명된 바와 같이, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 제2 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편, 및 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액을 포함한다.
- [0090] 한 구체예에서, 조성물은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편 및 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 적어도 하나의 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편을 포함하며,
- [0091] a) 독소 A에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 중쇄 가변 영역 (HCVR) 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 상보성 결정 영역 (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOS: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 경쇄 가변 영역 (LCVR) 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 상보성 결정 영역 (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함하고;
- [0092] b) 독소 B에 특이적으로 결합하는 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 SEQ ID NOS: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 중쇄 CDR (HCDR1, HCDR2 및 HCDR3); 및 SEQ ID NOS: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 LCVR 아미노산 서열 중 어느 하나에 함유된 세 개의 경쇄 CDR (LCDR1, LCDR2 및 LCDR3)을 포함한다.
- [0093] 한 구체예에서, 약학적 조성물은 다음을 포함한다:
- [0094] a) 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하며, 분리된 제1 완전한 사람 단클론성 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, SEQ ID NOS: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및 SEQ ID NOS: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는, 분리된 제1 완전한 사람 단클론성 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편,
- b) 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 제2 완전한 사람 단클론성 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, SEQ ID NOS: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 HCVR; 및 SEQ ID NOS: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열을 갖는 LCVR을 포함하는, 분리된 제2 완전한 사람 단클론성 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편.
- [0095] 한 구체예에서, 약학적 조성물은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 제1 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, SEQ ID NOS: 2/10, 98/106, 114/122, 130/138, 146/154 및 162/170으로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 분리된 제1 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편; 및 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 제2 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, SEQ ID NOS: 178/186, 194/202, 210/218, 226/234, 242/250, 258/266, 274/282, 290/298, 306/314, 322/330, 338/346 및 354/362로 구성된 군으로부터 선택된 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 분리된 제2 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 포함한다.
- [0096] 또 다른 구체예에서, 약학적 조성물은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 제1 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, SEQ ID NOS: 146/154의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 분리된 제1 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편; 및 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 제2 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, SEQ ID NOS: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함하는, 분리된 제2 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 포함한다.

- [0098] 또 다른 관련된 구체예에서, 약학적 조성물은 다음을 포함한다:
- [0099] a) 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 분리된 제1 사람 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, SEQ ID NO: 148의 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, SEQ ID NO: 150의 아미노산 서열을 갖는 HCDR2, SEQ ID NO: 152의 아미노산 서열을 갖는 HCDR3, SEQ ID NO: 156의 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, SEQ ID NO: 158의 아미노산 서열을 갖는 LCDR2, SEQ ID NO: 160의 아미노산 서열을 갖는 LCDR3을 포함하는 분리된 제1 사람 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편;
- [0100] b) 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 분리된 제2 사람 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편으로서, SEQ ID NO: 276의 아미노산 서열을 갖는 HCDR1, SEQ ID NO: 278의 아미노산 서열을 갖는 HCDR2, SEQ ID NO: 280의 아미노산 서열을 갖는 HCDR3, SEQ ID NO: 284의 아미노산 서열을 갖는 LCDR1, SEQ ID NO: 286의 아미노산 서열을 갖는 LCDR2, SEQ ID NO: 188의 아미노산 서열을 갖는 LCDR3을 포함하는 분리된 제2 사람 항체, 또는 이것의 항원-결합 단편; 및
- [0101] c) 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석액.
- [0102] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 하나 이상의 항체를 함유하는 조성물은 클로스트리듐 디피실리의 어떤 균주의 독소 A, 또는 독소 B, 또는 독소 A 및 B 둘 다를 중화시키는데 사용될 수 있다.
- [0103] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 하나 이상의 항체를 함유하는 조성물은 클로스트리듐 디피실리의 고감염성 균주의 독소 A 및/또는 B를 중화시키는데 사용될 수도 있다.
- [0104] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 하나 이상의 항체를 함유하는 조성물은 BI/NAP1/027 균주의 독소 A 및/또는 B를 중화시키는데 사용될 수도 있다.
- [0105] 한 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 하나 이상의 항체를 함유하는 조성물은 BI/NAP1/027 균주의 독소 A 및/또는 B를 중화시키는데 사용될 수도 있으며, BI/NAP1/027 균주는 VA5, VA17, 6336 및 6443으로 구성된 균으로부터 선택된다.
- [0106] 한 구체예에서, 독소 A에 특이적으로 결합하는 제1 항체를 포함하는 항체 조성물은 별개의 조성물로서 단독으로 투여될 수도 있고 독소 B에 특이적으로 결합하는 제2 항체를 포함하는 항체 조성물은 또한 별개의 조성물로서 투여될 수도 있다. 각각의 조성물은 환자에게 전달을 위해 별개의 주사기, 또는 전달 장치, 또는 바이알에서 제조될 수도 있다. 두 가지 조성물로서 별개로 조제될 때, 두 가지 조성물은 별개로 전달될 수도 있으며, 하나의 항체 조성물은 다른 항체 조성물 직전에 제공된다. 대안으로, 두 가지 항체 조성물은 투여 직전에 함께 혼합되어 동시에 제공될 수도 있다.
- [0107] 한 구체예에서, 본 발명은 본 발명의 항체 또는 항체의 항원-결합 단편, 및 제2 치료제의 조합인 조성물을 특징으로 한다.
- [0108] 제2 치료제는 소분자 약물, 단백질/폴리펩티드, 항체, 안티센스 분자, 또는 siRNA와 같은 핵산 분자일 수도 있다. 제2 치료제는 합성되거나 자연적으로 유래될 수도 있다.
- [0109] 제2 치료제는 본 발명의 항체 또는 이것의 단편과 유리하게 결합되는 어떤 약제, 예를 들어, 생균제, 항생제, 변성독소(toxoid), 클로스트리듐 디피실리에 특이적인 백신, 또는 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 제2의 다른 항체도 될 수 있다.
- [0110] 특정 구체예에서, 제2 치료제는, 부작용(들)이 발생해야 한다면, 본 발명의 항체 또는 항체의 항원-결합 단편과 관련된 어떤 가능한 부작용(들)에 대항하거나 이를 감소시키는데 도움을 주는 약제일 수도 있다.
- [0111] 본 발명의 항체 및 약학적으로 허용 가능한 조성물은 조합 치료에서 이용될 수 있다, 즉, 항체 및 약학적으로 허용 가능한 조성물은 하나 이상의 다른 원하는 치료제 또는 의료 시술과 동시에, 이전에, 또는 이후에 투여될 수 있다는 것이 또한 인정될 것이다. 조합 요법에서 이용하기 위한 치료의 특정한 조합 (치료제 또는 시술)은 원하는 치료제 및/또는 시술의 호환성 및 달성되어야 하는 원하는 치료적 효과를 고려할 것이다. 이용된 치료는 같은 장애에 대하여 원하는 효과 (예를 들어, 항체는 같은 장애를 치료하는데 사용된 또 다른 약제와 동시에 투여될 수도 있다)를 달성할 수도 있거나, 그것들은 다른 효과 (예를 들어, 어떤 역효과의 제어)를 달성할 수도 있다는 것이 또한 인정될 것이다. 본원에서 사용된 바와 같이, 특정 질환, 또는 질병을 치료하거나 방지하기 위해 보통 투여되는 추가의 치료제는 치료되는 질환, 또는 질병에 적절하다.

[0112] 다수의 치료제가 동시 투여될 때, 투약량은 적절한 업계에서 인식되는 바에 따라서 조정될 수도 있다.

[0113] 본 발명의 다섯 번째 양태는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환으로 고통받는 환자를 치료하거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증을 치료하거나, 또는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환의 발달을 이것의 위험한 환자에서 방지하는 방법을 제공하며, 방법은 환자에게 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B에 결합하는 항체 또는 이것의 항원-결합 단편의 유효량을 투여하는 단계를 포함하거나; 또는 약학적 조성물을 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B에 결합하고, 이로 인해 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환이 방지되거나, 또는 심각도 및/또는 기간이 줄어들거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증이 방지되거나, 또는 개선되거나, 클로스트리듐 디피실리로 재발, 또는 악화의 빈도 및/또는 기간, 또는 이의 심각도가 감소되는, 항체 또는 이것의 항원-결합 단편의 유효량을 포함한다.

[0114] 한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환으로 고통받는 환자를 치료하는데 사용되는 의약품의 제조에 있어서 본 발명의 하나 이상의 항체, 또는 본 발명의 하나 이상의 항체를 포함하는 약학적 조성물을 사용하거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증을 치료하거나, 또는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환의 발달을 이것의 위험한 환자에서 방지하며, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환이 방지되거나, 심각도 및/또는 기간을 줄이거나, 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증이 방지되거나, 또는 개선되거나, 클로스트리듐 디피실리로 재발, 또는 악화의 빈도 및/또는 기간, 또는 이의 심각도가 감소된다. 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증은 거식증(anorexia), 복통(abdominal pain), 복부 팽창(abdominal bloating), 출혈을 동반한 또는 출혈이 없는 설사, 탈수증(dehydration), 영양실조(malnutrition), 위막성 대장염(pseudomembranous colitis), 전체 또는 분절 결장 절제술(complete or segmental colonic resection), 열병 및 전신성 감염(폐혈증(sepsis)), 사망, 클로스트리듐 디피실리 질병 또는 질환의 악화, 및 이식된 조직 또는 기관의 거부반응으로 구성된 군으로부터 선택될 수도 있다.

[0115] 한 구체예에서, 본 발명의 항체로, 또는 본 발명의 하나 이상의 항체를 포함하는 약학적 조성물로 치료되는 환자는, BI/NAP1/027 군에 속한 것과 같은, 클로스트리듐 디피실리의 고감염성 분리체로 감염되거나, 본원에서 설명된 바와 같이, 고감염성 균주로 감염될 위험이 있을 수도 있다.

[0116] 관련된 구체예에서, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 하나 이상의 항체를 함유하는 약학적 조성물은, 제한되지 않지만 균주의 BI/NAP1/027 군에 속한 것들 중 어느 것과도 같은, 클로스트리듐 디피실리의 고감염성 균주에 의해 생산된 독소를 중화시키는데 사용될 수도 있다. 본원에서 VA5, VA17, 6336 및 6443으로서 본원에서 지정된 임상적 분리체가 이 고감염성 균주들에 포함되며, 실시예 10에서 설명된다.

[0117] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환에 걸릴 위험이 있는 환자는, 본 발명의 항체, 또는 본 발명의 하나 이상의 항체를 포함하는 조성물로의 치료로 이익을 얻을 수도 있으며, 고령(65살 이상) 환자, 기본적인 질병으로 인해 또는 면역 억제 치료제의 투여로 인해 면역력이 손상된 환자, 클로스트리듐 디피실리 감염을 획득하는데 취약하게 할 수도 있는 일부 기본적인 의학적 상태를 갖는 환자, 연장된 기간(일주일 이상) 동안 입원한 환자, 연장된 기간(14일 이상) 동안 광범위한 항생제로 치료된 환자, 암 환자, 이식 환자, 및 제한되지 않지만 양성자 펌프 억제제, 또는 위산, 위 식도 역류병(gastroesophageal reflux disease; GERD), 위 및 소장 궤양, 또는 속 쓰림(heartburn)을 감소시키거나 이것들을 치료하기 위해 위장 질환 또는 질병의 치료에 사용되는 히스타민 H₂ 수용체 억제제와 같은 약제로 치료 중인 환자로부터 선택될 수도 있다.

[0118] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환에 걸릴 위험이 있는 환자는 암 환자이다. 관련된 구체예에서, 암 환자는 암을 치료하기 위해 항암제로의 치료를 경험하거나, 또는 방사선 치료를 경험한다.

[0119] 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환에 걸릴 위험이 있는 환자는 이식 환자이다. 관련된 구체예에서, 이식 환자는 조혈모세포 이식, 또는 고체 조직 또는 기관 이식을 받은 환자이다. 특정 구체예에서, 이식 환자는 면역 억제제, 또는 어떤 이식 거부반응제로 치료되거나, 또는 이식 후 조직 또는 기관 이식편 거부를 방지하기 위해 약물 양생법으로의 치료를 경험하는 환자이다.

[0120] 한 구체예에서, 항체는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환으로 고통받거나, 또는 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증으로 고통받는 환자에게 치료상으로 투여된다(감염이 감염의 경로를 통해 확립되고 제공된 후 투여됨). 한 구체예에서, 항체는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환에 걸릴 위험이 있거나, 또는 클로스트리듐 디피실리 질병 또는 질환에 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증에 걸릴 위험

이 있는 환자에게 예방적으로 투여된다 (감염의 발달 전에 투여). 예를 들어, 이러한 "클로스트리듐 디피실리 감염에 걸릴 위험이 있는 환자"는 고령 (65살 이상), 또는 질병으로 인해 또는 면역 억제 치료제의 투여로 인해 면역력이 손상될 수도 있는 환자, 또는 클로스트리듐 디피실리 감염을 획득하는데 취약하게 할 수도 있는 일부 기본적인 의학적 상태를 갖는 환자, 또는 장기간 (일반적으로 일주일 이상) 동안 입원한 환자, 또는 연장된 기간 (일반적으로 14일 이상) 동안 광범위한 항생제로 치료된 환자, 또는 위장 질환 또는 질병의 치료를 위해 양성자 펌프 억제제로 치료 중인 환자를 포함한다. 클로스트리듐 디피실리 감염에 걸릴 위험이 있는 다른 환자는 조직 또는 기관 이식이 필요한 상기 환자들이며, 조직 또는 기관 거부반응을 방지하기 위해 면역 억제제로의 치료를 경험할 것이다. 이 환자 집단은 자가조직 또는 동종이계 조혈모세포 이식이 필요한 개인을 포함한다. 이 환자들 이외에, 다른 타입의 감염을 방지하기 위해 고용량의 항생제 치료의 수령자가 필요한 장기간 입원은 이 환자들을 1차 클로스트리듐 디피실리 감염으로 이미 고통받고 있거나, 클로스트리듐 디피실리 감염의 증상을 나타냈으면, 상기 환자는 고용량 항생제 치료에 배치된 후, 이어서 이식편 거부반응을 방지하기 위해 면역 억제 치료될 때 이러한 감염의 재발, 또는 악화가 쉬울 수도 있다. 게다가, 이 이식 환자들은 클로스트리듐 디피실리 감염을 얻을 위험이 있을 뿐만 아니라, GI 관련 대숙주성이식편병 (GI-GVHD)으로 인한 이식의 거부반응에 대한 위험이 있을 수도 있으며, 이것은 클로스트리듐 디피실리로의 감염으로 고통받는 이식 환자에서 향상된 것으로 나타난다 (Alonso, CD. et.al., (2012), Clin. Infect. Dis. 54, 1053-1063을 참고하면 된다). 클로스트리듐 디피실리 감염 및 위장관을 수반하는 GVHD 사이의 관계는 현재 불분명하지만, 이 환자 집단은 본 발명의 항-독소 A 및/또는 항-독소 B 항체로의 치료로부터 이익을 얻을 수도 있는 것으로 나타난다. 이 환자 집단이 치료상으로 치료될 수도 있다고 생각되는 한편 (감염의 시작 후), 이 환자들은 본 발명의 항체 중 어느 것의 예방적 (감염 전) 투여로부터 이익을 얻을 수 있을 것이라고 또한 고려된다. 본 발명의 항체로의 치료에 대한 후보인 환자는 하나 이상의 항체를 포함하는 조성물이, 정맥 내 주사, 또는 피하 주사를 포함하지만 이에 제한되지 않는, 투여에 적합한 어떤 전달 경로로도 투여될 수도 있다.

[0121] 한 구체예에서, 본 발명의 항체를 포함하는 약학적 조성물은 환자에게 클로스트리듐 디피실리 감염을 치료하는데 유용한 하나 이상의 치료제와 조합하여 투여된다.

[0122] 한 구체예에서, 하나 이상의 치료제는 변성독소, 생균제, 클로스트리듐 디피실리 백신 (예를 들어, ACAM-CDIFF™과 같지만, 이에 제한되지 않는 불활성화된 독소 A 및 B), 항생제 (예를 들어, 메트로니다졸, 반코마이신 또는 피닥소마이신), 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 B에 대한 또 다른 항체, 및 클로스트리듐 디피실리 질환의 심각도를 감소시키거나 또는 클로스트리듐 디피실리 질환의 재발의 빈도를 감소시키거나 또는 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환과 관련된 적어도 하나의 증상을 개선하는데 유용한 어떤 다른 일시적 치료요법으로 구성된 군으로부터 선택될 수도 있다.

[0123] 또 다른 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리-관련 질병 또는 질환과 관련된 하나의 증상 또는 합병증은 설사, 위막성 대장염, 클로스트리듐 디피실리 질병 또는 질환의 악화/재발, 및 이식된 조직 또는 기관의 거부반응으로 구성된 군으로부터 선택된다.

[0124] 다른 구체예는 다음 상세한 설명의 리뷰로부터 명백해질 것이다.

도면의 간단한 설명

[0125] 도 1은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B의 도메인 구조를 나타낸다 (Davies AH, et al., Biochem. J. (2011), 436:517-526을 참고하면 된다).

도 2는 클로스트리듐 디피실리 도전 후 클린다마이신 및 반코마이신 처리로 생존한 햄스터의 퍼센트 및 항-독소 A 및 항-독소 B mAbs로 치료의 효과로서 햄스터 악화 검정의 결과를 나타내는 그래프이다. 모든 항체는 제3 일-제6 일에 하루에 한 번 피하로 제공된다. 양성 대조군 항체는 비교기 항체, 항-독소 A (대조군 I) 및 항-독소 B (대조군 II)이다. 반코마이신은 경구 투여로서 모든 동물에게 제1 일-제3 일에 10 mg/kg로 제공된다. (점선의 ●: PBS 대조군; 점선의 △: 10 mg/kg에서 음성 이소타입 대조군; 실선의 □: 각각 5 mg/kg에서 대조군 I/대조군 (5/5); 실선의 ◆: 각각 5 mg/kg에서 H1H3330P/H1H3347P (5/5)).

도 3은 클로스트리듐 디피실리 도전 후 클린다마이신 및 반코마이신 처리로 생존한 햄스터의 퍼센트 및 항-독소 A 및 항-독소 B mAbs로 치료의 효과로서 햄스터 악화 검정의 결과를 나타내는 그래프이다. 모든 항체는 제3 일에 하루에 한 번 피하로 제공된다. 양성 대조군 항체는 비교기 항체, 항-독소 A (대조군 I) 및 항-독소 B (대조군 II)이다. 반코마이신은 경구 투여로서 모든 동물에게 제1 일-제3 일에 10 mg/kg로 제공된다. (점선의 △: 10

mg/kg에서 음성 이소타입 대조군; 실선의 □: 각각 5 mg/kg에서 대조군 I/대조군 II (5/5); 실선의 ◆: 각각 5 mg/kg에서 H1H3330P/H1H3347P (5/5); 실선의 ○: 각각 2 mg/kg에서 대조군 I/대조군 II (2/2); 실선의 ▨: 각각 2 mg/kg에서 H1H3330P/H1H3347P (2/2)).

도 4는 햄스터의 클로스트리듐 디피실리 감염의 급성 모델에서의 생존 결과를 나타내는 그래프이다. 결과는 클린다마이신 처리 (제-1 일) 후 클로스트리듐 디피실리 도전 (제0 일)으로 생존한 햄스터의 퍼센트로서 나타난다. 모든 항체는 제-3 일에서 제0 일까지의 4일 중 각각에 피하로 제공된다. 항체는 각각 50 mg/kg (50/50), 각각 16.6 mg/kg (16.6/16.6), 각각 5.5 mg/kg (5.5/5.5) 및 각각 1.85 mg/kg (1.85/1.85)으로 투여되었다. (실선의 ▽: 비감염; 점선의 ●: PBS 대조군; 점선의 △: 100 mg/kg에서 음성 이소타입 대조군; 실선의 ◆: 각각 50 mg/kg에서 H1H3330P/H1H3347P (50/50); 실선의 ○: 각각 16.6 mg/kg에서 H1H3330P/H1H3347P (16.6/16.6); 실선의 ▨: 각각 5.5 mg/kg에서 H1H3330P/H1H3347P (5.5/5.5); 실선의 +: 각각 1.85에서 H1H3330P/H1H3347P (1.85/1.85)).

도 5는 햄스터의 클로스트리듐 디피실리 감염의 급성 모델에서의 생존 결과를 나타내는 그래프이다. 결과는 클린다마이신 처리 (제-1 일) 후 클로스트리듐 디피실리 도전 (제0 일)으로 생존한 햄스터의 퍼센트로서 나타난다. 모든 항체는 제-3 일에서 제0 일까지의 4일 중 각각에 피하로 제공된다. 항체는 각각 20 mg/kg (20/20), 또는 각각 5 mg/kg (5/5)으로 투여되었다. (실선의 ▽: 비감염; 점선의 ●: PBS 대조군; 점선의 △: 40 mg/kg에서 음성 이소타입 대조군; 실선의 □: 각각 20 mg/kg에서 대조군 I/대조군 II (20/20); 실선의 ▨: 각각 5 mg/kg에서 대조군 I/대조군 II (5/5); 실선의 ◆: 각각 20 mg/kg에서 H1H3330P/H1H3347P (20/20); 실선의 ◇: 각각 5 mg/kg에서 H1H3330P/H1H3347P (5/5)).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0126]

본 방법이 설명되기 전에, 본 발명이 특정 방법, 및 설명된 실험 조건에 제한되지 않으며, 이로 인해 이러한 방법 및 조건은 다를 수도 있다고 이해되어야 한다. 또한 본원에서 사용된 용어는 특정 구체예를 설명할 목적만을 위한 것이고, 제한하려는 것은 아닌데, 본 발명의 범위가 첨부된 청구범위에 의해서만 제한되기 때문이다.

[0127]

달리 정의되지 않으면, 본원에서 사용된 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 발명이 속한 업계의 당업자에 의해 보통 이해되는 것과 같은 의미를 갖는다. 본원에서 설명된 것들과 유사하거나 동등한 어떤 방법 및 재료도 본 발명의 실행 또는 테스트에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 재료가 이제 설명된다.

[0128]

정의

[0129]

용어 "독소 A" ("tcdA"로도 불림)는 클로스트리듐 디피실리 (본원에서 "클로스트리듐 디피실리"로도 불림)에 의해 생산된 독소 A 단백질을 나타낸다. "독소 A"의 아미노산 서열은 수납 번호 CAA63564로서 GenBank에서 제공되고 본원에서는 SEQ ID NO: 378로도 나타난다. 독소 A는 SEQ ID NO: 377로서 본원에서 제공된 핵산에 의해 암호화되고, 또한 수납 번호 AM180355로서 GenBank에서 발견된다.

[0130]

용어 "독소 B" ("tcdB"로도 불림)는 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 B 단백질을 나타낸다. "독소 B"의 아미노산 서열은 수납 번호 CAJ67492로서 GenBank에서 제공되고 본원에서는 SEQ ID NO: 380으로도 나타난다. 독소 B는 SEQ ID NO: 379로서 본원에서 제공된 핵산에 의해 암호화되고, 또한 수납 번호 AM180355로서 GenBank에서 발견된다.

[0131]

"클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인"은 표적 세포에 결합하고, 따라서 이후의 수용체 매개된 식균작용(endocytosis)을 허용하는데 원인이 되는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B의 일부를 나타낸다. 본원에서 설명된 바와 같이, 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 375에 나타난다. 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 376에 나타난다. 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B의 다양한 도메인이 도 1에서 도시되며 Davies et al.에서 더 설명된다 (Davies, AH, et al., Biochem. J. (2011), 436:517-526).

[0132]

클로스트리듐 디피실리에 대한 "BI/NAP1/027" 명칭은 유럽 및 북미에 걸친 발병율 및 치사율의 증가와 관련된 클로스트리듐 디피실리의 분리체의 고도의 병독성 군을 나타낸다 (Loo, VG, et al., (2005), N Engl J Med, 353:2442-9; McDonald, LC et al. (2006), Emerg Infect Dis, 12:409-15; McDonald, LC, et al., (2005), N Engl J Med, 353:2433-41; Redelings, MD, et al., (2007), Emerg Infect Dis 13:1417-9). "BI/NAP1/027" 명칭은 North American 펄스-필드(pulsed-field) 타입 I (NAP1), 리보타입 027, 및 제한 엔도뉴클레아제 분석에 의

한 군 BI를 더 나타낸다. 그것은 원래 1980년대에 확인되었지만, 원래 더 새로운 플루오로퀴놀론 약제에 대해 저항성인 것으로 확인되지 않았고 2000년 이전에는 전염성이 아니었다 (Warny, M. et al., (2005), Lancet 366:1079-84; Kelly, CP, et al., N Engl J Med 359:1932-40). 클로스트리듐 디피실리의 "BI/NAP1/027" 균주는 또한 증가된 독소 A 및 독소 B 생산, 추가적 독소 (이원성 독소)의 존재, 및 플루오로퀴놀론에 대한 증가된 저항성을 특징으로 한다 (McDonald, LC, et al., (2005), N Engl J Med, 353:2433-41; Warny, M. et al., (2005), Lancet 366:1079-84).

[0133] 용어 "항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 네 개의 폴리펩티드 사슬, 이황화 결합에 의해 서로 연결된 두 개의 중쇄 (H) 및 두 개의 경쇄 (L)로 구성된 면역글로불린 분자, 뿐만 아니라 이것의 멀티머 (예를 들어 IgM) 또는 이것의 항원-결합 단편을 나타내기 위한 것이다. 각 중쇄는 중쇄 가변 영역 ("HCVR" 또는 " V_H ") 및 중쇄 불변 영역 (도메인 C_{H1} , C_{H2} 및 C_{H3} 으로 구성됨)으로 구성된다. 각 경쇄는 경쇄 가변 영역 ("LCVR" 또는 " V_L ") 및 경쇄 불변 영역 (C_L)으로 구성된다. V_H 및 V_L 영역은 프레임워크 영역 (FR)으로 불리는 더 보존되는 영역과 함께 배치된, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 불리는 초가변성의 영역으로 세분화될 수 있다. 각 V_H 및 V_L 은 세 개의 CDR 및 네 개의 FR로 구성되며, 아미노-말단에서 카르복시-말단까지 다음 순서로 배열된다: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4. 본 발명의 특정 구체예에서, 항체 (또는 이것의 항원 결합 단편)의 FR은 사람 생식세포 계열 서열과 동일할 수도 있거나, 자연적으로 또는 인공적으로 변형될 수도 있다. 아미노산 공통 서열은 둘 이상의 CDR의 병렬 분석 (side-by-side analysis)에 기초하여 정의될 수도 있다.

[0134] 하나 이상의 CDR 잔기의 치환 또는 하나 이상의 CDR의 생략이 또한 가능하다. 결합을 위해 하나 또는 두 개의 CDR이 결합을 위해 없어질 수 있는 항체가 과학 문헌에서 설명된다. Padlan et al. (1995 FASEB J. 9:133-139)은 공개된 결정 구조에 기초하여, 항체 및 그것들의 항원 사이의 접촉 영역을 분석하였고, CDR 잔기의 약 5 분의 1 내지 3분의 1만이 실제로 항원에 접촉하는 것으로 결론 내렸다. Padlan은 또한 하나 또는 두 개의 CDR이 항원과 접촉한 아미노산이 없는 많은 항체를 발견하였다 (또한 Vajdos et al. 2002 J Mol Biol 320:415-428을 참고하면 된다).

[0135] 항원과 접촉하지 않는 CDR 잔기는 분자적 모델링에 의한 Chothia CDR의 외부에 있는 Kabat CDR의 영역의 선행 연구에 기초하여 및/또는 경험적으로 확인될 수 있다. CDR 또는 이것의 잔기(들)이 생략되면, 그것은 보통 또 다른 사람 항체 서열에서 일치하는 위치 또는 이러한 서열의 공통부분을 차지하는 아미노산으로 치환된다. CDR 내에서 치환되는 위치 및 치환되는 아미노산은 또한 경험적으로 선택될 수 있다. 경험적 치환은 보존적 또는 비-보존적 치환일 수 있다.

[0136] 본원에서 개시된 완전한 사람 항-독소 A 및/또는 항-독소 B 단클론성 항체는 일치하는 생식세포 계열 서열과 비교하여 중쇄 및 경쇄 가변 도메인의 프레임워크 및/또는 CDR 영역에서 하나 이상의 아미노산 치환, 삽입 및/또는 결실을 포함할 수도 있다. 이러한 돌연변이는, 예를 들어, 공개적 항체 서열 데이터베이스로부터 이용 가능한 생식세포 계열 서열과 본원에서 개시된 아미노산 서열을 비교함으로써 쉽게 확인될 수 있다. 본 발명은 항체, 및 이것의 항원-결합 단편을 포함하며, 이것은 본원에서 개시된 아미노산 서열 중 어느 것으로부터 유래 되는데, 여기에서 하나 이상의 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 하나 이상의 아미노산은

[0137] 항체가 유래되는 생식세포 계열 서열의 일치하는 잔기(들)로, 또는 또 다른 사람 생식세포 계열 서열의 일치하는 잔기(들)로, 또는 일치하는 생식세포 계열 잔기(들)의 보존적 아미노산 치환으로 돌연변이된다 (이러한 서열 변화는 본원에서 종합적으로 "생식세포 계열 돌연변이"로 불린다). 본원에서 개시된 중쇄 및 경쇄 가변 영역 서열로 시작하는, 당업자는 하나 이상의 개개의 생식세포 계열 돌연변이 또는 이것들의 조합을 포함하는 많은 항체 및 항원-결합 단편을 쉽게 생산할 수 있다. 특정 구체예에서, V_H 및/또는 V_L 도메인 내의 프레임워크 및/또는 CDR 잔기 모두는 항체가 유래된 원래의 생식세포 계열 서열에서 발견된 잔기로 다시 돌연변이된다. 다른 구체예에서, 특정 잔기, 예를 들어, FR1의 처음 8개의 아미노산 또는 FR4의 마지막 8개의 아미노산 내에서 발견된 돌연변이된 잔기, 또는 CDR1, CDR2 또는 CDR3 내에서 발견된 돌연변이된 잔기만이 원래의 생식세포 계열 서열로 다시 돌연변이된다. 다른 구체예에서, 프레임워크 및/또는 CDR 잔기(들) 중 하나 이상은 다른 생식세포 계열 서열 (즉, 항체가 원래 유래되는 생식세포 계열 서열과 다른 생식세포 계열 서열)의 일치하는 잔기(들)로 돌연변이된다. 게다가, 본 발명의 항체는 프레임워크 및/또는 CDR 영역 내의 둘 이상의 생식세포 계열 돌연변이 중 어떤 조합도 포함할 수 있으며, 예를 들어, 어떤 개개의 잔기가 특정한 생식세포 계열 서열의 일치하는 잔기로 돌연변이되는 한편, 원래의 생식세포 계열 서열과 다른 어떤 다른 잔기는 유지되거나 또는 다른 생식세포 계열 서열의 일치하는 잔기로 돌연변이된다. 얻어지면, 하나 이상의 생식세포 계열 돌연변이를 함유하는 항체 및 항원-

결합 단편은 개선된 결합 특이성, 증가된 결합 친화도, 개선된 또는 향상된 길항성 또는 작용성 생물학적 속성(경우에 따라), 감소된 면역원성, 등과 같은 하나 이상의 원하는 속성에 대하여 쉽게 테스트될 수 있다. 이러한 일반적인 방식으로 얻어진 항체 및 항원-결합 단편은 본 발명 내에 포함된다.

- [0138] 본 발명은 또한 하나 이상의 보존적 치환을 갖는 본원에서 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어떤 것의 변이체도 포함하는 완전한 사람 항-독소 A 및/또는 항-독소 B 단클론성 항체를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은, 예를 들어, 본원에서 개시된 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열 중 어떤 것과 비교하여 10개 이하, 8개 이하, 6개 이하, 4개 이하, 등의 보존적 아미노산 치환을 갖는 HCVR, LCVR, 및/또는 CDR 아미노산 서열을 가진 항-독소 A 및 항-독소 B 항체를 포함한다.
- [0139] 용어 "사람 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 사람 생식세포 계열 면역글로불린 서열로부터 유래된 가변 및 불변 영역을 가진 항체를 포함하기 위한 것이다. 본 발명의 사람 mAbs는, 예를 들어, CDR 및 특히 CDR3에서, 사람 생식세포 계열 면역글로불린 서열에 의해 암호화되지 않는 아미노산 잔기 (예를 들어, 실험관 내에서 무작위 또는 부위-특이적 돌연변이 생성 또는 생체 내에서 체세포 돌연변이에 의해 도입된 돌연변이)를 포함할 수도 있다. 하지만, 용어 "사람 항체"는 본원에서 사용된 바와 같이, CDR 서열이 또 다른 포유동물 종 (예를 들어, 마우스)의 생식세포 계열로부터 유래된 CDR 서열이 사람 FR 서열로 이식되는 mAbs를 포함하기 위한 것은 아니다.
- [0140] 용어 "특이적으로 결합하다", 또는 "에 특이적으로 결합하다", 등은 항체 또는 이것의 항원-결합 단편이 생리학적 조건 하에 비교적 안정한 항원과 복합체를 형성한다는 것을 의미한다. 특이적 결합은 적어도 약 1×10^{-6} M 이하의 해리 평형 상수(equilibrium dissociation constant)를 특징으로 할 수 있다 (예를 들어, 더 작은 K_D 는 더 단단한 결합을 나타낸다). 두 개의 분자가 특이적으로 결합하는지 결정하는 방법은 업계에 잘 알려져 있고, 예를 들어, 평형 투석(equilibrium dialysis), 표면 플라스몬 공명(surface plasmon resonance), 등을 포함한다. 본원에서 설명된 바와 같이, 항체는 표면 플라스몬 공명, 예를 들어, BIACORE™에 의해 확인되었으며, 이것은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로, 또는 독소 B에 특이적으로 결합하는 한편, 다른 것은 독소 A 및 B 둘 다의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인에 특이적으로 결합하는 것으로 확인되었다. 게다가, 독소 A 또는 독소 B 및 하나 이상의 추가 항원에 결합하는 다중-특이적 항체 또는 독소 A 또는 독소 B의 두 개의 다른 영역에 결합하는 이중-특이적 항체는 그럼에도 불구하고, 본원에서 사용된 바와 같이, "특이적으로 결합하는" 항체로 간주된다.
- [0141] 용어 "고 친화도" 항체는, 표면 플라스몬 공명, 예를 들어, BIACORE™ 또는 용액-친화도 ELISA에 의해 측정된 바와 같이, 적어도 10^{-8} M; 바람직하게 10^{-9} M; 더 바람직하게 10^{-10} M, 더 바람직하게 10^{-11} M의 K_D 로서 표현되는, 독소 A 또는 독소 B에 대한 결합 친화도를 갖는 상기 mAbs를 나타낸다.
- [0142] 용어 "슬로우 오프(slow off) 속도", "Koff" 또는 "kd"는 표면 플라스몬 공명, 예를 들어, BIACORE™에 의해 결정된 바와 같이, $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 이하, 바람직하게 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 이하의 속도 상수로, 독소 A 또는 독소 B, 또는 둘 다로부터 해리하는 항체를 의미한다.
- [0143] 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편", 등은, 본원에서 사용된 바와 같이, 어떤 자연적으로 발생한, 효소에 의해 얻어질 수 있는, 합성에 의한, 또는 유전적으로 조작된 폴리펩티드 또는 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는 당단백질도 포함한다. 용어 항체의 "항원-결합 부분", 또는 "항체 단편"은, 본원에서 사용된 바와 같이, 독소 A 또는 독소 B 또는 둘 다에 결합하는 능력을 유지하는 항체의 하나 이상의 단편을 나타낸다.
- [0144] 특이적 구체예에서, 본 발명의 항체 또는 항체 단편은 항생제, 2차 항독소 A 또는 B 항체, 또는 클로스트리듐 디피실리 백신, 또는 변성독소, 또는 클로스트리듐 디피실리에 의해 유발된 질환 또는 질병을 치료하는데 유용한 어떤 다른 치료적 모이어티(모이어티)와 같은, 치료적 모이어티("면역컨쥬게이트(immunoconjugate)")에 컨쥬게이션될 수도 있다(conjugated).
- [0145] "분리된 항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이, 다른 항원 특이성을 갖는 다른 항체 (Abs)가 실질적으로 없는 항체 (예를 들어, 독소 A 또는 독소 B, 또는 이것의 단편에 특이적으로 결합하고, 독소 A 또는 독소 B 이외의 항원에 특이적으로 결합하는 Abs가 실질적으로 없는 분리된 항체)를 나타내기 위한 것이다.
- [0146] "차단 항체" 또는 "중화 항체" (또는 독소 A 및/또는 독소 B 활성을 중화시키는 항체")는, 본원에서 사용된 바와 같이, 독소 A 및/또는 독소 B에 결합이 독소 A 및/또는 독소 B의 적어도 하나의 생물학적 활성의 억제를 일

으키는 항체를 나타내기 위한 것이다. 예를 들어, 본 발명의 항체는 클로스트리듐 디피실리에 의해 유발된 1차 질환의 방지에 도움이 될 수도 있다. 대안으로, 본 발명의 항체는 클로스트리듐 디피실리에 의해 유발된 질환, 또는 설사 또는 위막성 대장염(pseudomembranous colitis)을 포함하는, 클로스트리듐 디피실리 감염에 의해 유발된 적어도 하나의 증상의 재발 또는 악화를 방지하는 능력을 입증할 수도 있다. 독소 A 및/또는 독소 B의 생물학적 활성의 이 억제는 업계에 알려져 있는 여러 표준 실험관 내 검정(예를 들어, 중화 검정, 본원에서 설명된 바와 같음) 또는 생체 내 검정(예를 들어, 본원에서 설명된 항체 중 하나 이상의 투여 후 클로스트리듐 디피실리로의 도전으로부터의 보호를 보기 위한 동물 모델) 중 하나 이상에 의해 독소 A 및/또는 독소 B 생물학적 활성의 하나 이상의 지표를 측정함으로써 평가될 수 있다.

[0147] 용어 "표면 플라스몬 공명"은, 본원에서 사용된 바와 같이, 예를 들어, BIACORE™ 시스템 (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden and Piscataway, N.J.)을 사용하여 바이오센서 매트릭스(biosensor matrix) 내 단백질 농도 변화의 검출에 의한 실시간 생체 분자 상호작용의 분석을 허용하는 최적의 현상을 나타낸다.

[0148] 용어 " K_D "는, 본원에서 사용된 바와 같이, 특정 항체-항원 상호작용의 해리 평형 상수를 나타내기 위한 것이다.

[0149] 용어 "에피토프"는 파라토프(paratope)로 알려져 있는 항체 분자의 가변 영역에서 특이적 항원 결합 부위와 상호작용하는 항원성 결정요소를 나타낸다. 단일 항원은 단일 항원은 하나 이상의 에피토프를 가질 수도 있다. 따라서, 다른 항체는 항원 상의 다른 구역에 결합할 수도 있고 다른 생물학적 효과를 가질 수도 있다. 용어 "에피토프"는 또한 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원 상의 부위를 나타낸다. 그것은 또한 항체에 의해 결합되는 항원의 영역을 나타낸다. 에피토프는 구조적 또는 기능적으로 정의될 수도 있다. 기능적 에피토프는 일반적으로 구조적 에피토프의 서브세트(subset)이고 상호작용의 친화도에 직접적으로 기여하는 상기 잔기들을 갖는다. 에피토프는 또한 입체적일 수도 있는데, 즉, 비-선형 아미노산으로 구성된다. 특정 구체예에서, 에피토프는 아미노산, 당 측쇄, 포스포릴 기, 또는 술포닐 기와 같은 분자의 화학적으로 활성인 표면 그룹화하는 결정요소를 포함할 수도 있고, 특정 구체예에서는 특이적 3-차원 구조적 특성, 및/또는 특이적 전하 특성을 가질 수도 있다.

[0150] 핵산 또는 이것의 단편을 나타낼 때, 용어 "실질적 동일성" 또는 "실질적으로 동일한"은, 또 다른 핵산 (또는 그것의 상보성 가닥)으로의 적절한 뉴클레오티드 삽입 또는 결실로 최적으로 정렬될 때, 하기 논의된 바와 같이, FASTA, BLAST 또는 GAP와 같이, 서열 동일성의 어떤 잘 알려진 알고리즘에 의해 측정된 바와 같이, 뉴클레오티드 염기의 적어도 약 90%, 및 더 바람직하게 적어도 약 95%, 96%, 97%, 98% 또는 99%에서 뉴클레오티드 서열 동일성이 있다는 것을 나타낸다. 참조 핵산 분자에 대하여 실질적인 동일성을 갖는 핵산 분자는, 특정 예에서, 참조 핵산 분자에 의해 암호화된 폴리펩티드와 같거나 실질적으로 유사한 아미노산 서열을 가진 폴리펩티드를 암호화할 수도 있다.

