



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년05월13일
(11) 등록번호 10-1620539
(24) 등록일자 2016년05월04일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 16/28 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01) C12N 15/13 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2010-7016269
(22) 출원일자(국제) 2008년12월19일
심사청구일자 2013년12월18일
(85) 번역문제출일자 2010년07월20일
(65) 공개번호 10-2010-0100985
(43) 공개일자 2010년09월15일
(86) 국제출원번호 PCT/GB2008/051212
(87) 국제공개번호 WO 2009/081201
국제공개일자 2009년07월02일
(30) 우선권주장
61/015,869 2007년12월21일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2001092340 A1

(73) 특허권자
메디뮴 리미티드
영국 씨비21 6지에이치 캠프리지 그랜타 파크 밀스테인 빌딩
(72) 발명자
코헨 수잔
영국 씨비21 6지에이치 캠프릿지서 캠프릿지 그랜타 파크 밀스테인 빌딩 메디뮴 리미티드
둡슨 클레어 루이스
영국 씨비21 6지에이치 캠프릿지서 캠프릿지 그랜타 파크 밀스테인 빌딩 메디뮴 리미티드
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
김진희

전체 청구항 수 : 총 24 항

심사관 : 이수정

(54) 발명의 명칭 인터루킨-4 수용체 알파(I L-4R α)에 대한 결합 구성원-173

(57) 요약

인터루킨 (IL)-4 수용체 α(IL-4R α)에 대한 결합 구성원, 특히 항체 분자, 및 예를 들어, IL-4R α, IL-4 및/또는 IL-13와 연관된 질병, 예를 들어 천식 및 COPD를 치료 또는 예방하는데서, 이들의 치료 용도에 관한 것이다.

(72) 발명자

에릭손 페르-올로프 프레드릭

스웨덴 에스-221 87 룬드 아스트라제네카 알앤디
룬드

레인 데보라 루이스

영국 씨비21 6지에이치 캠프릿지서 캠프릿지 그란
타 파크 밀스테인 빌딩 메디클 리미티드

폰 바헨펠트 카린

스웨덴 에스-221 87 룬드 아스트라제네카 알앤디
룬드

명세서

청구범위

청구항 1

hIL-4R α 에 대한 단리된 항체 또는 이의 단편으로서, 이의 결합 구성원(member)이 또한 사이노몰거스 원숭이 인터루킨-4 수용체 알파(cyIL-4R α)에 결합할 수 있고, 단리된 결합 구성원이 CDR 세트: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하며,

HCDR1은 서열 번호 193의 아미노산 서열을 가지고;

HCDR2는 서열 번호 194의 아미노산 서열을 가지고;

HCDR3은 서열 번호 195의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR1은 서열 번호 198의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR2는 서열 번호 199의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR3은 서열 번호 200의 아미노산 서열을 가지거나;

또는

HCDR1은 서열 번호 363의 아미노산 서열을 가지고;

HCDR2는 서열 번호 364의 아미노산 서열을 가지고;

HCDR3은 서열 번호 365의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR1은 서열 번호 368의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR2는 서열 번호 369의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR3은 서열 번호 370의 아미노산 서열을 가지거나;

또는

HCDR1은 서열 번호 233의 아미노산 서열을 가지고;

HCDR2는 서열 번호 234의 아미노산 서열을 가지고;

HCDR3은 서열 번호 235의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR1은 서열 번호 238의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR2는 서열 번호 239의 아미노산 서열을 가지고;

LCDR3은 서열 번호 240의 아미노산 서열을 갖는 것인, 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 2

제1항에 있어서, 항체는 IgG1, IgG2 및 IgG4 분자로부터 선택된 항체 분자인 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 3

제1항에 있어서, 항체는 VH 도메인을 갖는 단리된 인간 항체이고, VH 도메인은 인간 배선(germline) 프레임워크 Vh1_DP-7_(1-46)을 포함하는 것인 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 4

제1항에 있어서, VL 도메인을 포함하고, VL 도메인이 인간 배선 프레임워크 V λ 1_DPL5를 포함하는 것인 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 5

제1항에 있어서, 서열 번호 192의 VH 도메인 또는 서열 번호 197의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 6

제1항에 있어서, 서열 번호 232의 VH 도메인 또는 서열 번호 237의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 7

제1항에 있어서, 서열 번호 422의 VH 도메인 또는 서열 번호 427의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 8

제1항에 있어서, 서열 번호 432의 VH 도메인 또는 서열 번호 437의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 9

제1항에 있어서, 서열 번호 362의 VH 도메인 또는 서열 번호 367의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 10

제1항에 있어서, 서열 번호 442의 VH 도메인 또는 서열 번호 447의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 11

제1항 내지 제10항 중 어느 하나의 항에 따른 단리된 항체 또는 이의 단편 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는, 염증성 질환 치료용 조성물.

청구항 12

제11항에 있어서, IL-4R α 와 연관된 질병을 치료하는데 사용하기 위한 것이고, 질병은 천식, 기관지염, COPD, 염증성 장질환, 섬유증 병태, 알레르기, 이식 거부반응, 지연성 과민증 또는 접촉성 과민 반응 중 1 이상인 조성물.

청구항 13

제1항 내지 제10항 중 어느 하나의 항에 따른 항체 또는 이의 단편, 또는 이러한 항체 또는 이의 단편의 단리된 VH 또는 VL 도메인을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자.

청구항 14

제13항에 따른 핵산으로 시험관 내 형질전환된 숙주 세포.

청구항 15

제1항에 있어서, 서열 번호 192의 VH 도메인 및 서열 번호 197의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 16

제1항에 있어서, 서열 번호 232의 VH 도메인 및 서열 번호 237의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 17

제1항에 있어서, 서열 번호 422의 VH 도메인 및 서열 번호 427의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의

단편.

청구항 18

제1항에 있어서, 서열 번호 432의 VH 도메인 및 서열 번호 437의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 19

제1항에 있어서, 서열 번호 362의 VH 도메인 및 서열 번호 367의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 20

제1항에 있어서, 서열 번호 442의 VH 도메인 및 서열 번호 447의 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 또는 이의 단편.

청구항 21

제15항 내지 제20항 중 어느 하나의 항에 따른 단리된 항체 또는 이의 단편 및 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는, 염증성 질환 치료용 조성물.

청구항 22

제21항에 있어서, IL-4R α 와 연관된 질병을 치료하는데 사용하기 위한 것이고, 질병은 천식, 기관지염, COPD, 염증성 장질환, 섬유증 병태, 알레르기, 이식 거부반응, 지연성 과민증 또는 접촉성 과민 반응 중 1 이상인 조성물.

청구항 23

제15항 내지 제20항 중 어느 하나의 항에 따른 항체 또는 이의 단편, 또는 이러한 항체 또는 이의 단편의 단리된 VH 또는 VL 도메인을 코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 단리된 핵산 분자.

청구항 24

제23항에 따른 핵산으로 시험관 내 형질전환된 숙주 세포.

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

발명의 설명

기술분야

[0001] 본 발명은 인터루킨 (IL)-4 수용체 α (IL-4R α , CD124라고도 함)에 대한 결합 구성원, 특히 항체 분자, 및 이들의 치료적 용도, 예를 들어 IL-4R α , IL-4 및/또는 IL-13와 연관된 질병, 예를 들어 천식 및 COPD를 치료 또는 예방하는 데서의 용도에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 인간 IL-4R α 서브유닛(Swiss Prot 수탁 번호 P24394)은 높은 친화성으로 인간 IL-4에 결합하는 140kDa의 제1형 막 단백질이다(Andrews et al J. Biol. Chem (2002) 277:46073-46078). IL-4/IL-4R α 복합체는 IL-4 상의 도메인을 통해서, 공통 감마쇄(gc, CD132) 또는 IL-13R α 1(IL-13R α 1) 서브유닛과 이량체화되어, 2종의 상이한 신호전달 복합체를 형성하며, 이들을 각각 제I형 및 제II형 수용체라고 한다. 다르게, IL-13은 IL-13R α 1에 결합해서 IL-13/IL-13R α 1 복합체를 형성할 수 있고, 이 복합체는 IL-4R α 서브유닛을 모집하여 제II형 수용체 복합체를 형성하게 된다. 따라서, IL-4R α 는 IL-4와 IL-13 둘 모두의 생물학적 활성을 증대한다(Gessner et al, Immunobiology, 201:285, 2000). 시험관 내 실험은 IL-4 및 IL-13이 다수의 세포 유형, 예를 들어, T 세포, B 세포, 호산구, 비만 세포, 호염기구, 기도 평활근 세포, 호흡기 상피 세포, 폐 섬유아세포, 및 내피 세포 등에서 이펙터 기능을 활성화시킨다는 것을 보여주었다(Steinke et al, Resp Res, 2:66, 2001, 및 Willis-Karp, Immunol Rev, 202:175, 2004).

[0003] IL-4R α 는 다양한 세포 유형, 예를 들어, 말초 혈액 T 세포, 단핵구, 기도 상피 세포, B 세포 및 폐 섬유아세포 등(Lowenthal et al, J Immunol, 140:456, 1988)에서 낮은 수(100~5000 분자/세포)로 발현된다. 제I형 수용체는 조혈 세포에서 두드러지게 존재하는데 반해, 제II형 수용체는 조혈 세포와 조혈 세포 이외의 세포 둘 모두에서 발현된다.

[0004] 인간 개체군에 존재하는 IL-4R α 다형체가 알려져있고(Gessner et al, Immunobiology, 201:285, 2000), IgE 수준 또는 임상적 아토피와의 연관성이 일부 집단에서 보고된 바 있다. 예를 들어, V75R576 IL-4R α 가 알레르기성 천식 및 증강된 IL-4R α 기능과 연관되어 있다(Risma et al. J.Immunol. 169(3):1604-1610, 2002).

[0005] 몇몇 증거들은 천식 병변(Chatila, Trends in Molecular Med, 10:493, 2004), 및 본 명세서의 다른 부분에서 열거된 바와 같은, 다양한 범위의 다른 병변에서 IL-4/IL-13 경로의 중요한 역할을 뒷받침해준다. IL-4 및 IL-13의 분비 증가는 질병 프로세스를 개시하고 유지시키는 것으로 여겨진다. IL-13은 기도 과민증(AHR), 점액 과분비증 및 기도 리모델링 유발시의 우세한 파트너로 여겨지는데 반해, IL-4는 Th2 분극화 및 IgE 생성의 주요 유도인자로 제안되었다(Wynn, Annu Rev Immunol, 21: 425, 2003).

[0006] 천식에서 IL-4R α 의 역할은 동물 질환 모델에서 얻은 증거들로 더욱 뒷받침되었다. 난백 알부민(OVA, 모델 알레르겐)을 사용한 알레르기 공격 동안 기능성 쥐 IL-4R 길항제(IL-4 돌연변이체; C118 결실)의 투여는 사전에 OVA로 감작된 쥐에서 알레르기성 기도 호산구증가증 및 AHR의 발병을 억제시켰다(Tomkinson et al. J.Immunol. 166(9):5792-5800, 2001). 게다가, 다수의 생체 내 실험은 천식의 동물 모델에서 IL-13 또는 IL-4를 차단한 양성적 효과를 증명해 주었다. 예를 들어, OVA-유도된 지속적인 기도 염증의 만성 모델에서 항-IL-13 mAb의 치료적 투약은 AHR를 억제하고, 상피하 섬유증 및 염증의 진행을 중지시켰으며 점액 비후증을 기본 수준으로 회복시켰다(Yang et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 313(1):8-15, 2005). 마우스 OVA 모델에서, 항-IL-4 항체에 의한 IL-4 억제는 면역화 동안 투여시 호산구 침윤을 상당히 감소시키는 것으로 나타났다(Coyle et al., Am J Resp Cell Mol Biol, 13:54, 1995). 유사한 모델에서, IL-4-결핍 마우스는 OVA 공격 이후 실질적으로 기관지폐포 세척액에서 호산구는 더 적고 기관지주위 염증도 상당히 덜하였다(Brusselle et al., Clin Exp Allergy, 24:73, 1994).

[0007] 인간에서, IIa 기 실험은 IL-4R α 길항제(IL-4 뮤테인이라고 함)는 알레르겐 유도된 후기 천식 반응을 감소시키고 천식 환자에서 폐의 안정기(resting) 염증 상태를 약독화시켰다(Wenzel et al., Lancet, 370:1422, 2007). 이러한 인간 데이터들은 IL-4R α 길항제가 천식에서 임상적인 효용성을 제공할 수 있다는 견해를 더욱 공고히 하였다.

[0008] 천식에서 이들의 역할이외에도, IL-4R α 는 예를 들어, 하기에 기술한 다수의 다른 병변과도 연관되어 있다:

[0009] 만성 폐쇄성 폐질환(COPD)은 다양한 정도로 만성 기관지염, 소기도 질환 및 기종을 갖는 환자군을 포함하고, 현재의 천식 기반 치료법에 불충분하게 반응하는 진행성 비가역적 폐 기능 저하증으로 특징된다. COPD의 근본적인 원인은 불완전하게 이해된 채로 남아있다. "Dutch hypothesis"은 COPD 및 천식에 대한 공통 감수성이 존재하고,

따라서, 유사한 기전이 양쪽 질환의 발병 원인일 것이라고 제안하였다(Sluite et al., Eur Respir J, 4(4): p. 479-89, 1991). Zheng 등(J Clin Invest, 106(9):1081-93, 2000)은 마우스의 폐에서 IL-13의 과발현이 인간 COPD의 증상을 반영하는, 기종, 점액 생성 증가 및 염증을 유발한다는 것을 증명하였다. 또한, 알레르기성 염증의 쥐 모델에서 AHR, IL-13 의존적 반응은 흡연자에서 폐 기능 저하의 전조가 되는 것으로 확인되었다(Tashkin et al., Am J Respir Crit Care Med, 153(6 Pt 1):1802-11, 1996). IL-13 프로모터 다형체 및 COPD가 발병되는 감수성 간 연계성도 확립되었다(Van Der Pouw Kraan et al., Genes Immun, 3(7): 436-9, 2002). 따라서, 이러한 징후는 IL-4/IL-13 경로, 구체적으로 IL-13은 COPD의 병인론에서 중요한 역할을 한다는 것이다.

- [0010] IL-13은 염증성 장질환의 발병과정에서 역할을 수행할 수 있다. Heller 등(Heller et al., Immunity, 17(5):629-38, 2002)은 가용성 IL-13R. α 2의 투여에 의한 IL-13의 중화가 인간 폐양성 대장염의 쥐 모델에서 결장 염증을 완화시킨다고 보고하였다. 유사하게, IL-13 발현은 대조군과 비교시 폐양성 대장염 환자에서 유래한 직장 생검 표본에서 더 높았다(Inoue et al., Am J Gastroenterol, 94(9):2441-6, 1999).
- [0011] 천식이외에도, IL-4/IL-13 경로는 다른 섬유증 병태, 예컨대 전신 경화증(Hasegawa et al., J Rheumatol, 24(2):328-32, 1997), 폐 섬유증(Hancock et al., Am J Respir 세포 Mol Biol, 18(1): 60-5, 1998), 기생충 유도된 간 섬유증(Fallon et al., J Immunol, 164(5): 2585-91, 2000; Chiaramonte et al., J Clin Invest, 104(6): 777-85, 1999; Chiaramonte Hepatology 34(2):273-82, 2001) 및 낭성 섬유증(Hauber et al., J. Cyst Fibr, 2:189, 2003)과 연관되어 있다.
- [0012] IL-4 및 어느 정도로 IL-13은 B 세포 매개된 활성화, 예컨대 B 세포 증식, 면역글로불린 분비, 및 Fc ϵ psilonR의 발현에 결정적이다. IL-4R α 억제제의 임상 용도는 예를 들어, IgE 합성을 억제하기 위한 알레르기 요법에서의 용도(예를 들어, 아토피 피부염 및 음식 알레르기 포함), 이식 거부반응을 예방하기 위한 이식 치료법을 비롯하여, 지연성 과민증 또는 접촉성 과민 반응의 억제에서의 용도를 포함한다.
- [0013] IL-4R 길항제는 또한 알레르기 면역요법에 대한 보조제 및 백신 보조제로서의 용도를 포함할 수 있다.
- [0014] IL-4R α 에 대한 항체가 알려져 있다. 이의 2 예로는 쥐의 항-IL-4R α 단일클론 항체 MAB230(클론 25463) 및 I6146(클론 25463.11) 등이 있고, 이들은 각각 R&D Systems(Minneapolis, MN) 및 Sigma(St Louis, MO)에서 판매하고 있다. 이들 항체는 IgG2a 아형이고, 정제된 재조합 인간 IL-4R α (배칼로바이러스 유래)로 면역화시킨 마우스 유래의 마우스 하이브리도마에서 발생되었다. 2종의 더욱 중화된 쥐의 항-IL-4R α 항체 M57 및 X2/45-12가 각각 BD Biosciences(Franklin Lakes, NJ) 및 eBioscience(San Diego, CA)에서 판매된다. 이들은 IgG1 항체이고 역시 재조합 가용성 IL-4R α 로 면역화된 마우스에서 발생된 마우스 하이브리도마에서 생산된다.
- [0015] 완전한 인간 항체는 쥐 또는 키메라 항체보다 임상적 효용성이 보다 양호한 듯하다. 이는 마우스 면역글로불린의 Fc 부분에 대해서 유도된 인간 항-마우스 항체(HAMA)가 빈번하게 생성되고, 이로 인해 급속한 제거 및 가능한 아나필락시스 반응이 야기되기 때문일 것이다(Brochier et al., Int. J. Immunopharm., 17:41-48, 1995). 키메라 항체(마우스 가변 영역과 인간 불변 영역)가 쥐의 mAb 보다 덜 면역원성이지만, 인간 항-키메라 항체(HACA) 반응이 보고된 바 있다(Bell and Kamm, Aliment. Pharmacol. Ther., 14:501-514, 2000).
- [0016] WO 01/92340(Immunex)는 가용성 IL-4R 펩티드로 형질전환 마우스를 면역화하고, IL-4R에 대한 항체를 분비하는 하이브리도마 세포주를 생성시키는 것을 포함하는 과정에 의해서 생성된 IL-4 수용체에 대한 인간 단일클론 항체를 기술하고 있으며, 주요 항체 12B5는 IgG1 항체이고 완전하게 인간 항체인 것으로 개시되어 있다. WO 05/047331(Immunex)는 VH 영역의 올리고뉴클레오타이드 돌연변이유발법을 통해서 12B5(H1L1로 재명명함)에서 유도된 추가 항체를 개시하고 있다. 각각의 돌연변이된 VH 사슬이 6개의 개별 VL 사슬 중 하나와 쌍을 이루게 하여 항체 분자의 작은 레파토리를 생성시켰다.
- [0017] WO 07/082068(Aerovance)은 R121D 및 Y124D의 치환을 갖는 돌연변이체 인간 IL-4 단백질의 투여를 포함하는 치료 방법을 개시한다. 이 명세서에는 약학 조성물로 투여되는 이러한 IL-4 유도체가 야생형 huIL-4 및 야생형 huIL-13와 수용체의 결합을 길항할 수 있다고 교시하고 있다.
- [0018] WO 08/054606(Regeneron)은 인간 항체를 생산할 수 있는 형질전환 마우스에서 상승되는 인간 IL-4R에 대한 특정 항체를 개시하고 있다.
- [0019] 다른 종, 예를 들어 사이노몰거스 원숭이 유래의 유사(orthologous) 단백질과 교차 반응성을 또한 나타내는 인간 IL-4R α 에 대한 항체를 발견하고 개발하는 것은 장점과 혜택이 존재한다. 이러한 항체는 생체 내 안정성 및 약학 면에서 이러한 항체의 특징 규명을 용이하게 한다. 예를 들어, 인간 활성과 10배 이하로 다른, 다른 종에 대한 효능 또는 친화성은 이러한 평가에 적합할 수 있다. 그러나, 인간 IL-4R α 단백질은 침팬지를 제외한 다른

중에서 유래된 유사 IL-4R α 단백질과 비교적 적은 유사성을 보인다. 따라서, 임상 개발을 위한 안정성 및 독성 평가에 적합한 것으로 널리 고려되는 종에 대해 교차 반응성을 갖는 임상 용도로 적합한 높은 친화성 및 효능의 항체를 개발하는 것은 매우 힘든 작업이다.

[0020] 적절하게 설계된 선별법 및 분 석법을 통해서, 발명자들은 인간 및 사이노몰거스 원숭이 IL-4R α 의 생물학적 활성을 억제하는 IL-4 α 에 대한 결합 구성원을 개발하였다.

발명의 내용

[0021] 실시예에 상세히 설명한 바와 같이, 발명자들은, 초기 선구물질 발굴 프로그램에서, 어느 정도, 그러나 약하게 사이노몰거스 IL-4R α 와의 결합성 및 기능적 중화도 나타내는 인간 IL-4R α 에 대한 단일 항체 분자를 선별하였다. 표적화 및 무작위 돌연변이유발을 위해 계획되고 정해진 과정과 모항체 분자로부터 돌연변이 선별 과정을 거친 후, 상당히 개선된 특성을 갖는 항체 분자의 거대 패널이 개발되었다. 최적화된 항체, 및 모항체(항체 1)의 상보성 결정 영역(CDR)을 포함하여, VH 및 VL 영역을 도 1, 2, 3 및 4에 도시하였다. 이들 항체 분자, VH, VL, CDR, 및 1 이상의 상기 CDR을 포함하는 결합 구성원은 본 발명의 측면들을 형성한다.

[0022] 야생형 IL-4R α 이외에도, 본 발명의 결합 구성원은 또한 공통 인간 변이체인, I75V IL-4R α 에 결합하는 것으로 확인되었다.

[0023] 본 명세서에서는 높은 역가로 IL-4R α 의 생물학적 효능을 중화시키고, 높은 친화성으로 IL-4R α 에 결합하며, IL-4 및 IL-13에 의해 유도된 신호전달을 억제하는 결합 구성원을 기술한다. 특히, 결합 구성원은 높은 친화성 복합체, 예를 들어 IL-4:IL-4R α : γ c, IL-4:IL-4R α :IL-13R α 1, IL-13:IL-13R α 1:IL-4R α 로부터의 신호전달을 억제한다. 이러한 작용은 IL-4 및 IL-13 둘 모두의 신호전달을 방지한다. 부가적으로, 이 데이터는 결합 구성원이 IL-4R α 제1형 및 제2형 복합체의 상호작용 및 신호전달을 억제한다는 것을 시사한다. 결합 구성원의 이러한 점과 다른 특성과 효과를 이하에서 구체적으로 설명한다.

[0024] 결합 구성원은 IL-4R α , IL-4 또는 IL-13이 발현되는, 본 명세서에서의 다른 부분에서 표현되는 예를 들어 1 이상의 IL-4R α -, IL-4- 또는 IL-13-관련 질병, 예컨대 천식 또는 COPD 등의 질병을 치료하는데 유용하다.

[0025] 본 명세서에서 기술한 바와 같이, IL-4R α 에 대한 결합 구성원은 표면 플라스몬 공명법, 예를 들어 BIAcore를 사용하여 결정하였다.

[0026] 표면 플라스몬 공명 데이터는 1:1 랑뮈어 결합 모델(동시에 ka kd) 및 속도 상수 kd1/ka1의 비율에서 산출된 친화성 상수 KD에 맞출 수 있다. 본 발명의 결합 구성원은 20 nM 보다 낮은 인간 IL-4R α 와 결합하기 위한 1가 친화성(monovalent affinity)을 가질 수 있다. 다른 구체예에서, 인간 IL-4R α 에 결합하기 위한 1가 친화성은 10 nM 보다 적고, 예를 들어, 8 nM 미만, 5 nM 미만이다. 다른 구체예에서, 결합 구성원은 또한 사이노몰거스 IL-4R α 에 결합한다. 일 구체예에서, 본 발명의 결합 구성원은 인간 IL-4R α 에 결합하기 위한 1가 결합 친화성은 0.05~12 nM 범위이다. 일 구체예에서, 본 발명의 결합 구성원은 인간 IL-4R α 에 결합하기 위한 1가 친화성이 0.1~5 nM 범위이다. 일 구체예에서, 본 발명의 결합 구성원은 인간 IL-4R α 에 결합하기 위한 1가 친화성이 0.1~2 nM 범위이다.

[0027] 일 구체예에서, 본 발명의 결합 구성원은 인간 IL-4R α 에 면역특이적으로 결합할 수 있고, 본 명세서에 기술하거나 당분야의 숙련가에게 공지된 방법(예를 들어, BIAcore 분석법, ELISA)(Biacore International AB, Uppsala, Sweden)을 사용하여 측정시 친화성(KD)이 5000 pM 이하, 4000 pM 이하, 3000 pM 이하, 2500 pM 이하, 2000 pM 이하, 1500 pM 이하, 1000 pM 이하, 750 pM 이하, 500 pM 이하, 250 pM 이하, 200 pM 이하, 150 pM 이하, 100 pM 이하, 75 pM 이하일 수 있다.

[0028] 특정 구체예에서, 본 발명의 결합 구성원은 인간 IL-4R α 에 면역특이적으로 결합할 수 있고, 본 명세서에 기술하거나 당분야의 숙련가에게 공지된 방법(예를 들어, BIAcore 분석법, ELISA)을 사용하여 측정시 친화성(KD)이 25~5000 pM, 25~4000 pM, 25~3500 pM, 25~3000 pM, 25~2500 pM, 25~2000 pM, 25~1500 pM, 25~1000 pM, 25~750 pM, 25~500 pM, 25~250 pM, 25~100 pM, 25~75 pM, 25~50 pM일 수 있다. 다른 구체예에서, 본 발명의 항-IL-4R α 결합 구성원(항체 포함)은 면역특이적으로 인간 IL-4R α 에 결합할 수 있고, 본 명세서에 기술하거나 당분야의 숙련가에게 공지된 방법(예를 들어, BIAcore 분석법, ELISA)으로 측정시 친화성(KD)이 500 pM, 100 pM, 75 pM 또는 50 pM 일 수 있다.

[0029] 실시예에서 보다 구체적으로 설명하는 바와 같이, 본 발명에 따른 결합 구성원은 높은 역가(potency)로 IL-4R α 를 중화시킨다. 중화란 IL-4R α 에 의해 매개되는 생물학적 활성의 억제를 의미한다. 본 발명의 결합 구성원은

IL-4R α 에 의해 매개되는 1 이상의 활성을 증화시킬 수 있다. 억제되는 생물학적 활성은 IL-4R α 가 감마 사슬 (또는 IL-13R α) 및 연관된 가용성 리간드들, 예를 들어 IL-4 또는 IL-13와의 신호전달 복합체 형성을 방지하여 매개되는 듯하다.

[0030] IL-4R α 를 포함하는 수용체 복합체를 통한 IL-4 또는 IL-13 신호전달의 증화는 IL-4 또는 IL-13 자극된 TF-1 세포 증식을 억제하여 측정할 수 있다.

[0031] 본 발명의 항체가 결합하는 인간 IL4R α 의 에피토프는 돌연변이유발법 및 도메인 스와핑법의 조합을 통해 위치를 알아내었다. 전체 도메인 스와핑된 키메라는 에피토프가 인간 IL4R α 의 도메인 1(D1)(잔기 M1-E119)에 위치하였다. 인간 IL-4R α 는 5개의 루프 영역을 포함하며, 이들은 결정 구조에서 IL-4에 매우 근접하여 존재한다 (Hage et al., *Cell* 97:271-281, 1999). 루프 스와핑된 키메라는 본 발명의 항체가 결합하는 인간 IL-4R α 에피토프의 위치가 루프 3의 주요 성분(잔기 L89-N98) 및 루프 2의 주요 성분(잔기 V65-H72)에 존재한다는 것을 더 밝혀내었다. 인간 루프 3이 없는 키메라는 항체와 인간 IL-4R α 의 결합을 억제하는데 실패하였으며, 루프 2가 없는 키메라는 IC₅₀가 인간 IL-4R α 보다 100배 높게 주어졌다(표 5). 도메인 스와핑 데이터와 일관되게, 루프 2 및 루프 3은 도메인 1(D1)에 존재하였다(Hage et al., *Cell* 97:271-281, 1999).

[0032] 항체 에피토프는 인간 IL-4R α 의 2 루프 영역내에서 18 아미노산의 비연속적인 에피토프에 위치하였다; V65-H72 and L89-N98. 이 에피토프는 또한 루프 2의 아미노산 잔기 L67과 L68, 및 루프 3의 D92와 V93에 존재할 수도 있다(잔기 67, 68, 92 및 93의 위치는 서열 번호 454 또는 460 참조). D92 잔기가 가장 중요하고, 그 다음으로는 V93인데, 테스트한 항체는 루프 2의 L67 및/또는 L68 잔기가 결여된 키메라 IL-4R α 에 여전히 결합할 수 있었다. 물론, 본 발명의 항체는 L67, L68, D92 및 V93 중 하나 이외에도 인간 IL-4R α 단백질의 잔기들에도 결합할 수 있다.

[0033] 본 발명의 일 측면에 따르면, 서열 번호 460에 따르는, 위치 67, 68, 92 및 93에서의 아미노산에서 선택된 1 이상의 아미노산 잔기에서 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 결합할 수 있는 단리된 결합 구성원을 제공한다. 본 발명의 일 측면에 따르면, 천연 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)의, 서열 번호 460 내 위치에 따른 아미노산 잔기 67, 68, 92 및 93 중 1 이상에 결합할 수 있는 단리된 결합 구성원을 제공한다. 특정 구체예에서, 단리된 결합 구성원은 서열 번호 460의 위치에 따라, hIL-4R α 의 92 위치에서의 아미노산에 결합할 수 있다. 다른 구체예에서, 단리된 결합 구성원은 D92, 및 L67, L68 및 V93에서 선택된 1 이상의 다른 잔기에 결합할 수 있다. 다른 구체예에서, 단리된 결합 구성원은 D92 및 V93에 결합할 수 있다. 다른 구체예에서, 단리된 결합 구성원은 D92, V93, 그리고 L67 또는 L68 중 하나에 결합할 수 있다. 다른 구체예에서, 항체는 L67, L68, D92 및 V93의 각각에 결합할 수 있다. 이들 구체예 각각은 그 위치를 서열 번호 460에 나타낸 hIL-4R α 아미노산 서열(위치 1 부터 229까지)에 따라 식별할 수 있는 hIL-4R α 의 아미노산 위치로 언급되어 있다. 일 구체예에서, 결합 구성원은 전체 길이 hIL-4R α 의 열거된 에피토프 잔기(즉 위치 67,68, 92 및 93 중 1 이상)에 결합할 수 있다. 일 구체예에서, 결합 구성원은 세포 표면 상에 발현되는 천연 hIL-4R α 의 열거된 에피토프 잔기(즉, 위치 67, 68, 92 및 93 중 1 이상)에 결합할 수 있다. 일 구체예에서, 결합 구성원은 재조합 발현된 전체 길이 (229 아미노산) hIL-4R α 의 열거된 에피토프 잔기(즉, 위치 67,68, 92 및 93 중 1 이상)에 결합할 수 있다.

[0034] 본 발명의 추가 측면에 따르면, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 결합할 수 있는 단리된 결합 구성원을 제공한다. 특정 구체예에서, 결합 구성원은 인간 항체이다. 추가 구체예에서, 결합 구성원은 또한 사이노몰거스 원숭이 인터루킨-4 수용체 α (cyIL-4R α)에 결합할 수 있다.

[0035] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하고, 여기서 결합 구성원은 18pM 가용성 인간 IL-4 단백질을 사용하는 TF-1 증식 분석시 인간 IL-4(hIL-4) 유도된 세포 증식 억제에 대한 IC₅₀ 기하평균이 50 pM 이하이고, 또한 cyIL-4R α 에 결합할 수 있다.

[0036] 본 발명의 이러한 측면에 대한 특정 구체예에서, 결합 구성원은 18pM의 가용성 인간 IL-4를 사용하는 TF-1 증식 분석에서, 인간 IL-4 (hIL-4) 유도된 세포 증식 억제에 대한 IC₅₀ 기하평균이 50 pM 이하, 35 pM 이하, 25 pM 이하, 또는 20 pM 이하이다. 특정 구체예에서, 본 발명의 결합 구성원은 본 명세서에 기술되거나(예를 들어 실시예 3.2.1) 또는 당분야의 숙련가에게 공지된 방법으로 18 pM의 가용성 인간 IL-4를 사용시, 인간 IL-4(hIL-4) 유도된 세포 증식 억제에 대한 IC₅₀ 기하평균이 1~50 pM, 1~35 pM, 2~30 pM, 2~25 pM, 2~12 pM이다.

[0037] cyIL-4R α 와의 결합은 임의의 적절한 수단으로 측정할 수 있다.

- [0038] 유사하게, 본 발명의 범주 내에 속하는 결합 구성원은 400 pM의 가용성 인간 IL-13(hIL-13)을 사용시, 인간 IL-13 (hIL-13)-매개된 TF-1 증식 억제(hIL-4R α의 중화에 의한)에 대한 IC₅₀ 기하평균이 200 pM 이하였다. 구체적으로, 400 pM의 가용성 인간 IL-13(hIL-13)을 사용한 IL-13(hIL-13)-매개된 TF-1 증식 억제(hIL-4R α의 중화에 의한)에 대한 IC₅₀ 기하평균이 5~75 pM 또는 5~45 pM이다.
- [0039] 특정 구체예에서, 본 발명의 결합 구성원은 실질적으로 쥐와 동물 IL-4R α에 결합할 수 없다. 이를 통해서, 본 발명자들은 본 발명의 결합 구성원은 500배 이상(예컨대 500배 이상, 1000배 이상, 1500배 이상, 2000배 이상, 3000배 이상, 4000배 이상) 높은 결합력으로 쥐와 동물 IL-4R α 보다 인간 인터루킨-4 수용체 α에 결합할 수 있다(즉, 쥐와 동물 IL-4R α와의 결합력은 인간 IL-4R α와의 결합력 보다 500 이상 약하다). 이는 예를 들어, 실시예 5.1.2에 개시된 바와 같은 HTRF 경쟁 분석법으로 측정할 수 있다.
- [0040] 본 명세서에서 사용되는 기하평균(또한 상승 평균이라고도 함)은 기수 10으로 다시 전환되는, 데이터 세트의 로그값의 평균을 의미한다. 기하평균은 2 이상의 측정값, 예를 들어 2 이상, 바람직하게는 5 이상, 보다 바람직하게는 10 이상의 반복값이 존재하는 것을 필요로 한다. 당분야의 숙련가는 반복값의 수가 많을 수록, 보다 확고한 기하평균 값이 된다는 것을 이해할 것이다. 반복 수의 선택은 당분야의 숙련가가 판단할 수 있다.
- [0041] 생물학적 활성의 억제는 부분적이거나 또는 전체적일 수 있다. 특정 구체예에서, 결합 구성원 부재시 활성의 95% 이상, 90% 이상, 85% 이상, 80% 이상, 75% 이상, 70% 이상, 60% 이상, 또는 50% 이상으로 IL-4R α의 생물학적 활성을 억제하는 결합 구성원을 제공한다. 결합 구성원이 IL-4R α를 중화하는 정도를 중화 역가라고 한다. 역가는 당분야의 숙련가에게 공지되고/되거나 본 명세서에 기술하거나 언급한 1 이상의 분석법을 사용하여 결정하거나 측정할 수 있다. 예를 들어, 역가는 하기의 방법으로 분석할 수 있다:
- [0042] - 형광성(예를 들어, HTRF 또는 DELFIA) 또는 방사능 형식의 수용체-리간드 결합 분석법
- [0043] - 형광성(예를 들어, HTRF 또는 DELFIA) 에피토프 경쟁 분석법
- [0044] - 인간 또는 사이노몰거스 PMBC의 STAT6 인산화, TF-1 세포의 증식, 인간 또는 사이노몰거스 섬유아세포주로부터의 에오타신 방출, 인간 내피 혈관 세포 상에서 VCAM-1 상향조절 또는 인간 T-세포의 증식을 포함하는 세포-기반 기능 분석법.
- [0045] 이들 분석 방법 중 일부가 또한 실시예에 기술되어 있다.
- [0046] 제1 종(예를 들어, 인간) 유래 IL-4R α를 사용하는 분석법에서 산출된 결합 구성원의 중화 역가를 제2 종(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이) 유래 IL-4R α를 사용하는 동일 분석에서의 결합 구성원의 중화 역가와 비교하여, 2 종의 IL-4R α에 대한 결합 구성원의 교차 반응성 정도를 평가할 수 있다. 다른 종에서 유래하는 인가 표적 및 유사 표적 둘 모두에 결합하는, 결합 구성원, 예를 들어 항체 또는 항체 단편이 존재하는 것은 상당한 장점을 갖는다. 핵심적인 장점은 다른 종에서 수행되어야 할 필요가 있는 안정성 실험(예를 들어, 독성) 및 치료 생성물로서 결합 구성원을 진척시키는 경우에 비롯된다. 예를 들어, 인간 활성과 10배 이하로 차이가 나는, 다른 종에 대한 친화성 또는 역가가 이러한 평가에 적합할 수 있다.
- [0047] 인간 및 "다른 종"(예를 들어, 사이노몰거스 원숭이) IL-4R α에 대한 본 발명의 결합 구성원의 결합 비율을 측정하는 다양한 방법이 존재한다. 한 방법으로서, 실시예 4.3에서 사용한 바와 같은 수용체-리간드 결합 분석법이 있다.
- [0048] 본 발명의 결합 구성원의 특정 구체예에 따르면, 수용체-리간드 결합 분석법을 사용하여 측정된 hIL-4R α 및 cyIL-4R α에 대한, scFc로서 결합 구성원의 결합 비율은 6:1 이상이다. 본 명세서에서 사용하는 6:1 "이상"은, 2:1, 1:1 보다는 8:1, 10:1 등을 포함하는 것이다.
- [0049] 본 발명의 결합 구성원은 인간 IL-4R α 및 사이노몰거스 원숭이 IL-4R α에 결합하고, 실시예 4.3에서와 같이, 결합 구성원이 scFv 포맷이고, 수용체-리간드 결합 분석법으로 측정시, 인간 및 사이노몰거스 IL-4R α를 중화하기 위한 역가는 250배 이하, 예를 들어 150배 이하, 100배 이하, 75배 이하, 50배 이하, 25배 이하, 20배 이하, 15배 이하, 10배 이하로 다르다.
- [0050] 예를 들어, 본 명세서에서의 데이터는, 항체 번호 2, 4-8, 12, 16, 19, 20, 22, 23, 24, 26, 28, 32, 33, 34, 37 및 37GL이 예를 들어, 본 명세서에 기술한 수용체-리간드 결합 분석에서, scFv 포맷인 경우, 각각 인간 및 사이노몰거스 IL-4R α를 중화시키기 위한 역가의 편차는 25배 또는 그 이하라는 것을 보여주었다. 데이터는 표 1 및 실시예 4.3에 나타내었다. 따라서, 일부 구체예에서, 수용체-리간드 결합 분석법을 사용하여 측정된 인간

및 사이노몰거스 IL-4R α 에 대한 본 발명의 결합 구성원(scFv 포맷인 경우)의 중화 역가는 25배 이내이다. 인간 및 사이노몰거스 IL-4R α 에 대한 중화 역가가 10배 또는 그 이하로 나타나는 본 명세서에 기술된 항체의 특정 예는 항체 번호 2, 4, 5, 20 및 22를 포함한다. 일 구체예에서, 인간 및 사이노몰거스 IL-4R α 에 대한 본 발명의 결합 구성원의 중화 역가는 210배 이내이며; 즉, 인간 IL-4R α 와의 결합은 사이노몰거스 IL-4R α 에 대한 결합 보다 210배를 넘지 않는다. 다른 구체예에서, 상기 중화 역가는 5:1~210:1, 예컨대 5:1~100:1이다.

[0051] 기능성 세포-기반 분석에서, 역가는 달리 언급하지 않으면, nM 단위의, IC₅₀ 값으로 표시된다. 기능성 분석에서, IC₅₀는 이의 최대 반응의 50%로 생물학적(또는 생화학적) 반응을 감소시키는 결합 구성원의 몰 농도이다. IC₅₀은 결합 구성원 농도의 로그값에 대하여 최대 생물학적 반응 비율(%)을 그래프화하고, 소프트웨어 프로그램 예컨대 Prism(GraphPad) 또는 Origin(Origin Labs)을 사용하여 상기 데이터에 S형 함수를 일치시켜 IC₅₀ 값을 산출해서 계산할 수 있다.

[0052] 수용체-리간드 결합 분석에 대해, 역가는 보통 Ki(억제 상수)로서 나타내는데, 이는 표지화한 리간드가 존재하지 않는 경우 수용체의 50%를 차지하는 결합 구성원의 농도이다. IC₅₀는 리간드 농도에 의존적으로 실험간에 다양할 수 있지만, Ki는 Cheng Prusoff 방정식으로 산출된 절대값이다.

[0053] 본 발명의 결합 구성원은 본 명세서에서 기술한 바와 같은 인간 IL-4R α HTRF? 분석에서 최대 5 nM의 Ki 또는 중화 역가를 가질 수 있다. 이 분석법은 scFv 포맷의 결합 구성원에 대한 Ki를 결정하는데 사용될 수 있다. Ki는 예를 들어 최대 5.0, 4.0, 3.0, 2.0, 1.0, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05, 또는 0.02 nM일 수 있다. Ki 데이터의 예는 실시예 4.3(표 1 참조)에 나타내었는데, 여기서 0.125 nM 인간 IL-4R α 및 2 nM IL-4의 최종 농도를 HTRF? 수용체-리간드 결합 분석에서 사용하며 구체적인 방법을 제공한다.

[0054] 부가적으로, IL-4R α 에 대한 IL-4R α 결합 구성원의 결합 동역학 및 친화성(평형 해리 상수, KD로 표시함)은 예를 들어, 표면 플라스몬 공명 예컨대 BIAcore?를 사용하여 결정하거나, 또는 Kd는 pA₂ 분석으로 평가할 수 있다.

[0055] 표면 플라스몬 공명은 표적에 대한 결합 구성원의 친화성을 측정하는데 충분하게 확립된 기법이다. 이 기법은 지지체에 부착된 리간드 상에 유체상의 분석물을 통과시키고, 리간드와 분석물간의 결합력을 측정하는 것을 포함한다. 표면 플라스몬 공명은 예를 들어 유체상의 제조항 IL-4R α 를 지지체에 부착된 결합 구성원 상으로 통과시켜서 수행된다. 표면 플라스몬 공명 데이터를 2가 분석물 데이터 모델 또는 1가 분석물 데이터 모델에 일치시킬 수 있다. 본 명세서의 실시예에 도시한 바와 같이, 1가 분석물 데이터 모델은 IL-4R α 에 대한 결합 구성원의 친화성을 결정하는데 특히 적절한 것으로 확인되었다. 친화성 상수 Kd는 1:1 랑뮈어 결합 모델을 사용하는 표면 플라스몬 공명을 통해 측정되는 속도 상수 kd1/ka1의 비율로부터 산출할 수 있다.

[0056] 표면 플라스몬 공명을 사용하여 산출된 IL-4R α 와의 결합에 대해 평가된 KD 값의 예는 실시예 4.7(표 4 참조)에 나타내었다. 이러한 데이터는 제조항 생성된 인간 및 사이노몰거스 IL-4R α 에 대한 항체 37GL의 우수한 결합 특성을 증명해 주었다. HEK-EBNA 세포 유래의 IL-4R α 에 대한 결합은 항체가 천연 글리코실화 인간 IL-4R α 에 결합한다는 것을 보여준다. 항체 37GL이 천연 글리코실화 인간 IL-4R α 형태에 결합하기 때문에 모든 항체들이 단일 모항체(항체 1)에서 유래된 것이고 따라서, IL-4R α 의 동일하거나 또는 고도로 유사한 에피토프에 모두 결합할 것이라고 여겨지는 조건에서, 본 명세서에 기술된 모든 항체(예를 들어, 항체 1 내지 42)가 천연 글리코실화 인간 IL-4R α 에 결합한다는 것을 예측할 수 있다.

[0057] 따라서, 특정 구체예에 따라서, 본 발명의 결합 구성원은 글리코실화된 hIL-4R α 에 결합할 수 있다.

[0058] 실시예 4.7 및 표 4에 설명한 바와 같이, 인간 및 사이노몰거스 IL-4R α 와 결합에서 우수한 교차 반응성은 항체 1에서 유래하는 대표적인 항체 패널에 대한 표면 플라스몬 공명을 통해 확인하였다.

[0059] 본 발명의 결합 구성원은 경우에 따라 다른 구조적으로 관련된 분자(예를 들어, 다른 인터루킨 수용체) 보다 IL-4R α 에 특이적일 수 있고, 따라서 선택적으로 IL-4R α 와 결합한다. 예를 들어, 본 발명의 결합 구성원은 임의의 IL-13R α 1 또는 IL-13R α 2 및 공통 감마 사슬(γ c)과 교차 반응하지 않는다. 이는 예를 들어, 실시예 4.6에서 예시한 바와 같은 DELFIA? 에피토프 경쟁 분석에서 결정하거나 또는 증명할 수 있다.

[0060] 본 발명의 결합 구성원은 항체 분자, 예를 들어 인간 항체 분자를 포함할 수 있다. 결합 구성원은 항체 VH 및/또는 VL 도메인을 포함할 수 있다. 결합 구성원의 VH 도메인은 또한 본 발명의 일부로서 제공된다. 각각의 VH 및 VL 도메인 내에 상보성 결정 영역("CDR"), 및 프레임워크 영역("FR")이 존재한다. VH 도메인은 HCDR 세트를

포함하고, VL 도메인은 LCDR 세트를 포함한다. 항체 분자는 VH CDR1, CDR2 및 CDR3를 포함하는 항체 VH 도메인 및 프레임워크를 포함할 수 있다. 다르게 또는 마찬가지로 VL CDR1, CDR2 및 CDR3를 포함하는 항체 VL 도메인 및 프레임워크를 포함할 수 있다. VH 또는 VL 도메인 프레임워크는 4 프레임워크 영역, FR1, FR2, FR3 및 FR4를 포함하는데, 이는 다음의 구조로 CDR과 산재되어 있다:

[0061] FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4.

[0062] 본 발명에 따른 VH 및 VL 도메인, FR 및 CDR의 예는 본 발명의 개시 내용의 일부를 형성하는 부속된 서열 목록에 열거되어 있다. 본 명세서에 개시된 모든 VH 및 VL 서열, CDR 서열, CDR 세트 및 HCDR 세트 및 LCDR 세트는 본 발명의 측면 및 구체예를 대표한다. 본 명세서에 기술된, "CDR 세트"는 CDR1, CDR2 및 CDR3를 포함한다. 따라서, HCDR 세트는 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3를 의미하고, LCDR 세트는 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 의미한다. 달리 언급하지 않으면, "CDR의 전체 세트"는 HCDR 및 LCDR을 포함한다. 대체로, 본 발명의 결합 구성원은 단일클론 항체이다.

[0063] 본 발명의 추가 측면은 첨부된 서열 목록에 나타난 임의의 항체 1 내지 42의 VH 도메인과 아미노산 서열 동일성이 적어도 75, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99%인 VH 도메인을 포함하고/하거나, 첨부된 서열 목록에서 나타난 임의의 항체 1 내지 42의 VL 도메인과 아미노산 서열 동일성이 적어도 75, 80, 85, 90, 95, 98 또는 99%인 VL 도메인을 포함하는 항체 분자이다. Accelrys의 "Mac벡터™" 프로그램을 사용하여 2 아미노산 서열의 서열 동일성 비율(%)을 계산할 수 있다.

[0064] 본 발명의 결합 구성원은 이하에 구체적으로 설명된 바와 같이, 비항체 단백질 스캐폴드에, 보통 1 이상의 CDR, 예를 들어 HCDR3 및/또는 LCDR3, 또는 CDR 세트로 제공되는, 비항체 분자 내 항원 결합 부위를 포함할 수 있다.

[0065] 실험 섹션에서 상세히 설명한 바와 같이, 발명자들은 도 1(VH 도메인) 및 2(VL 도메인)에 도시한 바와 같이, CDR 서열 세트를 갖는 모 항체 분자(항체 1)를 단리하였다. 최적화 과정을 통해서, 도 1(VH 도메인) 및 도 2(VL 도메인)에 표시된 위치에 치환을 가지고, 모 CDR3 서열에서 유래된 CDR3 서열을 갖는, 2 내지 20번으로 번호화한 항체를 포함하여, 항체 클론 패넌을 생성시켰다. 따라서, 예를 들어 도 1(a 및 b)에 도시한 바와 같이, 항체 2는 모 HCDR1, HCDR2, LCDR1 및 LCDR2 서열을 가지며, 카바트 잔기 95는 Q로 치환되고, 카바트 잔기 95A, 95B 및 96은 각각 P로 치환되며, 카바트 잔기 97은 L로 치환되는 모 LCDR3 서열을 가지고; 카바트 잔기 101이 Y로 치환되고 카바트 잔기 102는 N으로 치환된 모 HCDR3 서열을 갖는다.