[0151] 폴리펩티드에 적용된 바와 같이, 용어 "실질적인 유사성" 또는 "실질적으로 유사한"은 두 개의펩티드 서열이, 예를 들어, 디폴트 갭 중량 (default gap weight)를 사용하는 프로그램 GAP 또는 BESTFIT에 의해, 선택적으로 정렬될 때, 적어도 90% 서열 동일성, 더 바람직하게 적어도 95%, 98% 또는 99% 서열 동일성을 공유한다. 바람직하게, 잔기 위치는, 동일하지 않으며, 보존적 아미노산 치환에 따라 다르다. "보존적 아미노산 치환"은 유사한 화학적 속성(예를 들어, 전하 또는 소수성)을 가진 측쇄(R 기)를 갖는 아미노산 잔기가 또 다른 아미노산 잔기에 의해 치환되는 것이다. 일반적으로, 보존적 아미노산 치환은 단백질의 기능적 속성을 실질적으로 변화시키지 않을 것이다. 둘 이상의 아미노산 서열이 보존적 치환에 의해 서로 다를 경우에, 유사성의 퍼센트 또는 정도는 치환의 보존적 성질을 교정하도록 상향조절될 수도 있다. 이러한 조정 수단은 당업자에게 잘 알려져 있다. 예컨대, Pearson (1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331을 참고하면 된다. 유사한 화학적 속성을 가진 측쇄를 갖는 아미노산의 기의 예는 1) 지방족 측쇄: 글리신, 알라닌, 발린, 류신 및 이소류신; 2) 지방족-히드록실 측쇄: 세린 및 트레오닌; 3) 아미드-함유 측쇄: 아스파라긴 및 글루타민; 4) 방향족 측쇄: 페닐알라닌, 티로신, 및 트립토판; 5) 염기성 측쇄: 리신, 아르기닌, 및 히스티딘; 6) 산성 측쇄: 아스파르테이트 및 글루타메이트, 및 7) 황-함유 측쇄: 시스테인 및 메티오닌을 포함한다. 바람직한 보존적 아미노산 치환 기는 발린-류신-이소류신, 페닐알라닌-티로신, 리신-아르기닌, 알라닌-발린, 글루타메이트-아스파르테이트, 및 아스파라긴-글루타민이다. 대안으로, 보존적 대체는 Gonnet et al. (1992) Science 256: 1443 45에서 개시된 PAM250 로그-가능성 매트릭스에서 양의 값을 갖는 어떤 변화이다. "적당히 보존적인" 대체는 PAM250 로그-가능성 매트릭스에서 비음성 값을 갖는 어떤 변화이다.

[0152] 폴리펩티드에 대한 서열 유사성은 전형적으로 서열 분석 소프트웨어를 사용하여 측정된다. 단백질 분석 소프트웨어는 다양한 치환, 결실 및 보존적 아미노산 치환을 포함하는, 다른 변형에 할당된 유사성의 측정을 사용하여 유사한 서열을 일치시킨다. 예를 들어, GCG 소프트웨어는 다른 종의 유기체의 상동성 폴리펩티드와 같이, 밀접

하게 관련된 폴리펩티드 사이 또는 야생형 단백질 및 이것의 돌연변이한 단백질(mutein) 사이의 서열 상동성 또는 서열 동일성을 결정하기 위해 디폴트 파라미터와 함께 사용될 수 있는 프로그램, 예를 들어, GAP 및 BESTFIT를 함유한다. 예컨대, GCG Version 6.1을 참고하면 된다. 폴리펩티드 서열은 또한 디폴트 또는 추천된 파라미터를 이용한 FASTA; GCG Version 6.1의 프로그램을 사용하여 비교될 수 있다. FASTA (예를 들어, FASTA2 및 FASTA3)는 쿼리(query) 및 검색 서열 사이에서 최고의 중복의 영역의 정렬 및 퍼센트 서열 동일성을 제공한다 (Pearson (2000) 상기). 본 발명의 서열을 다른 유기체의 많은 서열을 함유하는 데이터베이스에 비교할 때 또 다른 바람직한 알고리즘은 디폴트 파라미터를 사용하는 컴퓨터 프로그램 BLAST, 특히 BLASTP 또는 TBLASTN이다. 예컨대, Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 403-410 및 (1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402를 참고하면 된다.

[0153] 특정 구체예에서, 본 발명의 방법에 사용되는 항체 또는 항체 단편은 단일-특이적, 이중-특이적, 또는 다중-특이적일 수도 있다. 다중-특이적 항체는 하나의 표적 폴리펩티드의 다른 에피토프에 특이적일 수도 있거나 하나 이상의 표적 폴리펩티드의 에피토프에 특이적인 항원-결합 도메인을 함유할 수도 있다. 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 예시적 이중-특이적 항체 포맷은 제1 면역글로불린 (Ig) C_H3 도메인 및 제2 Ig C_H3 도메인의 사용을 수반하며, 제1 및 제2 Ig C_H3 도메인은 적어도 하나의 아미노산에 따라 서로 다르고, 적어도 하나의 아미노산 차이는 아미노산 차이가 없는 이중-특이적 항체와 비교하여 이중-특이적 항체의 단백질 A로의 결합을 감소시킨다. 한 구체예에서, 제1 Ig C_H3 도메인은 단백질 A에 결합하고 제2 Ig C_H3 도메인은 H95R 변형 (IMGT 액손 넘버링(numbering)에 의해; EU 넘버링에 의해 H435R)과 같이 단백질 A 결합을 감소시키거나 폐지하는 돌연변이를 함유한다. 제2 C_H3은 Y96F 변형 (IMGT에 의해; EU에 의해 Y436F)을 더 포함할 수도 있다. 제2 C_H3 내에서 발견될 수도 있는 추가의 변형은 IgG1 mAbs의 경우에 D16E, L18M, N44S, K52N, V57M, 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의해 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M, 및 V422I); IgG2 mAbs의 경우에 N44S, K52N, 및 V82I (IMGT; EU에 의해 N384S, K392N, 및 V422I); 및 IgG4 mAbs의 경우에 Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q, 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의해 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q, 및 V422I)를 포함한다. 상기 설명된 이중-특이적 항체 포맷에서 변형은 본 발명의 범위 내에 있는 것으로 고려된다.

[0154] 구절 "치료적 유효량"은 투여되는 것에 대하여 원하는 효과를 생산하는 양을 의미한다. 정확한 양은 치료의 목적에 의존적일 것이며, 알려진 기술을 사용하여 당업자에 의해 확인 가능할 것이다 (예컨대, Lloyd (1999) The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding을 참고하면 된다).

일반적인 설명

[0155] 클로스트리듐 디피실리는 그람-양성, 포자 형성, 독소 생산 박테리아이며, 이것은 사람에서 병원성 항생제-관련 설사 및 대장염의 주요 원인이다 (Bartlett, J.G. et al. (1978), N. Engl. J. Med. 298:531-534; Kyne, L. et al. (2001), Clin. N. Am. 30:753-777). 광범위한 항생제의 투여로부터 발생하는 결장 환경의 섭동 (perturbation)은 박테리아에 의한 소화관의 콜로니화로 이어진다 (Johnson, S.C. et al. (1990), Lancet 336:97-100). 클로스트리듐 디피실리로 콜로니화되는 환자 집단의 대부분은 설사에 걸리며, 이것은 특정 예에서 위막성 대장염으로 이어지고, 클로스트리듐 디피실리에 의한 두 개의 외독소, 독소 A 및 독소 B의 생산으로 인한 것으로 생각된다. 치료는 거부 항생제의 중단, 또는 거부 항생제의 투여량의 변화, 또는 거부 항생제의 변화 없음에 이은, 메트로니다졸, 반코마이신, 또는 피탁소마이신의 투여로 구성된다. 이 치료 요법은 보통 성공하는 한편, 치료가 중단될 때 많은 환자들은 악화된다 (Fekety, R., (1997), Am. J. Gastroenterology, 92:739-750). 게다가, 많은 예에서, 클로스트리듐 디피실리 박테리아는

[0156] 사용된 치료에 대하여 저항성이며, 따라서 치료 실패 및 일부 예에서 증가된 치사율로 이어진다 (Dworczynski, A. et al. (1991), Cytobios. 65:149-153; Fekety, R. et al. (1993), JAMA, 269:71-75). 따라서, 이러한 질환과 싸우고 및/또는 클로스트리듐 디피실리로 콜로니화된 환자에서 질환의 재발을 방지하기 위해 더 효과적인 치료가 필요하다. 게다가, 효과적인 약제의 예방적 투여에 의해 클로스트리듐 디피실리 감염에 걸릴 위험이 있는 환자를 치료하는 것이 필요하다. 이 위험한 환자 집단에 고령, 특히, 65살 이상의 환자가 포함되지만, 65살 미만의 환자는 그들을 클로스트리듐 디피실리로의 감염에 취약하게 만들 수도 있는 어떤 기본적인 질환의 존재에 따라서 더 위험해질 수도 있다. 클로스트리듐 디피실리로 감염된 환자는 이전에 재발의 위험이 더 클 수도 있다. 다른 위험한 환자는 기본적인 의학적 상태 때문에 클로스트리듐 디피실리 감염에 취약한 환자, 또는 장기간 (적어도 일주일 이상) 동안 입원하고 및/또는, 광범위한 항생제로 장기간 (≥ 14 일) 치료를 받은 환자, 뿐만 아니라 위 식도 역류병 (GERD), 위 및 소장 궤양 및 식도의 염증을 치료하기 위해 양성자 펌프 억제제를 받은 환자를 포함한다. 이 약제들은 텍슬란소프라졸, 테소메프라졸, 란소프라졸, 오메프라졸, 판토프라졸 나트륨, 또

는 라베프라졸 나트륨을 포함한다. 클로스트리듐 디피실리 감염에 걸릴 위험이 있는 환자의 배치에 대하여 연구 중인 다른 약제는 시메티딘, 파모티딘, 니자티딘 및 라니티딘과 같은 히스타민-H2 수용체 차단제를 포함한다. 다른 연구는 클로스트리듐 디피실리-관련 설사의 나이-특이적 발생률, 더 특히, 50살 이후의 환자에서 증가, 및 60살 이후의 환자에서 치사율의 증가에 주목하였다 (Loo, VG, et al., (2005), N Engl J Med 353:2442-9). 이 연구는, 사실은, 클로스트리듐 디피실리 독소에 대한 양성 검정의 발생률의 나이-관련 증가를 나타낸 초기 연구와 일치한다 (Karlstrom, O. et al. (1998), Clin Infect Dis 26:141-5).

[0158] 클로스트리듐 디피실리에 대하여 더 효과적인 치료의 필요성을 해결하기 위해, 많은 연구가 항-독소 A 및/또는 B 항체가, 단독으로 사용될 때, 또는 부가적 치료로서, 이 질환을 치료하는 수단으로, 또는 적어도 클로스트리듐 디피실리 감염과 관련된 설사 또는 대장염의 재발을 방지하는 수단으로 사용될 수 있는지 결정하기 위해 실행되었다 (Corthier, et al. (1991), Infect. Immun. 59(3):1192-1195; Kink, J.A. and Willilams, J.A., (1998), Infect. Immun. 66(5):2018-2025; Lowy, I. et al. (2010), N. Engl. J. Med. 362(3): 197-205; Babcock, G.J., et al.; (2006), Infection and Immunity, 74(11):6339-6347). 더 구체적으로, 클로스트리듐 디피실리로의 감염의 동물 모델은 1차 감염, 뿐만 아니라 생체 내 재발률에 대한 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 효과를 연구하기 위해 사용되었다 (Corthier, G. et al. (1991), Infect. Immun. 59(3):1192-1195; Kink, J.A. et al. (1998), Infect. Immun. 66(5):2018-2025; Babcock, G.J. et al. (2006), 74(11):6339-6347). 클로스트리듐 디피실리의 동물 모델에서의 결과는 유의한 보호를 나타내고, 따라서 질환에 걸린 사람 환자의 항-독소 A 및 항-독소 B 항체를 사용하는 추가의 임상 실험을 재촉하였다 (Lowy, I., (2010), N. Engl. J. Med. 362(3): 197-205).

[0159] 본원에서 설명된 항체는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 특이적 결합을 입증하고 클로스트리듐 디피실리로의 감염으로 고통받는 환자의 치료에 유용할 수도 있다. 이러한 항체의 사용은 클로스트리듐 디피실리로의 1차 감염으로 고통받는 환자의 효과적인 치료 수단일 수도 있거나, 그것들은 질환의 악화 및 질환과 관련된 동반 증상을 방지하기 위해 사용될 수도 있거나, 또는 1차 감염 또는 감염의 재발과 관련된 설사 또는 대장염의 심각도를 줄이기 위해 사용될 수도 있다. 그것들은 단독으로 또는 제한은 아니지만, 예를 들어, 메트로니다졸, 반코마이신, 또는 피닥소마이신으로의 항생제 치료와 같이, 클로스트리듐 디피실리 감염의 치료 업계에 알려진 다른 치료적 모이어티 또는 양식과 함께 부가적 치료로서 사용될 수도 있다. 그것들은 클로스트리듐 디피실리 백신과 함께, 또는 변성독소의 사용과 함께, 또는 독소 A 및/또는 B에 특이적인 제2 또는 제3의 항체와 함께 사용될 수도 있다.

[0160] 본 발명의 특정 구체예에서, 본 발명의 항체의 조합은 클로스트리듐 디피실리의 고감염성 균주에 의해 유발된 감염을 치료하기 위해 사용될 수도 있다. 현재까지 가장 주목할 만한 고감염성 유행성 분리체 균은 "BI/NAP1/027"로 불리는 것이다. 이것은 유럽 및 북미에 걸친 클로스트리듐 디피실리 감염의 발생과 관련된 것이었다. 이 명칭으로 나누어지는 분리체는 증가된 독소 A 및 독소 B 생산, 추가 독소 (이원성 독소)의 존재 및 플루오로퀴놀론에 대한 증강된 저항성을 특징으로 한다 (McDonald, LC, et al., (2005), N Engl J Med 353:2433-41; Wany, ME, et al, (2005), Lancet 366:1079-84). 이 분리체의 균은 또한 북미 펄스-필드 타입 1 (North American pulsed-field type 1; NAP1), 리보타입 027, 균 BI 균주로 불릴 수도 있다. 균주의 이 균은 18개의 염기쌍 tcdC 유전자 결실을 함유하며, 그것이 생산하는 이원성 독소는 cdtA 및 actB 유전자에 의해 암호화된다. 이 균은 대조균 균주보다 각각 16 및 23배 더 많은 양으로 독소 A 및 독소 B를 생산하는 것으로 보고되었다 (Wany, ME, et al., (2005), Lancet 366:1079-84). 본 발명의 항체가 네 개의 다른 임상적으로 분리된 클로스트리듐 디피실리 BI/NAP1/027 균주 (VA5, VA17, 6336 및 6443)에 의해 생산된 독소를 중화하는 것으로 나타났기 때문에, 본 발명의 항체를 포함하는 조성물이 상술된 클로스트리듐 디피실리의 고감염성 균주로의 감염으로 고통받는 환자에게 치료적으로 투여될 수 있거나, 또는 본원에서 언급된 고감염성 균주, 뿐만 아니라 어떤 다른 임상적으로 적절한 고감염성 균주로의 감염에 걸릴 위험이 있는 환자에게 예방적으로 투여될 수 있다고 생각된다. 이 균주들을 확인하기 위한 수단은 당업자에게 알려져 있고, 이 방법들은 클로스트리듐 디피실리 분리체의 펄스-필드 젤 전기 영동 (PFGE) (예컨대, Fawley, WN, et al., (2002), J. Clin Microbiol 40:3546-7을 참고하면 된다), 이원성 독소 유전자 및 tcdC 유전자의 부분적 결실에 대한 PCR 분석 (예컨대, Goncalves, C. et al. (2004), J Clin Microbiol 42:1933-9; 및 Cohen, SH et al., (2000), J Infect Dis 181:659-63을 참고하면 된다), 및 제한-엔도뉴클레아제 분석 (예컨대, Clabots, CR, et al., (1993), J Clin Microbiol 31:1870-5를 참고하면 된다)을 포함할 수도 있다.

[0161] 특정 구체예에서, 본 발명의 항체는 클로스트리듐 디피실리의 불활성화된 고유한 독소 A (GenBank 수납 번호 CAA63564 (SEQ ID NO: 378)를 참고하면 된다), 또는 독소 B (GenBank 수납 번호 CAJ67492 (SEQ ID NO: 380)를

참고하면 된다)와 같은 1차 면역원으로 면역화, 또는 불활성화된 형태이지만, 재조합 형태의 독소, 또는 독소 단편에 이어, 2차 면역원, 또는 고유한 독소의 면역원성 활성 단편으로 면역화된 마우스로부터 얻어진다. 동물은 불활성화된 독소 A 단독으로 또는 불활성화된 독소 B 단독으로, 또는 동시에 불활성화된 독소 A 및 불활성화된 독소 B 둘 다로 면역화될 수도 있다. 독소는 면역원으로서 사용 전에, 포름알데히드, 글루타르알데히드, 퍼옥시드의 처리, 또는 산소 처리를 포함하는, 변성독소를 제조하기 위한 표준 과정을 사용하여 불활성화될 수 있다 (Relyveld, et al. Methods in Enzymology, 93:24, 1983, Woodrow and Levine, eds. New Generation Vaccines, Marcel Dekker, Inc., New York, 1990). 불활성화의 또 다른 수단은 UDP-디알데히드의 사용에 의한 것이며 (Genth et al., (2000), Infect. Immun. 68(3):1094-1101), 이것은 다른 불활성화 방법과 비교하여 독소의 고유한 구조를 보존하여, 고유한 독소와 더 반응성인 항체를 유도할 가능성을 향상시킬 수도 있다.

[0162] 대안으로, 클로스트리듐 디피실리의 돌연변이 독소는, 감소된 독성을 나타내며, 표준 재조합 기술을 사용하여 생산되고 면역원으로서 사용될 수도 있다 (예컨대, 제US 5,085,862호; 제5,221,618호; 제5,244,657호; 제5,332,583호; 제5,358,868호; 및 제5,433,945호). 이러한 돌연변이는 독소의 활성 부위에서 결실 또는 점 돌연변이를 함유할 수도 있다.

[0163] 면역원은 고유한 독소 A 또는 독소 B, 또는 이것의 활성 단편을 암호화하는 DNA의 생물학적 활성 및/또는 면역원성 단편일 수도 있다. 단편은 독소 A 또는 독소 B의 N-말단 또는 C-말단 도메인으로부터 유래될 수도 있다. 단편은 독소 A 또는 독소 B의 알려진 도메인 중 어떤 것으로부터 유래될 수도 있으며 (도 1 참조), 글루코실화효소 도메인 (A), 자가촉매 가공 도메인 (C), 전좌 도메인 (D) 또는 결합 도메인 (B)을 포함한다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역원은 SEQ ID NO: 378의 약 아미노산 잔기 1832-2710의 범위에 있는 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인이다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역원은 SEQ ID NO: 375에서 나타난 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인이다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역원은 SEQ ID NO: 380의 약 아미노산 잔기 1834-2366의 범위에 있는 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인이다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역원은 SEQ ID NO: 376에서 나타난 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인이다.

[0164] 클로스트리듐 디피실리의 독소 A의 전체 길이 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 378으로 나타난다.

[0165] 클로스트리듐 디피실리의 독소 B의 전체 길이 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 380으로 나타난다.

[0166] 특정 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리 독소 A 또는 독소 B에 특이적으로 결합하는 항체는 상술된 영역의 단편, 또는 지정된 영역을 너머 약 5 내지 약 20개의 아미노산 잔기만큼 확장하는 웨프티드, 또는 둘 다, 본원에서 설명된 영역의 N 또는 C 말단 끝을 사용하여 제조될 수도 있다. 특정 구체예에서, 상술된 영역 또는 이것의 단편의 어떤 조합도 독소 A 또는 독소 B 특이적 항체의 제조에 사용될 수도 있다. 특정 구체예에서, 독소 A 또는 독소 B의 상술된 영역 중 하나 이상, 또는 이것들의 단편은 단일특이적, 이중특이적, 또는 다중특이적 항체를 제조하는데 사용될 수도 있다.

[0167] 특별히 달리 지시되지 않으면, 용어 "항체"는, 본원에서 사용된 바와 같이,

[0168] 두 개의 면역글로불린 종쇄 및 두 개의 면역글로불린 경쇄를 포함하는 항체 분자 (즉, "완전한 항체 분자"), 뿐만 아니라 이것들의 항원-결합 단편을 포함하는 것으로 이해되어야 할 것이다. 용어 항체의 "항원-결합 부분", 항체의 "항원-결합 단편", 등은, 본원에서 사용된 바와 같이, 항원에 특이적으로 결합하여 복합체를 형성하는, 자연적으로 발생한, 효소에 의해 얻을 수 있는, 합성에 의한, 또는 유전적으로 조작된 폴리펩티드 또는 당단백질을 포함한다. 용어 항체의 "항원-결합 부분", 또는 "항체 단편"은, 본원에서 사용된 바와 같이, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 특이적으로 결합하는 능력을 유지하는 항체 중 하나 이상의 단편을 나타낸다. 항체 단편은 Fab 단편, F(ab')2 단편, Fv 단편, dAb 단편, CDR을 함유하는 단편, 또는 분리된 CDR을 포함할 수도 있다. 항체의 항원-결합 단편은, 예를 들어, 단백질 가수분해 소화 또는 항체 가변 및 (선택적으로) 불변 도메인을 암호화하는 DNA의 조작 및 발현을 수반하는 재조합 유전적 조작 기술과 같은 어떤 적합한 표준 기술을 사용하여 완전한 항체 분자로부터 유래될 수도 있다. 이러한 DNA는 알려져 있고 및/또는, 예를 들어, 상업적 공급원, DNA 라이브러리 (예를 들어, 파지-항체 라이브러리 등)로부터 쉽게 이용가능하거나, 또는 합성될 수 있다. DNA는, 예를 들어, 하나 이상의 가변 및/또는 불변 도메인을 적합한 형태로 정렬하기 위해, 또는 코돈을 도입하거나, 시스테인 잔기를 생성하거나, 아미노산의 변형, 추가 또는 결실, 등을 위해 화학적으로 또는 분자생물학적 기술을 사용하여 배열되고 조작될 수도 있다.

[0169] 항원-결합 단편의 비-제한 예는 (i) Fab 단편; (ii) F(ab')2 단편; (iii) Fd 단편; (iv) Fv 단편; (v) 단일 사슬 Fv (scFv) 분자; (vi) dAb 단편; 및 (vii) 항체의 초가변 영역 (예를 들어, CDR3 웨프티드와 같은 분리된 상

보성 결정 영역 (CDR))을 모방하는 아미노산 잔기로 구성된 최소 인식 단위, 또는 제약된 R3-CDR3-FR4 펩티드를 포함한다.

[0170] 도메인-특이적 항체, 단일 도메인 항체, 도메인-결합 항체, 키메라 항체, CDR-이식 항체, 디아바디(diabody), 트리아바디(triabody), 테트라바디(tetrabody), 미니바디(minibody), 나노바디(nanobody) (예를 들어, 1가 나노바디, 2가 나노바디, 등), 소형 모듈 면역학적 약제(small modular immunopharmaceuticals; SMIPs), 및 상어가변 IgNAR 도메인과 같은, 다른 조작된 분자는 또한, 본원에서 사용된 바와 같이, 표현 "항원-결합 단편" 내에 포함된다.

[0171] 항체의 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 하나의 가변 도메인을 포함할 것이다. 가변 도메인은 어떤 크기 또는 아미노산 조성의 것일 수도 있고 일반적으로 적어도 하나의 CDR을 포함할 것이며, 이것은 하나 이상의 프레임워크 서열에 인접하거나 이것과 함께 프레임에 있다. V_L 도메인과 관련된 V_H 도메인을 가진 항원-결합 단편에서, V_H 및 V_L 도메인은 서로에 관하여 어떤 적합한 정렬에도 위치할 수 있다. 예를 들어, 가변 영역은 다이머일 수도 있고 V_H-V_H , V_H-V_L 또는 V_L-V_L 다이머를 함유할 수도 있다. 대안으로, 항체의 항원-결합 단편은 모노머 V_H 또는 V_L 도메인을 함유할 수도 있다.

[0172] 특정 구체예에서, 항체의 항원-결합 단편은 적어도 하나의 불변 도메인에 공유결합으로 결합된 적어도 하나의 가변 도메인을 함유할 수도 있다. 본 발명의 항체의 항원-결합 단편 내에서 발견될 수도 있는 가변 및 불변 도메인의 비-제한, 예시적 형태는 (i) V_H-C_H1 ; (ii) V_H-C_H2 ; (iii) V_H-C_H3 ; (iv) $V_H-C_H1-C_H2$; (v) $V_H-C_H1-C_H2-C_H3$; (vi) $V_H-C_H2-C_H3$; (vii) V_H-C_L ; (viii) V_L-C_H1 ; (ix) V_L-C_H2 ; (x) V_L-C_H3 ; (xi) $V_L-C_H1-C_H2$; (xii) $V_L-C_H1-C_H2-C_H3$; (xiii) $V_L-C_H2-C_H3$; 및 (xiv) V_L-C_L 을 포함한다. 상기 나열된 예시적 형태 중 어떤 것도 포함하는, 가변 및 불변 도메인의 어떤 형태에서도, 가변 및 불변 도메인은 서로 직접 결합될 수도 있거나 전체 또는 부분적 힌지 또는 결합자 영역에 의해 결합될 수도 있다. 힌지 영역은 적어도 2개 (예를 들어, 5, 10, 15, 20, 40, 60개 이상)의 아미노산으로 구성될 수도 있으며, 이것은 단일 폴리펩티드 분자에서 인접한 가변 및/또는 불변 도메인 사이의 플렉시블 또는 세미-플렉시블 결합을 발생시킨다. 게다가, 본 발명의 항체의 항원-결합 단편은 서로 및/또는 하나 이상의 모노머 VH 또는 VL 도메인과의 비-공유 결합 (예를 들어, 이황화 결합(들)에 의해)에서 상기 나열된 가변 및 불변 도메인 형태 중 어떤 것의 호모다이머 또는 헤테로다이머 (또는 다른 멀티머)도 포함할 수 있다.

[0173] 완전한 항체 분자와 마찬가지로, 항원-결합 단편은 단일-특이적 또는 다중-특이적 (예를 들어, 이중-특이적)일 수도 있다. 항체의 다중-특이적 항원-결합 단편은 전형적으로 적어도 두 개의 다른 가변 도메인을 포함할 것이며, 각 가변 도메인은 별개의 항원 또는 같은 항원 상의 다른 에피토프에 특이적으로 결합할 수 있다. 본원에서 개시된 예시적 이중-특이적 항체 포맷을 포함하는, 어떤 다중-특이적 항체 포맷도 업계에서 이용 가능한 보통의 기술을 사용하여 본 발명의 항체의 항원-결합 단편의 맥락에서의 사용에 적용될 수 있다.

사람 항체의 제조

[0175] 유전자 이식 마우스에서 사람 항체를 생성하는 방법은 업계에 알려져 있다. 이렇게 알려져 있는 어떤 방법들도 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 특이적으로 결합하는 사람 항체를 만들기 위해 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있다.

[0176] VELOCIMMUNE® 기술 (예컨대, 제US 6,596,541호, Regeneron Pharmaceuticals, VELOCIMMUNE®) 또는 단클론성 항체를 생성하기 위한 어떤 다른 알려진 방법을 사용하여, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 고 친화도 키메라 항체는 사람 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 갖도록 초기에 분리된다. VELOCIMMUNE® 기술은 마우스가 항원 자극에 반응하여 사람 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 포함하는 항체를 생산하도록 내인성 마우스 불변 영역 자리에 작동 가능하게 결합된 사람 중쇄 및 경쇄 가변 영역을 포함하는 게놈을 가진 유전자 이식 마우스의 발생을 수반한다. 항체의 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA는 분리되어 사람 중쇄 및 경쇄 불변 영역을 암호화하는 DNA에 작동 가능하게 결합된다. DNA는 그후 완전한 사람 항체를 발현할 수 있는 세포에서 발현된다.

[0177] 일반적으로, VELOCIMMUNE® 마우스에 원하는 항원으로 도전하였고, 림프 세포 (예를 들어, B-세포)는 항체를 발현하는 마우스로부터 회수된다. 림프 세포는 골수종 세포주와 융합되어 불멸의 히브리도마 (hybridoma) 세포주를 제조할 수도 있고, 이러한 히브리도마 세포주는 원하는 항원에 특이적인 항체를 생산하는 히브리도마 세포주를 확인하기 위해 스크리닝되고 선택된다. 중쇄 및 경쇄의 가변 영역을 암호화하는 DNA는 분리되어 중쇄 및 경쇄의 바람직한 이소타입 불변 영역에 결합될 수도 있다. 이러한 항체 단백질은 CHO 세포와 같은 세포에서 생산

될 수도 있다. 대안으로, 항원-특이적 키메라 항체 또는 경쇄 및 중쇄의 가변 도메인을 암호화하는 DNA는 항원-특이적 램프구로부터 직접 분리될 수도 있다.

[0178] 초기에, 사람 가변 영역 및 마우스 불변 영역을 가진 고 친화도 키메라 항체가 분리된다. 하기 실험 섹션에서와 마찬가지로, 항체가 특성화되고 친화도, 선택성, 에피토프, 등을 포함하는, 바람직한 특성들에 대하여 선택된다. 마우스 불변 영역은 본 발명의 완전한 사람 항체, 예를 들어, 야생형 또는 변형된 IgG1 또는 IgG4를 발생시키기 위해 원하는 사람 불변 영역과 대체된다. 선택된 불변 영역은 특정 용도, 고친화도 항원-결합 및 가변 영역에 있는 표적 특이성 특성에 따라 다를 수도 있다.

[0179] 일반적으로, 본 발명의 항체는, 고체 단계 또는 용액 단계에서 고정된 항원에 결합함으로써 측정될 때, 매우 높은 친화성을 소유하며, 전형적으로 약 10^{-12} 내지 약 10^{-9} M의 K_D 를 소유한다. 마우스 불변 영역은 본 발명의 완전한 사람 항체를 생성하기 위해 원하는 사람 불변 영역과 대체된다. 선택된 불변 영역이 특정 용도에 따라 다를 수도 있는 한편, 고친화도 항원-결합 및 표적 특이성 특성은 가변 영역에 있다.

생물학적 등가성

[0180] 본 발명의 항-독소 A 및 항-독소 B 항체 및 항체 단편은 설명된 항체와 다르지만, 독소 A 또는 독소 B에 결합하는 능력을 유지하는 아미노산 서열을 가진 단백질을 포함한다. 이러한 변종 항체 및 항체 단편은 모체 서열과 비교하여 아미노산의 하나 이상의 추가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 설명된 항체와 본질적으로 동등한 생물학적 활성을 나타낸다. 유사하게, 본 발명의 항체-암호화 DNA 서열은 개시된 서열과 비교할 때 뉴클레오티드의 하나 이상의 추가, 결실, 또는 치환을 포함하지만, 본 발명의 항체 또는 항체 단편과 본질적으로 생물학적으로 등가성인 항체 또는 항체 단편을 암호화하는 서열을 포함한다.

[0182] 두 개의 항원-결합 단백질, 또는 항체는, 예를 들어, 그것들이 흡수 속도 및 정도가 유사한 실험 조건 하에서 같은 물 용량으로 일회 용량 또는 다회수 용량으로 투여될 때 유의한 차이를 나타내지 않는, 약학적 등가물 또는 약학적 대안이면 생물학적 등가성이 것으로 간주된다. 일부 항체는 흡수의 정도가 동등하지만 흡수 속도가 그렇지 않으면 등가성 또는 약학적 대안으로 간주될 것이고, 흡수 속도의 이러한 차이가 의도적이고 표지에 반영되고, 예를 들어, 만성 사용에서 유효한 체내 약물 농도의 달성을 필수적이지 않기 때문에 생물학적 등가성으로 간주될 수도 있고 연구된 특정 약 제품에 대하여 의학적으로 유의하지 않은 것으로 간주된다.

[0183] 한 구체예에서, 두 개의 항원-결합 단백질은 그것들의 안전성, 순도, 및 효능에서 임상적으로 중요한 차이가 없는 경우에 생물학적 등가성이다.

[0184] 한 구체예에서, 두 개의 항원-결합 단백질은 이러한 전환이 없는 지속적인 치료와 비교하여, 면역원성의 임상적으로 유의한 변화, 또는 줄어든 유효성을 포함하는, 부작용의 위험의 예상된 증가 없이 참조 제품 및 생물학적 제품 사이에서 한 번 이상 전환될 수 있는 경우에 생물학적 등가성이다.

[0185] 한 구체예에서, 두 개의 항원-결합 단백질은 그것들이 이러한 메커니즘이 알려져 있는 정도로 보통 메커니즘 또는 조건 또는 사용 조건에 대한 작용의 메커니즘에 의해 작용하는 경우에 생물학적 등가성이다.

[0186] 생물학적 등가성은 생체 내 및/또는 실험관 내 방법에 의해 입증될 수도 있다. 생물학적 등가성은, 예를 들어, (a) 사람 또는 다른 포유동물에서 항체 또는 그것의 대사산물의 농도가 혈액, 혈장, 혈청, 또는 다른 생물학적 유동체에서 시간의 함수로서 측정되는 생체 내 테스트, (b) 사람 생체 내 생물학적 이용 가능성 데이터와 연관성이 있고 이것이 합리적으로 예측되는 실험관 내 테스트, (c) 사람 또는 다른 포유동물에서 항체 (또는 그것의 표적)의 적절한 급성 약학적 효과가 시간의 함수로서 측정되는 생체 내 테스트, 및 (d) 항체의 안전성, 효험, 또는 생물학적 이용 가능성 또는 생물학적 등가성을 확립하는 잘 제어된 임상 실험을 포함한다.

[0187] 본 발명의 항체의 생물학적 등가성 변이체는, 예를 들어, 잔기 또는 서열의 다양한 치환을 만들거나 또는 생물학적 활성에 필요하지 않은 말단 또는 내부 잔기 또는 서열을 삭제함으로써 구성될 수도 있다. 예를 들어, 생물학적 활성에 본질적인 것이 아닌 시스테인 잔기는 복원시 불필요하고 부정확한 분자 내 이황화 다리의 형성을 방지하기 위해 결실되거나 다른 아미노산으로 대체될 수 있다. 다른 맥락에서, 생물학적 등가성 항체는 항체의 글리코실화 특성을 변형시키는 아미노산 변화, 예를 들어, 글리코실화를 없애거나 제거하는 돌연변이를 포함하는 항체 변이체를 포함할 수도 있다.

항체의 생물학적 특성

[0188] 일반적으로, 본 발명의 항체는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 또는 이것의 독소 B, 또는 클로스트리듐 디피실

리의 독소 A 및 독소 B 둘 다 (교차-반응성 항체), 또는 A 또는 B의 단편에 결합함으로써 기능할 수도 있다.

[0190] 특정 구체예에서, 본 발명의 항체는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소의 적어도 C-말단 수용체 결합 도메인에 위치한 에피토프에 결합할 수도 있다. 한 구체예에서, 항체는 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 아미노산 잔기 1832-2710의 범위에 있는 독소 A의 C-말단 영역에 결합할 수도 있으며, 이것은 SEQ ID NO: 378의 아미노산 잔기 1832-2710에 걸쳐 있다. 본 발명의 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 375에서 나타난 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인에 결합할 수도 있다. 본 발명의 특정 구체예에서, 항체는 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 아미노산 잔기 468-863와 상호 작용하거나, 이에 결합할 수도 있으며, 이것의 서열은 SEQ ID NO: 375에서 나타난다. 본 발명의 특정 구체예에서, 항체는 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 에피토프와 상호 작용하거나, 이에 결합할 수도 있으며, 에피토프는 SEQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO: 375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 724-794, SEQ ID NO: 375의 잔기 799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863으로 구성된 군으로부터 선택된다. 한 구체예에서, SEQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO: 375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 724-794, SEQ ID NO: 375의 잔기 799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863으로 구성된 군으로부터 선택된, 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 에피토프에 결합하거나 이와 상호작용하는 항체는 SEQ ID NOs: 146/154의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다. 한 구체예에서, SEQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO: 375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 724-794, SEQ ID NO: 375의 잔기 799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863으로 구성된 군으로부터 선택된, 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인의 에피토프에 결합하거나 이와 상호작용하는 항체는 약학적 조성물에서 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 제2 항체와 결합된다. 한 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리의 독소 B와 상호작용하거나 이에 결합하는 이 제2 항체는 SEQ ID NOs: 274/282의 HCVR/LCVR 아미노산 서열 쌍을 포함한다.

[0191] 본 발명의 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 380의 약 아미노산 잔기 1834-2366의 범위에 있는 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인에 결합할 수도 있다. 본 발명의 특정 구체예에서, 항체는 SEQ ID NO: 376에서 나타난 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인에 결합할 수도 있다.

[0192] 특정 구체예에서, 본 발명의 항체는 고유한 전체 길이 독소 A 단백질의 어떤 다른 영역 또는 단편에 결합에 의해 클로스트리듐 디피실리의 독소 A와 관련된 독성을 차단하거나 억제함으로써 기능할 수도 있으며, 이것의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 378에서 나타나고, 이것은 SEQ ID NO: 377에서 나타난 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0193] 특정 구체예에서, 본 발명의 항체는 고유한 전체 길이 독소 B 단백질의 어떤 다른 영역 또는 단편에 결합에 의해 클로스트리듐 디피실리 독소 B와 관련된 독성을 차단하거나 억제함으로써 기능할 수도 있으며, 이것의 아미노산 서열은 SEQ ID NO: 380에서 나타나고, 이것은 SEQ ID NO: 379에서 나타난 핵산 서열에 의해 암호화된다.

[0194] 특정 구체예에서, 본 발명의 항체는 이종-특이적일 수도 있다. 본 발명의 이종-특이적 항체는 독소 A의 하나의 에피토프에 결합할 수도 있고 독소 B의 하나의 에피토프에 결합할 수도 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 이종-특이적 항체는 독소 A의 두 개의 다른 에피토프에 결합할 수도 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 이종-특이적 항체는 독소 B의 두 개의 다른 에피토프에 결합할 수도 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 이종-특이적 항체는 독소 A 또는 독소 B 중 하나에서 같은 도메인 내의 두 개의 다른 부위에 결합할 수도 있거나, 독소 A 및 독소 B 둘 다에서 같은 도메인에 결합할 수도 있다.

[0195] 한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및 독소 B 둘 다의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인에 결합하는 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며, 항체 또는 이것의 단편은 (i) SEQ ID NO: 18, 34, 50, 66 및 82로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 HCVR을 포함하고; (ii) SEQ ID NO: 26, 42, 58, 74 및 90으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 갖는 LCVR을 포함하고; (iii) SEQ ID NO: 24, 40, 56, 72 및 88로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 32, 48, 64, 80 및 96으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을

가진 LCDR3 도메인을 포함하고; (iv) SEQ ID NO: 20, 36, 52, 68 및 84로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 22, 38, 54, 70 및 86으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 28, 44, 60, 76 및 92로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 30, 46, 62, 78 및 94로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCDR2 도메인을 포함하고; (v) 10^{-9} M 이하의 K_D 로 독소 A 및 독소 B에 결합하는 특징 중 하나 이상을 나타낸다.

[0196]

한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A에 특이적으로 결합하는 (독소 B에는 아님) 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며, 항체 또는 이것의 단편은 (i) SEQ ID NO: 2, 98, 114, 130, 146 및 162로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCVR을 포함하고; (ii) SEQ ID NO: 10, 106, 122, 138, 154 및 170으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCVR을 포함하고; (iii) SEQ ID NO: 8, 104, 120, 136, 152 및 168로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 16, 112, 128, 144, 160 및 176으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCDR3 도메인을 포함하고; (iv) SEQ ID NO: 4, 100, 116, 132, 148 및 164로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 6, 102, 118, 134, 150 및 166으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 14, 110, 126, 142, 158 및 174로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCDR2 도메인을 포함하고; (v) 10^{-9} M 이하의 K_D 를 입증하고 (vi) 세포 생존력 검정에서 약 7 pM 내지 약 65 pM의 범위에 있는 IC50으로 독소 A의 중화를 입증하는 (32 pM의 농도에서) 특징 중 하나 이상을 나타낸다.