[0066] 본 명세서에 기술된 바와 같이, 모 항체 분자, 및 항체 분자 2 내지 20번은 각각 모 항체 분자의 CDR을 갖는 항체 분자, 및 항체 분자 2 내지 20번의 CDR을 갖는 항체 분자를 의미한다. 추가적인 최적화 과정을 통해서, 발명자들은 VH 및 VL 도메인 전체에 걸쳐 추가적인 치환을 갖는, 21-42번으로 번호화된 항체 클론의 패넌을 생성시켰다. 따라서, 예를 들어 항체 21은 항체 20과 동일한 LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, 및 HCDR3를 갖는다. 이는 카바트 잔기 57이 A로 치환되고, 카바트 잔기 85 및 87(LFW3에서)이 각각 V 및 F로 치환된 항체 20의 모 HCDR2 서열을 갖는다.

[0067] 본 발명에서는 도 3(VH) 및 도 4(VL)에 도시된 바와 같은 항체 20 CDR 세트를 포함하는 기준 결합 구성원을 기술하고 있으며, 여기서 HCDR1은 서열 번호 193(카바트 잔기 31-35)이고, HCDR2는 서열 번호 194(카바트 잔기 50-65)이며, HCDR3은 서열 번호 195(카바트 잔기 95-102)이고, LCDR1은 서열 번호 198(카바트 잔기 24-34)이며, LCDR2는 서열 번호 199(카바트 잔기 50-56)이고 LCDR3은 서열 번호 200(카바트 잔기 89-97)이다. 추가적인 결합 구성원은 기준 결합 구성원의 서열과 관련지어 설명할 수 있다.

[0068] 본 발명의 결합 구성원은 본 명세서에 기술한 바와 같이 1 이상의 CDR(즉, 1 이상, 2 이상, 3 이상, 4 이상, 5 이상 및 6 이상), 예를 들어 CDR3, 및 경우에 따라 또한 CDR1 및 CDR2를 포함하여 CDR 세트를 형성할 수 있다. CDR 또는 CDR 세트는 모 CDR 또는 모 CDR 세트일 수 있거나, 또는 CDR, 또는 임의의 항체 2 내지 42의 CDR 세트일 수 있거나, 또는 이의 변이체일 수 있다.

[0069] 예를 들어, 본 발명에 따른 결합 구성원 또는 VL 도메인은 카바트 잔기 92-97 중 1 이상이 다른 아미노산으로 치환된 기준 LCDR3을 포함할 수 있다. 예시적인 치환은 하기의 예들을 포함한다:

[0070] 카바트 잔기 92는 Phe (F), Val (V) 또는 Ala (A)로 치환;

[0071] 카바트 잔기 93은 Gly (G) 또는 Ser (S)로 치환;

[0072] 카바트 잔기 94는 Thr (T)로 치환;

- [0073] 카뱃 잔기 95는 Leu (L), Gln (Q), Pro (P) 또는 Ser (S)로 치환;
- [0074] 카뱃 잔기 95a는 Ser (S), Prol (P), Ala (A), Thr (T), His (H) 또는 Gly (G)로 치환;
- [0075] 카뱃 잔기 95b는 Ala (A), Pro (P), Ser (S), Tyr (Y), Met (M), Leu (L), Thr (T), Arg (R) 또는 Asp (D)로 치환;
- [0076] 카뱃 잔기 95c는 Asn (N), Gln (Q), His (H), Tyr (Y), Thr (T), Ile (I), Lys (K), Arg (R) 또는 Met (M)로 치환;
- [0077] 카뱃 잔기 96은 Tyr (Y) 또는 Pro (P)로 치환;
- [0078] 카뱃 잔기 97은 Val (V), Leu (L) 또는 Ile (I)로 치환.
- [0079] 결합 구성원 또는 VH 도메인은 카뱃 잔기 97-102 중 1 이상이 다른 아미노산으로 치환된 기준 HCDR3을 포함할 수 있다. 예시적인 치환은 다음의 예를 포함한다:
- [0080] 카뱃 잔기 97은 Trp (W) 또는 Leu (L)로 치환;
- [0081] 카뱃 잔기 98은 Leu (L)로 치환;
- [0082] 카뱃 잔기 99는 Leu (L), Lys (K), Phe (F) 또는 Trp (W)로 치환;
- [0083] 카뱃 잔기 101은 Asp (D), Asn (N) 또는 Gln (Q)로 치환;
- [0084] 카뱃 잔기 102는 Tyr (Y), Asn (N), Pro (P) 또는 His (H)로 치환.
- [0085] 본 발명의 결합 구성원은 임의의 항체 1 내지 42의 HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3, 및/또는 임의의 항체 1 내지 42의 LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3, 예를 들어 도 1 또는 2에 도시한 임의의 항체 1 내지 42의 CDR 세트를 포함할 수 있다. 결합 구성원은 이들 항체 중 하나의 VH CDR 세트를 포함할 수 있다. 경우에 따라, 또한 이들 항체 중 하나의 VL CDR 세트를 포함할 수 있고, VL CDR은 VH CDR과 동일하거나 또는 상이한 항체로부터 유래된 것일 수 있다. 임의의 항체 1 내지 42의 HCDR 세트를 포함하는 VH 도메인, 및/또는 임의의 항체 1 내지 42의 LCDR 세트를 포함하는 VL 도메인도 역시 본 발명의 개별 구체예이다.
- [0086] 대체로, VH 도메인은 VL 도메인과 쌍을 이루어 항체 항원 결합 부위를 제공하지만, 이하에 추가적으로 설명하는 바와 같이, VH 또는 VL 도메인은 단독으로 사용되어 항원에 결합될 수 있다. 일 구체예에서, 항체 1 VH 도메인은 항체 1 VL 도메인과 쌍을 이루고, 그에 따라 항체 항원 결합 부위는 항체 1 VH 및 VL 도메인 둘 모두를 포함하여 형성된다. 본 명세서에 기술된 바와 같이, 유사한 구체예가 다른 VH 및 VL 도메인을 제공한다. 다른 구체예에서, 항체 1 VH는 항체 1 VL 이외의 VL 도메인과 쌍을 이룬다. 경쇄의 무작위 혼합법(promiscuity)은 당분야에서 확립되어 있다. 다시, 유사한 구체예가 본 명세서에 개시된 다른 VH 및 VL 도메인에 대해 본 발명에서 제공된다. 따라서, 모 항체(항체 1) 또는 임의의 항체 2 내지 42의 VH는 모 항체 또는 임의의 항체 2 내지 42의 VL과 쌍을 이룰 수 있다.
- [0087] 본 발명의 일 측면은 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체이고, 여기서 VH 도메인은 도 1 또는 도 3에 개시된 서열을 포함한다.
- [0088] 본 발명의 다른 측면은 VH 및 VL 도메인을 포함하는 항체이고, 여기서 VL 도메인은 도 2 또는 4에 개시된 서열을 포함한다.
- [0089] 본 발명의 다른 측면은 서열 번호 362, 442, 232, 422 또는 432에 나타낸 VH 도메인 아미노산 서열을 갖는 VH 도메인, 및 서열 번호: 367, 237, 447, 437 또는 427에 나타낸 VL 도메인 아미노산 서열을 갖는 VL 도메인을 포함하는 단리된 항체 분자이다.
- [0090] 결합 구성원은 개시된 H 및/또는 L CDR 세트 내에 12 또는 10 또는 9 또는 그 이하, 예를 들어 1, 2, 3, 4 또는 5 치환을 갖는 임의의 항체 2 내지 42 또는 모 항체의 H 및/또는 L CDR의 세트를 포함할 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 결합 구성원은 12 또는 그 이하의 치환, 예를 들어 7 또는 그 이하의 치환, 예를 들어 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6 치환을 갖는 H 및/또는 L CDR의 항체 16 또는 항체 20 세트를 포함할 수 있다. 치환은 가능하게는 CDR 세트 내 임의의 잔기에서 발생될 수 있고, CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 내에서 일어날 수 있다.
- [0091] 따라서, 본 발명의 일 측면에 따라, CDR 세트: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하며, 여기서 CDR 세트는 기준 CDR 세트로부터

터 12 또는 그 이하의 아미노산이 변경된 것이고, 기준 CDR 세트는 다음과 같다:

- [0092] HCDR1은 서열 번호 153의 아미노산 서열을 가지고;
- [0093] HCDR2는 서열 번호 154의 아미노산 서열을 가지며;
- [0094] HCDR3은 서열 번호 155의 아미노산 서열을 가지며;
- [0095] LCDR1은 서열 번호 158의 아미노산 서열을 가지며;
- [0096] LCDR2는 서열 번호 159의 아미노산 서열을 가지고;
- [0097] LCDR3은 서열 번호 160의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0098] 이러한 예에서 기준 항체는 항체 16이다.
- [0099] 단리된 결합 구성원은 기준 CDR 세트로부터 10 또는 그 이하, 8 또는 그 이하, 7 또는 그 이하, 예를 들어 6, 5, 4, 3, 2, 1 또는 0 아미노산이 변경된 것이다. 구체적으로 변경은 아미노산 치환이다.
- [0100] 본 발명의 다른 측면에 따라서, CDR 세트: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하고, 여기서 CDR 세트는 기준 CDR 세트로부터 12 또는 그 이하의 아미노산이 변경된 것이고, 여기서 기준 CDR 세트는 다음과 같다:
- [0101] HCDR1은 서열 번호 193의 아미노산 서열을 가지고;
- [0102] HCDR2는 서열 번호 194의 아미노산 서열을 가지며;
- [0103] HCDR3은 서열 번호 195의 아미노산 서열을 가지며;
- [0104] LCDR1은 서열 번호 198의 아미노산 서열을 가지며;
- [0105] LCDR2는 서열 번호 199의 아미노산 서열을 가지고;
- [0106] LCDR3은 서열 번호 200의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0107] 이 예에서 기준 항체는 항체 20이다.
- [0108] 단리된 결합 구성원은 기준 CDR 세트로부터 10 또는 그 이하, 8 또는 그 이하, 7 또는 그 이하, 예를 들어 6, 5, 4, 3, 2, 1 또는 0 아미노산이 변경된 것이다. 구체적으로 변경은 아미노산 치환이다. 특정 구체예에서, 단리된 결합 구성원은 상기 동정된 기준 CDR 세트로부터 4 또는 그 이하의 아미노산이 치환된 것이다.
- [0109] 본 발명의 다른 측면에 따라, CDR 세트: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하며, 여기서 CDR 세트는 기준 CDR 세트로부터 6 또는 그 이하의 아미노산이 변경된 것이고, 기준 CDR 세트는 다음과 같다:
- [0110] HCDR1은 서열 번호 363의 아미노산 서열을 가지며;
- [0111] HCDR2는 서열 번호 364의 아미노산 서열을 가지고;
- [0112] HCDR3은 서열 번호 365의 아미노산 서열을 가지며;
- [0113] LCDR1은 서열 번호 368의 아미노산 서열을 가지며;
- [0114] LCDR2는 서열 번호 369의 아미노산 서열을 가지며;
- [0115] LCDR3은 서열 번호 370의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0116] 이러한 예에서 기준 항체는 항체 37이다.
- [0117] 치환은 CDR3 내에, 예를 들어 도 1 또는 3(VH 도메인) 및 도 2 또는 4(VL 도메인)에 도시한 바와 같이, 임의의 항체 2 내지 42에서 치환되는 위치에서 존재할 수 있다. 따라서, 1 이상의 치환은 하기 잔기에서 1 이상의 치환을 포함할 수 있다:
- [0118] HCDR3에서 카바트 잔기 97, 98, 99, 101 또는 102; 또는
- [0119] LCDR3에서 카바트 잔기 92, 93, 94, 95, 95A, 95B, 95C, 96 또는 97.
- [0120] 따라서, CDR3은 예를 들어, 카바트 잔기 92, 93, 94, 95, 95A, 95B, 95C, 96 또는 97에서 1 이상이 치환된 기준

LCDR3 일 수 있다.

- [0121] 모/기준 CDR 내 치환의 예는 본 명세서의 다른 부분에 기술되어 있다. 기술된 바와 같이, 치환은 도 1 내지 4에 도시한 바와 같은 1 이상의 치환을 포함할 수 있다.
- [0122] 본 발명의 결합 구성원은 기준 항체 20, 또는 하기 치환 중 1 이상을 갖는 HCDR1, HCDR2 및/또는 HCDR3을 포함할 수 있다:
- [0123] 카뱃 잔기 53이 Arg (R)인 HCDR2;
- [0124] 카뱃 잔기 57이 Ala (A)인 HCDR2;
- [0125] 카뱃 잔기 97은 Trp (W) 또는 Leu (L); 카뱃 잔기 98은 Leu; 카뱃 잔기 99는 Leu (L), Lys (K) 또는 Trp (W); 카뱃 잔기 101은 Asn (N) 또는 Gln (Q); 및/또는 카뱃 잔기 102는 Tyr (Y), Asn (N), Pro (P) 또는 His (H)인 HCDR3.
- [0126] 본 발명의 결합 구성원은 기준 항체 20, 또는 하기 치환 중 1 이상을 갖는 LCDR1, LCDR2 및/또는 LCDR3을 포함할 수 있다:
- [0127] 카뱃 잔기 27이 Gly (G); 카뱃 잔기 27A가 Thr (T); 카뱃 잔기 27B가 Ser (S); 카뱃 잔기 31이 Asn (N)인 LCDR1;
- [0128] 카뱃 잔기 56이 Pro (P)인 LCDR2;
- [0129] 카뱃 잔기 92가 Phe (F), Val (V) 또는 Ala (A); 카뱃 잔기 93이 Gly (G) 또는 Ser (S); 카뱃 잔기 94가 Thr (T); 카뱃 잔기 95가 Leu (L), Gln (Q), Pro (P) 또는 Ser (S); 카뱃 잔기 95A가 Ser (S), Pro (P), Ala (A), Thr (T), His (H) 또는 Gly (G); 카뱃 잔기 95B가 Ala (A), Pro (P), Ser (S), Tyr (Y), Met (M), Leu (L), Thr (T), Asp (D) 또는 Arg (R); 카뱃 잔기 95C가 Asn (N), Gln (Q), His (H), Tyr (Y), Ile (I), Lys (K), Arg (R), Thr (T) 또는 Met (M); 카뱃 잔기 96이 Tyr (Y) 또는 Pro (P); 및/또는 카뱃 잔기 97이 Val (V), Leu (L) 또는 Ile (I)인 LCDR3.
- [0130] 특정 구체예에서, 항체 20 서열에 대해서, HCDR2의 카뱃 잔기 53은 Arg (R)로 치환되고/되거나, HCDR2의 카뱃 잔기 57은 Ala (A)로 치환되고/되거나, LCDR1의 카뱃 잔기 27은 Gly (G)로 치환되고/되거나, LCDR1의 카뱃 잔기 27B는 Ser (S)로 치환되고/되거나, LCDR3의 카뱃 잔기 95는 Pro (P)로 치환된다.
- [0131] 본 발명의 특정 측면에 따라서, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하고, 여기서
- [0132] HCDR1은 서열 번호 363의 아미노산 서열을 가지며;
- [0133] HCDR2는 서열 번호 364의 아미노산 서열을 가지며;
- [0134] HCDR3은 서열 번호 365의 아미노산 서열을 가지고;
- [0135] LCDR1은 서열 번호 368의 아미노산 서열을 가지고;
- [0136] LCDR2는 서열 번호 369의 아미노산 서열을 가지며;
- [0137] LCDR3은 서열 번호 370의 아미노산 서열을 갖는다.
- [0138] 본 발명의 다른 특정 측면에 따라서, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하고, 여기서
- [0139] HCDR1은 서열 번호 233의 아미노산 서열을 가지고;
- [0140] HCDR2는 서열 번호 234의 아미노산 서열을 가지며;
- [0141] HCDR3은 서열 번호 235의 아미노산 서열을 가지며;
- [0142] LCDR1은 서열 번호 238의 아미노산 서열을 가지며;
- [0143] LCDR2는 서열 번호 239의 아미노산 서열을 가지고;
- [0144] LCDR3은 서열 번호 240의 아미노산 서열을 갖는다.

- [0145] 본 발명의 결합 구성원에서,
- [0146] HCDR1은 카바트 잔기 31-35로 구성되는, 5 아미노산 길이일 수 있고;
- [0147] HCDR2는 카바트 잔기 50-65로 구성되는, 17 아미노산 길이일 수 있으며;
- [0148] HCDR3은 카바트 잔기 95-102로 구성되는, 9 아미노산 길이일 수 있으며;
- [0149] LCDR1은 카바트 잔기 24-34로 구성되는, 13 아미노산 길이일 수 있고;
- [0150] LCDR2는 카바트 잔기 50-56로 구성되는, 7 아미노산 길이일 수 있고/있거나,
- [0151] LCDR3은 카바트 잔기 89-97로 구성되는, 9 아미노산 길이일 수 있다.
- [0152] HCDR 및 LCDR 세트의 카바트 번호화에 있어서, 도 1 및 3에 도시한 바와 같이, HCDR1은 카바트 잔기 31-35이고, HCDR2는 카바트 잔기 50-65이며, HCDR3은 카바트 잔기 95-102이고; 도 2 및 4에 도시한 바와 같이, LCDR1은 카바트 잔기 24-34이고, LCDR2는 카바트 잔기 50-56이며, LCDR3은 카바트 잔기 89-97이다.
- [0153] 본 발명이 다른 측면에 따라서, CDR 세트: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3를 포함하는, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하고, 여기서, CDR 세트는 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 기준 CDR 세트로부터 6 또는 그 이하의 아미노산이 변경된 것이다.
- [0154] 본 발명의 다른 측면에 따라, 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에서 확인되는 바와 같은 VH 서열을 포함하는, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공한다.
- [0155] 본 발명의 다른 측면에 따라서, 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에서 확인되는 바와 같은 VL 서열을 포함하는, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공한다.
- [0156] 본 발명의 다른 측면에 따라서, 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에서 확인되는 바와 같은 VH 및 VL 서열을 포함하는, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공한다.
- [0157] 본 발명의 다른 측면에 따라서, 단리된 항체 또는 항체의 단편을 제공하고, 여기서 항체 또는 단편은 면역특이적으로 인간 인터루킨-4 수용체 α 에 결합하며, 하기 (a) 내지 (f)를 포함한다:
- [0158] (a) 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 VH CDR1과 동일하거나 또는 이에 대해 1, 2, 또는 3 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 VH CDR1;
- [0159] (b) 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 VH CDR2와 동일하거나 또는 이에 대해 1, 2, 또는 3 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 VH CDR2;
- [0160] (c) 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 VH CDR3과 동일하거나 또는 이에 대해 1, 2, 또는 3 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 VH CDR3;
- [0161] (d) 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 VL CDR1과 동일하거나 또는 이에 대해 1, 2, 또는 3 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 VL CDR1;
- [0162] (e) 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 VL CDR2와 동일하거나 또는 이에 대해 1, 2, 또는 3 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 VL CDR2; 및
- [0163] (f) 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 VL CDR3과 동일하거나 또는 1, 2, 또는 3 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 VL CDR3.
- [0164] 본 발명의 다른 측면에 따라서, 단리된 항체 또는 항체의 단편을 제공하고, 여기서 항체 또는 단편은 면역특이적으로 인간 인터루킨-4 수용체 α 에 결합하고, 하기 (a) 및 (b)를 포함한다:
- [0165] (a) 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 VH 서열과 동일하거나 또는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 VH 서열;
- [0166] (b) 기탁 번호 NCIMB 41600으로 2008년 12월 9일자로 NCIMB에 기탁된 클론에 존재하는 VL 서열과 동일하거나 또

는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 아미노산 잔기의 치환을 포함하는 아미노산 서열을 갖는 VL 서열.

- [0167] 결합 구성원은 항체 프레임워크 내에, 1 이상의 CDR, 예를 들어 CDR 세트를 갖는 항체 분자를 포함할 수 있다. 예를 들어, 항체의 1 이상의 CDR 또는 CDR 세트는 프레임워크(예를 들어, 인간 프레임워크)에 그래프팅되어 항체 분자를 제공할 수 있다. 프레임워크 영역은 인간 배선(germline) 유전자 절편 서열을 포함할 수 있다. 따라서, 프레임워크는 배선화(germlined)될 수 있고, 그에 따라 프레임워크 내 1 이상의 잔기가 변화되어 가장 유사한 인간 배선 프레임워크 내 동등한 위치에서의 잔기를 매치시킬 수 있다. 당분야의 숙련가는 배선화 전에 항체의 프레임워크 서열과 서열에서 가장 가까운 배선 절편을 선택하고 항체의 친화성 또는 활성을 테스트하여 배선화가 본 명세서에 기술된 분석에서 유의하게 항체 결합성 또는 역가를 감소시키지 않는다는 것을 검증할 수 있다. 인간 배선 유전자 절편 서열은 당분야의 숙련가에게는 공지이고, 예를 들어, VBase 컴필레이션에서 입수할 수 있다(Tomlinson. Journal of Molecular Biology. 224, 487-499, 1997).
- [0168] 일 구체예에서, 본 발명의 결합 구성원은 인간 배선 프레임워크, 예를 들어 Vh1_DP-7_(1-46)에 HCDR 세트를 포함하는 VH 도메인을 갖는 단리된 인간 항체 분자이다. 따라서, VH 도메인 프레임워크 영역 FR1, FR2 및/또는 FR3은 인간 배선 유전자 절편 Vh1_DP-7_(1-46)의 프레임워크 영역을 포함할 수 있다. FR4는 인간 배선 j 절편 JH1, JH4 또는 JH5(이들 j 절편은 동일한 아미노산 서열을 가질 수 있음)의 프레임워크 영역을 포함할 수 있거나 또는 인간 배선 j 절편 JH3의 프레임워크 영역을 포함할 수 있다. VH FR1의 아미노산 서열은 서열 번호 442(잔기 1-30)일 수 있다. VH FR2의 아미노산 서열은 서열 번호 442(잔기 36-49)일 수 있다. VH FR3의 아미노산 서열은 서열 번호 442(잔기 66-94)일 수 있다. VH FR4의 아미노산 서열은 서열 번호 442(103-113)일 수 있다. 보통 결합 구성원은 또한 예를 들어 인간 배선 프레임워크, 예를 들어, Vλ1_DPL5에 LCDR 세트를 포함하는 VL 도메인을 가진다. 따라서, VL 도메인 프레임워크 영역 FR1, FR2 및/또는 FR3은 인간 배선 유전자 절편 Vλ1_DPL5의 프레임워크 영역을 포함할 수 있다. FR4는 인간 배선 j 절편 JL2 또는 JL3(이들 j 절편은 동일한 아미노산 서열을 가짐)의 프레임워크 영역을 포함할 수 있다. VL FR1의 아미노산 서열은 서열 번호 447(잔기 1-23)일 수 있다. VL FR2의 아미노산 서열은 서열 번호 447(잔기 35-49)일 수 있다. VL FR3의 아미노산 서열은 서열 번호 447(잔기 57-88)일 수 있다. VL FR4의 아미노산 서열은 서열 번호 447(잔기 98-107)일 수 있다. 배선화된 VH 또는 VL 도메인은 1 이상의 베르니에르 잔기에서 배선화되거나 또는 배선화되지 않을 수 있지만, 보통은 그렇지 않다.
- [0169] 본 발명의 항체 분자 또는 VH 도메인은 하기의 중쇄 프레임워크 영역 세트를 포함하거나, 또는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 아미노산의 변경, 예를 들어 치환을 갖는 하기 중쇄 프레임워크 영역 세트를 포함할 수 있다:
- [0170] FR1 서열 번호 442 (잔기 1-30);
- [0171] FR2 서열 번호 442 (잔기 36-49);
- [0172] FR3 서열 번호 442 (잔기 66-94);
- [0173] FR4 서열 번호 442 (잔기 103-113).
- [0174] 본 발명의 항체 분자 또는 VL 도메인은 하기 경쇄 프레임워크 영역 세트를 포함하거나 또는 1, 2, 3, 4, 5, 또는 6 아미노산의 변경, 예를 들어 치환을 갖는 중쇄 프레임워크 영역 세트를 포함할 수 있다:
- [0175] FR1 서열 번호 447 (잔기 1-23);
- [0176] FR2 서열 번호 447 (잔기 35-49);
- [0177] FR3 서열 번호 447 (잔기 57-88);
- [0178] FR4 서열 번호 447 (잔기 98-107).
- [0179] 아미노산 변경은, 치환, 삽입(부가) 또는 결실일 수 있다. 가장 통상적인 변경은 치환일 수 있다.
- [0180] 예를 들어, 본 발명의 항체 분자는 중쇄 및 경쇄 프레임워크의 세트를 포함하거나, 또는 7 또는 그 이하, 예를 들어 6 또는 그 이하의 아미노산이 변경된 중쇄 및 경쇄 프레임워크 영역의 세트를 포함할 수 있다. 예를 들어 1 또는 2 아미노산 치환이 상기 중쇄 및 경쇄 프레임워크 영역의 세트에 존재할 수 있다. 상기 중쇄 및 경쇄 프레임워크 영역의 세트에서,
- [0181] 중쇄 FR1은 서열 번호 192 (잔기 1-30)이고;
- [0182] 중쇄 FR2는 서열 번호 192 (잔기 36-49)이고;

- [0183] 중쇄 FR3은 서열 번호 192 (잔기 66-94)이며;
- [0184] 중쇄 FR4는 서열 번호 192 (잔기 103-113)이고;
- [0185] 경쇄 FR1은 서열 번호 197 (잔기 1-23)이고;
- [0186] 경쇄 FR2는 서열 번호 197 (잔기 35-49)이며;
- [0187] 경쇄 FR3은 서열 번호 197(잔기 57-88)이고;
- [0188] 경쇄 FR4는 서열 번호 197 (잔기 98-107)이다.
- [0189] 실시예 4.2에 나타난 바와 같이, 항체 21-42는 항체 20을 기반으로 하지만, CDR 및 프레임워크 영역 내에 일정한 추가 변경들을 가진다. 항체 20과 유사하게, 항체 21-42는 hIL-4R α 및 cyIL-4R α 에 결합한다. 그러므로, 이러한 CDR 및/또는 프레임워크 치환은 가능하다면 보다 큰 결합성을 갖는 결합 구성원을 생성하는 선택적이거나 또는 부가적인 치환으로 간주될 수 있다.
- [0190] 따라서, VH 및 VL 도메인의 6 CDR 영역 중 임의의 영역 내 치환이외에도, 결합 구성원은 또한 표준 카뎃 번호화를 사용하는, 프레임워크 영역 내 하기 잔기에서 1 이상의 아미노산 치환을 포함할 수 있다:
- [0191] HFW1의 11, 12;
- [0192] HFW2의 37, 48;
- [0193] HFW3의 68, 84, 85;
- [0194] HFW4의 105, 108, 113;
- [0195] LFW1의 1, 2, 3, 9;
- [0196] LFW2의 38, 42; 또는
- [0197] LFW3의 58, 65, 66, 70, 74, 85, 87.
- [0198] 적절한 프레임워크 치환은 도 1 내지 4에 도시하였다. 그리고, 본 발명의 결합 구성원은 도 1 내지 4에 도시한 특정 치환 중 1 이상을 포함할 수 있다.
- [0199] 본 발명의 항체 분자 또는 VH 도메인은 VH FR1을 포함할 수 있고, 여기서 카뎃 잔기 11은 Val 또는 Glu이고/이거나 카뎃 잔기 12는 Lys 또는 Arg이다; 본 발명의 항체 분자 또는 VH 도메인은 VH FR2를 포함할 수 있고, 여기서 카뎃 잔기 37은 Ala 또는 Val이고/이거나 카뎃 잔기 48은 Met 또는 Val이다; 본 발명의 항체 분자 또는 VH 도메인은 VH FR3을 포함할 수 있고, 여기서 카뎃 잔기 68은 Ser, Ala 또는 Thr이고/이거나 카뎃 잔기 84는 Ser 또는 Pro이고/이거나 카뎃 잔기 85는 Glu 또는 Gly이다; 본 발명의 항체 분자 또는 VH 도메인은 VH FR4를 포함할 수 있고, 여기서 카뎃 잔기 105는 Lys 또는 Asn이고/이거나 카뎃 잔기 108은 Gln, Arg 또는 Leu이고/이거나 카뎃 잔기 113은 Ser 또는 Gly이다.
- [0200] 본 발명의 항체 분자 또는 VL 도메인은 VL FR1을 포함할 수 있고, 여기서 카뎃 잔기 1은 Gln 또는 Leu이고/이거나 카뎃 잔기 2는 Ser 또는 Pro 또는 Ala이고/이거나 카뎃 잔기 3은 Val 또는 Ala이고/이거나 카뎃 잔기 9는 Ser 또는 Leu이다; 본 발명의 항체 분자 또는 VL 도메인은 VL FR2를 포함할 수 있고, 여기서 카뎃 잔기 38은 Gln 또는 Arg이고/이거나 카뎃 잔기 42는 Thr 또는 Ala이다; 본 발명의 항체 분자 또는 VL 도메인은 VL FR3을 포함할 수 있고, 여기서 카뎃 잔기 58은 Ile 또는 Val이고/이거나 카뎃 잔기 65는 Ser 또는 Phe이고/이거나 카뎃 잔기 66은 Lys 또는 Arg이고/이거나 카뎃 잔기 70은 Ser 또는 Thr이고/이거나 카뎃 잔기 74는 Ala 또는 Gly이고/이거나 카뎃 잔기 85는 Asp 또는 Val이고/이거나 카뎃 잔기 87은 Tyr 또는 Phe이다.
- [0201] 비배선화된 항체는 배선화된 항체와 비교하여, 동일한 CDR을 갖지만, 상이한 프레임워크를 갖는다. 본 명세서에 나타난 항체 서열 중에서, 항체 24PGL 및 37GL의 VH 및 VL 도메인이 배선화된 것이다.
- [0202] 도 5, 6 및 7은 각각의 항체 1-42가 서로에 대해 갖는 복합 서열 동일성을 도시한 것이다. 복합 서열은 핵심 CDR 영역의 인위적인 정렬이다. 따라서, 도 5에서, 6 CDR 도메인(LCDR1, LCDR2, LCDR3, HCDR1, HCDR2, HCDR3; 6xCDR)은 LCDR1의 마지막 코돈이 LCDR2의 첫번째 코돈과 인접하고, LCDR2의 마지막 코돈이 LCDR3 등의 첫번째 코돈과 인접하도록 정렬하였다. 이러한 방식으로, 개재하는 프레임워크 영역이 결여된 서열을 생성시켰다. 복합 서열은 도 5와 같이, 모든 CDR 영역의 서열일 수 있거나, 또는 중쇄 또는 경쇄 CDR 서열(각각 도 6 및 7)만일 수 있다. 다음으로, 각각 다른 항체 복합 서열에 대한 각 항체 복합 서열의 서열 정렬을 생성시키고 동일성 스

코어를 도 5, 6 및 7의 차트에 나타내었다. 모든 6 CDR 영역에 대해, 도 5에 도시한 바와 같이, 임의의 항체 1-42가 다른 항체에 대해 갖는 최소의 서열 동일성은 73%(이는 항체 23, 25, 37, 37GL 및 41과 비교시 항체 3임) 이었고; 항체 3을 배제하면, 서열 동일성 정도는 78%이다. 3 중쇄 CDR(3xHCDR) 영역만을 비교한 서열 동일성의 최소값은 75%였고 항체 3을 배제하면 79%이다. 3 경쇄 CDR(3xLCDR) 영역만을 비교한 서열 동일성의 최소값은 65%이고, 항체 3을 배제하면 75%였다.

[0203] 특정 구체예에서, 단리된 결합 구성원은 임의의 항체 1-42의 6xCDR 복합 스코어와 73% 이상이 아미노산 서열 동일성을 갖는다.

[0204] 본 발명의 추가 측면에 따르면, CDR 세트: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하고, 여기서 결합 구성원은 임의의 항체 1-42의, 임의의 개재 프레임워크 서열이 없는 라인 서열에 HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3의 복합 서열과 아미노산 서열 동일성이 73% 이상이다. 특정 구체예에서, 단리된 결합 구성원은 임의의 항체 1-42의 복합 스코어와 아미노산 서열 동일성이 78% 이상이다.

[0205] 본 발명의 추가 측면에 따르면, CDR 세트: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3을 포함하는 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하고, 여기서 결합 구성원은 임의의 항체 1-42의 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3의 복합 서열과 아미노산 서열 동일성이 75% 이상이다.

[0206] 본 발명의 추가 측면에 따르면, CDR 세트: HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2 및 LCDR3A를 포함하는, 인간 인터루킨-4 수용체 α (hIL-4R α)에 대한 단리된 결합 구성원을 제공하고, 여기서 결합 구성원은 임의의 항체 1-42의 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3의 복합 서열과 아미노산 서열 동일성이 65% 이상이다.

[0207] 본 발명의 결합 구성원은, 둘 모두가 IL-4R α 에 결합하고, 결합 구성원, VH 및/또는 VL 도메인, CDR 예를 들어 HCDR3, 및/또는 본 명세서에 기술된 CDR 세트를 포함하는 임의의 결합 구성원과 IL-4R α 와의 결합에 대해 경쟁하는 것일 수 있다. 결합 구성원간 경쟁은, 예를 들어 ELISA를 사용하고/하거나 동일 에피토프 또는 중첩된 에피토프에 결합하는 결합 구성원의 동정이 가능하도록, 1 이상의 다른 비태깅된 결합 구성원의 존재하에서 검출할 수 있는 하나의 결합 구성원에 특정 리포터 분자를 태깅하여, 시험관 내에서 용이하게 분석할 수 있다. 경쟁은 예를 들어, IL-4R α 를 플레이트에 고정화하고, 제1의 태깅된 결합 구성원을 1 이상의 다른 비태깅된 결합 구성원과 함께 상기 플레이트에 부가하는 ELISA를 사용하여 측정할 수 있다. 태깅된 결합 구성원과 결합하는 비태깅된 결합 구성원의 존재는 태깅된 결합 구성원에 의해 방출되는 신호의 감소를 통해 관찰된다. 이러한 방법은 당분야의 숙련자에게는 널리 알려져 있으며, 본 명세서에서 보다 구체적으로 설명하였다. 일 구체예에서, 경쟁적 결합은 본 명세서에 기술된 바와 같이, 에피토프 경쟁 분석법을 사용하여 분석한다. 본 발명의 결합 구성원은 IL-4R α 와의 결합에 대해, 항체 분자, 예를 들어 특히 VH 및/또는 VL 도메인, CDR 예를 들어, HCDR3 또는 모 항체 또는 임의의 항체 2-42의 CDR 세트를 포함하는 항체 분자와 경쟁하는 항체 항원-결합 부위를 포함할 수 있다. 본 발명의 측면들은 IL-4R α 와의 결합에 대해 본 명세서에 정의된 임의의 결합 구성원과 경쟁하는, 예를 들어 scFv 포맷 또는 IgG1 또는 IgG2 형태인, 예를 들어 임의의 항체 2 내지 42 또는 모 항체와 경쟁하는 결합 구성원을 제공한다. IL-4R α 와의 결합에 대해 본 명세서에서 정의된 임의의 결합 구성원과 경쟁하는 결합 구성원은 본 발명의 결합 구성원에 대해 본 명세서에서 개시한 임의의 1 이상의 구조적 및/또는 기능적 특성을 가질 수 있다.

[0208] 추가 측면에서, 본 발명은 결합 구성원, 예컨대 본 발명에 따른 VH 도메인 및/또는 VL 도메인을 코딩하는 서열을 포함하는 단리된 핵산, 및 결합 구성원, 예컨대 본 발명의 VH 도메인 및/또는 VL 도메인을 제조하는 방법을 제공하고, 상기 방법은 상기 결합 구성원, 예컨대 VH 도메인 및/또는 VL 도메인 및/또는 항체가 생산되는 조건하에서 상기 핵산을 발현시키는 단계, 및 이를 회수하는 단계를 포함한다.

[0209] 본 발명의 다른 측면은 본 명세서에 개시된 VH CDR 또는 VL CDR 서열을 코딩하는 핵산, 대체로 단리된 핵산을 제공한다.

[0210] 추가 측면은 본 발명의 핵산을 포함하거나 또는 이 핵산으로 형질전환된 숙주 세포를 제공한다.

[0211] 본 발명의 추가 측면은 본 발명의 결합 구성원을 함유하는 조성물, 및 요법에 의해 인간 또는 동물 신체를 치료하는 방법을 포함하여, IL-4R α 를 억제 및/또는 중화하는 방법에서 이러한 조성물의 용도를 제공한다.

[0212] 본 발명에 따른 결합 구성원은 인간 또는 동물 신체를 치료하거나 진단하는 방법, 예컨대 본 발명의 결합 구성원의 유효량을 인간 환자에게 투여하는 것을 포함하는 인간 환자에서 질병 또는 질환을 치료하는 방법(예방적 치료를 포함함)에서 사용할 수 있다. 본 발명에 따라 치료가능한 병태는 본 명세서에서 상세하게 기술한 바와

같이, IL-4R α , IL-4 및/또는 IL-13이 역할을 하는 임의의 병태를 포함한다.

[0213] 본 발명의 추가적인 설명은 이하에서 설명한다.

도면의 간단한 설명

[0214] 도 1은 항체 1에 대해 항체 2-42의 VH 도메인을 정렬한 것이다(a 및 b로 나눔).

도 2는 항체 1에 대해 항체 2-42의 VL 도메인을 정렬한 것이다(a 및 b로 나눔).

도 3은 항체 20에 대해 항체 1-19 및 21-42의 VH 도메인을 정렬한 것이다(a 및 b로 나눔).

도 4는 항체 20에 대해 항체 1-19 및 21-42의 VL 도메인을 정렬한 것이다(a 및 b로 나눔).

도 5는 6xCDR에 대한 서열 동일성 표이다(a, b 및 c로 나눔).

도 6은 3x VH CDR에 대한 서열 동일성 표이다(a, b 및 c로 나눔).

도 7은 3x VL CDR에 대한 서열 동일성 표이다(a, b 및 c로 나눔).

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0215] 용어

[0216] 본 명세서에서 사용되는 "및/또는"은 다른것과 함께 또는 없이 2종의 특수한 특징이나 성분 각각에 대한 특정 개시내용으로서 간주하고자 하는 것임을 편의상 지적한다. 예를 들어, "A 및/또는 B"는 각각을 본 명세서에서 개별적으로 설명하는 것처럼, 각각 (i) A, (ii) B 및 (iii) A와 B에 대한 특정 개시내용으로서 간주한다.

[0217] IL-4R α

[0218] IL-4R α 는 인터루킨-4 수용체 α 이다. 달리 언급하지 않으면 IL-4R α 에 대해서는 보통 인간 IL-4R α 를 지칭하는 것이다. 야생형의 성숙한 인간 IL-4R α 의 서열은 기탁번호 P24394(Swiss-Prot)로 기탁되었으며, 신호 펩티드를 포함하여, 전체 길이 IL-4R α 를 나타내고 있다.

[0219] 사이노몰거스 IL-4R α 는 인하우스에서 서열분석하였고, 사이노몰거스 IL-4R α 의 cDNA 서열은 서열 번호 455로 나타내었다.

[0220] 본 명세서에서 기술하는 바와 같이, IL-4R α 는 제조합되고/되거나, 글리코실화 또는 비글리코실화될 수 있다. IL-4R α 는 천연적으로 생체 내에서 N-결합된 글리코실화 형태로 발현된다. 글리코실화 IL-4R α 는 또한 제조합 시스템, 예를 들어 HEK-EBNA 세포에서도 발현될 수 있다. IL-4R α 는 또한 이.콜라이 세포에서 비글리코실화된 형태로 발현될 수 있다.

[0221] 결합 구성원

[0222] 결합 구성원은 서로 결합하는 분자 쌍의 한 구성원을 일컫는다. 결합쌍의 구성원은 천연적으로 유도되거나, 또는 전체적으로 또는 부분적으로 합성하여 생성될 수 있다. 분자 쌍의 한 구성원은 그의 표면 상 영역, 또는 동공을 가지는데, 이는 분자 쌍의 다른 구성원의 특정한 공간 및 극성 조직부에 결합하며, 따라서 상보적이다. 결합쌍의 예시적인 유형은 항원-항체, 비오틴-아비딘, 호르몬-호르몬 수용체, 수용체-리간드, 효소-기질이 있다. 본 발명은 항원-항체 유형 반응에 관한 것이다.

[0223] 결합 구성원은 보통 항원-결합 부위를 갖는 분자를 포함한다. 예를 들어, 결합 구성원은 항체 분자이거나 또는 항원-결합 부위를 포함하는 비항체 단백질일 수 있다.

[0224] 항원 결합 부위는 비항체 단백질 스캐폴드 예컨대 피브로넥틴 또는 사이토크롬 B 등 상에 CDR을 배열시켜서 (Haan & Maggos, BioCentury, 12(5):A1-A6, 2004; Koide, Journal of Molecular Biology, 284:1141-1151, 1998; Nygren et al., Current Opinion in Structural Biology, 7:463-469, 1997), 또는 목적하는 표적에 대해 결합 특이성을 부여하도록 단백질 스캐폴드 내 루프의 아미노산 잔기를 무작위화하거나 또는 돌연변이시켜 제공될 수 있다. 단백질 내 신규한 결합 부위를 조작하기 위한 스캐폴드는 구체적으로 Nygren 등(상동)의 문헌에 설명되어 있다. 항체 모방체용 단백질 스캐폴드는 WO/0034784에 개시되어 있는데, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다. 여기서 발명자들은 1 이상의 무작위화된 루프를 갖는 피브로넥틴 제III형 도메인을 포함하는 단백질(항체 모방체)을 기술하고 있다. 1 이상의 CDR, 예를 들어, HCDR 세트 또는 HCDR 및/또는 LCDR3이 그래프팅되는 적절한 스캐폴드는 면역글로불린 유전자 슈퍼패밀리의 임의의 도메인 구성원으로 제공될 수 있다. 스캐폴드

는 인간 또는 비인간 단백질일 수 있다. 비항체 단백질 스캐폴드의 장점은 적어도 일부 항체 분자보다 제작에 보다 용이하고/하거나 보다 작은 스캐폴드 분자에 항원 결합 부위를 제공할 수 있다는 점이다. 소형 크기의 결합 구성원은 유용한 생리적 특성, 예컨대 세포로 유입되거나, 조직 깊숙히 침투하거나 또는 다른 구조 내 표적에 도달하거나, 또는 표적 항원의 단백질 동공내에 결합하는 등의 능력들을 제공할 수 있다. 비항체 단백질 스캐폴드 내 항원 결합 부위의 용도는 [Wess, 2004]에 고찰되어 있다. 대체로 단백질은 안정한 골격과 1 이상의 가변 루프를 가지며, 여기서 루프 또는 루프들의 아미노산 서열이 특이적으로 또는 무작위적으로 돌연변이되어 표적 항원이 결합하는 항원 결합 부위가 생성된다. 이러한 단백질은 에스.아우레우스 유래 단백질 A의 IgG-결합 도메인, 트랜스페린, 테트라넥틴, 피브로넥틴(예를 들어, 10번째 피브로넥틴 제III형 도메인) 및 리포칼린 등을 포함한다. 다른 접근법은 합성 "마이크로바디"(Selecure GmbH)를 포함하는데, 이는 분자내 이황화 결합을 갖는 시클로티드-소형 단백질을 기반으로 한다.

[0225] 항체 서열 및/또는 항원 결합 부위 이외에도, 본 발명에 따른 결합 구성원은, 예를 들어 펩티드 또는 폴리펩티드, 예컨대 폴딩된 도메인을 형성하거나, 또는 항원에 결합하는 능력 이외에도 다른 기능적 특징을 분자에 부여하기 위한, 다른 아미노산을 포함할 수 있다. 본 발명의 결합 구성원은 검출가능 표지를 보유하거나, 또는 독소 또는 표적화 부분 또는 효소에 접합될 수 있다(예를 들어, 펩티드 결합 또는 링커에 의함). 예를 들어, 결합 구성원은 항원 결합 부위를 비롯하여, 촉매 부위(예를 들어, 효소 도메인 내)를 포함할 수 있고, 여기서 항원 결합 부위가 항원에 결합하고 따라서 촉매 부위는 항원을 표적으로 한다. 촉매 부위는 예를 들어, 절단을 통해, 항원의 생물학적 기능을 억제할 수 있다.

[0226] 주지하는 바와 같이, 비록 CDR을 비항체 스캐폴드가 보유할 수 있지만, 본 발명의 CDR, 예를 들어 CDR3, 또는 CDR 세트를 보유하기 위한 구조는 대체로, 재배열된 면역글로불린 유전자가 코딩하는 천연 발생 VH 및 VL 항체 가변 도메인의 CDR 또는 CDR 세트에 상응하는 위치에 CDR 또는 CDR 세트가 존재하는 항체 중쇄 또는 경쇄 서열 또는 이의 실질적인 부분이다. 면역글로불린 가변 영역의 구조 및 위치는 카밧(Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th Edition. US Department of Health and Human Services, 1987), 및 이의 최신판, 예컨대 5th Edition(Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington, 1991)을 참조하여 결정할 수 있다.

[0227] 달리 언급하지 않으면, 본 명세서에서 언급하는 CDR 및 프레임워크 영역을 비롯하여, 특정 잔기의 위치는 카밧 번호화 체계를 사용한다.

[0228] CDR 영역 또는 CDR에 의해, 카밧 등(상동)에서 정의된 바와 같이 면역글로불린의 중쇄 및 경쇄의 과가변성 영역을 표시하고자 한다. 항체는 대체로 3 중쇄 CDR 및 3 경쇄 CDR을 포함한다. 용어 CDR 또는 CDR들은 경우에 따라서, 항체가 인식하는 항원 또는 에피토프에 대한 항체의 친화성에 의한 결합을 책임지는 아미노산 잔기의 대부분을 함유하는 이들 영역 중 하나 또는 몇몇 영역, 또는 전체를 나타내기 위해 사용하였다.

[0229] 6종의 짧은 CDR 서열 중, 중쇄의 제3 CDR(HCDR3)은 보다 큰 크기의 가변성(실질적으로 다양성을 일으키는 유전자의 배열 이전에 기인한 보다 큰 다양성)을 갖는다. 가장 큰 크기가 26으로 알려져 있지만 2 아미노산 정도로 짧을 수 있다. 기능적으로, HCDR3은 부분적으로 항체의 특이성을 결정하는데서 역할을 한다(Segal et al. PNAS, 71:4298-4302, 1974; Amit et al., Science, 233:747-753, 1986; Chothia et al. J. Mol. Biol., 196:901-917, 1987; Chothia et al. Nature, 342:877-883, 1989; et al. J. Immunol., 144:1965-1968, 1990; Sharon et al. PNAS, 87:4814-4817, 1990(a); Sharon et al. J. Immunol., 144:4863-4869, 1990; 카밧 et al., et al., J. Immunol., 147:1709-1719, 1991b).

[0230] HCDR1은 5 아미노산 길이일 수 있고, 카밧 잔기 31-35로 구성된다.

[0231] HCDR2는 17 아미노산 길이일 수 있고, 카밧 잔기 50-65로 구성된다.

[0232] HCDR3은 7 아미노산 길이일 수 있고, 카밧 잔기 95-102로 구성된다.

[0233] LCDR1은 13 아미노산 길이일 수 있고, 카밧 잔기 24-34로 구성된다.

[0234] LCDR2는 7 아미노산 길이일 수 있고, 카밧 잔기 50-56로 구성된다.

[0235] LCDR3은 12 아미노산 길이일 수 있고, 카밧 잔기 89-97로 구성된다.

[0236] 항체 분자

[0237] 이는 천연적으로 또는 부분적으로나 전체적으로 합성하여 생성되는 면역글로불린을 설명하는 것이다. 이 용어는

또한 항체 항원-결합 부위를 포함하는 임의의 폴리펩티드 또는 단백질을 포함한다. 본 명세서에서, 본 발명은 천연 형태의 항체에 관한 것이 아니며, 즉, 다시 말해 그들의 천연 환경에 존재하는 것이 아니라, 천연 공급원 으로부터 정제하여 단리되거나 또는 수득될 수 있거나, 또는 아니면 유전자 재조합에 의해서, 또는 화학 합성에 의해 얻을 수 있고, 이하에 기술되는 비천연 아미노산을 포함할 수 있는 것으로 이해해야 한다. 항체 항원-결합 부위를 포함하는 항체 단편은 이에 제한되는 것은 아니고 분자, 예컨대 Fab, Fab', Fab'-SH, scFv, Fv, dAb, Fd; 및 디아바드를 포함한다.