[0197]

한 구체예에서, 본 발명은 클로스트리듐 디피실리의 독소 B에 특이적으로 결합하는 (독소 A에는 아님) 완전한 사람 단클론성 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 제공하며, 항체 또는 이것의 단편은 (i) SEQ ID NO: 178, 194, 210, 226, 242, 258, 274, 290, 306, 322, 338 및 354로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCVR을 포함하고; (ii) SEQ ID NO: 186, 202, 218, 234, 250, 266, 282, 298, 314, 330, 346 및 362로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCVR을 포함하고; (iii) SEQ ID NO: 184, 200, 216, 232, 248, 264, 280, 2344 및 360 328, 344 및 360으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCDR3 도메인; 및 SEQ ID NO: 192, 208, 224, 240, 256, 272, 288, 304, 320, 336, 352 및 368로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCDR3 도메인을 포함하고; (iv) SEQ ID NO: 180, 196, 212, 228, 244, 260, 276, 292, 308, 324, 340 및 356으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCDR1 도메인; SEQ ID NO: 182, 198, 214, 230, 246, 262, 278, 294, 310, 326, 342 및 358로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 HCDR2 도메인; SEQ ID NO: 188, 204, 220, 236, 252, 268, 284, 300, 316, 332, 348 및 364로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일

성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCDR1 도메인; 및 SEQ ID NO: 190, 206, 222, 238, 254, 270, 286, 302, 318, 334, 350 및 366으로 구성된 군으로부터 선택된 아미노산 서열, 또는 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 98% 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는, 이것의 실질적으로 유사한 서열을 가진 LCDR2 도메인을 포함하고; (v) 10^{-9} M 이하의 K_D 를 입증하고; (vi) 세포 생존력 검정에서 약 25 pM 내지 약 320 pM의 범위에 있는 IC₅₀으로 독소 B의 중화를 입증하는 (0.03 pM의 농도에서) 특징 중 하나 이상을 나타낸다.

[0198] 본 발명의 특정 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체는 실험관 내 또는 생체 내 검정에 의해 결정된 바와 같이, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A, 또는 독소 B, 또는 둘 다에 결합하여 이것들의 독성을 중화할 수 있다. 독소에 결합하여 이것의 활성을 중화하는 본 발명의 항체의 능력은 당업자에게 알려진 어떤 표준 방법을 사용해서도 측정될 수 있으며, 본원에서 설명된 바와 같이, 결합 검정, 또는 독성의 중화 (세포사로부터 보호) 검정을 포함한다.

[0199] 결합 활성을 측정하기 위한 비-제한적, 예시적 실험관 내 검정은, 본원에서, 실시예 4, 5 및 6에서 예시된다. 실시예 4 및 5에서, 사람 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체의 결합 친화도 및 동역학 상수는 표면 플라스몬 공명에 의해 결정되었고 측정은 T200 Biacore 기구에서 실행되었다. 실시예 6에서, 결합 연구는 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 실행되었다. 실시예 7에서, 중화 생물학적 검정은 독소 A 또는 독소 B에 독소 A 또는 B 및 항체의 처리 후 세포 생존력을 검출하기 위해 Vero 세포에서 개발되었다.

[0200] 본 발명은 또한 다음 단백질, 또는 웨티드 중 어떤 것의 적어도 하나의 생물학적으로 활성인 단편에 결합하는 항-독소 A 또는 B 항체 및 이것의 항원 결합 단편을 포함한다: SEQ ID NO: 378 (전체 길이 독소 A), SEQ ID NO: 378의 잔기 번호 1832-2710 (독소 A의 C-말단 도메인); SEQ ID NO: 380 (전체 길이 독소 B), SEQ ID NO: 380의 잔기 1834-2366; SEQ ID NO: 375 (독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인); 또는 SEQ ID NO: 376. 본 발명은 또한 클로스트리듐 디피실리에 의해 생산된 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인, 또는 이것의 항원 결합 단편 내의 에피토프와 상호작용하거나 이에 결합하는 항체를 제공하며, 에피토프는 SEQ ID NO: 375의 약 잔기 468 내지 약 863의 범위에 있는 잔기 내에 함유된다. 한 구체예에서, 독소 A에 결합하는 항체에 대한 에피토프는 SEQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO: 375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 724-794, SEQ ID NO: 375의 잔기 799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863으로 구성된 군으로부터 선택된다. 본원에서 설명된 독소 A 또는 독소 B 웨티드 중 어떤 것, 또는 이것의 단편은 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체를 생성하기 위해 사용될 수도 있다.

[0201] 웨티드는 담체 분자, KLH로의 태그 (tag) 또는 커뮤게이션의 목적을 위해 특정 잔기의 추가 또는 치환을 포함하도록 변형될 수도 있으며, 예를 들어, 시스테인은 웨티드의 N 말단 또는 C 말단 끝에서 추가될 수도 있거나, 또는 결합자 서열은 면역화를 위해, 예를 들어, KLH에 커뮤게이션되는 웨티드를 제조하기 위해 추가될 수도 있다. 독소 A 또는 독소 B에 특이적인 항체는 추가적인 표지 또는 모이어티를 함유하지 않을 수도 있거나, 또는 그들은 N-말단 또는 C-말단 표지 또는 모이어티를 함유할 수도 있다. 한 구체예에서, 표지 또는 모이어티는 비오틴이다. 결합 검정에서, 표지의 위치는 (있으면) 웨티드가 결합되는 표면에 관하여 웨티드의 배향을 결정할 수도 있다. 예를 들어, 표면이 아비딘으로 코팅되면, N-말단 비오틴을 함유하는 웨티드는 웨티드의 C-말단 부분이 표면에 대하여 말단이 되도록 배향될 것이다.

에피토프 맵핑(mapping) 및 관련 기술

[0203] 당업자에게 알려진 다양한 기술은 항체가 폴리웨티드 또는 단백질 내의 "하나 이상의 아미노산과 상호작용하는지"를 결정하기 위해 사용될 수 있다. 예시적 기술은, 예를 들어, 상기 설명된 항체와 같이 보통의 교차-차단 검정을 포함하고, Harlow and Lane (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)이 수행될 수 있다. 다른 방법은 알라닌 스캐닝 돌연변이 분석(alanine scanning mutational analysis), 웨티드 블롯 분석(peptide blot analysis) (Reineke (2004) Methods Mol Biol 248:443-63), 웨티드 분할 분석 (peptide cleavage analysis), 결정학적 연구 및 NMR 분석을 포함한다. 게다가, 에피토프 배제, 에피토프 추출 및 항원의 화학적 변형과 같은 방법이 이용될 수 있다 (Tomer (2000) Protein Science 9: 487-496). 항체가 상호작용하는 폴리웨티드 내에서 아미노산을 확인하기 위해 사용될 수 있는 또 다른 방법은 질량분석에 의해 검출된 수소/중수소 교환이다. 일반적인 용어에서, 수소/중수소 교환 방법은 원하는 단백질을 중수소로 표시한 후, 이어서 항체를 중수소-표지된 단백질에 결합시키는 단계를 포함한다. 그 다음, 단백질/항체 복합체는 물로 이동되고 항체에 의해 보호된 아미노산 내의 교환 가능한 양성자는 계면의 일부가 아닌 아미노산 내의 교환 가능한 양성자보다 더 느린 속도로 중수소-대-수소 역-교환을 경험한다. 결과로서, 단백질/항체 계면의 일부를 형성하는 아미노산은 중수소를 유지할 수도 있고 그러므로 계면에 포함되지 않은 아미노산과 비교하여 상대적으로 더 높은 질량을 나타낸다.

낸다. 항체의 해리 후, 표적 단백질은 프로테아제 분할 및 질량분석을 받고, 이로 인해 항체가 상호작용하는 특이적 아미노산과 일치하는 중수소-표지된 잔기를 나타낸다. 예컨대, Ehring (1999) Analytical Biochemistry 267 (2):252-259; Engen and Smith (2001) Anal. Chem. 73:256A-265A를 참고하면 된다.

[0204] 용어 "에피토프"는 B 및/또는 T 세포가 반응하는 항원상의 부위를 나타낸다. B-세포 에피토프는 단백질의 3차 폴딩에 의해 병지된 인접한 아미노산 또는 인접하지 않은 아미노산 둘 다로부터 형성될 수 있다. 인접한 아미노산으로부터 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매에 노출시 유지되는 반면에, 3차 폴딩에 의해 형성된 에피토프는 전형적으로 변성 용매의 처리시 손실된다. 에피토프는 전형적으로 독특한 공간적 형태로 적어도 3개, 및 더 보통은, 적어도 5개 또는 8-10개의 아미노산을 포함한다.

[0205] 항원 구조-기반 항체 프로파일링 (Antigen Structure-based Antibody Profiling; ASAP)으로도 알려져 있는, 변형-보조 프로파일링 (Modification-Assisted Profiling; MAP)은 각 항체의 화학적으로 또는 효소에 의해 변형된 항원 표면으로의 결합 프로파일의 유사성에 따라 같은 항원에 관련된 다수의 단클론성 항체 (mAbs)의 범주에 있는 방법이다 (제US 2004/0101920호). 각 범주는 또 다른 범주에 의해 대표되는 에피토프와 뚜렷하게 다르거나 부분적으로 중첩되는 독특한 에피토프를 반영할 수도 있다. 이 기술은 유전적으로 동일한 항체의 신속한 필터링 (filtering)을 허용하며, 이로 인해 특성화는 유전적으로 별개의 항체에 초점이 맞춰질 수 있다. 히브리도마 스크리닝에 적용될 때, MAP는 원하는 특성을 가진 mAbs를 생산하는 희귀한 히브리도마 클론의 확인을 용이하게 할 수도 있다. MAP는 본 발명의 항체를 다른 에피토프에 결합하는 항체의 군으로 분류하기 위해 사용될 수도 있다.

[0206] 특정 구체예에서, 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체 또는 이것의 항원-결합 단편은 도 1에서, 또는 SEQ ID NOS: 378, 또는 380에서 예시된 영역 중 어느 하나, 또는 독소 A 또는 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인 중 적어도 하나 내의 에피토프, 또는 이것의 단편에 결합하며, 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인은 SEQ ID NO: 375에 나타나고, 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인은 SEQ ID NO: 376으로서 나타난다.

[0207] 본 발명은 표 1에서 본원에서 설명된 특정 예시적 항체 중 어떤 것과 같은 에피토프에 결합하는 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체를 포함한다. 유사하게, 본 발명은 또한 독소 A 또는 B 또는 독소 A 또는 B 단편에 결합에 대하여 표 1에서 본원에서 설명된 특정 예시적 항체 중 어떤 것과 경쟁하는 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체를 포함한다.

[0208] 업계에 알려진 보통 방법을 사용함으로써 항체가 참조 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체와 같은 에피토프에 결합하는지, 또는 이것과 결합에 대하여 경쟁하는지를 쉽게 결정할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 참조 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체와 같은 에피토프에 결합하는지를 결정하기 위해, 참조 항체는 포화 상태 하에서 독소 A 또는 B 단백질 또는 웨티드에 결합하는 것이 허용된다. 그 다음, 독소 A 또는 B 분자에 결합하는 테스트항체의 능력이 평가된다. 테스트 항체가 독소 A 또는 B에 결합한 후 이어서, 참조 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체와 포화 결합할 수 있으면, 테스트 항체는 참조 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체와 다른 에피토프에 결합하는 것으로 결론내려질 수 있다. 반면에, 테스트 항체가 독소 A 또는 독소 B 분자에 결합한 후 이어서 참조 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체와 포화 결합할 수 없으면, 테스트 항체는 본 발명의 참조 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체에 의해 결합된 에피토프와 같은 에피토프에 결합할 수도 있다.

[0209] 항체가 참조 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체와 결합에 대하여 경쟁하는지를 결정하기 위해서, 상기-설명된 결합 방법론이 두 가지 방향으로 수행된다: 첫 번째 방향에서, 참조 항체는 포화 상태 하에서 독소 A 또는 B 분자에 결합한 후 이어서 테스트 항체의 독소 A 또는 B 분자로의 결합을 평가하는 것이 허용된다. 두 번째 방향에서, 테스트 항체는 포화 상태 하에서 독소 A 또는 B 분자에 결합하여 참조 항체의 독소 A 또는 B 분자로의 결합을 평가하는 것이 허용된다. 두 방향에서, 첫 번째 (포화) 항체만이 독소 A 또는 B 분자에 결합할 수 있으면, 테스트 항체 및 참조 항체는 독소 A 또는 B에 결합에 대하여 경쟁하는 것으로 결론내려질 수 있다. 당업자에 의해 인식되는 바와 같이, 참조 항체와의 결합에 대하여 경쟁하는 항체는 참조 항체와 동일한 에피토프에 반드시 결합하지 않을 수도 있지만, 중첩 또는 인접한 에피토프에 결합함으로써 참조 항체의 결합을 입체적으로 차단할 수도 있다.

[0210] 두 개의 항체가 각각 경쟁적으로 다른 것의 항원으로의 결합을 억제(차단)하는 경우에 같거나 중첩되는 에피토프에 결합한다. 즉, 한 항체의 1-, 5-, 10-, 20- 또는 100-배 초과량은 경쟁적 결합 검정에서 측정된 바와 같이 다른 것의 결합을 적어도 50%, 하지만 바람직하게는 75%, 90% 또는 99%만큼 억제한다 (예컨대, Junghans et al., Cancer Res. 1990 50:1495-1502를 참고하면 된다). 대안으로, 두 개의 항체는 항 항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 항원에서 기본적으로 모든 아미노산 돌연변이가 다른 것의 결합을 감소시키거나 제거하면 같은 에피토프를 갖는다. 두 개의 항체는 한항체의 결합을 감소시키거나 제거하는 일부 아미노산 돌연변이가 다른 것

의 결합을 감소시키거나 제거하면 중첩되는 에피토프를 갖는다.

[0211] 추가적인 보통의 실험 (예를 들어, 웨티드 돌연변이 및 결합 분석)은 입체적 차단 (또는 또 다른 현상)이 관찰된 결합의 결핍에 대한 원인인 경우 테스트 항체의 결합의 관찰된 결핍이 사실은 참조 항체와 같은 에피토프에 결합으로 인한 것인지 확인하기 위해 수행될 수 있다. 이 종류의 실험은 ELISA, RIA, 표면 플라스몬 공명, 유동 세포분석법 또는 업계에서 이용 가능한 다른 정량적 또는 정성 항체-결합 검정을 사용하여 수행될 수 있다.

[0212] 면역컨쥬게이트

[0213] 본 발명은 클로스트리듐 디피실리로의 1차 감염의 심각도를 감소시킬 수 있거나, 설사 또는 대장염을 포함하는 클로스트리듐 디피실리 감염과 관련된 적어도 하나의 증상, 또는 이것의 심각도를 개선하기 위한 약제와 같은 치료적 모이어티 ("면역컨쥬게이트")에 컨쥬케이션된 사람 항-독소 A 또는 항-독소 B 단클론성 항체를 포함한다. 이러한 약제는 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 또는 독소 B 중 어떤 것 또는 둘 다, 또는 변성독소, 또는 클로스트리듐 디피실리 백신에 대한 다른 2차 항체일 수도 있다. 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체에 컨쥬케이션될 수도 있는 치료적 모이어티의 타입은 고 치료되기 위한 질병 및 달성되기 위한 원하는 치료 효과를 간주할 것이다. 대안으로, 원하는 치료적 효과가 클로스트리듐 디피실리 감염과 관련된 후유증 또는 증상, 또는 제한은 아니지만, 위막성 대장염과 같은 이러한 감염으로부터 발생하는 어떤 다른 질병을 치료하기 위한 것이면, 질병의 후유증 또는 증상을 치료하거나, 또는 본 발명의 항체의 어떤 부작용도 완화시키는데 적절한 약제를 컨쥬케이션하는 것이 유리할 수도 있다. 면역컨쥬게이트를 형성하는데 적합한 약제의 예는 업계에 알려져 있으며, 예컨대, 제WO 05/103081호를 참고하면 된다.

[0214] 다중-특이적 항체

[0215] 본 발명의 항체는 단일-특이적, 이중-특이적, 또는 다중-특이적일 수도 있다. 다중-특이적 항체는 하나의 표적 폴리펩티드의 다른 에피토프에 특이적일 수도 있거나 또는 하나 이상의 표적 폴리펩티드에 특이적인 항원-결합 도메인을 함유할 수도 있다. 예컨대, Tutt et al., 1991, J. Immunol. 147:60-69; Kufer et al., 2004, Trends Biotechnol. 22:238-244를 참고하면 된다. 본 발명의 항체는 또 다른 기능적 문자, 예를 들어, 또 다른 웨티드 또는 단백질에 결합되거나 또는 이와 동시-발현될 수 있다. 예를 들어, 항체 또는 이것의 단편은 제2 결합 특이성으로 이중-특이적 또는 다중-특이적 항체를 생산하기 위해 또 다른 항체 또는 항체 단편과 같은, 하나 이상의 다른 문자적 실체물에 기능적으로 결합될 수 있다 (예를 들어, 화학적 커플링, 유전적 융합, 비공유결합 또는 그 반대에 의해). 예를 들어, 본 발명은 이중-특이적 항체를 포함하며 면역글로불린의 한 팔은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A, 또는 이것의 단편에 특이적이고, 면역글로불린의 다른 팔은 클로스트리듐 디피실리의 독소 B, 또는 제2 치료적 표적에 특이적이거나, 또는 치료적 모이어티에 컨쥬케이션된다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역글로불린의 한 팔은 독소 A의 C-말단 도메인 상의 에피토프, 또는 이것의 단편에 특이적이고, 면역글로불린의 다른 팔은 독소 B의 C-말단 도메인 상의 에피토프, 또는 이것의 단편에 특이적이다.

[0216] 본 발명의 맥락에서 사용될 수 있는 예시적 이중-특이적 항체 포맷은 제1 면역글로불린 (Ig) C_h3 도메인 및 제2 Ig C_h3 도메인의 사용을 수반하며, 제1 및 제2 Ig C_h3 도메인은 적어도 하나의 아미노산이 서로 다르고, 적어도 하나의 아미노산 차이는 아미노산 차이가 없는 이중-특이적 항체와 비교하여 이중-특이적 항체의 단백질 A로의 결합을 감소시킨다. 한 구체예에서, 제1 Ig C_h3 도메인은 단백질 A에 결합하고 제2 Ig C_h3 도메인은 H95R 변형 (IMGT 엑손 넘버링에 의해; EU 넘버링에 의해 H435R)과 같이, 단백질 A 결합을 감소시키거나 폐지하는 돌연변이를 함유한다. 제2 C_h3은 Y96F 변형 (IMGT에 의해; EU에 ○ 의해 36F)을 더 포함할 수도 있다. 제2 C_h3 내에서 발견될 수도 있는 추가의 변형은 IgG1 항체의 경우에 D16E, L18M, N44S, K52N, V57M, 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의해 D356E, L358M, N384S, K392N, V397M, 및 V422I); IgG2 항체의 경우에 N44S, K52N, 및 V82I (IMGT; EU에 의해 N384S, K392N, 및 V422I); 및 IgG4 항체의 경우에 Q15R, N44S, K52N, V57M, R69K, E79Q, 및 V82I (IMGT에 의해; EU에 의해 Q355R, N384S, K392N, V397M, R409K, E419Q, 및 V422I by EU)를 포함한다. 상기 설명된 이중-특이적 항체 포맷에 대한 변종은 본 발명의 범위 내에서 고려된다.

[0217] 치료적 투여 및 제형

[0218] 본 발명은 본 발명의 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체 또는 이것의 항원-결합 단편을 포함하는 치료적 조성물을 제공한다. 본 발명에 따르는 치료적 조성물의 투여는 적합한 담체, 첨가제, 및 개선된 이동, 전달, 내성, 등을 제공하기 위해 제제에 포함되는 다른 약제와 함께 투여될 것이다. 다수의 적절한 제제는 모든 약화학사에게 알려진 처방서에서 발견될 수 있다: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton,

PA. 이들 제형은, 예를 들어, 분말, 페이스트, 연고, 젤리, 왁스, 오일, 지질, 지질(양이온 또는 음이온) 함유 비히클(예를 들어, LIPOFECTIN™), DNA 컨쥬게이트, 무수 흡착 페이스트, 수중유 및 유중수 에멀젼, 에멀젼 카보왁스(다양한 분자량의 폴리에틸렌 글리콜), 반고체 젤, 및 카보왁스 함유 반고체 혼합물을 포함한다. 또한 Powell et al. "Compendium of excipients for parenteral formulations" PDA (1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311을 참고하면 된다.

[0219] 본 발명의 항체 각각의 용량은 투여되는 대상체의 나이 및 크기, 표적 질환, 상태, 투여 경로, 등에 따라 다를 수도 있다. 본 발명의 항체가 환자의 클로스트리듐 디피실리 감염을 치료하는데, 또는 환자의 클로스트리듐 디피실리 감염과 관련된 설사 또는 대장염과 같이, 환자의 클로스트리듐 디피실리 감염과 관련된 하나 이상의 증상을 치료하는데, 또는 질환의 악화를 방지하는데, 또는 질환의 심각도를 줄이는데 사용될 때, 보통은 약 0.01 내지 약 30 mg/kg 체중, 더 바람직하게 약 0.1 내지 약 20 mg/kg 체중, 또는 약 0.1 내지 약 15 mg/kg 체중, 또는 약 0.02 내지 약 7 mg/kg 체중, 또는 약 0.03 내지 약 5 mg/kg 체중, 또는 약 0.05 내지 약 3 mg/kg 체중, 또는 약 1 mg/kg 체중, 또는 약 3.0 mg/kg 체중, 또는 약 10 mg/kg 체중, 또는 약 20 mg/kg 체중의 단일 투여로 정맥 내 또는 피하로 본 발명의 항체 각각을 투여하는 것이 유리하다. 다회수 용량이 필요한 만큼 투여 될 수도 있다. 질병의 심각도에 따라서, 치료의 빈도 및 기간이 조정될 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 항체 또는 이것의 항원-결합 단편이 적어도 약 0.1 mg 내지 약 800 mg, 약 1 내지 약 600 mg, 약 5 내지 약 300 mg, 또는 약 10 내지 약 150 mg, 내지 약 100 mg, 또는 약 50 mg의 초기 용량으로 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, 초기 용량은 초기 용량의 그것보다 거의 같거나 더 적을 수 있는 양의 항체 또는 이것의 항원-결합 단편의 두 번째 또는 이후 복수의 용량의 투여로 이어질 수도 있으며, 이후의 용량은 적어도 적어도 1일 내지 3 일; 적어도 1주; 적어도 2주; 적어도 3주; 적어도 4주; 적어도 5주; 적어도 6주; 적어도 7주; 적어도 8주; 적어도 9주; 적어도 10주; 적어도 12주; 또는 적어도 14주로 나누어진다.

[0220] 다양한 전달 시스템, 예를 들어, 리포솜에 캡슐화, 미세입자, 미소캡슐, 돌연변이 바이러스를 발현할 수 있는 재조합 세포, 수용체 매개된 식균작용이 알려져 있고 본 발명의 약학적 조성물을 투여하기 위해 사용될 수 있다(예컨대, Wu et al. (1987) J. Biol. Chem. 262:4429-4432를 참고하면 된다). 도입 방법은 피내, 경피, 근육내, 복강 내, 정맥 내, 피하, 비강 내, 경막 외 및 구강 경로를 포함하지만, 이에 제한되지 않는다. 조성물은 어떤 통상적인 경로로도, 예를 들어, 투입 또는 볼루스(bolus) 주사에 의해, 상피 또는 점막피부 라이닝(lining)(예를 들어, 구강 점막, 직장 및 장내 점막, 등)을 통한 흡수에 의해 투여될 수 있고 다른 생물학적 활성제와 함께 투여될 수도 있다. 투여는 전신성 또는 국부성일 수도 있다.

[0221] 약학적 조성물은 또한 소낭에서, 특정 리포솜에서 전달될 수 있다(예컨대, Langer (1990) Science 249:1527-1533을 참고하면 된다).

[0222] 특정 상황에서, 약학적 조성물은 제어된 방출 시스템에서 전달될 수 있다. 한 구체예에서, 펌프가 사용될 수도 있다. 또 다른 구체예에서, 고분자 물질이 사용될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 제어된 방출 시스템은 조성물의 표적에 근접하게 배치될 수 있고, 따라서 전신 용량의 일부만을 필요로 한다.

[0223] 주사 가능한 조제물은 정맥 내, 피하, 피내 및 근육 내 주사, 점적 주입, 등을 위한 투약 형태를 포함할 수도 있다. 이들 주사 가능한 조제물은 공개적으로 알려진 방법에 의해 제조될 수도 있다. 예를 들어, 주사 가능한 조제물은, 예를 들어, 주사에 통상적으로 사용되는 멀균 수성 배지 또는 유성 배지 중의 상기 설명된 항체 또는 그것의 염을 용해시키거나, 혼탁하거나 에멀젼화함으로써 제조될 수도 있다. 주사용 수성 배지로서, 예를 들어, 생리 식염수, 글루코스 및 다른 보조제, 등을 함유하는 등장성 용액이 있으며, 이것은 알콜(예를 들어, 에탄올), 다가 알콜(예를 들어, 프로필렌 글리콜, 폴리에틸렌 글리콜), 비이온성 계면활성제 [예를 들어, 폴리 소르베이트 80, HCO-50(수소첨가 피마자 오일의 폴리옥시에틸렌(50 mol 부가물))], 등과 같은 적절한 가용화제와 함께 사용될 수도 있다. 유성 배지로서, 예를 들어, 침기름, 콩기름, 등이 이용되며, 이것들은 벤질 벤조에이트, 벤질 알콜, 등과 같은 가용화제와 함께 사용될 수도 있다. 따라서 제조된 주사액은 바람직하게 적절한 앰플에 채워진다.

[0224] 본 발명의 약학적 조성물은 표준 바늘 및 주사기로 피하 또는 정맥 내로 전달될 수 있다. 게다가, 피하 전달에 관하여, 웨ن 전달 장치는 본 발명의 약학적 조성물을 전달하는데 쉽게 적용될 수 있다. 이러한 웨ن 전달 장치는 재사용 가능하거나 또는 일회용일 수 있다. 재사용 가능한 웨ن 전달 장치는 일반적으로 약학적 조성물을 함유하는 대체 가능한 카트리지를 활용한다. 카트리지 내의 약학적 조성물 모두가 투여되어 카트리지가 비면, 빈 카트리지는 쉽게 제거되고 약학적 조성물을 함유한 새 카트리지로 대체된다. 웨ن 전달 장치는 그때 재사용 가능하다. 일회용 웨ن 전달 장치에서는, 대체 가능한 카트리지가 없다. 오히려, 일회용 웨ن 전달 시스템은 장치 내 레저버

(reservoir)에 들어있는 약학적 조성물로 미리 채워져 있다. 레저버에 약학적 조성물이 없으면, 전체 장치가 제거된다.

[0225]

많은 재사용 가능한 펜 및 자기주사기 전달 장치는 본 발명의 약학적 조성물의 피하 전달에 적용된다. 예는 단지 몇 가지의 이름으로 AUTOPEN™ (Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK), DISETRONIC™ 펜 (Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland), HUMALOG MIX 75/25™ 펜, HUMALOG™ 펜, HUMALIN 70/30™ 펜 (Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN), NOVOPEN™ I, II 및 III (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), NOVOPEN JUNIOR™ (Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark), BD™ 펜 (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ), OPTIPEN™, OPTIPEN PRO™, OPTIPEN STARLET™, 및 OPTICLIK™ (sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)을 포함하지만, 분명히 이에 제한되는 것은 아니다. 본 발명의 약학적 조성물의 피하 전달에 적용되는 일회용 펜 전달 장치의 예는 단지 몇 가지의 이름으로 SOLOSTAR™ 펜 (sanofi-aventis), FLEXPENTM (Novo Nordisk), 및 KWIKPEN™ (Eli Lilly), SURECLICK™ 자기주사기 (Amgen, Thousand Oaks, CA), PENLET™ (Haselmeier, Stuttgart, Germany), EPIPEN (Dey, L.P.) 및 HUMIRA™ 펜 (Abbott Labs, Abbott Park, IL)을 포함하지만, 분명히 이에 제한되는 것은 아니다.

[0226]

유리하게는, 상기 설명된 경구 또는 비경구 사용을 위한 약학적 조성물은 활성 성분의 용량을 맞추기 위해 적합한 단위 용량의 투약 형태로 제조된다. 단위 용량의 이러한 투약 형태는, 예를 들어, 타블렛, 알약, 캡슐, 주사(앰플), 죠약, 등을 포함한다. 함유된 상기 언급된 항체의 양은 일반적으로 단위 용량의 투약 형태 당, 특히 주사의 형태에서, 약 5 내지 약 500 mg이다. 상기 언급된 항체는 다른 투약 형태에 대하여 약 5 내지 약 100 mg 및 약 10 내지 약 250 mg로 함유되는 것이 바람직하다.

[0227]

투여 요법

[0228]

본 발명의 특정 구체예에 따라, 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 다회수 용량이 한정된 시간 과정 동안 대상체에 투여될 수도 있다. 본 발명의 이 양태에 따르는 방법은 환자에게 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 다회수 용량을 순차적으로 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, "순차적 투여"는 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 각 용량이 대상체에 다른 시점에, 예를 들어, 미리 정해진 간격 (예를 들어, 시간, 일, 주 또는 월)의 다른 날에 투여되는 것을 의미한다. 본 발명은 환자에게 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 초기 일회 용량, 이어서 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 일회 이상의 2차 용량, 및 이어서 선택적으로 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 일회 이상의 3차 용량을 순차적으로 투여하는 단계를 포함하는 방법을 포함한다.

[0229]

용어 "초기 용량", "2차 용량", 및 "3차 용량"은 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 투여의 일시적 순서를 나타낸다. 따라서, "초기 용량"은 치료 요법의 시작에 투여되는 용량 ("베이스라인 용량"으로도 불림)이고, "2차 용량"은 초기 용량 이후에 투여되는 용량이고, "3차 용량"은 2차 용량 이후에 투여되는 용량이다. 초기, 2차, 및 3차 용량은 모두 같은 양의 독소 A 및/또는 B에 대한 항체를 함유할 수도 있지만, 일반적으로는 투여의 빈도에 관하여 서로 다를 수도 있다. 하지만, 특정 구체예에서는, 초기, 2차 및/또는 3차 용량에 함유된 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 양은 치료의 과정 중에 서로 다르다 (예를 들어, 적절하게 상향 또는 하향 조정된다). 특정 구체예에서, 이회 이상 (예를 들어, 2, 3, 4, 또는 5)의 용량은 "로딩 용량"으로서 치료 요법의 시작에 투여된 후, 이어서 이후의 용량 (예를 들어, "유지 용량")이 덜 빈번한 기준으로 투여된다.

[0230]

본 발명의 한 예시적 구체예에서, 각 2차 및/또는 3차 용량은 직전 용량 후 1 내지 26 (예를 들어, 1, 1½, 2, 2½, 3, 3½, 4, 4½, 5, 5½, 6, 6½, 7, 7½, 8, 8½, 9, 9½, 10, 10½, 11, 11½, 12, 12½, 13, 13½, 14, 14½, 15, 15½, 16, 16½, 17, 17½, 18, 18½, 19, 19½, 20, 20½, 21, 21½, 22, 22½, 23, 23½, 24, 24½, 25, 25½, 26, 26½, 이상) 주에 투여된다. 구절 "직전 용량"은, 본원에서 사용된 바와 같이, 다회수 투여의 순서대로, 중간 용량이 없는 순서로 바로 다음 용량의 투여 전에 환자에게 투여되는 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 용량을 의미한다.

[0231]

본 발명의 이 양태에 따르는 방법은 환자에게 독소 A 및/또는 B에 대한 항체의 2차 및/또는 3차 용량 중 어떤 수를 투여하는 단계를 포함할 수도 있다. 예를 들어, 특정 구체예에서, 단 일회의 2차 용량이 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 2회 이상 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회 이상)의 2차 용량이 환자에게 투여된다. 유사하게, 특정 구체예에서, 단 일회의 3차 용량이 환자에게 투여된다. 다른 구체예에서, 2회 이상 (예를 들어, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8회 이상)의 3차 용량이 환자에게 투여된다.

[0232]

다회수 2차 용량을 수반하는 구체예에서, 각 2차 용량은 다른 2차 용량과 같은 빈도로 투여될 수도 있다. 예를

들어, 각 2차 용량은 직전 용량 이후 1 내지 2주에 환자에게 투여될 수도 있다. 유사하게, 다회수 3차 용량을 수반하는 구체예에서, 각 3차 용량은 다른 3차 용량과 같은 빈도로 투여될 수도 있다. 예를 들어, 각 3차 용량은 직전 용량 이후 2 내지 4주에 환자에게 투여될 수도 있다. 대안으로, 2차 및/또는 3차 용량이 환자에게 투여되는 빈도는 치료 요법의 과정의 흐름에 따라 달라질 수도 있다. 투여의 빈도는 또한 임상적 실험에 따라 개개의 환자의 필요에 의존적으로 의사에 의해 치료의 과정 중에 조정될 수도 있다.

[0233] 항체의 치료적 사용

클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B와 그것들의 상호작용으로 인해, 본 항체는 1차 클로스트리듐 디피실리 질환 또는 질병, 또는 설사 또는 대장염과 같은, 질환 또는 질병과 관련된 적어도 하나의 증상을 치료하거나, 또는 질환의 악화를 방지하거나, 또는 질환의 심각도, 기간, 및/또는 재발의 빈도를 줄이는데 유용하다. 본 발명의 항체는 또한 클로스트리듐 디피실리 감염에 걸리거나 이를 얻을 위험이 있는 환자에서 예방적 사용을 위해 고려된다. 이 환자들은 고령자 (예를 들어, 65살 이상인 사람), 또는 질병으로 인해 면역력이 손상되거나 면역 억제 치료제로 치료되는 환자, 또는 클로스트리듐 디피실리 감염에 취약하게 만드는 기본적인 의학적 상태를 가질 수도 있는 환자 (예를 들어, 암, 염증성 장질환, 복수가 축적된 이전-간 이식 환자), 또는 병원성 감염을 얻기 쉽게 만드는, 장기간 병원에 입원한 환자 (예를 들어, 일부 경우에서 이 기간은 최소 2 또는 3일에서 벗어날 수도 있지만, 일반적으로는 1주 내지 2주 또는 그 이상일 수 있다), 또는 광범위한 항생제로 장기간 (≥ 14 일) 치료 중인 환자 (일부 예에서, 환자는 소화관이 조절되지 않으면 24시간 내에 감염을 얻을 수도 있지만, 다른 예에서 이것은 훨씬 더 오래, 예를 들어, 1주 또는 그 이상 걸릴 수도 있다), 또는 위장관 질환의 치료를 위해 양성자 펌프 억제제로 치료 중인 환자를 포함한다. 본 발명의 항체가 단독으로, 또는 클로스트리듐 디피실리 감염을 치료하기 위한, 또는 이러한 감염과 관련된, 또는 이로부터 발생하는 설사 또는 대장염과 같이, 클로스트리듐 디피실리 감염과 관련된 적어도 하나의 증상 또는 합병증을 완화시키기 위한 2차 약제, 또는 3차 약제와 함께 사용될 수도 있는 것으로 고려된다. 2차 또는 3차 약제는 본 발명의 항체와 동시에 전달될 수도 있거나, 또는 그것들은 본 발명의 항체와 별개로, 이전에 또는 이후에 투여될 수도 있다.

본 발명의 추가의 구체예에서, 본 항체는 클로스트리듐 디피실리의 임상적으로 적절한 고감염성 균주에 의해 유발된 상기 감염, 또는 클로스트리듐 디피실리 감염과 관련된 설사 및 대장염을 포함하는, 클로스트리듐 디피실리 감염으로 고통받는 환자를 치료하기 위한 약학적 조성물의 제조에 사용된다. 본 발명의 또 다른 구체예에서, 본 항체는 클로스트리듐 디피실리로의 1차 감염의 심각도를 감소시키거나, 또는 클로스트리듐 디피실리의 심각도, 기간, 및/또는 이것으로의 재발의 수를 감소시키기 위한 약학적 조성물의 제조에 사용된다. 본 발명의 추가의 구체예에서, 본 항체는 클로스트리듐 디피실리 감염을 치료하는데 유용한 어떤 다른 약제로의 부가적 치료로서 사용되며, 생균제, 항생제, 변성독소, 백신, 또는 당업자에게 알려진 어떤 다른 완화 치료도 포함한다.

[0236] 조합 치료

특정 구체예에 따르는, 본 발명의 방법은 대상체에게 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 항체와 조합된 하나 이상의 추가적 치료제를 투여하는 단계를 포함한다. 본원에서 사용된 바와 같이, 표현 "와 조합하여"는 추가적 치료제가 항-독소 A 및/또는 B 항체를 포함하는 약학적 조성물 이전에, 이후에, 또는 이와 동시에 투여된다는 것을 의미한다. 용어 "와 조합하여"는 또한 항-독소 A 및/또는 B 항체 및 제2 치료제의 순차적 또는 부수적 투여를 포함한다.

예를 들어, 항-독소 A 및/또는 B 항체를 포함하는 약학적 조성물 "이전에" 투여될 때, 추가적 치료제는 항-독소 A 및/또는 B 항체를 포함하는 약학적 조성물의 투여 전 약 72시간, 약 60시간, 약 48시간, 약 36시간, 약 24시간, 약 12시간, 약 10시간, 약 8시간, 약 6시간, 약 4시간, 약 2시간, 약 1시간, 약 30분, 약 15분 또는 약 10분에 투여될 수도 있다. 항-독소 A 및/또는 B 항체를 포함하는 약학적 조성물 "이후에" 투여될 때, 추가적 치료제는 항-독소 A 및/또는 B 항체를 포함하는 약학적 조성물의 투여 후 약 10분, 약 15분, 약 30분, 약 1 hour, 약 2시간, 약 4시간, 약 6시간, 약 8시간, 약 10시간, 약 12시간, 약 24시간, 약 36시간, 약 48시간, 약 60시간 또는 약 72시간에 투여될 수도 있다. 항-독소 A 및/또는 B 항체를 포함하는 약학적 조성물과 "동시에" 투여는 추가적 치료제가 항-독소 A 및/또는 B 항체를 포함하는 약학적 조성물의 투여의 5분 미만 내에 별개의 투약 형태로 대상체에 투여되거나, 또는 추가적 치료제 및 항-독소 A 및/또는 B 항체 둘 다를 포함하는 일회 결합된 투약 제제로서 대상체에게 투여된다는 것을 의미한다.

조합 치료는 본 발명의 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체 및 본 발명의 항체와, 또는 본 발명의 항체의 생물학적 활성 단편과 유리하게 결합될 수 있는 어떤 추가적 치료제도 포함할 수 있다.

[0240] 예를 들어, 제2 또는 제3 치료제가 클로스트리듐 디피실리에 관하여 세균 발육 저지성(bacteriostatic) 또는 살 세균성(bacteriocidal)인 항생제와 같이, 내장에서 박테리아 부하를 감소시키는 것을 돋기 위해 이용될 수도 있다. 예시적 항생제는 반코마이신, 메트로니다졸, 또는 페닥소마이신을 포함한다. 항체는 또한 변성독소, 클로스트리듐 디피실리에 특이적인 백신, 또는 사카로미세스 볼라디이(Saccharomyces boulardii)와 같은 생균제와 같은 다른 치료와 함께 사용될 수도 있다.

항체의 진단적 사용

[0242] 본 발명의 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체는 또한 샘플에서 독소 A 또는 B를 검출하고 및/또는 측정하기 위해, 예를 들어, 진단적 목적을 위해 사용될 수도 있다. 클로스트리듐 디피실리에 의해 유발되는 것으로 생각되는 감염의 확인은 본 발명의 항체 중 하나 이상의 사용을 통해 독소 A 또는 독소 B의 존재를 측정함으로써 이루어질 수도 있다고 생각된다. 독소 A 또는 독소 B에 대한 예시적 진단 검정은, 예를 들어, 환자로부터 얻은 샘플을 본 발명의 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체와 접촉시키는 단계를 포함하며, 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체는 검출 가능한 표지 또는 리포터 분자로 표지되고 환자 샘플로부터 독소 A 또는 독소 B 단백질을 선택적으로 분리하기 위한 캡쳐 리간드로서 사용된다. 대안으로, 표지되지 않은 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체는 진단적 적용에서 자체 검출 가능하게 표지된 2차 항체와 결합하여 사용될 수 있다. 검출 가능한 표지 또는 리포터 분자는 ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , 또는 ^{125}I 와 같은 방사성 동위원소; 플루오레세인 이소티오시아네이트, 또는 로다민과 같은 형광발광 또는 화학발광 모이어티; 또는 알칼린 포스파타제, β -갈락토시다제, 홀스래디쉬 퍼옥시다제, 또는 루시퍼라제와 같은 효소일 수 있다. 샘플에서 독소 A 또는 독소 B를 검출하거나 측정하기 위해 사용될 수 있는 특정 예시적 검정은 효소-결합된 면역흡착 검정(ELISA), 방사면역분석(RIA), 및 형광발광-활성화 세포 분석(FACS)을 포함한다.