[0238] 본 발명의 항체 분자는 IgG, 예를 들어, IgG1, IgG4, IgG2 또는 비글리코실 IgG2일 수 있다.

[0239] 표적 항원에 결합하는 다른 항체 또는 키메라 분자를 생산하기 위해 재조합 DNA 기술을 사용하고 단일클론 및 다른 항체를 채택하는 것이 가능하다. 이러한 기술은 항체의 면역글로불린 가변 영역, 또는 CDR을 코딩하는 DNA 를 다른 면역글로불린의 불변 영역, 또는 불변 영역과 프레임워크 영역에 도입하는 것을 포함할 수 있다. 예를 들어, EP-A-184187, GB 2188638A 또는 EP-A-239400, 그리고 이후의 다수 문헌들을 참조한다. 항체를 생성하는 하이브리도마 또는 다른 세포에 대해서 생되는 항체의 결합 특이성을 변경시키거나 또는 변경시키지 않을 수 있는, 유전자 돌연변이 또는 다른 변화를 가할 수 있다.

[0240] 항체는 다수의 방식으로 변형될 수 있으므로, 용어 "항체 분자"는 항체에 대해 요구되는 특이성 및/또는 결합성을 갖는 항체 항원-결합 부위를 가지는 임의의 결합 구성원 또는 물질을 포함하는 것으로 이해해야 한다. 따라서, 이 용어는 천연적이거나 또는 전체적으로 또는 부분적으로 합성된, 항체 항원-결합 부위를 포함하는 임의의 폴리펩티드를 비롯하여, 항체 단편 및 유도체를 포함한다. 다른 폴리펩티드(예를 들어, 다른 종에서 유래된 것 이거나 또는 다른 항체 부류 또는 하위부류에 속하는 것임)에 융합되는, 항체 항원-결합 부위를 포함하는 키메 라 분자, 또는 균등물도 역시 포함된다. 키메라 항체의 클로닝 및 발현은 EP-A-0120694 및 EP-A-0125023, 및 이 후의 다수 문헌들에 기술되어 있다.

[0241] 항체 조작 분야에서 이용가능한 추가적인 기술은 인간 및 인간화 항체를 단리하는 것을 가능하게 한다. 예를 들 어, 인간 하이브리도마는 문헌 [Kontermann & Dubel, Antibody Engineering, Springer-Verlag New York, LLC; 2001, ISBN: 3540413545]에 기술된 바와 같이 제조될 수 있다. 결합 구성원을 생성하기 위한 다른 확립된 기술 로서, 파지 디스플레이는 예컨대 하기와 같은 많은 공개물에 상세히 기술되어 있다: WO92/01047(이하 추가로 논 의함) 및 US 특허 US5969108, US5565332, US5733743, US5858657, US5871907, US5872215, US5885793, US5962255, US6140471, US6172197, US6225447, US6291650, US6492160, US6521404 및 Kontermann & Dubel (상 동). 마우스 항체 유전자가 불활성화되고 기능적으로 인간 항체 유전자로 치환되는 한편 마우스 면역계의 다른 성분은 온전하게 유지되는 형질전환 마우스는 인간 항체를 단리하는데 사용될 수 있다(Mendez et al. Nature Genet, 15(2):146 156, 1997).

[0242] 합성 항체 분자는 예를 들어, [Knappik et al. (J. Mol. Biol. 296, 57-86, 2000) 또는 Krebs et al. (Journal of Immunological Methods, 254:67-84, 2001)]에 기술된 바와 같이, 올리고뉴클레오티드 합성하고 적절한 발현 벡터 내로 어셈블링하여 생성된 유전자로부터 발현시켜 생성시킬 수 있다.

[0243] 전체 항체의 단편은 항원에 결합하는 기능을 수행할 수 있다는 것이 확인되었다. 결합 단편의 예는 (i) VL, VH, CL 및 CH1 도메인으로 구성된 Fab 단편; (ii) VH 및 CH1 도메인으로 구성된 Fd 단편; (iii) 단일 항체의 VL 및 VH 도메인으로 구성된 Fv 단편; (iv) VH 또는 VL 도메인으로 구성된 dAb 단편(Ward et al., Nature 341:544-546, 1989; McCafferty et al. Nature, 348:552-554, 1990; Holt et al. Trends in Biotechnology 21, 484-490, 2003); (v) 단리된 CDR 영역; (vi) 2종의 결합된 Fab 단편을 포함하는 2가 단편인, F(ab')₂ 단편; (vii) 단쇄 Fv 분자(scFv)로서, 여기서 VH 도메인 및 VL 도메인은 항원 결합 부위를 형성하도록 2 도메인을 결합가능 하게 하는 펩티드 링커에 의해 연결된다(Bird et al. Science, 242, 423-426, 1988; Huston PNAS USA, 85, 5879-5883, 1988); (viii) 이중특이적 단쇄 Fv 이량체(PCT/US92/09965) 및 (ix) 유전자 융합으로 제작된 "디아 바디", 다가 또는 다중특이적 단편(WO94/13804; Holliger et al, PNAS USA 90:6444-6448, 1993a)을 포함한다. Fv, scFv 또는 디아바디 분자는 VH와 VL 도메인을 연결하는 이황화 가교의 도입을 통해 안정화될 수 있다 (Reiter et al, Nature Biotech, 14:1239-1245, 1996). CH3 도메인에 연결된 scFv를 포함하는 미니바디도 제조 할 수 있다(Hu et al, Cancer Res., 56, 3055-3061, 1996). 결합 단편의 다른 예는 Fab' 및 Fab'-SH가 있는데, Fab'은 항체 힌지 영역 유래의 1 이상의 시스테인을 포함하여, 중쇄 CH1의 카르복실 말단에 소수의 잔기가 부가 된 것이 Fab 단편과는 다르고, Fab'-SH는 불변 도메인의 시스테인 잔기(들)가 자유 티올기를 보유하는 Fab' 단 편이다.

[0244] 본 발명의 항체 단편은 본 명세서에 기술된 임의의 항체 분자, 예를 들어, 임의의 항체 1 내지 42의 VH 및/또는

VL 도메인 또는 CDR을 포함하는 항체 분자로부터 출발하여, 예컨대 효소 예를 들어 펩신 또는 파파인에 의한 분해 및/또는 화학적 환원에 의한 이황화 가교의 절단 등에 의한 방법으로 얻을 수 있다. 다른 방식에서, 본 발명에 포함되는 항체 단편은 당분야의 숙련가에게 잘 알려진 유전자 조작법에 의해 또는 예를 들어, 자동 펩티드 합성기 예컨대 Applied Biosystems 등의 회사에서 판매하는 합성기들을 통한 펩티드 합성에 의해, 또는 핵산 합성 및 발현에 의해 얻을 수 있다.

[0245] 본 발명에 따른 기능성 항체 단편은 화학적 변형, 특히 PEG화, 또는 리포솜 내 도입에 의해 반감기가 증가된 임의의 기능성 단편을 포함한다.

[0246] dAb(도메인 항체)는 항체의 소형 단량체 항원-결합 단편, 즉 항체 중쇄 또는 경쇄의 가변 영역이다(Holt et al. Trends in Biotechnology 21, 484-490, 2003). VH dAb는 천연적으로 카멜리드(예를 들어, 낙타, 라마 등)에서 천연적으로 발생되며 카멜리드를 표적 항원으로 면역화하고, 항원 특이적 B 세포를 단리한 후, 개별 B 세포 유래의 dAb 유전자를 직접 클로닝하여 생성시킬 수 있다. dAb는 또한 세포 배양물에서 생성가능하다. 이들은 작은 크기, 우수한 가용성 및 온도 안정성 덕분에 특히 생리적으로 유용하며 선별 및 친화성 성숙화에 적합하다. 본 발명의 결합 구성원은 본 명세서에 실질적으로 제시된 바 같은 VH 또는 VL 도메인, 또는 본 명세서에 실질적으로 제시된 바와 같은 CDR 세트를 포함하는 VH 또는 VL 도메인을 포함하는 dAb일 수 있다.

[0247] 본 명세서에서 사용되는 어구 "실질적으로 제시된 바와 같은"은 본 명세서에 기술된 결합 구성원의 VH 또는 VL 도메인의 관련 CDR의 특징(들)이 서열이 본원에 제시된 특정 영역과 동일하거나 또는 고도로 유사할 수 있다는 것을 의미한다. 본 명세서에 기술한 바와 같이, 1 이상의 가변 도메인의 특정 영역(들)에 대한 어구 "고도로 유사한"은 약 1~12, 예를 들어 1~8, 1~7, 1~6, 1~5, 1~4, 1~3, 또는 1 또는 2, 아미노산 치환이 VH 및/또는 VL 도메인의 CDR에 존재한다는 것을 고려한 것이다.

[0248] 본 발명의 항체는 이중특이적 항체를 포함한다. 이중특이적 또는 이중기능성 항체는 2개의 상이한 가변 영역이 동일한 분자에 조합된 제2 세대의 단일클론 항체를 형성한다(Holliger, P. & Winter, G. 1999 Cancer and metastasis rev. 18:411-419, 1999). 이들의 용도는 새로운 이펙터 기능을 모집하거나 또는 종양 세포 표면 상의 몇몇 분자를 표적화하는 능력으로부터 진단 분야 및 치료법 분야 둘 모두에서 검증하였다. 이중특이적 항체를 사용하려는 경우, 이들은 다양한 방법(Holliger et al, PNAS USA 90:6444-6448, 1993)으로 제조될 수 있는, 예를 들어 화학적으로 제조하거나 또는 하이브리드 하이브리도마로부터 제조될 수 있는 통상의 이중특이적 항체이거나, 또는 상기 언급한 임의의 이중특이적 항체 단편일 수 있다. 이들 항체는 화학적 방법(Glennie et al., 1987 J. Immunol. 139, 2367-2375; Repp et al., J. Hemat. 377-382, 1995) 또는 신체적(somatic) 방법(Staerz U. D. and Bevan M. J. PNAS 83, 1986; et al., Method Enzymol. 121:210-228, 1986)을 통해 획득될 수 있지만, 또한 이중이량체화를 촉진시켜, 찾아낸 항체의 정제 과정을 용이하게 하는 유전자 조작법(Merchand et al. Nature Biotech, 16:677-681, 1998)에 의해서도 획득될 수 있다. 이중특이적 항체의 예는 상이한 특이성을 갖는 2 항체의 결합 도메인이 사용되고 짧은 탄성 펩티드를 통해 직접적으로 연결되는 BiTE™ 기술에 의한 것들을 포함한다. 이는 짧은 단일 폴리펩티드 쇄 상에 2 항체를 조합시킨다. 디아바디 및 scFv는 가능하게는 항-이디오타입 반응의 효과를 감소시키고, 가변 도메인만을 사용하여, Fc 영역없이 제작될 수 있다.

[0249] 이중특이적 항체는 전체 IgG, 이중특이적 Fab'2, Fab'PEG, 디아바디 또는 이중특이적 scFv로서 제작될 수 있다. 추가로, 2종의 이중특이적 항체를 당분야에 공지된 통상의 방법을 사용하여 연결시켜 4가 항체를 형성시킬 수 있다.

[0250] 이중특이적 전체 항체와 달리, 이중특이적 디아바디도 역시 유용한데, 이들은 용이하게 제작하여 이.콜라이에서 발현시킬 수 있기 때문이다. 적절한 결합 특이성의 디아바디(및 수많은 다른 폴리펩티드 예컨대 항체 단편)는 라이브러리로부터 파지 디스플레이(W094/13804)를 사용하여 손쉽게 선별할 수 있다. 디아바디의 한쪽 암(arm)은 예를 들어 IL-4R α 에 대해 유도된 특이성을 갖는, 불변성을 유지시키고자 한다면, 다른 암은 가변적이고 적절한 특이성의 항체가 선별되는 라이브러리를 만들 수 있다. 이중특이적 전체 항체는 문헌 [Ridgeway et al., Protein Eng., 9:616-621, 1996]에 기술된 바와 같은 대체 조작 방법으로 제조할 수 있다.

[0251] IL-4R α 에 대한 항체를 얻기 위해 당분야의 다양한 방법을 이용할 수 있다. 항체는 당분야의 숙련가에게 공지된 표준 방법에 따라 얻을 수 있는, 특히 인간, 쥐, 키메라 또는 인간화 기원의 단일클론 항체일 수 있다.

[0252] 대체로, 특히 쥐 기원의 단일클론 항체, 또는 이들의 기능성 단편을 제조하기 위해, 구체적으로 매뉴얼 "Antibodies"(Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor N.Y., pp. 726, 1988)에 설명된 기술 또는 [Kohler and Milstein, Nature, 256:495-497, 197

5]에 기술된 하이브리도마로부터의 제조 기술을 언급할 수 있다.

[0253] 단일클론 항체, 또는 상기 단일클론 항체가 인식하는 에피토프를 포함하는 이들의 단편 중 하나는 예를 들어, IL-4R α 에 대해 면역화된 동물 세포로부터 얻을 수 있다. IL-4R α , 또는 이의 단편 중 하나는 특히 일반적인 작업 방법에 따라 제조할 수 있는데, 예를 들어 IL-4R α 또는 이의 단편을 코딩하는 cDNA 서열에 포함된 핵산 서열로부터 출발하는 유전자 재조합에 의해서, IL-4R α 및/또는 이의 단편의 펩티드 서열에 포함된 아미노산 서열로부터 출발하는 펩티드 합성에 의해 제조할 수 있다. 단일클론 항체는 예를 들어, 상기 단일클론 항체가 인식하는 에피토프를 함유하는 IL-4R α 또는 이의 단편 중 하나가 이미 고정된 친화성 컬럼 상에서 정제할 수 있다. 보다 구체적으로, 단일클론 항체는 단백질 A 및/또는 G 상의 크로마토그래피, 이어서, 그자체로, DNA 및 LPS와 잔류 단백질 오염물을 제거하기 위한 목적으로 이온교환 크로마토그래피를 후속하거나 또는 후속하지 않고, 이후 이량체 또는 다른 다량체의 존재로 인해 존재할 수 있는 응집물을 제거하기 위해 세파로스 겔 상의 배제 크로마토그래피를 후속하거나 또는 후속하지 않고, 정제할 수 있다. 일 구체예에서, 이러한 기술 전체를 동시에 또는 연속적으로 사용할 수 있다.

[0254] 항원-결합 부위

[0255] 항원-결합 부위는 표적 항원의 전체 또는 일부에 결합하고 이에 상보적인 분자의 일부를 의미한다. 항체 분자에서, 이는 항체 항원-결합 부위를 의미하고, 표적 항원의 전체 또는 일부에 결합하고 상보적인 항체의 일부를 포함한다. 항원이 큰 경우, 항체는 항원의 특정 부분에만 결합할 수 있는데, 이러한 부분을 에피토프라고 한다. 항체 항원-결합 부위는 1 이상의 항체 가변 도메인에 의해 제공된다. 항체 항원-결합 부위는 항체 경쇄 가변 영역(VL) 및 항체 중쇄 가변 영역(VH)을 포함할 수 있다.

[0256] 단리된

[0257] 단리된 은 대체로 본 발명의 결합 구성원, 또는 이러한 결합 구성원을 코딩하는 핵산이 본 발명에 따라 존재하게 되는 상태를 의미한다. 따라서, 본 발명에 따른, VH 및/또는 VL 도메인을 포함하는 결합 구성원, 및 코딩하는 핵산 분자 및 벡터는 예를 들어, 이들의 천연 환경으로부터, 실질적으로 순수하거나 또는 균질한 형태로, 또는 핵산의 경우 요구되는 기능을 갖는 폴리펩티드를 코딩하는 서열 이외에 기원 유전자 또는 핵산이 없거나 또는 실질적으로 없이, 단리 및/또는 정제되어 제공될 수 있다. 단리된 구성원 및 단리된 핵산은, 이들의 천연 환경, 또는 생체 내 또는 시험관 내에서 실시되는 재조합 DNA 방법에 의해 제조되는 경우 이들이 제조되는 환경(예를 들어, 세포 배양물)에서 발견되는, 이들이 천연적으로 연합되어 있는 예컨대 다른 폴리펩티드 또는 핵산 등의 물질이 없거나 또는 실질적으로 없다. 구성원 및 핵산은 희석제 또는 보조제와 함께 제제화될 수 있으며, 또한 실제적인 목적을 위해서, 단리되며-예를 들어 구성원은, 면역분석에서 사용하기 위해 마이크로타이터 플레이트를 코팅하는데 사용하려는 경우 젤라틴 또는 다른 담체와 보통 혼합되거나, 또는 진단 또는 치료법에 사용시는 약학적으로 허용되는 담체 또는 희석제와 혼합된다. 결합 구성원은 천연적으로 또는 이종성 진핵생물 세포(예를 들어, CHO 또는 NS0 (ECACC 85110503))의 시스템을 통해 글리코실화되거나, 또는 (예를 들어, 원핵생물 세포에서 발현되어 생산되는 경우) 비글리코실화될 수 있다.

[0258] 항-IL-4R α 항체 분자를 포함하는 이종성 조제물이 또한 본 발명의 일부를 형성한다. 예를 들어, 이러한 조제물은 다양한 정도의 글리코실화 및/또는 예컨대 피로글루탐산 잔기 형성을 위한 N-말단 글루탐산의 고리화 등의 유도체화된 아미노산과 함께, C-말단 리신이 결여된 중쇄 및 전체 길이 중쇄와 항체의 혼합물일 수 있다.

[0259] 상기 언급한 바와 같이, 본 발명에 따른 결합 구성원은 IL-4R α 의 생물학적 활성을 조정하고 중화시킬 수 있다. 본 명세서에 기술한 바와 같이, 본 발명의 IL-4R α -결합 구성원은 중화 역가를 위해 최적화될 수 있다. 대체로, 역가 최적화는 선별된 결합 구성원의 서열(보통 항체의 가변 도메인 서열)을 돌연변이시켜 결합 구성원의 라이브리리를 생성하고, 이후 역가에 대해 분석하고 보다 강력한 결합 구성원을 선별하는 것을 포함한다. 따라서, 선별된 "역가-최적화된" 결합 구성원은 라이브리리를 생성시킨 결합 구성원보다 높은 역가를 갖는 경향이 있다. 그럼에도, 높은 역가의 결합 구성원은 또한 최적화없이 얻을 수 있는데, 예를 들어 높은 역가의 결합 구성원은 초기 스크리닝, 예를 생화학적 중화 분석에서 직접 얻을 수 있다. "역가 최적화된" 결합 구성원은 IL-4R α 의 하류 기능 또는 특정 활성에 대한 중화 또는 결합 역가가 최적화된 결합 구성원을 의미한다. 분석법 및 역가는 본 명세서의 다른 부분에서 상세하게 기술하였다. 본 발명은 역가 최적화 및 비최적화된 결합 구성원 둘 모두와, 선별된 결합 구성원으로부터 역가를 최적화하기 위한 방법을 제공한다. 따라서, 본 발명은 당업자가 높은 역가를 갖는 결합 구성원을 생성할 수 있도록 한다.

[0260] 역가 최적화가 주어진 결합 구성원으로부터 높은 역가의 결합 구성원을 생성하는데 사용될 수 있지만, 최적화없

이도 높은 역가의 결합 구성원을 얻을 수 있다는 것을 주의한다.

- [0261] 추가 측면에서, 본 발명은 항원에 결합할 수 있는 1 이상의 결합 구성원을 얻는 방법을 제공하고, 이 방법은 본 발명에 따른 결합 구성원의 라이브러리 및 상기 항원을 접촉시키는 단계, 및 상기 항원에 결합할 수 있는 라이브러리의 1 이상의 결합 구성원을 선별하는 단계를 포함한다.
- [0262] 라이브러리는 입자 또는 분자 복합체, 예를 들어 복제가능한 유전자 패키지 예컨대 효모, 박테리아 또는 박테리오파지(예를 들어, T7) 입자, 바이러스, 세포 또는 공유, 리보솜 또는 다른 시험관 내 디스플레이 시스템 상에 디스플레이될 수 있고, 각각의 입자 또는 분자 복합체는 그 위에 디스플레이되는 항체 VH 가변 도메인, 및 경우에 따라 또한 존재한다면 디스플레이되는 VL 도메인을 코딩하는 핵산을 함유한다. 파지 디스플레이는 하기 문헌들에 기술되어 있으며, 이들 각각을 전체로 참조하여 본 발명에 참조하여 포함시킨다: WO92/01047 및 예를 들어, US5969108, US5565332, US5733743, US5858657, US5871907, US5872215, US5885793, US5962255, US6140471, US6172197, US6225447, US6291650, US6492160 및 US6521404.
- [0263] 항원에 결합할 수 있고 박테리오파지 또는 다른 라이브러리 입자 또는 분자 착체 상에 디스플레이되는 결합 구성원의 선별 이후, 상기 선별된 결합 구성원이 디스플레이되는 박테리오파지 또는 다른 입자 또는 분자 복합체로부터 핵산을 회수할 수 있다. 상기 선별된 결합 구성원을 디스플레이하는 박테리오파지 또는 다른 입자 또는 분자 복합체에서 회수한 핵산의 서열을 갖는 핵산으로부터 발현시킴으로써, 이러한 핵산을 결합 구성원 또는 항체 VH 또는 VL 가변 도메인이 후속 생산에 사용할 수 있다.
- [0264] 상기 선별된 결합 구성원의 항체 VH 도메인의 아미노산 서열을 갖는 항체 VH 도메인은, 이러한 VH 도메인을 포함하는 결합 구성원처럼, 단리된 형태로 제공될 수 있다.
- [0265] IL-4R α 에 결합하는 능력 및/또는 IL-4R α 와의 결합에 대해 예를 들어, 모 항체 분자(예를 들어, 항체 1) 또는 최적화된 항체 분자, 항체 2-42(예를 들어, scFv 포맷 및/또는 IgG 포맷, 예를 들어 IgG 1, IgG2 또는 IgG4)와 경쟁하는 능력을 추가로 테스트할 수 있다. IL-4R α 중화 능력도 본 명세서의 다른 부분에서 추가로 설명한 바와 같이, 테스트할 수 있다.
- [0266] 본 발명에 따른 결합 구성원은 예를 들어, scFv 또는 IgG 1 또는 IgG2 또는 IgG4 포맷인, 항체 1 내지 42 중 하나의 친화성으로, 또는 보다 양호한 친화성으로 IL-4R α 에 결합할 수 있다.
- [0267] 본 발명에 따른 결합 구성원은 scFv 또는 IgG 1 또는 IgG2 또는 IgG4 포맷인, 항체 1 내지 42 중 하나의 역가로, 또는 보다 양호한 역가로 IL-4R α 의 생물학적 활성을 중화시킬 수 있다.
- [0268] 상이한 결합 구성원의 결합 친화성 및 중화 역가를 적절한 조건 하에서 비교할 수 있다.
- [0269] 본 명세서에 개시된 항체 분자의 변이체를 본 발명에서 생성시키고 사용할 수 있다. 구조/특성-활성 관계도에 다변수 데이터 분석 기법을 적용하는데서 컴퓨터 화학의 주도 이후(Wold et al. Multivariate data analysis in chemistry. Chemometrics - Mathematics and Statistics in Chemistry (Ed.: B. Kowalski), D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holland, 1984 (ISBN 90-277-1846-6)) 항체의 정량적 활성-특성 관계도는 공지된 수학적 기법 예컨대 통계적 회귀, 패턴 인식 및 분류법을 사용하여 도출될 수 있다(Norman et al. Applied Regression Analysis. Wiley-Interscience; 3rd edition (April 1998) ISBN: 0471170828; Kandel, Abraham & Backer, Computer-Assisted Reasoning in Cluster Analysis. Prentice Hall PTR, (May 11, 1995), ISBN: 0133418847; Principles of Multivariate Analysis: A User's Perspective (Oxford Statistical Science Series, No 22 (Paper)). Oxford University Press; (December 2000), ISBN: 0198507089; Witten & Frank Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques with Java Implementations. Morgan Kaufmann; (October 11, 1999), ISBN: 1558605525; Denison DGT. (Editor), Holmes, CC. et al. Bayesian Methods for Nonlinear Classification and Regression (Wiley Series in Probability and Statistics). John Wiley & Sons; (July 2002), ISBN: 0471490369; Ghose, AK. & Viswanadhan, VN. Combinatorial Library Design and Evaluation Principles, Software, Tools, and Applications in Drug Discovery. ISBN: 0-8247-0487-8). 항체의 특성은 항체 서열, 기능적 및 3차원 구조의 경험적 및 이론적 모델(예를 들어, 접촉 잔기 또는 산출된 물리화학적 특성의 분석)에서 유출할 수 있고, 이들 특성은 단독으로 그리고 조합하여 고려될 수 있다.
- [0270] VH 도메인 및 VL 도메인으로 구성된 항체 항원-결합 부위는 대체로 폴리펩티드의 6 루프: 경쇄 가변 도메인(VL) 유래의 3 루프 및 중쇄 가변 도메인(VH) 유래의 3 루프로 형성된다. 공지된 원자 구조에 대한 항체의 분석은 항체 조합 부위의 3차원 구조 및 서열 간의 관련도를 밝혀냈다(Chothia et al. Journal Molecular Biology

1992227, 799-817, 1992; Al-Lazikani et al. *Journal Molecular Biology* 273(4):927-948, 1997). 이러한 관계도는 VH 도메인 내 제3 영역(루프)를 제외하고, 결합 부위 루프들은 소량의 주쇄 입체구조:표준 구조 중 하나를 갖는다는 것을 의미한다. 특정 루프로 형성되는 표준 구조는 그 크기 및 루프와 프레임워크 영역 둘 모두의 핵심 부위에 일정 잔기의 존재에 따라 결정되는 것으로 확인되었다(Chothia et al, *Journal Molecular Biology* 1992227, 799-817, 1992; Al-Lazikani 상동).

[0271] 서열-구조 관계도 연구는 CDR 루프의 3차 구조를 유지하고 그에 따라 결합 특이성을 유지하는데 중요한, 서열은 공지되었으나, 3차 구조는 미지인 항체에서 잔기들을 예측하는데 사용될 수 있다. 이러한 예측은 선도물질(lead) 최적화 실험에서 얻은 출력물과의 예측치 비교를 통해 뒷받침될 수 있다. 구조적 접근에서, 모델은 임의의 자유로이 입수가능하거나 또는 시판되는 패키지 예컨대 WAM(Whitelegg & Rees, *Prot. Eng.*, 12:815-824, 2000)을 사용하여 항체 분자(Chothia et al. *Science*, 223:755-758, 1986)로 생성시킬 수 있다. 단백질 시각화 및 분석 소프트웨어 패키지 예컨대 Insight II(Accelrys, Inc.) 또는 Deep View(Guex & Peitsch, *Electrophoresis* (1997) 18, 2714-2723)를 사용하여 CDR 내 각 위치에서 가능한 치환을 평가할 수 있다. 이러한 정보를 사용하여 활성에 최소 또는 이로운 효과를 갖도록 치환시킬 수 있을 것이다.

[0272] CDR, 항체 VH 또는 VL 도메인 및 결합 구성원의 아미노산 서열 내에 치환을 만드는데 필요한 기법은 일반적으로 당업계에 잘 알려져 있다. 변이체 서열이 활성에 최소 또는 유익한 효과를 부여할 것으로 예상되거나 그러하지 않은 치환을 갖도록 만들고, IL-4R α 에의 결합 및/또는 중화 능력, 및/또는 다른 바람직한 특성에 대해 시험할 수 있다.

[0273] 본 명세서에 구체적으로 서열이 개시된 임의의 VH 및 VL 도메인의 가변 도메인 아미노산 서열 변이체를 본 명세서에 기술한 바와 같이 본 발명에 따라 적용할 수 있다. 특정 변이체는 1 이상의 아미노산 서열 변경(아미노산 잔기의 부가, 결실, 치환 및/또는 삽입)을 포함할 수 있고, 약 20 이하, 약 15 이하, 약 12 이하, 약 10 이하, 약 6 이하의 변경이 있을 수 있고, 5, 4, 3, 2 또는 1의 변경일 수 있다. 변경은 1 이상의 프레임워크 영역 및/또는 1 이상의 CDR에 존재할 수 있다. 변경은 보통기능 손실을 일으키지 않으며, 따라서 변경된 아미노산 서열을 포함하는 결합 구성원은 IL-4R α 에의 결합 및/또는 중화 능력을 유지할 수 있다. 예를 들어, 본 명세서에 기술된 분석법에서 측정시, 변경이 일어나지 않은 결합 구성원과 동일한 정량적 결합 및/또는 중화 능력을 보유했을 수 있다. 변경된 아미노산 서열을 포함하는 결합 구성원은 개선된 IL-4R α 에의 결합 및/또는 중화 능력을 가질 수 있다. 또한, 항체 20의 무작위 돌연변이 유발로 생성된, 항체 21 내지 42는 대체로 다양한 프레임워크 영역 내에 존재하는, 항체 20에 대응하는 치환을 나타내며, 이들 각각은 여전히 IL-4R α 에의 결합 및/또는 중화 능력이 있으며, 또한 일부는 개선된 IL-4R α 에의 결합 및/또는 중화 능력을 보인다.

[0274] 변경은 하나 이상의 아미노산 잔기를 비천연적으로 발생된 아미노산 또는 비표준 아미노산으로 대체하는 것, 하나 이상의 아미노산 잔기를 비천연적으로 발생된 형태 또는 비표준 형태로 변형시키는 것, 또는 하나 이상의 비천연적으로 발생된 아미노산 또는 비표준 아미노산을 서열 내로 삽입하는 것을 포함할 수 있다. 본 발명의 서열에서 변경의 갯수 및 위치의 예가 본원의 다른 부분에 기재되어 있다. 천연적으로 발생된 아미노산은 20개의 "표준" L-아미노산을 포함하며, 이는 표준 단문자 코드 G, A, V, L, I, M, P, F, W, S, T, N, Q, Y, C, K, R, H, D, E로 표시된다. 비표준 아미노산은 폴리펩티드 골격 내로 도입되거나 또는 기존의 아미노산 잔기를 변형으로 인해 생성된 임의의 다른 아미노산 잔기를 포함한다. 비표준 아미노산은 천연적으로 발생되거나 비천연적으로 발생된 것일 수 있다. 수개의 천연적으로 발생된 비표준 아미노산이 당업계에 알려져 있으며, 예를 들어, 4-하이드록시프롤린, 5-하이드록시리신, 3-메틸히스티딘, N-아세틸세린 등이다(Voet & Voet, *Biochemistry*, 2nd Edition, (Wiley) 1995). N-알파 위치에서 유도체화된 아미노산 잔기는 단지 아미노산 서열의 N-말단에만 위치하게 된다. 보통 본 발명에서 아미노산은 L-아미노산이지만, D-아미노산일 수 있다. 따라서 변경은 L-아미노산을 D-아미노산으로 변형시키거나, 대체하는 것을 포함할 수 있다. 아미노산의 메틸화, 아세틸화 및/또는 포스포릴화된 형태 또한 알려져 있으며, 본 발명의 아미노산을 그와 같이 변형시킬 수 있다.

[0275] 본 발명의 항체 도메인 및 결합 구성원의 아미노산 서열은 상기한 바와 같은 비천연 또는 비표준 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 비표준 아미노산(예를 들어, D-아미노산)이 합성시에 아미노산 서열 내로 도입될 수 있으며, 반면 다른 구체예에서는, 비표준 아미노산이 아미노산 서열 합성 이후에 "원래의" 표준 아미노산의 변형 또는 대체에 의해 도입될 수 있다.

[0276] 비표준 및/또는 비천연적으로 발생된 아미노산의 사용은 구조 및 기능적 다양성을 증가시키며, 따라서 본 발명의 결합 구성원 중에 원하는 IL-4R α 결합 및 중화 특성에 도달할 수 있는 잠재능을 증가시킬 수 있다. 또한, D-아미노산 및 유사체는 표준 L-아미노산과 비교하여 보다 양호한 약물동력학 프로파일을 갖는 것으로 나타났으

며, 이는 동물, 예를 들어, 인간에 투여한 후에 L-아미노산을 갖는 폴리펩티드의 생체내 분해에 기인하는 것이다.

[0277] 본 발명의 CDR-유도된 서열을 보유하는 신규한 VH 또는 VL 영역은 전체 가변 도메인 내에 돌연변이가 일어나도 록 1 이상의 선별된 VH 및/또는 VL 유전자의 무작위 돌연변이유발법을 사용하여 생성될 수 있다. 그러한 기법은 문헌[Gram et. al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 89:3576-3580, 1992]에 기재되어 있는데, 여기서는 에러-프 론(error-prone) PCR을 사용하였다. 일부 구체예에서, 1개 또는 2개의 아미노산 치환이 전체 가변 도메인 또는 CDR 세트 내에 만들어진다. 사용할 수 있는 다른 방법은 VH 또는 VL 유전자의 CDR 영역에 직접 돌연변이를 유발 시키는 것이다. 이러한 기법은 문헌 [Barbas et al. (Proc. Natl. Acad. Sci., 91:3809-3813, 1994) and Schier et al. (J. Mol. Biol. 263:551-567, 1996)]에 기술되어 있다.

[0278] 상기 기술된 모든 기법은 당업계에 그 자체로 알려져 있으며, 당업자는 그러한 기법을 이용하여 당업계의 통상 적인 방법을 사용함으로써 본 발명의 결합 구성원을 제공할 수 있을 것이다.

[0279] 본 발명의 추가의 측면은 IL-4R α 에 대한 항체 항원-결합 부위를 얻는 방법을 제공하고, 이 방법은 본 명세서에 제시된 바와 같은 VH 도메인의 아미노산 서열에 1 이상의 아미노산의 부가, 결실, 치환 또는 삽입을 통해서, VH 도메인의 아미노산 서열 변이체인 VH 도메인을 제공하는 단계, 및 선택적으로 이와 같이 제공된 VH 도메인을 1 이상의 VL 도메인과 조합하는 단계, 및 VH 도메인 또는 VH/VL 조합물 또는 조합물들을 테스트하여, 경우에 따라 1 이상의 기능적 특성, 예를 들어 IL-4R α 활성을 중화하는 능력을 갖는, IL-4R α 에 대한 결합 구성원 또는 항 체 항원-결합 부위를 동정하는 단계를 포함한다. 상기 VL 도메인은 본 명세서에 실질적으로 제시된 바와 같은 아미노산 아미노산 서열을 가질 수 있다. 본 명세서에 개시된 VL 도메인의 1 이상의 서열 변이체를 1 이상의 VH 도메인과 조합하는 유사 방법을 사용할 수 있다.

[0280] 상기 언급한 바와 같이, 본 명세서에서 실질적으로 제시된 바와 같은 CDR 아미노산 서열은 CDR로서 인간 항체 가변 도메인 또는 이의 실질적인 부분에 포함될 수 있다. 본 명세서에 실질적으로 제시된 바와 같은 HCDR3 서열 은 본 발명의 구체예를 대표하며, 예를 들어 이들 각각은 HCDR3로서 인간 중쇄 가변 도메인 또는 이의 실질적인 부분에 함유될 수 있다.

[0281] 본 발명에서 사용되는 가변 도메인은 임의의 배선 또는 재배열된 인간 가변 도메인으로부터 유도되거나 또는 획득될 수 있거나, 또는 공지된 인간 가변 도메인의 공통 또는 실제 서열을 기초로하는 합성 가변 도메인일 수 있 다. 가변 도메인은 비인간 항체로부터 유도될 수 있다. 본 발명의 CDR 서열(예를 들어, CDR3)은 재조합 DNA 기 술을 사용하여 CDR(예를 들어, CDR3)이 결합된 가변 도메인의 레파토리 로 도입될 수 있다. 예를 들어, Marks 등(Bio/Technology, 10:779-783, 1992)은 항체 가변 도메인의 레파토리를 생성하는 방법으로서, 여기서는 가변 도메인 영역의 5' 말단에 지정되거나 또는 이에 인접한 공통 프라이머를 인간 VH 유전자의 제3 프레임워크 영역 에 대한 공통 프라이머와 함께 사용하여 CDR3이 결합된 VH 가변 도메인의 레파토리를 제공하는, 방법을 기술하 고 있다. Marks 등은 또한 어떻게 이러한 레파토리를 특정 항체의 CDR3와 조합할 수 있는가에 대해 기술하고 있 다. 유사한 기법을 사용하여, 본 발명의 CDR3-유도된 서열을 CDR3이 결합된 VH 또는 VL 도메인의 레파토리와 서 플링할 수 있으며, 서플링된 완전한 VH 또는 VL 도메인은 동족 VL 또는 VH 도메인과 조합되어 본 발명의 결합 구성원을 제공한다. 다음으로, 적절한 결합 구성원을 선별할 수 있도록, 레파토리는 적합한 숙주 시스템, 예를 들어, W092/01047(이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킴), 또는 임의의 다수 후속 문헌(Kay, Winter & McCafferty (Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, San Diego: Academic Press, 1996) 포함)의 파지 디스플레이 시스템에서 디스플레이될 수 있다. 레파토리는 10⁴ 이상의 개별 구성원 유래의 임의의 구성원, 예를 들면 10⁵ 이상, 10⁶ 이상, 10⁷ 이상, 10⁸ 이상, 10⁹ 이상, 또는 10¹⁰ 이상의 구성원으로 이 루어질 수 있다. 다른 적절한 숙주 시스템은 이에 제한되는 것은 아니며, 효모 디스플레이, 세균 디스플레이, T7 디스플레이, 바이러스 디스플레이, 세포 디스플레이, 리보솜 디스플레이 및 공유 디스플레이를 포함할 수 있 다.

[0282] 유사한 서플링 또는 조합 기법이 또한 Stemmer(Nature, 370:389-391, 1994) 등에 의해 개시되었는데, Stemmer 는 β -락타마제 유전자와 관련된 기법을 기술하였지만 이 접근법을 항체 생성에 사용할 수 있다는 것을 관찰하 였다.

[0283] IL-4R α 에 대한 결합 구성원을 제조하는 방법을 제공하며, 여기서 이 방법은

[0284] (a) 교체하려는 CDR3을 포함하거나 또는 CDR3 코딩 영역이 결합된 VH 도메인을 코딩하는 핵산의 출발 레파토리

를 제공하는 단계;

- [0285] (b) 도너 핵산이 레파토리의 CDR3 영역으로 삽입되도록, VH CDR3에 대해 본 명세서에서 실질적으로 제시한 바와 같은 아미노산 서열을 코딩하는 도너 핵산을 상기 레파토리와 조합하여, VH 도메인을 코딩하는 핵산의 생성물 레파토리를 제공하는 단계;
- [0286] (c) 상기 생성물 레파토리의 핵산을 발현시키는 단계;
- [0287] (d) IL-4R α 에 대한 결합 구성원을 선별하는 단계; 및
- [0288] (e) 상기 결합 구성원 또는 이를 코딩하는 핵산을 회수하는 단계
- [0289] 를 포함한다.
- [0290] 다시, 본 발명의 VL CDR3을, 교체하려는 CDR3을 포함하거나 또는 CDR3 코딩 영역이 결여된 VL 도메인을 코딩하는 핵산의 레파토리와 조합하는 유사 방법을 사용될 수 있다.
- [0291] 유사하게, 본 명세서에 개시된 다른 VH 및 VL 도메인, CDR 세트 및 HCDR 세트 및/또는 LCDR 세트를 사용할 수 있다.
- [0292] 유사하게, 1 이상, 또는 모든 3 CDR은, 이후 IL-4R α 에 대한 결합 구성원 또는 결합 구성원들을 스크리닝되는 VH 또는 VL 도메인의 레파토리에 그래프팅될 수 있다.
- [0293] 다르게는, 임의의 본 발명의 결합 구성원, 예를 들어 항체 1-42의 VH 및/또는 VL 도메인을 코딩하는 핵산에 대해 돌연변이유발법(표적 또는 무작위)을 수행하여 1 이상의 돌연변이체 핵산을 생성시킬 수 있다. 이러한 서열에 의해 코딩되는 결합 구성원을 이후 생성시킬 수 있다.
- [0294] 일 구체예에서, 1 이상의 항체 1-42 HCDR1, HCDR2 및 HCDR3, 또는 항체 1-42 HCDR 세트를 사용하고/하거나 1 이상의 항체 1-42 LCDR1, LCDR2 및 LCDR3 또는 항체 1-42 LCDR 세트를 사용할 수 있다.
- [0295] 본 발명의 일 측면에 따라서, IL-4R α 에 결합하는 결합 구성원을 생산하는 방법을 제공하고, 이 방법은 VH 도메인 또는 VL 도메인을 코딩하는 핵산, 또는 VH 또는 VL 도메인을 각각 코딩하는 핵산의 출발 레파토리를 제공하는 단계로서, 여기서 VH 또는 VL 도메인은 교체하려는 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3을 포함하거나 또는 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 코딩 영역이 결여된 것인 단계;
- [0296] 상기 출발 핵산 또는 출발 레파토리를, 임의의 항체 1-42의 CDR1, CDR2, 및/또는 CDR3에 대한 아미노산 서열의 돌연변이에 의해 생성되거나 또는 이를 코딩하는 도너 핵산 또는 도너 핵산들과 조합하여, 상기 도너 핵산 또는 도너 핵산들이 출발 핵산 또는 출발 레파토리 내 CDR1, CDR2 및/또는 CDR3 영역에 삽입되도록 하여, VH 또는 VL 도메인을 코딩하는 핵산의 생성물 레파토리를 제공하는 단계;
- [0297] 상기 생성물 레파토리의 핵산을 발현시켜 생성물 VH 또는 VL 도메인을 생성시키는 단계;
- [0298] 경우에 따라 상기 생성물 VH 또는 VL 도메인을 1 이상의 짝(companion) VL 또는 VH 도메인과 조합하는 단계;
- [0299] IL-4R α 에 대한 결합 구성원을 선별하는 단계로서, 여기서 결합 구성원은 생성물 VH 또는 VL 도메인 및 경우에 따라 짝 VL 또는 VH 도메인을 포함하는 것인 단계; 및
- [0300] 상기 결합 구성원 또는 이를 코딩하는 핵산을 회수하는 단계를 포함한다.
- [0301] 특정 구체예에서, 도너 핵산은 여기에 있는 VH 또는 VL 도메인 또는 임의의 CDR 영역의 표적 또는 무작위 돌연변이유발법을 통해 생성된다.
- [0302] 다른 구체예에서, 생성물 VH 또는 VL 도메인은 항체 불변 영역에 부착된다.
- [0303] 다른 구체예에서, 생성물 VH 또는 VL 도메인, 및 짝 VL 또는 VH 도메인은 각각 IgG, scFv 또는 Fab 항체 분자에 포함된다.
- [0304] 다른 구체예에서, 회수된 결합 구성원 또는 항체 분자는 IL-4R α 중화 능력에 대해 테스트된다.
- [0305] 다른 구체예에서, 항체 분자는 1 이상의 추가 성분을 포함하는 조성물로 제제화된다. 이러한 성분은 예를 들어, 불활성 약학 부형제 또는 담체일 수 있다.
- [0306] 일부 구체예에서, 면역글로불린 가변 도메인의 실질적인 부분은, 적어도 3 CDR 영역과, 이들에 개재되는 프레임워크 영역을 함께 포함한다. 이 부분은 또한 제1 및 제4 프레임워크 영역 중 하나 또는 둘 모두의 약 50% 이상

을 포함할 수 있으며, 50%는 제1 프레임워크 영역의 C-말단 50%, 및 제4 프레임워크 영역의 N-말단 50%이다. 가변 도메인의 실질적인 부분의 N-말단 또는 C-말단 단부에서의 추가 잔기는 천연적으로 발생된 가변 도메인 영역과는 보통 연관되지 않는 것일 수 있다. 예를 들어, 재조합 DNA 기법에 의해 제조된 본 발명의 결합 구성원의 제작 결과 클로닝 또는 다른 조작 단계를 용이하게 수행하기 위해서 도입된 링커가 코딩하는 N-또는 C-말단 잔기가 도입될 수 있다. 다른 조작 단계는 본 발명의 가변 도메인을, 항체 불변 영역, 다른 가변 도메인(예를 들어, 디아바디의 생산시) 또는 본 명세서의 다른 부분에서 상세히 설명한 바와 같은 검출가능/기능성 표지를 포함하는 추가 단백질 서열에 연결시키기 위해 링커를 도입하는 것을 포함한다.

[0307] 본 발명의 일부 측면에서, 결합 구성원은 한 쌍의 VH 및 VL 도메인을 포함하지만, VH 또는 VL 도메인 서열에 기초한 단일 결합 도메인이 본 발명의 추가의 측면을 구성한다. 단일 면역글로불린 도메인, 특히 VH 도메인은 특이적인 방식으로 표적 항원에 결합할 수 있는 것으로 알려져 있다. 예를 들면, 상기 dAb에 대한 논의를 참조한다.

[0308] 임의의 단일 결합 도메인의 경우에서, 이러한 도메인은 IL-4R α 에 결합할 수 있는 2-도메인 결합 구성원을 형성할 수 있는 상보적 도메인을 스크리닝하는데 사용될 수 있다. 이는 W092/01047(이를 전체로 참조되어 본원에 포함됨)에 개시된 바와 같은, 소위 계층적 이중 조합 접근법을 사용하는 파지 디스플레이 스크리닝 방법에 의해 달성될 수 있으며, 여기서 H 또는 L 사슬 클론을 함유하는 개별 콜로니를 사용하여 다른 사슬(L 또는 H)을 코딩하는 클론의 완전한 라이브러리를 감염시키고, 생성된 2쇄 결합 구성원을 상기 문헌에 기재되어 있는 바와 같은 파지 디스플레이 기법에 따라 선별한다. 이 기법은 문헌[Marks et al. Bio/Technology, 10:779-783, 1992]에도 개시되어 있다.

[0309] 본 발명의 결합 구성원은 추가로 항체 불변 영역 또는 이의 일부분, 예를 들어, 인간 항체 불변 영역 또는 이의 일부분을 포함할 수 있다. 예를 들어, VL 도메인은 이의 C-말단에서 인간 C κ 또는 C λ 사슬을 포함하는 항체 경쇄 불변 도메인 예를 들어 C λ 사슬에 부착될 수 있다. 유사하게, VH 도메인에 기초한 결합 구성원은 그 C-말단에서 임의의 항체 이소타입, 예를 들어, IgG, IgA, IgD, IgY, IgE 및 IgM, 및 임의의 이소타입 하위부류(예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2)에서 유도된 면역글로불린 중쇄의 전체 또는 부분(예를 들어, CH1 도메인)에 부착될 수 있다. IgG1은 이의 이펙터 기능 및 제조 용이성 덕에 장점을 갖는다. 이러한 특성을 가지며 가변 부위를 안정화시키는 임의의 합성 또는 다른 불변 영역 변이체가 또한 본 발명의 구체예에서 유용하다.

[0310] 용어 "이소타입"은 항체의 중쇄 또는 경쇄 불변 영역의 분류를 의미한다. 항체의 불변 도메인은 항원에 결합하는데 관여되지 않지만, 다양한 이펙터 기능을 나타낸다. 중쇄 불변 영역의 아미노산 서열에 따라서, 주어진 인간 항체 또는 면역글로불린은 면역글로불린의 주요 5 클래스: IgA, IgD, IgE, IgG, 및 IgM 중 하나로 지정된다. 이들 클래스 중 몇몇은 하위클래스(이소타입), 예를 들어 IgG1(감마 1), IgG2(감마 2), IgG3(감마 3), 및 IgG4(감마 4), 및 IgA1 및 IgA2로 더욱 분류될 수 있다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 영역을 각각 α , δ , ϵ , γ , μ 라고 한다. 상이한 클래스의 면역글로불린에 대한 구조 및 3차원 입체구조는 공지되어 있다. 다양한 인간 면역글로불린 클래스 중에서, 인간 IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, 및 IgM 만이 인간에서 ADCC를 매개하는 것으로 알려져 있다. 인간 경쇄 불변 영역은 주요한 2 클래스, 카파 및 람다로 분류될 수 있다.

[0311] 항체 포맷

[0312] 본 발명은 또한 본 발명의 결합 구성원, 구체적으로 IgG 불변 도메인을 변형시킨, 본 발명의 항체를 포함한다. 예컨대 혈청 내에서 긴 반감기 및 다양한 이펙터 기능을 매개하는 능력 등의 기능적 특징을 갖는, 인간 IgG 클래스의 항체를 본 발명의 일부 구체예에서 사용한다(Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Wiley-Liss, Inc., Chapter 1 (1995)). 인간 IgG 클래스 항체는 하기 4 하위클래스로 더욱 분류된다: IgG1, IgG2, IgG3 및 IgG4. 다수의 연구들이 지금까지 IgG 클래스 항체의 이펙터 기능으로서 ADCC 및 CDC에 대해 수행되었고, 인간 IgG 클래스의 항체 중에서, IgG1 하위클래스가 인간에서 최고의 ADCC 활성 및 CDC 활성을 갖는다고 보고되었다 (Chemical Immunology, 65, 88 (1997)).

[0313] "항체 의존적 세포 매개 세포독성" 및 "ADCC"는 비특이적 세포독성 세포(예컨대, 자연 살해(NK) 세포, 호중구 및 대식 세포)가 표적 세포 상에 결합된 항체를 인식하고 이어서 표적 세포의 용해를 야기하는 세포 매개 반응을 의미한다. 일 구체예에서, 이러한 세포는 인간 세포이다. 임의의 특정 작용 기전에 한정하려는 것이 아니지만, ADCC를 매개하는 이러한 세포독성 세포는 일반적으로 FC 수용체(FcR)를 발현한다. ADCC를 매개하기 위한 1차 세포인 NK 세포는 Fc γ RIII를 발현하는데 반해, 단핵구는 Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII 및/또는 Fc γ RIV를 발현한다. 조혈 세포 상에서 FcR 발현은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol., 9:457-92 (1991)]에

요약되어 있다. 분자의 ADCC 활성을 평가하기 위해, U.S. 5,500,362 또는 U.S. 5,821,337호에 기술된 바와 같은, 시험관 내 ADCC 분석을 수행할 수 있다. 이러한 분석에 유용한 이펙터 세포는 말초 혈액 단핵구(PBMC) 및 자연 살해(NK) 세포를 포함한다. 다르게는, 또는 추가로, 목적하는 분자의 ADCC 활성은 예를 들어, 문헌 [Clynes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 95:652-656 (1998)]에 개시된 바와 같은, 동물 모델에서, 생체 내 평가될 수 있다.

- [0314] "보체 의존적 세포독성" 또는 "CDC"는 보체 활성화를 개시하고 보체의 존재 하에 표적을 용해하는 분자의 능력을 의미한다. 보체 활성화 경로는 유사 항원과 복합체화된 분자(예컨대, 항체)에 보체계(C1q)의 제1 성분이 결합되어 개시된다. 보체 활성화를 평가하기 위해, 예컨대, 문헌 [Gazzano-Santaro et al., J. Immunol. Methods, 202:163 (1996)]에 기술된 바와 같은 CDC 분석법을 수행할 수 있다.
- [0315] 인간 IgG1 하위클래스 항체의 ADCC 활성 및 CDC 활성 발현은 이펙터 세포 예컨대 살해 세포, 자연 살해 세포 또는 활성화된 대식 세포의 표면 상에 존재하는 항체에 대한 수용체에 항체의 Fc 영역이 결합하는 것을 포함한다 (이하, "Fc γ R"). 다양한 보체 성분이 결합될 수 있다. 결합과 관련하여, 항체의 C 영역의 제2 도메인(이하 "C γ 2 도메인") 및 힌지 영역 내 몇몇 잔기가 중요하고(Eur. J. Immunol., 23, 1098 (1993), Immunology, 86, 319 (1995), Chemical Immunology, 65, 88 (1997)), C γ 2 도메인 내 당쇄(Chemical Immunology, 65, 88 (1997))가 또한 중요하다고 제안되었었다.
- [0316] "이펙터 세포"는 1 이상의 FcR을 발현하고 이펙터 기능을 수행하는 백혈구이다. 이 세포는 적어도 Fc γ RI, Fc γ RII, Fc γ RIII 및/또는 Fc γ RIV를 발현하고 ADCC 이펙터 기능을 수행한다. ADCC를 매개하는 인간 백혈구의 예로는 말초 혈액 단핵구(PBMC), 자연 살해(NK) 세포, 단핵구, 세포독성 T 세포 및 호중구가 포함된다.
- [0317] 용어 "Fc 수용체" 또는 "FcR"은 항체의 Fc 영역에 결합하는 수용체를 기술하는데 사용된다. 일 구체예에서, FcR은 천연 서열 인간 FcR이다. 또한, 일정 구체예에서, FcR은 IgG가 결합하는 것이고(감마 수용체), Fc γ I, Fc γ RII, Fc γ RIII, 및 Fc γ RIV 하위클래스의 수용체를 포함하고, 여기에는 이들 수용체의 독립유전자 변이체 및 교차 스플라이싱 형태도 포함된다. Fc γ RII 수용체는 Fc γ RIIA("활성화 수용체") 및 Fc γ RIIB("억제 수용체")를 포함하고, 이들은 유사한 아미노산 서열을 갖는데 이의 세포질 도메인에서는 주로 상이하다. 활성화 수용체 Fc γ RIIA는 세포질 도메인에 면역수용체 티로신-기초 활성화 모티프(ITIM)를 포함한다(Daeeon, Annu. Rev. Immunol., 15:203-234 (1997)). FcR은 문헌 [Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol., 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods, 4:25-34 (1994); and de Haas et al., J. Lab. Clin. Med., 126:330-41 (1995)]에 기술되어 있다. 이후에 동정되는 것들을 포함하여, 다른 FcR는 본원에서 용어 "FcR"에 포함된다. 이 용어는 또한 태아에 모체 IgG를 전달하는 것을 담당하는 신생 수용체, FcRn를 포함한다(Guyer et al., Immunol., 117:587 (1976) and Kim et al., J. Immunol., 24:249 (1994)).
- [0318] 항-IL-4R α 항체는 이펙터 기능에 대해 변형되어, 예를 들어 항체의 ADCC 및/또는 보체 의존적 세포독성(CDC)을 향상시킬 수 있다. 이는 항체의 Fc 영역에 1 이상의 아미노산 치환을 도입하여 수행될 수 있다. 시스템인 잔기(들)을 또한 Fc 영역에 도입하여, 이 영역에 사슬간 이황화 결합을 형성시킬 수 있다. 이러한 방법에서는, 세포 내이입 능력이 개선되고, 되거나 보체-매개 세포 살해 및 ADCC가 증가될 수 있는, 동종이량체 항체를 생성시킬 수 있다(Caron et al., J. Exp. Med., 176:1191-1195 (1992) and Shopes, J. Immunol., 148:2918-2922 (1992)). 이중이중기능성 가교제를 또한 사용하여 항종양 활성이 향상된 동종이량체 항체를 생성시킬 수 있다(Wolff et al., Cancer Research, 53:2560-2565 (1993)). 항체는 또한 2 이상의 Fc 영역을 갖도록 조작되어, 그 결과 보체 용해 및 ADCC 능력이 향상될 수 있다(Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design, (3): 219-230 (1989)).
- [0319] 이펙터 기능을 변경하기 위해 항체의 Fc 영역을 조작하는 다른 방법은 당분야에 공지이다(예를 들어, U.S. 공개 특허 출원 20040185045 및 PCT 공개 특허 출원 WO 2004/016750, 둘 모두 Koenig 등이 작성, 여기서는 FC γ RIIA에 대한 결합 친화성과 비교하여 Fc γ RIIB에 대한 결합 친화성이 향상되도록 Fc 영역을 변경시켰음; 또한, PCT 공개 특허 출원 WO 99/58572(Armour et al.), WO 99/51642(Idusogie et al.), 및 U.S. 6,395,272(Deo et al.) 참조; 이들 개시 내용을 전체로 참조하여 포함시킴). Fc γ RIIB에 대한 결합 친화성을 감소시키기 위해 Fc 영역을 변형시키는 방법도 당분야에 공지되어 있다(예를 들어, U.S. 공개 특허 출원 20010036459 및 PCT 공개 특허 출원 WO 01/79299, 둘 모두 Ravetch 등., 이의 개시내용을 전체로 참조하여 포함시킴). 야생형 Fc 영역과 비교 시 FC γ RIIA 및/또는 Fc γ RIIA에 대한 결합 친화성이 향상된 변이체 Fc 영역을 갖는 변형된 항체가 또한 기술되어 있다(예를 들어, PCT 공개 특허 출원 WO 2004/063351, Stavenhagen et al.; 이의 개시내용을 전체로 참조하여 포함시킴).

- [0320] Fc γ R의 상이한 적어도 4 유형이 발견되었는데, 이들을 각각 Fc γ RI(CD64), Fc γ RII(CD32), Fc γ RIII(CD16), 및 Fc γ RIV라고 한다. 인간에서, Fc γ RII 및 Fc γ RIII는 각각 Fc γ RIIa와 Fc γ RIIb, 및 Fc γ RIIIa와 Fc γ RIIIb로 더욱 분류된다. Fc γ R은 면역글로불린 수퍼패밀리에 속하는 막단백질이고, Fc γ RII, Fc γ RIII, 및 Fc γ RIV는 2 면역글로불린-유사 도메인을 함유하는 세포의 영역을 갖는 α 사슬을 가지며, Fc γ RI는 구성 성분으로서, 3 면역글로불린-유사 도메인을 함유하는 세포의 영역을 갖는 α 사슬을 가지고, 이 α 사슬은 IgG 결합 활성을 갖는다. 또한, Fc γ RI 및 Fc γ RIII는 α 사슬과 연관된 신호 전달 기능을 갖는 구성 성분으로서 γ 사슬 또는 ζ 사슬을 갖는다(Annu. Rev. Immunol., 18, 709 (2000), Annu. Rev. Immunol., 19, 275 (2001)). Fc γ RIV은 문헌 [Bruhns et al., Clin. Invest. Med., (Canada) 27:3D (2004)]에 기술되어 있다.
- [0321] 목적하는 항-IL-4R α 항체의 ADCC 활성을 평가하기 위해, 시험관 내 ADCC 분석, 예컨대 U.S. 5,500,362 또는 5,821,337에 기술된 바와 같은 분석법을 사용할 수 있다. 분석은 또한 시판되는 키트, 예를 들어 CytoTox 96?(Promega)를 사용하여 수행할 수 있다. 이러한 분석에 유용한 이펙터 세포는 이에 제한되는 것은 아니고 말초 혈액 단핵 세포(PBMC), 자연 살해(NK) 세포, 및 NK 세포주가 포함된다. 형질전환 Fc 수용체(예를 들어, CD16)을 발현하고 신호전달 폴리펩티드(예를 들어, Fc ϵ RI-g)와 연관된 NK 세포주도 이펙터 세포로 제공될 수 있다(예를 들어, Campbell의 WO 2006/023148 A2). 예를 들어, 보체 활성화 및/또는 ADCC에 의해 표적 세포의 용해를 매개하는 임의의 특정 항체의 능력을 분석할 수 있다. 목적하는 세포를 성장시키고 시험관 내에서 표지한다; 항원 항체 복합체에 의해 활성화될 수 있는 면역 세포, 즉 ADCC 반응에 관여하는 이펙터 세포와 조합된 세포 배양물에 항체를 추가한다. 항체는 또한 보체 활성화에 대해 테스트될 수 있다. 이러한 경우들에서, 표적 세포의 세포용해는 용해된 세포에서 방출되는 표지를 통해 검출된다. 표적 세포 용해 정도는 또한 상등액으로 세포질 단백질(예를 들어, LDH)이 방출되는 것을 검출하여 측정할 수 있다. 사실, 항체는 보체 및/또는 면역 세포의 공급원으로서 환자 자신의 혈청을 사용하여 스크리닝할 수 있다. 시험관 내 테스트에서 인간 ADCC를 매개할 수 있는 항체는 특정 환자에서 치료적으로 사용될 수 있다. 목적하는 분자의 ADCC 활성은 또한, 생체 내에서, 예를 들어, 동물 모델에서 평가할 수 있으며 예컨대 하기 문헌에 개시된 동물 모델을 사용할 수도 있다: Clynes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656 (1998). 또한, 항체의 ADCC 수준, 및 경우에 따라서는 CDC 활성 수준을 조절(즉, 증가시키거나 또는 감소시킴)하기 위한 기술은 당분야에 공지이다. 예를 들어, U.S. 6,194,551을 참고한다. 본 발명의 항체는 ADCC 및/또는 CDC를 유도할 수 있거나 또는 이러한 유도 능력을 갖도록 변형될 수 있다. ADCC 기능을 측정하기 위한 분석은 인간 ADCC 기능을 평가하기 위해 인간 이펙터 세포를 사용하여 실시할 수 있다. 이러한 분석은 또한 괴사 및/또는 아포토시스 기전에 의한 세포 사멸을 유도, 매개, 증강, 차단하는 항체를 스크리닝하고자 하는 분석법들을 포함할 수 있다. 생염료를 이용하는 분석법, 캐스파제 검출 및 분석 방법, 및 DNA 브레이크 측정 분석법을 포함하는 이러한 방법을 사용하여 목적하는 항-IL-4R α 항체로 시험관 내 배양된 세포의 아포토시스 활성을 평가할 수 있다.
- [0322] 예를 들어, 아넥신 V 또는 TdT-매개된 dUTP Nick-말단 표지(TUNEL) 분석법을 문헌 [Decker et al., Blood (USA) 103:2718-2725 (2004)]에 기술된 바대로 수행하여 아포토시스 활성을 검출할 수 있다. TUNEL 분석은 DNA 가닥 브레이크로 도입시키기 위한 플루오레세인 표지된 dUTP와 목적 세포를 배양하는 것을 포함한다. 다음으로, 세포에 대해 유세포 분석을 진행한다. 아넥신 V 분석법은 노출된 포스파티딜세린(PS) 분자를 특이적으로 인식하는 플루오레세인 접합된 아넥신 V를 사용하여 아포토시스 세포의 원형질 막 외부 상에 포스파티딜세린 출현을 검출하는 것이다. 동시에, 생염료 예컨대 프로피듐 요오다이드를 사용하여 후기 아포토시스 세포를 제외시킬 수 있다. 세포를 표지된 아넥신 V로 염색하고 유세포 분석한다.
- [0323] 따라서, 본 발명의 추가 측면에 따라, 본 발명은 결합 구성원, 예를 들어 변형된 Fc 영역을 갖는 항체의 생물학적 이펙터 기능을 변화, 즉, 증가, 감소 또는 제거하도록 변형된, 결합 구성원, 구체적으로 항체를 제공한다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 개시된 바와 같은 결합 구성원 또는 항체는 보체를 고정하고 보체 의존적 세포독성(CDC)에 참여하는 그들의 능력이 향상되도록 변형될 수 있다. 다른 구체예에서, 결합 구성원 또는 항체는 이펙터 세포를 활성화하고 항체 의존적 세포독성(ADCC)에 관여하는 그들의 능력이 향상되도록 변형될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 명세서에 개시된 결합 구성원 또는 항체는 이펙터 세포를 활성화시키고 항체 의존적 세포독성(ADCC)에 관여하는 그들의 능력이 향상되고, 또한 보체를 고정시키고 보체 의존적 세포독성(CDC)에 관여하는 그들의 능력이 향상되도록 변형될 수 있다.
- [0324] 일부 구체예에서, 본 명세서에 개시된 결합 구성원 또는 항체는 보체를 고정하고 보체 의존적 세포독성(CDC)에 관여하는 그들의 능력이 감소되도록 변형될 수 있다. 다른 구체예에서, 결합 구성원 또는 항체는 이펙터 세포를 활성화하고 항체 의존적 세포독성(ADCC)에 관여하는 그들의 능력이 감소되도록 변형될 수 있다. 또 다른 구체예에서, 본 명세서에 개시된 결합 구성원 또는 항체는 이펙터 세포를 활성화시키고 항체 의존적 세포독성(ADCC)에

관여하는 능력이 감소되고, 또한 보체를 고정하고 보체 의존적 세포독성(CDC)에 관여하는 능력이 감소되도록 변형될 수 있다.

- [0325] 일 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비해 ADCC 활성이 증강된다. 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 ADCC 활성이 비교되는 분자보다 적어도 2배, 또는 적어도 3배, 또는 적어도 5배 또는 적어도 10배 또는 적어도 50배 또는 적어도 100배 높다. 다른 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비해서 Fc 수용체 FcγRIIIA에 대한 결합이 증강되고 ADCC 활성이 향상된다. 다른 구체예에서, Fc 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비해서 ADCC 활성 및 혈청 반감기 둘 모두가 향상된다.
- [0326] 일 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비해 ADCC 활성이 감소된다. 특정 구체예에서, Fc 영역을 갖는 결합 구성원은 ADCC 활성이 비교되는 분자 보다 적어도 2배, 또는 적어도 3배, 또는 적어도 5배 또는 적어도 10배 또는 적어도 50배 또는 적어도 100배 낮다. 다른 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비하여 Fc 수용체 FcγRIIIA에 대한 결합이 감소하고 ADCC 활성도 감소한다. 다른 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비하여 ADCC 활성은 감소되고 혈청 반감기는 향상된다.
- [0327] 일 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비해 CDC 활성이 향상된다. 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 CDC 활성이 비교되는 분자 보다 적어도 2배, 또는 적어도 3배, 또는 적어도 5배 또는 적어도 10배 또는 적어도 50배 또는 적어도 100배 높다. 다른 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비해서 CDC 활성이 향상되고 혈청 반감기도 증가된다.
- [0328] 일 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비하여 1 이상의 Fc 리간드에 대한 결합이 감소된다. 다른 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 리간드에 대한 친화성이 비교되는 분자 보다 적어도 2배, 또는 적어도 3배, 또는 적어도 5배, 또는 적어도 7배, 또는 적어도 10배, 또는 적어도 20배, 또는 적어도 30배, 또는 적어도 40배, 또는 적어도 50배, 또는 적어도 60배, 또는 적어도 70배, 또는 적어도 80배, 또는 적어도 90배, 또는 적어도 100배, 또는 적어도 200배 낮다. 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 수용체에 대한 결합이 감소된다. 다른 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 수용체 FcγRIIIA에 대한 결합이 감소된다. 추가의 특정 구체예에서, 본 명세서에 기술된 Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 수용체 FcγRIIIA에 대한 친화성이 비교되는 분자보다 적어도 약 5배 낮고, 여기서 상기 Fc 변이체는 Fc 수용체 FcγRIIB에 대한 친화성이 비교되는 분자의 약 2배 내이다. 또 다른 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 수용체 FcRn에 대한 결합이 감소된다. 또 다른 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비해 C1q에 대한 결합이 감소된다.
- [0329] 일 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비하여 1 이상의 Fc 리간드(들)에 대해 향상된 결합성을 갖는다. 다른 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자보다 적어도 2배, 또는 적어도 3배, 또는 적어도 5배, 또는 적어도 7배, 또는 적어도 10배, 또는 적어도 20배, 또는 적어도 30배, 또는 적어도 40배, 또는 적어도 50배, 또는 적어도 60배, 또는 적어도 70배, 또는 적어도 80배, 또는 적어도 90배, 또는 적어도 100배, 또는 적어도 200배 높은 Fc 리간드에 대한 친화성을 갖는다. 특정 구체예, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 수용체에 대해 향상된 결합성을 갖는다. 다른 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 수용체 FcγRIIIA에 대해 향상된 결합성을 갖는다. 추가의 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 수용체 FcγRIIB에 대해 향상된 결합성을 갖는다. 또 다른 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 Fc 수용체 FcRn에 대해 향상된 결합성을 갖는다. 또 다른 특정 구체예에서, Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원은 비교되는 분자에 비해 C1q에 대해 향상된 결합성을 갖는다.
- [0330] 일 구체예에서, 본 발명의 항-IL-4Rα 항체는 변이체 Fc 도메인을 포함하고, 여기서 상기 변이체 Fc 도메인은 비교되는 비변이체 Fc 도메인에 비하여 Fc 감마 수용체 IIB에 대한 결합 친화성이 향상되었다. 추가 구체예에서, 본 발명의 항-IL-4Rα 항체는 변이체 Fc 도메인을 포함하고, 여기서 상기 변이체 Fc 도메인은 비교되는 비변이체 Fc 도메인 보다 적어도 2배, 또는 적어도 3배, 또는 적어도 5배, 또는 적어도 7배, 또는 적어도 10배, 또는 적어도 20배, 또는 적어도 30배, 또는 적어도 40배, 또는 적어도 50배, 또는 적어도 60배, 또는 적어도 70배, 또는 적어도 80배, 또는 적어도 90배, 또는 적어도 100배, 또는 적어도 200배 높은 Fc 감마 수용체 IIB에 대한 친화성을 갖는다.
- [0331] 일 구체예에서, 본 발명은 Fc 변이체 영역을 갖는 결합 구성원 또는 이를 포함하는 제형을 제공하며, 여기서 Fc 영역은 카바트로 나타낸 바와 같은 EU 지수로 번호화시, 228, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 243,

244, 245, 247, 251, 252, 254, 255, 256, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 279, 280, 284, 292, 296, 297, 298, 299, 305, 313, 316, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 339, 341, 343, 370, 373, 378, 392, 416, 419, 421, 440 및 443으로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 위치에 비천연 아미노산 잔기를 포함한다. 경우에 딸, Fc 영역은 당분야의 숙련자에게 공지된 추가 및/또는 대안적인 위치에 비천연 아미노산 잔기를 포함할 수 있다(U.S. 특허 5,624,821; 6,277,375; 6,737,056; PCT 공개 특허 출원 WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752; WO 04/074455; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 05/070963; WO 05/040217, WO 05/092925 및 WO 06/020114).

[0332] "비천연 아미노산 잔기"는 천연 발생 단백질 내 언급된 위치에는 존재하지 않는 아미노산 잔기를 의미한다. 대체로, 이는 다른 20개 천연 발생(공통) 아미노산 또는 비고전적 아미노산 또는 화학적 아미노산 유사체 중 하나를 포함할 수 있는, 1 이상의 다른 잔기로 천연/자연적 아미노산 잔기가 치환되는 것을 의미한다. 비고전적 아미노산은 이에 제한되는 것은 아니고 공통 아미노산의 D-이성질체, α -아미노 이소부티르산, 4-아미노부티르산, Abu, 2-아미노부티르산, γ -Abu, ϵ -Ahx, 6-아미노 헥산산, Aib, 2-아미노 이소부티르산, 3-아미노 프로피온산, 오르니틴, 노르루신, 노르발린, 히드록시프롤린, 사크로신, 시트룰린, 시스스산, t-부틸글리신, t-부틸알라닌, 페닐글리신, 시클로헥실알라닌, β -알라닌, 플루오로-아미노산, 디자이너 아미노산 예컨대 β -메틸 아미노산, C α -메틸 아미노산, N α -메틸 아미노산, 및 아미노산 유사체 등을 포함한다.

[0333] 특정 구체예에서, 본 발명은 변이체 Fc 영역을 갖는 결합 구성원 또는 변이체 Fc 영역을 갖는 이러한 결합 구성원을 포함하는 제형을 제공하며, 여기서 Fc 영역은 카밧에서 나타낸 바와 같이 EU 지수로서 번호화된 234D, 234E, 234N, 234Q, 234T, 234H, 234Y, 234I, 234V, 234F, 235A, 235D, 235R, 235W, 235P, 235S, 235N, 235Q, 235T, 235H, 235Y, 235I, 235V, 235F, 236E, 239D, 239E, 239N, 239Q, 239F, 239T, 239H, 239Y, 240I, 240A, 240T, 240M, 241W, 241 L, 241Y, 241E, 241 R, 243W, 243L 243Y, 243R, 243Q, 244H, 245A, 247L, 247V, 247G, 251F, 252Y, 254T, 255L, 256E, 256M, 262I, 262A, 262T, 262E, 263I, 263A, 263T, 263M, 264L, 264I, 264W, 264T, 264R, 264F, 264M, 264Y, 264E, 265G, 265N, 265Q, 265Y, 265F, 265V, 265I, 265L, 265H, 265T, 266I, 266A, 266T, 266M, 267Q, 267L, 268E, 269H, 269Y, 269F, 269R, 270E, 280A, 284M, 292P, 292L, 296E, 296Q, 296D, 296N, 296S, 296T, 296L, 296I, 296H, 296G, 297S, 297D, 297E, 298H, 298I, 298T, 298F, 299I, 299L, 299A, 299S, 299V, 299H, 299F, 299E, 305I, 313F, 316D, 325Q, 325L, 325I, 325D, 325E, 325A, 325T, 325V, 325H, 327G, 327W, 327N, 327L, 328S, 328M, 328D, 328E, 328N, 328Q, 328F, 328I, 328V, 328T, 328H, 328A, 329F, 329H, 329Q, 330K, 330G, 330T, 330C, 330L, 330Y, 330V, 330I, 330F, 330R, 330H, 331G, 331A, 331L, 331M, 331F, 331W, 331K, 331Q, 331E, 331S, 331V, 331I, 331C, 331Y, 331H, 331R, 331N, 331D, 331T, 332D, 332S, 332W, 332F, 332E, 332N, 332Q, 332T, 332H, 332Y, 332A, 339T, 370E, 370N, 378D, 392T, 396L, 416G, 419H, 421K, 440Y 및 434W로 구성된 군에서 선택된 1 이상의 비천연 아미노산 잔기를 포함한다. 선택적으로, Fc 영역은 당분야의 숙련자에게 공지된 추가 및/또는 대안적인 비천연 아미노산 잔기를 포함할 수 있다(예를 들어, 하기 문헌 참조; U.S.5,624,821; 6,277,375; 6,737,056; PCT 공개 특허 출원 WO 01/58957; WO 02/06919; WO 04/016750; WO 04/029207; WO 04/035752 및 WO 05/040217).

[0334] 본 명세서에서 사용되는 Fc 영역은 제1 불변 영역 면역글로불린 도메인을 제외하고 항체의 불변 영역을 포함하는 폴리펩티드를 포함하는 것으로 이해한다. 따라서, Fc는 IgA, IgD, 및 IgG의 마지막 2 불변 영역 면역글로불린, 및 IgE와 IgM의 마지막 3 불변 영역 면역글로불린 도메인, 및 이들 도메인에 대한 탄성 힌지 N 말단을 의미한다. IgA 및 IgM의 경우, Fc는 J 사슬을 포함할 수 있다. IgG의 경우, Fc는 면역글로불린 도메인 C γ 2 및 C γ 3 감마3(C γ 2 및 C γ 3) 및 C γ 1(C γ 1)와 C γ 2(C γ 2) 사이의 힌지를 포함한다. Fc 영역의 경계가 다양할 수 있지만, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 일반적으로 잔기 C226 또는 P230 내지 이의 카르복실 말단을 포함하는 것으로 정해지며, 여기서 번호화는 [Kabat et al. 1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, VA]에서 처럼 EU 지수에 따른다. "카밧에 나타낸 바와 같은 EU 지수"는 문헌 [Kabat et al. 상동]에 기술된 바와 같이 인간 IgG1 EU 항체의 잔기 번호화를 의미한다. Fc는 단리된 이 영역, 또는 항체, 항체 단편, 또는 Fc 융합 단백질에서 이 영역을 의미한다. 변이체 Fc 단백질은 이에 제한되는 것은 아니고, Fc의 비천연 발생 변이체인, 변이체 Fc 영역을 포함하는 단백질을 비롯하여, Fc 영역을 포함하는 항체, Fc 융합체, 또는 임의의 단백질 또는 단백질 도메인일 수 있다.

[0335] 본 발명은 비교되는 분자(예를 들어, 야생형 Fc 영역을 갖는 것을 제외하고는 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질)에 비하여 Fc 리간드(예를 들어, Fc 수용체, C1q)에 대한 결합 특성이 변경된, 변이체 Fc 영역을 갖는 결합 구성원을 포함한다. 결합 특성의 예는 이에 제한되는 것은 아니고, 결합 특이성, 평형 해리 상수 (K_D), 해리 및 결합 속도(각각 k_{off} 및 k_{on}), 결합 친화성 및/또는 화합력을 포함한다. K_D 가 낮은 결합 분자(예를 들어, 변이

체 Fc 단백질 예컨대 항체)가 높은 K_D 를 갖는 결합 분자보다 바람직하다고 통상 이해된다. 그러나, 일부 예에서, k_{on} 또는 k_{off} 의 값이 K_D 값 보다 더 적절할 수 있다. 당분야의 숙련가는 주어진 항체 용도를 위해서 어떠한 동역학 변수가 가장 중요한지 결정할 수 있다.

[0336] 그의 리간드에 대한 Fc 도메인의 친화성 및 결합 특성은 Fc-Fc γ R 상호작용, 즉 Fc γ R에 대한 Fc 영역의 특이적 결합을 측정하기 위한 당분야에 공지된 다양한 시험관 내 분석 방법(생화학적 또는 면역학적 기반 분석법), 예를 들어 이에 제한되는 것은 아니고, 평형 방법(예를 들어, 효소 연결 면역흡착 분석법(ELISA), 또는 방사면역분석법(RIA)), 또는 동역학(예를 들어, BIACORE[®] 분석법)을 비롯하여, 다른 방법 예컨대 비간접 결합 분석법, 경쟁적 억제 분석법, 형광발광 공명 에너지 전이(FRET), 겔 전기영동 및 크로마토그래피(예를 들어, 겔 여과법) 등을 통해 측정할 수 있다. 이들 및 다른 방법들은 시험하려는 1 이상의 성분 상의 표지를 활용하고/하거나 이에 제한되는 것은 아니고, 발색, 형광발광, 발광 또는 동위원소 표지를 포함하여, 다양한 검출 방법을 채택할 수 있다. 결합 친화성 및 동역학에 대한 상세한 설명은 문헌 [Paul, W.E., ed., Fundamental Immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)]에서 확인가능하며, 여기서는 항체-면역원 상호작용에 초점을 맞추었다. Fc 영역을 포함하는 단백질의 혈청 반감기는 FcRn에 대한 Fc 영역의 결합 친화성이 증가함에 따라 증가될 수 있다. 일 구체예에서, Fc 변이체 단백질은 비교되는 분자에 비하여 혈청 반감기가 증가된다.

[0337] 본 명세서에서 사용되는 용어 "항체 반감기"는 그들의 투여 후 항체 분자의 평균 생존 시간의 측정값인, 항체의 약물동역학적 특성을 의미한다. 항체 반감기는 예를 들어, 혈청 또는 혈장에서 측정시, 즉, 순환 반감기, 또는 다른 조직에서 측정시, 환자의 신체 또는 이의 특정 구획으로부터 기지량의 면역글로불린 50%가 제거되는데 요구되는 시간으로 나타낼 수 있다. 반감기는 면역글로불린이나 또는 면역글로불린 클래스에 따라 다양할 수 있다. 대체로, 항체 반감기 증가는 투여된 항체가 순환계에 체류하는 평균 체류 시간(MRT)을 증가시킨다.

[0338] 일정 구체예에서, 본 발명의 항-IL-4R α 항체 또는 조성물 및 방법의 반감기는 적어도 약 4~7일이다. 일정 구체예에서, 본 발명의 조성물 및 방법의 항-IL-4R α 항체의 평균 반감기는 적어도 약 2~5일, 3~6일, 4~7일, 5~8일, 6~9일, 7~10일, 8~11일, 8~12, 9~13, 10~14, 11~15, 12~16, 13~17, 14~18, 15~19, 또는 16~20일이다. 다른 구체예에서, 본 발명의 조성물 및 방법의 항-IL-4R α 항체의 평균 반감기는 적어도 약 17~21일, 18~22일, 19~23일, 20~24일, 21~25 일, 22~26일, 23~27일, 24~28일, 25~29일, 또는 26~30일이다. 추가의 구체예에서, 본 발명의 조성물 및 방법의 항-IL-4R α 항체의 반감기는 최대 약 50일일 수 있다. 일정 구체예에서, 본 발명의 조성물 및 방법의 항체의 반감기는 당분야에 공지된 방법에 의해 연장시킬 수 있다. 이러한 연장은 이번에는 항체 조성물의 투여량 및/또는 빈도를 감소시킬 수 있다. 생체 내 반감기가 개선된 항체 및 이의 제조 방법은 U.S.6,277,375, U.S.7,083,784; 및 국제 공개 특허 출원 WO 98/23289 및 WO 97/3461에 개시되어 있다.

[0339] 생체 내 항-IL-4R α 항체의 혈청 순환은 또한 불활성 중합체 분자 예컨대 고분자량 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 항체에, 다기능성 링커를 사용하거나 또는 사용하지 않고, 항체의 N-말단 또는 C-말단에 PEG의 부위 특이적 접합을 통해서 또는 리실 잔기에 존재하는 엡실론-아미노기를 통해서 부착시켜 연장될 수 있다. 생물학적 활성이 최소로 손실되도록 선형 또는 분지형 중합체 유도법을 사용할 수 있다. 접합도를 SDS-PAGE 및 질량 분광분석법으로 면밀하게 모니터링하여 항체에 PEG 분자가 적절하게 접합되는 것을 보장할 수 있다. 미반응된 PEG는 크기 배제 또는 이온교환 크로마토그래피를 통해 항체-PEG 접합체로부터 분리될 수 있다. PEG-유도된 항체는 결합 활성을 비롯하여 생체 내 효능에 대해, 당분야의 숙련가에게 공지된 방법, 예를 들어 본 명세서에 기술된 면역분석법을 사용하여 테스트될 수 있다.

[0340] 추가로, 본 발명의 조성물의 항체 및 방법은 항체를 생체 내에서 보다 안정하게 만들거나 또는 보다 긴 생체 내 반감기를 갖도록 알부민에 접합될 수 있다. 이러한 기술은 당분야에 공지이며, 예를 들어 국제 공개 특허 출원 WO 93/15199, WO 93/15200, 및 WO 01/77137; 및 유럽 특허 EP 413, 622에 개시되어 있고, 이들 전체는 참조되어 본원에 포함된다.

[0341] 일정 구체예에서, 본 명세서에 기술된 바와 같은 결합 구성원 또는 항체 및 본 발명의 조성물의 반감기는 적어도 약 4~7일이다. 일부 구체예에서, 본 명세서에 개시된 결합 구성원 또는 항체 및 본 발명의 조성물의 평균 반감기는 적어도 약 2~5일, 3~6일, 4~7일, 5~8일, 6~9일, 7~10일, 8~11일, 8~12, 9~13, 10~14, 11~15, 12~16, 13~17, 14~18, 15~19, 또는 16~20일이다. 다른 구체예에서, 본 명세서에 개시된 결합 구성원 또는 항체 및 본 발명의 조성물의 평균 반감기는 적어도 약 17~21일, 18~22일, 19~23일, 20~24일, 21~25일, 22~26일, 23~27일, 24~28일, 25~29일, 또는 26~30일이다. 또 다른 구체예에서, 본 명세서에 개시된 결합 구성원 또는 항체 및 본 발명의 조성물의 반감기는 최대 약 50일일 수 있다. 일정 구체예에서, 본 발

명의 항체 및 조성물의 반감기는 당분야에 공지된 방법에 따라 연장시킬 수 있다. 이러한 연장은 이번에는 항체 조성물의 투여량 및/또는 투여 빈도를 줄일 수 있다. 생체 내 반감기가 개선된 항체 및 이를 제조하는 방법은 예를 들어 U.S.6,277,375; U.S.7,083,784; 및 국제 공개 특허 출원 WO 1998/23289 및 WO 1997/34361에 개시되어 있다.

[0342] 다른 구체예에서, 본 발명은 결합 구성원, 구체적으로 변이체 Fc 영역을 갖는 항체, 또는 이를 포함하는 제제를 제공하고, 여기서 Fc 영역은 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로 번호화시, 239, 330 및 332로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 위치에 1 이상의 비천연 변형을 포함한다. 특정 구체예에서, 본 발명은 Fc 변이체를 제공하고, 여기서 Fc 영역은 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로서 번호화시 239D, 330L 및 332E로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 비천연 아미노산을 포함한다. 경우에 따라, Fc 영역은 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수에 의해 번호화시 252, 254, 및 256으로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 위치에 추가적인 비천연 아미노산을 더 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명은 Fc 변이체를 제공하고, 여기서 Fc 영역은 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로 번호화시 239D, 330L 및 332E로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 비천연 아미노산; 및 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로서 번호화시, 252Y, 254T 및 256E로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 위치에 1 이상의 비천연 아미노산을 포함한다.

[0343] 다른 구체예에서, 본 발명은 결합 구성원, 특히 변이체 Fc 영역을 갖는 항체, 또는 이를 포함하는 제제를 제공하고, 여기서 Fc 영역은 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로 번호화시 234, 235 및 331로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 위치에 1 이상의 비천연 아미노산을 포함한다. 특정 구체예에서, 본 발명은 Fc 변이체를 제공하고, 여기서 Fc 영역은 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로 번호화시 234F, 235F, 235Y, 및 331S로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 비천연 아미노산을 포함한다. 추가의 특정 구체예에서, 본 발명의 Fc 변이체는 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로서 번호화시, 234F, 235F, 및 331S 아미노산 잔기를 포함한다. 다른 특정 구체예에서, 본 발명의 Fc 변이체는 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로서 번호화시 234F, 235Y, 및 331S 아미노산 잔기를 포함한다. 경우에 따라, Fc 영역은 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로 번호화시 252, 254, 및 256로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 위치에 추가적인 비천연 아미노산 잔기를 더 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 본 발명은 Fc 변이체를 제공하며, 여기서 Fc 영역은 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로 번호화시 234F, 235F, 235Y, 및 331S로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 비천연 아미노산; 및 카밧으로 나타낸 바와 같이 EU 지수로서 번호화시, 252Y, 254T 및 256E로 이루어진 군에서 선택된 1 이상의 위치에 1 이상의 비천연 아미노산을 포함한다.

[0344] 특정 구체예에서, 본 발명은 변이체 Fc 영역을 갖는 본 발명의 결합 구성원을 제공하고, 여기서 변이체는 카밧에서 나타낸 바와 같은 EU 지수로 번호화한, 위치 252에 티로신(Y) 잔기, 위치 254에 트레오닌(T) 잔기 및 위치 256에 글루탐산(E) 잔기를 포함한다.

[0345] 카밧에서 나타낸 바와 같은 EU 지수로서 번호화시, M252Y, S254T 및 T256E 돌연변이, 이하 YTE 돌연변이가 특정 IgG1 항체 분자의 혈청 반감기를 증가시킨다는 것이 보고된 바 있다(Dall'Acqua et al. J. Biol. Chem. 281(33):23514-23524, 2006).

[0346] 추가 구체예에서, 본 발명은 변이체 Fc 영역을 갖는 본 발명의 결합 구성원을 제공하고, 여기서 변이체는, 카밧에 나타낸 바와 같은 EU 지수로 번호화시 위치 252에 티로신(Y) 잔기, 위치 254에 트레오닌(T) 잔기, 위치 256에 글루탐산(E) 잔기, 및 위치 241에 프롤린(P) 잔기를 포함한다.

[0347] 카밧으로 나타낸 바와 같은 EU 지수로 번호화시 세린228프롤린 돌연변이(S228P), 이하 P 돌연변이는 특정 IgG4 분자의 안정성을 증가시킨다고 보고된 바 있다(Lu et al., J Pharmaceutical Sciences 97(2):960-969, 2008). 주목할 것은, Lu 등의 문헌에서, 위치 241로서 언급되어 있는데, 여기서 이들은 카밧으로 나타낸 바와 같은 "EU 지수"가 아닌 카밧 번호화 시스템을 사용하였기 때문이다.

[0348] 이 P 돌연변이는 L235E와 조합되어 추가로 ADCC를 Nick아웃시킬 수 있다. 이러한 돌연변이 조합을 이하에서는 이중 돌연변이(DM)라 한다.

[0349] 특정 구체예에서, 본 발명은 변이체 Fc 영역을 갖는 본 발명의 결합 구성원을 제공하고, 여기서 변이체는 카밧으로 나타낸 바와 같은 EU 지수로 번호화시, 위치 234에 페닐알라닌(F) 잔기, 위치 235에 페닐알라닌(F) 잔기 또는 글루탐산(E) 잔기, 및 위치 331에 세린(S) 잔기를 포함한다. 이러한 돌연변이 조합을 이하에서는 삼중 돌연변이체(TM)라 한다.

[0350] 추가 구체예에 따라, 본 발명은 Fc 영역에 YTE 돌연변이를 갖는 IgG1 포맷으로 본 발명의 항체를 제공한다.

- [0351] 추가 구체예에 따라, 본 발명은 Fc 영역에 TM 돌연변이를 갖는 IgG1 포맷으로 본 발명의 항체를 제공한다.
- [0352] 추가 구체예에 따라, 본 발명은 Fc 영역에 YTE 돌연변이 및 TM 돌연변이를 갖는 IgG1 포맷으로 본 발명의 항체를 제공한다.
- [0353] 구체예에 따라, 본 발명은 Fc 영역에 YTE 및 P 돌연변이를 갖는 IgG4 포맷으로 본 발명의 항체를 제공한다.
- [0354] 구체예에 따라, 본 발명은 Fc 영역에 YTE 및 DM 돌연변이를 갖는 IgG4 포맷으로 본 발명의 항체를 제공한다.
- [0355] 본 발명의 특정 구체예에 따라, 본 발명은 IgG1 YTE, IgG1 TM, IgG1 TM+YTE, IgG4 P, IgG4 DM, IgG4 YTE, IgG4 P+YTE 및 IgG4 DM+YTE에서 선택된 포맷으로 본 발명의 항체를 제공한다.
- [0356] 사용되는 명명법에서, DM + YTE는 불변 도메인 Fc 영역이 이중 돌연변이(S228P 및 L235E) 및 YTE 돌연변이(M252Y, S254T 및 T256E) 둘 모두를 소유하는 것을 의미하는 것으로 이해한다.
- [0357] 비천연 발생 Fc 영역을 생성하는 방법은 당분야에 공지되어 있다. 예를 들어, 아미노산 치환 및/또는 결실은 이에 제한되지 않지만, 부위 지정 돌연변이 유발법(Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488-492, 1985), PCR 돌연변이 유발법(Higuchi, in "PCR Protocols: A Guide~Methods and Applications", Academic Press, San Diego, pp. 177-183, 1990), 및 카세트 돌연변이 유발법(Wells et al., Gene 34:315-323, 1985)을 포함하는, 돌연변이 유발 방법을 통해 생성될 수 있다. 바람직하게, 부위 지정 돌연변이 유발법은 중첩-확장 PCR 방법(Higuchi, in "PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification", Stockton Press, New York, pp. 61-70, 1989)에 의해 수행된다. 중첩-확장 PCR 방법(Higuchi, ibid.)은 또한 임의의 목적하는 돌연변이(들)를 표적 서열(출발 DNA)에 도입시키는데 사용될 수 있다. 예를 들어, 중첩-확장 방법에서 PCR의 제1 라운드는 외부 프라이머(프라이머 1) 및 내부 돌연변이유발(프라이머 3), 및 개별적으로 제2 외부 프라이머(프라이머 4) 및 내부 프라이머(프라이머 2)를 사용하여 표적 서열을 증폭시켜서, 2개의 PCR 절편(절편 A 및 B)를 생성시키는 것을 포함한다. 내부 돌연변이유발 프라이머(프라이머 3)는 목적하는 돌연변이(들)를 특정하는 표적 서열에 대한 미스매치를 포함하도록 설계된다. PCR의 제2 라운드에서, PCR의 제1 라운드에서 얻은 생성물(절편 A 및 B)은 2 외부 프라이머(프라이머 1 및 4)를 사용하여 PCR로 증폭시킨다. 얻어진 전체 길이 PCR 절편(절편 C)을 제한효소로 분해하고 얻어진 제한효소 단편을 적절한 벡터에 클로닝한다. 돌연변이 유발의 제1 단계로서, 출발 DNA(예를 들어, Fc 융합 단백질, 항체 또는 단순히 Fc 영역을 코딩함)는 돌연변이유발 벡터에 작동적으로 클로닝된다. 프라이머는 목적하는 아미노산 치환을 반영하도록 설계된다. 변이체 Fc 영역을 생성하기 위해 유용한 다른 방법도 당분야에 공지되어 있다(U.S. 특허 5,624,821; 5,885,573; 5,677,425; 6,165,745; 6,277,375; 5,869,046; 6,121,022; 5,624,821; 5,648,260; 6,528,624; 6,194,551; 6,737,056; 6,821,505; 6,277,375; U.S. 공개 특허 출원 2004/0002587 및 PCT 공개 특허출원 WO 94/29351; WO 99/58572; WO 00/42072; WO 02/060919; WO 04/029207; WO 04/099249; WO 04/063351; WO 06/23403를 참조한다).
- [0358] 본 발명의 일부 구체예에서, 본원에서 제공되는 결합 구성원의 글리코실화 패턴을 변형시켜서 ADCC 및 CDC 이펙터 기능을 향상시킬 수 있다(Shields RL et al., JBC. 277:26733-26740, 2002; Shinkawa T et al., JBC. 278:3466-3473, 2003; 및 Okazaki A et al., J. Mol. Biol., 336:1239, 2004). 일부 구체예에서, Fc 변이체 단백질은 1 이상의 조작된 당형태, 즉 Fc 영역을 포함하는 분자에 공유적으로 부착된 탄화수소 조성을 포함한다. 조작된 당형태는 이에 제한되는 것은 아니며 이펙터 기능을 향상시키거나 감소시키는 것을 비롯하여, 다양한 목적에 유용할 수 있다. 조작된 당형태는 당분야의 숙련가에게 공지된 임의 방법, 예를 들어 조작된 발현 균주 또는 변이체 발현 균주를 사용하거나, 1 이상의 효소, 예를 들어 DI N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라제 III(GnTIII)를 공동발현시키거나, 또는 다양한 유기체 또는 다양한 유기체 유래 세포주에서 Fc 영역을 포함하는 분자를 발현시키거나, 또는 Fc 영역을 포함하는 분자가 발현된 후 탄수화물(들)을 변형시켜, 생성될 수 있다. 조작된 당형태를 생성하는 방법은 당분야에 공지이고, 이에 제한되는 것은 아니나, 하기 문헌들에 기술된 것을 포함한다: Umana et al, Nat. Biotechnol 17:176-180, 1999; Davies et al., Biotechnol Bioeng 74:288-294, 2007; Shields et al, J Biol Chem 277:26733-26740, 2002; Shinkawa et al., J Biol Chem 278:3466-3473, 2003) U.S.6,602,684; U.S. 특허 출원 10/277,370; U.S. 특허 출원 10/113,929; PCT WO 00/61739A1; PCT WO 01/292246A1; PCT WO 02/311140A1; PCT WO 02/30954A1; Potillegent™ technology(Biowa, Inc. Princeton, N.J.); GlycoMab™ glycosylation engineering technology(Glycart Biotechnology AG, Zurich, Switzerland). 예를 들어, WO 00/061739; EA01229125; US 20030115614; Okazaki et al., JMB. 336:1239-49, 2004를 참조한다.
- [0359] 본 발명의 결합 구성원은 검출가능 또는 기능성 표지로 표지화될 수 있다. 표지는 이에 제한되는 것은 아니고,

형광물질, 방사성표지, 효소, 화학발광 물질 또는 감광성 물질을 포함하여, 신호를 생성하거나 또는 신호 생성을 유도할 수 있는 임의의 분자일 수 있다. 따라서, 결합은 형광발광, 발광, 방사능, 효소 활성 또는 흡광성을 검출하여 측정 및/또는 검출할 수 있다.

[0360] 적절한 표지는 제한없이 설명을 위해, 효소 예컨대 알칼리 포스파타제, 글루코스-6-포스페이트 디히드로게나제 ("G6PDH") 및 홀스래디쉬 퍼옥시다제; 염료; 형광물질 예컨대 플루오레세인, 로다민 화합물, 파이크에리스린, 파이크시아닌, 알로파이크시아닌, o-프탈데히드, 플루오레사민, 형광단 예컨대 란탄계 크립테이트 및 킬레이트 (Perkin Elmer and Cis Biointernational); 화학발광물질 예컨대 이로루미놀; 감작제; 조효소; 효소 기질; 이에 제한되지 않지만, ^{125}I , ^{131}I , ^{35}S , ^{32}P , ^{14}C , ^3H , ^{57}Co , ^{99}Tc 및 ^{75}Se 를 포함하는 방사성 동위원소 및 본 명세서에 언급된 다른 방사성 동위원소: 입자 예컨대 라텍스 또는 탄소 입자; 금속 줄; 미소결정; 리포솜; 세포 등을 포함하며, 이들은 염료, 촉매 또는 다른 검출가능 기로 더욱 표지화될 수 있다. 적절한 효소 및 조효소는 U.S.4,275,149 및 U.S.4,318,980에 개시되어 있으며, 이들을 각각 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다. 적절한 형광물질 및 화학발광물질도 또한 U.S. 4,275,149에 기술되어 있으며, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다. 표지는 또한 화학적 부분 예컨대 특정 종족 검출가능 부분, 예를 들어 표지된 아비딘 또는 스트렙타비딘과 결합하여 검출될 수 있는 비오틴을 포함한다. 검출가능한 표지는 당분야에 공지된 통상의 화학적 방법을 사용해서 본 발명의 항체에 부착될 수 있다.

[0361] 표지가 외부 방법, 예를 들어 육안 검사, 전자성 방사선, 열 및 화학 시약 등을 통해 검출가능한 신호를 생성할 수 있는 다양한 방법이 존재한다. 표지는 또한 본 발명의 항체, 또는 지지체에 결합하는 다른 결합 구성원에 결합될 수 있다.