[0243] 본 발명에 따르는 클로스트리듐 디피실리 진단 검정에 사용될 수 있는 샘플은 환자로부터 얻을 수 있는 어떤 조직 또는 유동체 샘플도 포함하며, 이것은 정상 또는 병리학적 조건 하에서, 검출 가능한 양의 클로스트리듐 디피실리 독소 A 또는 독소 B 단백질, 또는 이것의 단편을 함유한다. 일반적으로, 건강한 환자(예를 들어, 클로스트리듐 디피실리의 존재와 관련된 질환 또는 질병을 앓고 있지 않은 환자)로부터 얻은 특정 샘플에서 독소 A 또는 독소 B의 수준은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 또는 독소 B의 베이스라인, 또는 기준, 수준을 초기에 확립하기 위해 측정될 것이다. 독소 A 또는 독소 B의 이 베이스라인 수준은 클로스트리듐 디피실리 관련 질환 또는 질병, 또는 이러한 질환 또는 질병과 관련된 증상에 걸린 것으로 의심되는 개인으로부터 얻은 샘플에서 측정된 독소 A 또는 독소 B의 수준과 비교될 수 있다.

실시예

[0245] 다음 실시예는 당업자에게 본 발명의 방법 및 조성을 만들고 사용하는 방법의 완벽한 개시 및 설명을 제공하기 위해 제안되고, 발명자들이 그들의 발명으로 간주하는 것의 범위를 제한하려는 것은 아니다. 사용된 숫자(예를 들어, 양, 온도, 등)에 관하여 정확도를 보장하기 위해 노력하였지만 일부 실험 오차 및 편차가 설명되어야 한다. 달리 지시되지 않으면, 일부는 중량의 일부이고, 분자량은 평균 분자량이며, 온도는 섭씨 온도이고, 압력은 대기압 근처이다.

실시예 1. 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 사람 항체의 생성

[0247] 다음 중 어느 하나를 포함하는 면역원을 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 항체를 생성하기 위해 사용할 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명의 항체를 클로스트리듐 디피실리의 전체 길이, 고유한, 불활성화된 독소 A (GenBank 수납 번호 CAA63564 (SEQ ID NO: 378)를 참고하면 된다), 및/또는 독소 B (GenBank 수납 번호 CAJ67492 (SEQ ID NO: 380)를 참고하면 된다)와 같은 1차 면역원, 또는 2차 면역원으로의 면역화로 이어지는, 독소, 또는 독소 단편, 또는 변성독소의 재조합, 하지만 불활성화된 형태, 또는 고유한 독소의 면역원성 활성 단편으로 면역화된 마우스로부터 얻었다. 동물을 불활성화된 독소 A 단독 또는 불활성화된 독소 B 단독, 또는 불활성화된 독소 A 및 불활성화된 독소 B로 동시에 면역화할 수 있다. 독소를 포름알데히드, 글루타르알데히드, 퍼옥시다제의 처리, 또는 산소 처리를 포함하는, 변성독소를 제조하는 표준 과정을 사용하여 면역원으로서 사용 전에 불활성화할 수 있다 (Relyveld, et al. Methods in Enzymology, 93:24, 1983, Woodrow and Levine, eds. New Generation Vaccines, Marcel Dekker, Inc., New York, 1990). 불활성화의 또 다른 수단은 UDP-디알데히드의 사용에 의한 것이며 (Genth et al., (2000), Infect. Immun. 68(3):1094-1101), 이것은 다른 불활성화 방법과 비교하여 독소의 고유한 구조를 보존하기 위해 작용할 수도 있으며, 이로 인해 고유한 독소와 더 반응성인 항체를 유도할 가능성을 향상시킨다. 대안으로, 클로스트리듐 디피실리의 돌연변이 독소는, 감소된 독성

을 나타내며, 표준 재조합 기술을 사용하여 생산되고 면역원으로 사용될 수도 있다 (예컨대, 제US 5,085,862호; 제5,221,618호; 제5,244,657호; 제5,332,583호; 제5,358,868호; 및 5,433,945호를 참고하면 된다). 이러한 돌연변이는 독소의 활성 부위에 결실 또는 점 돌연변이를 함유할 수도 있다.

[0248] 특정 구체예에서, 본 발명의 항체를 고유한 독소 A 또는 독소 B의 생물학적 활성 및 면역원성 단편, 또는 이것의 활성 단편을 암호화하는 DNA와 같은, 1차 면역원으로 면역화된 마우스로부터 얻었다. 특정 구체예에서, 면역원은 독소 A 및/또는 독소 B의 N 말단 또는 C 말단의 웨티드, 또는 독소 A 및/또는 독소 B의 N 또는 C 말단 웨티드로부터 유래된 단편일 수도 있다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역원은 SEQ ID NO: 378의 약 아미노산 잔기 1832-2710의 범위에 있는 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인이다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역원은 SEQ ID NO: 375에서 나타난 독소 A의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인이다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역원은 SEQ ID NO: 380의 약 아미노산 잔기 1834-2366의 범위에 있는 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인이다. 본 발명의 특정 구체예에서, 면역원은 SEQ ID NO: 376에서 나타난 독소 B의 카르복시 말단 수용체 결합 도메인이다.

[0249] 따라서, 한 구체예에서, 본 발명의 항체를 불활성화된 전체 길이 독소 A (변성독소), 또는 불활성화된 전체 길이 독소 B (변성독소), 또는 변성독소 둘 다로 면역화된 마우스로부터 얻었다. 게다가, 한 구체예에서, 항체를 클로스트리듐 디피실리 독소 A의 카르복시-말단 수용체 결합 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 또는 디피실리 독소 B의 카르복시-말단 수용체 결합 도메인의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드, 또는 동시에 둘 다로 면역화된 마우스로부터 얻었다.

[0250] 특정 구체예에서, 클로스트리듐 디피실리 독소 A 또는 독소 B에 특이적으로 결합하는 항체를 상술된 영역의 단편, 또는 지정된 영역을 너머 본원에서 설명된 영역의 N 또는 C 말단 끝, 또는 둘 다로부터 약 5 내지 약 20개의 아미노산 잔기만큼 연장된 웨티드를 사용하여 제조할 수도 있다. 특정 구체예에서, 상술된 영역의 어떤 조합 또는 이것의 단편도 독소 A 또는 독소 B 특이적 항체의 제조에 사용할 수 있다. 특정 구체예에서, 독소 A 또는 독소 B의 상술된 영역 중 하나 이상, 또는 이것의 단편도 단일특이적, 이중특이적, 또는 다중특이적 항체를 제조하는데 사용될 수 있다.

[0251] 면역원으로 사용된 전체 길이 단백질, 또는 이것의 카르복시-말단 단편을, 상기 언급된 바와 같이, 면역 반응을 자극하기 위한 보조제와 함께, 사람 면역글로불린 중쇄 및 카파 경쇄 가변 영역을 암호화하는 DNA를 포함하는 VELOCIMMUNE® 마우스에 직접 투여하였다. 항체 면역 반응을 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B-특이적 면역검정에 의해 관찰하였다. 원하는 면역 반응이 달성되었을 때 지라세포를 수확하였고 마우스 골수종 세포와 융합하여 그것들의 생존력을 보존하고 히브리도마 세포주를 형성하였다. 히브리도마 세포주를 스크리닝하였고 클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B-특이적 항체를 생산하는 세포주를 확인하기 위해 선택하였다. 이 기술, 및 상기 설명된 다양한 면역원을 사용하여, 여러 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 독소 B, 뿐만 아니라 교차-반응성, 키메라 항체 (즉, 사람 가변 도메인 및 마우스 불변 도메인을 소유하는 항체)를 얻었다; 이 방식으로 생성된 특정 예시적 항체를 H1H3067N, H1H3134N, H1H3117N, H1M3123N, H1M3121N 및 H1M3124N으로 지정하였다.

[0252] 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 독소 B 항체를 또한, 제U.S. 2007/0280945A1호에서 설명된 바와 같이, 골수종 세포에 융합되지 않은 항원-양성 B-세포로부터 직접 분리하였다. 이 방법을 사용하여, 여러 완전한 사람 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 독소 B 항체 (즉, 사람 가변 도메인 및 사람 불변 도메인을 소유하는 항체)를 얻었다; 이 방식으로 생성된 예시적 항체를 다음과 같이 지정하였다: H1H3328P, H1H3324P, H1H3325P, H1H3330P, H1H3350P, H1H3347P, H1H3335P, H1H3344P, H1H3339P, H1H3337P, H1H3343P, H1H3411P, H1H3354P, H1H3317P, H1H3355P, H1H3394P 및 H1H3401P.

[0253] 이 실시예의 방법에 따라 생성된 예시적 항체의 생물학적 속성은 하기 제시된 실시예에서 상세히 설명된다.

실시예 2. 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열

[0255] 표 1은 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 특이적인 선택된 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 영역 아미노산 서열 쌍, 및 그것들의 해당 항체 식별자를 제시한다. 항체는 전형적으로 다음 명명법에 따라 본원에서 나타난다: Fc 접두사 (예를 들어 "H4H", "H1M", "H2M")에 이은, 숫자 식별자 (예를 들어, 표 1에 나타난 "3117")에 이은, "P" 또는 "N" 접미사. 따라서, 이 명명법에 따라, 항체는, 예를 들어, "H1H3117"로 불릴 수도 있다. 본원에서 사용된 항체 명칭에 대한 접두사 H4H, H1M, 및 H2M은 항체의 특정 Fc 영역을 지시한다. 예를 들어, "H2M" 항체는 마우스 IgG2 Fc를 갖는 반면에, "H4H" 항체는 사람 IgG4 Fc를 갖는다. 당업자에게 인식되는

바와 같이, H1M 또는 H2M 항체는 H4H 항체로, 및 그 반대로 전환될 수 있지만, 어떤 사건에서, 표 1에서 나타난 숫자 식별자에 의해 지시되는 가변 도메인 (CDR 포함)은 동일하게 유지될 것이다. 숫자 항체 명칭은 같지만, N, B 또는 P의 문자 접미사가 다른 항체는 동일한 CDR 서열을 갖지만 CDR 서열의 범위 밖에 있는 영역 (즉, 프레임워크 영역)의 서열 변형을 갖는 중쇄 및 경쇄를 가진 항체를 나타낸다. 따라서, 특정 항체의 N, B 및 P 변종은 중쇄 및 경쇄 가변 영역 내에서는 동일한 CDR 서열을 갖지만 그것들의 프레임워크 영역 내에서는 서로 다르다.

[0256] 항체 비교기

[0257] 항-독소 A 및 항-독소 B 대조군을 비교의 목적을 위해 다음 실시예에 포함하였다. 이소타입 일치 음성 대조군을 또한 실시예에서 사용하였다. 한 항-독소 A 대조군 항체는 대조군 I로서 본원에서 지정되고 제US7625559호 및 제US2005/0287150호에서 제시된 바와 같이 "3D8" 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 서열을 가진 항-독소 A 항체이다. 한 항-독소 B 항체는 대조군 II로서 본원에서 지정되고 제US7625559호 및 제US2005/0287150호에서 제시된 바와 같이 "124-152" 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 서열을 가진 항-독소 B 항체이다. 또 다른 항-독소 A 항체는 대조군 III으로서 본원에서 지정되고 제US2009/0087478호에서 제시된 바와 같이 "3358" 항체의 중쇄 및 경쇄 가변 도메인 서열을 갖는 항-독소 A 항체이다.

표 1

항체 명칭	SEQ ID Nos:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H3117N	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H3134N	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H3067N	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H3121N	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H3123N	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H3124N	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H3324P	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H3325P	114	116	118	120	122	124	126	128
H1H3328P	130	132	134	136	138	140	142	144
H1H3330P	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H3350P	162	164	166	168	170	172	174	176
H1H3317P	178	180	182	184	186	188	190	192
H1H3335P	194	196	198	200	202	204	206	208
H1H3337P	210	212	214	216	218	220	222	224
H1H3339P	226	228	230	232	234	236	238	240
H1H3343P	242	244	246	248	250	252	254	256
H1H3344P	258	260	262	264	266	268	270	272
H1H3347P	274	276	278	280	282	284	286	288
H1H3354P	290	292	294	296	298	300	302	304
H1H3355P	306	308	310	312	314	316	318	320
H1H3394P	322	324	326	328	330	332	334	336
H1H3401P	338	340	342	344	346	348	350	352
H1H3411P	354	356	358	360	362	364	366	368

[0259]

[0260] 실시예 3. 가변성 유전자 활용 분석

[0261] 생산된 항체의 구조를 분석하기 위해, 항체 가변 영역을 암호화하는 핵산을 클로닝하였고 시퀀싱하였다. 항체의 핵산 서열 및 예측된 아미노산 서열로부터, 각 중쇄 가변 영역 (HCVR) 및 경쇄 가변 영역 (LCVR)에 대한 유전자 사용법을 확인하였다. 표 2는 본 발명에 따르는 선택된 항체에 대한 유전자 사용법을 제시한다.

[0262]

표 2

항체	항체 식별자	HCVR			LCVR	
		V _H	D _H	J _H	V _K	J _K
H1H3067N	34/42	3-30	6-6	4	4-1	4
H1H3134N	18/26	3-33	3-10	4	4-1	3
H1H3117N	2/10	3-23	1-7	4	3-20	2
H1H3123N	66/74	3-48	4-11	6	1-5	1
H1H3121N	50/58	3-48	5-18	6	1-5	1
H1H3124N	82/90	3-48	3-22	6	1-5	1
H1H3328P	130/138	3-13	3-10	6	1-27	3
H1H3324P	98/106	3-13	3-10	6	1-27	3
H1H3325P	114/122	3-23	3-10	6	1-5	1
H1H3330P	146/154	3-33	1-7	4	1-39	5
H1H3350P	162/170	3-11	7-27	4	3-15	2
H1H3347P	274/282	3-23	1-26	4	1-16	3
H1H3335P	194/202	3-23	1-26	4	1-16	3
H1H3344P	258/266	3-23	2-15	4	1-16	3
H1H3339P	226/234	3-23	1-26	4	1-16	3
H1H3337P	210/218	3-23	1-26	5	1-16	3
H1H3343P	242/250	3-23	1-26	4	1-16	3
H1H3411P	354/362	3-23	1-1	6	1D-12	2
H1H3354P	290/298	6-1	2-8	4	3-11	2
H1H3317P	178/186	3-30	3-10	4	1D-12	4
H1H3355P	306/314	3-9	1-26	6	1-6	3
H1H3394P	322/330	1-2	2-2	4	3-20	4
H1H3401P	338/346	3-30	1-1	4	1D-12	2

[0263]

[0264] 실시예 4. 표면 플라스몬 공명에 의해 결정된 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 대한 항체 결합

[0265] 사람 단클론성 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 B 항체의 결합 친화도 및 동역학 상수를 37°C에서 표면 플라스몬 공명에 의해 결정하였다 (표 3-5). 측정을 T200 Biacore 기구에서 실행하였다.

[0266] 사람 IgG1 Fc (AbPID 접두사 H1H) 또는 히브리도마 (AbPID 접두사 HxM)로서 표현되는 항체를 각각 항-사람 또는 항-마우스-Fc 센서 표면 상에 캡쳐하였다 (Mab 캡쳐 포맷). 5 내지 10 nM의 범위에 있는 가용성 전체-길이 독소 A 또는 B (TechLab)를 항체-캡쳐된 표면을 통해 주사하였다. 항체-항원 결합을 150초 동안 관찰하는 한편, 버퍼에서 해리를 480초 동안 관찰하였다. 동역학적 분석을 수행하여 Biacore T200 평가 소프트웨어 1.0을 사용하여 K_D 및 항원/항체 복합체 해리의 반감기를 계산하였다.

[0267] 표 3-5에 나타난 바와 같이, 세 가지 타입의 항체를 분리하였다: 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하는 항체 ("이중 바인더(binder)", 표 3 참조), 독소 A에만 결합하는 항체 (표 4), 및 독소 B에만 결합하는 항체 (표 5). H2M3121N, H2M3123N, H2M3124N, H1H3067N 및 H1H3134N으로 지정된 것들을 포함하는, 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하는 여러 항체를 확인하였으며, 따라서 이중 바인더로서 분류하였다. 분리된 항독소 A 항체는 이소타입 일치 비교기 Mab와 유사한 나노몰 이하 (nM) 범위에서 독소에 결합하는 한편 (대조군 I; 클론 3D8 (A 독소 Ab) 및 클론 124-152 (B 독소 Ab)에 대한 비교기 서열에 대하여 미국 특허 제US7625559호를 참고하면 된다), 몇 개의 항-독소 B 바인더만이 대조군 II 이소타입 일치 비교기 Mab (클론 124-152)의 범위 (-200-300pM)의 친화도를 나타냈다. 결합 해리 평형 상수 및 해리성 반감기를 다음과 같이 동역학 속도 상수로부터 계산하였다: K_D = kd/ka; T1/2 (분) = (ln2/kd)/60.

[0268]

표 3: 37°C에서 항-클로스트리듐 디피실리 이중 결합 mAbs의 Biacore 친화도

37°C에서 결합 / Mab 캡쳐 포맷					
AbPID	분해율질 (독소)	ka ($M s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K _D (질량)	T _{1/2} (분)
H2M3121N	독소 A	9.69E+05	1.66E-04	1.72E-10	69
	독소 B	6.11E+04	7.58E-05	1.24E-09	152
H2M3123N	독소 A	1.23E+06	5.93E-04	4.81E-10	19
	독소 B	3.97E+04	6.54E-05	1.65E-09	176
H2M3124N	독소 A	1.14E+06	1.98E-04	1.74E-10	58
	독소 B	3.31E+05	1.00E-06	3.02E-12	11550
H1H3067N	독소 A	1.44E+05	3.45E-05	2.40E-10	335
	독소 B	2.54E+03	6.43E-04	2.53E-07	18
H1H3134N	독소 A	1.02E+05	2.82E-06	2.78E-11	4096
	독소 B	2.99E+03	9.73E-04	3.25E-07	12

[0269]

표 4: 37°C에서 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A mAbs의 Biacore 친화도

37°C에서 결합 / Mab 캡쳐 포맷					
AbPID	분해율질	ka ($M s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K _D (질량)	T _{1/2} (분)
H1H3117N	독소 A	4.38E+05	3.84E-05	7.93E-11	332
H1H3324P	독소 A	2.51E+05	3.50E-06	1.39E-11	3297
H1H3325P	독소 A	5.27E+05	5.51E-05	1.05E-10	209
H1H3328P	독소 A	3.82E+05	3.66E-05	9.57E-11	316
H1H3330P	독소 A	2.50E+05	1.37E-04	5.47E-10	85
H1H3350P	독소 A	4.02E+05	4.05E-06	1.01E-11	2854
대조군 I	독소 A	3.77E+05	3.24E-05	8.59E-11	58

[0271]

표 5: 37°C에서 항-클로스트리듐 디피실리 독소 B mAbs의 Biacore 친화도

AbPID	분해율질	ka ($M s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K _D (질량)	T _{1/2} (분)
H1H3317P	독소 B	6.50E+05	7.78E-05	1.20E-10	149
H1H3335P	독소 B	1.77E+05	4.14E-04	2.34E-09	28
H1H3337P	독소 B	2.41E+05	9.45E-04	3.93E-09	12
H1H3339P	독소 B	2.76E+05	5.37E-04	1.95E-09	22
H1H3343P	독소 B	2.84E+05	4.48E-04	1.58E-09	26
H1H3344P	독소 B	2.04E+05	8.65E-04	4.24E-09	13
H1H3347P	독소 B	3.39E+05	8.13E-04	2.40E-09	14
H1H3354P	독소 B	NB	NB	NB	
H1H3355P	독소 B	NB	NB	NB	
H1H3394P	독소 B	4.86E+05	1.62E-04	3.33E-10	72
H1H3401P	독소 B	4.20E+05	2.41E-04	5.74E-10	48
H1H3411P	독소 B	2.35E+05	1.59E-04	6.77E-10	73
대조군 II	독소 B	2.11E+06	4.59E-04	2.18E-10	25

[0273]

NB = 테스트된 조건 하에서 결합하지 않음

[0275]

실시예 5. 표면 플라스몬 공명을 사용하여 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 B 항체에 대한 결합 도메인의 결정

[0276]

항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 B 항체가 각 독소의 C-말단 수용체-결합 도메인 (CBD)에 결합했는지 결정하기 위해 연구를 실행하였다. 이 연구들에서, 두 가지 실험적 Biacore 포맷을 이용하였다. 맨 처음 100nM의 CBD-독소 A-Fc (SEQ ID NO:375) 또는 CBD-독소 B-Fc (SEQ ID NO:376)가 넘쳐 흐르는 캡처된 항-클로스트리듐 디피실리 항체 표면을 활용하였고 반응 (RU)을 기록하였다. CBD-독소 시약을 히브리도마 및 사람 Fc 포맷된 항체 분석 둘 다를 가능하게 하기 위해 사람 및 마우스 Fc 둘 다에서 포맷하였다. 두 번째 포맷은 500 nM의 항-클로스트리듐 디피실리 mAb가 넘쳐 흐르는 항원 (CBD-Fc) 캡처된 표면을 활용하였다. 이 포맷에서, 히브리도마 또는 사람 Fc 포맷된 항체는 각각 사람 및 마우스 Fc 캡처된 항원을 넘쳐 흘렀다. 두 개의 포맷에서 배경보다 유의하게 큰 반응 (>50 RU)을 독소 A 또는 B의 CBD에 결합하는 것으로 고려하였다 (표 6 참조). 항-독소 A 및 항-독소 B 항체 둘 다에 대하여, CBD 내부 및 외부에 있는 에피토프를 얻었다. 대조군 I (제US7625559호 및 제US 2005/0287150호의 3D8 항체) 및 대조군 II (제US7625559호 및 제US 2005/0287150호의 124-152 항체) 둘 다를 선행 보고서와 일치하게 그것들 각각의 독소의 CBD로 맵핑하였다 (데이터 미도시; 제US 2005/0287150호 및 제US7625559호 참조).

[0277] 표 6: 클로스트리듐 디피실리 항체에 대한 결합 도메인의 결정

mAb	C-말단 독소 A 결합		C-말단 독소 B 결합		도메인 결합 [#]
	mAb 캡쳐 100nM CBD-A 결합 (RU)	CBD-A 캡쳐 500nM mAB 결합 (RU)	mAB 캡쳐 100nM CBD-B 결합 (RU)	CBD-B 캡쳐 500nM mAb 결합 (RU)	
H2aM3067N	-2	237	25	369	C-말단 A/B
H1M3117N	-3	350	-1	21	C-말단 A
H2aM3121N	0	23	2	10	Non CBD
H2aM3123N	1	23	1	14	Non CBD
H2aM3124N	0	29	0	19	Non CBD
H1M3134N	-1	195	23	394	C-말단 A/B
H1H3324P	269	224	19	-8	C-말단 A
H1H3325P	17	3	7	-8	Non CBD
H1H3328P	354	227	35	-6	C-말단 A
H1H3330P	441	515	40	-4	C-말단 A
H1H3335P	13	5	13	-6	Non CBD
H1H3337P	-17	8	-24	-2	Non CBD
H1H3339P	19	2	14	-2	Non CBD
H1H3343P	11	3	9	-4	Non CBD
H1H3344P	5	5	4	-2	Non CBD
H1H3347P	42	-13	44	7	Non CBD
H1H3354P	-19	-2	-24	-4	Non CBD

[0278]

[0279] # Non CBD는 독소-A 또는 -B의 C-말단 수용체 결합 도메인에 결합하지 않음을 지시한다.

[0280]

실시예 6. 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 B 항체에 대한 결합 도메인의 결정

[0281]

항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 B 항체가 C-말단 수용체 결합 도메인 (CBD)에 결합하는지 결정하기 위한 무료의 방법으로서, 크기 배제 크로마토그래피 (SEC)를 활용하였다. 간략히 말하면, ~500 nM에서 독소 A의 CBD (SEQ ID NO: 375) 또는 독소 B의 CBD (SEQ ID NO: 376)를 5% 글리세롤 pH 7.4 (PBS/G)를 함유하는 인산 완충 식염수에서 명시된 질량비 (1:5 및 1:20; CBD:Mab)로 과량의 항체와 혼합하였고 상온에서 1시간 동안 배양하였다.

[0282]

1시간 후 가시적인 침전을 +++ (강함), ++ (중간), + (소량), 또는 - (관찰되지 않음)로 기록하였다. 원심분리 후 (5분, @ 16,000xg), 항체 및 CBD의 혼합물이 이동상으로서 PBS/G와 함께 Superose 6 컬럼 (GE Healthcare)을 사용하는 SEC 분석을 받게하였다. 항체 또는 CBD 단독보다 더 큰 복합체에 해당하는 단백질 퍼크를 C-말단 도메인에 대한 결합으로 해석하였다.

[0283]

결과는 CBD 결합이 SPR (Biacore) 및 CBD 연구로부터 추론된 결합의 도메인으로부터 예측된 것과 대응한다는 것을 입증하였다 (실시예 5 참조). CBD-A에 대한 결합이 SEC를 통해 관찰되지 않지만 K_D 값이 항체에 대한 이중 결합 속성을 나타내는 경우, 눈에 띄는 하나의 예외는 H1H3134N이었다.

[0284]

표 7: 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및 B 항체에 대한 결합 도메인

mAb	CBD-A로 침전	SEC를 통해 관찰된 CBD-A 결합	CBD-B로 침전	SEC를 통해 관찰된 CBD-B 결합	Biacore를 통한 도메인 결합
H2M3067N	+++	예	NT	NT	C-말단 A/B
H1M3117N	+++	예	NT	NT	C-말단 A
H2M3121N	-	아니오	NT	NT	Non CBD
H2M3123N	-	아니오	NT	NT	Non CBD
H2M3124N	-	아니오	NT	NT	Non CBD
H1M3134N	-	아니오	NT	NT	C-말단 A/B
H1H3317P	NT	NT	-	예	NT
H1H3324P	+	예	NT	NT	C-말단 A
H1H3325P	-	아니오	NT	NT	Non CBD
H1H3328P	-	예	NT	NT	C-말단 A
H1H3330P	-	예	N.D.	N.D.	C-말단 A
H1H3335P	NT	NT	-	아니오	Non CBD
H1H3337P	NT	NT	-	아니오	Non CBD
H1H3339P	NT	NT	-	아니오	Non CBD
H1H3343P	NT	NT	-	아니오	Non CBD
H1H3344P	NT	NT	-	아니오	Non CBD
H1H3347P	NT	NT	-	아니오	Non CBD
H1H3350P	-	예	NT	NT	NT
H1H3354P	NT	NT	-	아니오	Non CBD

[0285]

[0286]

NT= 테스트되지 않음. TBD= 실행되어야 함.

[0287]

Non CBD는 독소-A 또는 -B의 C-말단 수용체 결합 도메인에 결합하지 않음을 지시한다.

[0288]

실시예 7. 항-클로스트리듐 디피실리 독소 A 및/또는 독소 B 항체의 중화 효능의 결정

[0289]

실험관 내에서 항-클로스트리듐 디피실리 항체의 중화 효능 (IC_{50})을 결정하기 위해, 세포 생존력 검정을 실행하였다. 간략히 말하면, 10% FBS가 보충된 MEM 알파 배지에서 배양된 Vero 세포 (1.25×10^3)를 96-웰 마이크로플레이트에 분주하였고 37°C에서, 5% CO₂에서, 16-18시간 동안 배양하였다. 항-클로스트리듐 디피실리 독소 항체를, 다양한 농도로 (0-66nM), 세포에 추가하였고 이후에 클로스트리듐 디피실리 독소 A (32 또는 25pM) 또는 독소 B (0.03pM 또는 0.01 pM)와 함께 48시간 동안 배양하였다. 독소를 함유하지 않는 대조군 (100% 생존력) 및 독소를 함유하지만 항체는 아닌 대조군 (100% 상대적 치명상)을 활용하였다. 항체의 모든 회석은 세 번 실행하였다. 2일 배양 후, 세포 생존력을 테트라졸륨 염 (WST-1; Roche Biochemicals)을 추가하고, 색 발달을 허용하기 위해 4시간 동안 기다린 다음 450 nm에서 흡광도를 기록함으로써 측정하였다. 흡광도 값을 11-점 반응 곡선상의 4-파라미터 로그 방정식에 의해 분석하였다 (GraphPad Prism).

[0290]

결과는 10개의 항체가 25-32 pM 일정한 독소 A에서 7 pM 내지 65 pM의 범위에 있는 IC_{50} 값으로 독소 A에 대한 중화를 나타낸다는 것을 보여준다 (표 8A). 중요하게는, H1H3330P는 대조군 III (이소타입 일치 비교기 항체, 제US2009/0087478호에서 제시된 클론 3358)의 그것과 동일한 중화 효능 및 대조군 I (클론 3D8에 대하여 제US2005/0287150호 참조)보다 20배 더 큰 효능을 입증하였다. 여러 독소-B 중화 항체는 0.03pM 일정한 독소 B에서 25-120 pM의 범위에 있는 IC_{50} 으로 대조군 II (이소타입 일치 비교기 항체, 제US2005/0287150호의 클론 124-152를 참고하면 된다)보다 훨씬 더 큰 효능을 나타냈다 (표 8B). 항체 H1M3067N 및 H1M3134N는, 독소 A 및 B 둘 다에 결합할 수 있는 한편, 독소 A에 대한 중화 활성만을 나타냈다. 이에 대한 이유가 알려져 있지 않지만, 이 발견에 대한 하나의 가능한 설명은 항체가 독소의 C 말단 부분의 반복 영역의 많은 부위에서 결합할수 있는 한편, 같은 도메인의 다른 부분은 포유동물 막과 상호작용할 수 있고, 따라서 독소의 세포로의 진입을 허용한다는 것일 수도 있다.

[0291] 표 8A: 독소 A에 대한 선택된 mAbs에 대한 중화 효능 (IC_{50})

mAb	실험 1 (IC_{50}) 32 pM 독소 A	실험 2 (IC_{50}) 32 pM 독소 A	실험 3 (IC_{50}) 32 pM 독소 A	실험 4 (IC_{50}) 32 pM 독소 A	실험 5 (IC_{50}) 25 pM 독소 A
H1M3067N	64pM	44pM	NT	NT	NT
H1M3117N	29pM	11pM	NT	NT	NT
H2aM3121N	65pM	35pM	NT	NT	NT
H2aM3123N	65pM	24pM	NT	NT	NT
H2aM3124N	41pM	21pM	NT	NT	NT
HIM3134N	NT	NT	NT	38pM	NT
H1H3324P	NT	NT	NT	33pM	NT
H1H3325P	NT	NT	NT	33pM	NT
H1H3328P	NT	NT	112pM	NT	NT
H1H3330P	NT	NT	7pM	NT	7pM
대조군 I	NT	NT	NT	NT	199pM
대조군 III	18pM	6pM	10pM	11pM	9pM

[0292] [0293] NT: 테스트되지 않음

[0294] 표 8B: 독소 B에 대한 선택된 mAbs에 대한 중화 효능 (IC_{50})

mAb	실험 1 (IC_{50}) 0.1 pM 독소 B	실험 2 (IC_{50}) 0.1 pM 독소 B	실험 3 (IC_{50}) 0.03 pM 독소 B
H1M3067N	증화 안됨		
HIM3134N	증화 안됨		
H1H3317P	증화 안됨	NT	NT
H1H3335P	730pM	380pM	120pM
H1H3337P	1730pM	980pM	320pM
H1H3339P	480pM	270pM	90pM
H1H3343P	280pM	200pM	50pM
H1H3344P	580pM	400pM	40pM
H1H3347P	130pM	90pM	25pM
H1H3350P	증화 안됨	NT	NT
H1H3340P	NT	증화 안됨	NT
H1H3411P	NT	8pM [#]	NT
대조군 II	1800pM	1500pM	290pM

[0295] [0296] # 항체는 가장 높은 농도에서 부분적으로만 보호한다 (40-50%).

[0297] NT: 테스트되지 않음

[0298] 실시예 8. 이중-특이적 항체의 생성

[0299] 본 발명의 방법을 실행하는데 사용되는 다양한 이중-특이적 항체를 생성하였다. 예를 들어, 클로스트리듐 디피실리 독소 A 또는 독소 B-특이적 항체를 독소 A 및/또는 B의 별개의 도메인에 결합하는 가변 영역이 단일 결합분자 내에서 이중-도메인 및/또는 이중 독소 특이성을 부여하도록 함께 결합되는 이중-특이적 포맷 ("이중-특이적")으로 생성하였다. 적절하게 설계된 이중-특이성은 특이성 및 결합력 둘 다의 증가를 통해 전체 독소 중화효험을 향상시킬 수도 있다.

[0300] 개개의 도메인에 대한 특이성을 갖는 가변 영역 (예를 들어, 글루코실화 효소 도메인 (도메인 'A'로 지정됨), 또는 자가촉매 가공 도메인 (도메인 'C'로 지정됨), 또는 전좌 도메인 (도메인 'D'로 지정됨), 또는 카르복시 말단 수용체 결합 도메인 (도메인 'B'로 지정됨)이거나 한 도메인 내 다른 영역에 결합할 수 있는, N-말단 도메인의 세그먼트)은, 도 1에서 나타난 바와 같이, 각 영역이 별개의 에피토프에, 또는 한 도메인 내의 다른 영역에 동시에 결합하게 하는 구조적 스캐폴드(scaffold) 상에서 쌍을 이룬다. 이중-특이성에 대한 한 예에서, 한 도메인에 대한 특이성을 가진 바인더의 중쇄 가변 영역 (VH)은 원래의 VH와 상기 VH에 대한 원래의 특이성을 봉괴시키지 않으면서 쌍을 이룰 수 있는 비-동족 VL 파트너를 확인하기 위해 제2 도메인에 대한 특이성을 가진 일련의 바인더의 경쇄 가변 영역 (VL)과 재조합된다. 이 방법으로, 단일 VL 세그먼트 (예를 들어, VL1)는 두 개의 결합 "팔" (VH1-VL1 및 VH2-VL1)로 구성된 이중-특이성을 발생시키기 위해 두 개의 다른 VH 도메인 (예를 들어, VH1 및 VH2)과 결합될 수 있다. 단일 VL 세그먼트의 사용은 시스템의 복잡성을 감소시키고 이로 인해 이중-특이성을 발생시키기 위해 사용된 클로닝, 발현, 및 정제 과정의 효율을 단순화하고 증가시킨다 (예컨대, 제

USSN13/022759호 및 제US2010/0331527호를 참고하면 된다).

[0301] 대안으로, 독소 A 및/또는 독소 B 둘 다 및, 제한은 아니지만, 예를 들어, 제2의 다른 항-독소 A 또는 항-독소 B 항체, 또는 변성독소, 또는 백신과 같은, 제2의 표적에 결합하는 항체는 본원에서 설명된 기술, 또는 당업자에게 알려진 다른 기술을 사용하는 이중-특이적 포맷에서 제조될 수도 있다. 별개의 독소 A 영역에 결합하는 항체 가변 영역은, 예를 들어, 독소 B의 적절한 부위에 결합하는 가변 영역에 함께 결합되어 단일 결합 분자 내에서 이중-항원 특이성을 부여할 수도 있다. 이 성질의 적절히 설계된 이중-특이성은 이중의 기능을 제공한다. 예를 들어, 독소 A 및 독소 B 둘 다에 결합하는 이중-특이적 항체의 경우에, 하나는 두 개의 항체를 함유하는 조성물을 투여할 필요없이, 독소 A 및 독소 B 둘 다를 더 잘 중화하는 것이 가능할 수도 있다. 독소 A에 대한 특이성을 갖는 가변 영역은 독소 B에 대한 특이성을 갖는 가변 영역과 결합되고 각 가변 영역이 별개의 항원에 결합할 수 있게 하는 구조적 스캐폴드 상에서 쌍을 이룬다.

[0302] 이중-특이적 바인더를 항체에 대한 상기 설명된 검정 중 어떤 것에서 표적 항원, 예를 들어, 독소 A 및 독소 B의 결합 및 기능적 차단에 대하여 테스트 하였다. 예를 들어, Biacore, ELISA, 크기 배제 크로마토그래피, 다각도 레이저 광 산란, 직접 스캐닝 열량 층정법(direct scanning calorimetry), 및 다른 방법과 같이, 가용성 단백질 결합을 측정하기 위한 표준 방법이 이중특이성 상호작용을 평가하기 위해 사용된다. 독소 A 및 독소 B 둘 다에 대한 이중-특이적 항체의 결합은 다른 독소를 대표하는 합성 웨პ티드가 미세적정 플레이트의 웰에 코팅된 ELISA 결합 검정의 사용을 통해 결정되고, 이중-특이성의 결합은 2차 검출 항체의 사용을 통해 결정된다. 결합 실험은 또한 표면 플라스몬 공명 실험을 사용하여 실행될 수 있으며, 여기에서 웨პ티드의 항체에 대한 실시간 결합 상호작용을 웨პ티드 또는 이중-특이성을 이중-특이성 또는 웨პ티드가 각각 캡처되는 센서 표면을 가로질러 흐르게 함으로써 측정한다. 이중-특이성에 의한 독소 A 및 독소 B 둘 다의 기능적 실험관 내 차단은 본원에서 설명된 중화 검정과 같은 어떤 생물학적 검정을 사용하여, 또는 본원에서 설명된 것들과 같이, 적절한 동물 모델에서 생체 내 보호 연구에 의해 결정된다.

[0303] 실시예 9. 햄스터 악화 모델(Hamster Relapse Model) (A) 및 급성 햄스터 모델(Acute Hamster Model) (B)에서 클로스트리듐 디피실리 감염(CDI)에 대한 항-독소 A 및/또는 항-독소 B 항체의 생체 내 효험의 평가

[0304] 클로스트리듐 디피실리로의 감염에 대한 클로스트리듐 디피실리의 독소 A 및/또는 독소 B에 특이적인 항체의 효험을 하기 설명된, 두 개의 다른 모델의 햄스터에서 평가하였다. 클린다마이신의 존재시 햄스터는 클로스트리듐 디피실리 감염에 민감하고 보통 감염 후 2-4일 내에 사망한다.

[0305] (A) 악화 모델: 수컷 시리안 골든 햄스터(Syrian Golden Hamster)에게 제-1 일에 클로스트리듐 디피실리 포자 및 영양 세포(총 10^6 개)의 혼합물을 함유하는 경구 혼탁액을 제공한다. 감염 후 24시간에(제0 일), 동물들은 클린다마이신의 단일 피하 주사(10 mg/kg)를 받았다. 제1-3 일에, 감염을 개선하기 위해 햄스터에 하루에 한번 경구 반코마이신(10 mg/kg)을 투여하였다. 항생제 반코마이신은 클로스트리듐 디피실리 감염을 치료하기 위해 임상적으로 사용된다. 최종 반코마이신 투여 후, 항체를 그것들의 치료 및 투여 군에 따라 4일(제3-6 일), 또는 1일(제3 일) 동안 피하로 매일 투여하였다(하기 표 9A 및 9B 참조).

[0306] 임상적 효험에 대한 대용으로서 악화 모델을 사용하는 두 가지 다른 실험을 실행하였다. 두 가지 실험은 두 개의 항체 조합을 비교하였다:

[0307] 1. H1H3330P 및 H1H3347P로 지정된 항체

[0308] 2. 비교기 항-독소 A(대조군 I; 클론 3D8 서열에 대한 미국 특허 제7625559호) 및 비교기 항-독소 B 항체(대조군 II; 클론 124-152 서열에 대한 미국 특허 제7625559호)

[0309] 실험 1에서, 항체의 4번의 용량을 각 항체 당 5 mg/kg로 투여하였다(총 10 mg/kg 용량). 실험 2에서, 항체의 1번의 용량을 각 항체 당 5 mg/kg 또는 2 mg/kg으로 제공하였다(총 10mg/kg 또는 4 mg/kg).

[0310]

표 9A 실험 1 설계: 악화 모델: H1H3330P + H1H3347P 또는 비교기 항-독소 A + 비교기 항-독소 B의 조합 치료

군	처리*	용량 (mg/kg x 투여 횟수)	n
1	음성 대조군 (부적절한) 항체	10 x 4	14
2	비교기 항-독소 A 및 비교기 항-독소 B	[5/5] x 4	23
3	(H1H3330P + H1H3347P 조합)	[5/5] x 4	23
4	항체 없음		15

[0311]

표 9B 실험 2 설계: 악화 모델: H1H3330P + H1H3347P 또는 비교기 항-독소 A + 비교기 항-독소 B의 조합 치료

군	처리*	용량 (mg/kg x 투여 횟수)	n
1	음성 대조군 (부적절한) 항체	10 x 1	14
2	비교기 항-독소 A 및 비교기 항-독소 B	[5/5] x 1	16
3	(H1H3330P + H1H3347P 조합)	[5/5] x 1	16
4	비교기 항-독소 A 및 비교기 항-독소 B	[2/2] x 1	16
5	(H1H3330P + H1H3347P 조합)	[2/2] x 1	16

[0313]

* 모든 동물은 상기 언급된 바와 같이 반코마이신을 받았다.