[0362] 표지는 직접적으로 신호를 생성할 수 있고, 따라서, 신호 생성을 위한 추가 성분이 필요하지 않다. 다양한 유기 분자, 예를 들어, 형광발광물질은 자외선 및 가시광선을 흡광할 수 있고, 여기서 흡광은 이들 분자에 에너지를 전달하여 이들을 여기 에너지 상태로 상승시킨다. 이렇게 흡수된 에너지는 제2 파장에서 광방출에 의해 방산된다. 제2 파장 방출은 또한 표지된 엑셉터 분자에 에너지를 전달하고, 최종 에너지는 광방출 예를 들어 형광발광 공명 에너지 전달(FRET; fluorescence resonance energy transfer)에 의해 엑셉터 분자로부터 방산된다. 직접적으로 신호를 생성하는 다른 표지는 방사성 동위원소 및 염료를 포함한다.

[0363] 다르게, 표지는 신호 생성을 위해 다른 성분을 필요로 할 수 있으며, 신호 생성 시스템은 측정가능한 신호를 생성하는데 필요한 모든 성분을 포함하며, 예를 들어 기질, 조효소, 인헨서, 추가 효소, 효소 생성물과 반응하는 기질, 촉매, 활성인자, 보조인자, 억제제, 스캐빈저, 금속 이온, 및 신호 생성 물질의 결합에 필요한 특이적 결합 물질을 포함할 수 있다. 적절한 신호 생성 시스템에 상세한 설명은 U.S.5,185,243에서 확인할 수 있고, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다.

[0364] 결합 구성원, 항체, 또는 이의 기능성 단편 중 하나는, 검출가능 및/또는 정량가능 신호를 얻도록 면역접합체 형태로 존재할 수 있다. 면역접합체는 예를 들어, 효소 예컨대 퍼옥시다제, 알칼리 포스파타제, 알파-D-갈락토시다제, 글루코스 옥시다제, 글루코스 아밀라제, 탄산 탈수효소, 아세틸콜린에스테라제, 리소자임, 말레이트 디히드로게나제 또는 글루코스 6-포스페이트 디히드로게나제와, 또는 분자 예컨대 비오틴, 디고옥시제닌 또는 5-브로모데옥시우리딘 등에 의해 접합될 수 있다. 형광발광 표지도 본 발명에 따른 면역접합체 또는 이의 기능적 단편에 접합될 수 있으며, 특히 플루오레세인 및 이의 유도체, 플루오로크롬, 로다민 및 이의 유도체, GFP(Green Fluorescent Protein), 단실, 엠벨리페론, 란탄계 킬레이트 또는 크립테이트, 예를 들어 유로피움 등을 포함할 수 있다.

[0365] 면역접합체 또는 이들의 기능성 단편은 당분야의 숙련자에게 공지된 방법으로 제조할 수 있다. 이들은 효소 또는 형광발광 표지에 직접적으로 또는 스페이서 기의 개재 또는 연결기 예컨대 폴리알데히드, 예컨대 글루타르알데히드, 에틸렌디아민테트라아세트산(EDTA), 디에틸렌트리아민펜타아세트산(DTPA)의 개재에 의해, 또는 치료 접합체에 대해 상기 언급된 제제 등과 같은 커플링 제제 존재하에 커플링될 수 있다. 플루오레세인 유형의 표지를 포함하는 접합체는 이소티오시아네이트와의 반응을 통해 제조할 수 있다. 다른 면역접합체는 유사하게 화학발광성 표지 예컨대 루미놀 및 디옥스에탄, 생물발광 표지 예컨대 루시페라제 및 루시페닐, 또는 그외 방사성 표지 예컨대 요오드123, 요오드125, 요오드126, 요오드131, 요오드133, 브로민77, 테크네튬99m, 인듐111, 인듐113m, 갈륨67, 갈륨68, 황35, 인32, 탄소14, 트리튬(삼중수소), 코발트57, 셀레늄75, 루테튬95, 루테튬97, 루테튬103, 루테튬105, 수은107, 수은203, 레늄99m, 레늄101, 레늄105, 스칸듐47, 텔루륨121m, 텔루륨122m, 텔루륨125m, 툴륨165, 툴륨167, 툴륨168, 불소8, 이트륨199을 포함할 수 있다. 치료적 방사성 동위원소를 항체에 직접적으로 또는 킬레이팅제 예컨대 상기 언급한 EDTA, DTPA를 통해서 커플링하기 위해 현재 당분야에 당업자에게 공지된

방법은 진단에 사용할 수 있는 방사성원소에 대해 사용될 수 있다. 클로르아민 T 방법(Hunter and Greenwood, Nature, 194:495, 1962)에 의한 Na[I 125] 표지화 또는 Crockford 등(U.S. 4,424,200, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킴)의 기술에 의해 테크네튬 99m 표지화, 또는 을 사용하여 또는 Hnatowich (U.S. 4,479,930, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킴)가 기술한 바와 같은 DTPA를 통한 부착을 언급하는 것이 가능하다. 추가의 면역접합체는 독소 부분 예컨대 슈도모나스 외독소(PE 또는 이의 세포독성 단편 또는 돌연변이체), 디프테리아 독소 또는 이의 세포독성 단편 또는 돌연변이체, 보툴리눔 독소 A 내지 F, 리신 또는 이의 세포독성 단편, 아브린 또는 이의 세포독성 단편, 사포린 또는 이의 세포독성 단편, 미국자리공 항바이러스 독소 또는 이의 세포독성 단편 및 브리오딘 1 또는 이의 세포독성 단편의 군에서 선택된 독소 부분을 포함할 수 있다.

[0366] 본 발명은 본원에서 제공하는 바와 같은 결합 구성원이 IL-4R α 에 결합되도록하거나 또는 결합가능하게 하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 주지하는 바와 같이, 이러한 결합은 생체 내에서 일어날 수 있는데, 예를 들어 결합 구성원, 또는 결합 구성원을 코딩하는 핵산의 투여 이후에 생체 내에서 일어날 수 있거나, 또는 예를 들어 ELISA, 웨스턴 블랏, 면역세포화학, 면역침강법, 친화성 크로마토그래피, 및 생화학 또는 본원에 기술된 바와 같은 세포 기반 분석법 등에서, 시험관 내에서 발생할 수 있다. 본 발명은 또한 예를 들어 바이오센서 시스템에서 본 발명에 따른 결합 구성원을 적용하여, 직접적으로 항원 수준을 측정하기 위해 제공한다.

[0367] 예를 들어, 본 발명은 IL-4R α 과의 결합을 검출 및/또는 측정하는 방법을 포함하고, 이 방법은 (i) 상기 결합 구성원을 IL-4R α 에 노출시키는 단계, 및 (ii) 상기 결합 구성원과 IL-4R α 의 결합을 검출하는 단계를 포함하고, 여기서 결합은 본원에 기술된 임의의 방법 또는 검출가능 표지를 사용하여 검출된다. 본원에 기술된 이러한, 그리고 임의의 다른 결합 검출 방법은 예를 들어 검출가능 표지를 시각적으로 관찰하여, 이 방법을 수행하는 사람이 직접적으로 이해할 수 있다. 다르게, 이 방법, 또는 본원에 기술된 임의의 다른 결합 검출 방법은 방사능사진, 사진, 컴퓨터 출력물, 유세포 측정 기록물, 그래프, 차트, 결과물 또는 이 방법의 결과에 대한 임의의 시각적 또는 물리적 표현물을 함유하는 테스트 튜브 또는 용기 또는 웰의 형태로 보고서를 작성할 수 있다.

[0368] IL-4R α 에 대한 결합 구성원이 결합 양을 측정할 수 있다. 정량은 진단적으로 중요할 수 있는, 테스트 샘플 내 항원의 양과 관련될 수 있다. IL-4R α 결합에 대한 스크리닝 및/또는 이의 정량은 예를 들어, 본원에 언급된 바와 같은, 예를 들어 IL-4R α 와 관련된 질병 또는 질환에 대해 환자를 스크리닝하는데 유용할 수 있다. 일 구체예에서, 본 발명의 진단 방법은 (i) 피험체에서 조직 또는 유체 샘플을 획득하는 단계, (ii) 상기 조직 또는 유체 샘플을 본 발명의 1 이상의 결합 구성원에 노출시키는 단계, 및 (iii) 대조군 샘플과 비교하여 결합된 IL-4R α 를 검출하는 단계를 포함하고, 여기서 대조군과 비교시 IL-4R α 결합량의 증가는 IL-4R α 발현 또는 활성의 비정상적인 수준을 의미할 수 있다. 테스트하려는 조직 또는 유체 샘플은 혈액, 혈청, 소변, 생검물, 종양 또는 비정상적인 IL-4R α 수준을 포함하는 것으로 의심되는 임의의 조직을 포함한다. 비정상적인 IL-4R α 수준 또는 활성에 대해 양성으로 테스트된 피험체는 또한 이후 본원에 개시된 치료 방법으로 혜택을 받을 수 있다.

[0369] 당분야의 숙련가는 본원에 개시된 방법에 비추어, 선폭도 및 일반적인 지식에 따라 항원에 대한 결합 구성원이 결합을 확인하는 적절한 방식을 선택할 수 있다.

[0370] 샘플 내 결합 구성원의 반응성은 임의의 적절한 수단으로 측정할 수 있다. 방사면역분석법(RIA)이 가능한 수단 중 하나이다. 방사능 표지된 항원을 비표지된 항원(테스트 샘플)과 혼합하고 결합 구성원과 결합하도록 한다. 결합된 항원을 물리적으로 미결합된 항원과 분리하고 결합 구성원에 결합된 방사능 항원의 양을 측정한다. 테스트 샘플에 항원이 많을수록, 방사성 항원은 결합 구성원에 덜 결합하게 된다. 경쟁적 결합 분석법은 또한 리포터 분자에 연결된 항체 또는 유사체를 사용하여, 비방사성 항원과 사용될 수 있다. 리포터 분자는 분광적으로 고립된 흡광성 또는 발광성을 갖는 형광색소, 인광체 또는 레이저 염료일 수 있다. 적절한 형광색소는 플루오레세인, 로다민, 파이크에리스린, 텍사스 레드, 및 란타네 키레이트 또는 크립테이트를 포함한다. 적절한 발색 염료는 디아미노벤지딘을 포함한다.

[0371] 다른 리포터는 거대분자 콜로이드 입자 또는 미립자 물질 예컨대 착색된 라텍스 비드, 직접적으로 또는 간접적으로 검출가능 신호를 육안 관찰하거나, 전자적으로 검출하거나 또는 달리 기록할 수 있는, 자성 또는 상자성, 및 생물학적 또는 화학적 활성 제제를 포함한다. 이러한 분자들은 예를 들어 전자적 특성을 변화시키거나 또는 색을 전개시키거나 변화시키는 반응을 촉매하는, 효소일 수 있다. 이들은 분자적으로 여기되어, 에너지 상태간 전자 전이가 특징적인 스펙트럼 흡광 또는 발광을 일으킬 수 있다. 바이오센서와 함께 사용되는 화학적 독립체를 포함할 수도 있다. 비오틴/아비딘 또는 비오틴/스트렙타비딘 및 알칼리 포스파타제 검출 시스템을 사용할 수 있다.

- [0372] 개별 결합 구성원-수용체 접합체가 생성하는 신호를 사용하여 샘플(정상 및 테스트 샘플) 내 관련 결합 구성원 결합에 대한 정량적인 절대 또는 상대 데이터를 이끌어낼 수 있다.
- [0373] 본 발명의 임의의 측면 또는 구체예에 따른 결합 구성원을 포함하는 키트가 또한 본 발명의 측면으로서 제공된다. 키트에서, 결합 구성원은 예를 들어, 이하에 추가로 기술된 바와 같이, 표지되어 샘플 내에서 이의 반응성을 측정하는 것이 가능할 수 있다. 또한, 결합 구성원은 고상 지지체에 부착되거나 또는 부착되지 않을 수 있다. 키트의 성분은 대체로 멸균되며 밀봉된 바이알 또는 다른 용기에 존재한다. 키트는 진단 분석이나 또는 결합 구성원이 유용한 다른 방법에서 사용될 수 있다. 키트는 방법, 예를 들어 본 발명에 따른 방법에서 성분들을 사용하기 위한 설명서를 포함할 수 있다. 이러한 방법의 수행을 보조하거나 또는 수행가능하도록 보조 물질이 본 발명의 키트 내에 포함될 수 있다. 보조 물질은 제1 결합 구성원에 결합하고 검출가능 표지(예를 들어, 형광발광 표지, 방사성 동위원소 또는 효소)에 접합된 제2의, 상이한 결합 구성원을 포함한다. 항체 기반 키트는 또한 면역침강을 수행하기 위한 비드를 포함할 수 있다. 키트의 각 성분은 대체로 그 자체의 적절한 용기에 존재한다. 따라서, 이들 키트는 대체로 각 결합 구성원에 적합한 개별 용기를 포함한다. 또한, 키트는 분석을 수행하여 얻은 데이터를 해석 및 분석하기 위한 방법 및 분석법을 수행하기 위한 설명서를 포함할 수 있다.
- [0374] 본 발명은 또한 경쟁 분석에서 항원 수준을 측정하기 위한 상기 기술된 결합 구성원의 용도, 즉 경쟁 분석에서 본 발명에 의해 제공되는 결합 구성원을 적용하여 샘플 내 항원의 수준을 측정하는 방법을 제공한다. 이는 미결합된 항원으로부터 결합된 항원을 물리적으로 분리하는 것이 필요하지 않을 수 있다. 물리적 또는 광학적 변화가 일어나도록 결합 구성원에 리포터 분자를 연결시키는 것도 가능하다. 리포터 분자는 정량가능한 검출 신호를 직접적으로 또는 간접적으로 생성할 수 있다. 리포터 분자의 연결은 직접적으로 또는 간접적으로, 공유적으로 예를 들어 펩티드 결합을 통해 또는 비공유적으로 될 수 있다. 펩티드 결합에 의한 연결은 항체 및 리포터 분자를 코딩하는 유전자 융합체의 재조합 발현에 의한 결과일 수 있다.
- [0375] 예를 들어, 본 발명은 IL-4R α 결합 화합물을 동정하는 방법을 포함하고, 이 방법은 (i) 지지체에 IL-4R α 를 고정시키는 단계, (ii) 상기 고정된 IL-4R α 를 동시에 또는 단계적인 방식으로 본 발명에 따른 1 이상의 태깅되거나 표지된 결합 구성원, 또는 1 이상의 비태깅 또는 비표지화된 테스트 결합 화합물과 접촉시키는 단계, 및 (iii) 태깅된 결합 구성원으로부터 결합된 태그의 양이 감소되는 것을 관찰하여 신규한 IL-4R α 결합 화합물을 동정하는 단계를 포함한다.
- [0376] IL-4R α 결합 화합물을 동정하는 대안적인 방법은, (i) 지지체에 결합 구성원을 고정시키는 단계, (ii) 상기 고정된 결합 구성원을 동시에 또는 단계적인 방식으로 태깅된 IL-4R α 및 1 이상의 비태깅되거나 비표지화된 테스트 결합 구성원 또는 결합 화합물과 접촉시키는 단계, (iii) 태깅된 IL-4R α 로부터 결합된 태그의 양이 감소되는 것을 관찰하여 신규한 IL-4R α 결합 화합물을 동정하는 단계를 포함한다.
- [0377] 이러한 방법은 다중웰 또는 어레이 포맷을 사용하는 고처리율 방식으로 수행될 수 있다. 이러한 분석법은 또한 예를 들어 실시예 4.3에 기술한 바와 같은 HTRF? 분석법처럼 용액에서 수행될 수 있다. 예를 들어, U.S. 5,814,468를 참조하며, 이를 전체로 참조하여 본원에 포함시킨다. 상기 기술한 바와 같이, 결합의 검출은 예를 들어 검출가능한 표지, 또는 이의 존재 감소를 육안으로 관찰하여, 이 방법을 수행하는 사람이 직접적으로 이해할 수 있다. 다르게는, 본 발명의 결합 방법은 방사능사진, 사진, 컴퓨터 출력물, 유세포 측정 기록물, 그래프, 차트, 결과물 또는 이 방법의 결과에 대한 임의의 시각적 또는 물리적 표현물을 함유하는 테스트 튜브 또는 용기 또는 웰의 형태로 보고서를 작성할 수 있다.
- [0378] 경쟁 분석은 또한 에피토프 지도화에 사용될 수 있다. 예를 들어, 에피토프 지도화는 경우에 따라 최적화된 중화 및/또는 조정 특징을 가질 수 있는, IL-4R α 결합 구성원이 결합되는 에피토프를 동정하는데 사용될 수 있다. 이러한 에피토프는 선형이거나 또는 입체구조적일 수 있다. 입체구조적인 에피토프는 IL-4R α 의 1 이상의 상이한 단편을 포함할 수 있고, 여기서 상기 단편은, IL-4R α 의 억제제, 예컨대 IL-4R α 결합 구성원이 인식하는 입체구조적 에피토프를 형성하도록 IL-4R α 가 이의 3차 또는 4차 구조로 폴딩될 때 서로 근접하여 위치하게 된다. 경쟁에 대한 테스트시, 항원의 펩티드 단편, 특히 목적하는 에피토프로 실질적으로 구성되거나 또는 이를 포함하는 펩티드를 사용할 수 있다. 에피토프 서열에 더하여 양 말단에 1 이상의 아미노산을 갖는 펩티드를 사용할 수 있다. 본 발명에 따른 결합 구성원은 항체에 대한 이들의 결합이 주어진 서열을 갖거나 이를 포함하는 펩티드에 의해 억제되도록 존재할 수 있다.
- [0379] 본 발명은 또한 본 발명의 결합 구성원을 코딩하는 단리된 핵산을 제공한다. 핵산은 DNA 및/또는 RNA를 포함한다. 일 측면에서, 본 발명은 상기에서 정의된 본 발명의, CDR 또는 CDR 세트 또는 VH 도메인 또는 VL 도메인 또는 항체 항원 결합 부위 또는 항체 분자, 예를 들어, scFv 또는 IgG, 예컨대 IgG1, IgG2 또는 IgG4를 코딩하는

핵산을 제공한다.

- [0380] 본 발명은 또한 상기와 같이 1 이상의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 플라스미드, 벡터, 전사 또는 발현 카세트 형태의 구성체를 제공한다.
- [0381] 본 발명은 또한 상기와 같이 1 이상의 구성체를 포함하는 재조합 숙주 세포를 제공한다. 임의의 CDR 또는 CDR 세트 또는 VH 도메인 또는 VL 도메인 또는 항체 항원 결합 부위 또는 항체 분자, 예를 들어 제공되는 바와 같은 scFv 또는 IgG1, IgG2 또는 IgG4를 코딩하는 핵산은, 코딩 핵산으로부터의 발현 단계를 포함하는 코딩된 생성물을 생산하는 방법과 마찬가지로, 그 자체로 본 발명의 측면을 형성한다. 발현은 핵산을 함유하는 재조합 숙주 세포를 적절한 조건 하에서 배양하여 편리하게 이루어질 수 있다. 발현에 의한 생성후, VH 또는 VL 도메인, 또는 결합 구성원은 이후 적절하게 사용되는, 임의의 적합한 기법을 사용해 단리 및/또는 정제될 수 있다.
- [0382] 본 발명에 따른 핵산은 DNA 또는 RNA를 포함할 수 있고 전체적으로 또는 부분적으로 합성될 수 있다. 본 명세서에 기술된 바와 같은 뉴클레오티드 서열은 특화된 서열을 갖는 DNA 분자를 포함하고, 달리 명세서 내에서 요구하지 않으면, T가 U로 치환된, 특화된 서열을 갖는 RNA 분자를 포함한다.
- [0383] 또다른 추가 측면은 항체 VH 가변 도메인을 생산하는 방법을 제공하고, 이 방법은 코딩 핵산으로부터 발현을 유도하는 것을 포함한다. 이러한 방법은 상기 항체 VH 가변 도메인의 생산을 위한 조건 하에서 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0384] VH 및/또는 VL 도메인을 포함하는 결합 구성원 및 VL 가변 도메인을 생산하는 유사 방법은 본 발명의 추가 측면으로서 제공한다.
- [0385] 생산 방법은 생성물의 단리 및/또는 정제 단계를 포함할 수 있다. 생산 방법은 1 이상의 추가 성분, 예컨대 약학적으로 허용되는 부형제를 포함하는 조성물로 생성물을 제제화하는 단계를 포함할 수 있다.
- [0386] 다양하고 상이한 숙주 세포에서 폴리펩티드를 클로닝하고 발현하기 위한 시스템은 잘 공지되어 있다. 적절한 숙주 세포는 박테리아, 포유동물 세포, 식물 세포, 섬유상 진균, 효모 및 배콜로바이러스 시스템 및 형질전환 식물 및 동물을 포함한다. 원핵생물 세포에서 항체 및 항체 단편을 발현하는 것은 당분야에서 충분히 확립되어 있다. 예를 들어, 문헌 [Pluekthun 1991]을 참조한다. 일반적인 박테리아 숙주는 이.콜라이이다.
- [0387] 배양중인 진핵생물 세포에서의 발현은 결합 구성원의 생산을 위한 선택사항으로서 당분야의 숙련가가 또한 이용할 수 있으며, 예를 들어 문헌 [Chadd & Chamow (Current Opinion in Biotechnology 12:188-194, 2001), Andersen & Krummen (Current Opinion in Biotechnology 13:117, 2002) 및 Larrick & Thomas (Current Opinion in Biotechnology 12:411-418, 2001)]을 참조한다. 이종성 폴리펩티드의 발현을 위해 당분야에서 이용가능한 포유동물 세포주는 중국 햄스터 난소(CHO) 세포, HeLa 세포, 아기 햄스터 신장 세포, NS0 마우스 흑색종 세포, YB2/O 래트 골수종 세포, 인간 배아 신장 세포, 인간 배아 망막 세포 및 다른 많은 세포 들을 포함한다.
- [0388] 적절한 벡터는 선택되거나 또는 제작될 수 있고, 프로모터 서열, 종결인자 서열, 폴리아데닐화 서열, 인핸서 서열, 마커 유전자 또는 필요에 따라 다른 서열을 포함하여, 적절한 조절 서열을 함유한다. 벡터는 적절하게, 플라스미드, 예를 들어 파지미드, 또는 바이러스, 예를 들어 파지일 수 있다. 보다 구체적인 설명은 문헌 [Sambrook & Russell, Molecular Cloning: a Laboratory Manual: 3rd edition, 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press]을 참조한다. 핵산 조작, 예를 들어 핵산 구성체 제조, 유전자 유발법, 서열분석, 세포로 DNA 도입 및 유전자 발현, 및 단백질 분석에 대해 수많은 공지된 기술 및 프로토콜은 구체적으로 문헌 [Ausubel et al. eds., Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, 4th edition 1999]에 기술되어 있다.
- [0389] 본 발명의 추가 측면은 본 명세서에 개시한 바와 같이 핵산을 함유하는 숙주 세포를 제공한다. 이러한 숙주 세포는 시험관 내에 존재할 수 있고, 배양중인 것일 수 있다. 이러한 숙주 세포는 생체 내에 존재할 수 있다. 생체 내 숙주 세포 존재는 본 세포내 항체 또는 "인트라바디"로서 본 발명의 결합 구성원의 세포 내 발현을 가능하게 할 수 있다. 인트라바디는 유전자 요법에 사용될 수 있다.
- [0390] 또다른 추가 측면은 숙주 세포에 본 발명의 핵산을 도입하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 도입은 임의의 이용가능한 기법을 사용할 수 있다. 진핵 세포의 경우 적절한 기법은 인산칼슘 형질감염, DEAE-텍스트란, 전기천공, 리포솜-매개 형질감염, 및 레트로바이러스 또는 다른 바이러스, 예를 들어 백시니아, 또는 곤충 세포의 경우 배콜로바이러스를 사용한 형질도입을 포함한다. 핵산을 숙주 세포, 특히 진핵 세포로 도입하는 것은 바이

러스 또는 플라스미드 기반 시스템을 사용할 수 있다. 플라스미드 시스템은 에피솜으로 유지되거나 또는 숙주 세포 또는 인공 염색체로 도입될 수 있다. 도입은 1 이상의 카피를 단일 또는 다중 유전자좌에 표적화 통합하거나 또는 무작위 통합하여 이루어질 수 있다. 박테리아 세포의 경우, 적합한 기법은 염화칼슘 형질전환, 전기천공 및 박테리오파지를 사용한 형질감염을 포함할 수 있다.

[0391] 도입 이후에 예를 들어, 유전자의 발현을 위한 조건하에서 숙주 세포를 배양하여, 핵산으로부터 발현이 일어나도록 하거나 또는 발현이 가능하게 할 수 있다. 발현된 생성물의 정제는 당분야의 숙련자에게 공지된 방법으로 수행할 수 있다.

[0392] 일 구체예에서, 본 발명의 핵산은 숙주 세포의 게놈(예를 들어, 염색체)에 통합된다. 통합은 표준 기술에 따라서, 게놈과의 재조합을 촉진하는 서열을 포함시켜 촉진할 수 있다.

[0393] 본 발명은 또한 상기와 같이 결합 구성원 또는 폴리펩티드를 발현하기 위해 발현 시스템에서 상기 언급된 바와 같은 구성체를 사용하는 것을 포함하는 방법을 제공한다.

[0394] 본 발명의 결합 구성원은 인간 또는 동물 피험체, 예를 들어 인간을 치료하거나 진단하는 방법에 사용할 수 있다. 예를 들어, 결합 구성원은 본 명세서에서 언급한 예와 같은, IL-4R α -연관된 질병 또는 질환을 치료하거나 또는 진단하는데 사용할 수 있다.

[0395] 치료 또는 진단에서 본 발명의 결합 구성원을 사용할 수 있는 특정 병태는 천식, COPD(만성 기관지염, 소기도 질환 및 기종 포함), 염증성 장질환, 섬유증 병태(전신 경화증, 폐 섬유증, 기생충 유도된 간 섬유증, 및 낭성 섬유증 포함), 알레르기(예를 들어 아토피 피부염 및 음식물 알레르기 포함)를 포함하고, 이식 거부반응을 방지하기 위한 이식 요법을 비롯하여 지연성 과민증 또는 접촉성 과민 반응의 억제, 알레르기 면역요법에 대한 보조제로서 및 백신 보조제로서 사용될 수 있다.

[0396] 따라서, 본 발명의 결합 구성원은 IL-4, IL-13 또는 IL-4R α 발현 및/또는 활성을 포함하는 병태의 치료에서 치료제로 유용하다. 그중에서도, 일 구체예는 치료를 필요로 하는 환자에게 본 발명의 결합 구성원의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법이고, 여기서 IL-4R α 활성화의 기능적인 결과가 감소된다. 다른 구체예는 (i) IL-4, IL-13 또는 IL-4R α 발현 또는 활성을 보이는 환자를, 예를 들어 상기 기술된 진단 방법을 사용하여 확인하는 단계, 및 (ii) 상기 환자에게 본 발명의 결합 구성원의 유효량을 투여하는 단계를 포함하는 치료 방법이고, 여기서 IL-4R α 활성화의 기능적인 결과는 약독화이다. 본 발명에 따른 유효량은 치료하려는 특정 질환 또는 질병에 대한 1 이상의 증상의 중증도를 조정(예를 들어, 감소 또는 약화)하기 위해서 IL-4R α 활성화의 기능적인 결과를 조정(예를 들어, 감소)하지만, 반드시 질병 또는 질환을 낮게하는 것은 아닌 양이다. 따라서, 본 발명의 일 구체예는 본 명세서에 언급된 임의의 질병에 대한 1 이상의 증상의 중증도를 치료하거나 또는 감소시키는 방법으로서, 이를 필요로 하는 환자에게 임의의 질병에 대한 1 이상의 증상의 중증도가 감소되도록 본 명세서에 기술되거나 또는 당분야에 공지된 다른 적절한 약물과 함께 조합된 치료 계획으로 또는 단독으로 본 발명의 1 이상의 결합 구성원의 유효량을 투여하는 것을 포함한다. 본 발명의 다른 구체예는 IL-4R α 의 1 이상의 효과를 길항하는 방법이고, 이 방법은 본 발명의 1 이상의 결합 구성원의 유효량과 접촉시키거나 또는 이를 투여하여 상기 IL-4R α 의 1 이상의 효과, 예를 들어 IL-4와 복합체(활성 신호전달에 대한 전구체)를 형성하는 IL-4R α 의 능력을 길항시키는 것을 포함한다.

[0397] 따라서, 본 발명의 추가의 측면은 제공되는 바와 같은 결합 구성원, 또는 그러한 결합 구성원을 포함하는 약학 조성물을 투여하는 것을 포함하는 치료 방법, 및/또는 투여를 위한 약물의 제조, 예를 들어 약학적으로 허용되는 부형제와 함께 결합 구성원을 제제화하는 것을 포함하는 약학 조성물 또는 약물을 제조하는 방법에서 이러한 결합 구성원의 용도를 제공한다. 약학적으로 허용되는 부형제는 부수적인 반응을 야기하지 않고, 예를 들어, 활성 화합물(들)의 투여 촉진, 생체내 활성 화합물의 수명 및/또는 효능의 증가, 용액 내 가용성 증가, 또는 그외 보존성 개선을 가능하게 하는 약학 조성물로 유입되는 화합물 또는 그들의 조합일 수 있다. 이들 약학적으로 허용되는 비히클은 잘 알려져 있으며, 선택된 활성 화합물(들)의 성질 및 투여 방식에 따라 당업자에 의해 적절히 조정된다.

[0398] 본 발명의 결합 구성원은 일반적으로, 결합 구성원 외에도 1 이상의 성분을 포함할 수 있는 약학 조성물 형태로 투여된다. 따라서, 본 발명에 따르면, 본 발명에 따라 사용하기 위한 약학 조성물은 활성 성분 이외에도 약학적으로 허용되는 부형제, 담체, 완충액, 안정화제 또는 당분야의 당업자에 잘 알려진 다른 물질을 포함할 수 있다. 그러한 물질은 비-독성이어야 하고, 활성 성분의 효능을 방해하지 않아야 한다. 담체 또는 다른 물질의 상세한 성질은 투여 경로에 따라 좌우되며, 투여 경로는 경구, 흡입 또는 주사, 예를 들어 정맥 내일 수 있다.

일 구체예에서, 조성물은 멸균된 것이다.

- [0399] 경구투여용 약학 조성물, 예를 들어, 나노바디 등을 또한 본 발명에서 고려한다. 이러한 경구 제형은 정제, 캡슐, 분말, 액제 또는 반고체 형태일 수 있다. 정제는 고형 담체 예컨대 젤라틴 또는 보조제를 포함할 수 있다. 액상 약학 조성물은 대체로 액상 담체 예컨대 물, 석유, 동물성 또는 식물성 오일, 광유 또는 합성 오일을 포함한다. 생리적 염수액, 텍스트로스 또는 기타 사카라이드 용액, 또는 글리콜 예컨대 에틸렌 글리콜, 프로필렌 글리콜 또는 폴리에틸렌 글리콜을 포함할 수 있다.
- [0400] 정맥내 주사, 또는 환부 주사를 위해, 활성 성분은 발열원이 없고, 적절한 pH, 등장성 및 안정성을 갖는 비경구적으로 허용되는 수용액 형태가 된다. 당분야의 관련 숙련가는 예를 들어, 염화나트륨 주사액, 링거 주사액, 락테이트 첨가 링거 주사액과 같은 등장성 비히클을 사용하여 적합한 용액을 잘 제조할 수 있다. 필요에 따라 보존제, 안정화제, 완충제, 항산화제 및/또는 다른 첨가제를 사용할 수 있는데, 예를 들어, 완충액 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 히스티딘 및 다른 유기산; 항산화제, 예컨대 아스코르브산 및 메티오닌; 보존제(옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드; 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알콜; 알킬 파라벤 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레소르시놀; 사이클로헥사놀; 3'-벤타놀; m-크레졸); 저분자량 폴리펩티드; 단백질 예컨대, 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라진, 히스티딘, 아르기닌 또는 리신; 글루코스, 만노오스 또는 텍스트린을 비롯한 단당류, 이당류, 및 기타 탄수화물; 킬레이팅화제 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 솔비톨; 염형성 반대 이온, 예컨대 나트륨; 금속 착체(예를 들어, Zn-단백질 착체); 및/또는 비이온성 계면활성제, 예컨대 TWEEN™, PLURONIC™ 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다.
- [0401] 본 발명의 결합 구성원은 분자의 물리화학적 특성 및 전달 경로에 따라서 액상, 반고체 또는 고체 형태로 제형화될 수 있다. 제형은 부형제 또는 부형제의 조합, 예를 들어, 당, 아미노산 및 계면활성제를 포함할 수 있다. 액상 제형은 광범위한 항체 농도 및 pH를 포함할 수 있다. 고체 제형은 동결 건조, 분무 건조, 또는 예를 들어, 초임계 유체법에 의한 건조를 통해 생산될 수 있다. 항-IL-4R α 의 제형은 의도하는 전달 경로에 따라 좌우된다: 예를 들어, 폐 전달용 제형은 흡입시 심폐로 침투가 보장되는 물리적 특성을 갖는 입자로 구성될 수 있다; 국소 제형은 약물이 작용 부위에 체류하는 시간을 연장시키는 점도 조절제를 포함할 수 있다. 일 구체예에서, 결합 구성원은 결합구성원의 빠르게 방출되는 것을 방지하는 담체와 함께 제조될 수 있는데, 예컨대 임플란트, 경피 패치, 및 미세캡슐화 전달 시스템을 비롯한, 제어 방출 제형 동일 수 있다. 생분해가능하고, 생체이용가능한 중합체, 예컨대 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리무수물, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산을 사용할 수 있다. 이러한 제형을 제조하는 많은 방법들이 당분야의 숙련가에게 공지되어 있다. [Robinson, 1978]을 참조한다.
- [0402] 본 발명의 결합 구성원과 항-IL-4R α 치료는 경구적으로(예를 들어, 나노바디), 주사를 통해(예를 들어, 피하, 관절내, 정맥내, 복강내, 동맥내 또는 근육내), 흡입을 통해, 기관내, 소포내 경로를 통해(방광 내로 점적주입), 또는 국소적으로(예를 들어, 안내, 비내, 직장내, 환부내, 피부상에) 수행될 수 있다. 치료는 특히 결합 구성원의 용량을 감소시키면서 펄스 주입에 의해 투여될 수 있다. 투여 경로는 치료의 물리화학적 특징에 따라, 질병에 대한 특별 고려사항에 따라, 또는 효능을 최적화하거나 또는 부작용을 최소화하기 위한 요건에 따라, 결정될 수 있다. 특정 투여 경로 중 하나는 정맥내이다. 본 발명의 약학 조성물을 투여하는 다른 경로는 피하이다. 항-IL-4R α 치료는 병원이나 의사 진료실에서 사용하는데 제한되지 않으며 가정 및 작업실을 포함할 수 있다는 것을 고려한다. 따라서, 바늘이 없는 장치를 사용하는 피하 주사가 유리하다.
- [0403] 조성물은 치료하려는 병태에 따라서, 단독으로 또는 다른 치료와 병용하여, 동시에 또는 순차적으로, 또는 다른 치료 제제 또는 제제와의 조합된 조제물로서, 투여될 수 있다.
- [0404] IL-4R α 에 대한 결합 구성원은 추가적인 의약 성분과 함께 병용 요법의 일부로서 사용될 수 있다. 병용 요법은 유의한 상승 효과, 구체적으로 항-IL-4R α 결합 구성원과 1 이상의 다른 약물의 조합을 제공하는데 사용될 수 있다. IL-4R α 에 대한 결합 구성원은, 본 명세서에 열거한 병태 중 1 이상을 치료하기 위해, 다른 치료 제제 또는 제제와의 조합된 조제물로서 동시에 또는 순차적으로 투여될 수 있다.
- [0405] 본 발명에 따른 결합 구성원은 하기 제제 중 1 이상이 부가되어 또는 조합되어 제공될 수 있다:
- [0406] - 사이토카인 또는 사이토카인 기능의 작동제 또는 길항제(예를 들어, SOCS 시스템의 조절제와 같은, 사이토카인 신호 경로에 작용하는 물질), 예컨대, 알파 -, 베타 - 및/또는 감마 -인터페론; 인슐린-유사 성장 인자 I형

(IGF-I), 그의 수용체 및 관련 결합 단백질; 인터루킨(IL), 예를 들어, 1 이상의 IL-1 내지 33, 및/또는 아나킨라와 같은 인터루킨 길항제 또는 억제제; 인터루킨 계열 구성원 수용체의 억제제 또는 그러한 수용체의 특정 서브유닛의 억제제; 종양 괴사 인자 알파(TNF- α) 억제제, 예컨대, 항-TNF 모노클로날 항체(예를 들어, 인플릭시맙, 아달리무맙, 및/또는 CDP-870), 및/또는 TNF 수용체 길항제, 예를 들어, 면역글로불린 분자(예를 들어, 에타너셉트) 및/또는 펜톡시필린과 같은 저분자량 물질;

- [0407] - B 세포 조절제, 예를 들어, B-림프구 표적 모노클로날 항체(예컨대, CD20(리툭시맙) 또는 MRA-aIL16R) 또는 T-림프구 표적 모노클로날 항체(예를 들어, CTLA4-Ig 또는 아바타셉트);
- [0408] - 과골세포 활성을 저해하는 조절제, 예를 들어, RANKL에 대한 항체;
- [0409] - 케모카인 또는 케모카인 수용체 기능의 조절제, 예를 들어, CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 또는 CCR11(C-C 패밀리)의 길항제; CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, 또는 CXCL13(C-X-C 패밀리) 또는 C-X₃-CR1(C-X₃-C 패밀리)의 길항제;
- [0410] - 매트릭스 메탈로프로테아제(MMP) 억제제, 즉, 스트로멜리신, 콜라게나제, 및 젤라티나제, 어그리카나제 억제제 중 하나 이상; 특히, 콜라게나제-1(MMP-1), 콜라게나제-2(MMP-8), 콜라게나제-3(MMP-13), 스트로멜리신-1(MMP-3), 스트로멜리신 -2(MMP-10), 및/또는 스트로멜리신-3(MMP-11) 및/또는 MMP-9 및/또는 MMP-12의 억제제, 예를 들어, 독시사이클린;
- [0411] - 류코트리엔 생합성 억제제, 5-리폭시게나제(5-LO) 억제제 또는 5-리폭시게나제 활성화 단백질(FLAP) 길항제; 예를 들어, 질루톤; ABT-761; 펜루톤; 테폭살린; 애보트-79175; 애보트-85761; N-(5-치환)-티오펜-2-알킬설폰아미드; 2,6-디-t-부틸페놀하이드라존; 메톡시테트라하이드로피란, 예컨대, 제네카 ZD-2138; 화합물 SB-210661; 피리디닐-치환 2-시아노나프탈렌 화합물, 예컨대, L-739,010; 2-시아노퀴놀린 화합물, 예를 들어, L-746,530; 인돌 및/또는 퀴놀린 화합물, 예컨대, MK-591, MK-886, 및/또는 BAY x 1005;
- [0412] - 예를 들어, L-651,392와 같은 페노티아진-3-1s; CGS-25019c와 같은 아미디노 화합물; 온타졸라스트와 같은 벤족살아민; BIIL 284/260과 같은 벤젠카복시이미드아미드; 및 자피르루카스트, 아브루카스트, 몬테루카스트, 프란루카스트, 베루루카스트(MK-679), RG-12525, Ro245913, 이라루카스트(CGP 45715A), 및 BAY x 7195로 구성된 군으로부터 선택되는, 류코트리엔(LT) B₄, LTC₄, LTD₄, 및 LTE₄에 대한 수용체 길항제;
- [0413] - 포스포디에스테라제(PDE) 억제제, 예로서, 테오필린 및/또는 아미노필린과 같은 메틸잔타닌; 및/또는 선택적 PDE 이소엔자임 억제제, 예를 들어, PDE4 억제제 및/또는 이소폼 PDE4D 억제제 및/또는 PDE5 억제제;
- [0414] - 히스타민 1형 수용체 길항제, 예를 들어, 세티리진, 로라타딘, 데스로라타딘, 펙소페나딘, 아크리바스틴, 테르페나딘, 아스테미졸, 아젤라스틴, 레보카바스틴, 클로로페니라민, 프로메타진, 사이클리진 및/또는 미졸라스틴(일반적으로 경구, 국소 또는 비경구 투여됨);
- [0415] - 프로톤 펌프 억제제(예를 들어, 오메프라졸) 또는 위장보호 히스타민 2형 수용체 길항제;
- [0416] - 히스타민 4형 수용체 길항제;
- [0417] - 알파-1/알파-2 아드레날린 수용체 작동제 혈관수축 교감신경 흥분제, 예를 들어, 프로필렉세드린, 페닐에프린, 페닐프로판올라민, 에페드린, 슈도에페드린, 나파졸린 하이드로클로라이드, 옥시메타졸린 하이드로클로라이드, 테트라하이드로졸린 하이드로클로라이드, 크실로메타졸린 하이드로클로라이드, 트라마졸린 하이드로클로라이드 및 에틸노르에피네프린 하이드로클로라이드;
- [0418] - 항콜린제, 예를 들어, 무스카린 수용체(M1, M2, M3, M4 또는 M5) 길항제, 예컨대, 아트로핀, 하이오신, 글리코피롤레이트, 이프라트로프 브로마이드, 티오토로프 브로마이드, 옥시트로프 브로마이드, 피렌제핀, 및 텔렌제핀;
- [0419] - 베타-아드레날린 수용체 작동제(베타 수용체 아형 1-4 포함), 예를 들어, 이소프레날린, 살부타몰, 포르모테롤, 살메테롤, 터부탈린, 오르씨프레날린, 비톨테롤 메실레이트, 및/또는 피르부테롤, 예를 들어, 그의 키랄 에난티오머;
- [0420] - 크로몬, 예를 들어, 소듐 크로모글리케이트 및/또는 네도크로밀 소듐;
- [0421] - 글루코코르티코이드, 예를 들어, 플루니솔라이드, 트리암씨놀론 아세토나이드, 베클로메타손 디프로피오네이트, 부테소나이드, 플루티카손 프로피오네이트, 시클레조나이드 및/또는 모메타손 프로에이트;

- [0422] - PPAR과 같은 핵 호르몬 수용체를 조절하는 물질;
- [0423] - 면역글로불린(Ig) 또는 Ig 제제, 또는 항-IgE(예를 들어, 오말리주맵)과 같은 Ig 기능을 조절하는 길항제 또는 항체;
- [0424] - 다른 전신 또는 국소 투여용 소염제, 예를 들어, 탈리도마이드 또는 그의 유도체, 레티노이드, 디트라놀, 및/또는 칼시포트리올;
- [0425] - 아미노살리실레이트와, 설파살라진, 메살라진, 발살라지드 및 올살라진과 같은 설파피리딘의 조합, 및 티오프린과 같은 면역조절제, 부테소나이드와 같은 코르티코스테로이드;
- [0426] - 항균제, 예를 들어, 페니실린 유도체, 테트라사이클린, 마크롤리드, 베타-락탐, 플루오로퀴놀론, 메트로니다졸, 및/또는 흡입 아미노글리코시드; 및/또는 항바이러스제, 예를 들어, 아사이클로비어, 팜씨클로비어, 발라사이클로비어, 간사이클로비어, 시도포비어; 아마타딘, 리만타딘; 리바비린; 자나마비어 및/또는 오셀타마비어; 프로테아제 억제제, 예를 들어, 인디나비어, 넬피나비어, 리토나비어, 및/또는 사퀴나비어; 뉴클레오시드 역전사효소 억제제, 예를 들어, 디다노신, 라미부딘, 스타부딘, 잘시타빈, 지도부딘; 비-뉴클레오시드 역전사효소 억제제, 예를 들어, 네비라핀, 에파비렌즈;
- [0427] - 심혈관계 치료제, 예를 들어, 칼슘 채널 차단제, 베타-아드레날린 수용체 차단제, 안지오텐신 전환 효소(ACE) 억제제, 안지오텐신-2 수용체 길항제; 예로서, 스타틴, 피브레이트와 같은 지질 강하제; 펜톡시필린과 같은 혈액 세포 형태 조절제; 혈소판 응집 억제제와 같은 혈전용해 및 항응고제;
- [0428] - CNS 제제, 예를 들어, 항우울제(예를 들어, 세르트랄린), 항-파킨슨 약물(예를 들어, 데프레닐, L-도파, 로피니롤, 프라미펙솔, 또는 셀레진, 라사질린과 같은 MAOB 억제제, 타스마르와 같은 comP 억제제, A-2 억제제, 도파민 재흡수 억제제, NMDA 길항제, 니코틴 작용제, 도파민 작용제 및/또는 뉴런 산화질소 합성효소 억제제), 및 항-알츠하이머 약물, 예를 들어, 도네페질, 리바스티그민, 타크린, COX-2 억제제, 프로펜토필린 또는 메트리포네이트;
- [0429] - 급성 및 만성 통증 치료를 위한 제제, 예를 들어, 중추 또는 말초 신경 작용 진통제, 예를 들어, 아편 유사체 또는 유도체, 카바마제핀, 펜토인, 소듐 발프로에이트, 아미트리프틸린 또는 다른 항우울제, 파라세타몰 또는 비-스테로이드 소염제;
- [0430] - 비경구 또는 국소 투여(흡입 포함) 국부 마취제, 예를 들어, 리그노케인 또는 그의 유사체;
- [0431] - 항-골다공증제, 예를 들어, 알록시펜과 같은 호르몬제, 또는 알렌드로네이트와 같은 비스포스포네이트;
- [0432] - (i) 트립타제 억제제; (ii) 혈소판 활성화 인자(PAF) 길항제; (iii) 인터루킨 전환 효소(ICE) 억제제; (iv) IMPDH 억제제; (v) 부착 분자 억제제, 예를 들어, VLA-4 길항제; (vi) 카텝신; (vii) 키나제 억제제, 예를 들어, 티로신 키나제 억제제(예를 들어, Btk, Itk, Jak3 MAP 억제제, 또한 제피티닙, 이마티닙 메실레이트), 세린/트레오닌 키나제 억제제(예를 들어, p38, JNK와 같은 MAP 키나제, 프로테인 키나제 A, B 및 C 및 IKK 억제제), 또는 세포주기 조절에 관여하는 키나제(예를 들어, 사이클린 의존적 키나제)의 억제제; (viii) 글루코스-6 포스페이트 데하이드로게나제 억제제; (ix) 키닌-B.서브1 및/또는 B.서브2-수용체 길항제; (x) 통풍 치료제, 예를 들어, 콜히친; (xi) 크잔틴 옥시다제 억제제, 예를 들어, 알로푸리놀; (xii) 요산 배출 촉진제, 예를 들어, 프로벤시드, 설핀피라존 및/또는 벤즈브로마론; (xiii) 성장 호르몬 분비촉진제; (xiv) 전환성장인자(TGF β); (xv) 혈소판-유도 성장 인자(PDGF); (xvi) 섬유모세포 성장 인자, 예를 들어, 염기성 섬유모세포 성장 인자(bFGF: basic fibroblast growth factor); (xvii) 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF); (xviii) 캡사이신 크림; (xix) 타치키닌 NK.서브1. 및/또는 NK.서브3. 수용체 길항제, 예를 들어, NKP-608C, SB-233412(탈 네탄트), 및/또는 D-4418; (xx) 엘라스타제 억제제, 예를 들어, UT-77 및/또는 ZD-0892; (xxi) TNF-알파 전환 효소 억제제(TACE); (xxii) 유도된 산화질소 합성효소(iNOS: induced nitric oxide synthase) 억제제; (xxiii) TH2 세포 상에 발현된 화학유인물 수용체-유사 분자(예를 들어, CRTH2 길항제); (xxiv) P38 억제제; (xxv) Toll-유사 수용체(TLR) 기능을 조절하는 물질; (xxvi) P2X7와 같은 퓨린 수용체 활성을 조절하는 물질; 및 (xxvii) NFkB, API, 및/또는 STATS와 같은 전사인자 활성화 억제제.
- [0433] 억제제는 특이적이거나 또는 혼합 억제제, 예를 들어 상기 언급한 분자(예를 들어, 수용체) 또는 분자 부류 중 1 이상을 표적화하는 억제제일 수 있다.
- [0434] 결합 구성원은 또한 면역접합체의 형태로 또는 공동 투여로 화학치료제 또는 다른 티로신 키나제 억제제와 함께 사용될 수 있다. 상기 항체의 단편은 또한 재조합 기작 또는 생화학적 커플링 및 이후 IL-4R α 가 관련되는 활성

에 포함된 다른 분자를 인식할 수 있는 다른 항체의 특이성과 함께 쌍기 기술된 특이성을 연합시켜 얻어진 이중 특이적 항체로 사용될 수 있다.

- [0435] 염증성 질환, 예를 들어 류마티스성 관절염, 골관절염, 천식, 알레르기성 비염, 만성 폐쇄성 폐질환(COPD) 또는 건선의 치료를 위해, 본 발명의 결합 구성원은 하나 이상의 제제, 예컨대, 비스테로이드 소염제(이후, NSAID라 함), 예를 들어, 국소적으로 또는 전신적으로 투여되는 비선택적 사이클로-옥시게나제(COX-1/COX-2) 억제제, 예컨대, 피록시캄, 디클로페낙, 프로피온산, 예로서, 나프록센, 플루비프로펜, 페노프로펜, 케토프로펜 및 이부프로펜, 페나메이트, 예로서, 메페남산, 인도메타신, 셀린다, 아자프로파존, 피라졸론, 예컨대, 페닐부타존, 살리실레이트, 예로서, 아스피린); 선택적 COX-2 억제제(예컨대, 멜록시캄, 셀레코시브, 로페콕시브, 발데콕시브, 루마로콕시브, 파레콕시브 및 에토리콕시브); 사이클로-옥시게나제 저해 산화질소 공여제(CINOD: cyclo-oxygenase inhibiting nitric oxide donor); 글루코코르티코스테로이드(국소, 경구, 근육내, 정맥내 또는 관절내 투여); 메토타렉세이트, 레플루노마이드; 하이드록시사이클로로퀸, d-페니실라민, 오라노핀 또는 다른 비경구 또는 경구 금 조제물; 진통제; 디아세레인; 관절내 치료제 예컨대 하이알루론산 유도체; 및 영양 보충제 예컨대 글루코사민 등을 포함하여, 이러한 1 이상의 제제와 조합될 수 있다.
- [0436] 본 발명의 구성원은 또한 암 치료를 위해 현행 치료 제제와 조합되어 사용될 수 있다. 조합하여 사용하는데 적합한 제제는 하기의 것들을 포함한다:
- [0437] (i) 암치료에 사용되는 항증식/항종양 약물 및 그의 조합, 예로서, 글리백(이마티닙 메실레이트), 알킬화제(예를 들어, 시스-플라틴, 카보플라틴, 사이클로포스파미드, 질소 머스타드, 멜팔란, 클로람부실, 부설판 및 니트로소우레아); 항대사제(예를 들어, 항엽산대사제, 예로서, 5-플루오로우라실 및 테가푸르와 같은 플루오로피리미딘, 알티트렉세드, 메토타렉세이트, 시토신 아라비노시드, 하이드록시우레아, 젬시타빈 및 파클리탁셀); 항종양 항생제(예를 들어, 안트라사이클린으로서 아드리아마이신, 블레오마이신, 독소루비신, 다우노마이신, 에피루비신, 이다루비신, 미토마이신-C, 닥티노마이신 및 미트라마이신); 항분열제(예를 들어, 빈카알칼로이드로서 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데신 및 비노렐빈, 및 탁소이드로서 탁솔 및 탁스테어); 및 토포이소머라제 억제제(예를 들어, 에피도도필로톡신으로서 에토포사이드 및 테니포사이드, 암사크린, 토포테칸 및 캄토테신);
- [0438] (ii) 세포증식억제제, 예를 들어, 항에스트로겐제(예를 들어, 타목시펜, 토레미펜, 랄록시펜, 드롤록시펜 및 요독시펜), 에스트로겐 수용체 하향조절제(예를 들어, 플베스트란트), 항안드로겐제(예를 들어, 비칼루타미드, 플루타미드, 닐루타미드 및 시프로테론 아세테이트), LHRH 길항제 또는 LHRH 작동제(예를 들어, 고세렐린, 류프로렐린 및 부세렐린), 프로게스토겐(예를 들어, 메게스트롤 아세테이트), 아로마타제 억제제(예를 들어, 아나스트로졸, 레트로졸, 보라졸 및 엑세메스탄) 및 피나스테라이드와 같은 5 α -리덕타제 억제제;
- [0439] (iii) 암세포 침윤을 저해하는 약제(예를 들어, 메탈로프로테이나제 억제제로서 마리마스타트 및 유로키나제 플라스미노겐 활성화제 수용체 기능의 억제제);
- [0440] (iv) 성장 인자 기능의 억제제, 예를 들어, 성장 인자 항체, 성장 인자 수용체 항체(예를 들어, 항-erbb2 항체 트라스투주맙 및 항-erbb1 항체 세툽시맙 [C225]), 파르네실 트랜스퍼라제 억제제, 티로신 키나제 억제제 및 세린/트레오닌 키나제 억제제, 상피 성장 인자 패밀리의 억제제(예를 들어, EGFR 계열 티로신 키나제 억제제로서 N-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-메톡시-6-(3-모르폴리노프로폭시)퀴나졸린-4-아민(제피티닙, AZD1839), N-(3-에티닐페닐)-6,7-비스(2-메톡시에톡시)퀴나졸린-4-아민(에를로티닙, OSI-774) 및 6-아크릴아미도-N-(3-클로로-4-플루오로페닐)-7-(3-모르폴리노프로폭시)퀴나졸린-4-아민(CI 1033)), 예를 들어, 혈소판-유도 성장 인자 패밀리의 억제제 및 hepatocyte 성장 인자 패밀리의 억제제;
- [0441] (v) 혈관신생 억제제, 예를 들어, 혈관 내피세포 성장 인자 억제제(예를 들어, 항-혈관 내피세포 성장 인자 항체 베바시주맙, 화합물, 예컨대 국제 공개 특허 출원 WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 및 WO 98/13354 에 개시된 것들, 상기 문헌들은 각각 전체로 참조하여 포함시킴) 및 다른 기전에 의해 작용하는 화합물(예를 들어, 리노마이드, 인테그린 $\alpha v \beta 3$ 기능의 억제제 및 안지오테스틴);
- [0442] (vi) 혈관손상제, 예를 들어, 콤프레타스타틴 A4 및 국제 공개 특허 출원 WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 및 WO 02/08213(이들 각각을 전체로 참조 본원에 포함시킴)에 개시된 화합물;
- [0443] (vii) 안티센스 요법제, 예를 들어, 상기 열거한 바와 같은 표적에 대해 유도된 것들, 예컨대, ISIS 2503, 항-ras 안티센스;
- [0444] (viii) 유전자 요법 접근법, 예를 들어, 비정상 p53 또는 비정상 BRCA1 또는 BRCA2와 같은 비정상 유전자를 교

체하는 요법, GDEPT(gene directed enzyme pro-drug therapy)로서 예컨대, 시토신 데아미나제, 티미딘 키나제 또는 세균 니트로리덕타제 효소를 사용하는 요법, 화학요법 또는 방사선요법에 대한 환자의 내성을 증가시키는 요법으로 예컨대, 다중-약물 내성 유전자 요법; 및

[0445] (ix) 면역치료 접근법, 예를 들어, 환자 종양 세포의 면역발생을 증가시키는 생체의 및 생체내 요법, 예로서, 인터루킨 2, 인터루킨 4 또는 과립구 대식세포 콜로니 자극인자와 같은 사이토카인으로 형질감염, T 세포 면역 결여를 감소시키는 요법, 사이토카인 형질감염된 수지상 세포와 같은 형질감염된 면역 세포를 사용하는 요법, 사이토카인 형질감염된 종양 세포를 사용하는 요법 및 항-이디오타입 항체를 사용하는 요법.

[0446] 본 발명의 결합 구성원 또는 상기 추가의 의약 성분 중 1 이상은 약물 제조에 사용할 수 있다. 약물은 개체에 개별적으로 또는 병용하여 투여하기 위한 것일 수 있고, 따라서 결합 구성원, 및 조합된 조제물 또는 개별 조제물로서 추가 성분을 포함할 수 있다. 개별 조제물은 개별적 및 순차적 또는 동시 투여가 용이하도록, 그리고 상이한 경로, 예를 들어 경구 및 비경구 투여를 통해 성분들을 투여하는 것이 가능하도록 사용할 수 있다.

[0447] 본 발명에 따라서, 제공되는 조성물은 포유동물에게 투여될 수 있다. 투여는 "치료 유효량"으로 수행되며, 이는 환자에게 혜택을 주기에 충분한 양이다. 이러한 혜택은 적어도 1 이상의 증상 완화일 수 있다. 투여되는 실제량, 및 투여 속도와 시간 추이는 치료하려는 병태의 서질 및 중증도, 치료되는 특정 포유동물, 개별 환자의 임상적 상태, 질병의 원인, 조성물 전달 부위, 결합 구성원의 유형, 투여 방법, 투여 계획 및 의학 종사자에게 공지된 다른 인자에 따라 좌우된다. 치료 처방, 예를 들어 용량 등의 결정은 일반의 및 다른 의사의 책임에 속하며, 치료하려는 질병의 증상 및/또는 진행 중증도에 따라 좌우된다. 적절한 항체 용량은 당분야에 공지되어 있다(Ledermann et al. Int. J. Cancer 47:659-664, 1991; Bagshawe et al. Antibody, Immunoconjugates and Radiopharmaceuticals 4:915-922, 1991). 투여되는 약물 유형에 적절한 본 명세서에 기재되거나, 또는 [Physician's Desk Reference (2003)]에서 표시된 특정 용량을 사용할 수 있다. 본 발명의 결합 구성원의 적절한 용량 또는 치료 유효량은 동물 모델에서 생체 내 활성 및 시험관 내 활성을 비교하여 결정할 수 있다. 익낭에 마우스 및 다른 실험 동물에서의 유효량을 외삽하는 방법이 공지되어 있다. 상세한 용량은 항체가 진단, 예방 또는 치료용인가, 치료하려는 면역의 위치와 크기, 항체의 상세한 성질(예를 들어, 전체 항체, 단편 또는 디아바디), 및 항체에 부착된 임의의 검출가능 표지 또는 다른 분자의 성질을 포함하는 다수의 인자에 따라 좌우된다. 통상적으로 항체 용량은 전신 적용을 위해서는 100 μg ~1 g 범위이고, 국소 적용을 위해서는 1 μg ~1 mg 범위이다. 초기의 보다 높은 충전 용량, 이후 1 이상의 보다 낮은 용량을 투여할 수 있다. 대체로, 항체는 전체 항체, 예를 들어 IgG1 이소타입일 수 있다. 이는 성인 환자의 단독 치료를 위한 용량이고, 어린이와 유아를 위해서 비례적으로 조정할 수 있으며, 또한 분자량에 비례하여 다른 항체 포맷을 위해 조정할 수 있다. 치료는 날마다, 1주일에 2회, 1주 또는 1개월 간격으로, 담당의의 판단에 따라 반복할 수 있다. 치료는 피하 투여를 위해 매 2 내지 4주 마다 그리고 정맥내 투여를 위해서는 매 4주 내지 8주 마다 할 수 있다. 본 발명의 일부 구체예에서, 치료는 정기적이고, 투여 간격은 약 2주 또는 그 이상, 예를 들어 약 3주 이상, 약 4주 이상, 또는 약 1개월에 1번이다. 본 발명의 다른 구체예에서, 치료는 수술 전, 및/또는 후에 이루어질 수 있고, 수술 치료의 해부 부위에 직접 투여되거나 또는 적용될 수 있다. 본 발명을 이하 비제한적인 실시예와 도면을 참조하여 더욱 상세히 설명한다.

[0448] 실시예

[0449] 실시예 1

[0450] 1.1 인간 IL-4R α 세포의 도메인의 클로닝

[0451] 인간 IL-4R α 세포의 도메인의 서열을 코딩하는 cDNA(아미노산 잔기 1-229 Swiss-Prot 수탁 번호 P24394)를 인간 IL-4R α cDNA 서열(RefSeq NM_000418)을 기초로하는 프라이머를 사용하여 PCR을 통해 HUVEC cDNA 라이브러리로부터 증폭하였다. 얻어진 cDNA를 제조사의 설명서에 따라서 pDONR201(Invitrogen)로 서브클로닝하였다.

[0452] 다음으로, IL-4R α 세포의 도메인을 코딩하는 cDNA 단편을 LR Gateway[®] 반응(Invitrogen)을 사용하여 포유동물 발현 벡터 pDEST12.2(Invitrogen)로 전달하였다. pDEST12.2 벡터는 변형되어서 인간 IgG1 Fc 코딩 영역, 목적하는 삽입 유전자와 인플레임인 폴리히스티딘(His6) 태그를 포함하고, 또한 pCEP4 벡터(Invitrogen)의 oriP 복제 원점이 삽입되어 EBNA-1 유전자 생성물(예컨대 HEK293-EBNA 세포)이 발현되는 세포주를 형질전환시에 에피솜 플라스미드 복제를 가능하게 한다.

[0453] 인간 IL-4R α mRNA에 대한 공공 데이터베이스 수탁 번호는 NM-000418이고, 이 데이터베이스서 서열에서 관심있는 핵심 영역은 243-929이다. 최종 인간 IL-4R α /Fc에 대해 예상되는 아미노산 서열은 서열 번호 454에

나타내었다.

- [0454] 1.1.1 발현 및 정제
- [0455] HEK-EBNA 세포는 PEI를 사용하여 형질감염시켰다. 단백질을 단백질 G 크로마토그래피와 이후 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 조건화 배지로부터 정제하였다.
- [0456] 1.2 재조합 사이노물거스 원숭이 IL-4R α 및 인간 IL-4R α I75V 돌연변이체의 클로닝
- [0457] 사이노물거스 원숭이 IL-4R α 서브유닛은 하기의 올리고뉴클레오타이드를 프라이머로 사용하여 중합효소 연쇄 반응(PCR)을 통해 사이노물거스 원숭이 흉선 및 림프절(BioCat GmbH)로부터 증폭시켰다:
- [0458] 5'-ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctt ctttaacttt aagaaggaga tataaccatg gggtggcttt gctctgggct cctgttgcct gtgagc-3'(서열 번호 451)
- [0459] 5'-ggggaccact ttgtacaaga aagctgggtc ctgctcgaag ggctccctgt aggagttgta cca-3'(서열 번호 452)
- [0460] 얻어진 cDNA는 제조사의 설명서에 따라서 pDONR201(Invitrogen)로 서브클로닝하였다. 사이노물거스 원숭이 IL-4R α 세포의 도메인의 서열은 서열 번호 455에 나타내었다.
- [0461] 1.3 인간 IL-4R α I75V 변이체의 클로닝
- [0462] 인간 IL-4R α 의 다형체, I75V는 인간 IL-4R α 에 대한 코딩 서열(아미노산 잔기 1-229 NP_000409)을 함유하는 pDONR201 벡터를 사용하여 생성시켰다. 아미노산 위치 75의 이소루신을 하기 올리고뉴클레오타이드를 돌연변이 프라이머로 사용하고 QuikChange 다중 부위-지정 돌연변이유발 키트(Stratagene)를 사용하여 발린으로 돌연변이시켰다: 5'-gaagcccacacgtgtgccttgagaacaacgga-3'(서열 번호 453)
- [0463] 1.4 사이노물거스 및 I75V 변이체 IL-4R α /Fc를 위한 재조합 배클로바이러스의 생성
- [0464] 사이노물거스 원숭이 IL-4R α 및 인간 IL-4R α I75V 변이체를 인간 IgG1 Fc 코딩 영역을 함유하는 Gateway adapted pFastBac 벡터(인하우스)에 삽입시켰다. 사이노물거스 IL4R α /Fc에 대한 뉴클레오타이드 및 단백질 서열은 각각 서열 번호 456 및 서열 번호 457에 나타내었다. I75V IL4R α /Fc에 대한 뉴클레오타이드 및 단백질 서열은 각각 서열 번호 458 및 서열 번호 459에 나타내었다. 재조합 백미드(Bacmid)의 생성은 DH10Bac 이.콜라이(E.coli)(Invitrogen)를 형질전환시키고 선별 배지인 LB 아가 플레이트에 플레이팅하여 수행하였다. Sf9 세포를 재조합 백미드로 형질감염시키고, 높은 적정가의 재조합 배클로바이러스를 생성시켰다.
- [0465] 1.5 인간 I75V 및 사이노물거스 Fc 태깅된 IL-4R α 단백질 변이체의 발현 및 정제
- [0466] SF-900 II SFM 배지(Invitrogen) 중 3×10^6 세포/mL의 세포 농도에서 바이러스 MOI 1로 감염된 Sf21 세포(400 mL)에서 단백질을 발현시켰다. 분비된 IL-4R α -Fc 융합 단백질을 함유하는 배지를 각각 72시간 및 96시간 후에 회수하였다. Sf21 세포(400 mL)로부터의 성장 배지를 pH 8.0으로 조정하였다. 단백질 G 크로마토그래피 후 크기 배제 크로마토그래피를 사용하여 단백질을 정제하였다.
- [0467] 실시예 2. 선도물질 단리
- [0468] 2.1 선별
- [0469] 섬유상 파지 M13을 기반으로하는 파지미드 벡터에 클로닝된 나이브 인간 단쇄 Fv(scFv) 파지 디스플레이 라이브러리를 선별을 위해 사용하였다(Vaughan et al. Nature Biotechnology 14(3):309-314, 1996; Hutchings, C. Generation of Naive Human Antibody Libraries, in Antibody Engineering, R. Kontermann and S. Dubel, Editors. 2001, Springer Laboratory Manuals, Berlin. p. 93). 구체적으로 Vaughan 등(Vaughan, TJ. et al. Nature Biotechnology 14(3):309-14, 1996) 및 Hawkins et al. Journal of Molecular Biology 226:889-896, 1992)이 기술한 바와 같이 재조합 인간 IL-4R α Fc(R & D Systems)에 대한 일련의 선별 사이클을 사용하여 파지 디스플레이 라이브러리로부터 항-IL-4R α 특이적 scFv 항체를 단리하였다. 간략하게, 패닝 선별을 위해, PBS(둘레코 PBS, pH7.4) 중 인간 IL-4R α Fc를 밤새 4°C에서 Immobilizer™ 마이크로타이터 플레이트(Nunc)의 벽에 흡착시켰다. 웰을 PBS로 세척한 후 1시간 동안 PBS-Marvel(3% w/v)로 블로킹하였다. 무관련된 Fc 태깅된 단백질을 10배 과량 함유하는, PBS-Marvel(3% w/v) 중 정제된 파지를 웰에 부가하고 1시간 동안 코팅된 항원과 결합하도록 두었다. 비결합된 파지는 PBS-Tween(0.1% v/v) 및 PBS를 사용하여 일련의 세척 사이클을 통해 제거하였다. 결합된 파지 입자를 용리하고, 이.콜라이 TG1 박테리아를 감염시키고, 다음 선별 라운드를 위해 구제하였다

(Vaughan et al. Nature Biotechnology 14(3):309-314, 1996).

- [0470] 2.2 미정제된 scFv에 의한 IL-4 수용체에 대한 IL4 결합의 억제
- [0471] 주변세포질 조제물로부터의 미정제 scFv를 2 HTRF?(homogeneous time-resolved fluorescence) 수용체-리간드 결합 분석에서 스크리닝하고, 인간 및 사이노몰거스 IL4R α 둘 모두에 대한 억제 활성을 측정하기 위해 동시에 러닝시켰다. 인간 분석에서, 미정제된 scFv 샘플은 인간 IL4R α -Fc 수용체(R and D Systems, 604-4R)와의 결합에 대해 인간 비오틴화 IL4(Peprotec, 인하우스 비오틴화)와 경쟁하였다. 사이노몰거스 분석에서, 미정제된 scFv 샘플은 사이노몰거스 IL4R α -Fc-HIS6(인하우스 HEK 발현)와의 결합에 대해 사이노몰거스 비오틴화된 IL4(인하우스 이.콜라이 발현, 인하우스 비오틴화)와 경쟁하였다. 구체적인 분석 방법은 재료 및 방법 섹션(2.4)에서 제공한다.
- [0472] 인간 및 사이노몰거스 수용체-리간드 분석 둘 모두에서, IL4R α 와 IL4의 결합에 대해, 미정제된 주변세포질 추출물로서 억제 효과를 보이는 scFv를 DNA 서열분석하였다(Osbourn et al. Immunotechnology. 2:181-196, 1996). 고유한 서열을 갖는 ScFv를 박테리아에서 발현시키고 친화성 크로마토그래피를 통해 정제하였다(Bannister et al. Biotechnology and bioengineering, 94. 931-937, 2006).
- [0473] 2.3 정제된 scFv에 의한 IL-4 수용체에 대한 IL-4 결합의 억제
- [0474] scFv 샘플에 대한 역가는 IL4R α 에 결합하는 IL4에 대해, 정제된 scFv 조제물의 일련의 희석물을 경쟁시켜 측정하였다. 재료 및 방법 섹션 2.4에 기술한 바와 같이 인간 및 사이노몰거스 수용체-리간드 분석 둘 모두를 동시에 수행하였다. 항체 1의 정제된 scFv 조제물은 12 nM의 K_i 값(95% CI 8.7, 16.6)으로 IL4R α 에 대한 인간 IL-4의 결합을 억제하였다. 항체 1에 의한 IL4R α 에 대한 사이노몰거스 IL4의 결합 억제는 분석 신호의 10% 억제율이 관찰되어 불완전하였다. 따라서, 얻어진 결과로부터 정확한 K_i 역가 데이터를 산출하는 것은 불가능하였다.
- [0475] 2.4 재료 및 방법
- [0476] IL4R α 와 IL4의 결합을 억제하기 위한 수용체-리간드 HTRF? 분석법
- [0477] 고처리량 스크리닝법
- [0478] 선별 산출물을 스크리닝된 2 HTRF? 수용체-리간드 결합 분석법에서 스크리닝하고, 인간 및 사이노몰거스 IL4R α 둘 모두에 대한 억제 활성을 측정하기 위해 동시에 러닝시켰다. 2 분석을 위해 선별 산출물을, 50 mM MOPS 완충액 pH7.4, 0.5 mM EDTA 및 0.5 M 수크로스에 준비된, scFv를 함유하는, 희석하지 않거나 또는 희석한, 미정제된 박테리아 주변세포질 추출물로서 스크리닝하였다. 모든 희석은 0.4 M 불화칼륨 및 0.1% BSA를 함유하는 인산 완충된 염수(PBS)(분석 완충액)에서 수행하였다.
- [0479] 유로피움 크립테이트 표지된 염소-항-인간 Fc 항체를 3.2 nM(CIS Bio International 61HFCKLB) 농도로 0.5 nM의 인간 IL4R α /Fc(R and D Systems 604-4R)와 사전에 혼합하였다(사전혼합물 "A"). XL665-접합된 스트렙타비딘 10 nM(CIS Bio International 611SAXLB)을 인간 비오틴화된 IL4(Peprotec 인하우스 비오틴화) 4nM과 사전 혼합하였다(사전혼합물 "B").
- [0480] 동시에, 사이노몰거스 분석을 위해, 유로피움 크립테이트 표지된 염소-항-인간 Fc 항체, 3.2 nM(CIS Bio International 61HFCKLB)을 사이노몰거스 IL4R α /Fc(단리/Sf21 발현됨) 또는 사이노몰거스 IL4R α /Fc HIS6(최적화/HEK-발현됨) 0.5 nM과 사전혼합하였다(사전혼합물 "A"). XL665-접합된 스트렙타비딘 10 nM(CIS Bio International 611SAXLB)을 사이노몰거스 비오틴화 IL4(인하우스 이.콜라이 발현, 인하우스 비오틴화) 3 nM과 사전혼합하였다(사전혼합물 "B").
- [0481] 각각의 분석을 위해, 5 μ l의 사전혼합물 "A"를 384 웰 저용량 분석 플레이트(Costar 3676)에 부가하였다. 다음으로, 5 μ l의 미정제된 scFv 샘플을 부가하였다. 이어서 10 μ l의 사전혼합물 "B"를 부가하였다.
- [0482] 비특이적 결합은 각각 인간 및 사이노몰거스 IL4R α 수용체-리간드 결합 분석에 대해서 최종 농도 10 nM의 단일 클론 마우스 IgG2a 클론 25463(R and D Systems) 또는 최종 50 nM의 사이노몰거스 IL4(인하우스 이.콜라이 발현)를 사용하여 정하였다.
- [0483] 분석 플레이트를 4시간 동안 실온에서 항온반응시킨 후, EnVision 플레이트 판독기(Perkin Elmer)를 사용하여 620 nm 및 665 nm 방출 파장에서 시간차(time resolved) 형광발광을 판독하였다.
- [0484] 데이터는 각 샘플에 대해서 %델타F 값을 계산하여 분석하였다. 델타F는 하기 식 1에 따라 결정하였다.

[0485] [식 1]

$$\text{델타}F(\%) = \frac{(\text{샘플 } 665nm/620nm \text{ 비율값}) - (\text{비특이대조군 } 665nm/620nm \text{ 비율값})}{\text{비특이대조군 } 665nm/620nm \text{ 비율값}} \times 100$$

[0486]

[0487] %델타F 값을 이후 사용하여 하기 식 2에 기술한 바와 같이 특이적 결합율(%)을 계산하였다.

[0488] [식 2]

$$\text{특이결합율}(\%) = \frac{\text{샘플의 델타}F(\%)}{\text{전체결합대조군의 델타}F(\%)} \times 100$$

[0489]

[0490] K_i 측정

[0491] 정제된 scFv 농도의 희석 시리즈를 준비하여 인간 및 사이노몰거스 분석 둘 모두에서 scFv 역가 K_i 값을 측정하였다. 5 μ l의 사전 혼합물 "A"를 384 웰 저용량 분석 플레이트(Costar 3676)에 추가하였다. 다음으로, 5 μ l의 scFv 희석 샘플을 추가하였다. 이어서 10 μ l의 사전혼합물 "B"를 추가하였다.

[0492] 비특이적 결합은 각각 인간 및 사이노몰거스 IL4R α 수용체-리간드 결합 분석에 대해서 최종 농도 10 nM의 단일 클론 마우스 IgG2a 클론 25463(R and D Systems) 또는 최종 농도 50 nM의 사이노몰거스 IL4(인하우스 이.콜라이 발현됨)를 사용하여 정하였다.

[0493] 분석 플레이트를 4시간 동안 실온에서 항온반응시키고, EnVision 플레이트 판독기(Perkin Elmer)를 사용하여 시차 형광발광을 620 nm 및 665 nm 방출 파장에서 판독하였다.

[0494] 데이터는 각 샘플에 대해서 %델타F 값을 계산하여 분석하였다. 델타F는 하기 식 1에 따라 결정하였다.

[0495] [식 1]

$$\text{델타}F(\%) = \frac{(\text{샘플 } 665nm/620nm \text{ 비율값}) - (\text{비특이대조군 } 665nm/620nm \text{ 비율값})}{\text{비특이대조군 } 665nm/620nm \text{ 비율값}} \times 100$$

[0496]

[0497] %델타F 값을 이후 사용하여 하기 식 2에 기술한 바와 같이 특이적 결합율(%)을 계산하였다.

[0498] [식 2]

$$\text{특이결합율}(\%) = \frac{\text{샘플의 델타}F(\%)}{\text{전체결합대조군의 델타}F(\%)} \times 100$$

[0499]

[0500] IC_{50} 값은 GraphPad Prism 소프트웨어를 사용하고, 곡선 조정을 통해서 4 모수 로지스틱 방정식(식 3)을 사용해 결정하였다.

[0501] [식 3]

$$Y = \text{기저값} + (\text{최고값} - \text{기저값}) / (1 + 10^{((\text{LogEC}_{50} - X) * \text{기울기}))}$$

[0502]

[0503] X는 농도의 로그이고, Y는 특이적 결합이다. Y는 기저값에서 시작하여 최고값으로 S자 형태로 간다.

[0504] IC_{50} 값은 식 4에 기술된 바와 같은 Cheng-Prusoff 식을 사용하여 K_i 로 전환시켰다.

[0505] [식 4]

$$K_i = IC_{50} / (1 + [L]/K_d)$$

[0506]

[0507] 실시예 3. IgG2로 scFv의 리포매팅

[0508] 3.1

[0509] 각각 전체 항체 중쇄 및 경쇄를 발현하는 벡터로 V_H 및 V_L 도메인을 서브클로닝하여 클론을 scFv에서 IgG 포맷으로 전환시켰다. V_H 도메인을 인간 중쇄 불변 영역 및 조절 성분을 함유하는 벡터(pEU9.2)로 클로닝하여 포유동물 세포에서 전체 IgG 중쇄를 발현시켰다. 유사하게, V_L 도메인은 포유동물 세포에서 전체 IgG 경쇄를 발현시키

기 위해 조절 성분과, 인간 람다 경쇄 불변 도메인의 발현을 위한 벡터(pEU4.4)로 클로닝되었다. 중쇄 및 경쇄의 발현을 위한 벡터는 본래 Peric 등(Gene 187:9-18, 1997)에 기술되어 있다. 이들 벡터를 OriP 성분을 도입하여 간단히 조작하였다. IgG를 얻기 위해, 중쇄 및 경쇄 IgG 발현 벡터로 EBNA-HEK293 포유동물 세포(Invitrogen R620-07-)를 형질감염시켰다. IgG가 발현되어 배지로 분비되었다. 회수물을 모으고 여과한 후 정제하였다. IgG는 단백질 A 크로마토그래피를 사용하여 정제하였다. 배양물 상등액을 적절한 크기의 세라믹 단백질 A 컬럼(BioSeptra) 상에 적재하고 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 250 mM NaCl로 세척하였다. 결합된 IgG는 0.1 M 시트르산나트륨(pH 3.0)을 사용하여 컬럼으로부터 용리하고 Tris-HCl(pH 9.0)을 부가하여 중성화시켰다. 용리된 물질은 Nap10 컬럼(Amersham, #17-0854-02)을 사용하여 PBS로 완충액 교환을 수행하였고, IgG의 농도는 IgG의 아미노산 서열을 기초로 하는 소광 계수를 사용하여 분광광도적으로 측정하였다(Mach et al., Anal Biochem. 200 (1):20-26, 1992). 정제된 IgG는 SEC-HPLC 및 SDS-PAGE를 사용하여 응집 또는 분해 정도에 대해 분석하였다.

[0510] 3.2 IgG에 의한 IL-13 및 IL-4 유도된 TF-1 세포 증식의 억제

[0511] 인간 IL-13 및 IL-4 생활성에 대한 정제된 IgG 조제물의 중화 역가는 TF-1 세포 증식 분석법을 사용하여 평가하였다. TF-1은 적백혈병이 있는 환자로부터 확립된 인간 전골수 세포주이다(Kitamura et al. J. Cell Physiol. 140(2):323-34, 1989). TF-1 세포주는 생존 및 증식을 위한 인자에 의존적이다. TF-1 세포는 인간 IL-13 and IL-4(Peprotech, 이.콜라이 유래) 둘 모두에 반응하는 것으로 확인되었다. IL-4 및 IL-13 의존적 증식의 억제는 분열하는 세포의 새롭게 합성되는 DNA로 삼중수소화 티미딘의 유입이 감소되는 것을 측정하여 확인하였다. 이 프로토콜에 대한 상세한 설명은 재료 및 방법 섹션 3.2.1에서 제공하였다.

[0512] 항체 1의 리포매팅된 IgG 조제물은 농도 의존적인 방식으로 TF-1 세포의 IL-13 및 IL-4 유도된 증식을 억제하였다. IL-13 및 IL-4에 대한 항체 1의 IC₅₀ 기하평균은 각각 18 nM 및 38 nM로 계산되었다.

[0513] 3.2.1 재료 및 방법- 정제된 IgG에 의한 IL-4 및 IL-13 유도된 TF-1 세포 증식의 억제

[0514] TF-1 세포(R&D Systems)는 제공된 프로토콜에 따라 유지시켰다. 분석 배지는 5% 태아 소혈청(JRH), 1% 피루브산나트륨(Sigma), 페니실린/스트렙토마이신(1-2%)을 함유하는 GLUTAMAX I(Invitrogen)과 RPMI-1640을 포함한다. 각각의 분석 전에, TF-1 세포를 300xg에서 5분간 원심분리하여 펠렛화하고, 흡인을 통해 배지를 제거한 후 세포를 분석 배지에 재현탁하였다. 이러한 과정을 2회 반복하여 분석 배지에 재현탁된 세포의 최종 농도가 2x10⁵ 세포/mL이 되었다. 세포는 96웰 분석 플레이트에 100 μ l/웰을 사용하여 세포를 플레이트하였다. IgG의 테스트 용액(이중)을 분석 배지에 목적하는 농도 범위로 적정하였다. IL-4R α 에 대해 유도되지 않은 무관한 항체를 음성 대조군으로 사용하였다. 분석은 경쟁 포맷으로 설정하였고, 각각의 재조합적으로 박테리아에서 유래된 인간 IL-4 또는 IL-13(Peprotech) 50 μ l 및 적절한 테스트 항체 적정량을 100 μ l 세포에 순차적으로 부가하였다. 200 μ l/웰의 최종 분석 용량 및 18 pM(IL-4) 또는 400 pM(IL-13)의 농도를 이 분석에서 사용하였다. IL-4 및 IL-13의 농도는 최대 증식 반응의 대략 50%가 주어지는 용량으로 선택하였다. 플레이트를 72시간 동안 37°C 및 5% CO₂에서 항온반응시켰다. 20 μ l의 삼중수소화 티미딘(5 μ Ci/mL)을 각 분석 시점에 부가하고 플레이트를 다시 추가로 4 내지 5시간 동안 항온반응기에서 유지시켰다. 세포를 세포 회수기를 사용하여 유리 섬유 필터 플레이트(Perkin Elmer) 상에 모았다. 티미딘 유입율은 Packard TopCount 마이크로플레이트 액체 섬광 계측기를 사용하여 측정하였다. 이어서 데이터는 Graphpad Prism 소프트웨어를 사용하여 분석하였다.

[0515] 실시예 4. 항체 최적화

[0516] 4.1. 표적화 돌연변이유발법에 의한 모클론의 최적화

[0517] 다른 중, 예를 들어 사이노몰거스 원숭이에서 유래한 유사 단백질과 교차 반응성을 또한 보이는 인간 IL4R α 에 대한 항체를 발견하고 개발하는 것은 장점과 혜택이 존재한다. 이러한 항체는 생체 내에서 안정성 및 약학적 관점에서 이러한 항체의 특징규명을 용이하게 한다. 예를 들어 인간 활성 보다 10배 이하로 다른, 다른 종에 대한 역가 및 친화성이 이러한 평가에서 적합할 수 있다.

[0518] 필요한 중 교차 반응성을 획득하기 위해, 모항체(항체 1)를 인간 및 사이노몰거스 IL4R α 에 대해 향상된 친화성에 대해 최적화시켰다. 이러한 최적화는 친화성-기반 파지 디스플레이 선별법과 표적화 돌연변이유발법을 사용하여 수행하였다. 표적화 돌연변이 유발법을 위해서, 항체 1에서 유도된 거대한 scFv-파지 라이브러리를 [Clackson and Lowman (2004) A Practical Approach, 2004. Oxford University Press]에 기술된 표준 분자 생물학적 기법을 사용하여, 가변 중쇄(V_H) 및 경쇄(V_L) 상보성 결정 영역 3(CDR3)의 올리고뉴클레오타이드-지정 돌연변이유발법을 통해 생성시켰다.

- [0519] IL-4R α 의 인간 및 사이노몰거스 형태에 대해 보다 높은 친화성을 갖는 변이체를 선별하기 위해, 상기 라이브러리에 대해서 친화성-기반 파지 디스플레이 선별법을 수행하였다. 선별은 실질적으로 이전에 기술된 바와 같이 수행하였다(Thompson, Journal of Molecular Biology, 256:77-88, 1996). 간략하게, scFv 파지 입자를 용액(bio-huIL-4R α FLAG HIS 또는 bio-cyno-IL-4R α Fc HIS, 둘 모두 인하우스 HEK-EBNA 유래됨) 중에서 재조합 비오틴화된 인간 또는 사이노몰거스 IL-4R α 와 항온반응시켰다. 사용되는 항원의 종은 각 선별 라운드에서 교체하였다. 이후, 항원에 결합된 ScFv-파지를 제조사의 추천서에 따라서 스트렙타비딘-코딩된 상자성 비드(Dynabeads[®]M280) 상에서 포획하였다. 선별된 scFv-파지 입자를 이전에 기술된 바와 같이 구제하였고(Osourn, JK. et al. Immunotechnology, 2(3):181-96, 1996), 선별 라운드 간에 종을 교체하고, 농도를 감소시키면서 bio-huIL-4R α 또는 bio-cyno-IL-4R α 존재하에서 선별 과정을 반복하였다(6 라운드 동안 500 nM에서 250 pM로 낮춤).
- [0520] 6라운드의 선별이 완료되면, VH 및 VL 무작위화된 라이브러리를 조합하여 단일 라이브러리를 형성하였고 여기서 클론은 무작위적으로 쌍을 이룬 개별적으로 무작위화된 VH 및 VL 서열을 포함한다. 다음으로, 적절한 경우 항의 종을 교체하고, 농도를 낮춘 bio-huIL-4R α 또는 bio-cyno-IL-4R α 존재 하에서 앞서 기술된 바와 같이 선별 과정을 반복하였다(추가 5 라운드 동안 2.5 nM에서 0.5 pM 감소).
- [0521] 4.2 무작위 돌연변이 유발법에 의한 항체의 최적화
- [0522] 항체 중 하나(항체 20)를 무작위 돌연변이 유발법을 사용해 더욱 최적화시켜서 인간 및 사이노몰거스 IL4R α 에 대한 결합성을 향상시킬 수 있는 항체 서열 내 핵심 잔기를 동정하였다. 거대한 scFv-파지 라이브러리를 항체 20 scFv 서열의 가변 영역 전체에 무작위 돌연변이를 도입하여 생성시켰다. 이는 돌연변이 라운드 당 핵산 서열의 1 kb 당 평균, 8.1 돌연변이가 도입되도록, 제조사의 설명서에 따라서, Diversify[™] PCR 무작위 돌연변이유발 키트(BD biosciences)를 사용하여 2라운드의 돌연변이 유발을 통해 수행하였다. 이러한 전략에 대한 프로토콜은 국제 공개 특허 출원 W02006/072801(Cambridge Antibody Technology)에 따른 것이다. 상기 라이브러리에 대해서 IL-4R α 의 인간 및 사이노몰거스 형태에 대해 보다 높은 친화성을 갖는 변이체를 선별하기 위한 친화성-기반 파지 디스플레이 선별법을 수행하였다.
- [0523] 선별 과정은 실질적으로 이전에 기술된 바와 같이 수행하였다(Thompson, Journal of Molecular Biology, 256:77-88, 1996). 간략하게, scFv 파지 입자를 용액 중에서 재조합 비오틴화된 인간 또는 사이노몰거스 IL-4R α (bio-huIL-4R α FLAG HIS 또는 bio-cyno-IL-4R α Fc HIS, 둘 모두 인하우스 HEK-EBNA 유래)와 항온반응시켰다. 항원의 종은 인간과 사이노몰거스 간에 교체하여 그에 따라 IL-4R α 의 특정 종에 대한 친화성을 개선하고자 하였다. 항원 결합된 ScFv-파지를 제조사의 추천에 따라 스트렙타비딘 코딩된 상자성 비드(Dynabeads[®]M280) 상에서 포획하였다. 다음으로, 선별된 scFv-파지 입자를 이전에 알려진 바와 같이 구제하고(Osourn et al. Immunotechnology, 2(3):181-96, 1996), 선별 과정은 감소되는 농도의 bio-huIL-4R α 또는 bio-cyno-IL-4R α (4 라운드 동안 20 nM에서 1 pM로 낮춤) 존재 하에서 반복하였다.
- [0524] 4.3 수용체-리간드 결합 분석을 사용하여 무작위 돌연변이유발로부터 개선된 클론의 동정
- [0525] 표적화 및 무작위 돌연변이유발 선별 과정에서 얻은 scFv를 박테리아의 주변세포질에서 발현시키고, 2 HTRF(homogeneous time-resolved fluorescence)에서 스크리닝하고, 인간 및 사이노몰거스 IL4R α 둘 모두에 대해 억제 활성을 측정하기 위해 동시에 러닝시켰다. 상세한 분석 방법은 재료 및 방법 섹션 2.4에 제공하였다. 2 분석 모두에서 유의한 억제 효과를 보이는 scFv에 대해 DNA 서열 분석을 수행하고, 고유한 서열을 갖는 scFv를 정제 조제물로서 준비하였다.
- [0526] 정제된 scFv 항체 역가는 IL4R α 에 결합하기 위한 IL4에 대해 정제된 scFv 조제물의 희석 시리즈물을 경쟁시켜 측정하였다. 인간 및 사이노몰거스 수용체-리간드 분석 둘 모두를 재료 및 방법 섹션 2.4에 기술된 바와 같이 수행하였다. 각 샘플에 대해 scFv에 대한 예시적인 역가 데이터를 하기 표 1에 제공하였다.

표 1

[0527]

	Ki (nM) 기하평균(괄호는 95% 신뢰 한계치)				
scFv	인간 IL4R	Cyno IL4R	scFv	인간 IL4R	Cyno IL4R
항체 1	12.0 (8.7, 16.6)	불완전	항체 24	49pM (25, 94)	0.8 (0.5, 1.0)
항체 2	0.6 (0.5, 0.7)	4.3 (2.1, 8.9)	항체 24PGL	65pM	0.7

항체 3	0.5	48.0	항체 25	39pM (20, 79)	1.3 (0.7, 2.7)
항체 4	0.8 (0.4, 1.8)	6.8 (3.4, 13.6)	항체 26	0.1	1.2
항체 5	0.6 (0.1, 2.8)	3.8 (1.8, 8.2)	항체 27	63pM	2.8
항체 6	0.3	3.5	항체 28	94pM	1.8
항체 7	1.1	16.5	항체 29	61pM	2.4
항체 8	0.4	9.4	항체 30	69pM	3.6
항체 9	0.1 (0.1, 0.3)	12.9 (9.0, 19)	항체 31	44pM (26, 76)	2.2 (1.4, 3.4)
항체 10	0.5	19.6	항체 32	75pM	1.3
항체 11	0.7	26.1	항체 33	92pM	1.4
항체 12	0.3	7.2	항체 34	56pM	1.2
항체 13	0.3	22.2	항체 35	71pM	2.6
항체 14	0.6 (0.4, 0.9)	27.7	항체 36	0.1	5.3
항체 15	1.0 (0.8, 1.2)	32.3	항체 37	40pM (30, 51)	0.8 (0.7, 1.0)
항체 16	0.4 (0.2, 1.0)	8.7	항체 37 GL	61pM (40, 92)	0.7 (0.5, 1.1)
항체 17	0.9	43.5	항체 38	66pM	2.7
항체 18	0.7	56.5	항체 39	27pM	1.6
항체 19	0.8 (0.4, 1.6)	18.5	항체 40	31pM	6.5
항체 20	0.7 (0.6, 0.8)	4.2 (3.4, 5.3)	항체 41	53pM	2.7
항체 21	31pM (13, 76)	1.0 (0.5, 1.9)	항체 42	27pM (16, 49)	2.5 (1.4, 4.5)
항체 22	0.3	2.6			
항체 23	0.2	4.8			

[0528] 4.4 최적화된 클로에 의한 IL-13 및 IL-4 유도된 TF1 세포 증식의 억제

[0529] 정제된 scFv 항체의 역가를 또한 TF1 증식 분석법으로 측정하였다.

[0530] TF-1 증식 분석에서 가장 가능성있는 클론을 이전에 기술한 바와 같이 IgG로 전환시키고, TF-1 증식 분석에서 다시 테스트하였다. 각 샘플에 대한 IgG의 예시적인 역가 데이터를 하기 표 2에 제공하였다. 표 2는 TF-1 세포 증식 분석에서 테스트한 경우 개선된 클론의 예시적인 역가를 나타낸 것이다.

표 2

[0531]

클론 (비배선화)	IC ₅₀ (pM)	
	IL-4	IL-13
항체 2	41.7 (33.2, 52.3)	171 (68.0, 429)
항체 4	20.9 (13.5, 32.3)	58.1
항체 7	12.3	42.7
항체 8	7.9	22.4
항체 9	8.88 (5.94, 13.3)	20.4 (13.9, 29.9)
항체 10	10.1	25.4
항체 11	18.8	32.7
항체 12	18.2	40.7
항체 14	3.8	27.2
항체 15	2.8	17.8
항체 16	6.2	19.5
항체 19	7.6	22.4
항체 20	31.1 (19.9, 48.6)	66.1 (34.2, 128)
항체 13	15.7 (7.47, 33.1)	24.6
항체 21	19.7	34.7
항체 24	12.6 (9.5, 16.7)	30.2 (14.5, 62.8)

항체 25	9.8	23.2
항체 31	20.2	44.2
항체 37	10.4 (7.5, 14.5)	22.1 (11.7, 41.8)
항체 42	20.2	42.7
12B5 *	42.7 (25.9, 70.4)	79.1 (34.7, 180)

[0532] * 12B5 = 벤치마크 항체는 WO 01/92340에 교시된 바에 따라 제조하였다.

[0533] 4.3 배선화(germlining)

[0534] 최적화된 항-IL-4R α 항체의 V_H 및 V_L 도메인의 아미노산 서열을 VBASE 데이터베이스(단백질 조작을 위한 MRC 센터)에 공지된 인간 배선 서열에 대해 정렬시키고, 서열 유사성을 통해서 가장 근접한 배선을 동정하였다. 최적화된 항체 계통의 V_H 도메인은 Vh1_DP-7_(1-46)였다. V_L 도메인의 경우는 V11_DPL5였다.

[0535] 변화없이 남겨두는, 베르니에르 잔기(Foote & Winter, J Mol Biol. Mar 20:224(2):487-99, 1992)를 고려하지 않고, 항체 37의 V_H 도메인의 프레임워크에 3 변화가 존재하고 V_L 도메인에 2 변화가 존재하였으며, 이들 모두는 인간 항체와 똑같이 매칭되도록 최근접 배선 서열로 복귀되었다. 항체 24는 최근접 인간 배선 매치로부터 떨어진, V_H 도메인의 1 변화 및 V_L 도메인의 2 변화가 존재하였다. V_H 도메인의 카뮈 번호 37 및 V_L 도메인의 카뮈 번호 73에서의 변화는 최근접 인간 배선 매치의 것으로 복귀되었다. V_L 도메인의 위치 87에서의 아미노산 변화는 미변화 상태로 남아서, 역가가 유지되었다(항체 24PGL). 이들 아미노산 잔기의 배선화는 적절한 돌연변이 유발 프라이머를 사용하여 표준 부위 지정 돌연변이 유발법을 이용해 수행하였다.

[0536] 항체 37GL scFv 서열을 클로닝 벡터에 클로닝하고, 이.콜라이 Top10 세포(F- *mcrA* Δ (*mrr-hsdRMS-mcrBC*) ϕ 80 *lacZ* Δ M15 Δ *lacX74recA1araD139 Δ (*ara1eu*)7697 *galUga1KrpSL* (StrR) *endA1nupG*)를 형질전환시켜서 부다페스트 조약에 따라 NCIMB(Aberdeen, Scotland)에 2008년 12월 9일자로 기탁하였다. 출원인의 클론 참조번호는 "항체 37 GL"이고 NCIMB 기탁 번호는 NCIMB 41600이다.*

[0537] 배선화된 IgG에 대해서 이후 IL-4 및 IL-13 유도된 TF-1 증식 분석에서 재평가하여 역가 감소가 존재하지 않았음을 검증하였다. 배선화된(GL) 항체에 대한 예시적인 역가를 하기 표 3에 도시하였다. 표 3은 IL-4 및 IL-13 유도된 TF-1 세포 증식 분석에서 평가시 배선화된 최적화 클론에 대한 예시적인 역가 데이터를 나타낸 것이다.

표 3

클론 (배선화)	IC ₅₀ (pM)	
	IL-4	IL-13
항체 24 (PGL)	15.3 (6.63, 35.1)	55.0 (29.3, 103.1)
항체 37 (PGL)	14.9 (7.8, 28.6)	41.7 (18.6, 93.4)
항체 37 (FGL)	11.4 (9.8, 13.3)	21.1 (12.4, 35.9)

[0539] 데이터는 기하 평균 및 95% 신뢰 구간으로 나타내었다.

[0540] 4.6 DELFIA? 에피토프 경쟁 분석에서 최적화된 항체의 선택성 및 중 교차 반응성

[0541] IL-4R α 및 구조적으로 관련된 분자; IL13Ra1 Fc, IL13Ra2 Fc 및 공통 감마쇄(IL-2Rg)에 대한 항체의 중 교차 반응성 및 선택성을 DELFIA? 에피토프 경쟁 분석법으로 확립하였다. 이 분석은 각각의 고정된 항-IL-4R α 항체 결합에 대한, 비오틴화된 IL-4R α HIS FLAG(인하우스 HEK-EBNA 유래)의 억제성을 측정하여 상대적인 교차 반응성을 측정한다.