[0314]

동물을 실험의 기간 동안 하루에 두 번 관찰하였다. 일반적인 관찰은 치사율 및 발병률에 대한 징후, 설사의 존재 ("젖은 꼬리") 및 전체적인 모양 (활성, 핸들링에 대한 일반적인 반응, 접촉, 형글어진 털)을 포함하였다. 빈사 상태에 있는 것으로 판단되는 동물들을 안락사시켰다. 빈사 상태를 할당하기 위해 사용된 기준은 연장된 기간 (5일)의 체중 손실, 쇠약한 상태로의 진행, 장기적 무기력 (3일 이상), 마비의 징후, 피부 미란(skin erosion) 또는 외상, 구부러진 자세, 및 팽창된 복부이다. 관찰을 계속하였으며, 악화 모델을 위해 감염 후 18 일까지의 기간 동안 사망 또는 안락사를 기록하였다.

[0315]

(B) 급성 모델: 수컷 시리안 골든 햄스터에게 제-1 일에 클린다마이신을 10 mg/kg의 용량으로 복강 내에 처리하였다. 제0 일에 클로스트리듐 디피실리 포자를 멸균 PBS로 희석하여 100개의 포자/300 μ l를 제공하고 경구 섭식(oral gavage)으로 투여하였다. 항체를 피하 경로를 사용하여 4일 동안 매일 투여하였으며, 제-3 일에 시작하여 제0 일까지 계속된다. 항체의 용량은 도면 설명에서 지시된다. 또한 연구 개요에 대해서는 하기 표 9C를 참고하면 된다.

[0317]

표 9C 실험 3: 급성 모델: 다양한 용량으로 H1H3330P + H1H3347P의 조합 처리

군	처리	용량 (mg/kg x 투여 횟수)	동물 수
1	비감염 대조군	-	5
2	감염 대조군	PBS x 4	10
3	음성 대조군 (부적절한) 항체	[100] x 4	14
4	(H1H3330P + H1H3347P 조합)	[50/50] x 4	14
5		[16/16] x 4	14
6		[5.5/5.5] x 4	14
7		1.85/1.85 x 4	14

[0318]

표 9D 실험 4: 급성 모델: 다양한 용량으로 H1H3330P + H1H3347P의 조합 처리

군	처리	용량 (mg/kg x 투여 횟수)	동물 수
1	비감염 대조군	-	5
2	감염 대조군	PBS x 4	10
3	음성 대조군 (부적절한) 항체	[100] x 4	14
4	(H1H3330P + H1H3347P 조합)	[20/20] x 4	14
5		[5/5] x 4	14
6	비교기 항-독소 A 및 비교기 항-독소 B	[20/20] x 4	14
7		[5/5] x 4	14

[0320]

동물을 실험의 기간 동안 하루에 두 번 관찰하였다. 일반적인 관찰은 치사율 및 발병률에 대한 징후, 설사의 존재 ("젖은 꼬리") 및 전체적인 모양 (활성, 핸들링에 대한 일반적인 반응, 접촉, 형클어진 털)을 포함하였다. 빈사 상태에 있는 것으로 판단되는 동물들을 안락사시켰다. 빈사 상태를 할당하기 위해 사용된 기준은 연장된 기간 (5일)의 체중 손실, 쇠약한 상태로의 진행, 장기적 무기력 (3일 이상), 마비의 징후, 피부 미란(skin erosion) 또는 외상, 구부러진 자세, 및 팽창된 복부이다. 관찰을 계속하였으며, 악화 모델을 위해 10일까지의 기간 동안 사망 또는 안락사를 기록하였다.

[0322]

결과

[0323]

햄스터 모델의 데이터의 통계적 분석을 Log-Rank (Mantel Cox) 테스트를 사용하여 실행하였다. 쌍별 비교를 위해, 본페로니 교정(Bonferroni correction)을 임계값 P에 적용하였다.

[0324]

햄스터 악화 모델을 사용하는 다회수 용량 연구인 첫 번째 실험에서 (도 2 참조), H1H3330P 플러스 H1H3347P로의 조합 치료, 또는 비교기 항체로의 조합 치료는 전체 생존률 대 이소타입 대조군, 또는 반코마이신 단독의 증가를 나타냈다 (74-78%; 항-독소 A 및 항-독소 B 항체의 조합 대 27-43%; 대조군 팔). 구체적으로는, 제19 일까지, PBS 단독을 받은 햄스터 중 27%가 생존하였고; 이소타입 대조군을 받은 43%가 생존하였고; 항-독소 A 플러스 항-독소 B 비교기 항체 조합을 받은 74%가 생존하였고; H1H3330P (항-A 항체) 플러스 H1H3347P (항-B 항체)

조합을 받은 78%가 생존하였다.

[0325] 햄스터 악화 모델을 사용하는 단일 용량 연구인 두 번째 실험에서 (도 3 참조), H1H3330P 플러스 H1H3347P, 또는 비교기 항체로의 조합 치료는 이소타입 대조군 (음성 대조군 항체)과 비교하여 생존률을 증가시켰지만, 2 mg/kg 및 5 mg/kg 용량 사이에서 차이는 없었다.

[0326] 햄스터의 첫 번째 급성 모델 연구에서 (도 4 참조), H1H3330P 플러스 H1H3347P 조합의 처리는 음성 대조군과 비교하여 적정 가능한 방식으로 사망으로부터 햄스터의 유의한 보호를 나타낸다 (모든 군 대 이소타입 대조군에 대하여 $p<0.0001$). 용량은 50 mg/kg 내지 1.85 mg/kg (조합으로서 제공된 각 항체의)로 적정하였으며, 제7 일까지 모든 동물에 대하여 보호를 제공하는 높은 용량을 가장 낮은 용량의 제1 일과 비교하였다.

[0327] 급성 햄스터 모델을 사용하는 추가 연구에서 (도 5 참조), H1H3330P 플러스 H1H3347P로, 또는 비교기 항체의 조합으로의 조합 치료는 이소타입 대조군과 비교하여 생존률을 유의하게 증가시켰다 (도 5; 40 mg/kg의 이소타입 대조군 대 각각 20 mg/kg의 대조군 I/대조군 II, $p<0.0001$; 40 mg/kg의 이소타입 대조군 대 각각 5 mg/kg의 대조군 I/대조군 II, $p=0.0003$; 40 mg/kg의 이소타입 대조군 대 각각 20 mg/kg의 H1H3330P/H1H3347P, $p<0.0001$; 40 mg/kg의 이소타입 대조군 대 각각 5 mg/kg의 H1H3330P/H1H3347P, $p<0.0001$). 하지만, H1H3330P 플러스 H1H3347P의 조합의 치료는 각 항체의 5 mg/kg의 낮은 용량에서 테스트될 때 비교기 항체 대조군보다 우수한 방식으로 햄스터를 사망으로부터 보호하는 반면에 ($p<0.0001$), 각 항체의 20 mg/kg의 더 높은 용량에서 H1H3330P 플러스 H1H3347P의 조합 대 비교기 항체의 조합 사이에서 유의한 차이는 없었다 ($p=0.73$). 이 결과는 급성 햄스터 모델에서 낮은 용량의 우수성을 분명하게 입증하고 H1H3330P 플러스 H1H3347P 항체의 용량은 병원에서 비교기 항체와 비교하여 더 낮은 농도에서 효과적일 수 있다는 것을 제안한다.

[0328] 실시예 10. 여러 군의 BI 고감염성 클로스트리듐 디피실리 균주의 배양 상충액에 의해 유발된 세포독성의 차단에 대한 항-독소 A 및 항-독소 B 항체의 효과: 비교기 mAbs와 비교

[0329] 임상적-고감염성 BI/NAP1/027 균주로 감염된 환자들은 피탁소마이신 또는 반코마이신으로 치료될 때 비-BI 균주로 감염된 환자보다 더 낮은 치료율을 갖는다 (Petrella, LA, et al. (2012), Clinical Infectious Diseases, 55(3): 351-357). 게다가, BI/NAP1/027 균주는 원형의 균주와 비교할 때의 더 높은 CDI 재발율 및 더 높은 예정사망율과 관련된다 (Loo, VG, et al. (2005), N Engl J Med, 353:23; Petrella, LA, et al. (2012), Clinical Infectious Diseases, 55(3): 351-357). 이 고감염성 균주들은 독소 A 및 B의 생산의 증가, 이원성 독소의 존재 및 플루오로퀴놀론에 대한 증가된 저항성을 특징으로 한다. 독소 A 및 B 생산의 증가는 tcdA 및 tcdB 밸현의 추정상 음성 조절자인 tcdC의 기능 상실 돌연변이에 의해 유발될 가능성이 가능 높으며, 생활 주기 동안 지속적 독소 생산을 일으킨다.

[0330] 네 개의 임상적-분리된 클로스트리듐 디피실리 BI/NAP1/027 균주의 독소를 중화하는 H1H3330P 및 H1H3347P의 1:1 질량비 혼합물의 능력을 세포-기반 중화 검정에서 테스트하였다. VA5 및 VA17 임상적 분리된 고감염성 균주를 Case Western Reserve University, Cleveland, OH로부터 얻었다. 6336 및 6443 임상적으로 분리된 고감염성 균주를 Dept. of Veterans Affairs, Edward Hines, Jr. Hospital, Hines, IL로부터 얻었다. 중화 검정은 클로스트리듐 디피실리 독소 둘 다에 대한 민감성으로 인해 Vero 세포, 원숭이 신장 상피 세포주를 활용하였다. 세포를 48시간 동안 항체 각테일의 다양한 양 및 여러 클로스트리듐 디피실리 균주로부터 분리된 배양 상충액의 고정된 양과 함께 배양하였다. 세포독성을 환원될 때 색의 변화를 얻는 산화환원 지시약인 WST-1 시약의 추가에 의해 결정하였다. 세포 성장 중에 대사 활성은 WST-1을 환원시키며, 450 nm에서 증가된 흡광도를 발생시킨다.

[0331] 여러 임상적으로 분리된 BI 균주의 배양 상충액은 Vero 세포에서 광범위한 세포독성 활성을 나타내며, 세포독성을 유발하기 위한 EC₅₀ 값은 VA5 균주에 대한 3700배 회석으로부터 6443 균주에 대한 88200배 회석의 범위에 있다. H1H3330P와 H1H3347P의 1:1 질량비 혼합물은 비교기 항-독소 A (대조군 I; 클론 3D8 서열에 대하여 미국 특허 제7625559호 참조)와 비교기 항-독소 B (대조군 II; 클론 124-152 서열에 대하여 미국 특허 제7625559호 참조)의 1:1 질량비 혼합물과 비교하여 34배 이상 더 양호한 중화 효능으로 테스트된 모든 군 BI 균주의 배양 상충액에 의해 유발된 세포독성을 차단하였다. 이 데이터들은 H1H3330P/H1H3347P 항체 쌍이, 비교기 mAb 각테일과 비교하여, 테스트된 고감염성 BI 균주에 대하여 피코몰 범위 (31-45 pM)의 IC₅₀ 값으로 배양 세포독성을 중화할 수 있다는 것을 입증한다 (IC₅₀ 범위: 1200-1700 pM; 표 10 참조).

[0332]

표 10

균주	EC ₅₀ (희석 배)	중화 검정			
		[상층액] (희석 배)	H1H3330P/ H1H3347P IC ₅₀ (pM)	비교기 mAb 1/2 IC ₅₀ (pM)	배 상/대조군
VA5	6900	4700	36	1400	39
VA17	3700	3000	31	1400	45
6336	15200	12100	45	1700	38
6443	88200	57500	35	1200	34

[0333]

실시예 11. 항-독소 A 항체 H1H3330P의 에피토프 맵핑

[0334]

H1H3330P에 의해 결합된 독소 A의 C-말단 수용체-결합 도메인 (CBD)의 에피토프 (SEQ ID:375)를 질량분석 기반 단백질체학을 사용하여 결정하였다. 간략히 말하면, 독소 A의 CBD를 12시간 기간 동안 트립신 분해하였고 샘플을 10–14% 구배 SDS-PAGE에서 실행하였고, 이어서 니트로셀룰로스 막으로 옮겨서 1차 항체로서 H1H3330P 항체, 또는 대조군 I 항체 (3D8 항체 서열에 대하여 미국 특허 제7625559호 참조)를 사용하여 웨스턴 블롯 분석하였다. H1H3330P 항체에 결합된 웹티드 서열의 추가 분석을 2D 전기영동에 이어서 MALDI-TOF MS 분석을 사용하여 실행하였다. 과정은 하기 더 상세히 설명된다.

[0335]

독소 A의 제한된 트립신 분해

[0336]

독소 A (PBS 중의 0.4 μg/μl)의 재조합 C-말단 수용체-결합 도메인 (CBD)에 1:80 질량비로 시퀀스 등급 변형된 트립신 (Promega, 제품 번호 V511C)을 추가하였고 37°C에서 0–12시간 동안 배양하였다. 효소를 2배의 1X Laemmli 샘플 버퍼를 추가함으로써 불활성화시켰고 95°C에서 5분 동안 가열하였다. 샘플을 분석할 때까지 -20°C에서 저장하였다.

[0337]

웨스턴 블롯 분석

[0338]

단백질 가수분해의 정도를 10–14% 구배 SDS-PAGE에 의해 먼저 검사하였다. 로딩된 각 샘플의 양은 독소 A의 1 μg 초기 CBD와 동등하였고, 겔에서 분리된 단백질을 SimplyBlue 쿠마시 염색 (Invitrogen, 제품 번호 LC6065)으로 가시화하였다.

[0339]

0시간 및 12시간 동안 분해된 샘플을 각 샘플에 대하여 로딩된 독소 A의 50 ng 초기 CBD에 대한 등가물과 함께 10–14% 구배 SDS-PAGE 분리를 위해 선택하였다. 분리된 단백질을 니트로셀룰로스 막으로 옮겨서, 항체 H1H3330P 또는 대조군 항체 I로 TBST (0.05% Tween-20을 함유한 트리스-버퍼 식염수 용액)에서 1 μg/ml의 농도로 4°C에서 하룻밤 동안 검출한 후이어서 항-사람 IgG HRP 커쥬케이션된 항체 (Pierce, 제품 번호 31412; TBST에서 1:15,000 희석)로 검출하였다. H1H3330P & 대조군 1 항체 둘 다는 사람 IgG1 불변 도메인을 갖고 있었다. 막을 화학발광 기질 (Perkin Elmer, 제품 번호 NEL103E001 EA)로 배양하였고 이미지를 X-선 필름 상에 캡쳐하였다.

[0340]

2D 겔 전기영동

[0341]

H1H3330P 항체를 사용하여 수행된 웨스턴 블롯에서 고유한 단백질 밴드로 표현되는지를 결정하기 위해서, 2차원 (2D) 겔을 독소 A의 CBD의 12시간 트립신 분해를 사용하여 수행하였다.

[0342]

겔 내 트립신 분해 및 MALDI-TOF MS에 의한 웹티드 맵핑

[0343]

2D-겔 분석은 pH (pI 값 ~ 9) 차원에서 밀접하게 모여있는 4개의 단백질 스폿들을 나타냈으며, 이것은 H1H3330P를 사용하는 웨스턴 블롯에 의해 시각화된 50 kDa 밴드로 구성된다. 12시간 트립신 분해를 사용하여 2D-겔로부터 ~50 kDa의 해당 분자량을 가진 4개의 단백질 스폿을 잘라냈고, 50% 아세토니트릴로 탈염색하였고, 65 mM DTT로 환원시켰고, 135 mM 아이오도아세트아미드로 알킬화하였다. 아세토니트릴에 의한 탈수 후에, 2.5 ng/μl 시퀀스 등급 트립신 (Promega, 제품 번호 V5111)의 20 μl을 추가하여 겔 밴드를 커버하였고 37°C에서 하룻밤 동안 배양에 의해 겔 내 분해를 수행하였다.

[0344]

결과의 웹티드를 Ziptip C18 (Millipore, 제품 번호 ZTC18S096)로 탈염하였고 Bruker UltrafileXtreme MALDI-TOF-TOF MS에 의해 분석하였다. 스펙트럼을 FlexAnalysis 소프트웨어로 가공하였고 자가분해 트립신 단편 피크로 내부에서 보정하였다. 보정된 피크 목록을 10 ppm의 질량 정확도로 CBD 독소 A의 서열을 함유하는 내부 데이

터베이스에 대하여 검색하였다.

[0346] 결과

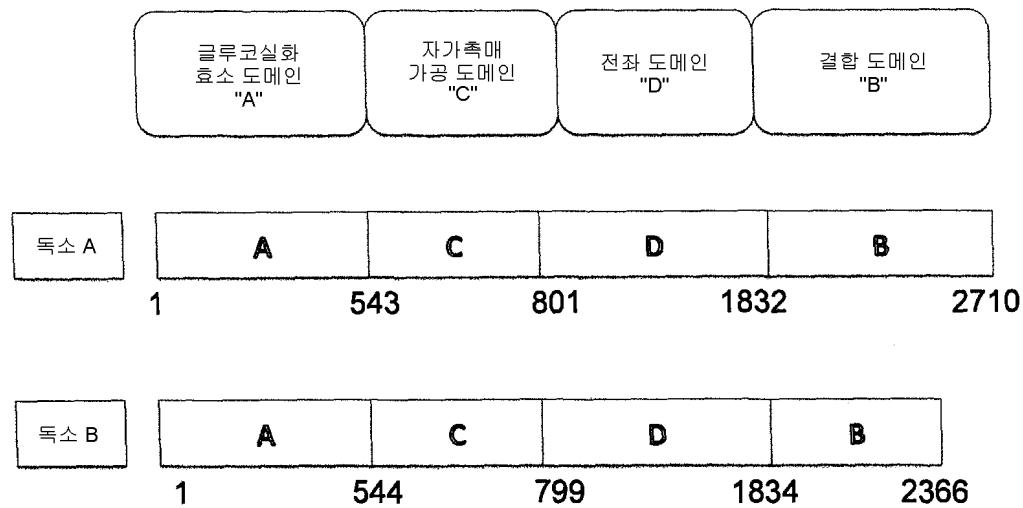
[0347] 결과는 H1H3330P로의 블롯팅이 트립신 분해 후 12시간에 약 50 kDa에서 주요 단백질 랜드를 나타내는 한편, 대조군 1 항체로 블롯팅이 수행될 때 약 50 kDa의 분자량을 가진 단백질 랜드가 관찰되지 않았다는 것을 나타냈다.

[0348] 아미노산이 H1H3330P를 사용하여 수행된 웨스턴 블롯에 고유한, 50 kDa 단백질 랜드에서 나타나는지를 결정하기 위해, 2차원 (2D) 젤을, 상기 설명된 바와 같이, 12시간 트립신 분해를 사용하여 수행하였다. 언급된 바와 같이, 2D-겔 분석은 pH (pI 값 ~ 9) 차원에서 밀접하게 모여있는, 4개의 단백질 스폰들을 나타냈으며, 이것은 H1H3330P를 사용하는 웨스턴 블롯에 의해 시각화된 50 kDa 랜드로 구성된다. 이 4개의 단백질 스폰들의 질량 분석은 독소 A의 CBD의 아미노산 잔기 468-863 (SEQ ID: 375)를 커버하는 17개의 일치하는 웹티드를 확인하였다. 독소 A의 이 단편 (아미노산 스캐닝 잔기 468 내지 863)은 2-D 젤 분석으로부터 얻은 값과 잘 맞는 45 kDa의 예측된 분자량 및 9.01의 예측된 등전점을 갖는다.

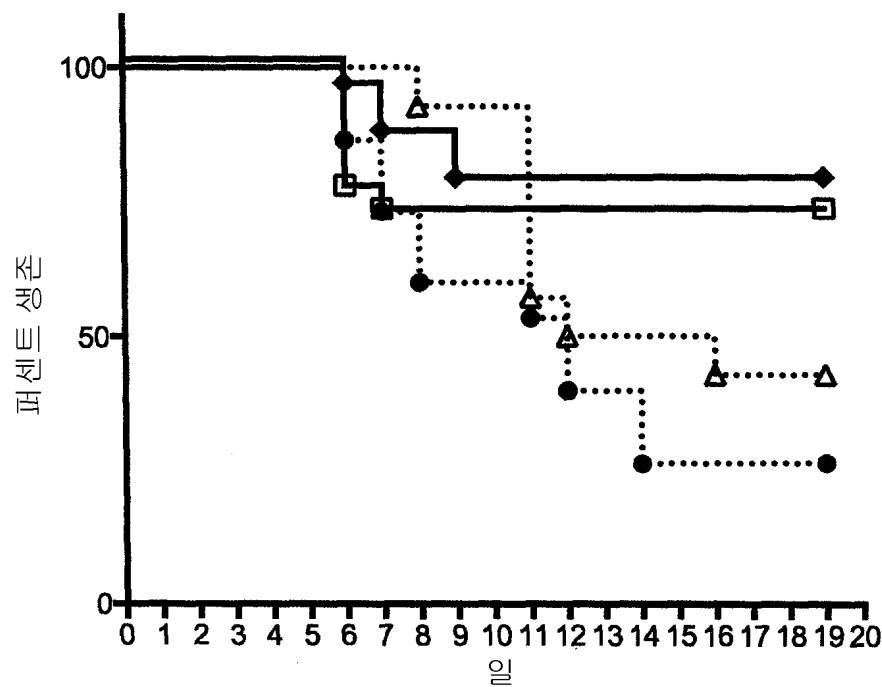
[0349] 이 예는 항-독소 A 항체 H1H3330P가 대조군 1의 그것으로부터 고유한 에피토프를 갖고 (제US 7625559호에서 3D8) 아미노산 468 내지 863 내에서 독소 A의 CBD에 결합한다는 것을 도시한다. 특정 아미노산 서열을 H1H3330P 항체와 상호작용하는 이 영역 내에서 확인하였고 이 아미노산 서열들은 SEQ ID NO: 375의 잔기 468-488, SEQ ID NO: 375의 잔기 510-530, SEQ ID NO: 375의 잔기 602-610, SEQ ID NO: 375의 SEQ ID NO: 724-794의 잔기 644-703, SEQ ID NO: 375의 잔기 799-814 및 SEQ ID NO: 375의 잔기 858-863이었다.

도면

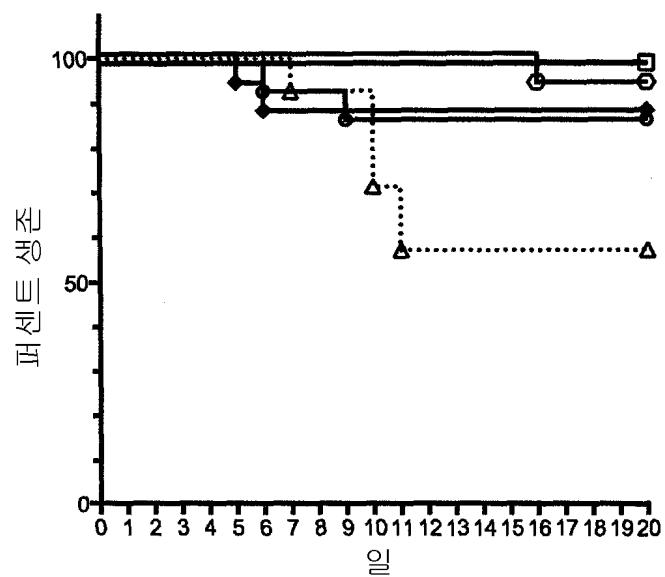
도면1



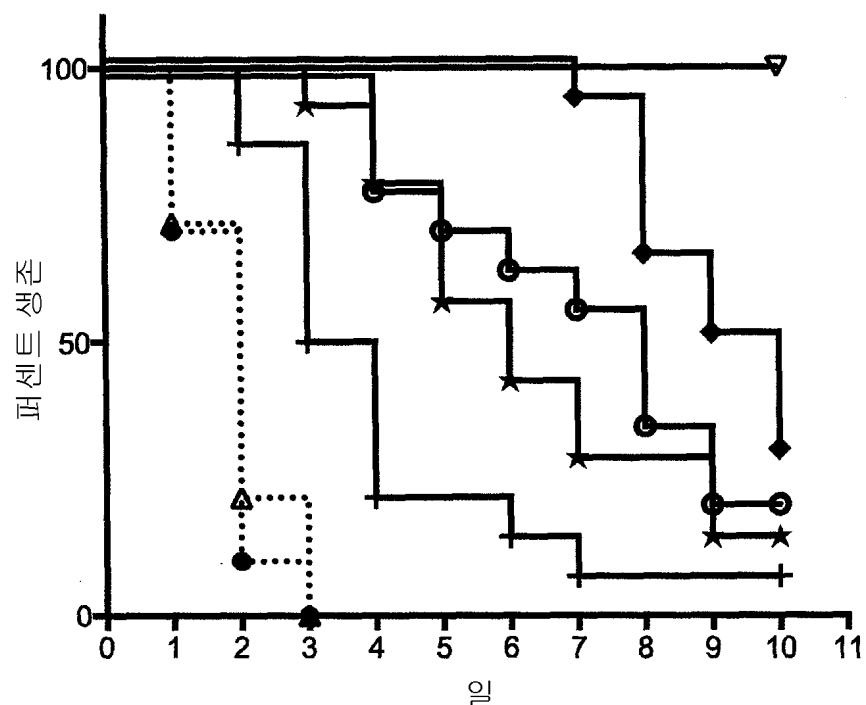
도면2



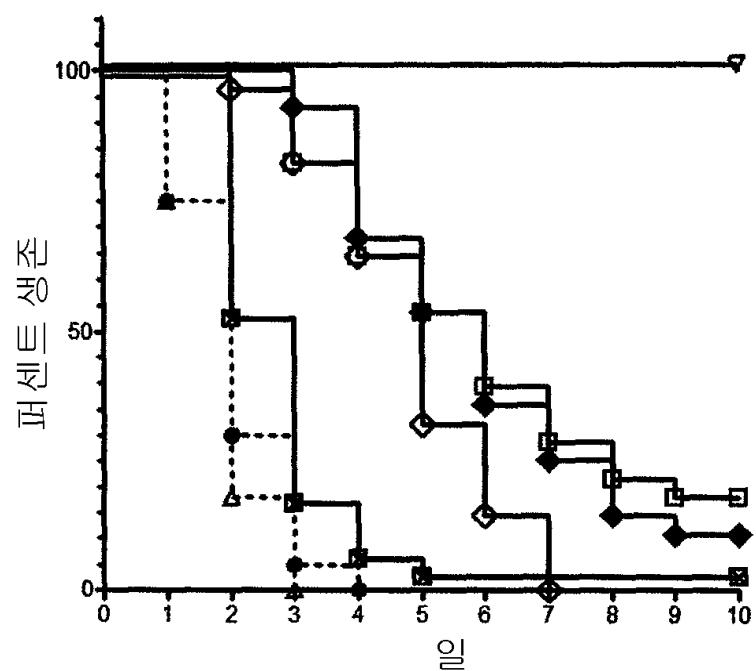
도면3



도면4



도면5



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Regeneron Pharmaceuticals, Inc.

<120> Human Antibodies to Clostridium Difficile Toxins

<130> 7150A-WO

<140> To be assigned

<141> Filed herewith

<150> 61/605,914

<151> 2012-03-02

<150> 61/608,255

<151> 2012-03-08

<150> 61/717,404

<151> 2012-10-23

<160> 398

<170> FastSEQ for Windows Version 4.0

<210> 1

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 1

gaggtgcaac tttggatc tggggaggc ttggcacagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtcag cctctggatt caacttggc acccatgaca tgagctgggt ccgccaggct 120

ccagggagg gactagagt ggtctcaggc ttacaagta ctgggttag cgcttcctcc 180

gcagactccg tgaaggccg gttaccatc tccagagaca attccaagaa tattctgtat 240

ttacaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaaacgttt 300

aactggaact cctacttga ctactgggc cagggAACCC tggcacccgt ctcctca 357

<210> 2

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 2

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Asn Phe Gly Thr His

20 25 30

Asp Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile 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 Thr Phe Asn Trp Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 3

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 3

ggattcaact ttggcaccca tgac 24

<210> 4

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 4

Gly Phe Asn Phe Gly Thr His Asp

1 5

<210> 5

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 5

cttacaagta ctggtaggtcgct

24

<210> 6

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 6

Leu Thr Ser Thr Gly Gly Ser Ala

1

5

<210> 7

<211

> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 7

gcgaaaacgt ttaactggaa ctcctacttt gactac

36

<210> 8

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 8

Ala Lys Thr Phe Asn Trp Asn Ser Tyr Phe Asp Tyr

1

5

10

<210> 9

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 9

gaaatttgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgttttg ctcagggg aagagccacc 60

ctctcctgca gggcagtca gagtatttagc acctactact tagcctggta ccagcagaaa 120
 cctgaccagc ctcccaggct cctcatctat ggtacatcca gcagggccac tggcatccca 180
 gacaggttca gtggcagtgg gtctggaca gacticactc tcaccatcg cagactggac 240
 cctgaagatt ttgcagtgtt tactgtcaa cagtatggta actcaactgtt cactttggc 300
 caggggacca agctggagat caaa 324

<210> 10

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 10

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Tyr

20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Pro Pro Arg Leu Leu

35 40 45

Ile Tyr Gly Thr Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Leu

85 90 95

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105

<210> 11
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic
<400> 11

cagagtatta gcacctacta c 21

<210> 12
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic
<400> 12

Gln Ser Ile Ser Thr Tyr Tyr

1 5

<210> 13
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 13

ggtacatcc 9

<210> 14
<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 14

Gly Thr Ser

1

<210> 15
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 15
caacagtatg gtaactcact gtacact

27

<210> 16
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 16

Gln Gln Tyr Gly Asn Ser Leu Tyr Thr

1 5

<210> 17
<211> 357
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 17
caggtacaac tggtggaaatc tgggggagac gtggttcagc ctgggaggtc cctgagactc 60
tcctgtgcag catctggatt caccttcaagt ggccacggca tgcaactgggt ccgccaggct 120
ccaggcaagg gtcttagatgt ggtggactt atattgtatg atgaaatgt tgaagactat 180
acagactccg tgaaggccg ctttaccgtc tccagagaca attccaagaa caccctgtat 240

ttgcaaatac acagtctgag agccgaagac acggctgtct attactgtgc gcgagggagt 300
attttaatac gcccgttga ttactgggc caggaaacct tggcacccgt ctcctca 357
<210> 18
<211> 119
<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 18

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ala Leu Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Ser Glu Asp Tyr Thr Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Ser Ile Leu Asn Arg Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly

100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 19

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 19

ggattcacct tcagtgccca cggc 24

<210> 20

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 20

Gly Phe Thr Phe Ser Gly His Gly

1 5

<210> 21

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 21

atattgtatg atggaagtag tgaa 24

<210> 22

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 22

Ile Leu Tyr Asp Gly Ser Ser Glu

1 5

<210> 23

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 23

gcgcgaggga gtatttaaa tcgcccgtt gattac 36

<210> 24

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

>

<223> Synthetic

<400> 24

Ala Arg Gly Ser Ile Leu Asn Arg Pro Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 25

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 25

gacatcgtga tgacctagtc tccagactcc ctggctgtgt ctctggcgaa gagggccacc 60
 atcaactgca agtccagcca gagtattta ttcaaggcca acaataagat ctacttagct 120
 tggttccagc agaaaccagg acagcctctt aaactactca ttactggac atctacccgg 180
 gaatccgggg tccctgaccg attcagtggc agcgggtctg ggacagattt cactctact 240

atcagtagtc tgcaggctga agatgtggca gtttactact gtcaacaata ttatacttt 300

ccattcaatt tcggccctgg gaccaaagtg gatataaaa 339

<210> 26

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 26

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Ile Asn Cys Lys Ser Ser Gln Ser Ile Leu Phe Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

<210> 27
<211> 36
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 27
cagagtattt tattcagttc caacaataag atctac 36

<210> 28
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 28

Gln Ser Ile Leu Phe Ser Ser Asn Asn Lys Ile Tyr

1 5 10

<210> 29
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic
<400> 29
tggacatct 9

<210> 30

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 30

Trp Thr Ser

1

<210> 31

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 31

caacaatatt atactttcc attca

27

<210> 32

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 32

Gln Gln Tyr Tyr Thr Leu Pro Phe Thr

1

5

<210> 33

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 33

cagatacagc tggtgaggc tgggggaggc gtggccagc ctggaaggc cctgagactc 60

tcctgttag cctctgggtt caccctcagt ggacatggca tgcactgggt ccgccaggct 120
 ccaggcaagg ggctggagtg ggtggcattt atatcatttgc atggaggta tcaagactac 180
 acagacgccc cgaggggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgttgtat 240
 ctgaaaatgg tcagcctgag acctgcagac acggctataat attattgtgt gaaagggagc 300
 gactcgctgc gaggtttgg ctactgggc cgggaatcc tggcacccgt ctccta 357

<210> 34

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 34

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Gly His

20 25 30

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

35 40 45

Ala Phe Ile Ser Phe Asp Gly Gly His Gln Asp Tyr Thr Asp Ala Ala

50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Lys Gly Ser Asp Ser Ser Arg Gly Phe Gly Tyr Trp Gly Arg Gly

100 105 110

Ile Leu Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 35

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 35

gggtcaccc tcagtggaca tggc 24

<210> 36

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 36

Gly Phe Thr Leu Ser Gly His Gly

1 5

<210> 37

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 37

atatcatttgcatggaggtaatcaa 24

<210

> 38

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 38

Ile Ser Phe Asp Gly Gly His Gln

1 5

<210> 39

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 39

gtgaaaggga gcgactcgac gcgagggttt ggctac 36

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 40

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

1 5 10

<210> 41

<211> 339

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 41

gacatcgtga tgaccaggc tccagactcc ctggctgtgt ctctggcgaa gagggccacc 60

atcaactgca agtccagcca gagtgttta ttcatgtccg acaataagaa ctacttggt 120

tggtaccagg tggaaaccagg tcagcctct cacctactta ttactggc atctattcgt 180

gattccgggg tccctgaccg atttagtgcc agcgggtctg ggacagattt cacgctcacc 240

atcagcagcc tgcaggctga ggatgtggca gtttactcct gtcatcaata ttatagtgt 300

ccactcacct tcggcggagg gaccaagggtg gagatcaaa 339

<210> 42

<211> 113

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 42

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

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

<210> 43

<211> 36

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 43

cagagtgtt tattcagttc cgacaataag aactac 36

<210> 44

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 44

Gln Ser Val Leu Phe Ser Ser Asp Asn Lys Asn Tyr

1 5 10

<210> 45
<211> 9
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Synthetic
<400> 45
tggccatct

9

<210> 46

<211> 3
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 46

Trp Ala Ser

1

<210> 47
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 47

catcaatatt atagtgtcc actcacc

27

<210> 48
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 48

His Gln Tyr Tyr Ser Ala Pro Leu Thr

1 5

<210> 49

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 49

gaggtgcagc tggtgaggc tggggggac ttggtaaac ctggagggtc cctgagactc 60
 tcctgtcag ccctggagt cacccagg acataatgaaa tgaattgggt ccgcaggct 120
 ccaggaaagg gactggagtg gattcacac attagtagca gtggtgatat tatatactat 180
 acaaagtctg tgaaggcccg attcaccatc tccagagata acgccaagaa ctcactgtt 240
 ctgcaaatga caagtctgag agccgaggac acggctgtat attactgtgc gagagaaagg 300
 tacagtcaat acggttatta ttacttcgga atggatgtct ggggccaagg gaccacggtc 360
 accgtctcct ca

372

<210> 50

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 50

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Ser His Ile Ser Ser Ser Gly Asp Ile Ile Tyr Tyr Thr Lys Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85	90	95
Ala Arg Glu Arg Tyr Ser Gln Tyr Gly Tyr Tyr Phe Gly Met Asp		
100	105	110
Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser		

115	120	
<210> 51		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 51		
ggagtacct tcaggacata tgaa		24
<210> 52		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 52		
Gly Val Thr Phe Arg Thr Tyr Glu		
1	5	
<210> 53		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 53		
attatgtaca gtggtgatata tata		24

<210> 54	<211> 8	<212> PRT
----------	---------	-----------

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 54

Ile Ser Ser Ser Gly Asp Ile Ile

1 5

<210> 55

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 55

gcgagagaaa ggtacagtca atacggttat tattacttcg gaatggatgt c 51

<210> 56

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 56

Ala Arg Glu Arg Tyr Ser Gln Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Phe Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 57

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 57

gacatccaga tgaccaggc tccttccacc ctgtctgcat ctataggaga cagagtacc 60

atcacttgcc gggccaggta gaatactgtat aagtggatgg cctggtatca gcagaaagca 120

gggaaagccc ctaaacctcct gatctataag gcgtctattt tagaaagtgg ggtcccttca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tggacagaa ttcaactcta ccatcagcag cctgcagcct 240
 gatgatttg caacttatta ctgccaagaa tataatactt atttcgggc gttcgccaa 300
 gggaccaagg tgaaaccag a 321

<210> 58

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 58

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Thr Asp Lys Trp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Glu Tyr Asn Thr Tyr Phe Arg

85 90 95

Ala Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Thr Arg

100 105

<210> 59

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 59

cagaatactg ataagtgg	18
<210> 60	
<211> 6	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 60	
Gln Asn Thr Asp Lys Trp	
1 5	
<210> 61	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 61	
aaggcgt ct	9
<210> 62	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 62	
Lys Ala Ser	
1	
<210> 63	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 63	

caagaatata atacttattt tcggcgcg 27

<210> 64

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 64

Gln Glu Tyr Asn Thr Tyr Phe Arg Ala

1 5

<210> 65

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 65

gacgtgcagc tggtgagtc tggggagac ttgtacaac ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtcag cctctggagt cgccttaat gattataaa tgaattggat ccgccaggct 120

ccagggaga gactggagtg gattcacac attgatagta gtggtaactat tatataattac 180

gcagactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca gcgccaagaa ctcactgttt 240

ctgcaaatgg acagtctgag agccgaggac acggctgtt attactgtgc gagagaaagg 300

tacagtcaact acggatatta ctacttcggt atggatgtct gggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 66

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 66

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Phe Val Gln Pro Gly Gly

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Val Ala Phe Asn Asp Tyr

20	25	30
----	----	----

Glu Met Asn Trp Ile Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Leu Glu Trp Ile

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95	
----	----	----	--

Ala Arg Glu Arg Tyr Ser His Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Phe Gly Met Asp

100	105	110
-----	-----	-----

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115	120	
-----	-----	--

<210> 67

<211

> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 67

ggagtgcct tcaatgatta tgaa 24

<210> 68

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 68

Gly Val Ala Phe Asn Asp Tyr Glu

1	5	
---	---	--

<210> 69

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 69

attgatagta gtggtaat tata 24

<210> 70

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 70

Ile Asp Ser Ser Gly Thr Ile Ile

1 5

<210> 71

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 71

gcgagagaaa ggtacagtca ctacggatat tactacttcg gtatggatgt c 51

<210> 72

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 72

Ala Arg Glu Arg Tyr Ser His Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Phe Gly Met Asp

1 5 10 15

Val

<210> 73

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 73

gacatccaga tgaccaggc tccttccacc ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc 60
 atcaacttgcc gggccaggta gaatattgt aactggttgg cctggatca gcagaaaaaca 120
 ggtaaagccc ctaacctct gatctataag gcgtctactt tggaaagtgg ggtccctca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcaactctca ccatcatcag cctgcagcct 240
 gatgatttg caacttatta ctgccaagaa tataatactt attctcgac gttcggcaa 300
 ggcaccaagg tggaaatcaa a 321

<210> 74

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 74

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Asn Trp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Glu Tyr Asn Thr Tyr Ser Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105

<210> 75

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 75

cagaatattg ataactgg 18

<210> 76

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 76

Gln Asn Ile Asp Asn Trp

1 5

<210> 77

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 77

aaggcgtct 9

<210> 78

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 78

Lys Ala Ser

1

<210> 79

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 79

caagaatata atacttattc tcggacg	27
-------------------------------	----

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 80

Gln Glu Tyr Asn Thr Tyr Ser Arg Thr

1	5
---	---

<210> 81

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 81

gagataaat ttagatagtc tggggagac atggtaaac ctggagggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctgaaat ctcccttaat agttatgaaa tgaattgggt ccgccagact 120

ccagggatgg ggctggagtg gattcacac ataagtagta gtgaaacttc tatatattat 180

gcaaactctg tgaaggccg attcaccata tttagagaca gcgc当地 240

ctgcaaatga acagtctgag agccgaggac acggctattt attactgtgc aagagaaaga 300

tacgatcaat ccgggttata ctacctcgaa atggatgtct gggcctagg gaccacggtc 360

accgtctcgta ca

372

<210> 82

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 82

Glu Ile Gln Leu Ile Glu Ser Gly Gly Asp Met Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