[0542] 정제된, IL13Ra1 Fc, IL13Ra2 Fc 및 공통 감마쇄(IL-2Rg)(모두 R & D Systems)의 적정량을 각 분석에서 테스트하여 분석법에서 IC₅₀ 값에 의해 측정되는바와 같이, 각각의 구조적으로 관련된 단백질에 대한 특이성 프로파일을 확립하였다.

[0543] 사이노몰거스 IL-4R α HIS Fc(인하우스 HEK-EBNA 유래), 인간 IL-4R α I75V Fc(AstraZeneca), 인간 IL-4R α Fc 및 쥐과동물 IL-4R α (둘 모두 R & D Systems)을 포함하여, IL-4R α 종의 적정량을 각 분석에서 테스트하여 항체의 중 교차 반응성을 확립하였다. 비오틴화되지 않은 인간 IL-4R α HIS FLAG를 양성 대조군으로 사용하였다. 인

간 및 사이노몰거스 IL-4R α HIS Fc는 인간 IL-4R α I75V Fc와 함께, 모호한 IC₅₀ 값과 중첩되는 억제 곡선을 나타내었다. 시험한 쥐과동물 IL-4R α 또는 임의의 관련 인간 단백질에서 어떠한 억제도 관찰되지 않았다. 결과는 항체 37GL가 사이노몰거스 IL-4R α 및 인간 IL-4R α I75V와 교차 반응하지만 쥐과동물 IL-4R α 에 결합하지 않거나 또는 임의의 가장 관련된 인간 단백질이 인간 IL-4R α 에 결합하지도 않았다. 프로토콜에 대한 상세 설명은 재료 및 방법 4.6.1에 제공하였다.

[0544]

4.6.1 재료 및 방법 - DELFIA? 에피토프 경쟁 분석

[0545]

특정 IgG에 대해 대략적으로 평가된 KD로 비오틴화된 인간 IL-4R α HIS FLAG를 부가시에 유의한 신호를 부여하는 농도로 PBS 중 96-웰 Maxisorp 마이크로타이터 플레이트(Nunc)에 정제된 IgG를 흡착시켰다. 과량의 IgG는 PBS-Tween(0.1% v/v)로 세척해 내고, 웰을 PBS-Marvel(3% w/v)로 1시간 동안 블로킹하였다. 하기 경쟁인자 각각의 희석 시리즈물을 PBS에 제조하였는데, 비오틴화된 인간 IL-4R α 및 각각의 IgG; 인간 IL-4R α Fc(R & D Systems, 604-4R-050), 인간 IL-4R α I75V Fc(AstraZeneca), 사이노몰거스 IL-4R α HIS Fc(인하우스), 쥐과동물 IL4R α Fc(R & D Systems 530-MR-100), 인간 공통 감마쇄(sIL-2Rg)(R & D Systems 384-RG-050-CF), 인간 IL-13Ra1 Fc(R & D Systems, 146-IR-100), 인간 IL-13Ra2 Fc(R & D Systems, 614-IR-100) 간 상호작용의 KD 값의 대략 400배의 농도에서 출발하였다. 비오틴화되지 않은 인간 IL-4R α HIS FLAG를 양성 대조군으로서 사용하였다. 이 시리즈물에, KD의 대략 2배 농도로 동일 부피의 비오틴화된 재조합 인간 IL-4R α 를 부가하였다(그 결과 대략 200:1의 경쟁인자 항원:비오틴화된 인간 IL-R α 의 비율에서 시리즈물이 출발함). 다음으로 이들 혼합물을 블로킹된 IgG 상으로 전달하고 1.5시간 동안 평형화되도록 하였다. 미결합된 항원은 PBS-Tween(0.1% v/v)로 세척하여 제거하는 한편, 남아있는 비오틴화된 인간 IL-4R α 는 스트렙타비딘-유로피움3+ 접합체(DELFIA? 검출, PerkinElmer)를 통해 검출하였다. 시차 형광발광은 EnVision 플레이트 판독기(PerkinElmer) 상에서 620 nm에서 측정하였다. 형광발광 데이터는 특이적 결합율(%)로 전환시켰다(비오틴화된 인간 IL-4R α 는 함유하지만 경쟁인자는 없는 대조군 웰에서 100%가 측정되었고, 0%는 비오틴화된 인간 IL-4R α 및 1000배 과량의 비오틴화되지 않은 인간 IL-4R α 함유 웰에서 얻음). 최종 데이터는 Prism curve fitting 소프트웨어(Graphpad)를 사용하여 분석해서 IC₅₀ 값을 확인하였다.

[0546]

4.7 BIAcore를 사용한 최적화된 클론에 대한 친화성 데이터 산출

[0547]

인간 및 사이노몰거스 IL-4R α 에 대한 항체의 대표적인 패널의 정제된 IgG 샘플의 결합 친화성을 실질적으로 Karlsson 등(J. Immunol. Methods, 145(1-2):229-240, 1991)에 기술된 바와 같은 BIAcore 2000 바이오센서(BIAcore AB)를 사용하는 표면 플라즈몬 공명을 통해 측정하였다. 간략하게, 제조사의 설명서(BIAcore)에 따른 표준 아민 커플링 시약을 사용하여 CM5 센서 칩의 표면에 단백질 G'(Sigma Aldrich, P4689)를 공유적으로 결합시켰다. 이 단백질 G' 표면을 사용하여 Vc 도메인을 통한 이소타입 대조군 또는 정제된 항-IL4R α 항체의 일정량을 포획하였다. 100 nM 내지 0.2 nM 범위의 농도로, HBS-EP 완충액(BIAcore AB)에 준비한 인간 또는 사이노몰거스 IL-4R α HIS FLAG를 센서 칩 표면 상에 통과시켰다. 표면은 각각의 항체 주입 사이에, 10 mM 글리신, pH 1.75를 사용하여 재생시켰다. 얻어진 센서그램은 BIA 이밸류에이션 4.1 소프트웨어를 사용하여 평가하고 1:1 랑뮈어 결합 모델에 일치시켜서, 상대적인 결합 데이터를 제공하였다. 이 실험은 평균 1가 친화성을 산출하기 위해 3일 이상의 개별일 동안 수행하였다. 얻어진 데이터 피트로부터, 표 4에 나타난 바와 같이, 인간 및 사이노몰거스 IL-4R α 에 대한 항체 37GL의 친화성이 각각 대략 504 pM 및 4.4 nM인 것으로 확인되었다. 하기 표 4는 인간 및 cyno IL4R α 에 결합하기 위한 항체의 대표적인 패널에 대한 예시적인 동역학 분석 결과이다.

표 4

[0548]

	인간 IL4R α HIS FLAG			Cyno IL4R α HIS FLAG		
	Ka (M ⁻¹ s ⁻¹)	Kd (s ⁻¹)	KD (nM)	Ka (M ⁻¹ s ⁻¹)	Kd (s ⁻¹)	KD (nM)
항체 2	6.51x10 ⁵	2.94x10 ⁻³	4.51	9.67x10 ⁴	4.59x10 ⁻³	47.5
항체 9	5.43x10 ⁵	2.29x10 ⁻⁴	0.422	1.31x10 ⁵	1.63x10 ⁻²	124
항체 20	6.98x10 ⁵	8.73x10 ⁻⁴	1.25	1.63x10 ⁵	4.52x10 ⁻³	27.7

항체 37	6.40×10^5	1.62×10^{-4}	0.255 (0.313, 0.250, 0.203)	2.43×10^5	6.88×10^{-4}	2.97 (2.59, 2.36, 3.96)
항체 37GL	6.88×10^5	3.46×10^{-4}	0.504 (0.533, 0.531, 0.459)	2.44×10^5	1.08×10^{-3}	4.41 (4.67, 4.34, 4.41)

[0549] 실시예 5: 키메라 인간/마우스 IL-4R α 세포외 도메인을 사용한 IL4R α:항체 상호작용의 에피토프 지도화

[0550] 5.1 전체 도메인 스와핑된 키메라 IL-4R α 분자의 생성

[0551] 본 발명의 결합 구성원은 인간 IL-4R α에 강력하게 결합하지만, 마우스 IL-4R α에는 극도로 빈약하게, 거의 식별불가능하게 결합한다. 이러한 특성을 이용하여, 키메라 IL-4R α 분자를 에피토프 지도화를 위해 생성시켰다. 전체 도메인-스와핑 키메라는 인간 IL-4R α 엑토도메인의 도메인 1(D1)(M1-E119) 또는 도메인 2(D2)(H120-F229)를 상응하는 마우스 IL-4R α 서열로 치환시켜 생성시켰다. 루프 스와핑 키메라는 인간 IL-4R α로부터 IL4와 상호작용하는 것으로 알려진 루프 영역(Hage et al., *Cell* 97:271-281, 1999)을 마우스 IL-4R α 유래의 상응하는 영역으로 치환시켜 생성시켰다. HTRF(homogeneous time resolved fluorescence) 경쟁 분석법을 사용하여 항체에 대한 키메라 결합을 측정하는데 사용하였다. 이 분석에서, Eu³⁺ 크립테이트로 표지된 항체는 비오틴 표지된 인간 IL-4R α와 상호작용하였다. 상호작용은 Eu³⁺ 크립테이트와 스트렙타비딘 표지된 XL665 간의 FRET(Fluorescence Resonance Energy Transfer) 신호를 통해 검출하였다(Mathis et al., *Clin Chem* 41: 1391-1397, 1995).

[0552] 5.1.1 재료 및 방법- 키메라의 클로닝, 발현 및 정제

[0553] 인간 IL-4R α 세포외 도메인(아미노산 잔기 1-229 NP_000409) 및 마우스 IL-4R α 세포외 도메인(아미노산 잔기 1-230 NP_001008700)을 코딩하는 cDNA 분자를 프라이머 확장 PCR 클로닝을 통해 합성하고 pDONR221(Invitrogen Cat. No.12536-017)에 클로닝하였다. 다음으로, IL-4R α 세포외 도메인 키메라를 코딩하는 cDNA 단편을 제조하는 설명서에 따라 LR Gateway Clonase II 효소(Invitrogen Cat. No.12538-120)를 사용하여 포유동물 발현 벡터 pDEST12.2(Invitrogen)에 전달하였다. 상기 pDEST12.2 벡터는 변형되어 목적하는 삽입 유전자와 인프레임인 FLAG 10xhis 태그(DYKDDDDKAHHHHHHHHHH; 예를 들어, 서열 번호 460, 위치 252-261 참조)를 함유하고, 또한 pCEP4 벡터(Invitrogen cat. no. V044-50) 유래의 oriP 복제 원점을 삽입하여 EBNA-1 유전자 생성물을 발현하는 세포주(예컨대 HEK293-EBNA 세포)에 형질감염시 에피솜 플라스미드 복제가 가능하도록 하였다. HEK293-EBNA 상등액 중 발현된 단백질을 Ni-NTA 친화성 크로마토그래피(Histrap HP column (GE Healthcare Cat. No. 17-5248-02))와 이후 크기 배제 크로마토그래피(Superdex 200 column (GE Healthcare Cat. No.17-1069-01))를 사용하여 정제하였다.

[0554] 인간 IL-4R α 세포외 도메인의 서열(위치 1-229; 및 NP_000409에서 동일), 벡터 코딩 서열(위치 230-241), FLAG 태그(위치 242-249) 및 10xhis 태그(위치 252-261)는 서열 번호 460에 개시되어 있다. 쥐과동물 IL-4R α 세포외 도메인의 서열(위치 1-230; NP_001008700에서 동일), 벡터 코딩 서열(위치 233-242), FLAG 태그(위치 243-250) 및 10xhis 태그(위치 253-262)는 서열 번호 461에 개시되어 있다.

[0555] 5.1.2 IL-4R α 키메라에 대한 항체의 결합

[0556] 제조사(CisBio International Cat No. 62EUSPEA)의 설명서에 따라 Eu³⁺ 크립테이트 표지화 키트를 사용하여 항체를 크립테이트로 표지화하고 IL-4R α/Fc(R&D systems Cat. No. 604-4R-050)는 제조사(Perbio Cat No. 20217)의 설명서에 따라 EZ Link NHS-비오틴으로 표지화하였다. 분석 조건은 384웰 마이크로타이터 플레이트(Greiner) 중 전체 20 μl 부피로 1xDPBS, 0.1% BSA, 0.4 M 불화칼륨 중 0.4 nM 크립테이트 표지된 항체, 0.25 nM 비오틴 표지된 IL-4R α/Fc, 2.5 nM 스트렙타비딘 XL665(CisBio International Cat. No. 611SAXLB)였다. 분석을 위해서, 테스트 단백질의 희석 시리즈물(1000 nM 내지 0.017 nM)을 부가하고 분석물을 밤새 4°C에서 항온 반응시켰다. FRET 신호는 320 nm 여기 필터 및 620 nm와 665 nm 방출 필터를 사용하는 PerkinElmer EnVision 플레이트 판독기를 사용해 검출하였다. 결과는 특이적 결합 비율로서 665/620 비율에서 산출하였다(경쟁인자 항체가 없는 신호). 결과는 S형 용량 반응 모델을 사용하는 Prism(GraphPad Software)으로 분석하였다.

[0557] 5.2 결과

[0558] 키메라 분자의 항체 결합은 HTRF(Homogeneous Time Resolved Fluorescence) 경쟁 분석에서 테스트하였다. 인간 IL-4R α와 동일한 파라토프에서 항체에 결합하는 분자는 결합 상호작용을 억제하여, 신호를 감소시켰다. 억제 곡선으로부터 인간 IL-4R α, 마우스 IL-4R α 및 키메라 분자에 대한 IC₅₀ 값을 계산하였다(표 5). 분자가 완전하게 결합을 억제하지 않았던 경우는 최고 농도에서 확인된 억제율을 계산하였다. 천연 인간 IL-4R α에 대해 동일한 IC₅₀ 값을 부여하는 키메라는 여전히 에피토프를 함유하였다. 항체와 IL-4R α 결합을 완전하게 억제하지 않았거나, 또는 IC₅₀ 값 증가를 보인 키메라는 완전한 에피토프를 함유하지 않았다. 이러한 결과는 항체 에피토프의 위치 확인을 가능하게 한다.

표 5

키메라	NP_000409 유래 서열	NP_001008700 유래 서열	경쟁 분석시 IC ₅₀ (nM)
HuIL-4R α	M1-F229		0.673
MoIL-4R α		M1-L230	45% 억제*
HuD1MoD2IL-4R α	M1-E119	N121-L230	3.4
MoD1HuD2IL-4R α	H120-F229	M1-G120	34% 억제*
Mo루프1HuIL-4R α	M1-Y38; S42-F229	I39-T41	1.9
Mo루프2HuIL-4R α	M1-L64; T73-F229	M65-L73	23
Mo루프3HuIL-4R α	M1-L88; Y99-F229	E90-R99	58% 억제*
Mo루프4HuIL-4R α	M1-W143; N151-F229	N145-N151	0.663
Mo루프5HuIL-4R α	M1-W204; T211-F229	S206-G211	1.4
A11Mo루프sHuIL-4R α	M1-Y38; S42-L88; Y99-W143; N151-W204; T211-F229	I39-T41; M65-L73; E90-R99; N145-N151; S206-G211	41% 억제*

[0560] 표 5; 항체와 인간 IL-4R α 결합에 대해 경쟁하는 키메라 IL-4R α 분자의 IC₅₀(nM). 인간(NP_000409) 및 마우스(NP_001008700) IL-4R α 유래의 아미노산 서열로 구성된 키메라를 항체 결합에서 인간 IL-4R α와 경쟁하는 능력에 대해 테스트하였다. IC₅₀ 값은 완전한 경쟁 곡선이 얻어진 경우에 산출하였다. * 키메라가 항체와 인간 IL-4R α의 결합을 완전하게 억제하는데 실패한 경우, 키메라의 최고 농도(1000 nM)에서 보인 억제값을 나타내었다.

[0561] 키메라 인간/마우스 IL-4R α 키메라의 결합은 항체가 결합하는 인간 IL-4R α 에피토프의 위치 확인을 가능하게 한다. 인간 D1-마우스 D2 키메라처럼 인간 IL-4R α의 D1(잔기 M1-E119)에 에피토프를 위치시킨 전체 도메인 스와핑 키메라는 인간 IL-4R α와 경쟁할 수 있는 반면, 마우스 D1-인간 D2 키메라는 인간 IL-4R α 결합을 완전하게 억제하는데 실패하였다(표 5). 상기 에피토프는 거의 완전하게 루프 영역에 포함되는데, A11Mo루프 키메라 및 MoIL-4R α가 매우 유사한 억제율을 보이기 때문이다(표 5).

[0562] 인간 IL-4R α는 5 루프 영역을 포함하고, 이들은 결정 구조에서 IL4와 상당히 근접하여 존재한다(Hage et al., *Cell* 97:271-281, 1999). 루프 스와핑 키메라는 인간 IL-4R α 에피토프의 위치가 루프 3의 주요 성분(잔기 L89-N98) 및 루프 2의 소수 성분(잔기 V65-H72)에 존재한다는 것을 확인가능하게 해주었다. 인간 루프 3이 없는 키메라는 항체와 인간 IL-4R α의 결합을 억제하는데 실패하였고, 루프 2가 없는 키메라는 인간 IL-4R α보다 IC₅₀ 값이 100배 높게 부여되었다(표 5). 도메인 스와핑 결과와 일관되게, 루프 2 및 루프 3 둘 모두는 D1에 위치하였다(Hage et al., *Cell* 97:271-281, 1999).

[0563] 이러한 데이터로부터, 항체 에피토프가 인간 IL-4R α의 2 루프 영역 내 18 아미노산의 불연속 에피토프에 위치한다는 것을 확인하였다; V65-H72 및 L89-N98.

[0564] 5.3. Mo루프2Hu IL-4R α 및 Mo루프3HuIL-4R α의 돌연변이체를 사용한 항체의 IL-4R α 에피토프에 대한 추가적인 위치 확인

[0565] 인간 IL-4R α의 항체 에피토프의 중요 잔기의 위치를 확인하기 위해, Mo루프2HuIL-4R α 및 Mo루프3HuIL-4R α의 돌연변이체를 생성하고 HTRF 경쟁 분석에서의 활성에 대해 테스트하였다.

[0566] Mo루프2HuIL-4R α(표 5)는 마우스 잔기가 다시 인간 잔기로 변환되도록 돌연변이시켰다. 에피토프-중요 잔기가

돌연변이된 경우, IC₅₀ 값은 Mo루프2HuIL-4R α 보다 낮았다(표 6). 3종의 돌연변이체(구성체 EM18, EM22 및 EM23)는 Mo루프2HuIL-4R α에 대해 유사한 IC₅₀ 값을 부여하였다(표 6). 또한, 마우스 잔기 N72 및 L73이 인간 IL-4R α에 존재하는 경우, 얻어진 키메라 분자는 인간 IL-4R α/항체 상호작용을 강력하게 억제하였다(표 6). 이러한 데이터는 인간 IL-4R α 잔기 V65, A71 및 H72가 항체 에피토프의 중요한 부분이 아니라는 것을 시사한다.

[0567] 루프 2의 나머지 3 마우스 잔기(F67, E68, F69)는 2 인간 잔기(L67, L68)에 상응한다. 임의의 2 마우스 페닐알라닌 잔기가 인간 리신 잔기로 치환된 Mo루프2HuIL-4R α 돌연변이체에서, IC₅₀ 값은 감소하였다(표 6). 마우스 E68이 Mo루프2HuIL-4R α로부터 제거된 경우, IC₅₀ 값은 역시 감소하였는데, 이는 마우스 루프 2의 산성 글루탐산 잔기가 항체 에피토프의 블로킹 부분이라는 것을 암시한다. 또한, 모든 3 마우스 잔기(F67, E68, F69)가 인간 IL-4R α에 존재하는 경우, 키메라는 인간 IL-4R α/항체 상호작용을 단지 약하게만 억제하였다(표 6). 이러한 데이터는 인간 잔기 L67 및 L68이 인간 IL-4R α의 항체 결합 에피토프의 일부라는 것을 보여주는 것이다.

표 6

[0568]

구성체 명칭	루프2 서열	경쟁 분석시 IC ₅₀ (nM)
인간 IL-4R α	<i>V</i> L- <i>L</i> se <i>AH</i>	0.673
Mo루프2HuIL-4R α	MfFEFseNL	25
EM18	<i>V</i> FEFseNL	20
EM19	Mf <i>L</i> EFseNL	4.5
EM20	MfF-FseNL	3.8
EM21	MfFELseNL	5.7
EM22	MfFEFse <i>A</i> L	19
EM23	MfFEFse <i>NH</i>	56
EM24	<i>V</i> FEFse <i>AH</i>	13
EM25	<i>V</i> L- <i>L</i> seNL	0.448

[0569] 표 6: 항체와 인간 IL-4R α 결합에 대해 경쟁하는 키메라 IL-4R α 분자의 IC₅₀(nM). 상이한 루프 2 영역과 인간 IL-4R α (NP_000409)로부터의 아미노산 M1-L64 및 T73-F229로 구성된 키메라를 항체 결합에서 인간 IL-4R α와 경쟁하는 능력에 대해 테스트하였다. 인간과 마우스간에 보존된 잔기는 소문자로 표시하였고, 마우스 잔기와 다른 인간 잔기는 대문자의 굵은 이탤릭체로 나타내었으며, 인간 잔기와 다른 마우스 잔기는 대문자 평문으로 나타내었다. IC₅₀ 값은 완전한 경쟁 곡선이 얻어진 경우에 산출하였다.

[0570] 인간 IL-4R α에서 루프 3 돌연변이체를 제작하였는데 여기서 개별 잔기를 마우스 잔기로 변경시켰다(표 7). 에피토프-중요 잔기가 돌연변이된 경우 인간 IL-4R α 보다 낮은 IC₅₀ 값이 확인되었다.

[0571] 2 돌연변이체는 인간 IL-4R α/항체 상호작용을 차단하는 능력을 급격하게 감소시켰으며 이 결과는 이들이 에피토프의 일부라는 것을 보여주는 것이다. 인간 IL-4R α D92가 R(돌연변이체 EM03에서)로 돌연변이된 경우, 돌연변이체 단백질은 1000 nM에서 IL-4R α/항체 상호작용을 차단할 수 없었다. 인간 IL-4R α V93이 P(돌연변이체 EM04에서)로 돌연변이된 경우, IC₅₀ 값이 인간 IL-4R α 보다 20배 이상 높았다(표 7). 비교를 위해, 인간 IL-4R α 돌연변이체 L89E, D91N, S95Q, A96V 및 N98R(키메라 EM01, EM02, EM05, EM06 및 EM07)는 모두 인간 IL-4R α에 대해 유사한 IC₅₀ 값을 부여하였다(표 3). 이들 데이터는 항체 에피토프가 인간 IL-4R α D92 및 V93를 포함하고, D92가 인간 IL-4R α/항체 상호작용에서 가장 중요한 잔기라는 것을 시사한다.

표 7

[0572]

구성체 명칭	루프3 서열	경쟁 분석시 IC ₅₀ (nM)
인간 IL-4R α	<i>L</i> m <i>DDV</i> <i>V</i> <i>SAdN</i>	0.673
Mo루프3HuIL-4R α	EmNRPvQSdR	45% 억제*
EM01	Em <i>DDV</i> <i>V</i> <i>SAdN</i>	0.71
EM02	<i>L</i> m <i>N</i> <i>DDV</i> <i>V</i> <i>SAdN</i>	2.25
EM03	<i>L</i> m <i>DR</i> <i>V</i> <i>V</i> <i>SAdN</i>	29% 억제*
EM04	<i>L</i> m <i>DD</i> <i>P</i> <i>V</i> <i>SAdN</i>	15

EM05	$LmDDV:QAdN$	1.65
EM06	$LmDDV:SSdN$	3.25
EM07	$LmDDV:SAdR$	1.41

[0573] 표 7: 항체와 인간 IL-4R α 결합에 대해 경쟁하는 키메라 IL-4R α 분자의 IC₅₀(nM). 상이한 루프 3 영역을 갖는 인간 IL-4R α (NP_000409)에서 유래한 아미노산 M1-L88 및 Y99-F229로 구성된 키메라를 항체 결합에서 인간 IL-4R α 와 경쟁하는 능력에 대해 테스트하였다. 인간과 마우스 간에 보존 잔기는 소문자로 나타내었고, 마우스 잔기와 다른 인간 잔기는 대문자의 굵은 이탤릭체로 표시하였으며 인간 잔기와 다른 마우스 잔기는 대문자 평문으로 표시하였다. IC₅₀ 값은 완전한 경쟁 곡선이 얻어진 경우에 산출하였다. * 키메라가 항체와 인간 IL-4R α 의 결합을 완전하게 억제하는데 실패한 경우에, 키메라의 최고 농도(1000 nM)에서 나타난 억제율을 표시하였다.

[0574] 도메인 스와핑과 돌연변이유발법으로 항체 에피토프가 인간 IL-4R α 의 루프 2 (잔기 65 내지 72) 및 3(잔기 89 내지 98)에 위치한다는 것이 확인되었다. 에피토프는 추가적으로 루프 2의 아미노산 잔기 L67과 L68, 및 루프 3의 D92와 V93(잔기 67, 68, 92 및 93에 대해 서열 번호 454 참조)에 위치한다는 것이 확인되었다.

[0575] 본 발명의 항체는 또한 사이노몰거스 원숭이 IL-4R α 와 교차 반응한다. 에피토프 잔기 D92 및 V93이 또한 사이노몰거스 원숭이 IL-4R α 에 존재한다는 것은 흥미로운 사실이다.

[0576] 서열

[0577] 본 발명의 결합 구성원의 서열을 첨부된 서열 목록에 열거하였으며, 여기서 서열 번호는 다음에 해당된다:

서열	설명
1	항체 1 VH DNA
2	항체 1 VH PRT
3	항체 1 CDR1 PRT
4	항체 1 CDR2 PRT
5	항체 1 CDR3 PRT
6	항체 1 VL DNA
7	항체 1 VL PRT
8	항체 1 CDR1 PRT
9	항체 1 CDR2 PRT
10	항체 1 CDR3 PRT
11	항체 2 VH DNA
12	항체 2 VH PRT
13	항체 2 CDR1 PRT
14	항체 2 CDR2 PRT
15	항체 2 CDR3 PRT
16	항체 2 VL DNA
17	항체 2 VL PRT
18	항체 2 CDR1 PRT
19	항체 2 CDR2 PRT
20	항체 2 CDR3 PRT
21	항체 3 VH DNA
22	항체 3 VH PRT
23	항체 3 CDR1 PRT
24	항체 3 CDR2 PRT
25	항체 3 CDR3 PRT
26	항체 3 VL DNA
27	항체 3 VL PRT
28	항체 3 CDR1 PRT
29	항체 3 DR2 PRT
30	항체 3 CDR3 PRT
31	항체 4 VH DNA
32	항체 4 VH PRT
33	항체 4 CDR1 PRT
34	항체 4 CDR2 PRT
35	항체 4 CDR3 PRT
36	항체 4 VL DNA
37	항체 4 VL PRT
38	항체 4 CDR1 PRT
39	항체 4 CDR2 PRT
40	항체 4 CDR3 PRT

서열	설명
41	항체 5 VH DNA
42	항체 5 VH PRT
43	항체 5 CDR1 PRT
44	항체 5 CDR2 PRT
45	항체 5 CDR3 PRT
46	항체 5 VL DNA
47	항체 5 VL PRT
48	항체 5 CDR1 PRT
49	항체 5 CDR2 PRT
50	항체 5 CDR3 PRT
51	항체 6 VH DNA
52	항체 6 VH PRT
53	항체 6 CDR1 PRT
54	항체 6 CDR2 PRT
55	항체 6 CDR3 PRT
56	항체 6 VL DNA
57	항체 6 VL PRT
58	항체 6 CDR1 PRT
59	항체 6 CDR2 PRT
60	항체 6 CDR3 PRT
61	항체 7 VH DNA
62	항체 7 VH PRT
63	항체 7 CDR1 PRT
64	항체 7 CDR2 PRT
65	항체 7 CDR3 PRT
66	항체 7 VL DNA
67	항체 7 VL PRT
68	항체 7 CDR1 PRT
69	항체 7 CDR2 PRT
70	항체 7 CDR3 PRT
71	항체 8 VH DNA
72	항체 8 VH PRT
73	항체 8 CDR1 PRT
74	항체 8 CDR2 PRT
75	항체 8 CDR3 PRT
76	항체 8 VL DNA
77	항체 8 VL PRT
78	항체 8 CDR1 PRT
79	항체 8 CDR2 PRT
80	항체 8 CDR3 PRT

[0578]

서열	설명
81	항체 9 VH DNA
82	항체 9 VH PRT
83	항체 9 CDR1 PRT
84	항체 9 CDR2 PRT
85	항체 9 CDR3 PRT
86	항체 9 VL DNA
87	항체 9 VL PRT
88	항체 9 CDR1 PRT
89	항체 9 CDR2 PRT
90	항체 9 CDR3 PRT
91	항체 10 VH DNA
92	항체 10 VH PRT
93	항체 10 CDR1 PRT
94	항체 10 CDR2 PRT
95	항체 10 CDR3 PRT
96	항체 10 VL DNA
97	항체 10 VL PRT
98	항체 10 CDR1 PRT
99	항체 10 CDR2 PRT
100	항체 10 CDR3 PRT
101	항체 11 VH DNA
102	항체 11 VH PRT
103	항체 11 CDR1 PRT
104	항체 11 CDR2 PRT
105	항체 11 CDR3 PRT
106	항체 11 VL DNA
107	항체 11 VL PRT
108	항체 11 CDR1 PRT
109	항체 11 CDR2 PRT
110	항체 11 CDR3 PRT
111	항체 12 VH DNA
112	항체 12 VH PRT
113	항체 12 CDR1 PRT
114	항체 12 CDR2 PRT
115	항체 12 CDR3 PRT
116	항체 12 VL DNA
117	항체 12 VL PRT
118	항체 12 CDR1 PRT
119	항체 12 CDR2 PRT
120	항체 12 CDR3 PRT

서열	설명
121	항체 13 VH DNA
122	항체 13 VH PRT
123	항체 13 CDR1 PRT
124	항체 13 CDR2 PRT
125	항체 13 CDR3 PRT
126	항체 13 VL DNA
127	항체 13 VL PRT
128	항체 13 CDR1 PRT
129	항체 13 CDR2 PRT
130	항체 13 CDR3 PRT
131	항체 14 VH DNA
132	항체 14 VH PRT
133	항체 14 CDR1 PRT
134	항체 14 CDR2 PRT
135	항체 14 CDR3 PRT
136	항체 14 VL DNA
137	항체 14 VL PRT
138	항체 14 CDR1 PRT
139	항체 14 CDR2 PRT
140	항체 14 CDR3 PRT
141	항체 15 VH DNA
142	항체 15 VH PRT
143	항체 15 CDR1 PRT
144	항체 15 CDR2 PRT
145	항체 15 CDR3 PRT
146	항체 15 VL DNA
147	항체 15 VL PRT
148	항체 15 CDR1 PRT
149	항체 15 CDR2 PRT
150	항체 15 CDR3 PRT
151	항체 16 VH DNA
152	항체 16 VH PRT
153	항체 16 CDR1 PRT
154	항체 16 CDR2 PRT
155	항체 16 CDR3 PRT
156	항체 16 VL DNA
157	항체 16 VL PRT
158	항체 16 CDR1 PRT
159	항체 16 CDR2 PRT
160	항체 16 CDR3 PRT

[0579]

서열	설명
161	항체 17 VH DNA
162	항체 17 VH PRT
163	항체 17 CDR1 PRT
164	항체 17 CDR2 PRT
165	항체 17 CDR3 PRT
166	항체 17 VL DNA
167	항체 17 VL PRT
168	항체 17 CDR1 PRT
169	항체 17 CDR2 PRT
170	항체 17 CDR3 PRT
171	항체 18 VH DNA
172	항체 18 VH PRT
173	항체 18 CDR1 PRT
174	항체 18 CDR2 PRT
175	항체 18 CDR3 PRT
176	항체 18 VL DNA
177	항체 18 VL PRT
178	항체 18 CDR1 PRT
179	항체 18 CDR2 PRT
180	항체 18 CDR3 PRT
181	항체 19 VH DNA
182	항체 19 VH PRT
183	항체 19 CDR1 PRT
184	항체 19 CDR2 PRT
185	항체 19 CDR3 PRT
186	항체 19 VL DNA
187	항체 19 VL PRT
188	항체 19 CDR1 PRT
189	항체 19 CDR2 PRT
190	항체 19 CDR3 PRT
191	항체 20 VH DNA
192	항체 20 VH PRT
193	항체 20 CDR1 PRT
194	항체 20 CDR2 PRT
195	항체 20 CDR3 PRT
196	항체 20 VL DNA
197	항체 20 VL PRT
198	항체 20 CDR1 PRT
199	항체 20 CDR2 PRT
200	항체 20 CDR3 PRT

서열	설명
201	항체 21 VH DNA
202	항체 21 VH PRT
203	항체 21 CDR1 PRT
204	항체 21 CDR2 PRT
205	항체 21 CDR3 PRT
206	항체 21 VL DNA
207	항체 21 VL PRT
208	항체 21 CDR1 PRT
209	항체 21 CDR2 PRT
210	항체 21 CDR3 PRT
211	항체 22 VH DNA
212	항체 22 VH PRT
213	항체 22 CDR1 PRT
214	항체 22 CDR2 PRT
215	항체 22 CDR3 PRT
216	항체 22 VL DNA
217	항체 22 VL PRT
218	항체 22 CDR1 PRT
219	항체 22 CDR2 PRT
220	항체 22 CDR3 PRT
221	항체 23 VH DNA
222	항체 23 VH PRT
223	항체 23 CDR1 PRT
224	항체 23 CDR2 PRT
225	항체 23 CDR3 PRT
226	항체 23 VL DNA
227	항체 23 VL PRT
228	항체 23 CDR1 PRT
229	항체 23 CDR2 PRT
230	항체 23 CDR3 PRT
231	항체 24 VH DNA
232	항체 24 VH PRT
233	항체 24 CDR1 PRT
234	항체 24 CDR2 PRT
235	항체 24 CDR3 PRT
236	항체 24 VL DNA
237	항체 24 VL PRT
238	항체 24 CDR1 PRT
239	항체 24 CDR2 PRT
240	항체 24 CDR3 PRT

[0580]

서열	설명
241	항체 25 VH DNA
242	항체 25 VH PRT
243	항체 25 CDR1 PRT
244	항체 25 CDR2 PRT
245	항체 25 CDR3 PRT
246	항체 25 VL DNA
247	항체 25 VL PRT
248	항체 25 CDR1 PRT
249	항체 25 CDR2 PRT
250	항체 25 CDR3 PRT
251	항체 26 VH DNA
252	항체 26 VH PRT
253	항체 26 CDR1 PRT
254	항체 26 CDR2 PRT
255	항체 26 CDR3 PRT
256	항체 26 VL DNA
257	항체 26 VL PRT
258	항체 26 CDR1 PRT
259	항체 26 CDR2 PRT
260	항체 26 CDR3 PRT
261	항체 27 VH DNA
262	항체 27 VH PRT
263	항체 27 CDR1 PRT
264	항체 27 CDR2 PRT
265	항체 27 CDR3 PRT
266	항체 27 VL DNA
267	항체 27 VL PRT
268	항체 27 CDR1 PRT
269	항체 27 CDR2 PRT
270	항체 27 CDR3 PRT
271	항체 28 VH DNA
272	항체 28 VH PRT
273	항체 28 CDR1 PRT
274	항체 28 CDR2 PRT
275	항체 28 CDR3 PRT
276	항체 28 VL DNA
277	항체 28 VL PRT
278	항체 28 CDR1 PRT
279	항체 28 CDR2 PRT
280	항체 28 CDR3 PRT

서열	설명
281	항체 29 VH DNA
282	항체 29 VH PRT
283	항체 29 CDR1 PRT
284	항체 29 CDR2 PRT
285	항체 29 CDR3 PRT
286	항체 29 VL DNA
287	항체 29 VL PRT
288	항체 29 CDR1 PRT
289	항체 29 CDR2 PRT
290	항체 29 CDR3 PRT
291	항체 30 VH DNA
292	항체 30 VH PRT
293	항체 30 CDR1 PRT
294	항체 30 CDR2 PRT
295	항체 30 CDR3 PRT
296	항체 30 VL DNA
297	항체 30 VL PRT
298	항체 30 CDR1 PRT
299	항체 30 CDR2 PRT
300	항체 30 CDR3 PRT
301	항체 31 VH DNA
302	항체 31 VH PRT
303	항체 31 CDR1 PRT
304	항체 31 CDR2 PRT
305	항체 31 CDR3 PRT
306	항체 31 VL DNA
307	항체 31 VL PRT
308	항체 31 CDR1 PRT
309	항체 31 CDR2 PRT
310	항체 31 CDR3 PRT
311	항체 32 VH DNA
312	항체 32 VH PRT
313	항체 32 CDR1 PRT
314	항체 32 CDR2 PRT
315	항체 32 CDR3 PRT
316	항체 32 VL DNA
317	항체 32 VL PRT
318	항체 32 CDR1 PRT
319	항체 32 CDR2 PRT
320	항체 32 CDR3 PRT

[0581]

서열	설명
321	항체 33 VH DNA
322	항체 33 VH PRT
323	항체 33 CDR1 PRT
324	항체 33 CDR2 PRT
325	항체 33 CDR3 PRT
326	항체 33 VL DNA
327	항체 33 VL PRT
328	항체 33 CDR1 PRT
329	항체 33 CDR2 PRT
330	항체 33 CDR3 PRT
331	항체 34 VH DNA
332	항체 34 VH PRT
333	항체 34 CDR1 PRT
334	항체 34 CDR2 PRT
335	항체 34 CDR3 PRT
336	항체 34 VL DNA
337	항체 34 VL PRT
338	항체 34 CDR1 PRT
339	항체 34 CDR2 PRT
340	항체 34 CDR3 PRT
341	항체 35 VH DNA
342	항체 35 VH PRT
343	항체 35 CDR1 PRT
344	항체 35 CDR2 PRT
345	항체 35 CDR3 PRT
346	항체 35 VL DNA
347	항체 35 VL PRT
348	항체 35 CDR1 PRT
349	항체 35 CDR2 PRT
350	항체 35 CDR3 PRT
351	항체 36 VH DNA
352	항체 36 VH PRT
353	항체 36 CDR1 PRT
354	항체 36 CDR2 PRT
355	항체 36 CDR3 PRT
356	항체 36 VL DNA
357	항체 36 VL PRT
358	항체 36 CDR1 PRT
359	항체 36 CDR2 PRT
360	항체 36 CDR3 PRT

서열	설명
361	항체 37 VH DNA
362	항체 37 VH PRT
363	항체 37 CDR1 PRT
364	항체 37 CDR2 PRT
365	항체 37 CDR3 PRT
366	항체 37 VL DNA
367	항체 37 VL PRT
368	항체 37 CDR1 PRT
369	항체 37 CDR2 PRT
370	항체 37 CDR3 PRT
371	항체 38 VH DNA
372	항체 38 VH PRT
373	항체 38 CDR1 PRT
374	항체 38 CDR2 PRT
375	항체 38 CDR3 PRT
376	항체 38 VL DNA
377	항체 38 VL PRT
378	항체 38 CDR1 PRT
379	항체 38 CDR2 PRT
380	항체 38 CDR3 PRT
381	항체 39 VH DNA
382	항체 39 VH PRT
383	항체 39 CDR1 PRT
384	항체 39 CDR2 PRT
385	항체 39 CDR3 PRT
386	항체 39 VL DNA
387	항체 39 VL PRT
388	항체 39 CDR1 PRT
389	항체 39 CDR2 PRT
390	항체 39 CDR3 PRT
391	항체 40 VH DNA
392	항체 40 VH PRT
393	항체 40 CDR1 PRT
394	항체 40 CDR2 PRT
395	항체 40 CDR3 PRT
396	항체 40 VL DNA
397	항체 40 VL PRT
398	항체 40 CDR1 PRT
399	항체 40 CDR2 PRT
400	항체 40 CDR3 PRT

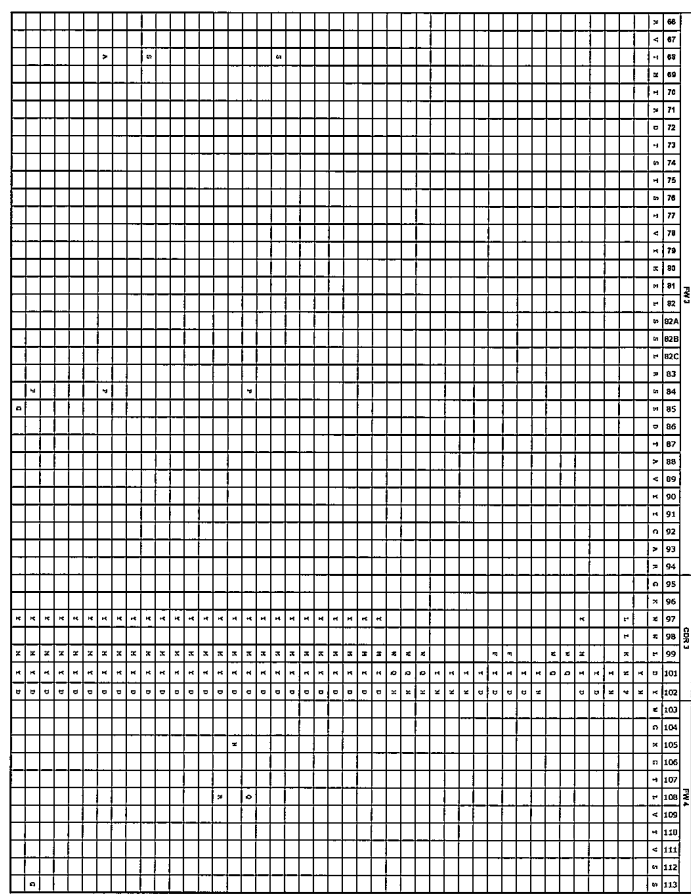
[0582]

서열	설명
401	항체 41 VH DNA
402	항체 41 VH PRT
403	항체 41 CDR1 PRT
404	항체 41 CDR2 PRT
405	항체 41 CDR3 PRT
406	항체 41 VL DNA
407	항체 41 VL PRT
408	항체 41 CDR1 PRT
409	항체 41 CDR2 PRT
410	항체 41 CDR3 PRT
411	항체 42 VH DNA
412	항체 42 VH PRT
413	항체 42 CDR1 PRT
414	항체 42 CDR2 PRT
415	항체 42 CDR3 PRT
416	항체 42VL DNA
417	항체 42 VL PRT
418	항체 42 CDR1 PRT
419	항체 42 CDR2 PRT
420	항체 42 CDR3 PRT
421	항체 24 PGLVH DNA
422	항체 24 PGLVH PRT
423	항체 24 PGLCDR1 PRT
424	항체 24 PGLCDR2 PRT
425	항체 24 PGLCDR3 PRT
426	항체 24 PGLVL DNA
427	항체 24 PGLVL PRT
428	항체 24 PGLCDR1 PRT
429	항체 24 PGLCDR2 PRT
430	항체 24 PGLCDR3 PRT
431	항체 24 GLVH DNA
432	항체 24 GLVH PRT
433	항체 24 GLCDR1 PRT
434	항체 24 GLCDR2 PRT
435	항체 24 GLCDR3 PRT
436	항체 24 GLVL DNA
437	항체 24 GLVL PRT
438	항체 24 GLCDR1 PRT
439	항체 24 GLCDR2 PRT
440	항체 24 GLCDR3 PRT

서열	설명
441	항체 37 GLVH DNA
442	항체 37 GLVH PRT
443	항체 37 GLCDR1 PRT
444	항체 37 GLCDR2 PRT
445	항체 37 GLCDR3 PRT
446	항체 37 GLVL DNA
447	항체 37 GLVL PRT
448	항체 37 GLCDR1 PRT
449	항체 37 GLCDR2 PRT
450	항체 37 GLCDR3 PRT
451	사이노 IL4R 프라이머 1
452	사이노 IL4R 프라이머 2
	I75V 올리고뉴클레오티드
453	돌연변이 프라이머
454	인간 IL-4R α /Fc 단백질
	사이노몰거스 원숭이 IL-4R α
455	cDNA 뉴클레오티드
	사이노몰거스 원숭이 IL-
456	4R α /Fc cDNA 뉴클레오티드
	사이노몰거스 원숭이 IL-
457	4R α /Fc cDNA 단백질
	인간 I75V IL4-R α /Fc cDNA
458	뉴클레오티드 서열
	인간 I75V IL4-R α /Fc
459	단백질
	인간 IL4-R α /FLAG/HIS태그
460	아미노산 서열
	쥐 IL4-R α /FLAG/HIS태그
461	아미노산 서열

[0583]

도면1b



도면2a

[illegible]

도면2b

[illegible]

도면3a

[illegible]

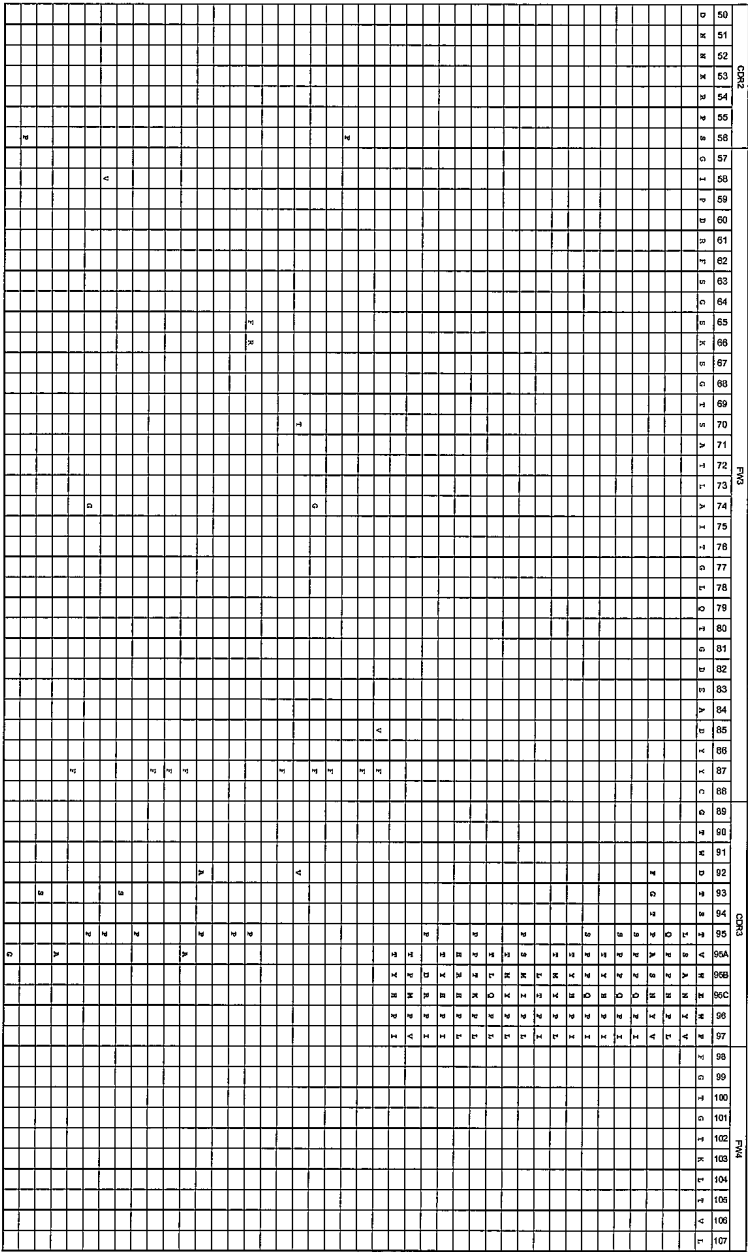
도면3b

[illegible]

도면4a

問題番号		問題内容		解答		正誤		得点		備考	
1	問題1	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
2	問題2	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
3	問題3	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
4	問題4	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
5	問題5	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
6	問題6	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
7	問題7	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
8	問題8	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
9	問題9	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
10	問題10	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
11	問題11	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
12	問題12	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
13	問題13	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
14	問題14	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
15	問題15	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
16	問題16	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
17	問題17	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
18	問題18	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
19	問題19	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
20	問題20	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
21	問題21	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
22	問題22	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
23	問題23	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
24	問題24	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
25	問題25	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
26	問題26	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
27	問題27	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
28	問題28	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
29	問題29	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
30	問題30	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
31	問題31	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
32	問題32	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
33	問題33	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
34	問題34	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
35	問題35	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
36	問題36	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
37	問題37	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
38	問題38	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
39	問題39	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
40	問題40	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
41	問題41	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
42	問題42	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
43	問題43	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
44	問題44	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
45	問題45	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
46	問題46	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
47	問題47	問題内容	解答	正誤	得点	備考					
48	問題48	問題内容	解答	正誤	得点	備考					

도면4b



도면5a

	행렬 1	행렬 2	행렬 3	행렬 4	행렬 5	행렬 6	행렬 7	행렬 8	행렬 9	행렬 10	행렬 11	행렬 12	행렬 13	행렬 14	행렬 15
행렬 1	-	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
행렬 2	-	-	70%	50%	50%	80%	80%	70%	50%	50%	80%	80%	80%	80%	80%
행렬 3	-	-	-	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
행렬 4	-	-	-	-	50%	80%	50%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
행렬 5	-	-	-	-	-	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%
행렬 6	-	-	-	-	-	-	80%	50%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
행렬 7	-	-	-	-	-	-	-	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%	50%
행렬 8	-	-	-	-	-	-	-	-	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
행렬 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50%	50%	50%	50%	50%	50%
행렬 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80%	80%	80%	80%	80%
행렬 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50%	50%	50%	50%
행렬 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80%	80%	80%
행렬 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50%	50%
행렬 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80%
행렬 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
행렬 42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

도면5b

항목 1	항목 16	항목 17	항목 18	항목 19	항목 20	항목 21	항목 22	항목 23	항목 24	항목 24 (비고)	항목 25 (비고)	항목 26	항목 27	항목 28
항목 1	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
항목 2	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%	70%
항목 3	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
항목 4	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
항목 5	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
항목 6	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
항목 7	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
항목 8	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
항목 9	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
항목 10	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
항목 11	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
항목 12	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
항목 13	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
항목 14	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%	80%
항목 15	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%	90%
항목 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 24 (비고)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 25 (비고)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항목 42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

도면5c

[illegible]

도면6a

	단위 1	단위 2	단위 3	단위 4	단위 5	단위 6	단위 7	단위 8	단위 9	단위 10	단위 11	단위 12	단위 13	단위 14	단위 15
단위 1	-	92%	82%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%
단위 2	-	-	82%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%
단위 3	-	-	-	82%	92%	89%	92%	92%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%
단위 4	-	-	-	-	99%	92%	89%	92%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%
단위 5	-	-	-	-	-	92%	89%	92%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%
단위 6	-	-	-	-	-	-	89%	92%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%
단위 7	-	-	-	-	-	-	-	89%	92%	92%	89%	92%	92%	92%	92%
단위 8	-	-	-	-	-	-	-	-	89%	92%	89%	92%	92%	92%	92%
단위 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89%	92%	89%	92%	92%	92%
단위 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89%	92%	89%	92%	92%
단위 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89%	92%	89%	92%
단위 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89%	92%	92%
단위 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89%	92%
단위 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89%
단위 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 24 (A)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 34 (A)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
단위 42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

도면 6b

[illegible]

도면6c

연월	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	합계	연평균
연월 1	81%	82%	80%	81%	82%	81%	82%	81%	82%	81%	82%	81%	81%	81%
연월 2	82%	83%	81%	82%	83%	82%	83%	82%	83%	82%	83%	82%	82%	82%
연월 3	83%	84%	82%	83%	84%	83%	84%	83%	84%	83%	84%	83%	83%	83%
연월 4	84%	85%	83%	84%	85%	84%	85%	84%	85%	84%	85%	84%	84%	84%
연월 5	85%	86%	84%	85%	86%	85%	86%	85%	86%	85%	86%	85%	85%	85%
연월 6	86%	87%	85%	86%	87%	86%	87%	86%	87%	86%	87%	86%	86%	86%
연월 7	87%	88%	86%	87%	88%	87%	88%	87%	88%	87%	88%	87%	87%	87%
연월 8	88%	89%	87%	88%	89%	88%	89%	88%	89%	88%	89%	88%	88%	88%
연월 9	89%	90%	88%	89%	90%	89%	90%	89%	90%	89%	90%	89%	89%	89%
연월 10	90%	91%	89%	90%	91%	90%	91%	90%	91%	90%	91%	90%	90%	90%
연월 11	91%	92%	90%	91%	92%	91%	92%	91%	92%	91%	92%	91%	91%	91%
연월 12	92%	93%	91%	92%	93%	92%	93%	92%	93%	92%	93%	92%	92%	92%
연월 13	93%	94%	92%	93%	94%	93%	94%	93%	94%	93%	94%	93%	93%	93%
연월 14	94%	95%	93%	94%	95%	94%	95%	94%	95%	94%	95%	94%	94%	94%
연월 15	95%	96%	94%	95%	96%	95%	96%	94%	95%	94%	95%	94%	94%	94%
연월 16	96%	97%	95%	96%	97%	96%	97%	95%	96%	95%	96%	95%	95%	95%
연월 17	97%	98%	96%	97%	98%	97%	98%	96%	97%	96%	97%	96%	96%	96%
연월 18	98%	99%	97%	98%	99%	98%	99%	97%	98%	97%	98%	97%	97%	97%
연월 19	99%	100%	98%	99%	100%	99%	100%	98%	99%	98%	99%	98%	98%	98%
연월 20	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
연월 21	96%	97%	95%	96%	97%	96%	97%	95%	96%	95%	96%	95%	95%	95%
연월 22	103%	104%	102%	103%	104%	103%	104%	102%	103%	102%	103%	102%	103%	103%
연월 23	105%	106%	104%	105%	106%	105%	106%	104%	105%	104%	105%	104%	105%	105%
연월 24	94%	95%	93%	94%	95%	94%	95%	93%	94%	93%	94%	93%	94%	94%
연월 25	96%	97%	95%	96%	97%	96%	97%	95%	96%	95%	96%	95%	95%	95%
연월 26	98%	99%	97%	98%	99%	98%	99%	97%	98%	97%	98%	97%	97%	97%
연월 27	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
연월 28	92%	93%	91%	92%	93%	92%	93%	91%	92%	91%	92%	91%	92%	92%
연월 29	94%	95%	93%	94%	95%	94%	95%	93%	94%	93%	94%	93%	94%	94%
연월 30	96%	97%	95%	96%	97%	96%	97%	95%	96%	95%	96%	95%	95%	95%
연월 31	98%	99%	97%	98%	99%	98%	99%	97%	98%	97%	98%	97%	97%	97%
연월 32	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
연월 33	92%	93%	91%	92%	93%	92%	93%	91%	92%	91%	92%	91%	92%	92%
연월 34	94%	95%	93%	94%	95%	94%	95%	93%	94%	93%	94%	93%	94%	94%
연월 35	96%	97%	95%	96%	97%	96%	97%	95%	96%	95%	96%	95%	95%	95%
연월 36	98%	99%	97%	98%	99%	98%	99%	97%	98%	97%	98%	97%	97%	97%
연월 37	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
연월 38	92%	93%	91%	92%	93%	92%	93%	91%	92%	91%	92%	91%	92%	92%
연월 39	94%	95%	93%	94%	95%	94%	95%	93%	94%	93%	94%	93%	94%	94%
연월 40	96%	97%	95%	96%	97%	96%	97%	95%	96%	95%	96%	95%	95%	95%
연월 41	98%	99%	97%	98%	99%	98%	99%	97%	98%	97%	98%	97%	97%	97%
연월 42	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

도면7a

	항제 1	항제 2	항제 3	항제 4	항제 5	항제 6	항제 7	항제 8	항제 9	항제 10	항제 11	항제 12	항제 13	항제 14	항제 15
항제 1	-	84%	81%	81%	81%	81%	81%	81%	81%	81%	84%	81%	81%	81%	81%
항제 2	-	-	79%	90%	90%	84%	90%	84%	87%	84%	87%	87%	90%	90%	87%
항제 3	-	-	-	71%	71%	71%	71%	71%	71%	71%	75%	71%	71%	75%	71%
항제 4	-	-	-	-	100%	87%	100%	87%	84%	87%	84%	84%	87%	87%	84%
항제 5	-	-	-	-	-	-	-	100%	90%	90%	84%	90%	90%	84%	90%
항제 6	-	-	-	-	-	-	-	87%	87%	87%	84%	84%	87%	84%	84%
항제 7	-	-	-	-	-	-	-	-	90%	90%	84%	84%	87%	84%	84%
항제 8	-	-	-	-	-	-	-	-	87%	87%	84%	84%	87%	84%	84%
항제 9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	87%	84%	84%	87%	84%	84%
항제 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	87%	84%	84%	87%	84%	84%
항제 11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84%	84%	87%	84%	84%
항제 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84%	87%	84%	84%
항제 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84%	87%	84%
항제 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	84%	84%
항제 15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	87%
항제 16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 24 PGL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 24 GL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 37 GL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	항제 16	항제 17	항제 18	항제 19	항제 20	항제 21	항제 22	항제 23	항제 24	항제 24 PGL	항제 24 GL	항제 25	항제 26	항제 27	항제 28
항제 1	81%	81%	84%	81%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
항제 2	84%	84%	87%	84%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
항제 3	71%	75%	75%	71%	71%	71%	71%	65%	71%	71%	71%	71%	71%	71%	71%
항제 4	87%	87%	87%	87%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
항제 5	87%	87%	87%	87%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
항제 6	100%	87%	90%	100%	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 7	87%	87%	87%	87%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
항제 8	100%	87%	90%	100%	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 9	90%	84%	90%	90%	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 10	90%	87%	87%	90%	87%	87%	87%	75%	87%	87%	87%	87%	87%	87%	81%
항제 11	84%	87%	84%	84%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
항제 12	90%	84%	90%	90%	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 13	90%	84%	90%	90%	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 14	87%	84%	84%	84%	81%	81%	81%	75%	81%	81%	81%	78%	81%	81%	78%
항제 15	90%	84%	87%	100%	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 16	-	-	84%	90%	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 17	-	-	-	90%	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 18	-	-	-	-	84%	84%	84%	75%	84%	84%	84%	81%	84%	84%	78%
항제 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 21	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 24 PGL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 25 GL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 29	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 37 GL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 38	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 39	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
항제 42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

도면7c

[illegible]

서 열 목 록

<110> MedImmune Ltd

Cohen, Suzanne

Dobson, Claire L

Eriksson, Per-Olof

Lane, Deborah L

Von Wachenfeldt, Karin

<120> Binding members for interleukin-4 receptor alpha (IL-4Ra) - 173

<130> 103173-1L US

<140>

<141>

<150> US 61/015,869

<151> 2007-12-21

<160> 461

<170> Cambridge Antibody Technology patent software version 1.0

<210> 1

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 1

<400> 1

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtgcttg actactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 2

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 1

<400> 2

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Asp Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

Thr Val Ser Ser

115

 $\langle 210 \rangle$ 3

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ Antibody 1

<400> 3

Ser Tyr Tyr Met His

5

 $\langle 210 \rangle$

4

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ Antibody 1

<400> 4

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 5

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

$\langle 220 \rangle \langle 223 \rangle$ Antibody 1

<400> 5

Gly Lys Trp Trp Leu Asp Tyr

5

<210> 6

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 1

<400> 6

cagtcctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcctgag tgccaattat 300

gtcttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 7

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 1

<400> 7

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Leu

85

90

95

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

100 105 110

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 1

<400> 8

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 9

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 1

<400> 9

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 10

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 1

<400> 10

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

5 10

<210> 11

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 11

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120
 cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180
 gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
 atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
 tgggtgctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 12

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 12

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

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

65	70	75	80
Met	Glu	Leu	Ser
Ser	Leu	Arg	Ser
Glu	Asp	Thr	Ala
Val	Tyr	Tyr	Cys
85	90	95	
Ala	Arg	Gly	Lys
Trp	Trp	Leu	Tyr
Asn	Trp	Gly	Lys
Gly	Thr	Leu	Val
100	105	110	
Thr	Val	Ser	Ser
115			

<210> 13

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 13

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 14

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 14

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 15

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 15

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn

5

<210> 16

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 16

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcagc tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagccagcc cccgaacccc 300

ctcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 17

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 17

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

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

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

<210> 18

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 18

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

	5		10
--	---	--	----

<210> 19

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 19

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 20

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 2

<400> 20

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Gln Pro Pro Asn Pro Leu

5

10

<210> 21

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 21

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

ttgttgaaga acccctgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 22

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 22

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

5

10

15

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

20

25

30

Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

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

65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Gly Lys Leu Leu Lys Asn Pro Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 23

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 23

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 24

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 25

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 25

Gly Lys Leu Leu Lys Asn Pro

5

<210> 26

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 26

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatTTac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatggttcg gcacccccgc gagcaattat 300

gtcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 27

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 27

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

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

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 28

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 29

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 29

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 30

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 3

<400> 30

Gly Thr Trp Phe Gly Thr Pro Ala Ser Asn Tyr Val
 5 10

<210> 31

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 31

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tctgtcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc ggcacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtggctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 32

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 32

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 33

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 34

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 34

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 35

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 35

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn

5

<210> 36

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 36

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctcaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcagccc cccccagccg 300

atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 37

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 37

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Ser

85 90 95

Pro Pro Gln Pro Ile Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 38

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 38

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 39

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 39

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 40

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 4

<400> 40

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Ser Pro Pro Gln Pro Ile

5

10

<210> 41

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 41

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtggttgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 42

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 42

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

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

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser

115

<210> 43

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 43

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 44

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 44

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 45

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 45

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp

5

<210> 46

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 46

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcagccc cccccagccg 300

atcttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 47

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 47

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50 55 60
Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln

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

<210> 48

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 48

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 49

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 49

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 50

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 5

<400> 50

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Ser Pro Pro Gln Pro Ile
5 10

<210> 51

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 51

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tctgtcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 52

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 52

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 53

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 53

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 54

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 54

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 55

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 55

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 56

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 56

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc

60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac ctaccacccc 300
atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 57

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 57

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

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

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

<210> 58

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 58

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 59

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 59

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 60

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 6

<400> 60

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Tyr His Pro Ile

5

10

<210> 61

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 61

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcttgaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtggtggc agtactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 62

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 62

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Trp Gln Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 63

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 63

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 64

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 64

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 65

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 65

Gly Lys Trp Trp Trp Gln Tyr

5

<210> 66

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 66

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag ccccaaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcagc tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcagccc ccccagccg 300

atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 67

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 67

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

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

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

<210> 68

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 68

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
5 10

<210> 69

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 69

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
5

<210> 70

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 7

<400> 70

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Ser Pro Pro Gln Pro Ile

5

10

<210> 71

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 71

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tggtggtggc agtactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 72

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 72

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Trp Gln Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100

105

110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 73

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 73

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 74

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 74

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 75

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 75

Gly Lys Trp Trp Trp Gln Tyr

5

<210> 76

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 76

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgacctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac ctaccacccc 300

atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 77

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 77

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

Thr Tyr His Pro Ile Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 78

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 78

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 79

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 79

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 80

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 8

<400> 80

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Tyr His Pro Ile

5

10

<210> 81

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 81

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtgctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 82

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 82

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 83

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 83

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 84

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 84

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 85

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 85

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn

5

<210> 86

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 86

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctcaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac gatgtaccg 300

ttgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 87

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 87

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

Thr Met Tyr Pro Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 88

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 88

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 89

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 89

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 90

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 9

<400> 90

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Met Tyr Pro Leu

5

10

<210> 91

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 10

<400> 91

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcttgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtgctct acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 92

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 10

<400> 92

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 93

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 10

<400> 93

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210

> 94

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 10

<400> 94

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 95

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 10

<400> 95

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp

5

<210> 96

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 10

<400> 96

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcaccgt cctcaccccc 300

atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 97

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 10

<400> 97

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85

90

95

Val Leu Thr Pro Ile Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

	100	105	110
<210>	98		
<211>	13		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
<220><223>	Antibody 10		
<400>	98		
	Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser		
	5	10	
<210>	99		
<211>	7		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
<220><223>	Antibody 10		
<400>	99		
	Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser		
	5		
<210>	100		
<211>	12		
<212>	PRT		
<213>	Homo sapiens		
<220><223>	Antibody 10		
<400>	100		
	Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Leu Thr Pro Ile		
	5	10	
<210>	101		
<211>	348		
<212>	DNA		
<213>	Homo sapiens		
<220><223>	Antibody 11		
<400>	101		
	caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt	60	
	tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc	120	

cctggacaag ggctttagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggcaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300
tggtggttct acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 102

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 102

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

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

65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gly	Lys	Trp	Trp	Phe	Tyr	Asp	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Leu	Val
				100					105					110	
Thr	Val	Ser	Ser												
				115											

<210> 103

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 103

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 104

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 104

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 105

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 105

Gly Lys Trp Trp Phe Tyr Asp

5

<210> 106

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 106

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcagc tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggagc aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagccccag catgatcccg 300

ctcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 107

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 107

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro

85 90 95

Ser Met Ile Pro Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 108

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 108

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 109

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 109

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 110

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 11

<400> 110

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Ser Met Ile Pro Leu

5

10

<210> 111

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 12

<400> 111

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtggttct acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 112

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 12

<400> 112

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

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

115
<210> 113
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> Antibody 12
<400> 113
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 114
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> Antibody 12
<400> 114
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15
Gly

<210> 115
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 12

<400> 115

Gly Lys Trp Trp Phe Tyr Asp

5

<210> 116

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 12

<400> 116

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg ttcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact ctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac gatgtacccg 300

ttgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 117

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 12

<400> 117

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85

90

95

Thr Met Tyr Pro Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100

105

110

<210> 118

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 12

<400> 118

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 119

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 12

<400> 119

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 120

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 12

<400> 120

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Met Tyr Pro Leu

5

10

<210> 121

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 121

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tggtggctct acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 122

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 122

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 123

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 123

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 124

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 124

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 125

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 125

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asp

5

<210> 126

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 126

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggtg ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac cttgcagccg 300

ctgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta

333

<210> 127

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 127

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

Thr Leu Gln Pro Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 128

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 128

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 129

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 129

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 130

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 13

<400> 130

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Leu Gln Pro Leu

5

10

<210> 131

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 131

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc ggcacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtgctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 132

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 132

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

5

10

15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 133

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 133

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 134

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 134

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 135

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 135

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn

5

<210> 136

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 136

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagt tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccccc gaccaagccc 300

ttgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 137

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 137

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65 70 75 80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro

85 90 95
Pro Thr Lys Pro Leu Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 138

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 138

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 139

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 139

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 140

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 14

<400> 140

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Pro Thr Lys Pro Leu

5 10

<210> 141

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 141

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtggctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 142

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 142

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 143

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 143

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 144

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 144

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 145

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 145

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn

5

<210> 146

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 146

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcaccca ccggcatccc 300
ctcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 147

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 147

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

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

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

<210> 148

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 148

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5	10
---	----

<210> 149

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 149

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 150

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 15

<400> 150

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr His Arg His Pro Leu

5

10

<210> 151

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 151

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tggtggctgt acaactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 152

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 152

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 153

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 153

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 154

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 154

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 155

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 155

Gly Lys Trp Trp Leu Tyr Asn

5

<210> 156

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 156

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagtattg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac ctaccacccc 300

atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 157

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 157

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln

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

<210> 158

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 158

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 159

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 160

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 16

<400> 160

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Tyr His Pro Ile
 5 10

<210> 161

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 161

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtggtggc agcactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 162

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 162

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Trp Gln His Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 163

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 163

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 164

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 164

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 165

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 165

Gly Lys Trp Trp Trp Gln His

5

<210> 166

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 166

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttagt tctcctgta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccgtt ggacaggccg 300

atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 167

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 167

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

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

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

<210> 168

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 168

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 169

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 169

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 170

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 17

<400> 170

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Asp Arg Pro Ile

5

10

<210> 171

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 171

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtgtggc agcactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 172

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 172

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Trp Trp Trp Gln His Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 173

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 173

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 174

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 174

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 175

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 175

Gly Lys Trp Trp Trp Gln His

5

<210> 176

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 176

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttagt tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccacce tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcaccac cccgatgccc 300

gtcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 177

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 177

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

5 10 15

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

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

<210> 178

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 178

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 179

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 179

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 180

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 18

<400> 180

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Pro Met Pro Val

5

10

<210> 181

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 181

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaaa 300

tgggtggtggc agcactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 182

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 182

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85 90 95
Ala Arg Gly Lys Trp Trp Trp Gln His Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 183

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 183

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 184

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 184

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 185

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 185

Gly Lys Trp Trp Trp Gln His

5

<210> 186

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 186

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctgta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacgac ctaccacccc 300

atcttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 187

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 187

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

Thr Tyr His Pro Ile Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 188

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 188

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 189

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 189

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 190

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 19

<400> 190

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Thr Tyr His Pro Ile

5

10

<210> 191

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 191

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 192

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 192

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 193

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 193

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 194

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 194

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 195

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 195

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 196

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 196

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 197

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 197

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

<210> 198

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 198

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 199

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 199

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 200

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 20

<400> 200

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 201

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 21

<400> 201

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcttgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatggggata atcaacccta gtggtggttag cgcaagctac 180

gcgcagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 202

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 21

<400> 202

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65 70 75 80
Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
Thr Val Ser Ser
 115

<210> 203
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> Antibody 21
<400> 203
Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 204
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> Antibody 21
<400> 204
Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15

Gly

<210> 205
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> Antibody 21
<400> 205
Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 206

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 21

<400> 206

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcgggtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgttta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 207

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 21

<400> 207

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Thr Gly Asp Glu Ala Val Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85

90

95

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

	100	105	110	
<210>	208			
<211>	13			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<220><223>	Antibody 21			
<400>	208			
	Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser			
	5	10		
<210>	209			
<211>	7			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<220><223>	Antibody 21			
<400>	209			
	Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser			
	5			
<210>	210			
<211>	12			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<220><223>	Antibody 21			
<400>	210			
	Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro			
	5	10		
<210>	211			
<211>	348			
<212>	DNA			
<213>	Homo sapiens			
<220><223>	Antibody 22			
<400>	211			
	caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ccggggcctc agtgaaggtt		60	
	tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc		120	

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 212

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 212

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

5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser

115

<210> 213

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 213

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 214

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 214

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 215

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 215

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 216

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 216

cagcccggtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctgta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcagc tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggagc aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 217

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 217

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

<210> 218

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 218

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 219

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 219

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 220

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 22

<400> 220

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 221

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 221

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaggaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cccgggcaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcgcagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 222

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 222

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser

115

<210> 223

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 223

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 224

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 224

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 225

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 225

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 226

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 226

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aataattatg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccccc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 227

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 227

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85

90

95

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

100

105

110

<210> 228

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 228

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn Tyr Val Ser

5

10

<210> 229

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 229

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro

5

<210> 230

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 23

<400> 230

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 231

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 231

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc ggcacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 232

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 232

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 233

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 233

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 234

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 234

Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 235

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 235

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 236

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 236

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctgcta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta

333

<210> 237

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 237

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

<210> 238

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 238

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 239

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 239

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 240

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24

<400> 240

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 241

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 25

<400> 241

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc ggcacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gaggtggttag cgcaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtctccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag gtctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 242

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 25

<400> 242

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

5

10

15

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

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser

115

<210> 243

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 25

<400> 243

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 244

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 25

<400> 244

Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Ala Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 245

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 25

<400> 245

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 246

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 25

<400> 246

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc cgggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctcaa gtctggcacg acagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggtta ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 247

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 25

<400> 247

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

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

<210> 248
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> Antibody 25
 <400> 248

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 249
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> Antibody 25
 <400> 249

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 250
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> Antibody 25
 <400> 250

Gly Thr Trp Val Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 251
 <211> 348
 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 251

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 252

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 252

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 253

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 253

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 254

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 254

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 255

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 255

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 256

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 256

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300
ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 257

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 257

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

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

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

<210> 258

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 258

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5	10
---	----

<210> 259

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 259

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 260

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 26

<400> 260

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 261

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 261

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaggaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcaactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agttaccatg accagggaca cgtccacgag cacgggtctac 240

atggagctga gcagcctgag acctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc caggtcaccg tctcgagt 348

<210> 262

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 262

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 263

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 263

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 264

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 264

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 265

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 265

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 266

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 266

cagtctgtgt tgacgcagcc gcccttagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcgactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 267

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 267

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln

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

<210> 268

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 268

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 269

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 269

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 270

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 27

<400> 270

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 271

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 271

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtgggtgtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaagac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caacggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 272

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 272

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

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

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 273

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 273

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 274

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 274

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 275

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 275

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 276

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 276

ctgcctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc cagcattggg aatagttagt tctcctgta ccagcaactc 120

ccaggagcag cccccaaact cctcatctac gacaacaata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggcttcag gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccgtt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 277

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 277

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Ser Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Gly Phe Arg Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro

85 90 95

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

100 105 110

<210> 278

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 278

Ser Gly Gly Ser Ser Ser Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 279

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 279

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 280

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 28

<400> 280

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 281

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 281

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc cgggtcaccg tctcgagt 348

<210> 282

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 282

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Arg Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 283

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 283

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 284

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 284

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 285

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 285

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 286

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 286

cagtcctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagtattg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccacce tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccggg gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 287

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 287

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

5 10 15

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

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

<210> 288

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 288

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 289

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 289

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 290

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 29

<400> 290

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 291

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 30

<400> 291

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatggggata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 292

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 30

<400> 292

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 293
<211> 5
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> Antibody 30
<400> 293
Ser Tyr Tyr Met His
5

<210> 294
<211> 17
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> Antibody 30
<400> 294

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
5 10 15
Gly

<210> 295
<211> 7
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><223> Antibody 30
<400> 295

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp
5

<210> 296
<211> 333
<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 30

<400> 296

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg ggggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctgta ccagcgactc 120

ccaggagcag cccccaaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 297

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 30

<400> 297

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

<210> 298

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 30

<400> 298

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 299

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 30

<400> 299

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 300

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 30

<400> 300

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 301

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 301

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

$\langle 210 \rangle$ 302

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 302

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

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

65					70					75					80
Met	Glu	Leu	Ser	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Arg	Gly	Lys	Tyr	Trp	Met	Tyr	Asp	Trp	Gly	Lys	Gly	Thr	Leu	Val
				100					105					110	
Thr	Val	Ser	Ser												
115															

<210> 303

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 303

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 304

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 304

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 305

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 305

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 306

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 306

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtctctg gaggcagctc cagcattggg aatagttatg tctccttgta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggcta ccagcccgtt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 307

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 307

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Ser Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Ala Thr Ser Pro

85 90 95

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

100 105 110

<210> 308

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 308

Ser Gly Gly Ser Ser Ser Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 309

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 309

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 310

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 31

<400> 310

Gly Thr Trp Ala Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 311

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 32

<400> 311

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcttgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 312

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 32

<400> 312

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 313

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 32

<400> 313

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 314

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 32

<400> 314

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 315

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 32

<400> 315

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 316

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 32

<400> 316

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg ttccttgga ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctcaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggc gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 317

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 32

<400> 317

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85

90

95

Ala Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

	100	105	110	
<210>	318			
<211>	13			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<220><223>	Antibody 32			
<400>	318			
	Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser			
	5	10		
<210>	319			
<211>	7			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<220><223>	Antibody 32			
<400>	319			
	Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser			
	5			
<210>	320			
<211>	12			
<212>	PRT			
<213>	Homo sapiens			
<220><223>	Antibody 32			
<400>	320			
	Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Ala Trp Glu Trp Pro			
	5	10		
<210>	321			
<211>	348			
<212>	DNA			
<213>	Homo sapiens			
<220><223>	Antibody 33			
<400>	321			
	caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gagaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt	60		
	tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc	120		

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cactagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 322

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 322

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

5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser

115

<210> 323

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 323

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 324

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 324

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 325

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 325

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 326

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 326

cagtctgcgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcaactc 120

cctggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcagc tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ccgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 327

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 327

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

<210> 328

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 328

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 329

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 329

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 330

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 33

<400> 330

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 331

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 34

<400> 331

caggctccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtctccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 332

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 34

<400> 332

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35 40 45
 Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Ser Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser

115
 <210> 333
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> Antibody 34
 <400> 333
 Ser Tyr Tyr Met His
 5

<210> 334
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> Antibody 34
 <400> 334
 Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln
 5 10 15
 Gly

<210> 335
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 34

<400> 335

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 336

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 34

<400> 336

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tccgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tgtcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacgg cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 337

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 34

<400> 337

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

65

70

75

80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85

90

95

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

100

105

110

<210> 338

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 34

<400> 338

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 339

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 34

<400> 339

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 340

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 34

<400> 340

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 341

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 341

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 342

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 342

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 343

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 343

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 344

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 344

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 345

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 345

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 346

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 346

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctccttgta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccgtt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta

333

<210> 347

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 347

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro

85 90 95

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

100 105 110

<210> 348

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 348

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 349

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 349

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 350

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 35

<400> 350

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 351

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 351

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactaca tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cgcaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 352

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 352

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

5

10

15

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

65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
 100 105 110
 Thr Val Ser Ser

115

<210> 353

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 353

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 354

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 354

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

5

10

15

Gly

<210> 355

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 355

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 356

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 356

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggatt ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 357

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 357

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35

40

45

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

50

55

60

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

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

<210> 358

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 358

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 359

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 359

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 360

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 36

<400> 360

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro
 5 10

<210> 361

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 361

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcgccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag acctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 362

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 362

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 363

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 363

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 364

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 364

Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 365

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 365

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 366

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 366

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tcagcgcccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcggctc cagcattggg aatagctatg tctctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc aggggttcct 180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcggccaccc tggccatcac cggactccag 240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccgtt gtgggagtgg 300
ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 367

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 367

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

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

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

<210> 368

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 368

Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5	10
---	----

<210> 369

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 369

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 370

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37

<400> 370

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 371

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 371

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tctctgaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggtag cgcaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 372

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 372

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 373

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 373

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 374

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 374

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

5 10 15

Gly

<210> 375

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 375

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 376

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 376

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagtattg tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcgga ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 377

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 377

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

5

10

15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20

25

30

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

35 40 45
 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60
 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln

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

<210> 378

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 378

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 379

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 379

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 380

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 38

<400> 380

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5 10

<210> 381

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 381

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta ggggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 382

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 382

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 383

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 383

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 384

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 384

Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 385

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 385

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 386

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 386

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcttgta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggc gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 387

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 387

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

Ala Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu

100 105 110

<210> 388

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 388

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 389

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 389

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 390

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 39

<400> 390

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Ala Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 391

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 391

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 392

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 392

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

5 10 15
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Ser Tyr

20 25 30
Tyr Met His Trp Ala Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr

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

85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110
Thr Val Ser Ser

115

<210> 393

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 393

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 394

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 394

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 395

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 395

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 396

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 396

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttagt tctcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccacce tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggatt ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 397

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 397

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

5 10 15

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

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

<210> 398

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 398

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser
 5 10

<210> 399

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 399

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser
 5

<210> 400

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 40

<400> 400

Gly Thr Trp Asp Ser Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 401

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 401

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaggaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gtggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag acctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgggt 348

<210> 402

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 402

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85 90 95
Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val
100 105 110

Thr Val Ser Gly

115

<210> 403

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 403

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 404

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 404

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 405

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 405

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 406

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 406

cagtcctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtcttg gaggcagcac caacattggg aatagttatg tctcctgta ccagcgactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccccc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 407

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 407

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Thr Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

<210> 408

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 408

Ser Gly Gly Ser Thr Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 409

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 409

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Pro

5

<210> 410

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 41

<400> 410

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 411

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 411

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgcctttacc agctactata tgcactgggc gcgacaggcc 120

cctggacagg ggcttgagtg ggtgggaata atcaacccta gcggtggttag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctggggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 412

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 412

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 413

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 413

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 414

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 414

Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 415

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 415

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 416

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 416

caggctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg tctcctggta ccagcgactc 120

ccaggagcag cccccaaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tggccatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggg gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 417

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 417

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

<210> 418

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 418

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 419

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 419

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 420

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 42

<400> 420

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Gly Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 421

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 421

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcttgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cacaagctac 180

gcacagaagt tccagggcag agtcacatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240

atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300

tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 422

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 422

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35

40

45

Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50

55

60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 423

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 423

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 424

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 424

Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5 10 15

Gly

<210> 425

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 425

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 426

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 426

```
cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagt tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc      60
tcctgctctg gaggcagctc caacattggg aatagttatg taccctggta ccagcaactc      120
ccaggaacag cccccaact cctcatttac gacaataata agcgaccctc agggattcct      180
gaccgattct ctggctcaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag      240
actggggacg aggccgatta tttctgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg      300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta                                     333
```

<210> 427

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 427

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

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Gly Ile Thr Gly Leu Gln
65              70              75              80
Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr
      85              90              95
Val Trp Glu Trp Pro Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
```

100 105 110

<210> 428

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 428

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 429

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 429

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 430

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 PGL

<400> 430

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5 10

<210> 431

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<

400> 431

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt 60

tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggt gcgacaggcc 120

cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gaggtggtag cacaagctac 180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac 240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag 300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt 348

<210> 432

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 432

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

5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val

100 105 110

Thr Val Ser Ser

115

<210> 433

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 433

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 434

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 434

Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 435

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 435

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 436

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 436

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tctgcggccc caggacagaa ggtcaccatc 60

tcctgtctctg gaggcagctc caacattggg aatagttagt tatcctggta ccagcaactc 120

ccaggaacag cccccaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct 180

gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag 240

actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcacggt gtgggagtgg 300

ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta 333

<210> 437

<211

> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 437

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

5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr

85 90 95

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

100 105 110

<210> 438

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 438

Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5 10

<210> 439

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 439

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 440

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 24 GL

<400> 440

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Thr Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210> 441

<211> 348

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 441

caggtccagc tgggtgcagtc tggggctgag gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtt	60
tcctgcaagg catctggata cgccttcacc agctactata tgcactgggt gcgacaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggaata atcaacccta gaggtggttag cacaagctac	180
gcacagaagt tccagggcag agtcaccatg accagggaca cgtccacgag cacagtctac	240
atggagctga gcagcctgag atctgaggac acggccgtgt attactgtgc gagaggaaag	300
tactggatgt acgactgggg caaaggcacc ctggtcaccg tctcgagt	348

<210> 442

<211> 116

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 442

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

5

10

15

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

20

25

30

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

35 40 45
Gly Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe

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

115

<210> 443

<211> 5

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 443

Ser Tyr Tyr Met His

5

<210> 444

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 444

Ile Ile Asn Pro Arg Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

5

10

15

Gly

<210> 445

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 445

Gly Lys Tyr Trp Met Tyr Asp

5

<210> 446

<211> 333

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 446

cagtctgtgt tgacgcagcc gccctcagtg tcagcggccc caggacagaa ggtcaccatc	60
tcctgtcttg gaggcggctc cagcattggg aatagctatg taccctggta ccagcaactc	120
ccaggaacag cccccaaact cctcatctac gacaataata agcgaccctc agggattcct	180
gaccgattct ctggctccaa gtctggcacg tcagccaccc tgggcatcac cggactccag	240
actggggacg aggccgatta ttactgcgga acatgggata ccagcccgtg gtgggagtgg	300
ccgttcggaa ctgggaccaa gctgaccgtc cta	333

<210> 447

<211> 111

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 447

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

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro

85

90

95

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

100

105

110

<210> 448

<211> 13

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 448

Ser Gly Gly Gly Ser Ser Ile Gly Asn Ser Tyr Val Ser

5

10

<210> 449

<211> 7

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 449

Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser

5

<210> 450

<211> 12

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><223> Antibody 37 GL

<400> 450

Gly Thr Trp Asp Thr Ser Pro Val Trp Glu Trp Pro

5

10

<210

> 451

<211> 96

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Cyno IL4R primer 1

<400> 451

ggggacaagt ttgtacaaaa aagcaggctt ctttaacttt aagaaggaga tataaccatg 60

gggtggcttt gctctgggct cctgttgctt gtgagc 96

<210> 452

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> Cyno IL4R primer 2

<400> 452

ggggaccact ttgtacaaga aagctgggtc ctgctcgaag ggctccctgt aggagttgta 60

cca 63

<210> 453

<211> 32

<212> DNA

<213> Artificial

<220><223> I75V oligonucleotide mutation primer

<400> 453

gaagcccaca cgtgtgcctt gagaacaacg ga 32

<210> 454

<211> 478

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 454

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met

35 40 45

Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu

50 55 60

Val Phe Leu Leu Ser Glu Ala His Thr Cys Ile Pro Glu Asn Asn Gly

65 70 75 80

Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu Met Asp Asp Val Val Ser Ala
85 90 95

Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys
100 105 110

Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn
115 120 125

Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser
130 135 140

Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala
145 150 155 160

Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn
165 170 175

Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys
180 185 190

Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val Arg Ala Trp Ala Gln Cys Tyr
195 200 205

Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp His Asn Ser
210 215 220

Tyr Arg Glu Pro Phe Asp Pro Ala Phe Leu Tyr Lys Val Val Gly Ala
225 230 235 240

Ala Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
245 250 255

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
260 265 270

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
275 280 285

Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
290 295 300

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
305 310 315 320

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

325 330 335
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 340 345 350

Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 355 360 365

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 370 375 380

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 385 390 395 400

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 405 410 415

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 420 425 430

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 435 440 445

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 450 455 460

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys His His His His His His
 465 470 475

<210> 455

<211> 693

<212> DNA

<213> *Macaca fascicularis*

<220><223> Cynomolgus monkey IL-4Ra cDNA nucleotide

<400> 455

atggggtggc ttgctctgg gctcctgttg cctgtgagct gcctggctct gctgcaggtg	60
gcaagctctg ggagcatgaa ggtcctgcag gagccacact gcgtctccga ctacatgagc	120
atctctacct gtgagtggaa gatgggcggt cccaccaatt gcagcgccga gctccgtctg	180
ttgtaccagc tggtttttca gtcctccgaa acccacacgt gtgtccccga gaacaacggc	240
ggtgtggggt gcgtgtgcc cctgctcatg gatgatgtgg tcagtatgga caactatacg	300
ctggacctgt gggctggaca gcagctgctg tggaagggt ccttcaagcc cagcgagcat	360

gtgaaaccca gggccccagg aaacctcacg gttcacacca atgtctccga cactgtgctg 420
ctgacctgga gcaaccata tccccctgac aattacctgt ataatgatct cacctatgca 480
gtcaacattt ggagtgaana cgaccggca tattccagaa tccataacgt gacctaccta 540
aaaccacccc tccgcatccc agccagcacc ctgaagtctg gaatttccta cagggcacgg 600
gtgagggcct gggctcagca ctataacacc acctggagtg agtggagccc cagcaccaag 660
tggtacaact cctacagga gcccttcgag cag 693

<210> 456

<211> 1428

<212> DNA

<213> *Macaca fascicularis*

<220><223> Cynomolgus monkey IL-4Ra/Fc cDNA nucleotide

<400> 456

atggggtggc ttgtctctgg gctcctgttg cctgtgagct gcctggctct gctgcaggtg 60
gcaagctctg ggagcatgaa ggtctctcag gagccacact gcgtctccga ctacatgagc 120
atctctacct gtgagtggaa gatgggcggg cccaccaatt gcagcgccga gctccgtctg 180
ttgtaccagc tggtttttca gtcctccgaa acccacacgt gtgtccccga gaacaacggc 240
gggtgtgggt gcgtgtgcca cctgctcatg gatgatgtgg tcagtatgga caactatacg 300
ctggacctgt gggctggaca gcagctgctg tggaagggt ccttcaagcc cagcgagcat 360

gtgaaaccca gggccccagg aaacctcacg gttcacacca atgtctccga cactgtgctg 420
ctgacctgga gcaaccata tccccctgac aattacctgt ataatgatct cacctatgca 480
gtcaacattt ggagtgaana cgaccggca tattccagaa tccataacgt gacctaccta 540
aaaccacccc tccgcatccc agccagcacc ctgaagtctg gaatttccta cagggcacgg 600
gtgagggcct gggctcagca ctataacacc acctggagtg agtggagccc cagcaccaag 660
tggtacaact cctacagga gcccttcgag caggaccag ctttcttgta caaagtgggt 720
cgattcgagg agcccaaatc tagcgacaaa actcacacat gccaccgtg cccagcacct 780

gaactcctgg ggggaccgtc agtcttctc tccccccaa aaccaagga caccctcatg 840
atctccccga cccctgaggt cacatgcgtg gtggtggacg tgagccacga agacctgag 900
gtcaagtcca actggtagct ggacggcgtg gaggtgcata atgccaagac aaagccgagg 960
gaggagcagt acaacagcac gtaccgtgtg gtcagcgtcc tcaccgtcct gcaccaggac 1020
tggtgaaatg gcaaggagta caagtgaag gtctccaaca aagccctccc agccccatc 1080
gagaaaacca tctccaaagc caaaggcag ccccgagaac cacaggtgta caccctgccc 1140

ccatccccggg atgagctgac caagaaccag gtcagcctga cctgcctggt caaaggcttc 1200

tatcccagcg acatcgccgt ggagtgggag agcaatgggc agccggagaa caactacaaa 1260

accacgcctc ccgtgctgga ctccgacggc tcctttcttc tctacagaa gctcaccgtg 1320

gacaagagca ggiggcagca ggggaacgtc ttctcatgct ccgtgatgca tgaggctctg 1380

cacaaccact acacgcagaa gagcctctcc ctgtctccgg gtaaatga 1428

<210> 457

<211> 475

<212> PRT

<213> Macaca fascicularis

<220><223> Cynomolgus monkey IL-4Ra/Fc protein

<400> 457

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Leu Pro Val Ser Cys Leu Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met

35 40 45

Gly Gly Pro Thr Asn Cys Ser Ala Glu Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu

50 55 60

Val Phe Gln Ser Ser Glu Thr His Thr Cys Val Pro Glu Asn Asn Gly

65 70 75 80

Gly Val Gly Cys Val Cys His Leu Leu Met Asp Asp Val Val Ser Met

85 90 95

Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys

100 105 110

Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn

115 120 125

Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Val Leu Leu Thr Trp Ser

130 135 140

Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn Asp Leu Thr Tyr Ala

145 150 155 160

Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Tyr Ser Arg Ile His Asn
165 170 175

Val Thr Tyr Leu Lys Pro Thr Leu Arg Ile Pro Ala Ser Thr Leu Lys
180 185 190

Ser Gly Ile Ser Tyr Arg Ala Arg Val Arg Ala Trp Ala Gln His Tyr
195 200 205

Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp Tyr Asn Ser
210 215 220

Tyr Arg Glu Pro Phe Glu Gln Asp Pro Ala Phe Leu Tyr Lys Val Val
225 230 235 240

Arg Phe Glu Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro
245 250 255

Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro
260 265 270

Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr
275 280 285

Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn
290 295 300

Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg
305 310 315 320

Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val
325 330 335

Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser
340 345 350

Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys
355 360 365

Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp
370 375 380

Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe
385 390 395 400

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

405	410	415
Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe		
420	425	430
Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly		
435	440	445
Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr		
450	455	460
Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
465	470	475
<210> 458		
<211> 1422		
<212> DNA		
<213> Homo sapiens		
<220><223> Human I75V IL-4Ra/Fc cDNA nucleotide		
<400> 458		
atgggggtggc ttgtctctgg gctcctgttc cctgtgagct gcctggctcct gctgcaggtg	60	
gcaagctctg ggaacatgaa ggtcttgcag gagccacct gcgtctccga ctacatgagc	120	
atctctactt gcgagtggaa gatgaatggt cccaccaatt gcagcaccga gctccgcctg	180	
ttgtaccagc tggtttttct gctctccgaa gcccacacgt gtgtccctga gaacaacgga	240	
ggcgcgggggt gcgtgtgcc cctgctcatg gatgacgtgg tcagtgcgga taactataca	300	
ctggacctgt gggctgggca gcagctgctg tggaagggt ccttcaagcc cagcgagcat	360	
gtgaaacca gggccccagg aaacctgaca gttcacacca atgtctccga cactctgctg	420	
ctgacctgga gcaaccctga tccccctgac aattacctgt ataatcatct cacctatgca	480	
gtcaacattt ggagtgaata cgaccgggca gatttcagaa tctataacgt gacctaccta	540	
gaacctccc tccgcatcgc agccagcacc ctgaagtctg ggatttccta cagggcacgg	600	
gtgagggcct gggctcagtg ctataacacc acctggagtg agtggagccc cagcaccaag	660	
tggcacaact cctacagga gcccttcgac ccagctttct tgtacaaagt ggttcgattc	720	
gaggagccca aatctagcga caaaactcac acatgccac cggtgccagc acctgaactc	780	
ctggggggac cgtcagcttt cctcttcccc ccaaaacca aggacacct catgatctcc	840	
cggaccctg aggtcacatg cgtggtggtg gacgtgagcc acgaagacc tgaggtcaag	900	
ttcaactggt acgtggacgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag	960	
cagtacaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtctcaccg tcctgcacca ggactggctg	1020	

aatggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaagccc tcccagcccc catcgagaaa 1080

accatctcca aagccaaagg gcagccccga gaaccacagg tgtacaccct gcccccatcc 1140

cgggatgagc tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaagg cttctatccc 1200

agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caaaaccacg 1260

cctcccgtgc tggactccga cggtccttc ttcctctaca gcaagctcac cgtggacaag 1320

agcaggtggc agcaggggaa cgtcttctca tgcctcgtga tgcattgaggc tctgcacaac 1380

cactacacgc agaagagcct ctccctgtct ccgggtaat ga 1422

<210> 459

<211> 473

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220

><223> Human I75V IL-4Ra/Fc protein

<400> 459

Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val

1 5 10 15

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

20 25 30

Thr Cys Val Ser Asp Tyr Met Ser Ile Ser Thr Cys Glu Trp Lys Met

35 40 45

Asn Gly Pro Thr Asn Cys Ser Thr Glu Leu Arg Leu Leu Tyr Gln Leu

50 55 60

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

65 70 75 80

Gly Ala Gly Cys Val Cys His Leu Leu Met Asp Asp Val Val Ser Ala

85 90 95

Asp Asn Tyr Thr Leu Asp Leu Trp Ala Gly Gln Gln Leu Leu Trp Lys

100 105 110

Gly Ser Phe Lys Pro Ser Glu His Val Lys Pro Arg Ala Pro Gly Asn

115 120 125

Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser

130 135 140

Asn Pro Tyr Pro Pro Asp Asn Tyr Leu Tyr Asn His Leu Thr Tyr Ala
 145 150 155 160
 Val Asn Ile Trp Ser Glu Asn Asp Pro Ala Asp Phe Arg Ile Tyr Asn
 165 170 175
 Val Thr Tyr Leu Glu Pro Ser Leu Arg Ile Ala Ala Ser Thr Leu Lys

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

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

 305 310 315 320
 Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
 325 330 335
 Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
 340 345 350
 Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
 355 360 365
 Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu

 370 375 380
 Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

385 390 395 400
 Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
 405 410 415
 Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 420 425 430
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val

 435 440 445
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
 450 455 460
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 465 470
 <210> 460
 <211> 261
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <220><223> Human IL-4Ra/HIS tag polypeptide
 <400> 460
 Met Gly Trp Leu Cys Ser Gly Leu Leu Phe Pro Val Ser Cys Leu Val
 1 5 10 15

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

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

115 120 125
Leu Thr Val His Thr Asn Val Ser Asp Thr Leu Leu Leu Thr Trp Ser
130 135 140

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

Asn Thr Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Thr Lys Trp His Asn Ser
210 215 220
Tyr Arg Glu Pro Phe Asn Pro Ala Phe Leu Tyr Lys Val Val Gly Ala
225 230 235 240
Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Ala His His His His His
245 250 255
His His His His His
260

<210> 461

<211> 262

<212> PRT

<213> Mus musculus

<220><223

> Murine IL-4Ra/HIS tag polypeptide

<400> 461

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

Asp Ser Ala Val Asp Cys Ser Ser Gln Leu Cys Leu His Tyr Arg Leu

50

55

60

Met Phe Phe Glu Phe Ser Glu Asn Leu Thr Cys Ile Pro Arg Asn Ser

65

70

75

80

Ala Ser Thr Val Cys Val Cys His Met Glu Met Asn Arg Pro Val Gln

85

90

95

Ser Asp Arg Tyr Gln Met Glu Leu Trp Ala Glu His Arg Gln Leu Trp

100

105

110

Gln Gly Ser Phe Ser Pro Ser Gly Asn Val Lys Pro Leu Ala Pro Asp

115

120

125

Asn Leu Thr Leu His Thr Asn Val Ser Asp Glu Trp Leu Leu Thr Trp

130

135

140

Asn Asn Leu Tyr Pro Ser Asn Asn Leu Leu Tyr Lys Asp Leu Ile Ser

145

150

155

160

Met Val Asn Ile Ser Arg Glu Asp Asn Pro Ala Glu Phe Ile Val Tyr

165

170

175

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

180

185

190

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

195

200

205

Leu Thr Gly Thr Trp Ser Glu Trp Ser Pro Ser Ile Thr Trp Tyr Asn

210

215

220

His Phe Gln Leu Pro Leu Asn Pro Ala Phe Leu Tyr Lys Val Val Gly

225

230

235

240

Ala Ala Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Ala Ala His His His His

245

250

255

His His His His His His

260