20 25 30

Glu Met Asn Trp Val Arg Gln Thr Pro Gly Met Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Glu Arg Tyr Asp His Ser Gly Tyr Tyr Tyr Leu Gly Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Leu Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 83

<211>

> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 83

ggaatctccc ttaatagtta tgaa 24

<210> 84

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 84

Gly Ile Ser Leu Asn Ser Tyr Glu

1 5

<210> 85

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 85

ataagtagta gtggaacttc tata 24

<210> 86

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 86

Ile Ser Ser Ser Gly Thr Ser Ile

1 5

<210> 87

<211> 51

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 87

gcaagagaaa gatacgatca ctccggat c tactacctcg gaatggatgt c 51

<210> 88

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 88

Ala Arg Glu Arg Tyr Asp His Ser Gly Tyr Tyr Tyr Leu Gly Met Asp

1

5

10

15

Val

<210> 89

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 89

gacatccaga tgacctagtc tccttccacc ctgtctgcat ctttaggaga cagagtacc 60

atcacttgcc gggccagtca gaatattgt aactggatgg cctggtatca gcagaaaatt 120

gggaaagccc ctaaactctt gatatatagg gcgtctactt tagaaactgg ggtcccttca 180

aggttcggcg gcagtggatt tgggacagaa ttcaactcta ccatcagcag cctgcagect 240

ggtgatttg cgacttacta ctgccaagaa tataatagtt atttcggac gttcggccaa 300

gggaccaagg tggagatcaa a 321

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 90

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

1

5

10

15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Asp Asn Trp

20	25	30
Met Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Val Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile		
35	40	45
Tyr Arg Ala Ser Thr Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Gly Gly		

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

<210> 91

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 91

cagaatattg ataaactgg 18

<210> 92

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 92

Gln Asn Ile Asp Asn Trp

1 5

<210> 93

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 93

aggcgctct

9

<210> 94

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 94

Arg Ala Ser

1

<210> 95

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 95

caagaatata atagttatcc tcggacg

27

<210> 96

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 96

Gln Glu Tyr Asn Ser Tyr Phe Arg Thr

1

5

<210> 97

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 97

gaggtgcagc tggtgagtc tggggaggc ttggtagc cttggggtc cctgagactc 60

tcctgtcag cctctggatt cacttcagt agttacgaca tgactgggt ccgccaagtt 120
 atagaaaaag gtctggatg ggtctcagct attggtagt ttggtagcac atactatgca 180
 ggctccgtga agggccgatt caccatctcc agagaaaatg ccaagaattc cttgtacctt 240
 caaatgaaca gcctgagagc cggggacacg gctgtgtatt actgtcaag agatcgggg 300
 ggtgcgaata ttatagttt ctactacggt atggacgtct gggccaagg gaccacggc 360
 accgtctcct ca 372

<210> 98

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 98

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Val Ile Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Gly Thr Val Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Arg Gly Gly Ala Asn Ile Tyr Ser Phe Tyr Tyr Gly Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 99

<211

> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 99

ggattcacct tcagtagtta cgac

24

<210> 100

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 100

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Asp

1 5

<210> 101

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 101

atttgtactg ttggtgacac a

21

<210> 102

<211

> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 102

Ile Gly Thr Val Gly Asp Thr

1	5		
<210> 103			
<211> 54			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 103			
gcaagagatc ggggggtgc gaatatttat agtttctact acggatggc cgtc 54			
<210> 104			
<211> 18			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 104			
Ala Arg Asp Arg Gly Gly Ala Asn Ile Tyr Ser Phe Tyr Tyr Gly Met			
1	5	10	15

Asp Val

<210> 105			
<211> 324			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 105			
gacatccaga tgaccaggc tccatccctcc ctgtctgtat ctgttaggaga cagagtacc 60			
atcacttgcc gggcgagtca ggacatttagc aattatccat cctggatca gcagaaaccca 120			
ggaaaggatcc ctaagctcct gatctatgct gcatccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180			
cggttcagtg gcagtggatc tgggacagat ttcaatctca ccatcagcag cctgcagcct 240			
gaagatgttcaacttattt ctgtcaaaaag tataacagtgc cccatcac tttcgccct 300			
gggacccaaag tggatatcaa acga 324			

<210> 106

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 106

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val 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 Phe Cys Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100 105

<210> 107

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 107

caggacatta gcaattat 18

<210> 108

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 108

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 109

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 109

gctgcattcc 9

<210> 110

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 110

Ala Ala Ser

1

<210> 111

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 111

caaaagtata acagtcccc attcact 27

<210> 112

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 112

Gln Lys Tyr Asn Ser Ala Pro Phe Thr

1 5

<210> 113

<211> 393

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 113

gaggtgcagc tggtgagtc tggggaggc ttggtagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtcagc cctctggatt caccttaac agtttgtca tgagctgggt ccgtcaggct 120

ccagggagg ggttggatgt ggtctcagct attagtggtt atgggtggtag cacatactac 180

gcagactcca tgaaggccg gttcacccgc tccagagaca attccaagaa tacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc gaaagatcac 300

aaggatttct atgttcggt gagttatccc aaccggact actactacgg tatggacgtc 360

tggggccaag ggaccacggc caccgtctcc tca 393

<210> 114

<211> 131

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 114

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Met

50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Lys Asp His Lys Asp Phe Tyr Ala Ser Gly Ser Tyr Phe Asn Arg		
100	105	110
Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr		
115	120	125
Val Ser Ser		
130		
<210> 115		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 115		
ggattcacct ttaacagttt tgtc		24
<210> 116		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 116		
Gly Phe Thr Phe Asn Ser Phe Val		
1	5	
<210> 117		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		

<223> Synthetic

<400> 117

attagtggtt atggtagtgc caca

24

<210> 118

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 118

Ile Ser Gly Tyr Gly Ser Thr

1 5

<210> 119

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 119

gcgaaagatc acaaggattt ctatgcttcg gggagttatt ttaaccggga ctactactac 60

ggtagatggacgc tc 72

<210> 120

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 120

Ala Lys Asp His Lys Asp Phe Tyr Ala Ser Gly Ser Tyr Phe Asn Arg

1 5 10 15

Asp Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val

20

<210> 121

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 121

gacatccaga tgacccagtc tccttccacc ctgtctgcat ctgttgaga cagagtacc 60
 atcaacttgcc gggccagtca gagtattagt agctggttgg cctggatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaaggcct gatctataag gcgtctagtt tagaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tggcacagaa ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
 gatgatttg caacttatta ctgccaacag tataatagtt attctggac gttcggccaa 300
 gggaccaagg tggaaatcaa acga 324

<210> 122

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 122

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Lys Ala Ser Ser Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg

85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100	105	
<210> 123		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 123		
cagagtatta gtagctgg		18
<210> 124		
<211> 6		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 124		
Gln Ser Ile Ser Ser Trp		
1	5	
<210> 125		
<211> 9		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 125		
aaggcgt ct		9
<210> 126		
<211> 3		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 126		
Lys Ala Ser		

1

<210> 127

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 127

caacagtata atagttattc tcggacg

27

<210> 128

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 128

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Ser Arg Thr

1 5

<210> 129

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 129

gagggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtaacgc ctggggggtc cctgacactc 60

tcctgcgcag cctctagatt caccttcagt aactacgaca tgcactgggt ccgccaaagcc 120

acagaaaaag gtctggagtg ggtctcagct attggtaactg tcggtgacac atactatgca 180

ggctctgtga agggccgatt caccatctcc agagacgatg ccaagaattc cctttatctc 240

caaataaca gcctgagagc cggggacacg gctgttatt actgtcaag agatcgaaaa 300

ggtgcgggga ctatagttt ctattacggt atggacgtct gggccaagg gaccacggtc 360

accgtctcct ca 372

<210> 130

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 130

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

1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Arg Phe Thr Phe Ser Asn Tyr

20 25 30

Asp Met His Trp Val Arg Gln Ala Thr Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Gly Thr Val Gly Asp Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn Ser Leu Tyr Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Arg Asp Arg Gly Gly Ala Gly Thr Tyr Ser Phe Tyr Tyr Gly Met Asp

100 105 110

Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 131

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 131

agattcacct tcagtaacta cgac 24

<210> 132

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 132
Arg Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Asp

1 5

<210> 133
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 133

attggtaactg tcggtgacac a 21

<210> 134
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 134

Ile Gly Thr Val Gly Asp Thr

1 5

<210> 135
<211> 54
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 135

gcaagagatc ggggggtgc gggacttat agtttctatt acggatggc cgtc 54

<210> 136
<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 136

Ala Arg Asp Arg Gly Gly Ala Gly Thr Tyr Ser Phe Tyr Tyr Gly Met

1 5 10 15

Asp Val

<210> 137

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 137

gacatccaga tgacctcagtc tccatccctcc ctgtctgcatt ctgttaggaga cagagtacc 60

atcacttgcc gggcgagtca ggacatttgc aattattttag cctggtatca gcagaaacca 120

gggaaaggttc ctaaactcct gatctatgtc gcttccactt tgcaatcagg ggtcccatct 180

cggttcagtg gtatggatc tggcacat ttcactctca ccgtcagcag cctgcagect 240

gaagatgttg caacttatta ctgtcaaaag tataccatgt cccattcac ttccggccct 300

gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 138

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 138

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

65 70 75 80

Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Lys Tyr Thr Ser Ala Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100 105

<210> 139

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 139

caggacatta gcaattat 18

<210> 140

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 140

Gln Asp Ile Ser Asn Tyr

1 5

<210> 141

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 141

gctgcttcc

9

<210> 142

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 142

Ala Ala Ser

1

<210> 143

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 143

caaaagtata ccagtcccc attcact

27

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 144

Gln Lys Tyr Thr Ser Ala Pro Phe Thr

1

5

<210> 145

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 145

caggtgcagc tgggggaggc gtggccagc ctgggggtc cctgagactc 60
 tcctgtcag cgtctggatt caccttcagt agctatgccca tgcactgggt ccgcaggct 120
 ccaggaagg gactggagtg ggtggcaatt atatggttg atgaaagtaa tgaagattat 180
 gcagactccg tgaaggccg attcaccatc tccagagaca attccaagaa catgtatat 240
 ctgcaaataa acagcctgag agccgaggac acggctgtt attactgtgc gagatctgcc 300

aactggaact acgaaggggg acccctctt gactactggg gccagggAAC cctggtcacc 360
 gtctcctca 369

<210> 146

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 146

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Ser Ala Asn Trp Asn Tyr Glu Gly Gly Pro Leu Phe Asp Tyr

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 147

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 147

ggattcacct tcagtagcta tgcc

24

<210> 148

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 148

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Ala

1 5

<210> 149

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 149

atatggtttg atggaagtaa tgaa

24

<210> 150

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 150

Ile Trp Phe Asp Gly Ser Asn Glu

1 5

<210> 151

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 151

gcgagatctg ccaactggaa ctacgaaggg ggaccctct ttgactac 48

<210> 152

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 152

Ala Arg Ser Ala Asn Trp Asn Tyr Glu Gly Gly Pro Leu Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 153

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 153

gacatccaga tgacctagtc tccatcctcc ctgtctgctt ctgtaggaga ccgagtcacc 60

atcaacttgcc gggcaagtca gaccattagc accttttaa attggatca gcagaagcca 120

gggaaaggcc ctgaactcct gatctacact gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aggttcagtg gcagtggatc tggcacat ttcgctctca ccatcagcag tctgcaacct 240

gaagatttg cgacttacta ctgtcaacag aattacaatg accctccac cttcgccaa 300

gggacacgac tggagattaa acga 324

<210> 154

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 154

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 Thr Ile Ser Thr Phe

20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Gly Pro Glu Leu Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Asn Tyr Asn Asp Pro Pro

85 90 95

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

100 105

<210> 155

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 155

cagaccatt a gcacctt t 18

<210> 156

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 156

Gln Thr Ile Ser Thr Phe

1 5

<210> 157

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 157

actgcattcc	9
------------	---

<210> 158

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 158

Thr Ala Ser

1

<210> 159

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 159

caacagaatt acaatgaccc tcccacc	27
-------------------------------	----

<210> 160

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 160

Gln Gln Asn Tyr Asn Asp Pro Pro Thr

1 5

<210> 161

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 161

cagggtgcagc tggtgaggtc tgggggaggc ttggtaaagc ctggagggtc cctgacactc 60
 tcctgttag cctctggatt caccttact gactactaca ttatggat ccgcaggct 120
 ccgggaagg gactggagtg gatttcatac attggtaactg gtggtgctgc caaatactac 180
 gcagactctg ttaaggccg attcaccgtc tccaggaca acgccaagaa ctcactgtat 240
 ctactaatga acaacctgag agccgaggac acggccgtat attattgtgc gagagatctg 300

gggatcttg acttatgggg ccagggaaacc ctggtaaccg ttcctca 348

<210> 162

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 162

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Tyr Ile Gly Thr Gly Gly Ala Ala Lys Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85	90	95
Ala Arg Asp Leu Gly Ile Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
100	105	110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 163

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 163

ggattcacct tcaactgacta ctac	24
-----------------------------	----

<210> 164

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 164

Gly Phe Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr

1	5	
---	---	--

<210> 165

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 165

atggtaactg gtggtgctgc caaa	24
----------------------------	----

<210> 166

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 166

Ile Gly Thr Gly Ala Ala Lys

1 5

<210> 167

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 167

gcgagagatc tggggatctt tgactta 27

<210> 168

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 168

Ala Arg Asp Leu Gly Ile Phe Asp Leu

1 5

<210> 169

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 169

gaaattgtga tgacgcagtc tccagccacc ctgtctgtgt ctccaggaga aagagccacc 60

ctctcctgta gggcagtca gagtgttagt agtagtttag cctggtagcca ccagaaaacct 120

ggccaggctc ccaggctct catccatggt gttccacca gggccactgg tatcccagcc 180

aggttcagtgcactgggtc tgggacagaa ttcaactctca ccatcagcag cctgcagtct 240

gaagatttt cagtttatta ctgtcaacag tatcataact ggccctccgta cactttggc 300
 caggggacca agctggagat caaacga 327

<210> 170
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Synthetic
 <400> 170

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly

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

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

His Gly Val Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr His Asn Trp Pro Pro

85	90	95
----	----	----

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100	105
-----	-----

<210> 171
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>

<223> Synthetic

<400> 171

cagagtgtta gtagtagt 18
 <210> 172

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 172

Gln Ser Val Ser Ser Ser

1	5	
---	---	--

<210> 173

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 173

ggtgtttcc	9
-----------	---

<210> 174

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 174

Gly Val Ser

1	5	
---	---	--

<210> 175

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 175

caacagtatacataactggcc tccgtacact	30
----------------------------------	----

<210> 176

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 176

Gln Gln Tyr His Asn Trp Pro Pro Tyr Thr

1 5 10

<210> 177

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 177

caggtgcagc tggtgagtc tggggaggc gtggccagc ctggaggc cctgagactc 60

tcctgtcag cctctggatt cacctcagt agtttggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaagg ggctggatg ggtgtcaatg atatcaaccg atgaaatgaa gaaaaattat 180

gcagactccg tgaaggcccg attcaccatc accagagaca attcaaagaa cacgtgtat 240

ttgaaatga acagccttag agctgaggac acggctgtt attacgggt gagagttggg 300

tactatgatt cggggatata ttataactat tggggccagg gaacctggt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 178

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 178

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Met Ile Ser Thr Asp Gly Ser Lys Lys Asn Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Val Arg Val Gly Tyr Tyr Asp Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Tyr Trp Gly

100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115 120

<210> 179

<211> 24

<212> DNA

<213

> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 179

ggattcacct tcagtagttt tggc 24

<210> 180

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 180

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly

1 5

<210> 181

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 181

atatacaaccg atggaagtaa gaaa 24

<210> 182

<211> 8

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 182

Ile Ser Thr Asp Gly Ser Lys Lys

1 5

<210> 183

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 183

gtgagagttt ggtactatga ttcggggagt tattataact at 42

<210> 184

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 184

Val Arg Val Gly Tyr Tyr Asp Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Tyr

1 5 10

<210> 185

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 185

gacatccaga tgaccaggc tccatcttc gtgtctgc ctgttagtga cagagtacc 60
 atcaacttgtc gggcgagtca gggattcgc agctggtag cctggttca gcagagacca 120
 gggaaagccc ctaacctct gatctatgtc gcatccagg tgcaaagtgg ggtctcatcc 180
 aggttcagcg gcagtggtc tggacagaa ttcaactcta gcatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatttg caacttacta ttgtcaacag gcttacagtt ttccgctcac tttccggcga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acga 324

<210> 186

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 186

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Tyr Ser Phe Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100 105

<210> 187

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 187

cagggtattc gcagctgg

18

<210> 188

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 188

Gln Gly Ile Arg Ser Trp

1 5

<210> 189

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 189

gctgcattcc

9

<210> 190

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 190

Ala Ala Ser

1

<210> 191

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 191

caacaggctt acagtttcc gctcact 27

<210> 192

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 192

Gln Gln Ala Tyr Ser Phe Pro Leu Thr

1 5

<210> 193

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 193

gaggtgcagc tggtgagtc tgggggaggc ttggcgcc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtcagc cctctggatt caccttagg atctatgcc ttagctgggt ccggcaggct 120

ccagggagg ggctggagg ggtctcagg attagtggta gtggtgataa tacatactat 180

acagactccg tgaaggccg gttcatcatc tccagagaca attccaagag cacgtgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaat acggccgtat attactgtgc gagagggtgg 300

gagttactga actactgggg ccagggaaacc ctggtcaccc tctcctca 348

<210> 194

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 194

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

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

<210> 195

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 195

ggattcacct ttaggatcta tgcc 24

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 196

Gly Phe Thr Phe Arg Ile Tyr Ala

1 5

<210> 197

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 197

attagtggta gtgggtataa taca 24

<210> 198

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 198

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr

1 5

<210> 199

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 199

gcgagagggt gggagttact gaactac 27

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 200

Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr

1 5

<210> 201

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 201

gacatccaga tgaccaggc tccatctca ctgtctgcat ttgttaggaga cagagtacc 60

atcacttgc gggcgagtca ggacatttc aatcatttgc cctggttca gcagaaacca 120

gggaaagtcc ctaagtccct gatctatgct gcgtccagg tgcaaagtgg ggtcccatca 180

aaattcagcg gcagtggatc tggcacat ttcactctca ccatcagcag cctgcagcct 240

gaagatttg caacttata ctgccaacag tatggtctt atcctccac tttcgccct 300

gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 202

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 202

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

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn His

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Val Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Leu Tyr Pro Pro			
85		90	95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg			
100		105	
<210> 203			
<211> 18			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 203			
caggacatta gcaatcat			18
<210> 204			
<211> 6			
<212> PRT			
<213>			
Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 204			
Gln Asp Ile Ser Asn His			
1	5		
<210> 205			
<211> 9			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 205			
gctgcgtcc			9
<210> 206			
<211> 3			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			

<220>

<223> Synthetic

<400> 206

Ala Ala Ser

1

<210> 207

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 207

caacagtatg gcttttatcc tcccact

27

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 208

Gln Gln Tyr Gly Leu Tyr Pro Pro Thr

1

5

<210> 209

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 209

gaggtgcagc tggtgagtc tggggaggc ttggtagacgc cgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtcagc cctctggatt cacttttagc atctatgcc a tagctgggt ccgccaggct 120

ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcaggat attagtgta gtgggttag aacatactac 180

gcagactccg ttaaggccg gttcaccatc tctagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agtcgaggac acggccgtt attactgtgc gagagggtgg 300
 gagttctta acttctgggg ccaggaaacc ctggtcaccg ttcctca 348

<210> 210

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 210

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 211

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 211

ggattcaattttagcatcta tgcc 24

<210> 212
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 212
Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr Ala

1 5
<210> 213
<211> 24
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 213

attagtggta gtgggttag aaca 24
<210> 214
<211> 8
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 214
Ile Ser Gly Ser Gly Gly Arg Thr

1 5
<210> 215
<211> 27
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 215

gcgagagggt gggagttct taacttc

27

<210> 216

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 216

Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Phe

1 5

<210> 217

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 217

gacatccaga tgacctagtc tccatccta ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc 60

atcaacttgtc gggcgagtca gggcattagt aataatttag cctggttca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagg ttaaaagtgg ggtccatca 180

aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcactctca ccatcaacag cctgcagect 240

gaagattttcaacttatta ctgccaccag tataatagtt atcctccac tttcgccct 300

gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 218

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 218

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

1 5 10 15

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

20	25	30
----	----	----

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35	40	45
----	----	----

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

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys His Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro

85	90	95
----	----	----

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100	105	
-----	-----	--

<210> 219

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 219

caggcattta gtaataat 18

<210> 220

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 220

Gln Gly Ile Ser Asn Asn

1	5	
---	---	--

<210> 221

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 221

gctgcattcc

9

<210> 222

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 222

Ala Ala Ser

1

<210> 223

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 223

caccagtata atagttatcc tcccaact

27

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 224

His Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr

1

5

<210> 225

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 225

gaggtgcagc tggggaggc ttggggcagc ctgggggtc cctgagactc 60
 tcctgtcag tctctggatt caccttagc atctatgcc a tagctgggt ccgcaggct 120
 ccagggagg ggctggagg ggtctcagct attagtgta gtggtgataa gacatactac 180
 gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240
 ctgcaa atga acaggctgag agccgaggac acggccgtat ttactgtgc gagagggtgg 300
 gagtcctaa actactgggg ccagggacc ctggtcaccg ttcctca 348

<210> 226

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 226

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Asp Lys Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 227

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 227

ggattcacct ttagcatcta tgcc

24

<210> 228

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 228

Gly Phe Thr Phe Ser Ile Tyr Ala

1 5

<210> 229

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 229

attagtggta gtgggtataa gaca

24

<210> 230

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 230

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Lys Thr

1	5
<210> 231	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 231	
gcgagagggt gggagtcct aaactac 27	
<210> 232	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 232	
Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr	
1	5
<210	
> 233	
<211> 324	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 233	
gacatccaga tgaccaggc tccatcctca ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc 60	
atcacttgc gggcgagtct ggacattagt aatttttag cctggttca gcagaaacca 120	
ggcacagccc ctaagtccct gatctattct gcatccagg tgcggactgg ggtcccatca 180	
aagttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240	
gaagatttg caacttatta ctgccagcag tatagttctt accctccac ttccggccct 300	
gggaccaaag tggatatcaa acga 324	
<210> 234	
<211> 108	

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 234

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 Leu Asp Ile Ser Asn Phe

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100 105

<210> 235

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 235

ctggacatta gtaattt 18

<210> 236

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 236

Leu Asp Ile Ser Asn Phe

1 5

<210> 237

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 237

tctgcattcc 9

<210> 238

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 238

Ser Ala Ser

1

<210> 239

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 239

cagcagtata gtttttaccc tccccact 27

<210> 240

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 240

Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Pro Thr

1 5

<210> 241

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 241

gagggtgcagc tggtgagtc tgggggaggc ttggtagc cggggggc cctgagactc 60

tcctgttag cctctggatt caactttaga atctatgcc a tagctgggt ccggccaggct 120

ccagggagg ggcgggagg ggtctcagg attagtgta gtggtgataa cacatactac 180

gcagcctccg tgaaggccg gttcacccgc tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaaatga ccagcctgag agccgaggac acggccgtat ttactgtgc gagaggggtgg 300

gagctcctaa actattgggg ccaggaaacc ctggtcaccc tctcctca 348

<210> 242

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 242

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Asn Phe Arg Ile Tyr

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro Glu Trp Val

35 40 45

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

50 55 60

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

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

 85 90 95
 Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

 100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 243

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 243

ggattcaact ttagaatcta tgcc 24

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 244

Gly Phe Asn Phe Arg Ile Tyr Ala

1 5

<210> 245

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 245

attatgtggta gtggtgataa caca 24

<210> 246

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 246

Ile Ser Gly Ser Gly Asp Asn Thr

1 5

<210> 247

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 247

gcgagagggt gggagctcct aaactat 27

<210> 248

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 248

Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr

1 5

<210> 249

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 249

gacatccaga tgacctagtc tccatccca ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc 60

atcacttgtc gggcgagtct ggacattggc aatttttag cctggttca gcagaaacca 120

gggacagccc ctaaggccct gatctattct gcatccagtc tgcagactgg ggtcccatca 180
 aagttcagcg gcagtggatc tggacagat ttcaactcta ccatcagcag cctgcagcct 240
 gaagatttg caacttatta ctgccaacag tataattctt atcctccac tttcgccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 250

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 250

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 Leu Asp Ile Gly Asn Phe

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Thr Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100 105

<210> 251

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 251

ctggacattg gcaatttt 18

<210> 252

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 252

Leu Asp Ile Gly Asn Phe

1	5
---	---

<210> 253

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 253

tctgcattcc	9
------------	---

<210> 254

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 254

Ser Ala Ser

1	9
---	---

<210> 255

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 255

caacagtata attcttatcc tcccact 27

<210> 256

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 256

Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Pro Thr

1	5
---	---

<210> 257

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 257

gaggtgcagc tggtgagtc tggggaggc ttggtagc cgggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggatt taccttaaa atctatgcc a tagttgggt ccgcaggc 120

ccagggagg ggctggagtg ggtctcggtt attagtggaa atggtgacaa aacatactat 180

acagactccg tgcaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacacttt 240

ctccaaatga acagcctgag agccgaggac acggccatat attactgtgc gcgagggtgg 300

gaactgctaa attactgggg ccagggacc ctggcaccc tctcctca 348

<210> 258

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 258

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

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

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

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

85	90	95
Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val		
100	105	110
Thr Val Ser Ser		

115

<210> 259

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 259

ggatttacct ttaaaatcta tgcc 24

<210> 260

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 260

Gly Phe Thr Phe Lys Ile Tyr Ala

1 5

<210> 261

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 261

attagtggaa atggtgacaa aaca

24

<210> 262

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 262

Ile Ser Gly Asn Gly Asp Lys Thr

1 5

<210> 263

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 263

gcgcgagggt gggaaactgct aaattac

27

<210> 264

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 264

Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr

1 5

<210> 265

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 265

gacatccaga tgaccaggc tccatctca ctgtctgc catctataggaga cagagtacc 60
 atcaacttgc gggcgagtca ggacattagc aatttttag cctggttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtcct gatctatgct gcatccagg tgcaaagtgg ggtcccatca 180
 aggttcagcg gcagtggatc tggacagat ttcaactctca ccatactccag cctgcagcct 240

gaagatttt caacttatta ctgccaacaa tatattcctt tccctccac tttcgccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 266

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 266

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ile Pro Phe Pro Pro

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100 105

<210> 267

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 267

caggacatta gcaattct

18

<210> 268

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 268

Gln Asp Ile Ser Asn Ser

1 5

<210> 269

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 269

gctgcattcc

9

<210> 270

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 270

Ala Ala Ser

1

<210> 271

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 271

caacaatata ttcccttccc tcccact

27

<210> 272

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 272

Gln Gln Tyr Ile Pro Phe Pro Pro Thr

1 5

<210> 273

<211> 348

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 273

gaggtgcagc tggtgaggc tgggggaggc ctggtagacgc cgggggggtc cctgagactc 60

tcctgttag ctctggatt caccttacc agctatgcc a tagctgggt ccgcaggct 120

ccagggaggg ggctgcagt ggtctcagct attgggtggta gtggtagat tatatattac 180

gcagactccg tcaaggccg gttcaccatc tccagagaca actccaagaa tacgtgtat 240

ctgcaaattgg acagcctgag agccgaggac acggccgtat attactgtgc aagaggatgg 300

gagttactca attactgggg ccaggaaacc ctggcaccc tctcctca 348

<210> 274

<211> 116

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 274

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Arg Gly Leu Gln Trp Val

35 40 45

Ser Ala Ile Gly Gly Ser Gly Asp Ser Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 275

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 275

ggattcacct ttaccagcta tgcc 24

<210> 276

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 276

Gly Phe Thr Phe Thr Ser Tyr Ala

1 5

<210> 277

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 277

atttgtggta gtggtagat tata 24

<210> 278

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 278

Ile Gly Gly Ser Gly Asp Ser Ile

1 5

<210> 279

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 279

gcaagaggat gggagttact caattac 27

<210> 280

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 280

Ala Arg Gly Trp Glu Leu Leu Asn Tyr

1 5

<210

> 281

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 281

gacatccaga tgaccaggc tccatcctca ctgtctgcat ctgttaggaga cagagtacc 60
 atcacttgc gggcgagtca ggacattggc aatttttag cctggttca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagtccct gatctatgct gcatccagg taaaagtgg ggtcccatca 180
 aagatcagcg gcagtggttc tggcacat ttcaactctca ccatcaacag cctgcagcct 240
 gaagattttgc caacttatta ctgccaacag tataatattt accctccac tttcgccct 300
 gggaccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 282

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 282

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ala Trp Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Ser Leu Ile

35 40 45

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

50 55 60

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

65	70	75	80	
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Pro				
		85	90	95
Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg				
		100	105	

<210> 283

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 283

caggacattg gcaattt

18

<210> 284

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 284

Gln Asp Ile Gly Asn Phe

1 5

<210> 285

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 285

gctgcattcc

<210> 286

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 286

Ala Ala Ser

1

<210> 287

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 287

caacagtata atatttaccc tccccact

27

<210> 288

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 288

Gln Gln Tyr Asn Ile Tyr Pro Pro Thr

1

5

<210> 289

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 289

caggtacagc tgcagcagtc aggtccagga ctggtaaggc cctcgacac cctctcactc 60

acctgtgcca tctccgggaa cagtgtcttctt agcaacagtgt ctgcttggaa ctggatcagg 120

cagtcggcat cgagggcct tgagtggctg ggaaggacat actacaggc caagtggtat 180

catgattatg cttttctgt gaaaagtctga atacttatca atccagacac atccaagaac 240

ctgttctccc tgcagaatgaa ctctgtgact cccgaggaca cggctgtgta ttactgtgca 300
 agagataggc gatcctactt tgactactgg ggccaggaa ccctggcac cgttcctca 360
 <210> 290
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic
 <400> 290

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln

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

<210> 291
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <223> Synthetic
 <400> 291

ggggacagtg tctctagcaa cagtgcgtct 30

<210> 292

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 292

Gly Asp Ser Val Ser Ser Asn Ser Ala Ala

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

<210> 293

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 293

acatactaca ggtccaagtg gtatcat 27

<210> 294

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 294

Thr Tyr Tyr Arg Ser Lys Trp Tyr His

1	5	
---	---	--

<210> 295

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 295

gcaagagata ggcgatccta ctttgactac 30

<210> 296

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 296

Ala Arg Asp Arg Arg Ser Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 297

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 297

gaaatttgt tgacacagtc tccagccacc ctgtcttgc ctccaggga aagagccacc 60

ctctcctgca gggccagtcg gagtgtagc agttccctag cctggtagcca acagaaacct 120

ggccaggctc ccaggctct catctatgtat gcatccaaca gggccactgg catcccagcc 180

aggttcagtg gcgggtggtc tgggacagac ttcaactctca ccatcagcag cctagagcct 240

gaagattttgc cagtttatta ctgtcagcag cgtaacaact ggctcccac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acga 324

<210> 298

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 298

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

1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Arg Ser Val Ser Ser Ser
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Gly Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Pro
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105

<210> 299

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 299

cgaggatgtta gcagttcc 18

<210> 300

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 300

Arg Ser Val Ser Ser Ser

1 5

<210> 301

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 301

gatgcattc

9

<210> 302

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 302

Asp Ala Ser

1

<210> 303

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 303

cagcagcgta acaactggcc tccccact

27

<210> 304

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 304

Gln Gln Arg Asn Asn Trp Pro Pro Thr

1

5

<210> 305

<211> 369

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 305

gagggtgcagc tggtgagtc tgggggagcc ttggtaacagc ctggcaggc cctgagactc 60
 tcctgtacag cctctggatt cgttttgaa gattatgcc a tgcactgggt ccggcaagct 120
 ccagggagg gcctggagtg ggtctcaggat attagttgga atagtggtag gataggctat 180

acggactctg tgaaggccg attcaccgtc tccagagaca acgccaagaa ctccttgc 240
 ctgcaa atga acagtctgac aactgaggac acggccttgtt attattgtgc aaaagataaa 300
 tcgc cctcta agtggactt actaggtatg gacgtctggg gccaaggac cacggtcacc 360
 gtctcctca 369

<210> 306

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 306

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Val Phe Glu 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 Gly Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile Gly Tyr Thr Asp Ser Val

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Lys Asp Lys Ser Pro Ser Lys Trp Asn Leu Leu Gly Met Asp Val

100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115	120	
<210> 307		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 307		
ggatcgttt ttgaagatta tgcc		24
<210> 308		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 308		
Gly Phe Val Phe Glu Asp Tyr Ala		
1	5	
<210> 309		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 309		
attatgttga atatgttgta gata		24
<210> 310		
<211> 8		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 310		
Ile Ser Trp Asn Ser Gly Arg Ile		

1 5

<210> 311

<211> 48

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 311

gcaaaagata aatgcgcctc taagtggAAC ttactaggta tggacgtc 48

<210> 312

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 312

Ala Lys Asp Lys Ser Pro Ser Lys Trp Asn Leu Leu Gly Met Asp Val

1 5 10 15

<210> 313

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 313

gccatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtacc 60

atcacttgcc gggcaagtca ggacattaga aatgatttag gctggttca gcagaaacca 120

gggagagccc ctaacctct aatcttttgtt gcatccagg tacaaagtgg ggtcccatca 180

agtttcagcg gcagtggatc tggcacagat ttcaactctca ccatcagcgg cctgcagcct 240

gaagatttt caacttatta ctgtctacaa gattacactt acccattcac tttcgccct 300

gggacccaaag tggatatcaa acga 324

<210> 314

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 314

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ser Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Asp Tyr Thr Tyr Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Asp Ile Lys Arg

100 105

<210> 315

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 315

caggacatta gaaatgat 18

<210> 316

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 316

Gln Asp Ile Arg Asn Asp

1 5

<210> 317

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 317

ggtgcatcc

9

<210> 318

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 318

Gly Ala Ser

1

<210> 319

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 319

ctacaagatt acacttaccc attcact

27

<210> 320

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 320

Leu Gln Asp Tyr Thr Tyr Pro Phe Thr

1 5

<210> 321

<211> 363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 321

caggtgcagc tggcagtc tgggcttagt gtacagaagc cggggcgta agtggaaatgc 60

tcctgcagg ctctggata cacccacc gactactata ttcatgggt ggcacaggcc 120

cctggacaag ggcttgatgt gatggatgg atcaacccta aaactggatgg cacaactat 180

gcaccgaagt ttccggcag ggtcaccatg accaggact cgtccatcat cacagctac 240

atggacttga ccagactgac ctctgacgac acggccgtt ttactgtgc gagacgggaa 300

tataatgtt ggtggccgt tttgactac tggggccagg gaacccttgtt caccgtctcc 360

tca 363

<210> 322

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 322

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

Ala Arg Arg Gly Tyr Asn Ser Arg Trp Ser Val Phe Asp Tyr Trp Gly

100	105	110
-----	-----	-----

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115	120
-----	-----

<210> 323

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 323

ggatacacct tcaccgacta ctat	24
----------------------------	----

<210> 324

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 324

Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Tyr

1	5
---	---

<210> 325

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 325

atcaacccta aaactgggtgg caca	24
-----------------------------	----

<210> 326

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 326

Ile Asn Pro Lys Thr Gly Gly Thr

1	5
---	---

<210> 327

<211> 42

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 327

gcgagacggg gatataatag taggtggtcc gttttgact ac 42

<210> 328

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 328

Ala Arg Arg Gly Tyr Asn Ser Arg Trp Ser Val Phe Asp Tyr

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

<210> 329

<211> 327

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 329

gaaatttgt tgacgcagtc tccaggcacc ctgtttgt ctccagggga aagagccacc 60

ctctcctgta gggccagtca gagtgttac agcaactact tagcctggta ccagcagaaa 120

cgtggcctgg ctcccaggct cctcatctat ggtgcattca gcagggccac tggcatccca 180

gacaggttca gtggcagtggt gttggaca gacttcactc tcaccatcgag cagactggag 240

cctgaagatt ttgcagtgtat tactgttag cagcatgggt gtcaccggc cacttcggc 300

ggagggacca aggtggagat caaacga 327

<210> 330

<211> 109

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 330

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

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

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

20	25	30
----	----	----

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

35	40	45
----	----	----

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50	55	60
----	----	----

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

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

Val Thr Phe Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg

100	105	
-----	-----	--

<210> 331

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 331

cagagtgtt acagcaacta c

21

<210> 332

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 332

Gln Ser Val Tyr Ser Asn Tyr

1 5

<210> 333

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 333

ggtgcatcc

9

<210> 334

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 334

Gly Ala Ser

1

<210> 335

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 335

cagcagcatg gtggctcacc ggtcact 27

<210> 336

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 336

Gln Gln His Gly Gly Ser Pro Val Thr

1 5

<210> 337

<211> 366

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 337

caggtgcagc tggtgaggc tgggggaggc gtggccagc ctgggaggc cctgagactc 60

tcctgtgaag cctctggatt caccttcagt agctatggca tgcactgggt ccgccaggct 120

ccaggcaacg ggctggagtg gatcgcatgt atatcatctg atggaaataa taaatattat 180

atagaatccg tgaaggccg attcaccatg tccagagaca attccaagaa cacgctgtat 240

ctgcaattga acagcctgag aactgaggac acggctgtgt attactgtgc gacttacaac 300

tggaacgacg acggggacgg gtttttgac tactggggcc aggaaacctt gtcaccgtc 360

tcctca 366

<210> 338

<211> 122

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 338

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

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

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

20	25	30
----	----	----

Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gly Leu Glu Trp Ile

35	40	45
----	----	----

Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Asn Asn Lys Tyr Tyr Ile Glu Ser Val

50	55	60
----	----	----

Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65	70	75	80
----	----	----	----

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

85	90	95
----	----	----

Ala Thr Tyr Asn Trp Asn Asp Asp Gly Asp Gly Val Phe Asp Tyr Trp

100	105	110
-----	-----	-----

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser

115	120	
-----	-----	--

<210> 339

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 339

ggattcacct tcagtagcta tggc 24

<210> 340

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 340

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr Gly

1 5

<210> 341

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 341

atatcatctg atggaaataa taaa 24

<210> 342

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 342

Ile Ser Ser Asp Gly Asn Asn Lys

1 5

<210> 343

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 343

gcgacttaca actggAACGA cgacggggac ggggttttg actac 45

<210> 344

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 344

Ala Thr Tyr Asn Trp Asn Asp Asp Gly Asp Gly Val Phe Asp Tyr

1	5	10	15
<210> 345			
<211> 324			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220>			
<223> Synthetic			
<400> 345			
gacatccaga tgacctcagtc tccatcttcc gtgtctgcat ctgttaggaga cagagtccacc 60			

atcaacttgc gggcgagtca gggatttagc aactggtag cctgttatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagctct gatctatggt acatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactctca ccatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gttaagagtt tcccgtagcac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa acga 324

<210> 346
<211> 108
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<400> 346

1	5	10	15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Trp			
20	25	30	
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile			
35	40	45	
Tyr Gly Thr Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly			
50	55	60	
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro			
65	70	75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Val Lys Ser Phe Pro Tyr			

85	90	95
----	----	----

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

100	105	
-----	-----	--

<210> 347

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 347

cagggttata gcaactgg	18
---------------------	----

<210> 348

<211> 6

<212> PRT

<213>

Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 348

Gln Gly Ile Ser Asn Trp

1	5	
---	---	--

<210> 349

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 349

ggtaacatcc	9
------------	---

<210> 350

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 350

Gly Thr Ser

1

<210> 351

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 351

caacaggta agagttccc gtacact 27

<210> 352

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 352

Gln Gln Val Lys Ser Phe Pro Tyr Thr

1

5

<210> 353

<211> 354

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 353

gaggtgcagc tggtgagtc ggggggaggc ttggtagc ctgggggtc cctgagactc 60

tcctgtcgac cctctggatt cacctttagc agatatggca tgaactgggt ccgccaggct 120

ccagggaaagg ggctggagtg ggtctcagct attagtggta gtgggtggtag cacataccac 180

gcagactccg tgaaggccg gttcaccatc tccagagaca attccaagaa cacactgtat 240

ctgcaaatga atagcctgag agccgcggac acggccatat atttctgtgc gtcttacaat 300

tggaacgacg gggtgacgt ctggggccaa gggaccacgg tcaccgtctc ctca 354

<210> 354

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 354

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Ala Asp Thr Ala Ile Tyr Phe Cys

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser

115

<210> 355

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 355

ggattcacct ttagcagata tggc 24

<210> 356

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 356

Gly Phe Thr Phe Ser Arg Tyr Gly

1 5

<210> 357

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 357

attagtggta gtgggttag caca 24

<210> 358

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 358

Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr

1 5

<210> 359

<211> 33

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 359

gcgtcttaca attggaacga cggggtgac gtc 33

<210> 360

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 360

Ala Ser Tyr Asn Trp Asn Asp Gly Val Asp Val

1 5 10

<210> 361

<211> 324

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 361

gacatccaga tgaccaggc tccatcttcc gtgtctgcata ctagggaga cagggtcacc 60

atcaacttgtc gggcgagtca gggttattagc aactggtag cctggatca gcagaaacca 120

gggaaagccc ctaagctct gatctatggt gcatccagg tgcggatgg agtctcatca 180

aggttcagcg gcagtggatc tgggacagat ttcaactcta ccatcatcag ctttcagcct 240

gaagattttg caacttacta ttgtcaacag gctaacagtt tcccgatcac ttttggccag 300

gggaccaagc tggagatcaa acga 324

<210> 362

<211> 108

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 362

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35	40	45
Tyr Gly Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Ser Ser Arg Phe Ser Gly		
50	55	60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ile Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr		

85	90	95
Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg		
100	105	

<210> 363

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 363

cagggttata gcaactgg 18

<210> 364

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 364

Gln Gly Ile Ser Asn Trp

1 5

<210> 365

<211> 9

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 365

ggtgcattcc	9
<210> 366	
<211> 3	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 366	
Gly Ala Ser	
1	
<210> 367	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 367	
caacaggcta acagtttccc gtacact	27
<210> 368	
<211> 9	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 368	
Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Tyr Thr	
1 5	
<210> 369	
<211> 214	
<212> PRT	
<213> Artificial Sequence	
<220>	
<223> Synthetic	
<400> 369	

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Trp

85 90 95

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

100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly

115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala

130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln

145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210> 370

<211> 452

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 370

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

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

Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 290 295 300
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450
 <210> 371

<211> 215

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 371

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala

100 105 110

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

115 120 125

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu

130 135 140

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser

145 150 155 160

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu

165 170 175

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

180 185 190

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

195 200 205

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

210 215

<210> 372

<211> 449

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 372

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45

Gly Ile Phe Tyr Pro Gly Asp Ser Ser Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe

50 55 60

Gln Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Val Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys

85 90 95

Ala Arg Arg Arg Asn Trp Gly Asn Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly

100 105 110

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

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180	185	190
Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro		
195	200	205
Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys		
210	215	220
Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro		
225	230	235
Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser		
245	250	255
Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp		
260	265	270
Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn		
275	280	285
Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val		
290	295	300
Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu		
305	310	315
Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys		
325	330	335
Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr		
340	345	350
Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr		
355	360	365
Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu		
370	375	380
Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu		
385	390	395
Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys		
405	410	415
Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu		
420	425	430

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

435

440

445

Lys

<210> 373

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 373

Asn Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Lys Ser Met Ser Met Val Gly

1 5 10 15

Glu Arg Val Thr Phe Asn Cys Arg Ala Ser Glu Asn Val Gly Thr Tyr

20 25 30

Val Phe Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Glu Gln Ser Pro Arg Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Gly Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Gly

50 55 60

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

65 70 75 80

Glu Asp Leu Ala Asp Tyr His Cys Gly Gln Ser Tyr Arg His Leu Thr

85 90 95

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

100 105 110

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

115 120 125

Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn

130 135 140

Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn

145 150 155 160

Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser

165	170	175
Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr		
180	185	190
Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe		
195	200	205
Asn Arg Gly Glu Cys		
210		
<210> 374		
<211> 449		
<212> PRT		
<213> Artificial Sequence		
<220>		
<223> Synthetic		
<400> 374		
Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Arg Leu Ser Cys Lys Ala Gly Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr		
20	25	30
Trp Leu His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile		
35	40	45
Gly Met Ile His Pro Asn Ser Gly Ser Tyr Asp Tyr Ser Glu Thr Phe		
50	55	60
Arg Thr Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Asp Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Gln Leu Thr Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Gly Gly Ser Asn Tyr Asp Ile Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly		
100	105	110
Thr Thr Leu Thr Val Ser Ser Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr		
115	120	125
Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu		
130	135	140

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

385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys

405 410 415

Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr Ser Cys Ser Val Val His Glu

420 425 430

Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly

435 440 445

Lys

<210> 375

<211> 863

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 375

Phe Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Tyr Tyr

1 5 10 15

Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu Ile Ser Tyr Lys Ile Ile Asn

20 25 30

Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp Gly Val Met Gln Leu Gly Val

35 40 45

Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Gln

50 55 60

Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser Lys Phe Leu

65 70 75 80

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

85 90 95

Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn

100 105 110

Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr

115 120 125

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

370	375	380
Ala Ile His Leu Cys Thr Ile Asn Asn Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr		
385	390	395
Asp Gly Ile Leu Gln Asn Gly Tyr Ile Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe		
405	410	415
Tyr Phe Asp Ala Asn Asn Glu Ser Lys Met Val Thr Gly Val Phe Lys		
420	425	430
Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr His Asn Asn		
435	440	445
Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu		
450	455	460
Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn Asp Ser Lys Ala Val Thr Gly		
465	470	475
Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala		
485	490	495
Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe		
500	505	510
Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly		
515	520	525
Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Phe Ile Ala Ser Thr Gly Tyr		
530	535	540
Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met		
545	550	555
Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro		
565	570	575
Ala Asn Thr His Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln		
580	585	590
Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp		
595	600	605
Ser Lys Ala Val Thr Gly Leu Arg Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr		
610	615	620

Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn

625 630 635 640

Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly

645 650 655

Tyr Thr Ile Ile Ser Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile

660 665 670

Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala

675 680 685

Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr

690 695 700

Gln Asn Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn

705 710 715 720

Asn Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr

725 730 735

Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly Ala Asn Gly Tyr Lys Thr Ile

740 745 750

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

755 760 765

Phe Lys Gly Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp

770 775 780

Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn Arg Phe Leu

785 790 795 800

His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn Ser Lys Ala Val

805 810 815

Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Val Tyr Tyr Phe Met Pro Asp

820 825 830

Thr Ala Met Ala Ala Gly Gly Leu Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile

835 840 845

Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val Lys Ala Pro Gly Ile Tyr Gly

850 855 860

<210> 376

<211> 516

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<400> 376

Asn Leu Ile Thr Gly Phe Val Thr Val Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Phe

1 5 10 15

Asn Pro Ile Asn Gly Gly Ala Ala Ser Ile Gly Glu Thr Ile Ile Asp

20 25 30

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

35 40 45

Phe Ser Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Leu

50 55 60

Asp Glu Asn Leu Glu Gly Glu Ala Ile Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile

65 70 75 80

Ile Asp Glu Asn Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val

85 90 95

Glu Trp Lys Glu Leu Asp Gly Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr

100 105 110

Gly Lys Ala Phe Lys Gly Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr

115 120 125

Phe Asn Ser Asp Gly Val Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp

130 135 140

Asn Lys His Tyr Phe Asp Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr

145 150 155 160

Glu Ile Asp Gly Lys His Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln

165 170 175

Ile Gly Val Phe Asn Thr Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His

180 185 190

Asn Glu Asp Leu Gly Asn Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly

195 200 205

Ile Leu Asn Phe Asn Asn Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe Thr
 210 215 220

Ala Val Val Gly Trp Lys Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr Tyr Phe
 225 230 235 240

Asp Glu Asp Thr Ala Glu Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu Ile Asn Asp
 245 250 255

Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn Asp Asp Gly Ile Met Gln Val Gly Phe Val
 260 265 270

Thr Ile Asn Asp Lys Val Phe Tyr Phe Ser Asp Ser Gly Ile Ile Glu
 275 280 285

Ser Gly Val Gln Asn Ile Asp Asp Asn Tyr Phe Tyr Ile Asp Asp Asn
 290 295 300

Gly Ile Val Gln Ile Gly Val Phe Asp Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr
 305 310 315 320

Phe Ala Pro Ala Asn Thr Val Asn Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val
 325 330 335

Glu Tyr Ser Gly Leu Val Arg Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly
 340 345 350

Glu Thr Tyr Thr Ile Glu Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu
 355 360 365

Ser Asp Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Glu Thr Lys Lys Ala Cys Lys Gly
 370 375 380

Ile Asn Leu Ile Asp Asp Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile
 385 390 395 400

Met Arg Thr Gly Leu Ile Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn
 405 410 415

Glu Asn Gly Glu Met Gln Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met
 420 425 430

Phe Tyr Phe Gly Glu Asp Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr
 435 440 445

Pro Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu Asn

450	455	460													
Phe	Glu	Gly	Glu	Ser	Ile	Asn	Tyr	Thr	Gly	Trp	Leu	Asp	Leu	Asp	Glu
465	470	475	480												
Lys	Arg	Tyr	Tyr	Phe	Thr	Asp	Glu	Tyr	Ile	Ala	Ala	Thr	Gly	Ser	Val
485	490	495													
Ile	Ile	Asp	Gly	Glu	Glu	Tyr	Tyr	Phe	Asp	Pro	Asp	Thr	Ala	Gln	Leu
500	505	510													
Val	Ile	Ser	Glu												
515															
<210>	377														
<211>	8133														
<212>	DNA														
<213>	Clostridium difficile														
<400>	377														
atgtcttaa tatctaaaga agagttataa aaactcgcat atagcattag accaagagaa 60 aatgagtata aaactatact aactaattt aacgaaata ataagttaac tacaaacaat 120 aatgaaaata aatatttaca attaaaaaaa ctaaatgaat caattgtatgt ttttatgaat 180 aaatataaaa ctcaaggcag aaatagagca ctctctaattc taaaaaaaga tatattaaaa 240															
gaagtaattc ttattaaaaa ttccaataca agccctgttag aaaaaaattt acatttgtta 300 tggtaggtg gagaagtcag tgatattgtcttgaataca taaaacaatg ggctgtatatt 360 aatgcagaat ataatattaa actgtggat gatagtgaag cattcttagt aaatacacta 420 aaaaaggcta tagtgaatc ttctaccact gaagcattac agctactaga ggaagagatt 480 caaaatcctc aatttgataa tatgaaattt tacaaaaaaa ggatgaaatt tatatatgtat 540 agacaaaaaa gtttataaa ttattataaa tctcaaatac ataaacctac agtacctaca 600 atagatgata ttataaagtc tcattcttagt tctgaatata atagagatga aactgtatatt 660 gaatcatata gaacaaattc tttgagaaaa ataaatagta atcatggat agatatcagg 720															
gctaataatgtt tgttcacaga acaagagttt ttaaatattt atagtcagga gttgttaat 780 cgtggaaatt tagctgcagc atctgacata gtaagattat tagccctaaa aaattttggc 840 ggagtatatt tagatgttga tatgcttcca ggtattcact ctgatttatt taaaacaata 900 tctagaccta gctctattgg actagaccgt tggaaatga taaaattaga ggctattatg 960 aagtataaaa aatataaaaa taatttataca tcagaaaact ttgataaact tgatcaacaa 1020 ttaaaagata atttaaact cattatagaa agtaaaagtg aaaaatctga gatattttct 1080															

aaattagaaa atttaaatgt atctgatctt gaaattaaaa tagcttcgc tttaggcagt 1140
 gttataaatc aagccttgat atcaaaacaa ggttcatatc ttactaacct agtaatagaa 1200

caagtaaaaa atagatatca attttaaac caacaccta acccagccat agagtctgat 1260
 ataacttca cagatactac taaaatttt catgattcat tatthaattc agtaccgca 1320
 gaaaactcta tgttttaac aaaaatagca ccatacttac aagtaggttt tatgccagaa 1380
 gctcgctcca caataagttt aagtggtcca ggagcttacg cgtcagctt ctatgattc 1440
 ataaatttac aagaaaatac tatagaaaaa actttaaaag catcagattt aatagaattt 1500
 aaattccag aaaataatct atctcaattt acagaacaag aaataaatag tctatggac 1560
 tttgatcaag caagtgc当地 atatcaattt gagaatatg taagagatta tactggatg 1620
 tctcttctg aagacaatgg ggttagactt aataaaaata ctgcctcga caaaaactat 1680

ttattaaata ataaaattcc atcaaacaat gtagaagaag ctggaagtaa aaattatgtt 1740
 cattataatca tacagttaca aggagatgtt aataggatgtt aagcaacatg caatttattt 1800
 tctaaaaatc ctaaaaatag tattattata caacgaaata tgaatgaaag tgcaaaaagc 1860
 tacttttaa gtgatgatgg agaatcttattt tttagattaa ataaatatag gatacctgaa 1920
 agattaaaaa ataaggaaaaa agtaaaagta acctttattt gacatggtaa agatgaattt 1980
 aacacaagcg aatttgctgat attaagtgtt gattcattt ccaatgagat aagtcattt 2040
 ttagatacca taaaatttata tatatcacct aaaaatgttag aagtaaactt acttggatgt 2100
 aataatgttta gttatgatttt taatgttga gaaacttac ctgggaagtt gctattaaatgt 2160

attatggaca aaattacttc cactttaccc gatgtaaataaaaattctat tactatagga 2220
 gcaaataatcaat atgaagtaag aatataatgtt gagggaagaa aagaacttct ggctcactca 2280
 ggtaatgga taaaataaaga agaagcttattt atgagcgatt tatcttagtaa agaatacatt 2340
 tttttgattt ctatagataa taagctaaaa gcaaagtcca agaatattcc aggatttagca 2400
 tcaatatcag aagatataaa aacatttata cttgtatgcaa gtgttagtcc tgataca 2460
 ttatatttaa ataatcttaa gcttaatattt gaatcttctt ttgggtgatta catttattat 2520
 gaaaaattttag agcctgttaa aaatataattt cacaatttca tagatgatttt aatagatgag 2580
 ttcaatctac ttgaaaatgtt atctgatgaa ttatatgaat taaaattttaaataatcta 2640

gatgagaagt attaatatc ttttgaagat atctaaaaaataattcaac ttactctgtt 2700
 agatttattttaa acaaaagttttaa tggtgagtca gttttatgttagttaa aacagaaaaa agaaattttt 2760
 tcaaaatataa gcgaacatatac taaaagaaataaacttata taaaatgttagttaa aatattaca 2820
 gatgttaatg gtaatttttggataatataa cagtttagatc atacttctca agttaatata 2880
 tttaaacgcag cattctttat tcaatcattttaa atagattataa gtagcaataa agatgtactg 2940

aatgatttaa gtacctcagt taaggttcaa ctttatgctc aactatttac tacaggtta 3000
 aatactatat atgactctat ccaatttagta aatttaatat caaatgcagt aaatgatact 3060
 ataaatgtac tacctacaat aacagagggg atacctattg tatctactat attagacgga 3120

ataaaacttag gtgcagcaat taaggaatta ctagacgaac atgaccatt actaaaaaaa 3180
 gaattagaag ctaagggtgg tggttagca ataaatatgt cattatctat agctgcaact 3240
 gtagcttcaa ttgttgaat aggtgctgaa gttactattt tcttattacc tatactgg 3300
 atatctgcag gaatacccttc attagttat aatgaattaa tattgcatga taaggcaact 3360
 tcagtgtaa actatttaa tcatttgct gaatctaaa aatatggccc tcttaaaaca 3420
 gaagatgata aaattttagt tcctattgt gatttagtaa tatacggaaat agattttat 3480
 aataattcga taaaactagg aacatgtaat atattagcaa tggagggggg atcaggacac 3540
 acagtgactg gtaatataga tcacttttc tcattccat ctataagttc tcattttct 3600

tcattatcaa ttattctgc aataggtaa gaaacagaaa atctagattt ttcaaaaaaa 3660
 ataatgtatg tacctaattgc tccttcaaga gtgtttggg gggaaactgg agcagttcca 3720
 ggttaagat cattggaaaa tgacggact agattactg attcaataag agattttatac 3780
 ccaggttaat ttactggag attctatgtt ttttcgatt atgcaataac tacattaaaa 3840
 ccagttatg aagacactaa tattaaaatt aaactagata aagataactg aaacttcata 3900
 atgccaacta taactactaa cggaaatttta aacaatttattt ctatttcatt tggatggca 3960
 ggaggaactt actctttattt attatcttca tatccaatat caacgaatat aaattttatct 4020
 aaagatgatt taatggatatt taatattgtt aatgaagtaa gagaatatac tatagaaaaat 4080

ggtactatta aaaaaggaaa gttataaaaa gatgtttaa gtaaaattga tataaataaa 4140
 aataaaactta ttataggcaa tcaaacaata gatTTTcag gcgtataga taataaagat 4200
 agatataatat tcttgacttg tgagtttagt gataaaatgttataat agaaataaaat 4260
 ctttgttgc当地 aatctttagt ttgtttagt tctggggata aaaattttt gatattccat 4320
 ttatctataa ttatttgagaa aatcaatact ttaggcctag atagaaaaaa tatgcgtac 4380
 aattacactg atgaatctaa taataaataat ttggagctt tatctaaaac aagtcaaaaa 4440
 agcataatac attataaaaaa agacagtaaa aatataattttt aatgttataa tgacagtaca 4500
 tttagaattta acagtaaaga ttttattgtt gaagatataa atgttattttt gaaagatgat 4560

attaataacta taacaggaaa atactatgtt gataataata ctgataaaag tatagatttc 4620
 tctatttctt tagtttagtaa aaatcaagta aaagtaatgtt gattatattt aatgaatcc 4680
 gtataactcat ctaccccttga ttttgtggaaa aattcagatg gacaccataa tacttctaat 4740
 tttatgttattt ttttttgga caatataatgtt ttctggaaat tggttgggtt tgaaaatataa 4800

aattttgtaa tcgataaata ctttaccctt gttggtaaaa ctaatcttgg atatgtagaa 4860
 tttatgtg acaataataa aaatatagat atatatttg gtgaatggaa aacatcgta 4920
 tctaaaagca ctatatttag cgaaatgtt agaaatgtg tagtagagcc tatataata 4980
 cctgatcacgg gtgaagatat atctactica ctatgtttt cctatgaacc tctctatgga 5040

atagatagat atatcaataa agtattgata gcacctgatt tatatacaag ttaataata 5100
 attaatacca attattattc aaatgagtac taccctgaga ttatagttct taacccaaat 5160
 acattccaca aaaaagtaaa tataaattt aatgttctt ctttgagta taaatggct 5220
 acagaaggaa gtgactttat tttagtttga tacttagaag aaagtaataa aaaaatatta 5280
 caaaaaataa gaatcaaagg tatcttatct aatactaat cattataaa aatgagtata 5340
 gatttaaag atattaaaaa actatcatta ggatataaa tgagtaattt taaatcattt 5400
 aattctgaaa atgaatttga tagagatcat tttaggatata aaataataga taataaaaact 5460
 tattactatg atgaagatag taaatttagtt aaaggattaa tcaatataaa taattcatta 5520

ttctatgg atcctataga atttaactta gtaactggat ggcaaactat caatggtaaa 5580
 aaatattatt ttgatataaa tactggagca gcttaatta gttataaaat tattatgg 5640
 aaacactttt atttaataa tcatgggtgt atgcagttgg gagtatttaa aggacctgat 5700
 ggatttgaat atttgcacc tgccaaatct caaaataata acatagaagg tcaggtata 5760
 gtttatcaaa gtaaattctt aacttgaat ggcaaaaaat attattttga taatgactca 5820
 aaagcagtca ctggatggag aattttaac aatgagaaat attacttta tcctaataat 5880
 gcttttgtc cagtcggatt gcaagtaatt gacaataata agtattttt caatcctgac 5940
 actgctatca tctcaaaagg ttggcagact gttatggta gtagatacta ctttgatact 6000

gataccgcta ttgccttaa tggttataaa actattgatg gtaaacactt ttatggat 6060
 agtgattgtg tagtggaaat aggtgtgtt agtacctcta atggatttga atattttgca 6120
 cctgctaata ctataataa taacatagaa ggtcaggcta tagttatca aagtaaattc 6180
 ttaacttga atggaaaaa atattactt gataataact caaaagcgt tacggatgg 6240
 caaactattg atgtaaaaaa atattactt aatactaaca ctgctgaagc agctactgga 6300
 tggcaaacta ttgatggtaa aaaatattac ttaataacta acactgctga agcagctact 6360
 ggtggcaaa ctattgtgg taaaaatata tactttaata ctaacactgc tatagctca 6420
 actggatata caattattaa tggtaaacat ttttattta atactgatgg tattatgcag 6480

ataggagtgt ttaaaggacc taatggattt gaatatttg cacctgctaa tacggatgct 6540
 aacaacatag aaggctcaagc tatactttac caaaatgaat tcttaactt gaatggtaaa 6600
 aaatattact ttggtagtga ctcaaaagca gttactggat ggagaattat taacaataag 6660

aatattact ttaatcctaa taatgctatt gctgcaattc atctatgcac tataaataat 6720
 gacaagtatt acttttagtta tcatggatt cttcaaaatg gatatattac tattgaaaga 6780
 aataattct atttgatgc taataatgaa tctaaaatgg taacaggagt attaaagga 6840
 cctaigat tttagtattt tgcacctgt aatactcaca ataataacat agaaggtcag 6900
 gctatagttt accagaacaa attcttaact ttgaatggca aaaaatatta ttttgataat 6960

gactcaaaag cagttactgg atggcaaacc attgatggta aaaaatatta cttaatctt 7020
 aacactgctg aagcagctac tggatggcaa actattgtg gtaaaaaata ttacttaat 7080
 cttaacactg ctgaagcagc tactggatgg caaactattg atggtaaaaa atattacttt 7140
 aatactaaca cticatagc ctcaacttgtt tatacaagta ttaatggtaa acattttat 7200
 tttaatactg atggtattat gcagatagga gtgttaaag gacctaattg atttgaatac 7260
 tttgcacctg ctaatactca taataataac atagaaggc aagctatact ttaccaaaat 7320
 aaattcttaa ctttgaatgg taaaaaatat tactttggta gtgactcaaa agcagttacc 7380
 ggattgcgaa ctattgatgg taaaaaatat tactttaata ctaacactgc tggcagtt 7440

actggatggc aaactattaa tggtaaaaaa tactacttta atactaacac ttctatagct 7500
 tcaactggtt atacaattat tagtggtaaa cattttattt ttaatactga tggattatg 7560
 cagataggag tggtaaagg acctgatggta tttgaatact ttgcacctgc taatacagat 7620
 gctaacaata tagaaggcata agctatacgt tatcaaaata gattcctata tttacatgac 7680
 aatatattt atttggtaa taattcaaaa gcagctactg gttggtaac tattgatggt 7740
 aatagatatt acttcgagcc taatacagct atggtgcgca atggttataa aactattgt 7800
 aataaaaatt ttacttttag aatggttta cctcagatag gagtggtaa agggtctaat 7860
 ggatttgaat acttgcacc tgctaatacg gatgctaaca atatagaagg tcaagctata 7920

cgttatcaa atagattcct acatttactt ggaaaaatattt attactttgg taataattca 7980
 aaagcagttt ctggatggca aactattaaat ggttaaagtat attactttat gcctgatact 8040
 gctatggctg cagctggatgg acctttcgag attgatggat ttatatattt ctttgggttt 8100
 gatggagtaa aagccccctgg gatataatggc taa 8133

<210> 378

<211> 2710

<212> PRT

<213> Clostridium difficile

<400> 378

Met Ser Leu Ile Ser Lys Glu Glu Leu Ile Lys Leu Ala Tyr Ser Ile

Arg Pro Arg Glu Asn Glu Tyr Lys Thr Ile Leu Thr Asn Leu Asp Glu

20 25 30

Tyr Asn Lys Leu Thr Thr Asn Asn Glu Asn Lys Tyr Leu Gln Leu

35 40 45

Lys Lys Leu Asn Glu Ser Ile Asp Val Phe Met Asn Lys Tyr Lys Thr

50 55 60

Ser Ser Arg Asn Arg Ala Leu Ser Asn Leu Lys Lys Asp Ile Leu Lys

65 70 75 80

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

85 90 95

Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gly Glu Val Ser Asp Ile Ala Leu Glu

100 105 110

Tyr Ile Lys Gln Trp Ala Asp Ile Asn Ala Glu Tyr Asn Ile Lys Leu

115 120 125

Trp Tyr Asp Ser Glu Ala Phe Leu Val Asn Thr Leu Lys Lys Ala Ile

130 135 140

Val Glu Ser Ser Thr Thr Glu Ala Leu Gln Leu Leu Glu Glu Glu Ile

145 150 155 160

Gln Asn Pro Gln Phe Asp Asn Met Lys Phe Tyr Lys Lys Arg Met Glu

165 170 175

Phe Ile Tyr Asp Arg Gln Lys Arg Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ser Gln

180 185 190

Ile Asn Lys Pro Thr Val Pro Thr Ile Asp Asp Ile Ile Lys Ser His

195 200 205

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

210 215 220

Thr Asn Ser Leu Arg Lys Ile Asn Ser Asn His Gly Ile Asp Ile Arg

225 230 235 240

Ala Asn Ser Leu Phe Thr Glu Gln Glu Leu Leu Asn Ile Tyr Ser Gln

245 250 255

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

260	265	270
Leu Leu Ala Leu Lys Asn Phe Gly Gly Val Tyr Leu Asp Val Asp Met		
275	280	285
Leu Pro Gly Ile His Ser Asp Leu Phe Lys Thr Ile Ser Arg Pro Ser		
290	295	300
Ser Ile Gly Leu Asp Arg Trp Glu Met Ile Lys Leu Glu Ala Ile Met		
305	310	315
320		
Lys Tyr Lys Tyr Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Glu Asn Phe Asp Lys		
325	330	335
Leu Asp Gln Gln Leu Lys Asp Asn Phe Lys Leu Ile Ile Glu Ser Lys		
340	345	350
Ser Glu Lys Ser Glu Ile Phe Ser Lys Leu Glu Asn Leu Asn Val Ser		
355	360	365
Asp Leu Glu Ile Lys Ile Ala Phe Ala Leu Gly Ser Val Ile Asn Gln		
370	375	380
Ala Leu Ile Ser Lys Gln Gly Ser Tyr Leu Thr Asn Leu Val Ile Glu		
385	390	395
400		
Gln Val Lys Asn Arg Tyr Gln Phe Leu Asn Gln His Leu Asn Pro Ala		
405	410	415
Ile Glu Ser Asp Asn Asn Phe Thr Asp Thr Thr Lys Ile Phe His Asp		
420	425	430
Ser Leu Phe Asn Ser Ala Thr Ala Glu Asn Ser Met Phe Leu Thr Lys		
435	440	445
Ile Ala Pro Tyr Leu Gln Val Gly Phe Met Pro Glu Ala Arg Ser Thr		
450	455	460
Ile Ser Leu Ser Gly Pro Gly Ala Tyr Ala Ser Ala Tyr Tyr Asp Phe		
465	470	475
480		
Ile Asn Leu Gln Glu Asn Thr Ile Glu Lys Thr Leu Lys Ala Ser Asp		
485	490	495
Leu Ile Glu Phe Lys Phe Pro Glu Asn Asn Leu Ser Gln Leu Thr Glu		
500	505	510

Gln Glu Ile Asn Ser Leu Trp Ser Phe Asp Gln Ala Ser Ala Lys Tyr

515 520 525

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

530 535 540

Asp Asn Gly Val Asp Phe Asn Lys Asn Thr Ala Leu Asp Lys Asn Tyr

545 550 555 560

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

565 570 575

Lys Asn Tyr Val His Tyr Ile Ile Gln Leu Gln Gly Asp Asp Ile Ser

580 585 590

Tyr Glu Ala Thr Cys Asn Leu Phe Ser Lys Asn Pro Lys Asn Ser Ile

595 600 605

Ile Ile Gln Arg Asn Met Asn Glu Ser Ala Lys Ser Tyr Phe Leu Ser

610 615 620

Asp Asp Gly Glu Ser Ile Leu Glu Leu Asn Lys Tyr Arg Ile Pro Glu

625 630 635 640

Arg Leu Lys Asn Lys Glu Lys Val Lys Val Thr Phe Ile Gly His Gly

645 650 655

Lys Asp Glu Phe Asn Thr Ser Glu Phe Ala Arg Leu Ser Val Asp Ser

660 665 670

Leu Ser Asn Glu Ile Ser Ser Phe Leu Asp Thr Ile Lys Leu Asp Ile

675 680 685

Ser Pro Lys Asn Val Glu Val Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser

690 695 700

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

705 710 715 720

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

725 730 735

Ile Thr Ile Gly Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly

740 745 750

Arg Lys Glu Leu Leu Ala His Ser Gly Lys Trp Ile Asn Lys Glu Glu

755	760	765
Ala Ile Met Ser Asp Leu Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Phe Phe Asp Ser		
770	775	780
Ile Asp Asn Lys Leu Lys Ala Lys Ser Lys Asn Ile Pro Gly Leu Ala		
785	790	795
Ser Ile Ser Glu Asp Ile Lys Thr Leu Leu Leu Asp Ala Ser Val Ser		
805	810	815
Pro Asp Thr Lys Phe Ile Leu Asn Asn Leu Lys Leu Asn Ile Glu Ser		
820	825	830
Ser Ile Gly Asp Tyr Ile Tyr Tyr Glu Lys Leu Glu Pro Val Lys Asn		
835	840	845
Ile Ile His Asn Ser Ile Asp Asp Leu Ile Asp Glu Phe Asn Leu Leu		
850	855	860
Glu Asn Val Ser Asp Glu Leu Tyr Glu Leu Lys Lys Leu Asn Asn Leu		
865	870	875
Asp Glu Lys Tyr Leu Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Lys Asn Asn Ser		
885	890	895
Thr Tyr Ser Val Arg Phe Ile Asn Lys Ser Asn Gly Glu Ser Val Tyr		
900	905	910
Val Glu Thr Glu Lys Glu Ile Phe Ser Lys Tyr Ser Glu His Ile Thr		
915	920	925
Lys Glu Ile Ser Thr Ile Lys Asn Ser Ile Ile Thr Asp Val Asn Gly		
930	935	940
Asn Leu Leu Asp Asn Ile Gln Leu Asp His Thr Ser Gln Val Asn Thr		
945	950	955
Leu Asn Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Asp Tyr Ser Ser Asn		
965	970	975
Lys Asp Val Leu Asn Asp Leu Ser Thr Ser Val Lys Val Gln Leu Tyr		
980	985	990
Ala Gln Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Tyr Asp Ser Ile Gln		
995	1000	1005

Leu Val Asn Leu Ile Ser Asn Ala Val Asn Asp Thr Ile Asn Val Leu
 1010 1015 1020
 Pro Thr Ile Thr Glu Gly Ile Pro Ile Val Ser Thr Ile Leu Asp Gly
 1025 1030 1035 1040
 Ile Asn Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Leu Asp Glu His Asp Pro
 1045 1050 1055
 Leu Leu Lys Lys Glu Leu Glu Ala Lys Val Gly Val Leu Ala Ile Asn
 1060 1065 1070
 Met Ser Leu Ser Ile Ala Ala Thr Val Ala Ser Ile Val Gly Ile Gly
 1075 1080 1085
 Ala Glu Val Thr Ile Phe Leu Leu Pro Ile Ala Gly Ile Ser Ala Gly
 1090 1095 1100
 Ile Pro Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Ile Leu His Asp Lys Ala Thr
 1105 1110 1115 1120
 Ser Val Val Asn Tyr Phe Asn His Leu Ser Glu Ser Lys Lys Tyr Gly
 1125 1130 1135
 Pro Leu Lys Thr Glu Asp Asp Lys Ile Leu Val Pro Ile Asp Asp Leu
 1140 1145 1150
 Val Ile Ser Glu Ile Asp Phe Asn Asn Asn Ser Ile Lys Leu Gly Thr
 1155 1160 1165
 Cys Asn Ile Leu Ala Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Gly
 1170 1175 1180
 Asn Ile Asp His Phe Phe Ser Ser Pro Ser Ile Ser Ser His Ile Pro
 1185 1190 1195 1200
 Ser Leu Ser Ile Tyr Ser Ala Ile Gly Ile Glu Thr Glu Asn Leu Asp
 1205 1210 1215
 Phe Ser Lys Lys Ile Met Met Leu Pro Asn Ala Pro Ser Arg Val Phe
 1220 1225 1230
 Trp Trp Glu Thr Gly Ala Val Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp
 1235 1240 1245
 Gly Thr Arg Leu Leu Asp Ser Ile Arg Asp Leu Tyr Pro Gly Lys Phe

1250	1255	1260	
Tyr Trp Arg Phe Tyr Ala Phe Phe Asp Tyr Ala Ile Thr Thr Leu Lys			
1265	1270	1275	1280
Pro Val Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Lys Ile Lys Leu Asp Lys Asp Thr			
1285	1290	1295	
Arg Asn Phe Ile Met Pro Thr Ile Thr Thr Asn Glu Ile Arg Asn Lys			
1300	1305	1310	
Leu Ser Tyr Ser Phe Asp Gly Ala Gly Gly Thr Tyr Ser Leu Leu Leu			
1315	1320	1325	
Ser Ser Tyr Pro Ile Ser Thr Asn Ile Asn Leu Ser Lys Asp Asp Leu			
1330	1335	1340	
Trp Ile Phe Asn Ile Asp Asn Glu Val Arg Glu Ile Ser Ile Glu Asn			
1345	1350	1355	1360
Gly Thr Ile Lys Lys Gly Lys Leu Ile Lys Asp Val Leu Ser Lys Ile			
1365	1370	1375	
Asp Ile Asn Lys Asn Lys Leu Ile Ile Gly Asn Gln Thr Ile Asp Phe			
1380	1385	1390	
Ser Gly Asp Ile Asp Asn Lys Asp Arg Tyr Ile Phe Leu Thr Cys Glu			
1395	1400	1405	
Leu Asp Asp Lys Ile Ser Leu Ile Ile Glu Ile Asn Leu Val Ala Lys			
1410	1415	1420	
Ser Tyr Ser Leu Leu Leu Ser Gly Asp Lys Asn Tyr Leu Ile Ser Asn			
1425	1430	1435	1440
Leu Ser Asn Thr Ile Glu Lys Ile Asn Thr Leu Gly Leu Asp Ser Lys			
1445	1450	1455	
Asn Ile Ala Tyr Asn Tyr Thr Asp Glu Ser Asn Asn Lys Tyr Phe Gly			
1460	1465	1470	
Ala Ile Ser Lys Thr Ser Gln Lys Ser Ile Ile His Tyr Lys Lys Asp			
1475	1480	1485	
Ser Lys Asn Ile Leu Glu Phe Tyr Asn Asp Ser Thr Leu Glu Phe Asn			
1490	1495	1500	

Ser Lys Asp Phe Ile Ala Glu Asp Ile Asn Val Phe Met Lys Asp Asp
 1505 1510 1515 1520
 Ile Asn Thr Ile Thr Gly Lys Tyr Tyr Val Asp Asn Asn Thr Asp Lys
 1525 1530 1535
 Ser Ile Asp Phe Ser Ile Ser Leu Val Ser Lys Asn Gln Val Lys Val
 1540 1545 1550
 Asn Gly Leu Tyr Leu Asn Glu Ser Val Tyr Ser Ser Tyr Leu Asp Phe
 1555 1560 1565
 Val Lys Asn Ser Asp Gly His His Asn Thr Ser Asn Phe Met Asn Leu
 1570 1575 1580
 Phe Leu Asp Asn Ile Ser Phe Trp Lys Leu Phe Gly Phe Glu Asn Ile
 1585 1590 1595 1600
 Asn Phe Val Ile Asp Lys Tyr Phe Thr Leu Val Gly Lys Thr Asn Leu
 1605 1610 1615
 Gly Tyr Val Glu Phe Ile Cys Asp Asn Asn Lys Asn Ile Asp Ile Tyr
 1620 1625 1630
 Phe Gly Glu Trp Lys Thr Ser Ser Ser Lys Ser Thr Ile Phe Ser Gly
 1635 1640 1645
 Asn Gly Arg Asn Val Val Glu Pro Ile Tyr Asn Pro Asp Thr Gly
 1650 1655 1660
 Glu Asp Ile Ser Thr Ser Leu Asp Phe Ser Tyr Glu Pro Leu Tyr Gly
 1665 1670 1675 1680
 Ile Asp Arg Tyr Ile Asn Lys Val Leu Ile Ala Pro Asp Leu Tyr Thr
 1685 1690 1695
 Ser Leu Ile Asn Ile Asn Thr Asn Tyr Tyr Ser Asn Glu Tyr Tyr Pro
 1700 1705 1710
 Glu Ile Ile Val Leu Asn Pro Asn Thr Phe His Lys Lys Val Asn Ile
 1715 1720 1725
 Asn Leu Asp Ser Ser Ser Phe Glu Tyr Lys Trp Ser Thr Glu Gly Ser
 1730 1735 1740
 Asp Phe Ile Leu Val Arg Tyr Leu Glu Glu Ser Asn Lys Lys Ile Leu

1745	1750	1755	1760
Gln Lys Ile Arg Ile Lys Gly Ile Leu Ser Asn Thr Gln Ser Phe Asn			
1765	1770	1775	
Lys Met Ser Ile Asp Phe Lys Asp Ile Lys Lys Leu Ser Leu Gly Tyr			
1780	1785	1790	
Ile Met Ser Asn Phe Lys Ser Phe Asn Ser Glu Asn Glu Leu Asp Arg			
1795	1800	1805	
Asp His Leu Gly Phe Lys Ile Ile Asp Asn Lys Thr Tyr Tyr Tyr Asp			
1810	1815	1820	
Glu Asp Ser Lys Leu Val Lys Gly Leu Ile Asn Ile Asn Asn Ser Leu			
1825	1830	1835	1840
Phe Tyr Phe Asp Pro Ile Glu Phe Asn Leu Val Thr Gly Trp Gln Thr			
1845	1850	1855	
Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asp Ile Asn Thr Gly Ala Ala Leu			
1860	1865	1870	
Thr Ser Tyr Lys Ile Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Asn Asp			
1875	1880	1885	
Gly Val Met Gln Leu Gly Val Phe Lys Gly Pro Asp Gly Phe Glu Tyr			
1890	1895	1900	
Phe Ala Pro Ala Asn Thr Gln Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile			
1905	1910	1915	1920
Val Tyr Gln Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe			
1925	1930	1935	
Asp Asn Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Glu			
1940	1945	1950	
Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Val Gly Leu Gln			
1955	1960	1965	
Val Ile Asp Asn Asn Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Asp Thr Ala Ile Ile			
1970	1975	1980	
Ser Lys Gly Trp Gln Thr Val Asn Gly Ser Arg Tyr Tyr Phe Asp Thr			
1985	1990	1995	2000

Asp Thr Ala Ile Ala Phe Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp Gly Lys His

2005 2010 2015

Phe Tyr Phe Asp Ser Asp Cys Val Val Lys Ile Gly Val Phe Ser Thr

2020 2025 2030

Ser Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Tyr Asn Asn Asn

2035 2040 2045

Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr Gln Ser Lys Phe Leu Thr Leu Asn

2050 2055 2060

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

2065 2070 2075 2080

Gln Thr Ile Asp Ser Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Glu

2085 2090 2095

Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn

2100 2105 2110

Thr Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys

2115 2120 2125

Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr

2130 2135 2140

Ile Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln

2145 2150 2155 2160

Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala

2165 2170 2175

Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn

2180 2185 2190

Glu Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Gly Ser Asp Ser

2195 2200 2205

Lys Ala Val Thr Gly Trp Arg Ile Ile Asn Asn Lys Lys Tyr Tyr Phe

2210 2215 2220

Asn Pro Asn Asn Ala Ile Ala Ala Ile His Leu Cys Thr Ile Asn Asn

2225 2230 2235 2240

Asp Lys Tyr Tyr Phe Ser Tyr Asp Gly Ile Leu Gln Asn Gly Tyr Ile

2245 2250 2255

Thr Ile Glu Arg Asn Asn Phe Tyr Phe Asp Ala Asn Asn Glu Ser Lys

2260 2265 2270

Met Val Thr Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn Gly Phe Glu Tyr Phe Ala

2275 2280 2285

Pro Ala Asn Thr His Asn Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile Val Tyr

2290 2295 2300

Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys Tyr Tyr Phe Asp Asn

2305 2310 2315 2320

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

2325 2330 2335

Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr Gly Trp Gln Thr Ile

2340 2345 2350

Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Leu Asn Thr Ala Glu Ala Ala Thr

2355 2360 2365

Gly Trp Gln Thr Ile Asp Gly Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr

2370 2375 2380

Phe Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ser Ile Asn Gly Lys His Phe Tyr

2385 2390 2395 2400

Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro Asn

2405 2410 2415

Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu

2420 2425 2430

Gly Gln Ala Ile Leu Tyr Gln Asn Lys Phe Leu Thr Leu Asn Gly Lys

2435 2440 2445

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

2450 2455 2460

Ile Asp Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn Thr Ala Val Ala Val

2465 2470 2475 2480

Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys Lys Tyr Tyr Phe Asn Thr Asn

2485 2490 2495

Thr Ser Ile Ala Ser Thr Gly Tyr Thr Ile Ile Ser Gly Lys His Phe

2500 2505 2510

Tyr Phe Asn Thr Asp Gly Ile Met Gln Ile Gly Val Phe Lys Gly Pro

2515 2520 2525

Asp Gly Phe Glu Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile

2530 2535 2540

Glu Gly Gln Ala Ile Arg Tyr Gln Asn Arg Phe Leu Tyr Leu His Asp

2545 2550 2555 2560

Asn Ile Tyr Tyr Phe Gly Asn Asn Ser Lys Ala Ala Thr Gly Trp Val

2565 2570 2575

Thr Ile Asp Gly Asn Arg Tyr Tyr Phe Glu Pro Asn Thr Ala Met Gly

2580 2585 2590

Ala Asn Gly Tyr Lys Thr Ile Asp Asn Lys Asn Phe Tyr Phe Arg Asn

2595 2600 2605

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

2610 2615 2620

Phe Ala Pro Ala Asn Thr Asp Ala Asn Asn Ile Glu Gly Gln Ala Ile

2625 2630 2635 2640

Arg Tyr Gln Asn Arg Phe Leu His Leu Leu Gly Lys Ile Tyr Tyr Phe

2645 2650 2655

Gly Asn Asn Ser Lys Ala Val Thr Gly Trp Gln Thr Ile Asn Gly Lys

2660 2665 2670

Val Tyr Tyr Phe Met Pro Asp Thr Ala Met Ala Ala Gly Gly Leu

2675 2680 2685

Phe Glu Ile Asp Gly Val Ile Tyr Phe Phe Gly Val Asp Gly Val Lys

2690 2695 2700

Ala Pro Gly Ile Tyr Gly

2705 2710

<210> 379

<211> 7101

<212> DNA

<213> Clostridium difficile

<400> 379

atgagtttag ttaatagaaa acagttagaa aaaatggcaa atgttaagatt tcgtactcaa 60
 gaagaigaat atgttgcata attggatgt tttagaagaat atcataataat gtcagagaat 120
 actgtatcg aaaaatattt aaaattaaaa gatataaataa gttaacaga tatttatata 180
 gatacatata aaaaatctgg tagaaataaa gccttaaaaa aatthaagga atatcttagtt 240
 acagaagtat tagagctaaa gaataataat ttaactccag ttgagaaaaa tttacatttt 300
 gtttgattt gaggtaaat aaatgacact gctattaatt atataaatca atggaaagat 360
 gtaaatagt attataatgt taatgtttt tatgatagta atgcatttt gataaacaca 420

ttgaaaaaaaaa ctgttagata atcagcaata aatgatacac ttgaatcatt tagagaaaac 480
 ttaaatgacc cttagattga ctataataaa ttcttcagaa aacgtatgga aataatttat 540
 gataaaacaga aaaatttcat aaactactat aaagctcaaa gagaagaaaa tcctgaactt 600
 ataattgatg atattgtaaa gacatatctt tcaaattgagt attcaaagga gatagatgaa 660
 cttataacctt atattgaaga atccttaat aaaattcac agaatagtgg aaatgtgtt 720
 agaaactttg aagaatttaa aaatggagag tcattcaact tatatgaaca agagttggta 780
 gaaaggtgga atttagctgc tgcttctgac atattaagaa tatctgcatt aaaagaaatt 840
 ggtgtatgt atttagatgt tgatatgtt ccaggaatac aaccagactt atttgagtct 900

atagagaaac ctatgttcaat aacagtggat ttttggaaa tgacaaagtt agaagctata 960
 atgaaataca aagaatataat accagaataat acctcagaac attttgacat gtttagacgaa 1020
 gaagttcaaa gtatgttcaat atctgttcta gcttctaagt cagataatac agaaatattc 1080
 tcatcacttg gtatgttggaa ggcattcacca ctatgttcaat aaattgcatt taatgttcaat 1140
 ggtattataa atcaagggtt aatttctgtt caagactcat attgttagcaat ttatgttcaat 1200
 aaacaaatcg agaatagata taaaatattt aataatgtt taaatccagc tatttagcgag 1260
 gataatgatt ttaatactac aacgaatacc tttattgtata gtataatggc tgaagctata 1320
 gcagataatg gtatgttcaat gatggacta ggaaagtatt taagagttgg tttcttccca 1380

gatgttaaaa ctactattaa cttaaatgtggc cctgaagcat atgcggcagc ttatcaagat 1440
 ttatgttcaat ttaaagaagg cagttatgttcaat atccattgttcaat tagatgttcaat 1500
 tttgaaatct ctaaaactaa tatttctcaa tcaactgaac aagaaatggc tagcttgcatt 1560
 tcatttgcgt atgcaggac taaatgttcaat tttgaaatgttcaat ataaaaggaa ttatgttcaat 1620
 ggttcttgcgt gtatgttcaat ttttcttgcgt atatgttcaat tgacaaaggag 1680
 tatcttttag aaaaatatc ttcatttagca agaagttcag agagaggata tatacactat 1740
 attgttcaat tacaaggaga taaaattgtt tatgttcaat ttttgcgttcaat 1800

actccttatg atagtgtact gtttcagaaa aatatagaag attcagaaat tgcatattat 1860

tataatcctg gagatggta aatacaagaa atagacaagt ataaaattcc aagtataatt 1920
 tctgatagac ctaagattaa attaacattt attggcatg gtaaagatga atttaatact 1980
 gatatatttg cagggttga tgttagattca ttatccacag aaatagaagc agcaatagat 2040
 ttagctaag aggatatttc tcctaagtca atagaataa atttatttagg atgtaatatg 2100
 ttagctact ctatcaacgt agaggagact tatcctggaa aattattact taaagttaaa 2160
 gataaaatat cagaattaat gccatctata agtcaagact ctattatagt aagtgc当地 2220
 caaatatgaag tttagaataaa tagtgaagga agaagagaat tattggatca ttctggtaa 2280
 tggataataa aagaagaaag tattataaag gatattcat caaaagaata tataatcattt 2340

aatcctaaag aaaataaaat tacagtaaaa tctaaaaatt tacctgagct atctacatta 2400
 ttacaagaaa tttagaataa ttctaattca agtgatattg aactagaaga aaaagtaatg 2460
 ttaacagaat gtgagataaa tggatttca aatatacgata cgcaattgt tgaggaaagg 2520
 attgaagaag ctaagaattt aacttctgac tctattaatt atataaaaga tgaattttaa 2580
 ctaatagaat ctatttctga tgcactatgt gactaaaac aacagaatga attagaagat 2640
 tctcattttatcattttga ggacatcatca gagactgatg agggatttag tataagattt 2700
 attaataaag aaactggaga atctatattt gtagaaactg aaaaaacaat attctctgaa 2760
 tatgctaatac atataactga agagatttct aagataaaag gtactatatt tgatactgta 2820

aatggtaagt tagtaaaaaa agtaaatttata gatactacac acgaagtaaa tactttaat 2880
 gctgcatttt ttatacaatc attaatagaa tataatagtt ctaaagaatc tcttagtaat 2940
 ttaagtgttag caatgaaagt ccaagttac gctcaattat tttagtactgg tttaataact 3000
 attacagatg cagccaaagt tggtaatttata gatcaactg cattagatga aactatagac 3060
 ttacttccta cattatctga aggattacct ataattgcaa ctattataga tgggtgaatg 3120
 ttaggtgcag caatcaaaga gctaagtgaa acgagtgacc cattattaag acaagaaata 3180
 gaagctaaga taggtataat ggcagtaat ttaacaacag ctacaactgc aatcattact 3240
 tcattttgg ggatagctg tggatttagt atacttttag ttcctttagc aggaattca 3300

gcaggtatac caagcttagt aaacaatgaa cttgtacttc gagataaggc aacaaagggtt 3360
 gtagattatt ttaaacatgt ttcatttagtt gaaactgaag gatgtttac tttatttagat 3420
 gataaaataa tgatgccaca agatgatttata gtgatcatg aaatagattt taataataat 3480
 tcaatagtt taggtaaatg tggatctgg agaatggaag gtggttcagg tcatactgta 3540
 actgtatgata tagatcattt ctttcagca ccatcaataa catatagaga gcccacactt 3600
 tctatataatg acgtatttggaa agtacaaaaa gaagaacttg atttgtcaaa agatataatg 3660

gtattaccta atgtccaaa tagagtattt gcttgaaaa caggatggac accaggtta 3720
 agaagcttag aaaatgatgg cacaaaactg ttagaccgt aaaaaaaaaaa 3780

gagtttatt ggagatattt tgctttata gctgatgctt taataacaac attaaaacca 3840
 agatatgaag atactaatat aagaataaat ttagatagta atactagaag ttttagttt 3900
 ccaataataa ctacagaata tataagagaa aaattatcat attcttctt tggtcagga 3960
 ggaacttagt cattgtctt ttctcaatat aatatggta taaatataga attaagtcaa 4020
 agttagtgg ggattataga ttttgataat gttgtgagag atgtaactat agaatctgat 4080
 aaaataaaaa aaggtgattt aatagaaggt attttatcta cactaagtat tgaagagaat 4140
 aaaatitatct taaatagcca tgagattaat ttttcggg agttaatgg aagtaatgg 4200
 tttgttctt taacatttc aattttagaa ggaataaatg caattataga agttgattt 4260

ttatctaaat catataaatt acttatttc ggcgaattaa aaatattgtt gttaaattca 4320
 aatcatattc aacagaaaaat agattatata ggattcaata gcgaattaca gaaaaatata 4380
 ccatatagct ttgttagatag tgaaggaaaa gagaatggtt ttattatgg ttcaacaaaa 4440
 gaaggtttt ttgtatctga attacctgtt gtagttctt taagtaaggt ttatatggat 4500
 gatagtaagc cttcatttgg atattatagt aataatttga aagatgtcaa agttataact 4560
 aaagataatg ttaatatatt aacaggttt tatcttaagg atgatataaa aatctcttt 4620
 tcttgactc tacaagatga aaaaactata aagttaaata gtgtgcattt agatgaaagt 4680
 ggatctg agatttgaa gttcatgaat agaaaagta atacaatac ttcagattt 4740

ttaatgagct ttttagaaag tatgaatata aaaagtattt tcgttaattt cttacaatct 4800
 aatattaagt ttatattaga tgctaatttt ataataagt gtactactt tattggccaa 4860
 tttgagttt tttgtgatga aatgataat atacaaccat attcattaa gtttaataca 4920
 ctagaaacta attatacttt atatgttaga aatagacaaa atatgatagt ggaaccaa 4980
 tatgatttag atgattctgg agatataatct tcaactgtt tcaatttctc tcaaaagtat 5040
 ctttatggaa tagacagttt tgtaataaa gttgtaattt caccaaatat ttatacagat 5100
 gaaataataa taacgcctgt atatgaaaca aataatactt atccagaagt tattgttata 5160
 gatgcaaatt atataaatga aaaaataat gttaatatca atgatctatc tatacgatata 5220

gtatggagta atgatggtaa tgatTTTTT cttatgtcaa ctgtgaaga aaataaggta 5280
 tcacaaggta aaataagatt cgtaatgtt tttaaagata agactttggc aaataagcta 5340
 tcttttaact tttagtataa acaagatgtt cctgttaatgtt aaataatctt atcattaca 5400
 ctttcattt atgaggatgg attgattggc tatgattgg gtctatgtt tttatataat 5460
 gagaaatTTT atattaataa ctttggatg atggtatctg gattaatata tattatgtat 5520

tcattatatt atttaaacc accagtaaat aatttgataa ctggatttgt gactgttagc 5580
 gatgataat actacttaa tccaattaat ggtggagctg cttcaattgg agagacaata 5640
 attgatgaca aaaattatta ttcaaccaa agtggagtgt tacaaacagg tgtatTTAGT 5700

acagaagatg gatTTAAATA tttgcCCCA gctaatacac ttGATGAAAA CCTAGAAGGA 5760
 gaagcaattg atTTACTGG AAAATTAAATT ATTGACGAAA ATATTATTAA TTtTGATGAT 5820
 aattatAGAG gagCTGTAGA ATGGAAAGAA TTAGATGGT AAATGCACTA TTtTAGCCCA 5880
 gaaACAGGTA aAGCTTTAA AGGTCTAAAT CAAATAGGTG ATTATAAATA CTATTCAAT 5940
 tCTGATGGAG TTATGCAAAA AGGATTGTT AGTATAAATG ATAATAAACCA CTATTTGAT 6000
 gattCTGGT TTATGAAAGT AGGTTACACT GAAATAGATG GCAAGCATT CTACTTGTCT 6060
 gaaaACGGAG AAATGCAAAT AGGAGTATT AATACAGAAG ATGGATTAA ATATTGTCT 6120
 catcataatg aagatTTAGG AATGAAGAA GGTGAAGAAA TCTCATATTc TGtATATTa 6180

aatttcaata ataaaattta ctatTTGAT gattcattt cagCTGTAGT TGGATGGAAA 6240
 gatttagagg atggTcaaa gtattatTTT gatgaagata cagcagaAGC atatataGGT 6300
 ttGTCattaa taaatgatgg tcaatattt ttaatgatg atgaaattt gcaagttgga 6360
 tttGTCacta taaatgataa agtcttctac ttctctgact ctggaattt agaatctgga 6420
 gtacaaaaca tagatgacaa ttatttctat atagatgata atggatAGT tcaaattggT 6480
 gtatttGata ctTCAGATGG atataaataat ttgcacCTG ctaatactgt aaatgataat 6540
 atttacggac aagcagtGTA atatagtGgt tttagttAGAG ttggtaAGA tgtaTattat 6600
 ttggagaaa catatacaat tgagactgga tggatataGt atatggaaaa tgaagtGAT 6660

aaatattatt tcaatccaga aactaaaaaa gcatgcaaaG gtattaattt aattgatgat 6720
 ataaaattt atTTGATGA gaagggcata atgagaacgg gtcttatAtc attgaaaat 6780
 aataattatt acTTAATGA gaatggtgaa atgcaatttG gttatataaa tatagaAGAT 6840
 aagatgtct atTTGGTGA agatggtgC atgcagatG gagtatttaa tacaccagat 6900
 ggatTTaaat acTTGcaca tcaaaatact ttggatgaga atttgaggG agaatcaata 6960
 aactatactg gttggTTAGA tttagatgaa aagagatatt atttacAGA tgaatataatt 7020
 gcagcaactg gttcagttat tattgatggT gaggagtatt atttgatcc tgatacagct 7080
 caattagtGA ttatGtaata g 7101

<210> 380

<211> 2366

<212> PRT

<213> Clostridium difficile

<400> 380

Met Ser Leu Val Asn Arg Lys Gln Leu Glu Lys Met Ala Asn Val Arg

1 5 10 15

Phe Arg Thr Gln Glu Asp Glu Tyr Val Ala Ile Leu Asp Ala Leu Glu

20 25 30

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

35 40 45

Leu Lys Asp Ile Asn Ser Leu Thr Asp Ile Tyr Ile Asp Thr Tyr Lys

50 55 60

Lys Ser Gly Arg Asn Lys Ala Leu Lys Lys Phe Lys Glu Tyr Leu Val

65 70 75 80

Thr Glu Val Leu Glu Leu Lys Asn Asn Asn Leu Thr Pro Val Glu Lys

85 90 95

Asn Leu His Phe Val Trp Ile Gly Gln Ile Asn Asp Thr Ala Ile

100 105 110

Asn Tyr Ile Asn Gln Trp Lys Asp Val Asn Ser Asp Tyr Asn Val Asn

115 120 125

Val Phe Tyr Asp Ser Asn Ala Phe Leu Ile Asn Thr Leu Lys Lys Thr

130 135 140

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

145 150 155 160

Leu Asn Asp Pro Arg Phe Asp Tyr Asn Lys Phe Phe Arg Lys Arg Met

165 170 175

Glu Ile Ile Tyr Asp Lys Gln Lys Asn Phe Ile Asn Tyr Tyr Lys Ala

180 185 190

Gln Arg Glu Glu Asn Pro Glu Leu Ile Ile Asp Asp Ile Val Lys Thr

195 200 205

Tyr Leu Ser Asn Glu Tyr Ser Lys Glu Ile Asp Glu Leu Asn Thr Tyr

210 215 220

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

225 230 235 240

Arg Asn Phe Glu Glu Phe Lys Asn Gly Glu Ser Phe Asn Leu Tyr Glu

245 250 255

Gln Glu Leu Val Glu Arg Trp Asn Leu Ala Ala Ala Ser Asp Ile Leu

260 265 270

Arg Ile Ser Ala Leu Lys Glu Ile Gly Gly Met Tyr Leu Asp Val Asp

275 280 285

Met Leu Pro Gly Ile Gln Pro Asp Leu Phe Glu Ser Ile Glu Lys Pro

290 295 300

Ser Ser Val Thr Val Asp Phe Trp Glu Met Thr Lys Leu Glu Ala Ile

305 310 315 320

Met Lys Tyr Lys Glu Tyr Ile Pro Glu Tyr Thr Ser Glu His Phe Asp

325 330 335

Met Leu Asp Glu Glu Val Gln Ser Ser Phe Glu Ser Val Leu Ala Ser

340 345 350

Lys Ser Asp Lys Ser Glu Ile Phe Ser Ser Leu Gly Asp Met Glu Ala

355 360 365

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

370 375 380

Gln Gly Leu Ile Ser Val Lys Asp Ser Tyr Cys Ser Asn Leu Ile Val

385 390 395 400

Lys Gln Ile Glu Asn Arg Tyr Lys Ile Leu Asn Asn Ser Leu Asn Pro

405 410 415

Ala Ile Ser Glu Asp Asn Asp Phe Asn Thr Thr Thr Asn Thr Phe Ile

420 425 430

Asp Ser Ile Met Ala Glu Ala Asn Ala Asp Asn Gly Arg Phe Met Met

435 440 445

Glu Leu Gly Lys Tyr Leu Arg Val Gly Phe Phe Pro Asp Val Lys Thr

450 455 460

Thr Ile Asn Leu Ser Gly Pro Glu Ala Tyr Ala Ala Ala Tyr Gln Asp

465 470 475 480

Leu Leu Met Phe Lys Glu Gly Ser Met Asn Ile His Leu Ile Glu Ala

485	490	495
Asp Leu Arg Asn Phe Glu Ile Ser Lys Thr Asn Ile Ser Gln Ser Thr		
500	505	510
Glu Gln Glu Met Ala Ser Leu Trp Ser Phe Asp Asp Ala Arg Ala Lys		
515	520	525
Ala Gln Phe Glu Glu Tyr Lys Arg Asn Tyr Phe Glu Gly Ser Leu Gly		
530	535	540
Glu Asp Asp Asn Leu Asp Phe Ser Gln Asn Ile Val Val Asp Lys Glu		
545	550	555
Tyr Leu Leu Glu Lys Ile Ser Ser Leu Ala Arg Ser Ser Glu Arg Gly		
565	570	575
Tyr Ile His Tyr Ile Val Gln Leu Gln Gly Asp Lys Ile Ser Tyr Glu		
580	585	590
Ala Ala Cys Asn Leu Phe Ala Lys Thr Pro Tyr Asp Ser Val Leu Phe		
595	600	605
Gln Lys Asn Ile Glu Asp Ser Glu Ile Ala Tyr Tyr Tyr Asn Pro Gly		
610	615	620
Asp Gly Glu Ile Gln Glu Ile Asp Lys Tyr Lys Ile Pro Ser Ile Ile		
625	630	635
Ser Asp Arg Pro Lys Ile Lys Leu Thr Phe Ile Gly His Gly Lys Asp		
645	650	655
Glu Phe Asn Thr Asp Ile Phe Ala Gly Phe Asp Val Asp Ser Leu Ser		
660	665	670
Thr Glu Ile Glu Ala Ala Ile Asp Leu Ala Lys Glu Asp Ile Ser Pro		
675	680	685
Lys Ser Ile Glu Ile Asn Leu Leu Gly Cys Asn Met Phe Ser Tyr Ser		
690	695	700
Ile Asn Val Glu Glu Thr Tyr Pro Gly Lys Leu Leu Leu Lys Val Lys		
705	710	715
Asp Lys Ile Ser Glu Leu Met Pro Ser Ile Ser Gln Asp Ser Ile Ile		
725	730	735

Val Ser Ala Asn Gln Tyr Glu Val Arg Ile Asn Ser Glu Gly Arg Arg

740 745 750

Glu Leu Leu Asp His Ser Gly Glu Trp Ile Asn Lys Glu Glu Ser Ile

755 760 765

Ile Lys Asp Ile Ser Ser Lys Glu Tyr Ile Ser Phe Asn Pro Lys Glu

770 775 780

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

785 790 795 800

Leu Gln Glu Ile Arg Asn Asn Ser Asn Ser Ser Asp Ile Glu Leu Glu

805 810 815

Glu Lys Val Met Leu Thr Glu Cys Glu Ile Asn Val Ile Ser Asn Ile

820 825 830

Asp Thr Gln Ile Val Glu Glu Arg Ile Glu Glu Ala Lys Asn Leu Thr

835 840 845

Ser Asp Ser Ile Asn Tyr Ile Lys Asp Glu Phe Lys Leu Ile Glu Ser

850 855 860

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

865 870 875 880

Ser His Phe Ile Ser Phe Glu Asp Ile Ser Glu Thr Asp Glu Gly Phe

885 890 895

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

900 905 910

Thr Glu Lys Thr Ile Phe Ser Glu Tyr Ala Asn His Ile Thr Glu Glu

915 920 925

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

930 935 940

Val Lys Lys Val Asn Leu Asp Thr Thr His Glu Val Asn Thr Leu Asn

945 950 955 960

Ala Ala Phe Phe Ile Gln Ser Leu Ile Glu Tyr Asn Ser Ser Lys Glu

965 970 975

Ser Leu Ser Asn Leu Ser Val Ala Met Lys Val Gln Val Tyr Ala Gln

980	985	990
Leu Phe Ser Thr Gly Leu Asn Thr Ile Thr Asp Ala Ala Lys Val Val		
995	1000	1005
Glu Leu Val Ser Thr Ala Leu Asp Glu Thr Ile Asp Leu Leu Pro Thr		
1010	1015	1020
Leu Ser Glu Gly Leu Pro Ile Ile Ala Thr Ile Ile Asp Gly Val Ser		
1025	1030	1035
Leu Gly Ala Ala Ile Lys Glu Leu Ser Glu Thr Ser Asp Pro Leu Leu		
1045	1050	1055
Arg Gln Glu Ile Glu Ala Lys Ile Gly Ile Met Ala Val Asn Leu Thr		
1060	1065	1070
Thr Ala Thr Thr Ala Ile Ile Thr Ser Ser Leu Gly Ile Ala Ser Gly		
1075	1080	1085
Phe Ser Ile Leu Leu Val Pro Leu Ala Gly Ile Ser Ala Gly Ile Pro		
1090	1095	1100
Ser Leu Val Asn Asn Glu Leu Val Leu Arg Asp Lys Ala Thr Lys Val		
1105	1110	1115
Val Asp Tyr Phe Lys His Val Ser Leu Val Glu Thr Glu Gly Val Phe		
1125	1130	1135
Thr Leu Leu Asp Asp Lys Ile Met Met Pro Gln Asp Asp Leu Val Ile		
1140	1145	1150
Ser Glu Ile Asp Phe Asn Asn Asn Ser Ile Val Leu Gly Lys Cys Glu		
1155	1160	1165
Ile Trp Arg Met Glu Gly Gly Ser Gly His Thr Val Thr Asp Asp Ile		
1170	1175	1180
Asp His Phe Phe Ser Ala Pro Ser Ile Thr Tyr Arg Glu Pro His Leu		
1185	1190	1195
Ser Ile Tyr Asp Val Leu Glu Val Gln Lys Glu Glu Leu Asp Leu Ser		
1205	1210	1215
Lys Asp Leu Met Val Leu Pro Asn Ala Pro Asn Arg Val Phe Ala Trp		
1220	1225	1230

Glu Thr Gly Trp Thr Pro Gly Leu Arg Ser Leu Glu Asn Asp Gly Thr
 1235 1240 1245
 Lys Leu Leu Asp Arg Ile Arg Asp Asn Tyr Glu Gly Glu Phe Tyr Trp
 1250 1255 1260
 Arg Tyr Phe Ala Phe Ile Ala Asp Ala Leu Ile Thr Thr Leu Lys Pro

 1265 1270 1275 1280
 Arg Tyr Glu Asp Thr Asn Ile Arg Ile Asn Leu Asp Ser Asn Thr Arg
 1285 1290 1295
 Ser Phe Ile Val Pro Ile Ile Thr Thr Glu Tyr Ile Arg Glu Lys Leu
 1300 1305 1310
 Ser Tyr Ser Phe Tyr Gly Ser Gly Gly Thr Tyr Ala Leu Ser Leu Ser
 1315 1320 1325
 Gln Tyr Asn Met Gly Ile Asn Ile Glu Leu Ser Glu Ser Asp Val Trp

 1330 1335 1340
 Ile Ile Asp Val Asp Asn Val Val Arg Asp Val Thr Ile Glu Ser Asp
 1345 1350 1355 1360
 Lys Ile Lys Lys Gly Asp Leu Ile Glu Gly Ile Leu Ser Thr Leu Ser
 1365 1370 1375
 Ile Glu Glu Asn Lys Ile Ile Leu Asn Ser His Glu Ile Asn Phe Ser
 1380 1385 1390
 Gly Glu Val Asn Gly Ser Asn Gly Phe Val Ser Leu Thr Phe Ser Ile

 1395 1400 1405
 Leu Glu Gly Ile Asn Ala Ile Ile Glu Val Asp Leu Leu Ser Lys Ser
 1410 1415 1420
 Tyr Lys Leu Leu Ile Ser Gly Glu Leu Lys Ile Leu Met Leu Asn Ser
 1425 1430 1435 1440
 Asn His Ile Gln Gln Lys Ile Asp Tyr Ile Gly Phe Asn Ser Glu Leu
 1445 1450 1455
 Gln Lys Asn Ile Pro Tyr Ser Phe Val Asp Ser Glu Gly Glu Asn

 1460 1465 1470
 Gly Phe Ile Asn Gly Ser Thr Lys Glu Gly Leu Phe Val Ser Glu Leu

1475	1480	1485
Pro Asp Val Val Leu Ile Ser Lys Val Tyr Met Asp Asp Ser Lys Pro		
1490	1495	1500
Ser Phe Gly Tyr Tyr Ser Asn Asn Leu Lys Asp Val Lys Val Ile Thr		
1505	1510	1515
Lys Asp Asn Val Asn Ile Leu Thr Gly Tyr Tyr Leu Lys Asp Asp Ile		
1525	1530	1535
Lys Ile Ser Leu Ser Leu Thr Leu Gln Asp Glu Lys Thr Ile Lys Leu		
1540	1545	1550
Asn Ser Val His Leu Asp Glu Ser Gly Val Ala Glu Ile Leu Lys Phe		
1555	1560	1565
Met Asn Arg Lys Gly Asn Thr Asn Thr Ser Asp Ser Leu Met Ser Phe		
1570	1575	1580
Leu Glu Ser Met Asn Ile Lys Ser Ile Phe Val Asn Phe Leu Gln Ser		
1585	1590	1595
Asn Ile Lys Phe Ile Leu Asp Ala Asn Phe Ile Ile Ser Gly Thr Thr		
1605	1610	1615
Ser Ile Gly Gln Phe Glu Phe Ile Cys Asp Glu Asn Asp Asn Ile Gln		
1620	1625	1630
Pro Tyr Phe Ile Lys Phe Asn Thr Leu Glu Thr Asn Tyr Thr Leu Tyr		
1635	1640	1645
Val Gly Asn Arg Gln Asn Met Ile Val Glu Pro Asn Tyr Asp Leu Asp		
1650	1655	1660
Asp Ser Gly Asp Ile Ser Ser Thr Val Ile Asn Phe Ser Gln Lys Tyr		
1665	1670	1675
Leu Tyr Gly Ile Asp Ser Cys Val Asn Lys Val Val Ile Ser Pro Asn		
1685	1690	1695
Ile Tyr Thr Asp Glu Ile Asn Ile Thr Pro Val Tyr Glu Thr Asn Asn		
1700	1705	1710
Thr Tyr Pro Glu Val Ile Val Leu Asp Ala Asn Tyr Ile Asn Glu Lys		
1715	1720	1725

Ile Asn Val Asn Ile Asn Asp Leu Ser Ile Arg Tyr Val Trp Ser Asn
 1730 1735 1740
 Asp Gly Asn Asp Phe Ile Leu Met Ser Thr Ser Glu Glu Asn Lys Val
 1745 1750 1755 1760
 Ser Gln Val Lys Ile Arg Phe Val Asn Val Phe Lys Asp Lys Thr Leu
 1765 1770 1775
 Ala Asn Lys Leu Ser Phe Asn Phe Ser Asp Lys Gln Asp Val Pro Val

 1780 1785 1790
 Ser Glu Ile Ile Leu Ser Phe Thr Pro Ser Tyr Tyr Glu Asp Gly Leu
 1795 1800 1805
 Ile Gly Tyr Asp Leu Gly Leu Val Ser Leu Tyr Asn Glu Lys Phe Tyr
 1810 1815 1820
 Ile Asn Asn Phe Gly Met Met Val Ser Gly Leu Ile Tyr Ile Asn Asp
 1825 1830 1835 1840
 Ser Leu Tyr Tyr Phe Lys Pro Pro Val Asn Asn Leu Ile Thr Gly Phe

 1845 1850 1855
 Val Thr Val Gly Asp Asp Lys Tyr Tyr Phe Asn Pro Ile Asn Gly Gly
 1860 1865 1870
 Ala Ala Ser Ile Gly Glu Thr Ile Ile Asp Asp Lys Asn Tyr Tyr Phe
 1875 1880 1885
 Asn Gln Ser Gly Val Leu Gln Thr Gly Val Phe Ser Thr Glu Asp Gly
 1890 1895 1900
 Phe Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr Leu Asp Glu Asn Leu Glu Gly

 1905 1910 1915 1920
 Glu Ala Ile Asp Phe Thr Gly Lys Leu Ile Ile Asp Glu Asn Ile Tyr
 1925 1930 1935
 Tyr Phe Asp Asp Asn Tyr Arg Gly Ala Val Glu Trp Lys Glu Leu Asp
 1940 1945 1950
 Gly Glu Met His Tyr Phe Ser Pro Glu Thr Gly Lys Ala Phe Lys Gly
 1955 1960 1965
 Leu Asn Gln Ile Gly Asp Tyr Lys Tyr Tyr Phe Asn Ser Asp Gly Val

1970	1975	1980
Met Gln Lys Gly Phe Val Ser Ile Asn Asp Asn Lys His Tyr Phe Asp		
1985	1990	1995
Asp Ser Gly Val Met Lys Val Gly Tyr Thr Glu Ile Asp Gly Lys His		
2005	2010	2015
Phe Tyr Phe Ala Glu Asn Gly Glu Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr		
2020	2025	2030
Glu Asp Gly Phe Lys Tyr Phe Ala His His Asn Glu Asp Leu Gly Asn		
2035	2040	2045
Glu Glu Gly Glu Glu Ile Ser Tyr Ser Gly Ile Leu Asn Phe Asn Asn		
2050	2055	2060
Lys Ile Tyr Tyr Phe Asp Asp Ser Phe Thr Ala Val Val Gly Trp Lys		
2065	2070	2075
Asp Leu Glu Asp Gly Ser Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Asp Thr Ala Glu		
2085	2090	2095
Ala Tyr Ile Gly Leu Ser Leu Ile Asn Asp Gly Gln Tyr Tyr Phe Asn		
2100	2105	2110
Asp Asp Gly Ile Met Gln Val Gly Phe Val Thr Ile Asn Asp Lys Val		
2115	2120	2125
Phe Tyr Phe Ser Asp Ser Gly Ile Ile Glu Ser Gly Val Gln Asn Ile		
2130	2135	2140
Asp Asp Asn Tyr Phe Tyr Ile Asp Asp Asn Gly Ile Val Gln Ile Gly		
2145	2150	2155
Val Phe Asp Thr Ser Asp Gly Tyr Lys Tyr Phe Ala Pro Ala Asn Thr		
2165	2170	2175
Val Asn Asp Asn Ile Tyr Gly Gln Ala Val Glu Tyr Ser Gly Leu Val		
2180	2185	2190
Arg Val Gly Glu Asp Val Tyr Tyr Phe Gly Glu Thr Tyr Thr Ile Glu		
2195	2200	2205
Thr Gly Trp Ile Tyr Asp Met Glu Asn Glu Ser Asp Lys Tyr Tyr Phe		
2210	2215	2220

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

2225 2230 2235 2240

Ile Lys Tyr Tyr Phe Asp Glu Lys Gly Ile Met Arg Thr Gly Leu Ile

2245 2250 2255

Ser Phe Glu Asn Asn Asn Tyr Tyr Phe Asn Glu Asn Gly Glu Met Gln

2260 2265 2270

Phe Gly Tyr Ile Asn Ile Glu Asp Lys Met Phe Tyr Phe Gly Glu Asp

2275 2280 2285

Gly Val Met Gln Ile Gly Val Phe Asn Thr Pro Asp Gly Phe Lys Tyr

2290 2295 2300

Phe Ala His Gln Asn Thr Leu Asp Glu Asn Phe Glu Gly Glu Ser Ile

2305 2310 2315 2320

Asn Tyr Thr Gly Trp Leu Asp Leu Asp Glu Lys Arg Tyr Tyr Phe Thr

2325 2330 2335

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

2340 2345 2350

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

2355 2360 2365

<210> 381

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Phe, Val, or Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Thr, Ala, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Phe or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223

> Xaa = Ser, Arg, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Gly, Thr, Asp, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = His, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Gly, or Glu

<400> 381

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 382

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Leu, Ser, or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Tyr, Phe, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Asp, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Ser, Gly, Asp, or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Ser, His, or Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Glu, Gln, or Ile

<400> 382

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 383

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Ala, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Lys, or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Gly, or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Ser, or Arg

<220

>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Ile, Asp, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Leu, Ser, or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Asn, Ser, Gln, or His

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Arg, Tyr, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Pro, or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Phe, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Asp, Gly, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(12)

<223> Xaa = Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (13)...(13)

<223> Xaa = Phe, Leu, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (14)...(14)

<223> Xaa = Gly, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Met, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)...(16)

<223> Xaa = Asp, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (17)...(17)

<223>

Xaa = Val, or absent

<400> 383

Xaa Xaa

1

5

10

15

Xaa

<210> 384

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gln

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Ser, or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Ile, Val, or Thr

<220>

<221

> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Leu, or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Phe, Lys, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Ser, or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Ser, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Asn, Asp, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Asn, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Lys, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Ile, Asn, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(12)

<223> Xaa = Tyr, or absent

<400> 384

Xaa Xaa

1 5 10

<210> 385

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Trp, Lys, or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Ala or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Ser

<400> 385

Xaa Xaa Xaa

1

<210> 386

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gln or His

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Gln, or Glu

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Tyr, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Thr, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Leu, Ala, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Pro, Phe, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Leu, Phe, or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Thr, or Ala

<400> 386

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

<210> 387

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gly, or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Phe

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Asn, or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Phe

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Gly, Ser, Asn, or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Thr, Ser, Asn, or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = His, Tyr, or Phe

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Asp, Val, Ala, or Tyr

<400> 387

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1	5
---	---

<210> 388

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Leu, or Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Thr, Gly, Ser, or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Ser, Thr, Gly, or Phe

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Thr, Val, Tyr, Val, Asp, or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Gly, Asp, Ser, or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Ser, Thr, Asn, or Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Ala, Thr, Glu, Lys, or absent

<400> 388

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 389

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Ala

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Lys, or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Thr, Asp, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Phe, Arg, His, Ala, or Leu

<220>

<221> VARSPLIC

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Asn, Gly, or Lys

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Trp, Gly, Asp, or Ile

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Asn, Ala, or Phe

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Ser, Asn, Tyr, Gly, or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Tyr, Ile, Ala, Thr, Glu, or Leu

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Phe, Tyr, Ser, Gly, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Asp, Ser, Gly, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(12)

<223> Xaa = Tyr, Phe, Ser, Pro, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (13)...(13)

<223> Xaa = Tyr, Leu, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (14)...(14)

<223> Xaa = Tyr, Phe, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Gly, Asn, Asp, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)...(16)

<223> Xaa = Met, Arg, Tyr, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (17)...(17)

<223> Xaa = Asp, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (18)...(18)

<223> Xaa = Tyr, Val, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (19)...(19)

<223> Xaa = Tyr, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (20)...(20)

<223> Xaa = Tyr, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (21)...(21)

<223> Xaa = Gly, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (22)...(22)

<223> Xaa = Met, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (23)...(23)

<223> Xaa = Asp, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (24)...(24)

<223> Xaa = Val, or absent

<400> 389

Xaa Xaa

1

5

10

15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20

<210> 390

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gln

<220>

<

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Ser, Asp, or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Ile, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Thr, Asn, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Tyr, Trp, Phe, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Tyr, or absent

<400> 390

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

<210> 391

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gly, Ala, Lys, or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Ala, Thr, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Ser

<400> 391

Xaa Xaa Xaa

1

<210> 392

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223>

> Xaa = Gln or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Gln, Lys, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Tyr, Asn, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Gly, Asn, Thr, Tyr, His, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Asn, Ser, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Ser, Ala, Tyr, Asp, Trp, or absent

<220>

<221> VARIANT

<

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Leu, Pro, Ser, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Tyr, Phe, Arg, Pro, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Thr, Tyr, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Thr

<400> 392

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

<210> 393

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Phe, Asp, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Thr, Asn, Ser, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Phe, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Ser, Arg, Lys, Glu, or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Ser, Ile, Asp, or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<

<223> Xaa = Phe, Tyr, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Gly, Ala, Ser, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = A1a, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = A1a or absent

<400> 393

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

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

<210> 394

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Ile, or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Ser, Gly, Tyr, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Thr, Gly, Tyr, Trp, Pro, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Asp, Ser, Asn, Arg, Lys, or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Gly, Ser, or Thr

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Ser, Asp, Gly, Lys, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Lys, Arg, Asn, Ser, Trp, or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Lys, Thr, Ile, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = His, or absent

<400> 394

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1 5

<210> 395

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> xaa = Ala, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Arg, Lys, Thr, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Val, Gly, Asp, Arg, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Gly, Trp, Arg, Lys, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Glu, Tyr, Arg, Ser, or Trp

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Leu, Tyr, Ser, Pro, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Leu, Asp, Tyr, Ser, or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Asn, Ser, Phe, Lys, Arg, Asp, or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Tyr, Gly, Phe, Asp, Trp, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (10)...(10)

<223> Xaa = Ser, Tyr, Asn, Asp, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (11)...(11)

<223> Xaa = Tyr, Leu, Val, Gly, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (12)...(12)

<223> Xaa = Tyr, Leu, Phe, Val, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (13)...(13)

<223> Xaa = Asn, Gly, Asp, Phe, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (14)...(14)

<223> Xaa = Tyr, Met, Asp, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (15)...(15)

<223> Xaa = Asp, Tyr, or absent

<220>

<221> VARIANT

<222> (16)...(16)

<223> Xaa = Val, or absent

<400> 395

Xaa Xaa

1

5

10

15

<210> 396

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic

<220>

<221> VARIANT

<222> (1)...(1)

<223> Xaa = Gln, Leu, or Arg

<220>

<221> VARIANT

<222> (2)...(2)

<223> Xaa = Gly, Asp, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Ile, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Arg, Ser, Gly, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Ser, or Asn

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Trp, His, Asn, Phe, Ser, or Asp

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Tyr, or absent

<400> 396

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

<210> 397

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<220>
<221> VARIANT
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = Ala, Ser, Asp, or Gly
<220>
<221> VARIANT
<222> (2)...(2)
<223> Xaa = Ala, or Thr
<220>
<221> VARIANT
<222> (3)...(3)
<223> Xaa = Ser
<400> 397

Xaa Xaa Xaa

1

<210> 398
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Synthetic
<220>
<221> VARIANT
<222> (1)...(1)
<223> Xaa = Gln, His, or Leu
<220>
<221> VARIANT
<222> (2)...(2)
<223> Xaa = Gln
<220>
<221> VARIANT

<222> (3)...(3)

<223> Xaa = Ala, Tyr, Arg, Asp, His, or Val

<220>

<221> VARIANT

<222> (4)...(4)

<223> Xaa = Tyr, Gly, Asn, Ser, Ile, or Lys

<220>

<221> VARIANT

<222> (5)...(5)

<223> Xaa = Ser, Leu, Pro, Ile, Asn, Thr, or Gly

<220>

<221> VARIANT

<222> (6)...(6)

<223> Xaa = Phe, Tyr, Trp, or Ser

<220>

<221> VARIANT

<222> (7)...(7)

<223> Xaa = Pro

<220>

<221> VARIANT

<222> (8)...(8)

<223> Xaa = Leu, Pro, Phe, Val, or Tyr

<220>

<221> VARIANT

<222> (9)...(9)

<223> Xaa = Thr

<400> 398

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa