



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년03월21일

(11) 등록번호 10-2784576

(24) 등록일자 2025년03월17일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**C07K 16/28** (2006.01) **A61K 39/00** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2023.01)
- (52) CPC특허분류  
**C07K 16/2896** (2013.01)  
**A61P 29/00** (2023.02)
- (21) 출원번호 10-2018-7022663
- (22) 출원일자(국제) 2017년01월06일  
 심사청구일자 2021년11월24일
- (85) 번역문제출일자 2018년08월06일
- (65) 공개번호 10-2018-0117102
- (43) 공개일자 2018년10월26일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2017/012621
- (87) 국제공개번호 WO 2017/120534  
 국제공개일자 2017년07월13일
- (30) 우선권주장  
 62/276,806 2016년01월08일 미국(US)
- (56) 선행기술조사문헌  
 WO2015013671 A1\*  
 (뒷면에 계속)

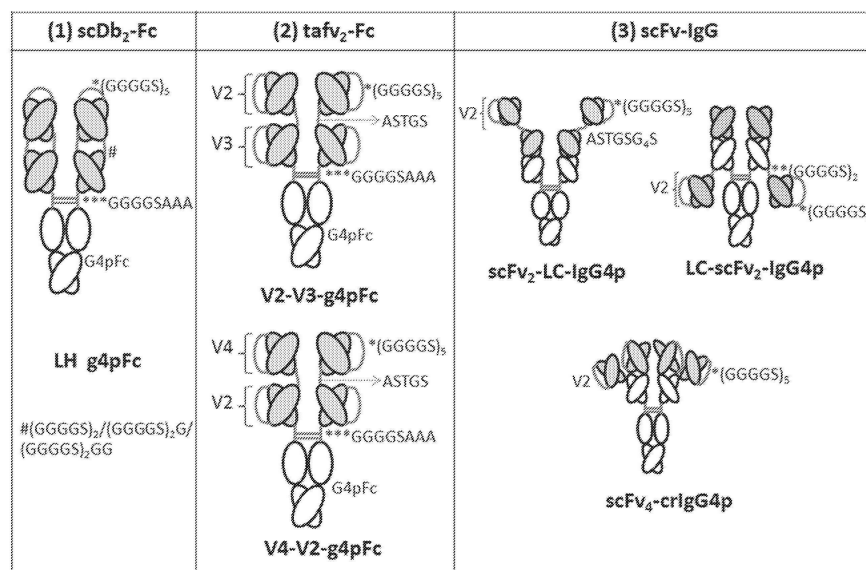
- (73) 특허권자  
**알트루바이오 인코퍼레이티드**  
 미합중국 텔라웨어 19801 월밍턴 오렌지 스트리트 1209
- (72) 발명자  
**린 롱-화**  
 미국 캘리포니아 94306 팔로 알토 유니퍼 레인 유닛 지 4021  
**린 시-야오**  
 대만 114 타이페이 네이후 디스트릭트 리산 스트리트 레인 105 넘버 1 7층  
**차이 유-잉**  
 대만 116 타이페이 시티 원산 디스트릭트 정화 스트리트 레인 121 엘리 15 넘버 7 3층
- (74) 대리인  
**특허법인와이에스장**

전체 청구항 수 : 총 23 항

심사관 : 문명순

(54) 발명의 명칭 **사가 항-PSGL-1 항체 및 이들의 용도****(57) 요약**

인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체가 본원에서 제공된다. 이가 항체와 달리, 이들 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 내포하고, 각 단위체는 2개의 경쇄 가변(VL) 도메인 및 2개의 중쇄 가변(VH) 도메인을 포함한다. 이러한 형식은 이가 PSGL-1 항체와 비교하여 증강된 효력을 보여주는, PSGL-1에 대한 교차연결제/FcR-발현 세포-독립된 사가 항체를 허용한다. 이들 사가 항체는 제한 없이, T-세포 매개된 염증성 질환의 치료, 이식 및 수혈을 비롯하여, 다양한 진단 방법 및 치료 방법에서 이용될 수 있다.

**대표도**

(52) CPC특허분류

A61K 2039/505 (2013.01)  
C07K 2317/35 (2013.01)  
C07K 2317/52 (2013.01)  
C07K 2317/53 (2013.01)  
C07K 2317/56 (2013.01)  
C07K 2317/565 (2013.01)  
C07K 2317/622 (2013.01)  
C07K 2317/732 (2013.01)  
C07K 2317/76 (2013.01)

---

(56) 선행기술조사문헌

W02012025530 A1  
W02005110475 A2  
KR1020140066153 A\*  
KR1020050059001 A\*  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체로서, 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고,

(A) 이합체의 각 단위체는 N 말단으로부터 C 말단으로

- (1) 첫 번째 경쇄 가변 (VL) 도메인;
- (2) 첫 번째 링커 서열;
- (3) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인;
- (4) 두 번째 링커 서열;
- (5) 두 번째 VL 도메인;
- (6) 세 번째 링커 서열;
- (7) 두 번째 VH 도메인;
- (8) 네 번째 링커 서열; 및
- (9) 항체 Fc 도메인

을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드를 포함하며,

첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각 서열 번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하고; 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하며; 첫 번째 VL 도메인은 두 번째 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 첫 번째 VH 도메인은 두 번째 VL 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하며, 그리고 2개의 VH-VL 결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적이거나;

(B) 이합체의 각 단위체는 N 말단으로부터 C 말단으로

- (1) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인;
- (2) 첫 번째 링커 서열;
- (3) 첫 번째 경쇄 가변 (VL) 도메인;
- (4) 두 번째 링커 서열;
- (5) 두 번째 VL 도메인;
- (6) 세 번째 링커 서열;
- (7) 두 번째 VH 도메인;
- (8) 네 번째 링커 서열; 및
- (9) 항체 Fc 도메인

을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드를 포함하며,

첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각 서열 번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하고; 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하며; 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각 첫 번째와 두 번째 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 2개의 VH-VL

결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적이거나; 또는

(C) 이합체의 각 단위체는 항체 중쇄 및 항체 경쇄를 포함하며;

항체 경쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로

- (1) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인,
- (2) 첫 번째 링커 서열,
- (3) 첫 번째 경쇄 가변 (VL) 도메인,
- (4) 두 번째 링커 서열,
- (5) 두 번째 VL 도메인, 및
- (6) 경쇄 불변 (CL) 도메인

을 포함하고;

항체 중쇄는

- (1) 두 번째 VH 도메인, 및
  - (2) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인, 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역
- 을 포함하며;

첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각 서열 번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1, 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2, 및 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하고; 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1, 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2, 및 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하며; 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각 첫 번째와 두 번째 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 2개의 VH-VL 결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적인, 사가 항체.

## 청구항 2

제1 항에 있어서, 2개의 VH 도메인 각각은 서열 번호:23 또는 29의 아미노산 서열, 또는 상기 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3의 아미노산 서열을 제외한 서열 번호:23 또는 29의 나머지 아미노산 서열에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고, 2개의 VL 도메인 각각은 서열 번호:24 또는 30의 아미노산 서열, 또는 상기 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3의 아미노산 서열을 제외한 서열 번호:24 또는 30의 나머지 아미노산 서열에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산을 포함하는 것을 특징으로 하는 사가 항체.

## 청구항 3

제1 항의 (A)에 있어서, 첫 번째, 두 번째 및 세 번째 링커 서열은 각각 서열 번호:25의 아미노산 서열의 2개 내지 5개의 반복을 포함하거나, 또는 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 링커 서열은 서열 번호:33, 34, 35, 또는 36의 아미노산 서열을 포함하거나; 또는

첫 번째와 세 번째 링커 서열은 동일한 서열을 갖고 서열 번호:25의 2개 반복을 포함하거나; 또는

두 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개의 반복을 포함하거나; 또는

네 번째 링커 서열은 서열 번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 사가 항체.

## 청구항 4

제1 항의 (A)에 있어서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드는 각각 서열 번호:1의 아미노산 서열, 또는 상기 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3의 아미노산 서열을 제외한 서열 번호:1의 나머지 아미노산 서열에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 사가 항체.

#### 청구항 5

제1 항의 (B)에 있어서, 첫 번째와 세 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개의 반복을 포함하는 동일한 서열을 갖거나, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:27의 아미노산 서열을 포함하거나, 또는 네 번째 링커 서열은 서열 번호:26의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 사가 항체.

#### 청구항 6

제1 항의 (B)에 있어서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드는 각각 서열 번호:3의 아미노산 서열, 또는 상기 CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3의 아미노산 서열을 제외한 서열 번호:3의 나머지 아미노산 서열에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 사가 항체.

#### 청구항 7

제1 항의 (C)에 있어서, CL 도메인은 카파 CL 도메인이고, 첫 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개의 반복을 포함하거나 또는 두 번째 링커 서열은 서열 번호:28의 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 사가 항체.

#### 청구항 8

제1 항의 (C)에 있어서, 항체 경쇄는 서열 번호:7의 아미노산 서열, 또는 상기 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3의 아미노산 서열을 제외한 서열 번호:7의 나머지 아미노산 서열에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나;

항체 중쇄는 서열 번호:11의 아미노산 서열, 또는 상기 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3의 아미노산 서열을 제외한 서열 번호:11의 나머지 아미노산 서열에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 사가 항체.

#### 청구항 9

제1 항 내지 제8 항 중 어느 한 항에 있어서, 항체 Fc 도메인은 인간 항체 Fc 도메인인 것을 특징으로 하는 사가 항체.

#### 청구항 10

제9 항에 있어서, 항체 Fc 도메인은 인간 IgG4 Fc 도메인인 것을 특징으로 하는 사가 항체.

#### 청구항 11

제10 항에 있어서, 인간 IgG4 Fc 도메인은 EU 지수에 따라 넘버링된 아미노산 228에서 세린에서 프롤린으로의 치환을 포함하는 힌지 영역 서열을 포함하는 것을 특징으로 하는 사가 항체.

#### 청구항 12

제1 항 내지 제8 항 중 어느 한 항의 사가 항체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 13

제12 항에 있어서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 서열 번호:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 및 16으로 구성된 군에서 선택되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는, 단리된 폴리뉴클레오티드.

#### 청구항 14

제12 항의 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

#### 청구항 15

제13 항의 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터.

#### 청구항 16

제12 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 단리된 숙주 세포.

#### 청구항 17

제13 항의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 단리된 숙주 세포.

#### 청구항 18

사가 항체를 생산하는 방법으로서, 사가 항체가 생산되도록 제16 항의 단리된 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는, 방법.

#### 청구항 19

제18 항에 있어서, 방법은 숙주 세포로부터 사가 항체를 회수하는 단계를 더욱 포함하는 방법.

#### 청구항 20

T-세포 매개된 염증성 질환을 치료하기 위한, 제1 항 내지 제8 항 중 어느 한 항의 사가 항체 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물.

#### 청구항 21

제20 항에 있어서, T-세포 매개된 염증성 질환은 건선, 건선성 관절염, 류마티스성 관절염, 크론병, 강직성 척추염, I형 당뇨병, 궤양성 대장염, 다발성 경화증, 알레르기, 아토피성 피부염, 천식, T 세포 신생물, 및 이식편 대 숙주 질환 (GVHD)으로 구성된 군에서 선택되는 것을 특징으로 하는, 제약학적 조성물.

#### 청구항 22

수혈 또는 이식이 필요한 개체를 치료하기 위한, 제1 항 내지 제8 항 중 어느 한 항의 사가 항체 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물.

#### 청구항 23

제22 항에 있어서, 수혈은 백혈구, 적혈구, 및 혈소판 중 하나 또는 그 이상을 포함하는 수혈이고, 이식은 골수, 신장, 심장, 간, 뉴런 조직, 폐, 췌장, 피부 및 장으로 구성된 군에서 선택되는 조직의 이식인 것을 특징으로 하는, 제약학적 조성물.

#### 청구항 24

삭제

#### 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

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제



청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

**발명의 설명**

**기술 분야**

[0001] 관련된 출원에 대한 교차 참조

[0002] 본 출원은 2016년 1월 8일자 제출된 U.S. 특허가출원 일련 번호 62/276,806에 우선권을 주장하고, 이것은 본원에서 전체적으로 참조로서 편입된다.

[0003] ASCII 텍스트 파일 형태에서 서열 목록의 제출

[0004] ASCII 텍스트 파일 형태에서 제출된 다음의 내용은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다: 서열 목록 (파일 명칭: 606592001340SEQLIST.TXT, 기록된 일자: 2017년 1월 3일, 크기: 70 KB)의 컴퓨터 판독가능한 형태 (CRF).

[0005] 분야

[0006] 인간 P-셀렉틴 당단백질 리간드-1 (PSGL-1)에 특이적으로 결합하는 사가 항체뿐만 아니라 거기에 관련된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포, 방법, 제약학적 조성물, 키트 및 용도가 본원에서 제공된다. 이들 사가 항체는 제한 없이, T-세포 매개된 염증성 질환의 치료, 이식 및 수혈을 비롯하여, 다양한 진단 방법 및 치료 방법에서 용도를 발견할 수 있다.

**배경 기술**

[0007] 배경

[0008] 감염 또는 손상에 대한 염증 반응은 혈관 벽에 백혈구의 부착에 의해 시작된다 (McEver et al, 1997, J. Clin. Invest., 100 (3): 485-492). 셀렉틴은 염증 동안 첫 번째 백혈구-내피 세포 및 백혈구-혈소판 상호작용을 매개

하는 당단백질의 패밀리를 나타낸다. L-셀렉틴, E-셀렉틴 및 P-셀렉틴으로 구성되는 셀렉틴 패밀리는 NH<sub>2</sub>-말단 력틴 도메인, 그 이후에 EGF-유사 도메인, 일련의 공통 반복, 막경유 도메인 및 짧은 세포질 꼬리를 포함한다. 셀렉틴의 력틴 도메인은 세포 부착을 용이하게 하기 위해 특정한 당접합체 리간드와 상호작용한다. 대부분의 백혈구에서 발현되는 L-셀렉틴은 일부 내피 세포 및 다른 백혈구 상에서 리간드에 결합한다. 사이토킨 활성화된 내피 세포에서 발현되는 E-셀렉틴은 대부분의 백혈구 상에서 리간드에 결합한다. 활성화된 혈소판 및 내피 세포에서 발현되는 P-셀렉틴 역시 대부분의 백혈구 상에서 리간드에 결합한다.

[0009] SELPLG 또는 CD162 (분화 클러스터 162)로서 또한 알려져 있는 P-셀렉틴 당단백질 리간드-1 ("PSGL-1")은 3가지 셀렉틴 모두에 대한 인간 점액소-유형 당단백질 리간드이다 (Constantin, Gabriela, 2004, Drug News Perspect., 17(9): 579-585; McEver et al., 1997, J. Clin. Invest., 100 (3): 485-492). PSGL-1은 2개의 120-kD 아단위를 갖는 이황화물-결합된 동종이합체이고, 그리고 단핵구, 림프구, 과립구 표면 상에서 및 일부 CD34<sup>+</sup> 줄기 세포에서 발현된다. PSGL-1은 많은 염증성 장애에서 병리학적 백혈구 모집에 기여할 개연성이 있는데, 그 이유는 이것이 셀렉틴의 접착성 상호작용을 용이하게 하기 때문이다. 이에 더하여, PSGL-1은 T 세포에서 독특한 조절 역할을 갖는 것으로 밝혀졌다. PSGL-1에서 결합성인 생쥐는 증강된 증식성 반응 및 자가면역을 보여주는데, 이것은 PSGL-1이 T 세포 반응을 하향조절하는데 중요한 역할을 한다는 것을 암시한다 (Krystle M. et al. J. Immunol. 2012; 188:1638-1646. Urzainqui et al. Ann Rheum Dis 2013;71:650; Pérez-Frías A, et al. Arthritis Rheumatol. 2014 Nov;66(11):3178-89.; Angiari et al. J Immunol. 2013;191(11):5489-500).

[0010] 여러 항-PSGL-1 항체가 개발되었다 (가령, 국제 출원 공개 번호 WO 2005/110475, WO 2003/013603 및 WO 2012/174001; Constantin, Gabriela, 2004, Drug News Perspect., 17(9): 579-585, Chen et al. Blood. 2004;104(10):3233-42, Huang et al, Eur J Immunol. 2005;35(7):2239-49; 그리고 U.S. 특허 번호 7,604,800 을 참조한다). 현존하는 효현성 PSGL-1 항체 중에서 일부는 후기 단계 활성화된 T 세포의 아포토시스를 우선적으로 유도하지만 다른 PSGL-1-발현 세포에서는 그렇지 않다; 이런 항체는 이런 이유로, 항염증성 치료제로서, 또는 이식 및/또는 수혈에서 이용에 유용할 수 있다. 하지만, 현존하는 항체보다 더욱 큰 생체내 효력을 갖는 향상된 항-PSGL-1 항체가 요구된다.

[0011] 본원에서 인용된 모든 간행물, 특허 및 특허 출원은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0012] 짧은 요약

[0013] 이러한 요구에 부합하기 위해, 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체뿐만 아니라 거기에 관련된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포, 방법, 제약학적 조성물, 키트 및 용도가 본원에서 제공된다. 본 발명은 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체가 전통적인 (가령, 이가) 항-PSGL-1 항체보다 더욱 큰 효능 및 효력을 갖는다는 것을 증명한다. 따라서, 이들 사가 항체는 그 중에서도 특히, T-세포 기능에 관련된, 예를 들면, T-세포 매개된 염증성 질환의 치료, 수혈 및/또는 이식에서 진단 및/또는 치료 방법, 용도 및 조성물에서 용도를 발견할 수 있다.

[0014] 따라서, 한 양상에서, 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체가 본원에서 제공되고, 상기 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 여기서 상기 이합체의 각 단위체는 다음을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드를 포함하고: (a) 2개의 경쇄 가변 (VL) 도메인, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; (b) 2개의 중쇄 가변 (VH) 도메인, 여기서 2개의 VH 도메인 각각은 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고; 그리고 (c) 항체 Fc 도메인, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 2개의 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 여기서 2개의 VH-VL 결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적이다. 일부 구체예에서, 2개의 VH 도메인 중에서 최소한 하나는 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3. 일부 구체예에서, 2개의 VH 도메인 각각은 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3. 일부 구체예에서, 2개의 VH 도메인 중에서 어느 하나 또는 둘 모두 서열 번호:23의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:23에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 VH 도메인 중에서 어느 하나 또는 둘 모두 서열 번호:29의 아

미노산 서열, 또는 서열 번호:29에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 VL 도메인 중에서 최소한 하나는 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3. 일부 구체예에서, 2개의 VL 도메인 각각은 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3. 일부 구체예에서, 2개의 VL 도메인 중에서 어느 하나 또는 둘 모두 서열 번호:24의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:24에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 VL 도메인 중에서 어느 하나 또는 둘 모두 서열 번호:30의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:30에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 2개의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 2개의 VH 도메인의 첫 번째 VH 도메인; (d) 두 번째 링커 서열; (e) 2개의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인; (f) 세 번째 링커 서열; (g) 2개의 VH 도메인의 두 번째 VH 도메인; (h) 네 번째 링커 서열; 및 (i) 항체 Fc 도메인. 일부 구체예에서, 첫 번째, 두 번째와 세 번째 링커 서열은 각각, 서열 번호:25의 아미노산 서열의 2개 또는 그 이상의 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 세 번째 링커 서열은 동일한 서열을 갖고 서열 번호:25의 2개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 네 번째 링커 서열은 서열 번호:26의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 서열 번호:1의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:1에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 서열 번호:2의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 2개의 VH 도메인의 첫 번째 VH 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 2개의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (d) 두 번째 링커 서열; (e) 2개의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인; (f) 세 번째 링커 서열; (g) 2개의 VH 도메인의 두 번째 VH 도메인; (h) 네 번째 링커 서열; 및 (i) 항체 Fc 도메인. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 2개의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 2개의 VH 도메인의 첫 번째 VH 도메인; (d) 두 번째 링커 서열; (e) 2개의 VH 도메인의 두 번째 VH 도메인; (f) 세 번째 링커 서열; (g) 2개의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인; (h) 네 번째 링커 서열; 및 (i) 항체 Fc 도메인. 일부 구체예에서, 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 아미노산 서열의 2개 또는 그 이상의 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 링커 서열은 서열 번호:33, 34, 35 또는 36의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 세 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함하는 동일한 서열을 갖는다. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:27의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 네 번째 링커 서열은 서열 번호:26의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 서열 번호:3의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:3에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 서열 번호:4의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 서열 번호:5의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 서열 번호:6의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다.

[0015]

다른 양상에서, 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체가 본원에서 제공되고, 상기 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 여기서 상기 이합체의 각 단위체는 항체 중쇄 및 항체 경쇄를 포함하고; 여기서 상기 항체 경쇄는 다음을 포함하고: (i) 2개의 경쇄 가변 (VL) 도메인, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, (ii) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인 및 (iii) 경쇄 불변 (CL) 도메인; 여기서 상기 항체 중쇄는 다음을 포함하고: (i) 두 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인 및 (ii) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역; 여기서 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 첫 번째와 두 번째 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 여기서 2개의 VH-VL 결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적이다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인 중에서 최소한 하나는 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각, 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) 서열 번호:19의

아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 VH 도메인은 서열 번호:23의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:23에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 VH 도메인은 서열 번호:29의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:29에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VL 도메인 중에서 최소한 하나는 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각, 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 VL 도메인은 서열 번호:24의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:24에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 VL 도메인은 서열 번호:30의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:30에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 첫 번째 VH 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 2개 또는 그 이상의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (d) 두 번째 링커 서열; (e) 2개 또는 그 이상의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인; 및 (f) CL 도메인. 일부 구체예에서, CL 도메인은 카파 CL 도메인이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:28의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 서열 번호:7의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:7에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 서열 번호:8의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 2개의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (b) CL 도메인; (c) 첫 번째 링커 서열; (d) 첫 번째 VH 도메인; (e) 두 번째 링커 서열; 및 (f) 2개의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인. 일부 구체예에서, CL 도메인은 카파 CL 도메인이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 2개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 서열 번호:9의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 서열 번호:10의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, 항체 중쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 두 번째 VH 도메인; 및 (b) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역. 일부 구체예에서, 항체 중쇄는 서열 번호:11의 아미노산 서열, 또는 서열 번호:11에 최소한 90%, 최소한 95%, 또는 최소한 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 중쇄는 서열 번호:12의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다.

[0016]

다른 양상에서, 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체가 본원에서 제공되고, 상기 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 여기서 상기 이합체의 각 단위체는 항체 중쇄 및 항체 경쇄를 포함하고; 여기서 항체 경쇄는 다음을 포함하고: (i) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인, (ii) 첫 번째 경쇄 가변 (VL) 도메인 및 (iii) 경쇄 불변 (CL) 도메인; 여기서 항체 중쇄는 다음을 포함하고: (i) 두 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인, (ii) 두 번째 경쇄 가변 (VL) 도메인 및 (iii) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 도메인; 여기서 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; 여기서 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고; 여기서 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고; 그리고 여기서 2개의 VH-VL 결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적이다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인 중에서 최소한 하나는 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각, 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 VH 도메인은 서열 번호:23의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 VH 도메인은 서열 번호:29의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VL 도메인 중에서 최소한 하나는 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:20의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각, 다음을 포함한다: (i) 서열 번호:20의 아미노



산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) 서열 번호:21의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) 서열 번호:22의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 VL 도메인은 서열 번호:24의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 및/또는 두 번째 VL 도메인은 서열 번호:30의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 첫 번째 VH 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 첫 번째 VL 도메인; 및 (d) CL 도메인. 일부 구체예에서, CL 도메인은 카파 CL 도메인이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 서열 번호:13의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 서열 번호:14의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다. 일부 구체예에서, 항체 중쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 두 번째 VH 도메인; (b) 두 번째 링커 서열; (c) 두 번째 VL 도메인; 및 (d) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 중쇄는 서열 번호:15의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 중쇄는 서열 번호:16의 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된다.

[0017] 상기 구체예 중에서 한 가지의 일부 구체예에서, 항체 Fc 도메인은 인간 항체 Fc 도메인이다. 일부 구체예에서, 항체 Fc 도메인은 인간 IgG4 Fc 도메인이다. 일부 구체예에서, 인간 IgG4 Fc 도메인은 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 결여하는 IgG4 힌지 영역과 비교하여 감소된 IgG4 뒤섞임을 유발하는 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하는 힌지 영역 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 인간 IgG4 Fc 도메인은 EU 지수에 따라 넘버링된 아미노산 228에서 세린에서 프롤린으로의 치환을 포함하는 힌지 영역 서열을 포함한다. 상기 구체예 중에서 한 가지의 일부 구체예에서, 항체 힌지 영역은 EU 지수에 따라 넘버링된 아미노산 228에서 세린에서 프롤린으로의 치환을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 사가 항체와 공통으로 하나 또는 그 이상의 VH 또는 VL 도메인을 갖는 전통적인 (가령, 이가) 항체와 비교하여, 표적 세포 (가령, 인간 PSGL-1 또는 이의 에피토프를 발현하는 세포)에서 아포토시스의 증강된 유도를 전시한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 사가 항체와 공통으로 하나 또는 그 이상의 VH 또는 VL 도메인을 갖는 전통적인 (가령, 이가) 항체와 비교하여 DTH의 증강된 저해를 전시한다 (가령, 트랜스 비보 동물 모형에서).

[0018] 다른 양상에서, 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체를 인코딩하는 단리된 폴리뉴클레오티드가 본원에서 제공된다. 일부 구체예에서, 단리된 폴리뉴클레오티드는 서열 번호:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 및 16으로 구성된 군에서 선택되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 다른 양상에서, 상기 구체예 중에서 한 가지의 단리된 폴리뉴클레오티드를 포함하는 벡터가 본원에서 제공된다. 다른 양상에서, 상기 구체예 중에서 한 가지의 폴리뉴클레오티드 및/또는 상기 구체예 중에서 한 가지의 벡터를 포함하는 숙주 세포가 본원에서 제공된다. 다른 양상에서, 사가 항체가 생산되도록 상기 구체예 중에서 한 가지의 숙주 세포를 배양하는 것을 포함하는, 사가 항체를 생산하는 방법이 본원에서 제공된다. 일부 구체예에서, 상기 방법은 숙주 세포로부터 사가 항체를 회수하는 것을 더욱 포함한다.

[0019] 다른 양상에서, 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체 및 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 제약학적 조성물이 본원에서 제공된다. 다른 양상에서, 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체 및 임의선택적 제약학적으로 허용되는 담체를 포함하는 키트가 본원에서 제공된다. 일부 구체예에서, 키트는 T-세포 매개된 염증성 질환 또는 장애를 치료하기 위한 사가 항체의 투여를 위한 사용설명서를 포함하는 포장 삽입물을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 키트는 수혈 또는 이식 이전에, 이것과 동시에 및/또는 이것 이후에 사가 항체의 투여를 위한 사용설명서를 포함하는 포장 삽입물을 더욱 포함한다. 다른 양상에서, T-세포 매개된 염증성 질환 또는 장애를 치료하는데 이용하기 위한 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체가 본원에서 제공된다. 다른 양상에서, 수혈 또는 이식이 필요한 개체를 치료하는데 이용하기 위한 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체가 본원에서 제공된다. 다른 양상에서, T-세포 매개된 염증성 질환 또는 장애를 치료하기 위한 약제의 제조에서 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체의 용도가 본원에서 제공된다. 다른 양상에서, 수혈 또는 이식이 필요한 개체를 치료하기 위한 약제의 제조에서 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체의 용도가 본원에서 제공된다. 다른 양상에서, T-세포 매개된 염증성 질환 또는 장애를 치료하는 방법이 본원에서 제공되고, 상기 방법은 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체의 치료 효과량을 치료에 필요한 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 다른 양상에서, 수혈 또는 이식이 필요한 개체를 치료하기 위한 방법이 본원에서 제공되고, 상기 방법은 수혈 또는 이식 이전에, 이것과 동시에 및/또는 이것 이후에 상기 구체예 중에서 한 가지의 사가 항체의 치료 효과량을 개체에게 투여하는 것을 포함한다. 일부 구체예에서, T-세포 매개된 염증성 질환은 자가면역 질환이다. 일부 구체예에서, T-세포 매개된 염증성 질환은 건선, 건선성 관절염, 류마티스성 관절염, 크론병, 강직성 척추염, I형 당뇨병, 궤양성 대장염, 다발성 경화증 및 이식편 대 숙주 질환 (GVHD)으로 구성된 군에서 선택된다. 일부 구체예에

서, 건선은 판상 건선, 만성 판상 건선, 방울 건선, 역위 건선, 농포성 건선, 또는 홍색피부성 건선이다. 일부 구체예에서, 이식은 골수, 신장, 심장, 간, 뉴런 조직, 폐, 췌장, 피부 및 장으로 구성된 군에서 선택되는 조직의 이식이다. 일부 구체예에서, 수혈은 백혈구, 적혈구 및 혈소판 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하는 수혈이다.

[0020] 본원에서 설명된 다양한 구체예의 성질 중에서 한 가지, 일부 또는 전부가 합동되어 본 발명의 다른 구체예를 형성할 수 있는 것으로 이해된다. 본 발명의 이런 저런 양상은 당업자에게 명백해질 것이다.

## 도면의 간단한 설명

[0021] 도면의 간단한 설명

**도면 1a & 1b**는 일부 구체예에 따른 예시적인 사가 항체를 도해하는 계통도를 제공한다. **도면 1a**는 다음의 예시적인 형식을 도해한다: (1) 링커 서열: (GGGS)<sub>5</sub> (서열 번호:33), GGGGSAAA (서열 번호:26) 및 (GGGS)<sub>2</sub> (서열 번호:34)/(GGGS)<sub>2</sub>G (서열 번호:35)/(GGGS)<sub>2</sub>GG (서열 번호:36)을 보여주는, Fc 도메인에 융합된 2개의 단일 사슬 디아바티로 구성된 이합체 (scDb<sub>2</sub>-Fc); (2) 양쪽 형식에 대한 동일한 링커 서열: (GGGS)<sub>5</sub> (서열 번호:33), ASTGS (서열 번호:27), GGGGSAAA (서열 번호:26)을 보여주는, 2개의 탠덤 단일 사슬 가변 단편 단위의 이합체 (taFv<sub>2</sub>-Fc)를 각각 갖는 2가지 상이한 형식; 그리고 (3) scFv<sub>2</sub>-LC-IgG4p 링커 서열 (GGGS)<sub>5</sub> (서열 번호:33) 및 ASTGSG<sub>4</sub>S (서열 번호:28), LC-scFv<sub>2</sub>-IgG4p 링커 서열 (GGGS)<sub>2</sub> (서열 번호:34) 및 (GGGS)<sub>5</sub> (서열 번호:33), scFv<sub>4</sub>-cr1G4p 링커 서열 (GGGS)<sub>5</sub> (서열 번호:33)을 보여주는, 단일 사슬 가변 단편 (scFv-IgG)에 근거된 3가지 상이한 형식. **도면 1b**는 3가지 scFv-기초된 형식의 다른 예시를 제공하는데, 가변 단편이 음영되고 V2 scFvs가 표시된다.

**도면 2a-2c**는 SDS-PAGE, 그 이후에 쿠마시 블루 염색에 의한, 예시적인 사가 항체의 분자량 및 기본 구조의 실증을 보여준다. 비환원 (**도면 2a & 2b**) 및 환원 (**도면 2c**) 조건이 도시된다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0022] 상세한 설명

[0023] 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체가 본원에서 제공된다. 본 발명은 최소한 부분적으로, 일정한 사가 항-PSGL-1 항체가 시험관내 및 트랜스 비보 둘 모두에서 부모 항-PSGL-1 항체와 비교하여 증강된 효력을 보여준다는 본원에서 설명된 발견에 근거된다. 이들 사가 항체는 부모 항-PSGL-1 항체보다 아토포시스 유도에 대한 더욱 높은 효능 및 트랜스 비보 모형에서 지연형 과민증 (DTH)에서 증강된 효력을 전시하였다. 사가 항체에 관련된 단리된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포, 제약학적 조성물, 키트, 용도 및 방법이 본원에서 더욱 제공된다. 가령, 본 발명의 사가 항체는 T-세포 매개된 염증성 질환의 치료, 또는 수혈 또는 이식 이전에, 이것과 동시에 및/또는 이것 이후에 투여에서 용도를 발견할 수 있다.

[0024] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 여기서 상기 이합체의 각 단위체는 다음을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드를 포함하고: (a) 2개의 경쇄 가변 (VL) 도메인, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; (b) 2개의 중쇄 가변 (VH) 도메인, 여기서 2개의 VH 도메인 각각은 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고; 그리고 (c) 항체 Fc 도메인, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 2개의 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 여기서 2개의 VH-VL 결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적이다. 다른 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 여기서 상기 이합체의 각 단위체는 항체 중쇄 및 항체 경쇄를 포함하고; 여기서 상기 항체 경쇄는 다음을 포함하고: (i) 2개의 경쇄 가변 (VL) 도메인, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, (ii) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인 및 (iii) 경쇄 불변 (CL) 도메인; 여기서 상기 항체 중쇄는 다음을 포함하고: (i) 두 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인 및 (ii) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역; 여기서 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 첫 번째와 두 번째 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 여기서 2개의 VH-VL 결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적이다. 다른 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 여기서 상기 이합체의 각 단위체는 항체 중쇄 및 항체 경쇄를 포함하고; 여기서 항체 경쇄는 다음을 포함하고: (i) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인, (ii) 첫 번째 경쇄 가변 (VL) 도메인 및 (iii) 경쇄 불변 (CL)

도메인; 여기서 항체 중쇄는 다음을 포함하고: (i) 두 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인, (ii) 두 번째 경쇄 가변 (VL) 도메인 및 (iii) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역; 여기서 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고; 여기서 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고; 여기서 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고; 그리고 여기서 2개의 VH-VL 결합 단위 각각은 인간 PSGL-1에 특이적이다.

[0025] **I. 정의**

[0026] "항체"는 면역글로불린 분자의 가변 영역에서 위치된 최소한 하나의 항원 인식 부위를 통해, 표적, 예를 들면, 탄수화물, 폴리뉴클레오타이드, 지질, 폴리펩티드 등에 특이적으로 결합할 수 있는 면역글로불린 분자이다. 본원에서 이용된 바와 같이, 상기 용어는 무손상 다중클론 또는 단일클론 항체뿐만 아니라, 이들의 단편 (가령, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fv)을 포함하는 폴리펩티드; 단일 사슬 가변 단편 (scFv), 단일 사슬 디아마디 (scDbs), 탠덤 단일 사슬 가변 단편 (scFv) 단위 (탠덤 scFv의 경우에 taFv로 명명됨), 그리고 이들의 돌연변이체 또는 다른 형상; 항체 부분을 포함하는 융합 단백질; 그리고 항원 인식 부위를 포함하는 면역글로불린 분자의 임의의 다른 변형된 형상을 포괄한다.

[0027] 본원에서 이용된 바와 같이, "사가" 항체는 4개의 항체 VH-VL 결합 단위를 포함하는 항체를 지칭할 수 있는데, 여기서 각 VH-VL 결합 단위는 항체 VH 도메인 및 항체 VL 도메인을 포함한다. 본원에서 이용된 바와 같이, 사가 항체의 "단위체"에 대한 언급은 단일 사슬 폴리펩티드 및 복수 사슬 폴리펩티드 둘 모두를 포함할 수 있다. 가령, 단위체는 단일 사슬 폴리펩티드를 지칭할 수 있거나, 또는 이것은 항체 중쇄-경쇄 단위를 지칭할 수 있는데, 여기서 중쇄와 경쇄는 별개의 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되고 및/또는 별개의 폴리펩티드의 연관으로부터 형성된다.

[0028] 항체는 임의의 부류의 항체, 예를 들면, IgG, IgA, 또는 IgM (또는 이들의 하위부류)를 포함하고, 그리고 항체는 임의의 특정 부류일 필요가 없다. 중쇄의 불변 도메인의 항체 아미노산 서열에 따라, 면역글로불린은 상이한 부류에 배정될 수 있다. 면역글로불린의 5가지 주요 부류: IgA, IgD, IgE, IgG 및 IgM이 있고, 그리고 이들 중에서 몇몇은 하위부류 (아이소타입), 예를 들면, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 및 IgA2로 더욱 세분될 수 있다. 상이한 부류의 면역글로불린에 상응하는 중쇄 불변 도메인은 각각, 알파, 델타, 엡실론, 감마 및 뮤로 불린다. 면역글로불린의 상이한 부류의 이들 아단위 구조 및 3차원 형상은 널리 알려져 있다.

[0029] 본 발명의 항체는 항체의 최소한 하나의 CDR 영역에 의해 부여된 폴리펩티드에 대한 친화성을 갖는 이중특이적, 다중특이적, 키메라, 인간화 및 재조합적으로 작제된 분자를 포함하도록 더욱 의도된다. 항체 중쇄의 가변 도메인 또는 항체 경쇄의 가변 도메인인 단일 도메인 항체는 당해 분야에서 공지된다. 가령, Holt *et al.*, *Trends Biotechnol.* 21:484-490, 2003을 참조한다. 항체로부터 6개의 자연발생 상보성 결정 영역 중에서 3개를 내포하는, 항체 중쇄의 가변 도메인 또는 항체 경쇄의 가변 도메인을 포함하는 항체를 만드는 방법 또한 당해 분야에서 알려져 있다. 가령, Muyldermans, *Rev. Mol. Biotechnol.* 74:277-302, 2001을 참조한다.

[0030] 본원에서 이용된 바와 같이, "단일클론 항체"는 실제로 균질한 항체의 항체를 지칭한다, 다시 말하면, 개체군을 구성하는 개별 항체는 소량으로 존재할 수 있는 가능한 자연발생 돌연변이를 제외하고 동일하다. 단일클론 항체는 일반적으로, 고도로 특이적이고 단일 항원성 부위에 대해 지향된다. 게다가, 상이한 결정인자 (에피토프)에 대해 지향된 상이한 항체를 전형적으로 포함하는 다중클론 항체 제조물과 대조적으로, 각 단일클론 항체는 항원 상에서 단일 결정인자에 대해 지향된다. 수식어 "단일클론"은 항체의 실제로 균질한 개체군으로부터 획득되는 것으로서 항체의 특징을 지시하고, 그리고 임의의 특정 방법에 의한 항체의 생산을 필요로 하는 것으로 해석되지 않는다. 가령, 본 발명에 따라서 이용되는 단일클론 항체는 Kohler and Milstein, 1975, *Nature*, 256:495에 의해 최초 설명된 하이브리도마 방법을 이용하여 만들어질 수 있거나, 또는 예로서, U.S. 특허 번호 4,816,567에서 기술된 재조합 DNA 방법에 의해 만들어질 수 있다. 단일클론 항체는 또한, 예로서 McCafferty *et al.*, 1990, *Nature*, 348:552-554에서 설명된 기술을 이용하여 산출된 항체 파지 라이브러리로부터 단리될 수 있다.

[0031] 본원에서 이용된 바와 같이, "키메라 항체"는 첫 번째 종으로부터 가변 영역 또는 가변 영역의 일부 및 두 번째 종으로부터 불변 영역을 갖는 항체를 지칭한다. 무손상 키메라 항체는 키메라 경쇄의 2개 사본 및 키메라 중쇄의 2개 사본을 포함한다. 키메라 항체의 생산은 당해 분야에서 공지된다 (Cabilly *et al.* (1984), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:3273-3277; Harlow and Lane (1988), *Antibodies: a Laboratory Manual*, Cold Spring



Harbor Laboratory). 전형적으로, 이들 키메라 항체에서, 경쇄와 중쇄 둘 모두의 가변 영역은 포유동물의 한 가지 종으로부터 유래된 항체의 가변 영역을 모방하고, 반면 불변 부분은 다른 종으로부터 유래된 항체에서 서열에 상동하다. 이런 키메라 형태의 한 가지 명백한 이점은 예로서, 가변 영역이 예로서, 인간 세포 제조물로부터 유래된 불변 영역과 합동으로, 쉽게 가용한 하이브리도마 또는 비인간 숙주 생명체로부터 B-세포를 이용하여 현재 공지된 공급원으로부터 편의하게 유래될 수 있다는 점이다. 가변 영역은 제조의 용이함의 이점을 갖고 특이성이 이의 공급원에 의해 영향을 받지 않는 반면, 항체가 주사될 때 인간인 불변 영역은 비인간 공급원으로부터 불변 영역보다 인간 개체로부터 면역 반응을 이끌어낼 개연성이 덜하다. 하지만, 상기 정의는 이러한 특정 실례에 한정되지 않는다. 일부 구체예에서, 아미노산 변형이 가변 및/또는 불변 영역에서 만들어진다.

[0032] 본원에서 이용된 바와 같이, "인간화" 항체는 비인간 면역글로불린으로부터 유래된 최소 서열을 내포하는 특정한 키메라 면역글로불린, 면역글로불린 사슬, 또는 이들의 단편 (가령, Fv, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, 또는 항체의 다른 항원 결합 하위서열)인 비인간 (가령, 뮤린) 항체의 형태를 지칭한다. 대부분의 경우에, 인간화 항체는 수용자의 상보성 결정 영역 (CDR)으로부터 잔기가 원하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는, 비인간 중 (공여자 항체), 예를 들면, 생쥐, 쥐, 또는 토끼의 CDR로부터 잔기에 의해 대체되는 인간 면역글로불린 (수용자 항체)이다. 일부 경우에, 인간 면역글로불린의 Fv 프레임워크 영역 (FR) 잔기가 상응하는 비인간 잔기에 의해 대체된다. 게다가, 인간화 항체는 수용자 항체에서뿐만 아니라 이입된 CDR 또는 프레임워크 서열에서 발견되지 않지만, 항체 성과를 더욱 정밀화하고 최적화하기 위해 포함되는 잔기를 포함할 수 있다. 일반적으로, 인간화 항체는 최소한 하나, 그리고 전형적으로 2개의 가변 도메인을 실제적으로 모두 포함할 것이고, 여기서 CDR 영역의 전부 또는 실제적으로 전부가 비인간 면역글로불린의 것들에 상응하고, 그리고 FR 영역의 전부 또는 실제적으로 전부가 인간 면역글로불린 공통 서열의 것들이다. 인간화 항체는 최적으로 또한, 전형적으로 인간 면역글로불린의 면역글로불린 불변 영역 또는 도메인 (가령, Fc 도메인)의 최소한 일부를 포함할 것이다. 항체는 WO 99/58572에서 설명된 바와 같이 변형된 Fc 영역을 가질 수 있다. 인간화 항체의 다른 형태는 본래 항체에 대하여 변형되는 하나 또는 그 이상의 CDRs (1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개)을 갖는데, 이들은 또한, 본래 항체로부터 하나 또는 그 이상의 CDRs"로부터 유래된" 하나 또는 그 이상의 CDRs로 명명된다.

[0033] 본원에서 이용된 바와 같이, "인간 항체"는 인간에 의해 생산된 항체의 것에 상응하는 아미노산 서열을 소유하고 및/또는 당해 분야에서 공지되거나 또는 본원에서 개시된 인간 항체를 만들기 위한 기술 중에서 한 가지를 이용하여 만들어진 항체를 의미한다. 인간 항체의 이러한 정의는 최소한 하나의 인간 중쇄 폴리펩티드 또는 최소한 하나의 인간 경쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체를 포함한다. 이와 같은 한 가지 실례는 뮤린 경쇄 및 인간 중쇄 폴리펩티드를 포함하는 항체이다. 인간 항체는 당해 분야에서 공지된 다양한 기술을 이용하여 생산될 수 있다. 한 구체예에서, 인간 항체는 파지 라이브러리에서 선택되고, 여기서 상기 파지 라이브러리는 인간 항체를 발현한다 (Vaughan *et al.*, 1996, Nature Biotechnology, 14:309-314; Sheets *et al.*, 1998, PNAS, (USA) 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol., 227:381; Marks *et al.*, 1991, J. Mol. Biol., 222:581). 인간 항체는 또한, 인간 면역글로불린 좌위를 유전자도입 동물, 예를 들면, 내인성 면역글로불린 유전자가 부분적으로 또는 완전하게 비활성화된 생쥐 내로 도입함으로써 만들어질 수 있다. 이러한 접근법은 U.S. 특허 번호 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 및 5,661,016에서 설명된다. 대안으로, 인간 항체는 표적 항원을 향해 지향된 항체를 생산하는 인간 B-림프구를 영속화함으로써 제조될 수 있다 (이런 B-림프구는 개체로부터 회수될 수 있거나 또는 시험관내에서 면역화되었을 수 있다). 가령, Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985); Boerner *et al.*, 1991, J. Immunol., 147 (1):86-95; 및 U.S. 특허 번호 5,750,373을 참조한다.

[0034] 항체의 "가변 영역" (용어 "가변 도메인"이 본원에서 교체가가능하게 이용될 수 있다)은 단독으로 또는 합동으로, 항체 경쇄의 가변 영역 (VL) 또는 항체 중쇄의 가변 영역 (VH)을 지칭한다. 중쇄와 경쇄의 가변 영역 (각각, VH 및 VL 도메인)은 각각, 초가변 영역으로서 또한 알려져 있는 3개의 상보성 결정 영역 (CDRs)에 의해 연결된 4개의 프레임워크 영역 (FR)으로 구성된다. 각 사슬에서 이들 CDR은 FR에 의해 매우 근접하여 결합되고, 그리고 다른 사슬로부터 CDR과 함께, 항체의 항원 결합 부위의 형성에 기여한다. CDR을 결정하기 위한 최소한 2가지 기술이 있다: (1) 중간 서열 가변성에 기초된 접근법 (즉, Kabat *et al.* Sequences of Proteins of Immunological Interest, (5th ed., 1991, National Institutes of Health, Bethesda MD)); 그리고 (2) 항원 항체 복합체의 결정학적 연구에 기초된 접근법 (Al-lazikani *et al.* (1997) J. Molec. Biol. 273:927-948)). 본원에서 이용된 바와 같이, CDR은 어느 한쪽 접근법에 의해 또는 양쪽 접근법의 조합에 의해 규정된 CDRs를 지칭할 수 있다.

[0035] 다수의 HVR 묘사가 본원에서 이용되고 포괄된다. Kabat 상보성 결정 영역 (CDRs)은 서열 가변성에 근거되고, 그리고 가장 흔히 이용되는 것이다 (Kabat *et al.*, Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed.



Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). Chothia는 그 대신에, 구조적 루프의 위치를 지칭한다 (Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196:901-917 (1987)). AbM HVRs는 Kabat HVRs 및 Chothia 구조적 루프 사이에 타협을 나타내고, 그리고 Oxford Molecular의 AbM 항체 모형화 소프트웨어에 의해 이용된다. "접촉" HVRs는 가용한 복합 결정 구조의 분석에 근거된다. 이들 HVRs 각각으로부터 잔기는 아래에서 제시된다.

- [0036] 루프 Kabat AbM Chothia 접촉
- [0037] L1 L24-L34 L24-L34 L26-L32 L30-L36
- [0038] L2 L50-L56 L50-L56 L50-L52 L46-L55
- [0039] L3 L89-L97 L89-L97 L91-L96 L89-L96
- [0040] H1 H31-H35B H26-H35B H26-H32 H30-H35B (Kabat 넘버링)
- [0041] H1 H31-H35 H26-H35 H26-H32 H30-H35 (Chothia 넘버링)
- [0042] H2 H50-H65 H50-H58 H53-H55 H47-H58
- [0043] H3 H95-H102 H95-H102 H96-H101 H93-H101
- [0044] 가변 도메인 내에 잔기 (대략, 경쇄의 잔기 1-107 및 중쇄의 잔기 1-113)를 지칭할 때, Kabat 넘버링 시스템이 일반적으로 이용된다 (가령, Kabat *et al.*, *Sequences of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)). "EU 넘버링 시스템" 또는 "EU 지수"는 일반적으로, 면역글로불린 중쇄 불변 영역에서 잔기를 지칭할 때 이용된다 (가령, Kabat *et al.*, *위와 같음*, 또는 및 Edelman, G.M. *et al.* (1969) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 63:78-85에서 보고된 EU 지수).
- [0045] 본원에서 이용된 바와 같이, "Fv"는 완전 항원-인식 및 -결합 부위를 내포하는 최소 항체 단편을 지칭할 수 있다. 이러한 단편은 전형적으로, 단단한, 비공유 연관에서 하나의 중쇄와 하나의 경쇄 가변 영역 도메인의 이합체로 구성된다. 이들 두 도메인의 접힘으로부터, 항원 결합을 위한 아미노산 잔기에 기여하고 항원 결합 특이성을 항체에 부여하는 6개의 초가변 루프 (H와 L 사슬 각각으로부터 3개의 루프)가 발산된다. 하지만, 심지어 단일 가변 도메인 (또는 항원에 특정한 단지 3개의 HVRs만을 포함하는 Fv의 절반)도 비록 전체 결합 부위보다 친화성이 낮긴 하지만, 항원을 인식하고 이에 결합하는 능력을 갖는다.
- [0046] 항체의 "불변 영역" (용어 "불변 도메인"이 본원에서 교체가가능하게 이용될 수 있다)은 단독으로 또는 합동으로, 항체 경쇄의 불변 영역 (CL) 또는 항체 중쇄의 불변 영역 (CH)을 지칭한다. 항체의 불변 영역은 일반적으로, 구조적 안정성 및 다른 생물학적 기능, 예를 들면, 항체 사슬 연관, 분비, 경쇄반 이동성 및 보체 결합을 제공하지만, 항원에 결합과는 관련되지 않는다. 불변 영역의 유전자에서 아미노산 서열 및 상응하는 엑손 서열은 이것이 유래되는 종에 의존한다; 하지만, 동종이형을 야기하는 아미노산 서열에서 변이는 종 내에 특정 불변 영역에 상대적으로 한정된다. 각 사슬의 가변 영역은 연결 폴리펩티드 서열에 의해 불변 영역에 연결된다. 연쇄 서열은 경쇄 유전자 내에 "J" 서열, 그리고 중쇄 유전자 내에 "D" 서열 및 "J" 서열의 조합에 의해 코딩된다. 항체 아이소타입에 따라, 중쇄 불변 영역은 CH1 도메인, 힌지 영역, CH2 도메인, CH3 도메인 및/또는 CH4 도메인을 포함할 수 있다. 일정한 구체예에서, 중쇄 불변 영역은 CH1 도메인, 힌지 영역, CH2 도메인 및 CH3 도메인을 포함한다.
- [0047] 용어 "Fc 영역" (용어 "Fc 도메인"이 본원에서 교체가가능하게 이용될 수 있다)은 선천적-서열 Fc 영역 및 변이체 Fc 영역을 비롯하여, 면역글로불린 중쇄의 C 말단 영역을 규정하는데 이용된다. 면역글로불린 중쇄의 Fc 영역의 경계는 변할지도 모른다; 일부 구체예에서, Fc 영역은 힌지 영역의 하나 또는 그 이상의 아미노산을 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 인간 IgG 중쇄 Fc 영역은 EU 위치 216에서 아미노산 잔기로부터 이들의 카르복실 말단까지 이르는 것으로 규정된다. 본 발명의 항체에서 이용을 위한 적합한 선천적-서열 Fc 영역은 인간 IgG1, IgG2 (IgG2A, IgG2B), IgG3 및 IgG4를 포함한다.
- [0048] 또한 "sFv" 또는 "scFv"로서 약칭되는 "단일 사슬 Fv"는 단일 폴리펩티드 사슬 내로 연결된 V<sub>H</sub>와 V<sub>L</sub> 항체 도메인을 포함하는 항체 단편이다. 바람직하게는, sFv 폴리펩티드는 V<sub>H</sub>와 V<sub>L</sub> 도메인 사이에 폴리펩티드 링커를 더욱 포함하는데, 이것은 sFv가 항원 결합을 위한 원하는 구조를 형성할 수 있게 한다. sFv의 리뷰를 위해, Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)를 참조한다.

- [0049] 용어 "디아바디"는 V 도메인의 사슬내가 아닌 사슬간 대합이 달성되어 이가 단편, 다시 말하면, 2개의 항원 결합 부위를 갖는 단편이 산출되도록,  $V_H$ 와  $V_L$  도메인 사이에 짧은 링커 (가령, 약 5-12개 잔기)로 sFv 단편 (선행하는 단락 참조)을 작제함으로써 제조된 항체 단편을 지칭한다. 이중특이적 디아바디는 2개의 "교배" sFv 단편의 이형이합체인데, 여기서 이들 두 항체의  $V_H$ 와  $V_L$  도메인은 상이한 폴리펩티드 사슬 상에 존재한다. 디아바디는 예로서, EP 404,097; WO 93/11161; Hollinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**: 6444-6448 (1993)에서 더욱 상세하게 설명된다.
- [0050] 참고 폴리펩티드 서열에 대하여 "퍼센트 (%) 아미노산 서열 동일성"은 최고 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 서열을 정렬하고 필요하면, 갭을 도입한 후에, 그리고 임의의 보존성 치환을 서열 동일성의 일부로서 고려하지 않고, 참고 폴리펩티드 서열 내에 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열 내에 아미노산 잔기의 백분율로서 규정된다. 퍼센트 아미노산 서열 동일성을 결정하는 목적을 위한 정렬은 당해 분야의 기술 범위 안에 있는 다양한 방식으로, 예를 들면, 공개적으로 가용한 컴퓨터 소프트웨어, 예를 들면, BLAST, BLAST-2, ALIGN 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어를 이용하여 달성될 수 있다. 당업자는 비교되는 서열의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 달성하기 위해 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여, 서열을 정렬하기 위한 적절한 파라미터를 결정할 수 있다.
- [0051] 본원에서 이용된 바와 같이, "항체 의존성 세포 매개된 세포독성" 및 "ADCC"는 Fc 수용체 (FcRs)를 발현하는 비특이적 세포독성 세포 (가령, 자연 킬러 (NK) 세포, 호중구, 또는 대식세포)가 표적 세포 상에서 결합된 항체를 인식하고 표적 세포의 용해를 차후에 유발하는 세포 매개 반응을 지칭한다. 관심되는 분자의 ADCC 활성은 시험관내 ADCC 검정, 예를 들면, U.S. 특허 번호 5,500,362 또는 5,821,337에서 설명된 것을 이용하여 사정될 수 있다. 이런 검정을 위한 유용한 작동체 세포는 말초혈 단핵 세포 (PBMC) 및 NK 세포를 포함한다. 대안으로, 또는 부가적으로, 관심되는 분자의 ADCC 활성은 생체내에서, 예를 들면, 동물 모형, 예를 들면, Clynes *et al.*, 1998, PNAS (USA), 95:652-656에서 개시된 것에서 사정될 수 있다.
- [0052] "보체 의존성 세포독성" 및 "CDC"는 보체의 존재에서 표적의 용해를 지칭한다. 보체 활성화 경로는 동계 항원과 복합화된 분자 (가령, 항체)에 보체계의 첫 번째 성분 (C1q)의 결합에 의해 시작된다. 보체 활성화를 사정하기 위해, 예로서 Gazzano-Santoro *et al.*, *J. Immunol. Methods*, 202:163 (1996)에서 설명된 바와 같은 CDC 검정이 수행될 수 있다.
- [0053] 용어 "폴리펩티드," "올리고펩티드," "펩티드" 및 "단백질"은 임의의 길이의 아미노산의 중합체를 지칭하기 위해 본원에서 교체가 가능하게 이용된다. 중합체는 선형이거나 또는 분지될 수 있고, 변형된 아미노산을 포함할 수 있고, 그리고 비-아미노산이 끼어들 수 있다. 이들 용어는 또한, 자연적으로 또는 개입에 의해; 예를 들면, 이황화 결합 형성, 글리코실화, 지질화, 아세틸화, 인산화, 또는 임의의 다른 조작 또는 변형, 예를 들면, 표지화 성분으로 접합에 의해 변형된 아미노산 중합체를 포괄한다. 또한, 상기 정의 내에는 예로서, 아미노산의 하나 또는 그 이상의 유사체 (예로서, 비자연적인 아미노산 등 포함)뿐만 아니라 당해 분야에서 공지된 다른 변형을 내포하는 폴리펩티드가 포함된다. 본 발명의 폴리펩티드가 사가 항체에 기초되기 때문에, 이들 폴리펩티드는 단일 사슬 또는 연관된 사슬로서 발생할 수 있는 것으로 이해된다.
- [0054] 본원에서 교체 가능하게 이용된 바와 같이, "폴리뉴클레오티드" 또는 "핵산"은 임의의 길이의 뉴클레오티드의 중합체를 지칭하고, 그리고 DNA 및/또는 RNA를 포함한다. 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 리보뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 염기 및/또는 이들의 유사체, 또는 DNA 또는 RNA 중합효소에 의해 중합체 내로 통합될 수 있는 임의의 기질일 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드, 예를 들면, 메틸화된 뉴클레오티드 및 이들의 유사체를 포함할 수 있다. 존재하면, 뉴클레오티드 구조에 변형은 중합체의 어셈블리 전 후에 부여될 수 있다. 뉴클레오티드의 서열은 비뉴클레오티드 성분이 끼어들 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 중합화 후, 예로서 표지화 성분과의 접합에 의해 더욱 변형될 수 있다. 다른 유형의 변형은 예로서, 유사체로 자연 발생 뉴클레오티드 중에서 하나 또는 그 이상의 "갭" 치환, 뉴클레오티드간 변형, 예를 들면, 예로서 하전되지 않은 연쇄 (가령, 메틸 포스포네이트, 포스포트리에스테르, 포스포아미데이트, 카바메이트 등) 및 하전된 연쇄 (가령, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트 등)로 변형, 펜던트 모이어티, 예를 들면, 예로서 단백질 (가령, 뉴클레아제, 독소, 항체, 신호 펩티드, pLys-L-리신 등)을 내포하는 변형, 삽입체 (가령, 아크리딘, 소랄렌 등)로 변형, 킬레이터 (가령, 금속, 방사성 금속, 붕소, 산화 금속 등)를 내포하는 변형, 알킬레이터를 내포하는 변형, 변형된 연쇄 (가령, 알파 아노머 핵산 등)로 변형뿐만 아니라 변형되지 않은 형태의 폴리뉴클레오티드(들)를 포함한다. 게다가, 당 내에 통상적으로 존재하는 임의의 히드록실 기는 예로서, 포스포네이트 기, 인산염 기에 의해 대체되거나, 표준 보호 기에 의해 보호되거나, 또는 추가 뉴클레오티드에 추가 연쇄를 준비하기 위해 활성화되거나, 또는 고체 지지체에 접합될 수 있다. 5' 및 3' 말단 OH는 인산화되거나, 또는 1 내지 20개

탄소 원자의 아민 또는 유기 캡핑 기 모이어티로 치환될 수 있다. 다른 히드록실은 또한, 표준 보호 기로 유도체화될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 또한, 예로서 2'-0-메틸-, 2'-0-알릴, 2'-플루오르- 또는 2'-아지도-리보오스, 탄소환상 당 유사체, α-아노머 당, 에피머성 당, 예를 들면, 아라비노오스, 자일로오스, 릭소오스, 피라노오스 당, 푸라노오스 당, 세도헥스로오스, 비환상 유사체 및 무염기 뉴클레오시드 유사체, 예를 들면, 메틸리보시드를 비롯하여, 당해 분야에서 전반적으로 공지되어 있는 리보오스 또는 데옥시리보오스 당의 유사한 형태를 내포할 수 있다. 하나 또는 그 이상의 포스포디에스테르 연쇄는 대안적 연결 기에 의해 대체될 수 있다. 이들 대안적 연결 기는 인산염이 P(O)S ("티오에이트"), P(S)S ("디티오에이트"), (O)NR<sub>2</sub> ("아미테이트"), P(O)R, P(O)OR, CO 또는 CH<sub>2</sub> ("포름아세탈")에 의해 대체되는 구체예를 포함하지만 이들에 한정되지 않고, 여기서 각 R 또는 R'은 독립적으로 H, 또는 에테르 (-O-) 연쇄, 알릴, 알케닐, 시클로알킬, 시클로알케닐 또는 아르알딜을 임의선택적으로 내포하는 치환되거나 치환되지 않은 알킬 (1-20 C)이다. 폴리뉴클레오티드 내에 모든 연쇄가 동일할 필요는 없다. 전술한 설명은 RNA 및 DNA를 비롯하여, 본원에서 지칭된 모든 폴리뉴클레오티드에 적용된다.

[0055] 본원에서 이용된 바와 같이, "백터"는 숙주 세포에서 관심되는 하나 또는 그 이상의 유전자(들) 또는 서열(들)을 전달하고 바람직하게는 발현할 수 있는 구조체를 의미한다. 백터의 실례는 바이러스 백터, 나신 DNA 또는 RNA 발현 백터, 플라스미드, 코스미드 또는 파지 백터, 양이온성 축합제와 연관된 DNA 또는 RNA 발현 백터, 리포솜 내에 피포된 DNA 또는 RNA 발현 백터, 그리고 일정한 진행 세포, 예를 들면, 생산자 세포를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0056] 본원에서 이용된 바와 같이, "발현 제어 서열"은 핵산의 전사를 주도하는 핵산 서열을 의미한다. 발현 제어 서열은 프로모터, 예를 들면, 구조성 또는 유도성 프로모터, 또는 인핸서일 수 있다. 발현 제어 서열은 전사되는 핵산 서열에 작동가능하게 연결된다.

[0057] 본원에서 이용된 바와 같이, 약물, 화합물 또는 제약학적 조성물의 "효과적인 용량" 또는 "치료 효과량"은 유익한, 원하는 및/또는 치료적 결과를 달성하는데 충분한 양이다. 예방적 용도의 경우에, 유익한 또는 원하는 결과는 위험을 제거하거나 또는 감소시키고, 심각도를 줄이고, 또는 질환의 생화학적, 조직학적 및/또는 행동 증상, 이의 합병증 및 상기 질환의 발달 동안 나타나는 중간 병리학적 표현형을 비롯하여 상기 질환의 개시를 지연시키는 것과 같은 결과를 포함한다. 치료적 용도의 경우에, 유익한 또는 원하는 결과는 질환으로부터 발생하는 하나 또는 그 이상의 증상을 감소시키고, 질환으로 고통받는 개체의 삶의 질을 증가시키고, 질환을 치료하는데 필요한 다른 약제의 용량을 감소시키고, 예로서 표적화를 통해 다른 약제의 효과를 증강하고, 질환의 진행을 지연시키고 및/또는 생존을 연장하는 것과 같은 임상적 결과를 포함한다. 가령, 이식을 기다리고 있는 개체를 치료하는 경우에, 효과량의 약물은 개체에서 동종항체 및/또는 PRA의 수준을 얼마간 감소시킬 수 있다. 이식 또는 수혈을 제공받는 개체를 치료하는 경우에, 효과량의 약물은 이식 또는 수혈과 연관된 증상 또는 이상 (가령, 이식편 거부반응) 중에서 하나 또는 그 이상에서 효과를 갖고 및/또는 이를 얼마간 완화할 수 있다. 효과량은 1회 또는 그 이상의 투여에서 투여될 수 있다. 본 발명을 위해, 약물, 화합물 또는 제약학적 조성물의 효과량은 예방적 또는 치료적 처치를 직접적으로 또는 간접적으로 달성하는데 충분한 양이다. 효과적인 용량은 1회 또는 그 이상의 투여에서 투여될 수 있다. 본 발명을 위해, 약물, 화합물 또는 제약학적 조성물의 효과량은 예방적 또는 치료적 처치를 직접적으로 또는 간접적으로 달성하는데 충분한 양이다. 임상적 맥락에서 이해되는 바와 같이, 약물, 화합물 또는 제약학적 조성물의 효과적인 용량은 다른 약물, 화합물 또는 제약학적 조성물과 함께 달성되거나 또는 달성되지 않을 수 있다. 따라서, "효과적인 용량"은 하나 또는 그 이상의 치료적 작용제를 투여하는 맥락에서 고려될 수 있고, 그리고 단일 작용제는 하나 또는 그 이상의 다른 작용제와 함께, 바람직한 결과가 달성될 수 있거나 또는 달성되면, 효과량으로 제공된 것으로 고려될 수 있다.

[0058] 본원에서 이용된 바와 같이, "함께"는 다른 치료 양상에 더하여 한 가지 치료 양상의 투여를 지칭한다. 따라서, "함께"는 개체에 다른 치료 양상의 투여 이전, 동안 또는 이후, 한 가지 치료 양상의 투여를 지칭한다.

[0059] 본원에서 이용된 바와 같이, "치료" 또는 "치료하는"은 바람직하게는 임상적 결과를 비롯하여, 유익한 또는 원하는 결과를 획득하기 위한 접근법이다. 유익한, 원하는 및/또는 치료적 임상적 결과는 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: 염증 또는 자가면역 (가령, T-세포 매개된 염증성 질환에 기인하는)의 하나 또는 그 이상의 증상을 감소시키거나 또는 제거하고, 성공적인 환자 결과의 가능성을 증가시키고 및/또는 의학적 치료에 관련된 (가령, 이식 또는 수혈에 관련된) 하나 또는 그 이상의 금기 또는 유해한 결과를 경감하고, 질환으로부터 발생하는 증상을 감소시키고, 질환으로 고통받는 개체의 삶의 질을 증가시키고, 질환을 치료하는데 필요한 다른 약제의 용량을 감소시키고, 질환의 진행을 지연시키고 및/또는 개체의 생존을 연장함.

- [0060] 본원에서 이용된 바와 같이, "질환의 발달을 지연시키는" 것은 상기 질환 (가령, 암)의 발달을 미루고, 방해하고, 늦추고, 지연시키고, 안정시키고 및/또는 늦추는 것을 의미한다. 이러한 지연은 질환의 병력 및/또는 치료되는 개체에 따라, 기간이 변할 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 유의미한 지연은 실제로, 개체에서 질환이 발달하지 않는다는 점에서, 예방을 포괄할 수 있다. 가령, 염증성 질환, 예를 들면, T-세포 매개된 염증성 질환의 증상이 지연될 수 있다.
- [0061] "개체" 또는 "피험자"는 포유동물, 더욱 바람직하게는 인간이다. 포유동물은 또한, 경작용 동물, 스포츠 동물, 애완 동물 (가령, 고양이, 개 또는 말), 영장류, 생쥐, 그리고 쥐를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.
- [0062] 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "특이적으로 인식한다" 또는 "특이적으로 결합한다"는 생물학적 분자를 비롯한 분자의 이질성 개체군의 존재에서 표적의 존재를 결정하는, 표적 및 항체 (가령, 전장 항체, 항체 단편, 또는 항체 VH-VL 결합 단위) 사이에 계측가능하고 재현가능한 상호작용, 예를 들면, 인력 또는 결합을 지칭한다. 가령, 에피토프에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체, 항체 단편, 또는 항체 VH-VL 결합 단위는 이것이 표적의 다른 에피토프 또는 비표적 에피토프에 결합하는 것보다 더욱 큰 친화성으로, 결합능으로, 더욱 쉽게 및/또는 더욱 큰 지속 기간 동안 이러한 에피토프에 결합하는 항체이다. 이러한 정의를 세심하게 검토함으로써, 예로서 첫 번째 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하는 항체, 항체 단편, 또는 항체 VH-VL 결합 단위는 두 번째 표적에 특이적으로 또는 우선적으로 결합하거나 또는 결합하지 않을 수 있는 것으로 또한 이해된다. 따라서, "특이적 결합" 또는 "우선적 결합"은 배타적 결합을 반드시 필요로 하는 것은 아니다 (비록 이것이 배타적 결합을 포함할 수 있긴 하지만). 표적에 특이적으로 결합하는 항체, 항체 단편, 또는 항체 VH-VL 결합 단위는 약  $10^3 \text{ M}^{-1}$  또는 약  $10^4 \text{ M}^{-1}$  또는 이보다 큰, 때때로 약  $10^5 \text{ M}^{-1}$  또는 약  $10^6 \text{ M}^{-1}$ , 다른 경우에 약  $10^6 \text{ M}^{-1}$  또는 약  $10^7 \text{ M}^{-1}$ , 약  $10^8 \text{ M}^{-1}$  내지 약  $10^9 \text{ M}^{-1}$ , 또는 약  $10^{10} \text{ M}^{-1}$  내지 약  $10^{11} \text{ M}^{-1}$  또는 그 이상의 결합 상수를 가질 수 있다. 다양한 면역검정 형식이 특정 단백질과 특이적으로 면역반응성인 항체, 항체 단편, 또는 항체 VH-VL 결합 단위를 선별하는데 이용될 수 있다. 가령, 고체상 ELISA 면역검정이 단백질과 특이적으로 면역반응성인 단일클론 항체를 선별하는데 일과적으로 이용된다. 특정한 면역반응성을 결정하는데 이용될 수 있는 면역검정 형식 및 조건에 관한 설명을 위해, 가령 Harlow and Lane (1988) *Antibodies, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York를 참조한다.
- [0063] "포장 삽입물"은 포장된 산물의 징후, 용법, 용량, 투여, 금기, 포장된 산물과 조합되는 다른 약제에 관한 정보 및/또는 이런 약제의 이용에 관련된 주의사항 등을 내포하는 약제의 상업적인 패키지 내에 관례적으로 포함되는 징후에 관한 정보를 내포하는 약제의 상업적인 패키지 내에 관례적으로 포함되는 사용설명서를 지칭한다.
- [0064] 본 명세서 및 첨부된 특허청구범위에서 이용된 바와 같이, 단수 형태 ("a", "an" 및 "the")는 문맥에서 달리 지시되지 않으면, 복수 지시대상을 포함한다. 가령, "항체"에 대한 언급은 1개 내지 많은 항체, 예를 들면, 몰 양에 대한 언급이고, 그리고 당업자에게 공지된 이들의 등가물 등을 포함한다.
- [0065] 본원에서 값 또는 파라미터에서 "약"에 대한 언급은 그 자체로 상기 값 또는 파라미터에 관계하는 구체예를 포함한다 (및 설명한다). 가령, "약 X"를 지칭하는 설명은 "X"의 설명을 포함한다.
- [0066] 본원에서 설명된 발명의 양상 및 변이는 "구성되는" 및/또는 "본질적으로 구성되는" 양상 및 변이를 포함하는 것으로 이해된다.
- [0067] **II. 사가 항체**
- [0068] 본 발명의 일정한 양상은 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 사가 항체에 관계한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함한다. 아래에서 설명된 바와 같이, 이들 단위체는 제한 없이, 항체 Fc 도메인 또는 영역 사이에 야생형 상호작용, 항체 Fc 도메인 또는 영역 사이에 변경된 또는 돌연변이된 상호작용 (가령, 본원에서 설명된 힌지 영역 돌연변이를 이용하여), 또는 다른 인공 공유 또는 비공유 상호작용 (가령, 교차연결 또는 링커)을 비롯하여, 당해 분야에서 공지된 임의의 수단을 이용하여 연계될 수 있다. 예시적인 사가 항체 및 항체 형식은 아래에 설명되고 **도면 1a & 1b**에서 도해된다.
- [0069] 인간 PSGL-1은 셀렉틴 P 리간드, *SELPG*, *CLA*, *CD162*, 또는 *PSGL1*로서 또한 지칭될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 예로서, NCBI RefSeq 유전자 ID 번호 6404에 의해 설명된 바와 같이, 인간 *SELPG* 유전자에 의해 인코딩된 폴리펩티드에 결합한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 15 또는 16개의 십합체 반복을 내포하는 인간 PSGL-1 폴리펩티드에 결합한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 결합한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:32의 아



미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 결합한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:31의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 결합하고, 그리고 서열 번호:32의 아미노산 서열을 포함하는 폴리펩티드에 결합한다. 서열 번호:31의 아미노산 서열은 전장 인간 PSGL-1, GenBank™ 수탁 번호 AAA74577.1, GL902797을 묘사하고, 그리고 서열 번호:32의 아미노산 서열은 더욱 짧은 402개 아미노산 인간 PSGL-1 단백질 (GenBank™ 수탁 번호 XP\_005269133)을 묘사한다. 특정한 구체예에서, 본원에서 설명된 사가 항체는 예로서, ELISA 또는 당해 분야에서 공지되거나 본원에서 설명된 다른 항원 결합 점정에 의해 결정될 때, 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합한다.

[0070] 일부 구체예에서, 본 발명의 VH 도메인 및 VL 도메인은 VH-VL 결합 단위 (가령, 에피토프, 예를 들면, 인간 PSGL-1의 에피토프에 특이적으로 결합)를 형성한다. 본원에서 설명된 바와 같이, VH-VL 결합 단위는 야생형 VH-VL 상호작용을 이용하여 VH 도메인 및 VL 도메인 사이에 형성될 수 있거나, 또는 VH-VL 결합 단위는 하나 또는 그 이상의 돌연변이 또는 화학 결합 (가령, 이황화 결합, 예를 들면, 서열 번호: 29 및 30의 VH 및 VL 도메인에서 각각 시스테인 치환에 의해 도입된 vH44-vL100 이황화 결합)을 이용하여 더욱 안정될 수 있다.

[0071] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 여기서 상기 이합체의 각 단위체는 단일 사슬 폴리펩티드를 포함한다.

[0072] 일부 구체예에서, 본 발명의 단일 사슬, 중쇄 및/또는 경쇄 폴리펩티드는 링커 서열을 포함한다. 다양한 링커 서열이 예로서, VH-VL 결합 단위의 VH 및 VL 도메인을 연결하거나, VH-VL 결합 단위의 VH 또는 VL 도메인을 다른 VH-VL 결합 단위의 VH 또는 VL 도메인에 연결하거나, 또는 VH-VL 결합 단위의 VH 또는 VL 도메인을 항체 불변 영역, 예를 들면, Fc 도메인 또는 영역에 연결하는데 적절하게 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 링커는 도메인 또는 영역 사이에 존재할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 2개의 도메인 또는 영역은 링커 없이 연결될 수 있거나, 또는 2개의 도메인 또는 영역을 연결하는 링커가 제거될 수 있다. 다양한 링커를 이용한 이런 단일 사슬 단편의 연결은 Kortt *et al.*, 1997, *Protein Engineering*, 10:423-433에서 설명된다. 일부 구체예에서, 본 발명의 링커 서열은 1-50개 아미노산을 포함한다. 일정한 구체예에서, 본 발명의 링커 서열은 5-12개 아미노산을 포함한다. 예시적인 링커 서열은 본원에서 설명되고 **도면 1a**에서 도해된다. 일부 구체예에서, 본 발명의 링커 서열은 GGGGS (서열 번호:25)의 아미노산 서열의 하나 또는 그 이상의 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 링커 서열은 GGGGS (서열 번호:25)의 아미노산 서열의 2개, 3개, 4개, 또는 5개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 링커 서열은 서열 번호:33, 34, 35, 또는 36의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 링커 서열은 GGGGSAAA (서열 번호:26)의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 링커 서열은 ASTGS (서열 번호:27)의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 링커 서열은 ASTGSGGGGS (서열 번호:28)의 아미노산 서열을 포함한다.

[0073] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 단일 사슬 디아바디 (scDbs)의 이합체를 포함하는데, 이것은 항체 불변 영역, 예를 들면, Fc 도메인에 임의선택적으로 융합될 수 있다.

[0074] 일부 구체예에서, 이합체의 각 단위체는 다음을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드를 포함한다: (a) 2개의 경쇄 가변 (VL) 도메인, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 그리고 여기서 이들 2개의 VL 도메인은 인간 PSGL-1에 특이적이고; (b) 2개의 중쇄 가변 (VH) 도메인, 여기서 2개의 VH 도메인 각각은 CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함하고, 그리고 여기서 이들 2개의 VH 도메인은 인간 PSGL-1에 특이적이고; 및 (c) 항체 Fc 도메인. 일부 구체예에서, 2개의 VL 도메인 각각은 2개의 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성한다.

[0075] 일정한 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 2개의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 2개의 VH 도메인의 첫 번째 VH 도메인; (d) 두 번째 링커 서열; (e) 2개의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인; (f) 세 번째 링커 서열; (g) 2개의 VH 도메인의 두 번째 VH 도메인; (h) 네 번째 링커 서열; 및 (i) 항체 Fc 도메인. 일부 구체예에서, 첫 번째 VL 도메인은 두 번째 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 첫 번째 VH 도메인은 두 번째 VL 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성한다.

[0076] 일부 구체예에서, 첫 번째, 두 번째와 세 번째 링커 서열은 각각, 서열 번호:25의 아미노산 서열의 2개 또는 그 이상의 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째, 두 번째 또는 세 번째 링커 서열은 서열 번호:33, 34, 35 또는 36의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 세 번째 링커 서열은 동일한 서열을 갖고 서열 번호:25의 2개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 네 번째 링커 서열은 서열 번호:26의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0077] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 탠덤 단일 사슬 가변 단편 (scFv) 단위 (탠덤 scFv의 경우에 taFv으로 명명됨)의 이합체를 포함하는데, 이것은 항체 불변 도메인, 예를 들면, 중쇄 불변 도메인의 Fc 도메인에 임의선택적으로 융합될 수 있다.
- [0078] 일정한 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 2개의 VH 도메인의 첫 번째 VH 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 2개의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (d) 두 번째 링커 서열; (e) 2개의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인; (f) 세 번째 링커 서열; (g) 2개의 VH 도메인의 두 번째 VH 도메인; (h) 네 번째 링커 서열; 및 (i) 항체 Fc 도메인. 일부 구체예에서, 첫 번째 VL 도메인은 첫 번째 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 두 번째 VH 도메인은 두 번째 VL 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성한다. 다른 구체예에서, 2개의 단일 사슬 폴리펩티드 각각은 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 2개의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 2개의 VH 도메인의 첫 번째 VH 도메인; (d) 두 번째 링커 서열; (e) 2개의 VH 도메인의 두 번째 VH 도메인; (f) 세 번째 링커 서열; (g) 2개의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인; (h) 네 번째 링커 서열; 및 (i) 항체 Fc 도메인을 포함하는 중쇄 불변 도메인.
- [0079] 일부 구체예에서, 첫 번째와 세 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함하는 동일한 서열을 갖는다. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:27의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 네 번째 링커 서열은 서열 번호:26의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0080] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 여기서 상기 이합체의 각 단위체는 항체 중쇄 및 항체 경쇄를 포함한다.
- [0081] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 다음을 포함하는 경쇄: (i) 2개의 경쇄 가변 (VL) 도메인, 여기서 2개의 VL 도메인 각각은 CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함하고, 그리고 여기서 이들 2개의 VL 도메인은 인간 PSGL-1에 특이적이고, (ii) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인 및 (iii) 경쇄 불변 (CL) 도메인; 및/또는 다음을 포함하는 중쇄: (i) 두 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인 및 (ii) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 인간 PSGL-1에 특이적이다. 일부 구체예에서, 2개의 VL 도메인 각각은 첫 번째와 두 번째 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성한다.
- [0082] 일정한 구체예에서, 항체 경쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 첫 번째 VH 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 2개 또는 그 이상의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (d) 두 번째 링커 서열; (e) 2개 또는 그 이상의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인; 및 (f) CL 도메인. 일부 구체예에서, CL 도메인은 카파 CL 도메인이다. 다른 구체예에서, CL 도메인은 람다 CL 도메인이다. 일부 구체예에서, 첫 번째 VL 도메인은 첫 번째 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 두 번째 VH 도메인은 두 번째 VL 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성한다.
- [0083] 일부 구체예에서, 첫 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:28의 아미노산 서열을 포함한다.
- [0084] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함하는 경쇄를 포함한다: (a) 2개의 VL 도메인의 첫 번째 VL 도메인; (b) CL 도메인; (c) 첫 번째 링커 서열; (d) 첫 번째 VH 도메인; (e) 두 번째 링커 서열; 및 (f) 2개의 VL 도메인의 두 번째 VL 도메인. 일부 구체예에서, CL 도메인은 카파 CL 도메인이다. 다른 구체예에서, CL 도메인은 람다 CL 도메인이다.
- [0085] 일부 구체예에서, 첫 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 2개 반복을 포함한다. 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다.
- [0086] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함하는 중쇄를 포함한다: (a) 2개의 VH 도메인 중에서 두 번째; 및 (b) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역. 일부 구체예에서, 항체 Fc 도메인은 중쇄 불변 2 (CH2) 도메인 및 중쇄 불변 3 (CH3) 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째 VL 도메인은 첫 번째 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성하고, 그리고 두 번째 VH 도메인은 두 번째 VL 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성한다.
- [0087] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 다음을 포함하는 경쇄: (i) 첫 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인, (ii) 첫

번째 경쇄 가변 (VL) 도메인 및 (iii) 경쇄 불변 (CL) 도메인; 및/또는 다음을 포함하는 중쇄: (i) 두 번째 중쇄 가변 (VH) 도메인, (ii) 두 번째 경쇄 가변 (VL) 도메인 및 (iii) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각, CDR-L1, CDR-L2 및 CDR-L3을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 인간 PSGL-1에 특이적이다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 각각, CDR-H1, CDR-H2 및 CDR-H3을 포함한다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인은 인간 PSGL-1에 특이적이다. 일부 구체예에서, 첫 번째와 두 번째 VL 도메인은 각각, 첫 번째와 두 번째 VH 도메인의 상응하는 VH 도메인과 VH-VL 결합 단위를 형성한다.

[0088] 일부 구체예에서, 항체 경쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 첫 번째 VH 도메인; (b) 첫 번째 링커 서열; (c) 첫 번째 VL 도메인; 및 (d) CL 도메인. 일부 구체예에서, CL 도메인은 카파 CL 도메인이다. 다른 구체예에서, CL 도메인은 람다 CL 도메인이다.

[0089] 일부 구체예에서, 첫 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다.

[0090] 일부 구체예에서, 항체 중쇄는 N 말단으로부터 C 말단으로 다음을 포함한다: (a) 2개의 VH 도메인 중에서 두 번째; (b) 두 번째 링커 서열; (c) 2개의 VL 도메인 중에서 두 번째; 및 (d) 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1) 도메인, 항체 힌지 영역, 두 번째 중쇄 불변 영역 (CH2) 도메인 및 세 번째 중쇄 불변 영역 (CH3) 도메인을 포함하는 중쇄 불변 영역. 일부 구체예에서, 항체 Fc 도메인은 중쇄 불변 2 (CH2) 도메인 및 중쇄 불변 3 (CH3) 도메인을 포함한다.

[0091] 일부 구체예에서, 두 번째 링커 서열은 서열 번호:25의 5개 반복을 포함한다.

[0092] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 (i) SFGMH (서열 번호:17)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) YINGGSSTIFYANAVKG (서열 번호:18)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) YASYGGGAMDY (서열 번호:19)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 CDRs를 포함하는 하나 또는 그 이상의 VH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 (i) 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체이고, 각 단위체는 2개의 VH 도메인을 포함하고, 각 VH 도메인은 (i) SFGMH (서열 번호:17)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) YINGGSSTIFYANAVKG (서열 번호:18)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) YASYGGGAMDY (서열 번호:19)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 CDRs를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체이고, 각 단위체는 2개의 VH 도메인을 포함하고, 각 VH 도메인은 (i) 서열 번호:17의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H1; (ii) 서열 번호:18의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H2; 및 (iii) 서열 번호:19의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-H3을 포함한다.

[0093] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:23의 아미노산 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 VH 도메인을 포함하는 단위체를 포함하고, 각 VH 도메인은 서열 번호:23의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:29의 아미노산 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 VH 도메인을 포함하는 단위체를 포함하고, 각 VH 도메인은 서열 번호:29의 아미노산 서열을 포함한다.

[0094] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:23의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VH 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 VH 도메인을 포함하는 단위체를 포함하고, 각 VH 도메인은 서열 번호:23의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 23에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다.

[0095] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:29의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VH 도메인을 포

함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 VH 도메인을 포함하는 단위체를 포함하고, 각 VH 도메인은 서열 번호:29의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VH 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 29에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다.

[0096] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 (i) RSSQSIVHNDGNTYFE (서열 번호:20)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) KVSNRFS (서열 번호:21)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) FQGSYVPLT (서열 번호:22)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 CDRs를 포함하는 하나 또는 그 이상의 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 (i) RSSQSIVHNDGNTYFE (서열 번호:20)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) KVSNRFS (서열 번호:21)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) FQGSYVPLT (서열 번호:22)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체이고, 각 단위체는 2개의 VL 도메인을 포함하고, 각 VL 도메인은 (i) RSSQSIVHNDGNTYFE (서열 번호:20)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) KVSNRFS (서열 번호:21)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) FQGSYVPLT (서열 번호:22)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3에서 선택되는 하나 또는 그 이상의 CDRs를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체이고, 각 단위체는 2개의 VL 도메인을 포함하고, 각 VL 도메인은 (i) RSSQSIVHNDGNTYFE (서열 번호:20)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L1; (ii) KVSNRFS (서열 번호:21)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L2; 및 (iii) FQGSYVPLT (서열 번호:22)의 아미노산 서열을 포함하는 CDR-L3을 포함한다.

[0097] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:24의 아미노산 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 VL 도메인을 포함하는 단위체를 포함하고, 각 VL 도메인은 서열 번호:24의 아미노산 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:30의 아미노산 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 VL 도메인을 포함하는 단위체를 포함하고, 각 VL 도메인은 서열 번호:30의 아미노산 서열을 포함한다.

[0098] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:24의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 VL 도메인을 포함하는 단위체를 포함하고, 각 VL 도메인은 서열 번호:24의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호: 24에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다.

[0099] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:30의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 하나 또는 그 이상의 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 VL 도메인을 포함하는 단위체를 포함하고, 각 VL 도메인은 서열 번호:30의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 VL 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호:30에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다.

[0100] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:1, 3 또는 5의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 2개의 단일 사슬 폴리펩티드를 포함하고, 각 단일 사슬 폴리펩티드는 번호:1, 3 또는 5의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 단일 사슬 폴리펩티드 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항



인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호:1, 3 또는 5에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 단일 사슬 폴리펩티드를 포함하고, 이들은 각각 서열 번호:1, 3 또는 5의 아미노산 서열을 포함한다.

[0101] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:2, 4 또는 6의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 단일 사슬 폴리펩티드에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 단일 사슬 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 2개의 단일 사슬 폴리펩티드를 포함하고, 각 단일 사슬 폴리펩티드는 서열 번호:2, 4 또는 6의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 단일 사슬 폴리펩티드에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 단일 사슬 폴리펩티드 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호:2, 4 또는 6의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 단일 사슬 폴리펩티드에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 단일 사슬 폴리펩티드를 포함하고, 이들은 각각 서열 번호:2, 4 또는 6의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된다.

[0102] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:7, 9 또는 13의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 그리고 각 경쇄는 서열 번호:7, 9 또는 13의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 경쇄 폴리펩티드 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호:7, 9 또는 13에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 그리고 각 경쇄는 서열 번호:7, 9 또는 13의 아미노산 서열을 포함한다.

[0103] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:8, 10 또는 14의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 경쇄 폴리펩티드에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 경쇄 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 그리고 각 경쇄는 서열 번호:8, 10 또는 14의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 경쇄 폴리펩티드에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 경쇄 폴리펩티드 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호:8, 10 또는 14의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 경쇄 폴리펩티드에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 그리고 각 경쇄는 서열 번호:8, 10 또는 14의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 경쇄 폴리펩티드를 포함한다.

[0104] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:11 또는 15의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 그리고 각 중쇄는 서열 번호:11 또는 15의 아미노산 서열에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 중쇄 폴리펩티드 서열은 참고 서열에 비하여 치환 (가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호:11 또는 15에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 그리고 각 중쇄는 서열 번호:11 또는 15의 아미노산 서열을 포함한다.

- [0105] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 서열 번호:12 또는 16의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩티드에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함하는 중쇄 폴리펩티드를 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 그리고 각 중쇄는 서열 번호:12 또는 16의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩티드에 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 서열 동일성을 갖는 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 최소한 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 중쇄 폴리펩티드 서열은 참고 서열에 비하여 치환(가령, 보존성 치환), 삽입 또는 결실을 내포하지만, 상기 서열을 포함하는 항인간 PSGL-1 항체는 인간 PSGL-1에 결합하는 능력을 유지한다. 일부 구체예에서, 서열 번호:12 또는 16의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 중쇄 폴리펩티드에서 총 1 내지 10개의 아미노산이 치환되고, 삽입되고 및/또는 결실되었다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개 단위체의 이합체를 포함하고, 각 단위체는 중쇄와 경쇄를 포함하고, 그리고 각 중쇄는 서열 번호:12 또는 16의 폴리뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩된 경쇄 폴리펩티드를 포함한다.
- [0106] 본 발명은 성질이 유의미하게 영향을 받지 않는 기능적으로 동등한 항체 및 증강된 또는 감소된 활성 및/또는 친화성을 갖는 변이체를 비롯하여, 본원에서 설명된 항체 또는 폴리펩티드에 대한 변형을 포괄한다. 폴리펩티드의 변형은 당해 분야에서 일과적인 관례이고 본원에서 상세하게 설명될 필요가 없다. 변형된 폴리펩티드의 실례는 아미노산 잔기의 보존성 치환, 기능적 활성을 현저히 유해하게 변화시키지 않는 아미노산의 하나 또는 그 이상의 결실 또는 부가, 또는 화학적 유사체의 이용을 갖는 폴리펩티드를 포함한다.
- [0107] 아미노산 서열 삽입은 1개 잔기로부터 100개 또는 그 이상의 잔기를 내포하는 폴리펩티드까지의 길이 범위에서 변하는 아미노- 및/또는 카르복실 말단 융합뿐만 아니라 단일 또는 복수 아미노산 잔기의 서열내 삽입을 포함한다. 말단 삽입의 실례는 N 말단 메티오닐 잔기를 갖는 항체 또는 에피토프 태그에 융합된 항체를 포함한다. 항체 분자의 다른 삽입 변이체는 항체의 혈청 반감기를 증가시키는 효소 또는 폴리펩티드의 항체의 N- 또는 C 말단에 융합을 포함한다.
- [0108] 치환 변이체는 항체 분자 내에 최소한 하나의 아미노산 잔기가 제거되고 상이한 잔기가 이를 대신하여 삽입된다. 치환적 돌연변이유발을 위한 최대 관심 부위는 초가변 영역을 포함하지만, FR 변형 역시 예기된다. 보존성 치환은 "보존성 치환"의 표제 하에 아래 표에서 도시된다. 이런 치환이 생물학적 활성에서 변화를 유발하면, 아래 표에서 "예시적인 치환"으로 표시되거나, 또는 아미노산 부류에 관하여 아래에 더욱 설명된 바와 같은 더욱 실제적인 변화가 도입되고, 그리고 산물이 선별검사될 수 있다.

[0109] 아미노산 치환

본래 잔기	보존성 치환	역시적인 치환
Ala (A)	Val	Val; Leu; Ile
Arg (R)	Lys	Lys; Gln; Asn
Asn (N)	Gln	Gln; His; Asp, Lys; Arg
Asp (D)	Glu	Glu; Asn
Cys (C)	Ser	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn	Asn; Glu
Glu (E)	Asp	Asp; Gln
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Arg	Asn; Gln; Lys; Arg
Ile (I)	Leu	Leu; Val; Met; Ala; Phe; 노르류신
Leu (L)	Ile	노르류신; Ile; Val; Met; Ala; Phe
Lys (K)	Arg	Arg; Gln; Asn
Met (M)	Leu	Leu; Phe; Ile
Phe (F)	Tyr	Leu; Val; Ile; Ala; Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Phe	Trp; Phe; Thr; Ser
Val (V)	Leu	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; 노르류신

[0110]

[0111] 항체의 생물학적 성질에서 실제적인 변형은 (a) 예로서, 시트 또는 나선형 입체형태로서 치환의 구역에서 폴리 펩티드 중추의 구조, (b) 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성, 또는 (c) 측쇄의 벌크를 유지하는 것에 대한 효과에서 유의미하게 상이한 치환을 선별함으로써 달성된다. 자연발생 잔기는 공통 측쇄 성질에 근거하여 군으로 나뉜다:

[0112] (1) 비극성: 노르류신, Met, Ala, Val, Leu, Ile;

[0113] (2) 전하 없이 극성: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln;

[0114] (3) 산성 (음성으로 하전됨): Asp, Glu;

[0115] (4) 염기성 (양성으로 하전됨): Lys, Arg;

[0116] (5) 사슬 배향정위에 영향을 주는 잔기: Gly, Pro; 및

[0117] (6) 방향족: Trp, Tyr, Phe, His

[0118] 비보존성 치환은 이들 부류 중에서 한 가지의 구성원을 다른 부류로 교환함으로써 만들어진다.

[0119] 항체의 적절한 입체형태를 유지하는데 관련되지 않는 임의의 시스테인 잔기 역시, 분자의 산화 안정성을 향상시키고 일탈적 교차연결을 예방하기 위해 일반적으로 세린으로 치환될 수 있다. 반대로, 시스테인 결합(들)이 항체의 안정성 (특히, 항체가 항체 단편, 예를 들면, Fv 단편인 경우에)을 향상시키기 위해 항체에 부가될 수 있다. 예시적인 시스테인 돌연변이는 본원에서 설명된다 (가령, 서열 번호:29의 G44C VH 도메인 돌연변이, 또는 서열 번호:30의 Q100C VL 도메인 돌연변이).

- [0120] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 항체 Fc 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 항체 Fc 도메인은 인간 Fc 도메인이다. 일정한 구체예에서, 항체 Fc 도메인은 인간 IgG4 Fc 도메인이다.
- [0121] 일부 구체예에서, 항체의 중쇄 불변 영역 및/또는 경쇄 불변 영역에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 잔기가 변형된다. 가령, 실시예에서 설명된 항체의 아미노산 잔기가 변형될 수 있다. 일부 구체예에서, 항체의 Fc 영역은 이들 항체의 ADCC 및/또는 CDC 활성을 증강하거나 또는 감소시키기 위해 변형된다. Shields *et al.*, J. Biol. Chem. 276:6591-6604 (2001); Presta *et al.*, Biochem. Soc. Trans. 30:487-490 (2002)을 참조한다.
- [0122] 일부 구체예에서, 항체의 Fc 영역은 이합체 형성 및/또는 안정성을 증강하거나, 또는 이합체 이질성 (가령, 뒤섞임)을 감소시키기 위해 변형된다. 인간 IgG4의 힌지 영역에서 Kabat 넘버링 (Kabat *et al.* 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242)을 이용하여 위치 241에서 또는 EU 지수 (Edelman *et al.* 1969, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 63(1): 78-85)를 이용하여 위치 228에서 세린의 프롤린으로의 돌연변이는 사슬내 이황화 결합 형성의 상당한 감소를 유발하고, IgG4 "절반-항체" 분자의 감소 및 IgG4 분자의 감소된 이질성/뒤섞임을 유발하는 것으로 증명되었다 (Bloom *et al.* 1997, Protein Sci, 6:407-415; Angal *et al.* 1993, Molecular Immunology, 30(1): 105-108)). 또한 공개된 보고서에 따르면, 이러한 힌지 돌연변이는 IgG4 뒤섞임을 감소시키고 생체내에서 IgG4 분자의 반감기를 증가시킬 수 있다 (Labrijn, *et al.* 2009, Nat Biotechnol 27:767-771; Stubenrauch, *et al.* 2010, Drug Metab Dispos 38:84-91). Van der Neut Kolfschoten 등은 IgG4의 C<sub>H</sub>3 도메인은 Fab 팔 교환 반응에 두드러지게 관련되지만 코어 힌지는 그렇지 않다는 것을 보고하였다 (페이지 1555, 칼럼 2에서 Van der Neut Kolfschoten *et al.* 2007, Science, 317: 1554-1557 ("Van der Neut Kolfschoten")을 참조한다). Van der Neut Kolfschoten은 IgG1의 C<sub>H</sub>3 도메인을 IgG4의 C<sub>H</sub>3 도메인과 교환하는 것은 IgG1에 대한 Fab 팔 교환을 활성화시키고, 반면 IgG4의 C<sub>H</sub>3 도메인을 교환하는 것은 IgG4에 대한 Fab 팔 교환을 제거한다는 것을 보고하였다 (p. 1555 및 도면 2D를 참조한다).
- [0123] 특정한 구체예에서, PSGL-1에 특이적으로 결합하고, 그리고 IgG4 힌지 영역에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 내포하는 사가 항체가 본원에서 제공되는데, 여기서 상기 항체 또는 이의 항원 결합 단편은 상기 PSGL-1에 대한 특이적 결합을 유지하고, 그리고 여기서 IgG4 뒤섞임이 상기 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하지 않는 IgG4 힌지 영역을 포함하는 항체에 비하여 감소된다. 특정한 구체예에서, IgG4 힌지 영역은 단지 단일 아미노산 치환만을 포함한다. "인간 IgG4 힌지 영역"의 실례는 Angal *et al.*, 1993, Molecular Immunology, 30(1): 105-108에서 진술된 바와 같이, IgG4 항체의 중쇄 상에서 C<sub>H</sub>1 및 C<sub>H</sub>2 도메인 사이에 영역이다.
- [0124] 특정한 구체예에서, IgG4 뒤섞임에서 감소는 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 포함하지 않는 IgG4 힌지 영역을 내포하는 IgG4 분자로부터 생산된 절반 항체 분자 또는 팔 교환의 양과 비교하여, 힌지 영역에서 하나 또는 그 이상의 아미노산 치환을 내포하는 본원에서 설명된 항체로부터 생산된 절반 항체 분자 또는 팔 교환의 더욱 적은 양을 검출함으로써 결정된다. 당해 분야에서 널리 공지된 임의의 검정이 절반 항체 생산 및 이중특이적 항체 분자를 검출하는데 이용될 수 있다. 가령, 이중특이적 항체의 생산을 검출하는 검정에 관해, Van der Neut Kolfschoten *et al.* 2007, Science, 317: 1554-1557을 참조한다.
- [0125] 특정한 구체예에서, PSGL-1에 특이적으로 결합하고, 그리고 EU 지수에 따라 넘버링된 중쇄의 아미노산 위치 228 (Kabat 넘버링을 이용하여 위치 241로서 또한 알려져 있음)에서 세린에서 프롤린으로의 아미노산 치환을 포함하는 인간 IgG4 Fc 도메인을 포함하는 사가 항체가 본원에서 제공된다.
- [0126] 변형은 또한, 글리코실화된 및 비글리코실화된 폴리펩티드뿐만 아니라 다른 번역후 변형, 예를 들면, 예로서 상이한 당으로 글리코실화, 아세틸화 및 인산화 등을 갖는 폴리펩티드를 포함한다. 항체는 그들의 불변 영역 내에 보존된 위치에서 글리코실화된다 (Jefferis and Lund, 1997, Chem. Immunol. 65:111-128; Wright and Morrison, 1997, TibTECH 15:26-32). 면역글로불린의 올리고당류 측쇄는 상기 단백질의 기능 (Boyd *et al.*, 1996, Mol. Immunol. 32:1311-1318; Wittwe and Howard, 1990, Biochem. 29:4175-4180) 및 당단백질의 부분 사이에 분자내 상호작용에 영향을 주는데, 이것은 당단백질의 입체형태 및 제시된 3차원 표면에 영향을 줄 수 있다 (Hefferis and Lund, 위와 같음; Wyss and Wagner, 1996, Current Opin. Biotech. 7:409-416). 올리고당류는 또한, 소정의 당단백질을 특정한 인식 구조에 근거하여 일정한 분자로 표적화하는데 역할을 할 수 있다. 항체의 글리코실화는 또한, 항체-의존성 세포 세포독성 (ADCC)에 영향을 주는 것으로 보고되었다. 특히, 양분하는 GlcNAc의 형성을 촉매작용하는 글리코실전달효소인  $\beta$  (1,4)-N-아세틸글루코사민전달효소 III (GnTIII)의 테트라사이클린-조



절된 발현을 갖는 CHO 세포는 향상된 ADCC 활성을 갖는 것으로 보고되었다 (Umana *et al.*, 1999, Mature Biotech. 17:176-180).

- [0127] 항체의 글리코실화는 전형적으로, N-연결되거나 또는 O-연결된다. "N-연결된"은 아스파라긴 잔기의 측쇄에 탄수화물 모이어티의 부착을 지칭한다. 삼중펩티드 서열 아스파라긴-X-세린, 아스파라긴-X-트레오닌 및 아스파라긴-X-시스테인 (여기서 X는 프롤린을 제외한 임의의 아미노산이다)은 아스파라긴 측쇄에 탄수화물 모이어티의 효소적 부착을 위한 인식 서열이다. 따라서, 폴리펩티드 내에 이들 삼중펩티드 서열 중에서 어느 하나의 존재는 잠재적 글리코실화 부위를 창출한다. O-연결된 당화는 비록 5-히드록시프롤린 또는 5-히드록실리신이 또한 이용될 수 있긴 하지만, 히드록시아미노산, 가장 흔히 세린 또는 트레오닌에 당 N-아세틸갈락토사민, 갈락토오스 또는 자일로오스 중에서 한 가지의 부착을 지칭한다.
- [0128] 항체에 글리코실화 부위의 부가는 아미노산 서열이 상기-설명된 삼중펩티드 서열 중에서 하나 또는 그 이상을 내포하도록 아미노산 서열을 변경함으로써 편의하게 달성된다 (N-연결된 글리코실화 부위의 경우). 변경은 또한, 본래 항체의 서열에 하나 또는 그 이상의 세린 또는 트레오닌 잔기의 부가, 또는 이들에 의한 치환에 의해 만들어질 수 있다 (O-연결된 글리코실화 부위의 경우).
- [0129] 항체의 글리코실화 패턴은 또한, 근원적인 뉴클레오타이드 서열을 변화시키지 않으면서 변경될 수 있다. 글리코실화는 항체를 발현하는데 이용되는 숙주 세포에 주로 의존한다. 가능성이 있는 치료제로서 제조할 당단백질, 예를 들면, 항체의 발현에 이용되는 세포 유형이 좀처럼 선천적 세포가 아니기 때문에, 항체의 글리코실화 패턴에서 변이가 예상될 수 있다 (가령, Hse *et al.*, 1997, J. Biol. Chem. 272:9062-9070을 참조한다).
- [0130] 숙주 세포의 선택에 더하여, 항체의 제조할 생산 동안 글리코실화에 영향을 주는 인자는 성장 방식, 배지 제제, 배양 밀도, 산소공급, pH, 정제 계획 등을 포함한다. 올리고당류 생산에 관련된 일정한 효소를 도입하거나 또는 과다발현하는 것을 비롯하여, 특정 숙주 생명체에서 달성된 글리코실화 패턴을 변경하기 위한 다양한 방법이 제안되었다 (U.S. 특허 번호 5,047,335; 5,510,261; 및 5,278,299). 글리코실화, 또는 일정한 유형의 글리코실화는 예로서, 엔도글리코시다아제 H (엔도 H), N-글리코시다아제 F, 엔도글리코시다아제 F1, 엔도글리코시다아제 F2, 또는 엔도글리코시다아제 F3을 이용하여, 당단백질로부터 효소적으로 제거될 수 있다. 이에 더하여, 제조할 숙주 세포는 일정한 유형의 다당류를 처리하는데 결합성이 되도록 유전적으로 가공될 수 있다. 이들 기술 및 유사한 기술은 당해 분야에서 널리 공지된다.
- [0131] 일부 구체예에서, 본 발명의 항체는 효소적 수단, 산화 치환 및 킬레이트화를 포함하지만 이들에 한정되지 않는, 당해 분야에서 공지된 연계 기술을 이용하여 변형된다. 변형은 예로서, 면역검정을 위한 표지의 부착에 이용될 수 있다.
- [0132] 본 발명의 사가 항체 또는 폴리펩티드는 작용제, 예를 들면, 치료적 작용제 또는 표지에 접합될 수 있다 (예로서, 연결될 수 있다). 치료적 작용제의 실례는 방사성 모이어티, 세포독소 및 화학요법 분자이다.
- [0133] 본 발명의 사가 항체 (또는 폴리펩티드)는 표지, 예를 들면, 형광 분자, 방사성 분자, 효소, 또는 당해 분야에서 공지된 임의의 다른 표지에 연결될 수 있다. 본원에서 이용된 바와 같이, 용어 "표지"는 검출될 수 있는 임의의 분자를 지칭한다. 일정한 구체예에서, 항체는 방사성표지화된 아미노산의 통합에 의해 표지화될 수 있다. 일정한 구체예에서, 표시된 아비딘 (가령, 광학 방법 또는 비색 방법에 의해 검출될 수 있는 형광 마커 또는 효소 활성을 내포하는 스트렙타비딘)에 의해 검출될 수 있는 비오틴 모이어티가 항체에 부착될 수 있다. 일정한 구체예에서, 표지는 다른 시약 내로 통합되거나 또는 다른 시약에 부착될 수 있고, 상기 시약은 차례로, 관심되는 항체에 결합한다. 가령, 표지는 항체 내로 통합되거나 또는 항체에 부착될 수 있고, 상기 항체는 차례로, 관심되는 항체에 특이적으로 결합한다. 일정한 구체예에서, 표지 또는 마커는 또한, 치료적일 수 있다. 폴리펩티드 및 당단백질을 표지화하는 다양한 방법이 당해 분야에서 공지되고 이용될 수 있다. 표지의 일정한 일반적인 부류는 효소적 표지, 형광 표지, 화학발광 표지 및 방사성 표지를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 폴리펩티드에 대한 표지의 실례는 다음을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다: 방사성 동위원소 또는 방사성 핵종 (가령,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{90}\text{Y}$ ,  $^{99}\text{Tc}$ ,  $^{111}\text{In}$ ,  $^{125}\text{I}$ , 또는  $^{131}\text{I}$ ), 형광 표지 (가령, 플루오레세인 이소티오시안산염 (FITC), 로다민, 란탄족 인광체, 또는 피코에리트린 (PE)), 효소적 표지 (가령, 양고추냉이 과산화효소,  $\beta$ -갈락토시다아제, 루시페라아제, 알칼리 인산분해효소, 글루코오스 옥시다아제, 글루코오스-6-인산염 탈수소효소, 알코올 탈수소효소, 말산 탈수소효소, 페니실린분해효소, 또는 루시페라아제), 화학발광, 비오틴닐 기, 이차적인 리포터 (가령, 류신 지퍼 쌍 서열, 이차 항체에 대한 결합 부위, 금속 결합 도메인, 또는 에피토프 태그)에 의해 인식되는 미리 결정된 폴리펩티드 에피토프. 일정한 구체예에서, 표지는 잠재적 입체 장애를 감소시키기

위해, 다양한 길이의 스페이서 팔에 의해 부착된다.

- [0134] 본원에서 설명에 근거하여, 본 발명의 사가 항체는 당해 분야에서 공지된 다양한 시험관내 및 생체내 검정에 따라 시험될 수 있다. 이런 검정은 예로서, 관심되는 에피토프 또는 폴리펩티드 (가령, 인간 PSGL-1 또는 이의 에피토프)에 결합하는 사가 항체 또는 이의 단편의 능력을 향해 지향된 결합 검정, 또는 사가 항체 또는 이의 단편의 하나 또는 그 이상의 기능적 성질을 향해 지향된 기능적 검정을 포함할 수 있다.
- [0135] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 인간 PSGL-1에 대한 결합 활성화에 대해 시험될 수 있다. 일부 구체예에서, 인간 PSGL-1 또는 이의 에피토프에 사가 항체의 결합은 시험관내 결합 검정에서 시험될 수 있다. 다양한 결합 검정이 당해 분야에서 공지된다. 이런 결합 검정은 세포-기초된 검정 (가령, 인간 PSGL-1 또는 이의 에피토프를 발현하는 세포에 결합하는 사가 항체의 능력을 시험)일 수 있거나, 또는 이들은 폴리펩티드-기초된 검정 (가령, 인간 PSGL-1 또는 이의 에피토프에 결합하는 사가 항체의 능력을 시험)일 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 유세포분석법, FRET, 조직화학적 검정 등에 의해, 인간 PSGL-1을 발현하는 세포 (가령, Sp2 세포, 아래에서 구현된 바와 같이)에 결합을 대해 시험된다. 다른 적합한 결합 검정은 제한 없이, 평형 방법 (가령, 효소-연결된 면역흡착성 검정 (ELISA), 방사면역검정 (RIA), Biacore™ 분석, 간접적인 결합 검정, 경쟁적 저해 검정, 형광 공명 에너지 전달 (FRET), 면역침전, 겔 전기이동 및 크로마토그래피 (가령, 겔 여과)를 포함할 수 있다.
- [0136] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 PSGL-1 기능에 대한 하나 또는 그 이상의 기능적 검정에 대해 시험될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 인간 PSGL-1을 발현하는 세포에서 아포토시스의 유도에 대해 시험될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 사가 항체 (가령, 부모 항체)와 공통으로 하나 또는 그 이상의 VH 또는 VL 도메인을 갖는 전통적인 (가령, 이가) 항체와 비교하여, 표적 세포 (가령, 인간 PSGL-1 또는 이의 에피토프를 발현하는 세포)에서 아포토시스의 증강된 유도를 전시한다. 본원에서 증명된 바와 같이, 본 발명의 사가 항체는 통상적인 VH 및/또는 VL 도메인을 갖는 부모 항체보다 표적 세포에서 아포토시스를 유도하는데 있어서 더욱 큰 효능을 전시하였다. 아포토시스 검정은 당해 분야에서 설명되고, 그리고 당업자에 의해 쉽게 실행될 수 있다 (가령, Muppidi, J., Porter, M. and Siegel, R. M. 2004. Measurement of Apoptosis and Other Forms of Cell Death. Current Protocols in Immunology. 59:3.17.1-3.17.36을 참조한다). 아포토시스를 검출하기 위한 선별된 검정 (가령, 아넥신 V 또는 프로피디움 요오드화물 염색)은 상기에서 예시된다. 용어 "유도한다" 또는 "유도하는"은 아포토시스의 개시 또는 대조 수준을 초과하여 아포토시스의 증가를 의미한다. 활성화된 T 세포의 아포토시스는 대조 (가령, 본원에서 설명된 항체의 부재에서 또는 비특이적 항체의 존재에서 활성화된 T 세포의 아포토시스)와 비교하여, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 100%, 약 125%, 약 150% 또는 그 이상 유도될 수 있다.
- [0137] PSGL-1 활성화와 관련하여 본원에서 설명된 검정에서 이용하기 적절한 T 세포 및 T 세포주는 쉽게 가용하거나 (가령, ARR, DU.528, Jurkat, H-SB2, RPMI 8402, CML-T1, Karpas 45, KE-37/SKW-3, SUP-T1, SUP-T3, MOLT 3/4, P12- Ichikawa, PF-382, CCRF-CEM, HPB-ALL, K-T1, TALL- 1, MOLT 16/17, TALL- 104, DND-41, Loucy, MOLT 13, Peer/Bel3, HUT 78/H9, HUT 102, MT- 1, DEL, JB6, Karpas 299, SU-DHL1, 12H5, 3D054.8, 3D011.10, 8D051.15, 또는 3D018.3), 또는 당해 분야에서 공지된 방법을 이용하여 쉽게 확인될 수 있다 (가령, Thornton, A. M. 2003. Fractionation of T and B Cells Using Magnetic Beads. Current Protocols in Immunology. 55:3.5A. 1-3.5A. 1-3.5A. 1-3.5A., Hathcock, K. 2001. T Cell Enrichment by Cytotoxic Elimination of B Cells and Accessory Cells. Current Protocols in Immunology. 00:3.3.1-3.3.5., Horgan, K., Shaw, S. and Boirivant, M. 2009. Immunomagnetic Purification of T Cell Subpopulations. Current Protocols in Immunology. 85:7.4.1-7.4.9., 그리고 Kanof, M. E. 2001. Purification of T Cell Subpopulations. Current Protocols in Immunology. 00:7.3.1-7.3.5를 참조한다). 특정한 구체예에서, 세포 증식 검정에서 이용을 위한 세포 또는 세포주는 PSGL-1을 내생적으로 또는 재조합적으로 발현할 수 있다. 세포 생존력 검정에서 이용을 위한 세포 또는 세포주는 PSGL-1을 내생적으로 또는 재조합적으로 발현하고, 그리고 PSGL-1 리간드 또는 항- PSGL-1 항체 결합에 대한 응답으로 세포 생존력에서 변화를 발휘할 수 있다. 아포토시스 검정에서 이용을 위한 세포 또는 세포주는 PSGL-1을 내생적으로 또는 재조합적으로 발현하고, 그리고 PSGL-1 리간드 또는 항-PSGL-1 항체 결합에 대한 응답으로 아포토시스에서 변화를 발휘할 수 있다. 바람직하게는, 이들 세포 또는 세포주는 인간이다 (가령, ARR, DU.528, Jurkat, H-SB2, RPMI 8402, CML-T1, Karpas 45, KE-37/SKW-3, SUP-T1, SUP-T3, MOLT 3/4, P12- Ichikawa, PF-382, CCRF-CEM, HPB-ALL, K-T1, TALL-1, MOLT 16/17, TALL-104, DND-41, Loucy, MOLT 13, Peer/Bel3, HUT 78/H9, HUT 102, MT-1, DEL, JB6, Karpas 299, 또는 SU-DHL1).
- [0138] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 지연형 과민증 (DTH)의 저해에 대해 시험될 수 있다. 일부

구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 사가 항체 (가령, 부모 항체)와 공통으로 하나 또는 그 이상의 VH 또는 VL 도메인을 갖는 전통적인 (가령, 이가) 항체와 비교하여 DTH의 증강된 저해를 전시한다 (가령, 트랜스 비보 동물 모형에서). 본원에서 증명된 바와 같이, 본 발명의 사가 항체는 트랜스 비보 생쥐 풋패드 팽창 모형에서 공통의 VH 및/또는 VL 도메인을 갖는 부모 항체보다 DTH를 저해하는데 있어서 더욱 큰 효능을 전시하였다. DTH 검정은 당해 분야에서 설명되고, 아래에서 구현되고, 그리고 당업자에 의해 쉽게 실행될 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 DTH 저해의 효능을 전시할 수 있는데, 이것은 대조 (가령, 전통적인 또는 이가 항체, 예를 들면, 부모 항체에 의한 DTH의 저해)와 비교하여, 약 10%, 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 100%, 약 125%, 약 150%, 약 200%, 약 300%, 약 400%, 약 500%, 약 600%, 또는 그 이상 증가될 수 있다.

[0139] **III. 폴리뉴클레오티드, 벡터, 숙주 세포 및 항체 생산**

[0140] 본 발명은 또한, 본원에서 설명된 사가 항체 및/또는 폴리펩티드 중에서 한 가지를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 제공한다. 일부 구체예에서, 폴리펩티드는 경쇄와 중쇄 가변 영역의 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 폴리뉴클레오티드는 단리된 폴리뉴클레오티드 (가령, 숙주 세포로부터 또는 하나 또는 그 이상의 상이한 폴리뉴클레오티드로부터 단리된)이다.

[0141] 본원에서 설명된 사가 항체 또는 폴리펩티드 성분 (가령, 단위체, 예를 들면, 단일 사슬 폴리펩티드, 항체 중쇄 및/또는 항체 경쇄) 중에서 한 가지를 인코딩하는 폴리뉴클레오티드가 본원에서 제공된다. 일부 구체예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 서열 번호:1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 및 17-31에서 선택되는 폴리펩티드 서열을 인코딩한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 서열 번호:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 및 16에서 선택되는 폴리뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 하나 또는 그 이상의 인트론을 포함한다. 다른 구체예에서, 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 인트론, 예를 들면, cDNA 또는 처리된 mRNA 서열을 포함하지 않는다.

[0142] 유전자 코드의 축중성의 결과로서, 본원에서 설명된 바와 같은 폴리펩티드를 인코딩하는 많은 뉴클레오티드 서열이 있는 것으로 당업자에 의해 인지된다. 이들 폴리뉴클레오티드 중에서 일부는 임의의 선천적 유전자의 뉴클레오티드 서열에 최소 상동성을 보유한다. 따라서, 코돈 사용빈도에서 차이로 인해 변하는 폴리뉴클레오티드가 본 발명에 의해 특이적으로 예기된다. 게다가, 본원에서 제공된 폴리뉴클레오티드 서열을 포함하는 유전자의 대립형질은 본 발명의 범위 내에 있다. 대립형질은 하나 또는 그 이상의 돌연변이, 예를 들면, 뉴클레오티드의 결실, 부가 및/또는 치환의 결과로서 변경되는 내인성 유전자이다. 결과의 mRNA 및 단백질은 변경된 구조 또는 기능을 가질 수 있지만, 반드시 그러할 필요는 없다. 대립형질은 표준 기술 (가령, 혼성화, 증폭 및/또는 데이터 베이스 서열 비교)을 이용하여 확인될 수 있다.

[0143] 예로서, 코돈/RNA 최적화, 이중성 신호 서열로 대체, 그리고 mRNA 불안정 요소의 제거에 의해 최적화되는 폴리뉴클레오티드 역시 본원에서 제공된다. 코돈 변화를 도입하고 및/또는 mRNA 내에 저해성 영역을 제거함으로써 재조합 발현을 위한 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드를 인코딩하는 최적화된 핵산을 산출하는 방법은 예로서, U.S. 특허 번호 5,965,726; 6,174,666; 6,291,664; 6,414,132; 및 6,794,498에서 설명된 최적화 방법을 적절히 조정함으로써 실행될 수 있다. 가령, RNA 내에 잠재적 스플라이스 부위 및 불안정 요소 (가령, A/T 또는 A/U 풍부한 요소)는 재조합 발현을 위한 RNA의 안정성을 증가시키기 위해, 핵산 서열에 의해 인코딩된 아미노산을 변경하지 않으면서 돌연변이될 수 있다. 이들 변경은 유전자 코드의 축중성을 활용한다, 예를 들면, 동일한 아미노산에 대한 대안 코돈을 이용한다. 일부 구체예에서, 보존성 돌연변이, 예를 들면, 본래 아미노산과 유사한 화학 구조 및 성질 및/또는 기능을 갖는 유사한 아미노산을 인코딩하도록 하나 또는 그 이상의 코돈을 변경하는 것이 바람직할 수 있다. 이런 방법은 최적화되지 않은 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩된 항-PSGL-1 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드의 발현에 비하여, 항-PSGL-1 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드의 발현을 증가시킬 수 있다. 게다가, 폴리뉴클레오티드 서열은 숙주 세포에서 바람직한 코돈 사용빈도, 예를 들면, 대장균 (*E. coli*) 코돈 사용빈도 또는 CHO 코돈 사용빈도에 조화되도록 설계될 수 있다.

[0144] 본원에서 설명된 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드를 인코딩하는 최적화된 폴리뉴클레오티드 서열은 본원에서 설명된 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드를 인코딩하는 최적화되지 않은 폴리뉴클레오티드 서열에 혼성화할 수 있다. 특정한 구체예에서, 본원에서 설명된 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드를 인코딩하는 최적화된 뉴클레오티드 서열은 높은 엄격함 조건 하에, 본원에서 설명된 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드를 인코딩하는 최적화되지 않은 폴리뉴클레오티드 서열에 혼성화한다. 특정한 구체예에서, 본원에서 설명된 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드를 인코딩하는 최적화된 뉴클레오티드 서열은 높은 엄격함, 중간 또는 낮은 엄격함 혼성화 조건 하에, 본원에서



설명된 사가 항체 또는 이의 폴리펩티드를 인코딩하는 최적화되지 않은 뉴클레오티드 서열에 혼성화한다. 혼성화 조건에 관한 정보는 설명되었다 (가령, U.S. 특허 출원 공개 번호 US 2005/0048549 (가령, 단락 72-73)을 참조하고, 이것은 본원에 전체적으로 참조로서 편입된다).

[0145] 본 발명의 폴리뉴클레오티드는 화학적 합성, 재조합 방법, 또는 PCR을 이용하여 획득될 수 있다. 화학적 폴리뉴클레오티드 합성의 방법은 당해 분야에서 널리 공지되고 본원에서 상세하게 설명될 필요가 없다. 당업자는 본원에서 제공된 서열 및 상업적인 DNA 합성장치를 이용하여 원하는 DNA 서열을 생산할 수 있다.

[0146] 재조합 방법을 이용하여 폴리뉴클레오티드를 제조하기 위해, 원하는 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드는 적합한 벡터 내로 삽입될 수 있고, 그리고 상기 벡터는 차례로, 본원에서 더욱 논의된 바와 같이, 복제 및 증폭을 위한 적합한 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 폴리뉴클레오티드는 당해 분야에서 공지된 임의의 수단에 의해 숙주 세포 내로 삽입될 수 있다. 세포는 직접적인 흡수, 세포내섭취, 형질감염, F-교배, 또는 전기천공에 의해 외인성 폴리뉴클레오티드를 도입함으로써 형질전환된다. 일단 도입되면, 외인성 폴리뉴클레오티드는 세포 내에 비-통합된 벡터 (가령, 플라스미드)로서 유지되거나 또는 숙주 세포 유전체 내로 통합될 수 있다. 이렇게 증폭된 폴리뉴클레오티드는 당해 분야에서 널리 공지된 방법에 의해 숙주 세포로부터 단리될 수 있다. 가령, Sambrook *et al.* (1989)을 참조한다.

[0147] 대안으로, PCR이 DNA 서열의 재생을 허용한다. PCR 기술은 당해 분야에서 널리 공지되고, 그리고 U.S. 특허 번호 4,683,195; 4,800,159; 4,754,065; 및 4,683,202뿐만 아니라 PCR: The Polymerase Chain Reaction, Mullis *et al.* eds., Birkauser Press, Boston (1994)에서 설명된다.

[0148] 본 발명은 또한, 본원에서 설명된 폴리펩티드 (항체 포함) 중에서 한 가지를 인코딩하는 핵산 서열을 포함하는 벡터 (가령, 클로닝 벡터 또는 발현 벡터)를 제공한다. 적합한 클로닝 벡터는 표준 기술에 따라 작제될 수 있거나, 또는 당해 분야에서 가용한 다수의 클로닝 벡터에서 선택될 수 있다. 선별되는 클로닝 벡터가 이용되도록 의도되는 숙주 세포에 따라 변할 수 있긴 하지만, 유용한 클로닝 벡터는 일반적으로, 자가-복제하는 능력을 갖고, 특정 제한 엔도뉴클레아제에 대한 단일 표적을 소유할 수 있고 및/또는 상기 벡터를 내포하는 클론을 선별하는데 이용될 수 있는 마커에 대한 유전자를 보유할 수 있다. 적합한 실례는 플라스미드 및 세균 바이러스, 예를 들면, pUC18, pUC19, Bluescript (가령, pBS SK+) 및 이의 유도체, mpl8, mpl9, pBR322, pMB9, ColE1, pCR1, RP4, 파지 DNAs, 그리고 셔틀 벡터, 예를 들면, pSA3 및 pAT28을 포함한다. 이들 및 많은 다른 클로닝 벡터는 상업적인 판매자, 예를 들면, BioRad, Strategene 및 Invitrogen으로부터 가용하다.

[0149] 발현 벡터는 일반적으로, 본 발명에 따른 폴리뉴클레오티드를 내포하는 복제가능 폴리뉴클레오티드 구조체이다. 발현 벡터는 숙주 세포에서 에피솜으로서 또는 염색체 DNA의 필수적인 부분으로서 복제가능할 수 있다. 적합한 발현 벡터는 플라스미드, 아데노바이러스, 아데노 연관된 바이러스, 레트로바이러스를 비롯한 바이러스 벡터, 코스미드, 그리고 PCT 공개 번호 WO 87/04462에서 개시된 발현 벡터(들)를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 벡터 성분은 일반적으로, 다음 중에서 하나 또는 그 이상을 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다: 신호 서열; 복제 기점; 하나 또는 그 이상의 마커 유전자; 및 적합한 전사 제어 요소 (가령, 프로모터, 인핸서, 또는 종결인자). 발현 (다시 말하면, 번역)을 위해, 하나 또는 그 이상의 번역 제어 요소, 예를 들면, 리보솜 결합 부위, 번역 개시 부위, 또는 종결 코돈이 또한 통상적으로 필요하다.

[0150] 항체 및 이들 항체로부터 유래된 폴리펩티드를 만드는 방법은 당해 분야에서 공지되고 본원에서 개시된다. 충분히 확립된 방법이 항-PSGL 항체 (가령, 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 항체)를 확인하는데 이용될 수 있는데, 이로부터 가변 도메인 (가령, VH 및/또는 VL 도메인)이 본 발명의 사가 항체에서 이용될 수 있다. 예시적인 항인간 PSGL-1 항체뿐만 아니라 이런 항체를 선별검사하고, 생산하고, 정제하기 위한 방법은 국제 출원 공개 번호 WO 2012/174001에서 설명된다.

[0151] 추가 항인간 PSGL-1 항체가 당해 분야에서 공지된 방법, 예를 들면, 국제 출원 공개 번호 WO 2012/174001에서 및 위에서 설명된 것들을 이용하여 확인될 수 있다. 가령, 단일클론 항체는 하이브리도마 기법, 예를 들면, Kohler and Milstein (1975), *Nature*, 256:495에 의해 설명된 것들을 이용하여 제조될 수 있다. 하이브리도마 방법에서, 생쥐, 햄스터, 또는 다른 적절한 숙주 동물은 전형적으로, 면역화 작용제에 특이적으로 결합하는 항체를 생산하거나 또는 생산할 수 있는 림프구를 이끌어내기 위해 면역화 작용제 (가령, 인간 PSGL-1 또는 이의 단편을 발현하는 세포)로 면역화된다. 대안으로, 림프구는 시험관내에서 면역화될 수 있다. 림프구는 이후, 하이브리도마 세포를 형성하기 위해 적합한 융합 작용제, 예를 들면, 폴리에틸렌 글리콜을 이용하여, 영속화된 세포주와 융합된다 (Goding, *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*, Academic Press, (1986) pp. 59-1031). 영속화된 세포주는 통상적으로, 형질전환된 포유류 세포, 특히 설치류, 토끼, 소 또는 인간 기원의



골수종 세포이다. 통상적으로, 쥐 또는 생쥐 골수종 세포주가 이용된다. 하이브리도마 세포는 융합되지 않은, 영속화된 세포의 성장 또는 생존을 저해하는 하나 또는 그 이상의 물질을 바람직하게 내포하는 적합한 배양 배지에서 배양될 수 있다. 가령, 부모 세포가 효소 하이포크산틴 구아닌 포스포리보실 전달효소 (HGPRT 또는 HPRT)를 결여하면, 하이브리도마에 대한 배양 배지는 전형적으로, 하이포크산틴, 아미노프테린 및 티미딘 ("HAT 배지")을 포함하는데, 이들 물질은 HGPRT-결합성 세포의 성장을 예방한다.

[0152] 원하는 영속화된 세포주는 효율적으로 융합하고, 선별된 항체 생산 세포에 의한 항체의 안정된 높은 수준 발현을 뒷받침하고, 그리고 배지, 예를 들면, HAT 배지에 민감한 것들이다. 더욱 바람직한 영속화된 세포주는 무린 골수종 라인인데, 이것은 예로서, the Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, CA 및 the American Type Culture Collection, Manassas, VA로부터 획득될 수 있다. 인간 단일클론 항체의 생산을 위한 인간 골수종 및 생쥐-인간 헤테로골수종 세포주 역시 설명되었다 (Kozbor, J. Immunol. (1984), 133:3001; Brodeur *et al.*, Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, Marcel Dekker, Inc., New York, (1987) pp. 51-63).

[0153] 하이브리도마 세포가 배양되는 배양 배지는 이후, 단일클론 항체의 존재에 대해 검정될 수 있다. 항체는 형질세포종, 다발성 골수종, 결장직장, 위 또는 식도암, 또는 종양 세포의 세포 표면으로부터 획득되거나 또는 세포 표면에서 발현되는 ORP150 폴리펩티드에 특이적 결합 (가령, ORP150 폴리펩티드의 세포외 도메인에서 에피토프에 결합)을 갖는 것에 대해 선별검사될 수 있다. 암 세포 또는 ORP150 폴리펩티드 (또는 ORP150 폴리펩티드의 세포외 도메인을 내포하는 이의 단편)가 선별검사에 이용될 수 있다. 가령, RPMI8226, U266, NCI-H929, L363, Colo205, DLD-1, HT29, SNU-1, Kato-III, 또는 CE146T 세포가 선별검사에 이용될 수 있다. 서열 번호:17의 아미노산 673-800, 701-800, 673-752, 또는 723-732를 포함하는 폴리펩티드 역시 선별검사에 이용될 수 있다.

[0154] 일부 구체예에서, 하이브리도마 세포에 의해 생산된 단일클론 항체의 결합 특이성은 면역침전에 의해 또는 시험관내 결합 검정, 예를 들면, 방사면역검정 (RIA) 또는 효소 결합 면역흡착 검정 (ELISA)에 의해 결정된다. 이런 기술 및 검정은 당해 분야에서 알려져 있다. 단일클론 항체의 결합 친화성은 예로서, Munson and Pollard (1980), *Anal. Biochem.*, 107:220의 스캐차드 분석에 의해 결정될 수 있다.

[0155] 원하는 하이브리도마 세포가 확인된 후, 클론은 제한 희석 절차에 의해 하위클로닝되고 표준 방법에 의해 성장될 수 있다 (Goding, *위와 같음*). 이런 목적으로 적합한 배양 배지는 예로서, Dulbecco의 변형된 Eagle 배지 또는 RPMI-1640 배지를 포함한다. 대안으로, 하이브리도마 세포는 포유동물 내에 복수로서 생체내에서 성장될 수 있다.

[0156] 단일클론 항체는 하이브리도마 세포를 배양함으로써 산출될 수 있고, 그리고 하이브리도마 세포에 의해 분비된 항체는 더욱 단리되거나 또는 정제될 수 있다. 항체는 전통적인 면역글로불린 정제 절차, 예를 들면, 예로서 단백질 A-세파로오스, 수산화인회석 크로마토그래피, 겔 전기이동, 투석, 또는 친화성 크로마토그래피에 의해 배양 배지 또는 복수 유체로부터 단리되거나 정제될 수 있다.

[0157] 본 발명의 사가 항체 또는 폴리펩티드는 항체 또는 폴리펩티드의 라이브러리를 선별검사하여, 예로서 세포의 세포 표면에서 발현된 인간 PSGL-1에 결합하는 항체 또는 폴리펩티드를 선별함으로써 산출될 수 있다. 당해 분야에서 공지된 항체 파지 전사 라이브러리가 이용될 수 있다. 일부 구체예에서, 라이브러리에서 항체 (가령, 파지에서 전사된)는 단일 사슬 Fv (scFv) 단편 또는 Fab 단편이다. 일부 구체예에서, 라이브러리에서 항체 (가령, 파지에서 전사된)는 단일-도메인 항체이다. 가령, 단일-도메인 항체는 항체의 중쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부 또는 경쇄 가변 도메인의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 라이브러리에서 항체는 인간 항체이다. 확인된 항체는 당해 분야에서 공지되고 본원에서 설명된 방법을 이용하여, 세포 사멸 (가령, 아포토시스)을 유도하고 및/또는 인간 PSGL-1에 결합하는 그들의 능력에 대해 더욱 시험될 수 있다.

[0158] 본 발명의 사가 항체는 재조합 DNA 방법, 예를 들면, U.S. 특허 번호 4,816,567 및 6,331,415에서 설명된 것들에 의해 만들어질 수 있다. 가령, 본 발명의 사가 항체 (또는 이들의 성분인 단일, 중쇄 또는 경쇄 폴리펩티드) 중에서 한 가지의 가변 또는 불변 영역을 인코딩하는 DNA는 전통적인 절차를 이용하여 (가령, 무린 항체의 중쇄와 경쇄를 인코딩하는 유전자에 특이적으로 결합할 수 있는 올리고뉴클레오타이드 프로브를 이용함으로써) 쉽게 단리되고 염기서열결정될 수 있다. 본 발명의 하이브리도마 세포는 이런 DNA의 바람직한 공급원으로서 역할을 한다. 일단 단리되면, DNA는 발현 벡터 내로 배치될 수 있고, 이들 벡터는 이후, 재조합 숙주 세포에서 단일클론 항체를 합성하기 위해, 숙주 세포, 예를 들면, 유인원 COS 세포, 중국 햄스터 난소 (CHO) 세포, 또는 만약 그렇지 않으면, 면역글로불린 단백질을 생산하지 않는 골수종 세포 내로 형질감염된다. DNA는 또한, 예로서 상동성 무린 서열 대신에 인간 중쇄와 경쇄 불변 도메인에 대한 코딩 서열로 치환함으로써 (U.S. 특허 번호

4,816,567), 또는 비면역글로불린 폴리펩티드에 대한 코딩 서열 중에서 전부 또는 일부를 면역글로불린 코딩 서열에 공유적으로 연결함으로써 변형될 수 있다. 이런 비면역글로불린 폴리펩티드는 본 발명의 항체의 불변 도메인을 대체할 수 있거나, 또는 이들은 본 발명의 항체의 한쪽 항원 결합 부위의 가변 도메인을 대체하여 키메라가 항체를 창출할 수 있다.

[0159] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체는 2개의 발현 벡터로부터 발현된다. 가령, 각 발현 벡터는 본 발명의 이합체의 한쪽 단위체 (가령, 단일 사슬 폴리펩티드 또는 항체 중쇄 또는 경쇄 폴리펩티드)를 발현할 수 있다. 대안으로, 본 발명의 이합체의 양쪽 단위체가 단일 발현 벡터로부터 발현된다.

[0160] 정상적으로, 발현 벡터는 숙주 세포와 양립성인 종으로부터 유래되는 전사와 번역 조절 서열을 갖는다. 이에 더하여, 상기 벡터는 형질전환된 세포에서 표현형 선별을 제공할 수 있는 특이적 유전자(들)를 통상적으로 보유한다.

[0161] 진핵 세포에 대한 매우 다양한 재조합 숙주-벡터 발현 시스템이 알려져 있고 본 발명에서 이용될 수 있다. 가령, 다수의 다른 균주, 예를 들면, 피치아 파스토리스 (*Pichia pastoris*)가 가용하긴 하지만, 사카로미세스 세레비지에 (*Saccharomyces cerevisiae*), 또는 일반적인 빵 효모가 진핵 미생물 중에서 가장 흔히 이용된다. ATCC로부터 가용한, 다세포 생물체로부터 유래된 세포주, 예를 들면, Sp2/0 또는 중국 햄스터 난소 (CHO)가 또한, 숙주로서 이용될 수 있다. 진핵 세포 형질전환에 적합한 전형적인 벡터 플라스미드는 예로서, pSV2neo 및 pSV2gpt (ATCC), pSVL 및 pSVK3 (Pharmacia), 그리고 pBPV-1/pML2d (International Biotechnology, Inc.)이다.

[0162] 본 발명에서 유용한 진핵 숙주 세포는 예로서, 하이브리도마, 골수종, 형질세포종, 또는 림프종 세포이다. 하지만, 다른 포유류 숙주 세포가 단백질의 발현을 위한 전사와 번역 DNA 서열을 인식하고; 리더 서열의 개열 및 단백질의 분비에 의해 리더 펩티드를 처리하고; 그리고 단백질의 번역후 변형, 예를 들면, 글리코실화를 제공할 수 있다면, 이들 진핵 숙주 세포가 적절하게 활용될 수도 있다.

[0163] 따라서, 본 발명은 본원에서 개시된 DNA 구조체를 포함하는 재조합 발현 벡터에 의해 형질전환되고, 그리고 본 발명의 사가 항체 또는 폴리펩티드를 발현할 수 있는 숙주 세포 (가령, 진핵 숙주 세포)를 제공한다. 일부 구체예에서, 본 발명의 형질전환된 숙주 세포는 본 발명의 폴리뉴클레오티드, 또는 본 발명의 단위체, 이합체 또는 사가 항체를 발현하는 폴리뉴클레오티드, 그리고 항체 또는 폴리펩티드의 발현을 주도하기 위해 코딩 DNA 서열에 관계하여 배치되는 전사와 번역 조절 서열을 포함하는 최소한 하나의 DNA 구조체를 포함한다.

[0164] 이중성 DNAs를 과다발현할 수 있는 임의의 숙주 세포가 관심되는 항체, 폴리펩티드 또는 단백질을 인코딩하는 유전자를 단리하는 목적으로 이용될 수 있다. 포유류 숙주 세포의 무제한적 실례는 COS, HeLa 및 CHO 세포를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. PCT 공개 번호 WO 87/04462를 또한 참조한다. 적합한 비포유류 숙주 세포는 원핵생물 (가령, 대장균 (*E. coli*) 또는 바실루스 서브틸리스 (*B. subtilis*)) 및 효모 (가령, 사카로미세스 세레비지에 (*S. cerevisiae*), 쉬조사카로미세스 폼베 (*S. pombe*) 또는 클루이베로미세스 락티스 (*K. lactis*))를 포함한다.

[0165] 본 발명에서 이용된 숙주 세포는 당해 분야에서 널리 공지된 표준 형질감염 절차에 의해 다양한 방식으로 형질전환될 수 있다. 이용될 수 있는 표준 형질감염 절차 중에는 전기천공 기술, 원형질체 융합 및 칼슘-인산염 침전 기술이 있다. 이런 기술은 전반적으로, F. Toneguzzo et al. (1986), *Mol. Cell. Biol.*, 6:703-706; G. Chu et al., *Nucleic Acid Res.* (1987), 15:1311-1325; D. Rice et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1979), 79:7862-7865; 및 V. Oi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1983), 80:825-829에 의해 설명된다. 관심되는 폴리뉴클레오티드를 내포하는 벡터는 전기천공, 염화칼슘, 루비듐 염화물, 인산칼슘, DEAE-텍스트란, 또는 다른 물질을 이용한 형질감염; 미세입자 투사; 리포펙션; 및 감염 (가령, 여기서 벡터는 감염체, 예를 들면, 우두바이러스이다)을 비롯한 다수의 적절한 수단 중에서 한 가지에 의해 숙주 세포 내로 도입될 수 있다. 도입 벡터 또는 폴리뉴클레오티드의 선택은 종종, 숙주 세포의 특질에 의존한다.

[0166] 2개의 발현 벡터의 경우에, 이들 2개의 발현 벡터는 숙주 세포 내로 하나씩 별개로 또는 함께 이전될 수 있다 (동시전달 또는 동시형질감염).

[0167] 본 발명은 또한, 항체 또는 폴리펩티드를 생산하기 위한 방법을 제공하는데, 상기 방법은 이들 항체 또는 폴리펩티드를 인코딩하는 발현 벡터(들)를 포함하는 숙주 세포를 배양하고, 그리고 당업자에게 널리 공지된 방식에 의해 배양액으로부터 이들 항체 또는 폴리펩티드를 회수하는 것을 포함한다.

[0168] 게다가, 원하는 항체는 유전자도입 동물에서 생산될 수 있다. 적합한 유전자도입 동물은 적절한 발현 벡터를 알

내로 미량주사하고, 이들 알을 상상 임신 암컷 내로 이전하고, 그리고 원하는 항체를 발현하는 후손을 선별하는 것을 포함하는 표준 방법에 따라 획득될 수 있다.

[0169] 본 발명은 또한, 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 키메라 사가 항체에 관계한다. 가령, 사가 항체의 가변과 불변 영역이 별개의 종으로부터 유래된다. 일부 구체예에서, 중쇄와 경쇄 둘 모두의 가변 영역이 본원에서 설명된 무린 항체로부터 유래된다. 본 발명의 키메라 항체는 당해 분야에서 충분히 확립된 기술에 의해 제조될 수 있다. 가령, U.S. 특허 번호 6,808,901; U.S. 특허 번호 6,652,852; U.S. 특허 번호 6,329,508; U.S. 특허 번호 6,120,767; 및 U.S. 특허 번호 5,677,427을 참조하고, 이들은 각각 본원에 참조로서 편입된다. 일반적으로, 키메라 항체는 이들 항체의 중쇄와 경쇄 가변 영역을 인코딩하는 cDNAs를 획득하고, 이들 cDNAs를 발현 벡터 내로 삽입함으로써 제조될 수 있는데, 상기 벡터는 진핵 숙주 세포 내로 도입 시에, 본 발명의 키메라 항체를 발현한다. 바람직하게는, 발현 벡터는 임의의 가변 중쇄 또는 경쇄 서열이 발현 벡터 내로 쉽게 삽입될 수 있도록, 기능적으로 완전한 불변 중쇄 또는 경쇄 서열을 보유한다.

[0170] 본 발명은 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 인간화 사가 항체를 제공한다. 인간화 항체는 전형적으로, CDRs로부터 잔기가 원하는 특이성, 친화성 및 능력을 갖는 비인간 종, 예를 들면, 생쥐, 쥐 또는 토끼의 CDRs로부터 잔기로 대체되는 인간 항체이다. 일부 경우에, 인간 항체의 Fv 프레임워크 잔기가 상응하는 비인간 잔기에 의해 대체된다.

[0171] 단일클론 항체를 인간화하기 위한 4가지 일반적인 단계가 있다. 이들은 아래와 같다: (1) 시작 항체 경쇄와 중쇄 가변 도메인의 뉴클레오타이드 및 예측된 아미노산 서열을 결정하는 단계, (2) 인간화 항체를 설계하는 단계, 다시 말하면, 인간화 과정 동안 어떤 항체 프레임워크 영역을 이용할 지를 결정하는 단계, (3) 실제 인간화 방법론/기술, 그리고 (4) 인간화 항체의 형질감염 및 발현. 가령, U.S. 특허 번호 4,816,567; 5,807,715; 5,866,692; 6,331,415; 5,530,101; 5,693,761; 5,693,762; 5,585,089; 6,180,370; 및 6,548,640을 참조한다. 가령, 불변 영역은 항체가 인간에서 임상 시험 및 치료에서 이용되는 경우에 면역 반응을 방지하기 위해, 인간 불변 영역과 더욱 유사하도록 가공될 수 있다. 가령, U.S. 특허 번호 5,997,867 및 5,866,692를 참조한다.

[0172] 항체는 항원에 대한 높은 친화성 및 다른 우호적인 생물학적 성질을 유지하면서 인간화되는 것이 중요하다. 이러한 목적을 달성하기 위해, 인간화 항체는 부모 및 인간화 서열의 3차원 모형을 이용한, 부모 서열 및 다양한 개념적 인간화 산물의 분석의 과정에 의해 제조될 수 있다. 3차원 면역글로불린 모형은 통상적으로 가용하고 당업자에게 익숙하다. 선별된 후보 면역글로불린 서열의 개연적인 3차원 입체형태적 구조를 예시하고 전시하는 컴퓨터 프로그램이 가용하다. 이들 디스플레이의 검사는 후보 면역글로불린 서열의 기능에서 잔기의 예상 역할의 분석, 다시 말하면, 항원에 결합하는 후보 면역글로불린의 능력에 영향을 주는 잔기의 분석을 허용한다. 이러한 방식으로, FR 잔기는 원하는 항체 특징, 예를 들면, 표적 항원(들)에 대한 증가된 친화성이 달성되도록 선별되고 공통 및 이입 서열로부터 합동될 수 있다. 일반적으로, CDR 잔기는 항원 결합에 영향을 주는데 직접적으로 및 가장 실제적으로 관련된다. 인간화 항체는 또한, 이들 항체의 하나 또는 그 이상의 특징을 향상시키기 위해, 힌지 영역 내에 변형을 내포할 수 있다.

[0173] 다른 대안에서, 항체는 파지 전시 기술에 의해 선별검사되고 재조합적으로 만들어질 수 있다. 가령, U.S. 특허 번호 5,565,332; 5,580,717; 5,733,743 및 6,265,150; 그리고 Winter *et al.*, *Annu. Rev. Immunol.* 12:433-455 (1994)를 참조한다. 대안으로, 파지 전시 기술 (McCafferty *et al.*, *Nature* 348:552-553 (1990))은 비면역성 공여자로부터 면역글로불린 가변 (V) 도메인 유전자 레퍼토리로부터, 인간 항체 및 항체 단편을 시험관내에서 생산하는데 이용될 수 있다. 이러한 기술에 따라, 항체 V 도메인 유전자는 실험용 박테리오파지의 주요 또는 소수 외피 단백질 유전자, 예를 들면, M13 또는 fd 내로 인프레임으로 클로닝되고, 그리고 파지 입자의 표면 상에서 기능적 항체 단편으로서 전시된다. 실험용 입자가 파지 유전체의 단일 가닥 DNA 사본을 내포하기 때문에, 항체의 기능적 성질에 근거된 선별은 이들 성질을 전시하는 항체를 인코딩하는 유전자의 선별을 또한 유발한다. 따라서, 파지는 B-세포의 성질 중에서 일부를 모방한다. 파지 전시는 다양한 형식으로 수행될 수 있다; 리뷰를 위해 가령, Johnson, Kevin S. and Chiswell, David J., *Current Opinion in Structural Biology* 3, 564-571 (1993)을 참조한다. V-유전자 분절의 여러 공급원이 파지 전시에 이용될 수 있다. Clackson *et al.*, *Nature* 352:624-628 (1991)은 면역화된 생쥐의 비장으로부터 유래된 V 유전자의 작은 무작위 조합 라이브러리로부터 항-옥사졸론 항체의 다양한 어레이를 단리하였다. 비면역성 인간 공여자로부터 V 유전자의 레퍼토리가 작제될 수 있고, 그리고 다양한 어레이의 항원 (자가항원 포함)에 대한 항체가 본질적으로, Mark *et al.*, *J. Mol. Biol.* 222:581-597 (1991), 또는 Griffith *et al.*, *EMBO J.* 12:725-734 (1993)에 의해 설명된 기술에 따라서 단리될 수 있다. 자연 면역 반응에서, 항체 유전자는 돌연변이를 높은 비율에서 축적한다 (체세포 초돌연변이). 도입된 변화 중에서 일부는 더욱 높은 친화성을 부여할 것이고, 그리고 높은 친화성 표면 면역글로불린을 전시하는 B-



세포는 차후 항원 공격 동안 우선적으로 복제되고 분화된다. 이러한 자연 과정은 "사슬 뒤섞음"으로서 알려져 있는 기술을 이용함으로써 모방될 수 있다. Marks *et al.*, *Bio/Technol.* 10:779-783 (1992)). 이러한 방법에서, 파지 전시에 의해 획득된 "일차" 인간 항체의 친화성은 중쇄와 경쇄 V 영역 유전자를 비면역성 공여자로부터 획득된 V 도메인 유전자의 자연발생 변이체의 레퍼토리 (레퍼토리)로 순차적으로 대체함으로써 향상될 수 있다. 이러한 기술은 pM-nM 범위에서 친화성을 갖는 항체 및 항체 단편의 생산을 허용한다. 매우 큰 파지 항체 레퍼토리 ("모든 라이브러리의 모체"로서 또한 알려져 있음)를 만들기 위한 전략은 Waterhouse *et al.*, *Nucl. Acids Res.* 21:2265-2266 (1993)에 의해 설명되었다. 유전자 뒤섞음은 또한, 설치류 항체로부터 인간 항체를 도출하는데 이용될 수 있는데, 여기서 인간 항체는 시작 설치류 항체와 유사한 친화성 및 특이성을 갖는다. "에피토프 각인"으로서 또한 지칭되는 이러한 방법에 따라, 파지 전시 기술에 의해 획득된 설치류 항체의 중쇄 또는 경쇄 V 도메인 유전자는 인간 V 도메인 유전자의 레퍼토리로 대체되어 설치류-인간 키메라가 창출된다. 항원에서 선별은 기능적 항원-결합 부위를 복원할 수 있는 인간 가변 영역의 단리를 유발한다, 다시 말하면, 에피토프가 상대방의 선택을 지배한다 (각인시킨다). 이러한 과정이 나머지 설치류 V 도메인을 대체하기 위해 반복될 때, 인간 항체가 획득된다 (1993년 4월 1일자 공개된 PCT 공개 번호 WO 93/06213을 참조한다). CDR 합체에 의한 설치류 항체의 전통적인 인간화와 달리, 이러한 기술은 설치류 기원의 프레임워크 또는 CDR 잔기를 갖지 않는 완전한 인간 항체를 제공한다. 비록 상기 논의가 인간화 항체와 관련되긴 하지만, 논의된 일반적인 원리가 예로서, 개, 고양이, 영장류, 말 및 소에서 이용을 위해 항체를 맞추하는데 적용가능하다는 것은 분명하다.

[0174] 일정한 구체예에서, 항체는 완전한 인간 항체이다. 항원에 특이적으로 결합하는 비인간 항체가 상기 항원에 결합하는 완전한 인간 항체를 생산하는데 이용될 수 있다. 가령, 당업자는 사슬 스와핑 기술을 이용할 수 있는데, 여기서 비인간 항체의 중쇄가 상이한 인간 경쇄를 발현하는 발현 라이브러리와 공동발현된다. 하나의 인간 경쇄 및 하나의 비인간 중쇄를 내포하는 결과의 하이브리드 항체는 이후, 항원 결합에 대해 선별검사된다. 항원 결합에 참여하는 경쇄는 이후, 인간 항체 중쇄의 라이브러리와 공동발현된다. 결과의 인간 항체는 항원 결합에 대해 다시 한 번 선별검사된다. 이와 같은 기술은 U.S. 특허 5,565,332에서 더욱 설명된다. 이에 더하여, 항원이 인간 면역글로불린 유전자에 대해 유전자도입된 동물을 접종하는데 이용될 수 있다. 가령, U.S. 특허 5,661,016을 참조한다.

[0175] 본 발명은 또한, 이중특이적 항체를 제공한다. 이중특이적 항체는 최소한 2개의 상이한 항원 (상이한 에피토프 포함)에 대한 결합 특이성을 갖는다. 일부 구체예에서, 본 발명의 이중특이적 항체는 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 2개 또는 그 이상의 상이한 VH 및/또는 VL 도메인을 포함한다. 일부 구체예에서, 2개 또는 그 이상의 상이한 VH 및/또는 VL 도메인은 PSGL-1의 동일한 에피토프에 특이적으로 결합한다. 일부 구체예에서, 2개 또는 그 이상의 상이한 VH 및/또는 VL 도메인은 중복 에피토프일 수 있거나 또는 중복 에피토프가 아닌, PSGL-1의 상이한 에피토프에 특이적으로 결합한다.

[0176] 이중특이적 항체 (최소한 2개의 상이한 항원에 대한 결합 특이성을 갖는 단일클론 항체)는 본원에서 개시된 항체를 이용하여 제조될 수 있다. 이중특이적 항체를 만들기 위한 방법은 당해 분야에서 공지된다 (가령, Suresh *et al.*, 1986, *Methods in Enzymology* 121:210을 참조한다). 전통적으로, 이중특이적 항체의 재조합 생산은 2개의 면역글로불린 중쇄-경쇄 쌍의 공동발현에 근거되었는데, 여기서 2개의 중쇄는 상이한 특이성을 갖는다 (Millstein and Cuello, 1983, *Nature* 305, 537-539). 일부 구체예에서, 이중특이적 사가 항체는 위에서 구현된 방법을 이용하여 생산될 수 있다.

[0177] 이중특이적 항체를 만드는 한 가지 접근법에 따라, 원하는 결합 특이성을 갖는 항체 가변 도메인 (항체-항원 결합 부위)이 면역글로불린 불변 도메인 서열에 융합된다. 일부 구체예에서, 융합은 힌지, CH2 및 CH3 영역의 최소한 일부를 포함하는 면역글로불린 중쇄 불변 도메인과의 융합이다. 일부 구체예에서, 경쇄 결합에 필요한 부위를 내포하는 첫 번째 중쇄 불변 영역 (CH1)은 이들 융합 중에서 최소한 하나에 존재한다. 면역글로불린 중쇄 융합 및 원하는 경우에, 면역글로불린 경쇄를 인코딩하는 DNA는 별개의 발현 벡터 내로 삽입되고, 그리고 적합한 숙주 생명체 내로 동시형질감염된다. 이것은 작제에서 이용된 3개 폴리펩티드 사슬의 부동 비율이 최적 수율을 제공하는 구체예에서 이들 3개 폴리펩티드 단편의 상호간의 비율을 조정하는데 상당한 유연성을 제공한다. 하지만, 동등한 비율에서 최소한 2개의 폴리펩티드 사슬의 발현이 높은 수율을 유발하거나 또는 이들 비율이 특별한 의미가 없을 때, 2개 폴리펩티드 사슬 또는 3개 폴리펩티드 사슬 전부에 대한 코딩 서열을 하나의 발현 벡터에 삽입하는 것이 가능하다.

[0178] 2개의 공유적으로 결합된 단위체 또는 항체를 포함하는 헤테로접합체 항체 역시 본 발명의 범위 내에 있다. 이런 항체는 면역계 세포를 원치 않는 세포에 표적화하는데 이용되고 (U.S. 특허 번호 4,676,980), 그리고 HIV 감

염의 치료에 이용되었다 (PCT 공개 번호 WO 91/00360 및 WO 92/200373; 및 EP 03089). 헤테로접합체 항체는 임의의 편의한 교차연결 방법을 이용하여 만들어질 수 있다. 적합한 교차연결 작용제 및 기술은 당해 분야에서 널리 공지되고, 그리고 U.S. 특허 번호 4,676,980에서 설명된다.

[0179] 본 발명의 일정한 양상은 예로서, 본원에서 설명된 사가 항체의 성분으로서 이용될 수 있는 항체 가변 도메인 및/또는 항체 단편에 관계한다. 항체 단편은 항체의 활성 결합 영역, 예를 들면, Fab, F(ab')<sub>2</sub>, scFv, Fv 단편 등을 내포할 수 있다. 당해 분야에서 공지된 다양한 방법이 예로서, 본원에서 설명된 개념에 근거하여 당해 분야에서 공지된 표준 재조합 기술에 의해 본 발명의 사가 항체 내로 통합될 수 있는 항체 단편을 생산하고 및/또는 분리하는데 이용될 수 있다.

[0180] 단일 사슬 Fv 단편은 예로서, Iliades *et al.*, 1997, *FEBS Letters*, 409:437-441에서 설명된 바와 같이 생산될 수 있다. 다양한 링커를 이용한 이런 단일 사슬 단편의 연계는 Kortt *et al.*, 1997, *Protein Engineering*, 10:423-433에서 설명된다. 항체의 재조합 생산 및 조작용을 위한 다양한 기술은 당해 분야에서 널리 공지된다. 이런 단편은 당해 분야에서 충분히 확립된 기술을 이용하여, 본원에서 설명된 단일클론 항체로부터 생산될 수 있다 (Rousseaux *et al.* (1986), in *Methods Enzymol.*, 121:663-69 Academic Press).

[0181] 항체 단편을 제조하는 방법은 당해 분야에서 널리 공지된다. 가령, 항체 단편은 F(ab')<sub>2</sub>로 명명된 100 Kd 단편을 제공하기 위한 펩신으로 항체의 효소적 개열에 의해 생산될 수 있다. 이러한 단편은 50 Kd Fab' 일가 단편을 생산하기 위해 티올 환원제, 그리고 임의선택적으로, 이황화 연쇄의 개열로부터 발생하는 술피드릴 기에 대한 차단 기를 이용하여 더욱 개열될 수 있다. 대안으로, 파파인을 이용한 효소적 개열은 2개의 일가 Fab 단편 및 Fc 단편을 직접적으로 생산한다. 이들 방법은 예로서, U.S. 특허 번호 4,036,945 및 4,331,647 및 그 안에 내포된 참고문헌에 의해 설명되고, 이들 특허는 본원에 참조로서 편입된다. 또한, Nisonoff *et al.* (1960), *Arch Biochem. Biophys.* 89: 230; Porter (1959), *Biochem. J.* 73: 119; Smyth (1967), *Methods in Enzymology* 11: 421-426을 참조한다. 대안으로, Fab는 항체의 Fab를 인코딩하는 DNA를 원핵생물용 발현 벡터 또는 진핵생물용 발현 벡터 내로 삽입하고, 그리고 상기 벡터를 원핵생물 또는 진핵생물 내로 도입하여 Fab를 발현함으로써 생산될 수 있다.

#### [0182] IV. 방법 및 용도

[0183] 본 발명의 일정한 양상은 본원에서 설명된 사가 항체에 대한 방법 및 용도에 관계한다. 이들 방법 및 용도는 제한 없이, 증가된 숫자의 에피토프 결합 도메인, 시험관내 및/또는 생체내 교차연결에 대한 더욱 적은 의존의 잠재력, 아포토시스 (가령, 인간 PSGL-1 발현 세포의)를 유도하기 위한 차별적 효능 및/또는 증강된 생체내 또는 트랜스 비보 효력을 비롯하여, 본원에서 설명된 바와 같은 사가 항체의 성질에 최소한 부분적으로 기초된다.

[0184] 본원에서 설명된 바와 같이, PSGL-1은 염증 및 T 세포 생물학에 관련되는 것으로 알려져 있다. 인간 PSGL-1에 특이적으로 결합하는 본 발명의 사가 항체는 그 중에서도 특히, T 세포 기능에 관련된 질환 (가령, T-세포 매개된 염증성 질환)을 앓는 개체, 또는 염증성 병태, 예를 들면, 면역학적 반응을 유발할 수 있는 의료 기술이 필요한 개체, 또는 이런 병태가 사전에 관리되는 개체 (가령, 이식 또는 수혈)를 치료하는데 용도를 발견할 수 있다.

[0185] 일부 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 의해 치료되는 장애 또는 질환은 T-세포 매개된 염증성 질환일 수 있다. 본원에서 설명된 사가 항체를 이용하여 치료될 수 있거나, 또는 하나 또는 그 이상의 증상이 개선되거나 예방될 수 있는 장애 및 질환의 무제한적 실례는 건선, 크론병, 강직성 척추염, 관절염 (류마티스성 관절염, 소아성 류마티스성 관절염, 골관절염 및 건선성 관절염 포함), 진성 당뇨병, 다발성 경화증, 뇌척수염, 중증 근무력증, 전신성 홍반성 루푸스, 자가면역 갑상선염, 피부염 (아토피성 피부염 및 습진성 피부염 포함), 쇼그렌 증후군, 아프타 궤양, 홍채염, 결막염, 각결막염, I형 당뇨병, 염증성 장 질환, 궤양성 대장염, 천식, 알레르기 천식, 피부 홍반성 루푸스, 경피증, 질염, 직장염, 약물 발진, 나병 역전 반응, 나병 결절성 홍반, 자가면역 포도막염, 알레르기성 뇌척수염, 급성 괴사성 출혈 뇌병증, 특발성 양측성 진행성 감각신경성 난청, 재생불량성 빈혈, 순수 적혈구 빈혈, 특발성 혈소판감소증, 다발연골염, 베게너 육아종증, 만성 활성 간염, 스티븐스 존슨 증후군, 특발성 스프루, 편평 태선, 그레이브스병, 이식편 대 숙주 질환 (GVHD), 사르코이드증, 원발성 담즙성 간경변, 후포도막염, 세포간 폐 섬유증, 알레르기, 예를 들면, 아토피성 알레르기, AIDS, 그리고 T 세포 신생물, 예를 들면, 백혈병 또는 림프종을 포함한다. 일부 구체예에서, 질환은 자가면역 질환이다.

[0186] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 질환 또는 장애는 판상 건선이다. 판상 건선 또는 심상성 건선은 가장 흔한 형태의 건선이고, 그리고 은색 비늘에 의해 뒤덮인 예리하게 확정된, 상승된 홍반성

피부 판에 의해 특징된다. 이들 병변은 사지의 신전 표면, 요천골 구역 및 두피를 판에적으로 침범한다. 상응하는 조직병리학적 조사 결과는 진피 및 표피의 유의미한 염증 세포 침윤, 증가된 숫자의 팽창된 혈관, 그리고 각 질세포의 무질서한 분화 및 과다각화증으로 표피의 실제적인 비후를 포함한다. 판상 건선을 앓는 환자 중에서 거의 1/3은 중등도 또는 중증도 질환을 앓는 것으로 분류되고, 그리고 결과적으로, 단지 국소 치료만을 뛰어넘는 요법에 대한 후보이다.

[0187] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 장애는 만성 판상 건선이다. 만성 판상 건선의 증상은 무릎, 팔꿈치, 요천골 영역, 두피 및 손발톱을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 신체의 임의의 부분에서 동전-크기 내지 더욱 큰 범위에서 피부의 단일 또는 복수의 상승된 붉어진 부분을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0188] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 장애는 방울 건선이다. 방울 건선의 증상은 피부 상에서 물방울 모양 비늘 판의 발적, 그 이후에 감염, 예를 들면, 연쇄상구균 이후 감염을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0189] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 질환 또는 장애는 역위 건선이다. 역위 건선의 증상은 다음의 신체 부위: 겨드랑이, 서혜부, 가슴 아래, 그리고 성기 및 궁둥이 주변에 다른 피부 주름 중에서 하나 또는 그 이상에서 판상 건선과 연관된 비늘화와 달리, 적색이고 염증이 생긴 피부의 부드럽고, 통상적으로 습한 부위를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0190] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 질환 또는 장애는 농포성 건선이다. 농포성 건선의 증상은 크기 및 위치에서 서로 다르지만, 주로 손 및 발에서 발생하는 고름-채워진 블리스터를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0191] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 질환 또는 장애는 홍피성 건선이다. 홍피성 건선의 증상은 피부의 주기적이고 광범위한 불타는 듯한 적열상태 및 더욱 작은 박편보다는 시트에서 비늘의 벗겨짐을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 피부의 적색화 및 벗겨짐은 종종, 심각한 가려움 및 통증, 심박수 증가 및 체온 변화를 동반한다.

[0192] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 질환 또는 장애는 류마티스성 관절염이다. 류마티스성 관절염의 증상은 피로, 식욕 상실, 미열, 부푼 분비선, 허약, 손목, 팔꿈치, 어깨, 엉덩이, 무릎, 발목, 발가락, 턱, 손, 발, 손가락 및/또는 목에서 관절 통증, 아침 경직, 숨을 쉴 때 흉통 (흉막염), 눈 작열, 가려움 및 분비물, 피부 아래 결절, 무감각, 자통, 또는 손 및 발에서 작열을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0193] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 질환 또는 장애는 크론병이다. 크론병의 증상은 경련 복부 (배 부위) 통증, 열병, 피로, 식욕 상실, 배변할 때 통증 (뒤통), 지속적인 물설사, 비의도성 체중 감소, 변비, 눈 염증, 누공 (통상적으로 직장 구역 주변에서, 고름, 점액 또는 대변의 배수를 유발할 수 있다), 관절 통증, 간 염증, 입 궤양, 직장 출혈 및 혈변, 피부 덩어리 또는 아픔 (궤양), 그리고 부푼 잇몸을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0194] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 질환 또는 장애는 강직성 척추염이다. 강직성 척추염의 증상은 등 아래쪽 및 궁둥이, 척추 및/또는 목에서 빈번한 통증 및 경직; 늑골, 어깨뼈, 엉덩이, 대퇴 및 발뒤꿈치로 확산하는 통증 및 압통; 적열상태, 눈 통증, 시력 상실, 부유물 및 광선공포증을 유발하는 눈의 염증 (홍채모양체염 및 포도막염); 피로; 그리고 메스꺼움을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0195] 다른 구체예에서, 본원에서 설명된 방법에 따라서 치료되는 질환 또는 장애는 진성 당뇨병이다. 진성 당뇨병의 증상은 체중 감소, 다뇨증 (빈뇨), 조갈증 (증가된 갈증), 다식증 (증가된 배고픔), 심혈관 질환, 당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신경병증, 고삼투압성 비케톤성 상태, 그리고 당뇨병성 케톤산증을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0196] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체 또는 조성물은 이식 이전에, 이식과 동시에 및/또는 이식 이후에 개체에 투여될 수 있다. 가령, 아래에 더욱 상세하게 설명된 바와 같이, 본 발명의 사가 항체 또는 조성물은 우호적인 치료 결과의 가능성을 증가시키고, 불리한 결과의 가능성을 감소시키고 및/또는 이식 이전에, 이식과 동시에, 또는 이식이 완결된 이후에 발생하는 증상 또는 불리한 결과를 경감하거나 또는 예방하기 위해 투여될 수 있다.

[0197] 본원에서 이용된 바와 같이, 이식을 필요로 하는 개체를 치료하는 것은 치료적 처치 및 예방적 또는 방지적 조

치 (가령, 우호적인 치료 결과, 예를 들면, 이식편 생존, 이식편 기능의 가능성을 증가시키거나, 또는 불리한 결과, 예를 들면, 치료에 대한 불리한 반응의 가능성 또는 우호적인 치료, 예를 들면, 이식이 발생하는 가능성을 줄이는 조건을 감소시키는) 중에서 하나 또는 그 이상을 지칭할 수 있다. 치료하는 것은 제한 없이, 장애 또는 이상과 연관된 상태 및 증상 및/또는 장애 또는 이상의 치료 옵션에 대한 개체의 접근을 간섭하거나 또는 제약하는 문제 또는 상태, 예를 들면, 민감화, 과민감, 높은 패널 반응성 항체 (PRA) 수준 및/또는 이식을 기다리는 개체에 대한 이식편의 이용가능성을 제약하는 기존 동종항체의 존재를 경감하거나 또는 예방하는 것을 포함할 수 있다. 치료가 필요한 개체는 장애 또는 이상을 이미 앓고 있는 개체뿐만 아니라 장애 또는 이상이 예방되어야 하는 개체를 포함한다. 장애 또는 이상의 치료는 이러한 장애 또는 이상과 연관된 면역-매개된 사건을 억제하고, 장애 또는 이상의 증상을 개선하고, 장애 또는 이상의 심각도를 감소시키고, 장애 또는 이상 진행의 코스를 변경하고 및/또는 기본 장애 또는 이상을 개선하거나 또는 치유할 수 있다.

[0198] 가령, 이식을 기다리는 개체의 성공적인 치료는 동종항체의 수준을 감소시키거나, 패널 반응성 항체 (PRA)를 감소시키거나, 개체가 더욱 교차적합 양립성 공여자를 가질 수 있게 하거나, 이식편을 제공받는 개체의 가능성 또는 확률을 증가시키거나, 이식편에 대한 개체의 예상된 대기 기간을 단축하거나, 개체를 탈민감화시키거나, 이식-연관된 증상 또는 상태 (가령, 아래에 설명된 바와 같은 면역-매개된 사건)의 위험을 낮추거나, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다.

[0199] 가령, 이식을 제공받는 개체의 성공적인 치료는 장기간 동안 이식된 장기 또는 조직의 보호 및 유지를 포함하지만 이에 한정되지 않는데, 이것은 장기 이식과 연관된 하나 또는 그 이상의 증상 또는 바람직하지 않은 상태, 예를 들면, 이러한 증상 또는 상태의 기능적 또는 조직학적 징후에 의해 예측될 때, 공여자-특이적 동종항체 (DSA)의 생산, GVHD, 항체-매개된 거부반응 (AMR), 초급성 이식편 거부반응, 만성 이식편 거부반응, 이식 실패 및 이식편 상실을 포함하지만 이들에 한정되지 않는 면역-매개된 사건을 제어하거나, 반전시키거나, 경감하거나, 지연시키거나, 또는 예방하는 것을 포함한다. 장애 또는 이상 (가령, 이식편 거부반응)을 제어할 수 있는 치료는 이러한 장애 또는 이상 (가령, 이식편 거부반응)의 기능적 또는 조직학적 징후가 관찰된 후 시작될 때, 질환 과정의 진행을 늦추는 치료를 포함할 수 있다. 게다가, 질환 또는 장애 (가령, 이식편 거부반응)를 반전시킬 수 있는 치료는 이러한 질환 또는 장애 (가령, 이식편 거부반응)의 기능적 또는 조직학적 징후가 나타난 후 시작될 때, 질환 과정을 반전시키고 기능적 및 조직학적 조사 결과를 정상에 더욱 가깝게 복귀시키는 치료를 포함할 수 있다. 장애 또는 이상 (가령, 이식편 거부반응)의 "진행을 지연"시킬 수 있는 치료는 이러한 장애 또는 이상 (가령, 이식편 거부반응)의 발달을 미루고, 저해하고, 늦추고, 지연시키고, 안정시키고 및/또는 연기하는 것을 포함할 수 있다. 이러한 지연은 질환의 병력 및/또는 치료되는 개체에 따라 시간 길이가 변할 수 있다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 충분한 또는 유의미한 지연은 실제로, 예방을 포괄할 수 있다, 다시 말하면, 개체, 예를 들면, 장애 또는 이상이 발달할 위험에 처해있는 개체는 이러한 장애 또는 이상이 발달하지 않는다.

[0200] 일부 구체예에서, 본 발명의 이식은 제한 없이, 골수, 신장, 심장, 간, 뉴런 조직, 폐, 췌장, 피부 및 장 (가령, 소장 및/또는 대장뿐만 아니라 이들의 임의의 하부조직)을 포함하는 하나 또는 그 이상의 조직 또는 장기의 이식일 수 있다.

[0201] 이에 더하여, 사가 항체는 건강한 개체 또는 특정 장애 또는 질환을 앓지 않는 개체에서 발견되는 활성화된 T 세포의 증식 및/또는 숫자에 비하여 활성화된 T 세포의 증가된 증식 및/또는 숫자와 연관되거나 또는 이것에 의해 유발된 (전체적으로 또는 부분적으로) 일정한 장애 및 질환을 예방하고 및/또는 치료하는데 유용하다. 본원에서 설명된 사가 항체를 이용하여 예방되고 및/또는 치료될 수 있는 장애 및 질환의 무제한적 실례는 이식편 대 숙주 질환 및 이식 거부반응의 사례 (동종이계 또는 이종계 조직을 이용한 이식 거부반응 포함), 예를 들면, 골수 이식, 간 이식, 신장 이식, 또는 임의의 장기 또는 조직의 이식을 포함한다.

[0202] 일부 구체예에서, 본 발명의 사가 항체 또는 조성물은 수혈 이전에, 수혈과 동시에 및/또는 수혈 이후에 개체에 투여될 수 있다. 가령, 아래에 더욱 상세하게 설명된 바와 같이, 본 발명의 사가 항체 또는 조성물은 우호적인 치료 결과의 가능성을 증가시키고, 불리한 결과의 가능성을 감소시키고 및/또는 수혈 이전에, 수혈과 동시에, 또는 수혈이 완결된 이후에 발생하는 증상을 경감하거나 또는 예방하기 위해 투여될 수 있다.

[0203] 본원에서 이용된 바와 같이, 수혈을 필요로 하는 개체를 치료하는 것은 치료적 처치 및 예방적 또는 방지적 조치 (가령, 우호적인 치료 결과, 예를 들면, 혈액 성분/세포의 대체 또는 보충의 가능성을 증가시키거나, 또는 불리한 결과, 예를 들면, 치료에 대한 불리한 반응, 치료의 무효력 또는 면역학적 반응의 가능성, 또는 우호적인 치료, 예를 들면, 수혈이 발생하는 가능성을 줄이는 조건을 감소시키는) 중에서 하나 또는 그 이상을 지칭할



수 있다. 치료하는 것은 제한 없이, 장애 또는 이상과 연관된 상태 및 증상 및/또는 장애 또는 이상의 치료 옵션에 대한 개체의 접근을 간접하거나 또는 제약하는 문제 또는 상태를 경감하거나 또는 예방하는 것을 포함할 수 있다. 치료가 필요한 개체는 장애 또는 이상을 이미 앓고 있는 개체뿐만 아니라 장애 또는 이상이 예방되어야 하는 개체를 포함한다. 장애 또는 이상의 치료는 이러한 장애 또는 이상과 연관된 면역-매개된 사건을 억제하고, 장애 또는 이상의 증상을 개선하고, 장애 또는 이상의 심각도를 감소시키고, 장애 또는 이상 진행의 코스를 변경하고 및/또는 기본 장애 또는 이상을 개선하거나 또는 치유할 수 있다.

[0204] 일부 구체예에서, 수혈은 백혈구, 적혈구 및 혈소판 중에서 하나 또는 그 이상을 포함하는 수혈이다. 일부 구체예에서, 수혈은 전혈, 또는 제한 없이, 백혈구, 적혈구, 혈소판, 신선 냉동 혈장, 냉동침전물 또는 혈액 응고 인자, 항체 및/또는 혈액 대체제를 포함하는 하나 또는 그 이상의 혈액 제제를 포함한다. 수혈 (가령, 혈액 또는 혈액 제제의 수혈)로 치료될 수 있는 예시적인 질환은 제한 없이, 출혈 또는 혈액 상실, 감소된 헤마토크리트 또는 헤모글로빈 (가령, 빈혈), 겸상 적혈구병, 지중해빈혈, 외과 시술 동안 또는 이후 혈액 보충, 심장 질환, 외상성 손상, 하나 또는 그 이상의 혈액 인자의 결핍 (가령, 혈우병, 폰빌레브란트 질환, 저섬유소원혈증, 또는 인자 II, V, VII, IX, X 또는 XI에서 결핍), 피브리노겐 보충을 필요로 하는 상태 (가령, 간 질환, 수혈 등), 골수 부전, 혈소판 기능 장애, 혈소판감소증, 면역결핍 (가령, 요법 또는 질환으로부터) 등을 포함한다. 수혈에 관련된 실시, 투약, 반응, 처방 및 제조물에 관한 설명은 가령, American Red Cross Compendium of Transfusion Practice Guidelines에서 발견될 수 있다.

[0205] 본원에서 설명된 방법에 따라서 사가 항체 또는 폴리펩티드의 투여는 예로서, 수용자의 생리학적 상태, 투여의 목적이 치료적 또는 예방적인 지의 여부, 그리고 숙련된 의사에게 공지된 다른 인자에 따라 연속적 또는 간헐적일 수 있다. 항체 또는 폴리펩티드의 투여는 미리 선별된 기간에 걸쳐 본질적으로 연속적일 수 있거나, 또는 일련의 이격된 투약일 수 있다.

[0206] 본원에서 설명된 사가 항체 또는 이의 제약학적 조성물의 투여의 용량과 빈도는 부작용을 최소화하면서 예방하고 및/또는 치료하기 위한 방법에 따라서 투여된다. 특정 개체에게 투여되는 본원에서 설명된 사가 항체 또는 이의 제약학적 조성물의 정확한 용량은 치료를 필요로 하는 개체에 관련된 인자에 비추어 의사에 의해 결정될 수 있다. 고려될 수 있는 인자는 질환 상태의 심각도, 개체의 전반적인 건강, 개체의 연령 및 체중, 식이, 투여의 시간과 빈도, 다른 치료적 작용제 또는 약물과의 조합(들), 반응 감수성 및 요법에 대한 내성/반응을 포함한다. 본원에서 설명된 사가 항체 또는 이의 제약학적 조성물의 투여의 용량과 빈도는 충분한 수준의 항체 또는 항체 유래된 항원 결합 단편을 제공하거나, 또는 원하는 효과를 유지하기 위해 시간의 추이에서 조정될 수 있다.

[0207] 제제에서 이용되는 정확한 용량은 또한, 투여 루트 및 염증성 장애 또는 질환의 심각도에 의존할 것이고, 그리고 의사의 판단 및 각 환자의 환경에 따라 결정되어야 한다.

[0208] 유효 용량은 시험관내 또는 동물 모형 시험 시스템으로부터 도출된 용량 반응 곡선으로부터 외삽될 수 있다.

[0209] 한 구체예에서, 본원에서 설명된 임의의 조성물은 복막내, 정맥내, 피하 또는 근육내 주사, 또는 다른 형태의 투여, 예를 들면, 구강, 점막, 흡입을 통해, 설하 등에 의한 투여용으로 조제된다. 비경구 투여는 한 구체예에서, 피하, 근육내 또는 정맥내 주사에 의해 특징되고, 본원에서 또한 예기된다. 주사가능물질은 액체 용액 또는 현탁액, 주사에 앞서 액체에서 용액 또는 현탁액에 적합한 고체 형태로서, 또는 유제로서 전통적인 형태에서 제조될 수 있다. 이들 주사가능물질, 용액 및 유제는 또한, 하나 또는 그 이상의 부형제를 내포한다. 적합한 부형제는 예로서, 물, 식염수, 텍스트로스, 글리세롤 또는 에탄올이다. 이에 더하여, 원하는 경우에, 투여되는 제약학적 조성물은 또한, 미량의 비독성 보조 물질, 예를 들면, 적십제 또는 유화제, pH 완충제, 안정제, 용해도 개선제, 그리고 다른 이와 같은 작용제를 내포할 수 있다. 다른 투여 루트는 장 투여, 뇌내 투여, 코 투여, 동맥내 투여, 심장내 투여, 골내 주입, 척수강내 투여, 정맥내 주입, 피하 이식 또는 주사, 근육내 투여, 직장내 투여, 질내 투여, 위내 투여, 기관내 투여, 폐내 투여 및 복막내 투여를 포함할 수 있다. 비경구 투여를 위한 제조물은 즉석으로 주사되는 무균 용액, 즉석으로 주사되는 무균 현탁액을 비롯하여 이용 직전에 용매와 즉석으로 합동되는 무균 건성 가용성 산물, 예를 들면, 동결건조된 분말, 이용 직전에 운반제와 즉석으로 합동되는 무균 건성 불용성 산물, 그리고 무균 유제를 포함한다. 용액은 수성 또는 비수성일 수 있다. 정맥내 투여되면, 적합한 담체는 생리 식염수 또는 인산염 완충된 식염수 (PBS), 물, 그리고 농후화제 및 가용화제, 예를 들면, 글루코오스, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리프로필렌 글리콜 및 이들의 혼합물을 내포하는 용액을 포함한다.

[0210] 다른 구체예에서, 본 발명은 또한, 다른 분자, 예를 들면, 검출가능한 표지, 또는 치료적 또는 세포독성 작용제에 접합된 본 발명의 항체 또는 폴리펩티드를 포함하는 조성물의 투여를 예기한다. 이들 작용제는 방사성 동위



원소, 독소, 변성독소, 염증성 작용제, 효소, 안티센스 분자, 펩티드, 사이토킨, 그리고 화학요법 작용제를 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다. 항체를 이런 분자와 접합하는 방법은 당업자에게 전반적으로 알려져 있다. 가령, PCT 공보 WO 92/08495; WO 91/14438; WO 89/12624; U.S. 특허 번호 5,314,995; 및 EP 396,387을 참조한다.

[0211] 한 구체예에서, 조성물은 세포독성 작용제에 접합된 항체 또는 폴리펩티드를 포함한다. 세포독성 작용제는 세포에 유해한 임의의 작용제를 포함할 수 있다. 항체 또는 단편에 접합될 수 있는 세포독성 작용제의 예시적인 부류는 파클리탁솔, 시토칼라신 B, 그라미시딘 D, 에티뎀 브롬화물, 에메틴, 미토마이신, 에토포시드, 테니포시드, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 콜히친, 독소루비신, 다우노루비신, 디히드록시 안트라신 디온, 미톡산트론, 미트라마이신, 악티노마이신 D, 1-데히드로테스토스테론, 글루코코르티코이드, 프로카인, 테트라카인, 리도카인, 프로프라놀롤, 플로마이신, 그리고 이들의 유사체 또는 동족체를 포함할 수 있지만 이들에 한정되지 않는다.

## [0212] V. 제약학적 조성물

[0213] 본 발명은 또한, 본원에서 설명된 사가 항체 또는 폴리펩티드 및 제약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 제약학적 조성물을 제공한다. 제약학적 조성물은 예로서, 본 발명의 방법, 용도 및/또는 키트에서 용도를 발견할 수 있다.

[0214] 제약학적으로 허용되는 담체 또는 부형제는 당해 분야에서 공지되고, 그리고 약리학적으로 효과적인 물질의 투여를 용이하게 하는 상대적으로 비활성 물질이다. 가령, 부형제는 형태 또는 경도를 제공하거나, 또는 희석제로서 행동할 수 있다. 적합한 부형제는 안정화제, 적심제 및 유화제, 오스몰농도를 변화시키기 위한 염, 캡슐화 작용제, 완충액, 그리고 피부 침투 증강제를 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 일정한 구체예에서, 본원에서 설명된 사가 항체는 액체 제약학적 조성물 내에 있다. 액체 제약학적으로 투여가능한 조성물은 예로서, 본원에서 설명된 항체를 담체, 예를 들면, 예로서 물, 식염수, 수성 텍스트로스, 글리세롤, 글리콜, 에탄올 등에 용해시키거나, 분산시키거나, 또는 만약 그렇지 않으면 혼합하여 용액 또는 현탁액을 형성함으로써 제조될 수 있다. 원하는 경우에, 투여되는 제약학적 조성물은 또한, 미량의 비독성 보조 물질, 예를 들면, 적심제, 유화제, 가용화제, pH 완충제 등을 내포할 수 있다. 비경구 및 비주사 약물 전달을 위한 부형제뿐만 아니라 제제는 *Remington, The Science and Practice of Pharmacy* 20th Ed. Mack Publishing (2000)에서 진술된다.

[0215] 제약학적 조성물은 단위 복용 형태, 예를 들면, 적합한 양의 본원에서 설명된 사가 항체를 내포하는 무균 비경구 용액 또는 현탁액에서 인간 및 동물에 투여용으로 제공된다. 사가 항체는 한 구체예에서, 단위 복용 형태 또는 복수 복용 형태에서 조제되고 투여된다. 본원에서 이용된 바와 같이, 단위 투약 형태는 인간 및 동물 개체에 적합하고 당해 분야에서 공지된 바와 같이 개별적으로 포장된 물리적으로 구별된 단위를 지칭한다. 각 단위 용량은 필요한 제약학적 담체, 운반제 또는 희석제와 관련하여, 원하는 치료 효과를 산출하는데 충분한 미리 결정된 양의 항체 또는 항체 유래된 항원 결합 단편을 내포한다. 단위 투약 형태의 실례는 앰플 및 주입기를 포함한다. 단위 투약 형태는 분량 또는 이들의 복수에서 투여될 수 있다. 복수 투약 형태는 격리된 단위 투약 형태에서 투여되는 단일 용기에서 포장된 복수의 동일한 단위 복용 형태이다. 복수 투약 형태의 실례는 바이알, 또는 파인트 또는 갤런의 병을 포함한다. 따라서, 복수 투약 형태는 포장에서 격리되지 않는 복수의 단위 용량이다.

[0216] 제약학적 조성물에서 사가 항체의 농도는 가령, 항체 또는 항체 유래된 항원 결합 단편의 물리화학적 특징, 투여 일정 및 투여된 양뿐만 아니라 당업자에게 공지된 다른 인자에 의존할 것이다. 일부 구체예에서, 제약학적 조성물은 하루에 체중 킬로그램당 약 0.001 mg 내지 약 100 mg의 사가 항체의 용량을 제공한다. 제약학적 복용 단위 형태는 복용 단위 형태마다 약 0.001 mg 내지 약 100 mg 및/또는 다른 임의선택적 필수적인 성분의 조합을 제공하도록 제조될 수 있다.

[0217] 일부 구체예에서, 본 발명은 약제로서 용도 및/또는 약제의 제조를 위한 용도의 맥락에서 인지에 상관없이, 본원에서 설명된 방법 중에서 한 가지에서 이용을 위한 사가 항체 및 조성물 (가령, 본원에서 설명된 제약학적 조성물)을 제공한다.

## [0218] VI. 키트

[0219] 본 발명의 일정한 양상은 본 발명의 사가 항체를 포함하는 키트 또는 제조 물품에 관련된다. 임의선택적으로, 본원에서 설명된 키트는 하나 또는 그 이상의 제약학적으로 허용되는 담체, 예를 들면, 본원에서 설명된 예시적인 담체를 내포할 수 있다. 일부 구체예에서, 본 발명의 키트는 본 발명의 제약학적 조성물을 포함한다. 본원에서 설명된 키트는 예로서, 본 발명의 방법 또는 용도에서 용도를 발견할 수 있다.

- [0220] 키트는 추가 성분, 예를 들면, 완충액 및 해석 정보를 임의선택적으로 제공할 수 있다. 정상적으로, 키트는 용기 및 용기 상에 또는 용기와 결합된 라벨 또는 포장 삽입물(들)을 포함한다. 용기는 단위 용량, 벌크 패키지 (가령, 다중 용량 패키지) 또는 아단위 용량일 수 있다. 본 발명의 키트에서 공급된 사용설명서는 전형적으로, 라벨 또는 포장 삽입물 상에서 서면 사용설명서 (가령, 키트 내에 포함된 페이퍼 시트)이지만, 기계-판독가능한 사용설명서 (가령, 자성 또는 광학적 저장 디스크에서 제공된 사용설명서) 또한 허용된다.
- [0221] 일부 구체예에서, 키트는 T-세포 매개된 염증성 질환을 치료하기 위한 사가 항체의 투여를 위한 사용설명서를 포함하는 포장 삽입물을 더욱 포함한다. 일부 구체예에서, 키트는 수혈 또는 이식 이전에, 이것과 동시에 및/또는 이것 이후에 사가 항체의 투여를 위한 사용설명서를 포함하는 포장 삽입물을 더욱 포함한다.
- [0222] 본 발명의 키트는 적합한 포장 내에 있다. 적합한 포장은 바이알, 병, 항아리, 유연한 포장 (가령, 밀봉된 Mylar 또는 플라스틱 가방), 기타 등등을 포함하지만 이들에 한정되지 않는다. 특정한 장치, 예를 들면, 흡입기, 코 투여 장치 (가령, 분무기), 또는 주입 장치, 예를 들면, 미니펌프와 조합으로 이용을 위한 포장 또한 예기된다. 키트는 무균 접근 포트를 가질 수 있다 (가령, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 관통되는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 용기 역시 무균 접근 포트를 가질 수 있다 (가령, 용기는 피하 주사 바늘에 의해 관통되는 마개를 갖는 정맥내 용액 백 또는 바이알일 수 있다). 조성물 내에 최소한 하나의 활성제는 본원에서 설명된 사가 항체 또는 폴리펩티드이다. 용기는 두 번째 제약학적으로 활성제를 더욱 포함할 수 있다. 일부 구체예에서, 키트는 제한 없이, 하나 또는 그 이상의 용기, 배관, 살균제 또는 살균 설비, 삽관, 주입기 등을 비롯하여, 치료 (가령, 수혈 또는 이식)에서 유용한 임의의 다른 물질 또는 장치를 더욱 포함할 수 있다.
- [0223] 실시예
- [0224] 본 발명은 다음 실시예를 참조하면 더욱 완전하게 이해될 것이다. 하지만, 이들은 발명의 범위를 제한하는 것으로 해석되지 않아야 한다. 본 명세서에 기재된 실시예와 구체예는 단지 예시적인 목적을 위한 것이고, 그리고 이에 비추어 다양한 개변은 당업자에게 제시되고 본원의 기술적 사상과 이해범위 및 첨부된 청구항의 범위 내에 포함되는 것으로 이해된다.
- [0225] **실시예 1: 항-PSGL-1 사가 항체의 산출 및 특징화**
- [0226] P-셀렉틴 당단백질 리간드-1 (PSGL-1)은 골수성, 림프성, 수지상 및 CD34+ 줄기 세포 개체군을 비롯한 넓은 범위의 조혈 세포에서 발현된다 (가령, Spertini *et al.* 1996, *J Cell Biol.* 135(2):523-31을 참조한다). PSGL-1에 특이적이고 T 세포에서 아포토시스를 유도할 수 있는 여러 생쥐 항체가 이전에 확인되었다. 이들 생쥐 항체 중에서, 염증 조직을 표적으로 하기 위한 T 세포 및 호중구의 효율적인 국부화에 필요한, P-셀렉틴 및 PSGL-1 사이의 상호작용을 간섭하지 않는 항체 (h15A7)가 임상적 개발을 위해 선택되었고, 그리고 PSGL-1 발현 세포 상에서 ADCC 및 CDC를 최소화하기 위해 인간화 카파-경쇄 내포 IgG4 단일클론 항체로 변형되었다 (가령, U.S. 특허 번호 7,604,800을 참조한다). 차후에, h15A7은 h15A7H를 생산하기 위해 더욱 가공되었는데, 이것은 h15A7의 힌지 영역에서 SER228PRO의 돌연변이를 갖는다 (국제 출원 공개 번호 WO 2012/174001). 이러한 돌연변이는 생체 내에서 IgG4 항체 사이에서 분자간 교환인 항체 뒤섞임을 감소시키기 위해 도입되었다. 시험관내 연구는 h15A7/h15A7H가 후기 단계 활성화된 T 세포의 아포토시스를 우선적으로 유도하지만 다른 PSGL-1 발현 세포에서는 그렇지 않다는 것을 보여주었다. 이론에 한정됨 없이, h15A7H의 작용 기전은 시험관내에서 항체 교차연결제 및 생체내에서 아마도 FcR-발현 세포에 의해 매개되는, 인간 PSGL-1 분자의 교차연결에 최소한 부분적으로 의존하는 것으로 생각된다.
- [0227] 아래에 제공된 실시예는 h15A7H로부터 유래된 여러 교차연결제/FcR-발현 세포-독립된 사가 항체의 개발을 설명한다 (**도면 1a & 1b**). 이론에 한정됨 없이, 사가 항체는 임상적 개발에서 h15A7H에 비하여 이점, 예를 들면, T-세포 매개된 염증성 질환의 치료를 소유할 수 있다. 이들 결과는 사가 h15A7H 항체가 시험관내 및 트랜스 비로 둘 모두에서 부모 h15A7H 항체와 비교하여 증강된 효력을 보여준다는 것을 증명한다.
- [0228] 방법
- [0229] 세포 및 시약
- [0230] Sp2/0-Ag14 (ATCC<sup>®</sup>CRL-1581<sup>™</sup>) 및 Sp2/0-hPSGL-1은 10% FBS (GIBCO<sup>®</sup>, 카탈로그 번호 26140-079), 100 U/mL 페니실린/100 µg/mL 스트렙토마이신 (GIBCO<sup>®</sup>, 카탈로그 번호 15140) 및 1 mM 피루브산나트륨 (GIBCO<sup>®</sup>, 카탈로그

번호 11360)으로 보충된 90% DMEM (GIBCO<sup>®</sup>, 카탈로그 번호 11965-092<sup>™</sup>)에서 배양되었다.

[0231] h15A7H 항체는 국제 출원 공개 번호 WO 2012/174001에서 설명되었다. 본 연구에서 이용된 h15A7H 사가 항체는 Flp-In CHO 안정된 세포주로부터 생산되고, 단백질 A 친화성 크로마토그래피에 의해 정제되고, 그리고 Dulbecco의 인산염 완충된 식염수 (GIBCO<sup>®</sup> 카탈로그 번호 21600-069)/0.02% Tween-20 (JT Baker<sup>®</sup> X251-07)에서 유지되었다. 무관한 아이소타입 대조 항체로서 인간 IgG4p/κ가 Flp-In CHO 세포로부터 생산되었다. 12H5.5는 h15A7/h15A7H에 대한 무인 IgG1 항이디오타입 항체이다.

[0232] **동물**

[0233] 6-8 주령의 암컷 B6 생쥐는 BioLASCO Taiwan Co., Ltd, Taipei, Taiwan으로부터 획득되었다. 모든 생쥐는 특정한 병원체-없는 조건 하에 유지되었다. 모든 동물 연구는 the Institutional Animal Care and Use Committee의 지침에 따라서 수행되었다.

[0234] **항-PSGL-1 사가 항체 변이체의 작제**

[0235] *scDb<sub>2</sub>-Fc*

[0236] *scDb<sub>2</sub>-Fc* (**도면 1a**, 왼쪽)는 생체내에서 절반-항체 교환을 최소화하기 위한 힌지 영역에서 돌연변이와 함께, 인간 IgG4 Fc의 N 말단과 평형하게 융합된 단일 사슬 디아바디 (*scDbs*)의 2개 도메인을 포함하였다. 각 *scDb* 도메인은 VL-VH- VL- VH의 도메인 서열뿐만 아니라 VH 및 VL 사이에 링커 (G<sub>4</sub>S<sub>1</sub>)<sub>5</sub> (서열 번호:33) 및 VL 및 VH 사이에 2개의 동일한 링커 (가령, 서열 번호:34)를 내포하였다. 상이한 길이의 상기 링커를 갖는 여러 *scDb-Fcs*가 최적화를 위해 산출되었다.

[0237] *taFv<sub>2</sub>-Fc*

[0238] *taFv<sub>2</sub>-Fc* (**도면 1a**, 중앙)는 생체내에서 절반-항체 교환을 최소화하기 위한 힌지 영역에서 돌연변이와 함께, 인간 IgG4 Fc의 N 말단과 평형하게 융합된 2개의 탠덤 단일 사슬 가변 단편 (*scFv*) 단위 (탠덤 *scFv*의 경우에 *taFv*로 명명됨)를 포함하였다. VH 및 VL 사이에 링커 (G<sub>4</sub>S<sub>1</sub>)<sub>5</sub> (서열 번호:33)를 내포하는, v2 (VH-VL), v3 (VL-VH) 및 v4 (VL-VH) 버전을 비롯한 3가지 상이한 종류의 *scFvs*가 *taFv*를 작제하는데 이용되었다. 이들 사이에서, v2 및 v4는 VH44-VL100 이황화 결합의 형성에 의해 구조-제약되었다. VH44-VL100 이황화 결합은 증가된 입체형 태적 안정성을 위해 VL-VH 및 VH-VL 배향정위 둘 모두에서 *scFv* 내로 도입되었다 (서열 번호:29 및 30을 참조한다). 각 *taFv*는 항-PSGL-1 *scFv*의 순차적 v2-v3 또는 순차적 v4-v2를 가졌고, 링커 ASTGS (서열 번호:27)가 이들 2개의 *scFvs* 사이에 위치하였다.

[0239] *scFv-IgG*

[0240] 항-PSGL-1 *scFv*의 이황화물-제약된 v2 버전이 *scFv<sub>4</sub>-crIgG4p*, *scFv<sub>2</sub>-LC-IgG4p* 및 *LC-scFv<sub>2</sub>-IgG4p*를 비롯한 3개의 *scFv-IgG4p* 변이체를 산출하는데 이용되었다 (**도면 1a**, 오른쪽). *scFv<sub>4</sub>-crIgG4p*는 4개의 *scFv* 단위가 링커 없이, IgG4p (*crIgG*)의 카파 경쇄와 중쇄의 양쪽 불변 영역의 N 말단과 평형하게 융합되었다. *scFv<sub>2</sub>-LC-IgG4p*는 중간에 링커 ASTGSG<sub>4</sub>S (서열 번호:28)가 있는 2개의 *scFv* 단위가 h15A7H IgG의 카파 경쇄의 N 말단과 평형하게 융합되었고, 반면 *LC-scFv<sub>2</sub>-IgG4p*는 중간에 링커 (G<sub>4</sub>S)<sub>2</sub> (서열 번호:34)가 있는 2개의 *scFv* 단위가 h15A7H IgG의 카파 경쇄의 C 말단과 평형하게 융합되었다. *LC-scFv<sub>2</sub> IgG4p* 및 *scFv<sub>2</sub>-LC IgG4p* 형식의 경쇄는 항체 발현을 위해 무손상 h15A7H 중쇄 서열을 인코딩하는 pcDNA5/FRT 벡터 내로 별개로 하위클로닝되었다. **도면 1b**는 이들 사가 항체 형식의 다른 다이어그램을 보여주는데, 가변 단편은 음영된다.

[0241] 모든 사가 항체의 cDNAs는 사가 항체 발현을 위해 pcDNA5/FRT 벡터 (Invitrogen<sup>™</sup>, 카탈로그 번호: V6010-20) 내로 클로닝되었다.

[0242] **항-PSGL-1 사가 항체 변이체를 발현하는 안정된 세포주의 생산**

[0243] 항-PSGL1 사가 항체 변이체는 Flp-In CHO 세포 (Invitrogen<sup>™</sup>, 카탈로그 번호: R708-07)에서 안정되게 발현되고 생산되었다. 사가 항체 변이체의 cDNA 서열은 판매자에 의해 제공된 표준 절차에 따라서, pcDNA5/FRT 벡터

(Invitrogen™, 카탈로그 번호: V6010-20) 내로 삽입되고 pOG44 (Invitrogen™, 카탈로그 번호 V6005-20)로 동시 형질감염되었다. 확립 세포주의 배양 상층액이 수집되고 단백질 A 세파로오스 비드 (GE Healthcare™, 카탈로그 번호: 17-5280-04)로 정제되었다. 정제된 단백질은 항체의 품질을 담보하기 위해 SDS-PAGE 및 크기 배제 크로마토그래피 둘 모두로 분석되었다.

**[0244] 환원 및 비환원 SDS-PAGE (황산도데실나트륨 폴리아크릴아미드 겔 전기이동)**

[0245] 정제된 항-PSGL-1 사가 항체는 10% 환원 및 비환원 SDS 폴리아크릴아미드 겔에서 전기영동되었다. 환원 SDS 폴리아크릴아미드 겔의 경우에, 2 µg의 항체가 5X SDS 표본 완충액 (300mM Tris, pH6.8, 10% SDS, 50% 글리세롤, 5% 2- 메르캅토에탄올 및 0.06% 브로모페놀 블루)과 혼합되고 부하 전 100℃에서 10 분 동안 끓여졌다. 비환원 SDS 폴리아크릴아미드 겔의 경우에, 2 µg의 항체가 5X 비환원 표본 완충액 (300mM Tris, pH6.8, 10%SDS, 50% 글리세롤 및 0.06% 브로모페놀 블루)와 혼합되고 부하 전 100℃에서 10 분 동안 끓여졌다. 환원 및 비환원 단백질 표본은 동일한 SDS-폴리아크릴아미드 겔 위에 부하되었고, 여기서 전기이동이 수행되었다. 쿠마시 블루 염색이 전기이동 후 겔 상에서 단백질을 검출하는데 이용되었다.

**[0246] 항-PSGL-1 사가 항체 변이체의 결합 검정**

[0247] 인간 PSGL-1(Sp2/0-hPSGL1)로 형질감염된 Sp2/0 세포가 PSGL-1 발현 세포주로서 이용되었다. Sp2/0-hPSGL1 세포는 1200rpm에서 5 분 동안 원심분리되었다. 세포 펠렛은 FACS 완충액 (1% FBS를 내포하는 PBS)에서 재현탁되고 96 웰 평판 (1x10<sup>5</sup> 세포/웰) 내로 피펫팅되었다. 각 웰에 인간화 15A7H(h15A7H) / 사가 항체를 내포하는 100 µl의 상층액이 첨가되었고, 그리고 이들은 4℃에서 60 분 동안 배양되었다. 이들 세포는 차가운 FACS 완충액으로 3회 세척되고, 그리고 이후, 1µg/ml 농도에서 100 µl의 생쥐 항인간 IgG<sub>4</sub> pFc'-PE (SouthernBiotech 카탈로그 번호 9190-09)와 함께 4℃에서 60 분 동안 배양되었다. 차후에, 이들 세포는 차가운 FACS 완충액으로 3회 세척되고 FACS 분석에 의해 분석되었다. 모든 유세포 계측 분석은 Cell Quest 소프트웨어를 이용하여 BD-LSR 유세포분석기 (Becton Dickinson)에서 수행되었다.

**[0248] 항-PSGL-1 사가 항체 변이체의 아포토시스 검정**

[0249] 1x10<sup>5</sup> Sp2/0-hPSGL1 세포가 96-웰 평판의 웰 내로 파종되었다. 적정된 농도에서 정제된 항-PSGL-1 사가 및 대조 항체의 분취량이 새로 준비되고 각 웰에 첨가되었다. 처리된 세포는 세포 아포토시스 검정을 위한 FACS 분석 전 6 시간 동안 37 °C에서 유지되었다.

[0250] 세포 아포토시스 검정을 위해, 아넥신-V-FITC 아포토시스 검출 키트 (Strong Biotech, 카탈로그 번호 AVK250)가 제조업체의 사용설명서에 따라서 이용되었다. 간단히 말하면, 처리된 세포는 수확되고, 그리고 0.5 µl 아넥신 V-FITC를 내포하는 100 µl 아넥신 V 결합 완충액에서 실온에서 재현탁되었다. 어둠 하에 15 분 배양 후, 이들 세포는 200 µl의 아넥신 V 결합 완충액으로 2회 세척되었다. FACS 분석 전, 표본당 1 µl의 프로피디움 요오드화물 (PI)이 첨가되었다. 모든 유세포 계측 분석은 Cell Quest 소프트웨어를 이용하여 BD-LSR 유세포분석기 (Becton Dickinson)에서 수행되었다. 아넥신 V 양성 및/또는 PI 양성 세포는 아포토시스성 세포인 것으로 고려된다.

**[0251] 인간 말초혈 단핵 세포 (PBMCs)의 분리**

[0252] 500 ml 전혈이 우수한 파상풍 반응자로서 이전에 시험된 건강한 공여자로부터 수집되었다. 상기 혈액은 1500 rpm에서 6 분 동안 원심분리되었다. 위쪽 혈장 층이 폐기되었고, 그리고 잔존 혈액이 동등 부피의 PBS로 희석되었다. 희석된 전혈은 피콜 (GE, Ficoll Plaque Plus, Cat #17-1440-02) 층 위에 조심스럽게 첨가되고 2400 rpm에서 실온에서 15 분 동안 원심분리되었다. 단핵 세포를 내포하는 백혈구연층 층이 수집되고, 그리고 혈소판 오염을 최소화하기 위해 PBS로 3 회 세척되었다. 이들 세포는 PBS에서 재현탁되고 이용 전에 얼음 위에서 유지되었다.

**[0253] 트랜스 비보 지연형 과민증 (DTH)**

[0254] 0.25LF 단위의 PBS-투석된 파상풍 독소이드 (TT, Kuo Kwang, Cat# K4103-11) 또는 PBS와 함께 8-10 x 10<sup>6</sup> PBMC 세포가 암컷 B6 생쥐의 뒤쪽 풋패드 내로 50 µl의 최종 용적에서 주사되었다. 6~8 주의 생쥐가 모든 실험에서 이용되었다. 풋패드 두께가 다이얼 두께 게이지를 이용하여 주사 전 및 주사후 24 시에 계측되었다. 주사전 값은 순 (net) 발 두께를 획득하기 위해 주사후 값으로부터 감산되었다. 모든 계측 값은 밀리미터 (mm)에서 기록



되었다. PBS에서 적정된 h15A7H 및 h15A7H 사가 항체는 PBMC 및 TT 주사에 1 시간 앞서, 지시된 용량에서 B6 생쥐 내로 정맥내 투여되었다. PBS는 운반제 대조로서 이용되었다. 처리마다 2 또는 4개의 발 (1 또는 2마리 생쥐)이 시험되었다. 항체 변이체의 농도를 점검하기 위해 혈장 표본이 Ab 투여 후 24 시에 수집되었다. 발 두께의 저해 퍼센트는 아래와 같이 계산되었다:  $100 \times (\Delta \text{ 발 두께}_{\text{운반제}} - \Delta \text{ 발 두께}_{\text{Ab}}) / (\Delta \text{ 발 두께}_{\text{운반제}} - \Delta \text{ 발 두께}_{\text{PBMC 단독}})$ .

[0255] 생쥐 혈장에서 항체 농도를 검출하기 위한 ELISA

[0256] 96-웰 마이크로역가 평판은 ELISA 코팅 완충액 (30mM Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/100mM NaHCO<sub>3</sub>)에서 0.5 μg/mL에서 항이디오타입 항체 12H5.5로 4°C에서 하룻밤 동안 코팅되었다. 평판은 이후, PBS에서 200 μL/웰의 0.5% BSA로 실온에서 1 시간 동안 차단되고, 그리고 ELISA 세척 완충액 (PBS에서 0.05% Tween20)으로 3 회 세척되고, 그 이후에 50 μL/웰의 보정 표준 또는 표본이 첨가되었다. 계열 희석에서 보정 표준이 먼저, 정상적인 생쥐 혈장에서 제조되었다. 보정 표준 또는 표본은 검정 희석제 (PBS에서 0.1% BSA 및 0.05% Tween 20)에서 1000X 미리 희석되어, 평판 위에 분여하기 전, 검정 희석제에서 0.1% 생쥐 혈장의 최종 농도가 만들어졌다. 필요하면, 0.1% 정상적인 생쥐 혈장을 내포하는 검정 희석제를 이용하여 차후 희석액이 제조되었다. 실온에서 1 시간 배양 및 ELISA 세척 완충액으로 5 회 세척 후, 이차 항체 생쥐 항인간 IgG<sub>4</sub> pFc'-HRP (SouthernBiotech 카탈로그 번호 9190-05; 희석 1:15000)가 50 μL/웰에서 첨가되고 실온에서 1 시간 동안 배양되었다. 평판은 이후, ELISA 세척 완충액으로 5 회 세척되고, 그 이후에 발색 현상을 위해 TMB 기질이 첨가되었다. 반응은 0.5N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에 의해 중지되었고, 그리고 흡광도 값이 마이크로역가 평판판독기 (Molecular Device VERSAmax)에서 450 nm에서 측정되었다.

[0257] 결과

[0258] 인간화 15A7H 사가 항체의 환원 및 비환원 SDS-PAGE

[0259] 도면 2a-2c에서 보여 지는 바와 같이, SDS-PAGE, 그 이후에 쿠마시 블루 염색이 비환원 및 환원 조건 하에 항-PSGL-1 사가 항체의 분자량 및 기본 구조를 실증하는데 이용되었다. 비환원 조건 하에 h15A7H V2-V3, V4-V2 및 LH10-g4pFc는 대략 150kDa의 분자량을 갖는 주요 단백질 띠를 산출하였다 (도면 2a). 동일한 조건에서, h15A7H scFv<sub>2</sub>-LC IgG4p, LC-scFv<sub>2</sub> IgG4p 및 scFv<sub>4</sub>-crIgG4p는 대략 200kDa의 분자량을 갖는 주요 단백질 띠를 산출하였다 (도면 2b).

[0260] 환원 조건 하에, h15A7H V2-V3, V4-V2 및 LH10 g4pFc는 대략 75 kDa의 예상된 분자량을 갖는 단일 띠를 보여주었고, 반면 h15A7H scFv<sub>2</sub>-LC 및 LC-scFv<sub>2</sub> 둘 모두 대략 50 kDa의 유사한 분자량을 갖는 2개의 주요 띠를 보여주었다 (도면 2c). 하나의 띠는 scFv-LC 또는 LC -scFv 융합 단백질이었고, 그리고 다른 띠는 야생형 h15A7H 중쇄이었다. scFv<sub>4</sub>-crIgG4p 또한 2개의 주요 띠를 보여주었는데, 하나는 scFv-CH1-힌지-CH2-CH3 (대략 62.5kDa) 융합 단백질을 나타내고, 그리고 다른 하나는 scFv-카파-융합 (대략 37.5kDa) 단백질을 나타낸다 (도면 2c). 대조로서, h15A7H는 비환원 겔에서 150 kDa의 예상된 분자량을 갖는 단일 띠 (도면 2a & 2b) 및 환원 조건 하에 2개의 주요 띠 (중쇄: 50 kDa, 경쇄: 25 kDa) (도면 2c)를 제공하였다.

[0261] SP2/O-hPSGL-1 및 SP2/O에 인간화 15A7H 사가 항체 변이체의 결합

[0262] h15A7H 사가 항체의 결합 능력은 인간 PSGL-1 SP2/O 세포에서 평가되었다. h15A7H 사가 항체는 SP2/O-hPSGL-1에 긍정적으로 결합하지만, hPSGL-1 항원을 결여하는 부모 SP2/O 세포에서는 그러지 않았다 (아래의 표 A). 추가적으로, 야생형 h15A7H 및 모든 h15A7H 사가 항체는 SP2/O-hPSGL-1에서 유사한 결합 활성을 제공하였다 (표 A). 이들 결과는 h15A7H 사가 항체가 hPSGL-1 분자에 대한 결합 반응성을 유지한다는 것을 증명하였다.



[0263] 표 A. SP2/O-hPSGL-1 및 SP2/O에 대한 인간화 15A7H 사가 항체의 결합 활성 (평균 형광 강도에 의해 측정됨).

(μg/mL)	SP2/O-hPSGL-1				SP2/O			
	3	1	0.3	0.1	3	1	0.3	0.1
h15A7H	4667	6400	5943	3410	17	26	8	8
h15A7H LH10-g4pFc	4627	6677	5410	2902	19	18	31	30
h15A7H V2-V3-g4pFc	4535	6260	5731	3156	33	22	26	17
h15A7H scFv <sub>2</sub> -LC-IgG4p	4382	5744	7060	5543	24	12	11	24
h15A7H V4-V2-g4pFc	4923	6779	6454	3953	23	20	21	14
h15A7H scFv <sub>4</sub> -crIgG4p	5938	6013	4637	2640	30	28	18	8
h15A7H LC-scFv <sub>2</sub> -IgG4p	6026	5822	3477	3042	24	23	25	3
hIgG4p (대조)	28	ND	ND	ND	33	ND	ND	ND

[0264]

[0265] ND: 결정되지 않음

[0266] 인간화 15A7H 사가 항체에 의해 유도된 SP2/O-hPSGL-1 세포의 시험관내 아포토시스

[0267] 아포토시스의 유도는 h15A7H 또는 사가 항체와 함께 배양 후, SP2/O-hPSGL-1 세포에서 아넥신 V 및/또는 PI의 염색에 의해 평가되었다. 아래 표 B에서 보여 지는 바와 같이, 부모 항체, h15A7H는 교차연결제의 부재에서 0.5 및 0.0625 μg/mL의 시험된 농도에서 SP2/O-hPSGL-1 세포에서 아포토시스를 유도하지 않았다. 0.5 μg/mL의 시험된 농도에서, 모든 h15A7H 사가 항체는 아포토시스를 유도하였다 (18-36%의 범위에서). 시험된 가장 낮은 농도 (0.0625 μg/mL)에서, 6개의 사가 h15A7H 항체 중에서 3개, LH10-g4pFc, V2-V3-g4pFc 및 scFv<sub>2</sub>-LC-IgG4p는 12-16%의 세포에서 아포토시스를 유도하였고, 반면 h15A7H V4-V2-g4pFc, scFv<sub>4</sub>-crIgG4p 및 LC-scFv<sub>2</sub>-IgG4p는 이리 한 더욱 낮은 용량에서 SP2/O-hPSGL-1에서 세포 사멸을 유도하지 않았다. 이들 데이터는 모든 h15A7H 사가 항체가 아포토시스-유도 능력을 소유하지만, 일부 사가 항체만 더욱 큰 효능을 갖는다는 것을 명확하게 증명한다.

[0268] 표 B. 인간화 15A7H 사가 항체에 의해 유도된 SP2/O-hPSGL-1 세포의 시험관내 아포토시스.

아포토시스 % (기질 배경, n=4)	0.5 μg/mL		0.0625 μg/mL	
	평균	SD	평균	SD
h15A7H	2.75	3.95	1.5	3.32
h15A7H LH10-g4pFc	26.75	11.32	11.75*	5.50
h15A7H V2-V3-g4pFc	26.5	5.69	13.5*	5.45
h15A7H scFv <sub>2</sub> -LC-IgG4p	23.75	9.00	15.5*	5.69
h15A7H V4-V2-g4pFc	30	4.55	0.5	3.00
h15A7H scFv <sub>4</sub> -crIgG4p	35.75	7.63	1.75	2.87
h15A7H LC-scFv <sub>2</sub> -IgG4p	18	9.83	0.5	4.20

[0269]

[0270] SD: 표준 편차

[0271] \* T 검증 P 값<0.05 (V4-V2-g4pFc, scFv<sub>4</sub>-crIgG4p 및 LC-scFv<sub>2</sub>-IgG4p로 처리와 비교하여).

[0272] B6 생쥐에서 트랜스 비보 DTH 반응의 저해에서 h15A7H 및 h15A7H 사가 항체의 효력

[0273] 앞서 설명된 h15A7H 및 h15A7H 사가 항체는 B6 생쥐에서 트랜스 비보 DTH 반응의 저해에서 그들의 효력에 대해 시험되었다. h15A7H 항체는 10 및 1mg/kg의 용량에서 생쥐 내로 정맥내 주사되었고, 반면 사가 항체는 1 및 0.3 mg/kg의 용량에서 생쥐 내로 정맥내 주사되었다. 실험은 4마리 상이한 공여자로부터 PBMCs를 이용하여 수행되었고, 그리고 생체내 저해성 효력을 평가하기 위해 저해 %가 계산되었다.

[0274] 아래 표 C에서 보여 지는 바와 같이, h15A7H 항체는 콧패드 팽화를 10mg/kg의 용량에서 평균 93% 저해할 수 있었다. 이러한 저해 효과는 1mg/kg의 저용량에서 23%로 감소되었다. 15A7H 사가 항체의 경우에, 변이체, 예를 들면, h15A7H LH10-g4p Fc, V2-V3-g4pFc 및 scFv<sub>2</sub>-LC-IgG4p는 심지어 1 또는 0.3 mg/kg의 용량에서도 저해에 여전히 효과적이었다 (59-76% 저해).

[0275] 표 C. 트랜스 비보 DTH에 대한 h15A7H 및 h15A7H 사가 항체의 효과.

10 mg/kg에서 저해 %	실험 1	실험 2	실험 3	실험 4	평균	SEM
h15A7H	71	104	82	116	93	10.2
1mg/kg에서 저해 %	실험 1	실험 2	실험 3	실험 4	평균	SEM
h15A7H	15	28	18	32	23	4.0
h15A7H LH10-g4pFc	75	51	109	69	76	12.1
h15A7H V2-V3-g4pFc	29	33	100	91	63	18.7
h15A7H scFv <sub>2</sub> -LC-IgG4p	53	34	104	93	71	16.3
h15A7H V4-V2-g4pFc	ND	ND	11	44	27	16.5
h15A7H scFv <sub>4</sub> -cr IgG4p	14	2	-18	6	1	6.8
h15A7H LC-scFv <sub>2</sub> -IgG4p	-17	16	14	29	10	9.8
0.3 mg/kg에서 저해 %	실험 1	실험 2	실험 3	실험 4	평균	SEM
h15A7H LH10-g4pFc	28	73	109	50	65	17.2
h15A7H V2-V3-g4pFc	24	47	127	80	69	22.3
h15A7H scFv <sub>2</sub> -LC-IgG4p	74	24	66	73	59	11.8
h15A7H V4-V2-g4pFc	ND	ND	-16	11	-2	13.7
h15A7H scFv <sub>4</sub> -cr IgG4p	2	9	-7	6	3	3.6
h15A7H LC-scFv <sub>2</sub> -IgG4p	-4	19	5	15	9	5.2

[0276]

[0277] ND: 결정되지 않음.; SEM : 평균의 표준 오차

[0278] h15A7H 및 h15A7H 사가 항체의 혈장 수준이 또한, i.v. 투여 후 24 시에 측정되었다 (표 D). 모든 항체는 생체 내에서 24 시간 순환 후 검출할 수 없었던 V4-V2-g4pFc를 제외하고, 1mg/kg에서 대략 6513-9025 ng/mL의 혈장 수준을 보여주었다. 이론에 한정됨 없이, 이들 결과는 h15A7H 및 사가 변이체 사이에서 효력에서 차이가 표 B에서 증명된 바와 같이, 아포토시스-유도 능력에서 차이에 주로 기인할 수 있었다는 것을 지지할 수 있는 것으로 생각된다.



WYQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTHFTLTISSLPEDFATYYCFQGSYVPLTFGQGTKVEIKggggsggggsEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFGMHVVRQAPGKGLEWVAYINGGSSTIFYANAVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYASYGGGAMDYWGQGLVTVSSgggsaaaESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGK

[0288] h15A7H LH10-g4pFc의 cDNA 서열 (서열 번호:2)

[0289] GACATTCAGATGACCCAATCTCCGAGCTCTTTGTCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGA AACACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGT GGCAGTGGGTCTGGGACACACTTCACCCTCACCATCTCTTCTGTCAGCCGGAGGATTCGCAACCTATTACTGTTTCAAGGTTTCATATGTTCTCTCACG TTCGTCAAGGCACCAAGGTGGAATCAAAGgtggagcggttcaggcgaggtggctctGAAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTAGTGCAGCCT GGAGGAAGCTTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAAGTGGTTCGCAAGGCTCCAGGGAAGGGACTCGAGTGGGTGC ATACATTAATGGTGGCAGTAGTACCATCTTCTATGCAACGACAGTGAAGGCGGATTACCATCTCCAGAGATAATGCCAAGAACCCTGTACCTGCAA ATGAATTCTCTGAGGGCTGAGGACACGCGCTGTATTACTGTGCAAGATATGCTAGTACGAGGGGGTCTATGGACTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGC ACAGTCTCCTCAggtggagcggttcaggcgaggtggctctggcggtggcggtccggagggcgaggttcgggaggtggcggaagtGACATTCAGATGACC CAATCTCCGAGCTCTTTGTCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGAACACCTATTTGAA TGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGG ACACACTTCACCCTCACCATCTCTTCTGTCAGCCGGAGGATTCGCAACCTATTACTGTTTCAAGGTTTCATATGTTCTCTCACGTTCCGTTCAAGGCACC AAGGTGGAATCAAAGgtggagcggttcaggcgaggtggctctGAAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGAAGCTTGAGA CTCTCTGTGTCAGCCTCTGGATTCACTTTCAAGTGGTTCGCAAGGCTCCAGGGAAGGGACTCGAGTGGGTGCATACATTAATGGT GGCAGTAGTACCATCTTCTATGCAACGACAGTGAAGGCGGATTACCATCTCCAGAGATAATGCCAAGAACCCTGTACCTGCAAATGAATTCTCTGAGG GCTGAGGACACGCGCTGTATTACTGTGCAAGATATGCTAGTACGAGGGGGTCTATGGACTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGCAGTCTCCTCAgga ggcgaggttcggcgcccgcaGAGTCCAATATGGTCCCCCATGCCACCATGCCAGCACCTGAGTTCTCGGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCTGTCCCCCA AAACCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTG GATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAGCCGCGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTACAGCTCCTCACCCTCTGCACAGGACTGG CTGAACGGCAAGGAGTACAAGTCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAG GTGTACACCCTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGG GAGAGCAATGGGCAGCCGAGAGACAACCTACAAGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGC AAGGTGGCAGGAGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCAACCACTACACACAGAAGAGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAATGA

[0290] h15A7H V2-V3-g4pFc의 아미노산 서열 (서열 번호:3)

[0291] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFGMHVVRQAPGKCLEWVAYINGGSSTIFYANAVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYASY GGGAMDYWGQGLVTVSSggggsgggsgggsgggsgggsggggsDIQMTQSPSSLSASVGRVITICRSSQSI VHNDGNTYFEWYQKPGKAPKLLIYKVSNR FSGVPSRFSGSGSGTHFTLTISSLPEDFATYYCFQGSYVPLTFGCGTKVEIKastgsDIQMTQSPSSLSASVGRVITICRSSQSI VHNDGNTYFEWYQK PGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTHFTLTISSLPEDFATYYCFQGSYVPLTFGQGTKVEIKggggsgggsgggsgggsgggsggggsEVQLVESGG GLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFGMHVVRQAPGKGLEWVAYINGGSSTIFYANAVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYASYGGGAMDYWG QGTLVTVSSggggsggggsaaaESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLGK

[0292] h15A7H V2-V3-g4pFc의 cDNA 서열 (서열 번호:4)

[0293] GAAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGAAGCTTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAAGTGGTTCGCAAGGCTCCAGGCTCCAGGGAAGTGTCTCGAGTGGGTGCATACATTAATGGTGGCAGTAGTACCATCTTCTATGCAACGACAGTGAAGGCGGATTACCATCTCCAGAGATAATGCCAAGAACCCTGTACCTGCAAATGAATTCTCTGAGGGCTGAGGACACGCGCTGTATTACTGTGCAAGATATGCTAGTTAC GGAGGGGGTCTATGGACTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGCAGTCTCCTCAggtggagcggttcaggcgaggtggctctggcggtggcggtccggagggaggttcgggaggtggcggaagtGACATTCAGATGACCCAATCTCCGAGCTCTTTGTCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCT AGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGAACACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGA TTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACACACTTCACCCTCACCATCTCTTCTGTCAGCCGGAGGATTCGCAACCTATTACTGT TTTCAAGGTTTCATATGTTCTCTCACGTTCCGTTGGGACCAAGGTGGAATCAAAGctcaaccggttcagGACATTCAGATGACCCAATCTCCGAGCTCT TTGTCTGCGTCTGTAGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGAACACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAA CCAGGAAAGGCACCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACACACTTCACCCTC



ACCATCTCTTCTCTGCAGCCGGAGGATTTTCGCAACCTATTACTGTTTTCGAAGGTTTCATATGTTCTCTCACGTTTCGGTCAAGGCCACCAAGGTGGAAATCAAA  
gggtggaggcgggttcaggcggagggtggctctggcgggtggcggatcggaggcggagggttcggagggtggcgaagtGAAGTGCACACTGGTGGAGTCTGGGGGA  
GGCTTAGTGACGCTGGAGGAAGCTTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTACATTTACAGTAGCTTTGGAAATGCACACTGGGTTCGCCAGGCTCCAGGGAAG  
GGACTCGAGTGGGTGCATACATTAAATGGTGGCAGTAGTACCATCTTCTATGCAAAACGCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGATAATGCCAAGAAC  
ACCCTGTACCTGCAAAATGAATTCTCTGAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAAGATATAGTCTAGTTACGGAGGGGGTGCTATGGACTATTATGGGGC  
CAAGGCACCTTGGTACAGTCTCCTCAggaggcggagggttcgcggccgcgaGAGTCCAAATATGGTCCCCATGCCACCATGCCAGCACCTGAGTTCCTG  
GGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACAGTGCCTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAA  
GACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTC  
AGCGTCTCTACCGTCTGCAACCAGGACTGGTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCCTCCCGTCTCTCCATCGAGAAAAACCATCTCC  
AAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCTTGCCCCATCCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC  
TTCTACCCACGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACCTACAAGACCACGCTCCCGTGTCTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC  
CTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAG  
AGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

[0294] h15A7H V4-V2-g4pFc의 아미노산 서열 (서열 번호:5)

[0295] DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRSSQSIVHNDGNTYFEWYQQKPKGAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTHFTLTISLQPEDFATYYCFQGSYVPLT  
FGCGTKVEIKgggsgggsgggsgggsgggsgggsgEVQLVESGGGLVQP GGSRLSCAASGFTFSFGMHVWRQAPGKCLEWVAYINGGSSTIFYANAVKGR  
FTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYASYGGGAMDYWQGTLTVTVSSastgsEVQLVESGGGLVQP GGSRLSCAASGFTFSFGMHVWRQAPGK  
LEWVAYINGGSSTIFYANAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYASYGGGAMDYWQGTLTVTVSSgggsgggsgggsgggsgggsgD  
IQMTQSPSSLSASVGRVTITCRSSQSIVHNDGNTYFEWYQQKPKGAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTHFTLTISLQPEDFATYYCFQGSYVPLTF  
GCGTKVEIKgggsgaaESKYGPCCPCPAPEFLGGPSVFLFPKP KDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGEVHNAKTKPREEQFNSTYRVV  
SVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFF  
LYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLGLG

[0296] h15A7H V4-V2-g4pFc의 cDNA 서열 (서열 번호:6)

[0297] GACATTTCAGATGACCCAATCTCCGAGCTCTTTGCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGA  
AACACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGT  
GGCAGTGGGTCTGGGACACACTTCAACCTCACCATCTCTTCTCTGACGCCGAGGATTTCGCAACCTATTACTGTTTCAAGGTTTCATATGTTCTCTCACC  
TTCGGTTGTGGCACCAAGGTGGAATCAAAAggtggaggcgggttcaggcggagggtggctctggcgggtggcggatccggaggcggagggttcggagggtggcgg  
agtGAAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGAAGCTTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTTTGGA  
ATGCACTGGGTTCGCCAGGCTCCAGGGAAGTGTCTCGAGTGGGTGCGATACATTAATGGTGGCAGTAGTACCATCTTCTATGCAAAACGCAGTGAAGGGCCGA  
TTCACCATCTCCAGAGATAATGCCAAGAACACCTGTACCTGCAATGAATTCTCTGAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAAGATATGCTAGT  
TACGGAGGGGGTGCTATGGACTATTGGGGCCAAGGCACCTGGTCACAGTCTCCTCAgcttcaaccggttcaGAAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGGC  
TTAGTGCAGCCTGGAGGAAGCTTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTCAGTAGCTTTGGAATGCATGGGTTCGCCAGGCTCCAGGGAAGTGT  
CTCGAGTGGGTGCGATACATTAATGGTGGCAGTAGTACCATCTTCTATGCAAAACGCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGATAATGCCAAGAACACC  
CTGTACCTGCAATGAATTCTCTGAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAAGATATGCTAGTTACGGAGGGGGTGCTATGGACTATTGGGGCCAA  
GGCACCTGGTTCACAGTCTCCTCAggtggaggcgggttcaggcggagggtggctctggcgggtggcggatccggaggcggagggttcggagggtggcggaaagtGAC  
ATTCAGATGACCAATCTCCGAGCTCTTTGCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGAAC  
ACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGTGGC  
AGTGGTCTGGGACACACTTCAACCTCACCATCTCTTCTCTGACGCCGAGGATTTCGCAACCTATTACTGTTTCAAGGTTTCATATGTTCTCTCAGGTTT  
GGTTGTGGCACCAAGGTGGAATCAAAAggaggcggagggttcaggcggcggcaGAGTCCAATATGGTCCCCCATGCCACCATGCCAGCACCTGAGTTCCTG  
GGGGGACCATCAGTCTTCTGTTCCTGTTCCCCCAAAACCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAA  
GACCCCGAGGTCCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTC  
AGCGTCTCACCCTCTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCATCTCC  
AAAGCCAAAGGGGACGCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCTGCCCCCATCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTACAGCTGACCTGCCTGGTCAAAGGC  
TTTACCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACGCCGAGAACTACAAGACCACGCCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTTC  
CTCTACAGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACACAGAAG  
AGCCTCTCCCTGTCTCTGGGTAATGA

[0298] h15A7H scFv<sub>2</sub>-LC-IgG4p 경쇄의 아미노산 서열 (서열 번호:7)

[0299] EVLVESGGGLVOPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMHVWROAPGKCLEWVAYINGGSSTIFYANAVKGRFTISRDNKNTLYLOMNSLRAEDTAVYYCARYASY

[0301] GAAGTGAACCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTAGTGCAGCCTGGAGGAAGCTTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACTTTTCAGTAGCTTTTGAATG  
CACTGGGTTTCGCCAGGCTCCAGGGAAGTGTCTCGAGTGGGTCGCATACATTAATGGTGGCAGTAGTACCATCTTCTATGCAAACGCAGTGAAGGGCCGATT  
ACCATCTCCAGAGATAATGCCAAGAACCCCTGTACCTGCAAATGAATCTCTGAGGGCTGAGGACACGGCCGTGTATTACTGTGCAAGATATGCTAGTTAC  
GGAGGGGGTGCTATGGACTATTTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCAAGTCTCCTCAggtggaggcggttcaggcgagggtggctctggcggtggcggtatccgga  
ggcgagggttcgggagggtggcggaagtGACATTCAGATGACCAATCTCCGAGCTCTTTGTCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCT  
AGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGAAACACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGA  
TTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACACACTTCACCCTACCATCTCTTCTCTGCAGCCGGAGGATTTGCAACCTATTACTGT  
TTTCAAGGTTTCATATGTTCTCTCACGTTTCGGTTGTGGCACCAGGTGGAAATCAAAGcttcaaccggttcaggagggtggcggaagtGACATTCAGATGACC  
CAATCTCCGAGCTCTTTGTCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGAAACACCTATTTTGAA  
TGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGG  
ACACACTTCACCCTACCATCTCTTCTCTGCAGCCGGAGGATTTGCAACCTATTACTGTTTTCAAGGTTTCATATGTTCTCTCACGTTTCGGTCAAGGCACC  
AAGGTGGAATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCTGCTG  
AATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACAGCAAGGAC  
AGCACCTACAGCTCAGCAGACCCTGACGTGAGCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTACCCATCAGGGCCTGAGCTCGCCC  
GTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

[illegible]

[0305] GACATTTCAGATGACCAATCTCCGAGCTCTTTGTCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGA  
AACACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGT  
GGCAGTGGGTCTGGGACACACTTCACCCTCACCATCTTCTCTGACGCCGAGGATTTCGCAACCTATTACTGTTTTC AAGGTTTCATATGTTCTCTCACC  
TTCGGTCAAGGCACCAAGGTGAAATCAAACGAACTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCT  
GTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTACAGAG  
CAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCTGACGCTGAGCAAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAG  
GGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTggtggagggcggttcaggcgagggtggctctGAAGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGA  
GGCTTAGTGACGCTGGAGGAAGCTTGAGACTCTCCTGTGACGCCTCTGGATTCACTTTTCAGTAGCTTTTGAATGCACTGGGTTCCGACAGGCTCCAGGGAAG  
TGTTCTCGAGTGGGTCGCATACATTAATGGTGGCAGTAGTACCATCTTCTATGCAAACGCAGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGATAATGCCAAGAAC  
ACCCTGTACCTGCAATGAATTCTCTGAGGGCTGAGGACACGGCCGTGATTACTGTGCAAGATATGCTAGTTACGGAGGGGGTGCTATGGACTATTGGGGC  
CAAGGCACCCTGGTCACAGTCTCCTCAggtgaggcggttcaggcgagggtggctctggcggtggcggtatccggaggcgagggttcgggaggtggcggaagt  
GACATTTCAGATGACCAATCTCCGAGCTCTTTGTCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACTATCACCTGCAGATCTAGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGA  
AACACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGATTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGT  
GGCAGTGGGTCTGGGACACACTTCACCCTCACCATCTTCTCTGACGCCGAGGATTTCGCAACCTATTACTGTTTTC AAGGTTTCATATGTTCTCTCACC  
TTCGGTTGTGGACCAAGGTGAAATCAAAGCGGCCGCACATCATCATCATCACCACCACCACCTAG

[0307] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSGFMHWVRQAPGKGLEWVAYINGGSSTIFYANAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVVYCARYASY  
GGGAMDYWGQGTLLVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPPSSSLGKTYTCN  
VDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSD~~ED~~PEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVL



GGAGGGGGTGTCTATGGACTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTCACAGTCTCCTCAggtggaggcggttcaggcgagggtggctctggcggtggcggtatccgga  
ggcgagggttcgggaggtggcggaagtGACATTCAGATGACCCAATCTCCGAGCTCTTTGTCTGCGTCTGTAGGGGATAGGGTCACCTATCACCTGCAGATCT  
AGTCAGAGCATTGTACATAATGATGGAAACACCTATTTTGAATGGTACCAACAGAAACCAGGAAAGGCACCCAAGCTTCTCATCTATAAAGTTTCCAATCGA  
TTTTCTGGTGTCCCATCCAGGTTTAGTGGCAGTGGGTCTGGGACACACTTACCCTCACCTCTTCTCTGCAGCCGGAGGATTCGCAACCTATTACTGT  
TTTCAAGGTTTCATATGTTCTCTCACGTTTCGGTTGTGGCACCAAGGTGGAAATCAAAGCTTCCACCAAGGGGCCATCCGTCTTCCCCTGGCGCCCTGCTCC  
AGGAGCACCTCCGAGAGCACAGCCGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACCAGCGGC  
GTGCACACCTTCCCGGTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACGAAGACCTACACCTGC  
AACGTAGATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGTCCAAATATGGTCCCCCATGCCACCATGCCAGCACCTGAGTTCCTGGGGGGA  
CCATCAGTCTTCTGTTCCTCCCTCCCAAGGACACTCTCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTACGTGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGGAAGACCCC  
GAGGTCCAGTTCACTGGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTTCAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTC  
CTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAAGTGAAGGTCTCCAACAAAGGCCTCCCGTCTCCATCGAGAAAACCTCTCCAAAGCC  
AAAGGGCAGCCCGAGAGCCACAGGTGTACACCTGCCCTCCCTCCAGGAGGATGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTAC  
CCCAGCGACATCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTAC  
AGCAGGCTAACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGGAGGGGAATGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACAGAAGAGCCTC  
TCCCTGTCTCTGGGTAAATGA

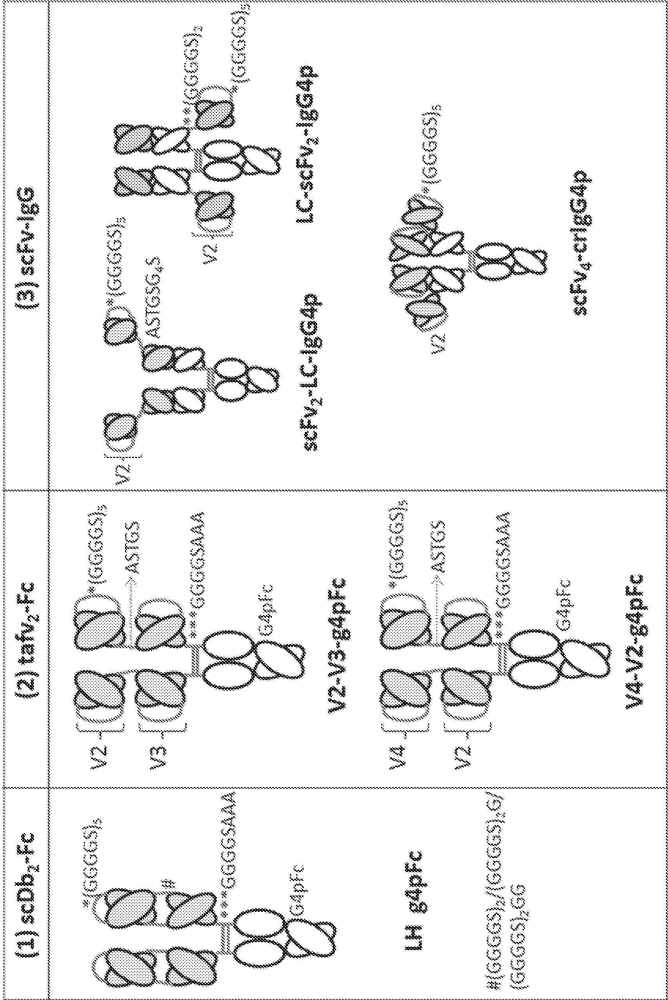
- [0318] h15A7H CDR-H1의 아미노산 서열 (서열 번호:17)
- [0319] SFGMH
- [0320] h15A7H CDR-H2의 아미노산 서열 (서열 번호:18)
- [0321] YINGGSSTIFYANAVKG
- [0322] h15A7H CDR-H3의 아미노산 서열 (서열 번호:19)
- [0323] YASYGGGAMDY
- [0324] h15A7H CDR-L1의 아미노산 서열 (서열 번호:20)
- [0325] RSSQSIVHNDGNTYFE
- [0326] h15A7H CDR-L2의 아미노산 서열 (서열 번호:21)
- [0327] KVSNRFS
- [0328] h15A7H CDR-L3의 아미노산 서열 (서열 번호:22)
- [0329] FQGSYVPLT
- [0330] h15A7H VH의 아미노산 서열 (서열 번호:23)
- [0331] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPGKGLEWVAYINGGSSTIFYANAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYASY  
GGGAMDYWGQGTLTVSS
- [0332] h15A7H VL의 아미노산 서열 (서열 번호:24)
- [0333] DIQMTQSPSSLSASVGDRTVITCRRSSQSIVHNDGNTYFEWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSSGSGTHFTLTISSLQPEDFATYYCFQGSYVPLT  
FGQGTKVEIK
- [0334] 링커 서열 반복의 아미노산 서열 (서열 번호:25)
- [0335] ggggs
- [0336] Fc를 갖는 링커의 아미노산 서열 (서열 번호:26)
- [0337] ggggsaaa
- [0338] taFv 링커의 아미노산 서열 (서열 번호:27)
- [0339] astgs
- [0340] scFv 경쇄 링커의 아미노산 서열 (서열 번호:28)



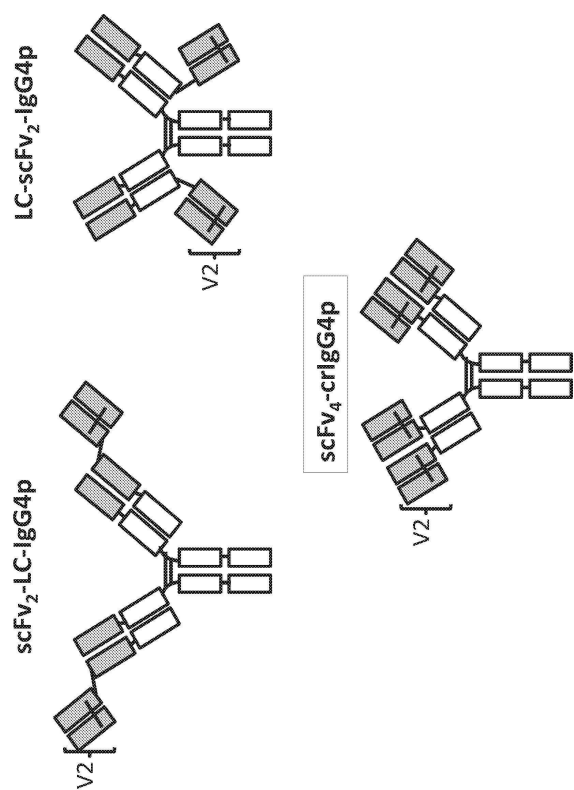
- [0341] astgsggggs
- [0342] h15A7H VH G44C의 아미노산 서열 (서열 번호:29)
- [0343] EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMHWVRQAPGKCLEWVAYINGGSSTIFYANAVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARYASY  
GGGAMDYWGQGTLTIVSS
- [0344] h15A7H VL Q100C의 아미노산 서열 (서열 번호:30)
- [0345] DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSQSIVHNDGNTYFEWYQQKPGKAPKLLIYKVSNRFSGVPSRFSGSGSGTHFTLTISLQPEDFATYYCFQGSYVPLT  
FGCGTKVEIK
- [0346] 인간 PSGL-1의 아미노산 서열 (서열 번호:31)
- [0347] MPLQLLLLL ILLGPGNSLQLWDTWADEAEKALGPLLARDRRQATEYEYLDYDFLPETEPPEMLRNSTDIT
- [0348] PLTGPGTPESTTVEPAARRSTGLDAGGAVTELTTELANMGNLSTDSAAMEIQTTPAATEAQTTPVPTE
- [0349] AQTTPLAATEAQTTRLTATEAQTTPLAATEAQTTPPAATEAQTTPGLEAQTTPAAMEAQTTPAAME
- [0350] AQTTPAAMEAQTTPAAMEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAAMEALSTEPSATEALSMEPTTKR
- [0351] GLFIPFSVSSVTHKGIPMAASNLVNYPVGPDPHISVKQCLLAILILALVATIFFVCTVVLAVRLSRKGGH
- [0352] MYPVRNYSPTMVCISLLPDGGEGPSATANGGLSKAKSPGLTPEPREDREGDDLTHSFLP
- [0353] 더욱 짧은 인간 PSGL-1 변이체의 아미노산 서열 (서열 번호:32)
- [0354] MPLQLLLLL ILLGPGNSLQLWDTWADEAEKALGPLLARDRRQATEYEYLDYDFLPETEPPEMLRNSTDIT
- [0355] PLTGPGTPESTTVEPAARRSTGLDAGGAVTELTTELANMGNLSTDSAAMEIQTTPAATEAQTTPAATE
- [0356] AQTTRLTATEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAAME
- [0357] AQTTPAAMEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAATEAQTTPAAMEALSTEPSATEALSMEPTTKRGLFIPFSVSS
- [0358] VTHKGIPMAASNLVNYPVGPDPHISVKQCLLAILILALVATIFFVCTVVLAVRLSRKGGHMYPVRNYSPT
- [0359] EMVCISLLPDGGEGPSATANGGLSKAKSPGLTPEPREDREGDDLTHSFLP

도면

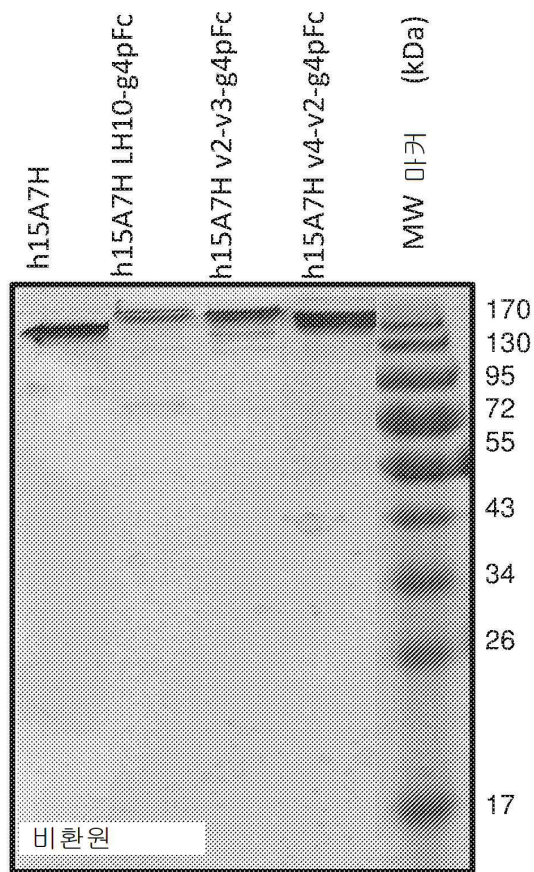
도면1a



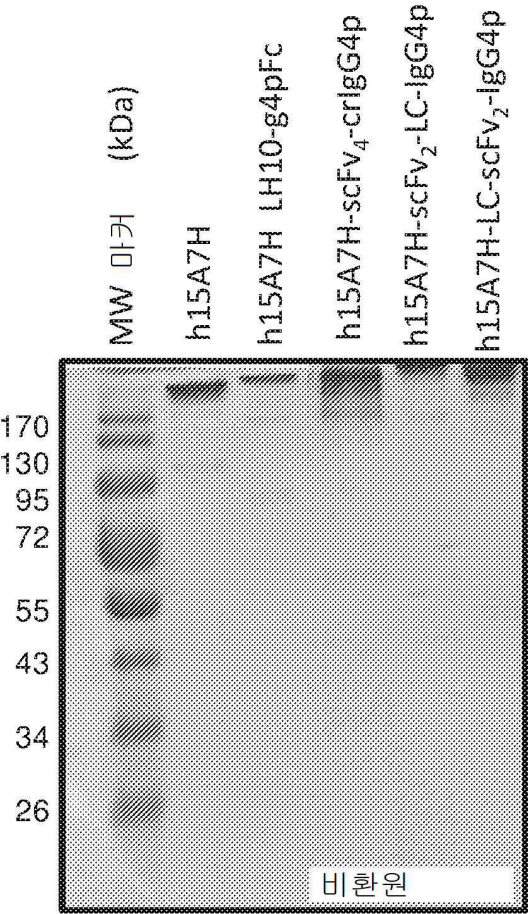
도면1b



도면2a

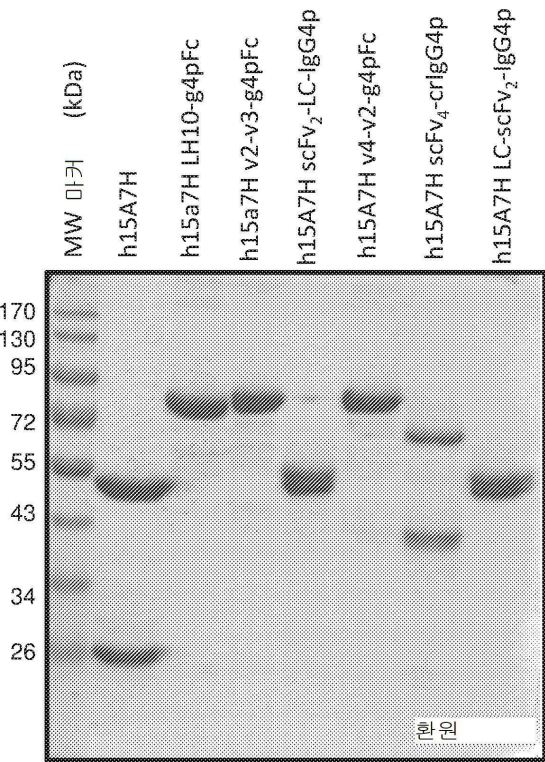


도면2b





도면2c



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> LIN, Rong-Hwa  
LIN, Shih-Yao  
TSAI, Yu-Ying
- <120> TETRAVALENT ANTI-PSGL-1 ANTIBODIES AND  
USES THEREOF
- <130> 606592001340
- <150> 62/276,806
- <151> 2016-08-01
- <160> 36
- <170> FastSEQ for Windows Version 4.0
- <210> 1
- <211> 746
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220>
- <223> Synthetic Construct

<400> 1

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Asn  
20 25 30

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

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile  
65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
85 90 95

Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu  
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys  
130 135 140

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val Arg  
145 150 155 160

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asn Gly Gly  
165 170 175

Ser Ser Thr Ile Phe Tyr Ala Asn Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile  
180 185 190

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu  
195 200 205

Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr  
210 215 220

Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val  
225 230 235 240

Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
245 250 255

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr  
260 265 270

Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile  
275 280 285

Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Asn Asp Gly Asn Thr Tyr  
290 295 300

Phe Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
305 310 315 320

Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
325 330 335

Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
340 345 350

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Tyr Val Pro Leu  
355 360 365

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser  
370 375 380

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu  
385 390 395 400

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe  
405 410 415

Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys  
420 425 430

Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asn Gly Gly Ser Ser Thr Ile Phe  
435 440 445

Tyr Ala Asn Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala  
450 455 460

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr  
465 470 475 480

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met

485	490	495
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly		
500	505	510
Gly Ser Ala Ala Ala Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys		
515	520	525
Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
530	535	540
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
545	550	555
Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp		
565	570	575
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
580	585	590
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu		
595	600	605
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
610	615	620
Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly		
625	630	635
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu		
645	650	655
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
660	665	670
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
675	680	685
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
690	695	700
Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn		
705	710	715
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
725	730	735

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

740

745

<210> 2

<211> 2241

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 2

gacattcaga tgaccaaatc tccgagctct ttgtctgcgt ctgtagggga tagggtcact 60  
atcacctgca gatctagta gagcattgta cataatgatg gaaacaccta ttttgaatgg 120  
taccaacaga aaccaggaaa ggcacccaag cttctcatct ataaagtttc caatcgattt 180

tctgggtgcc catccaggtt tagtggcagt gggctctggga cacacttcac cctcaccatc 240  
tcttctctgc agccggagga tttcgcaacc tattactgtt ttcaagggtc atatgttctt 300  
ctcacgttcg gtcaaggcac caaggtggaa atcaaagggtg gaggcgggttc aggcggaggt 360  
ggctctgaag tgcaactggt ggagtctggg ggaggcttag tgcagcctgg aggaagcttg 420  
agactctctt gtgcagcttc tggattcact ttcagtagct ttggaatgca ctgggttcgc 480  
caggctccag ggaagggact cgagtgggtc gcatacatta atggtggcag tagtaccatc 540  
ttctatgcaa acgcagtga gggccgattc accatctcca gagataatgc caagaacacc 600  
ctgtacctgc aaatgaattc tctgagggtc gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcaaga 660

tatgctagtt acggaggggg tgctatggac tattggggcc aaggcacctt ggtcacagtc 720  
tcctcaggtg gaggcgggtc aggcggaggt ggctctggcg gtggcggatc cggaggcggg 780  
ggttcggag gtggcggag tgacattcag atgaccaat ctccgagctc tttgtctgcg 840  
tctgtagggg ataggtcac tatcacctgc agatctagtc agagcattgt acataatgat 900  
ggaaacacct atttgaatg gtaccaacag aaaccaggaa aggcacccaa gcttctcatc 960  
tataaagttt ccaatcgatt ttctgggtgc ccatccaggt ttagtggcag tgggtctggg 1020  
acacacttca cctcaccat ctcttctctg cagccggagg atttcgcaac ctattactgt 1080  
tttcaaggtt catatgttcc tctcacgttc ggtcaaggca ccaaggtgga aatcaaaggt 1140

ggaggcgggt caggcggagg tggctctgaa gtgcaactgg tggagtctgg gggaggctta 1200  
gtgcagcctg gaggaagctt gagactctcc tgtgcagcct ctggattcac tttcagtagc 1260  
tttggaatgc actgggttcg ccaggctcca gggaaggagc tcgagtgggt cgcatacatt 1320  
aatggtggca gtagtaccat cttctatgca aacgcagtga agggccgatt caccatctcc 1380



agagataatg ccaagaacac cctgtacctg caaatgaatt ctctgagggc tgaggacacg 1440  
gccgtgtatt actgtgcaag atatgctagt tacggagggg gtgctatgga ctattggggc 1500  
caaggcacc tggtcacagt ctctcagga ggcggagggt ccgcggccgc agagtccaaa 1560  
tatggcccc catgccacc atgccagca cctgagttcc tggggggacc atcagtttc 1620

ctgttcccc caaaacccaa ggacactctc atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc 1680  
gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc gaggtccagt tcaactggta cgtggatggc 1740  
gtggagggtgc ataatgcaa gacaaagccg cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt 1800  
gtggtcagcg tcttcaccgt cctgcaccag gactggctga acggcaagga gtacaagtgc 1860  
aaggtctcca acaaaggcct cccgtcctcc atcgagaaaa ccatctccaa agccaaaggg 1920  
cagccccgag agccacaggt gtacacctg ccccatccc aggaggagat gaccaagaac 1980  
caggtcagcc tgacctgct ggtcaaaggc ttctaccca gcgacatcgc cgtggagtgg 2040  
gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac aagaccacgc ctccgtgct ggactccgac 2100

ggctccttct tctctacag caggctaacc gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat 2160  
gtcttctcat gtcctgtat gcatgaggt ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc 2220  
tcctgtctc tgggtaaag a 2241

<210> 3

<211> 756

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 3

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Asn Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

180 185 190

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

195 200 205

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr

210 215 220

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

225 230 235 240

Gly Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Gln Ser Ile Val His Asn Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln

290 295 300

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

305 310 315 320

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

325                                      330                                      335  
 His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr  
  
 340                                      345                                      350  
 Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly  
 355                                      360                                      365  
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 370                                      375                                      380  
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu  
 385                                      390                                      395                                      400  
 Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser  
  
 405                                      410                                      415  
 Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly  
 420                                      425                                      430  
 Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ala  
 435                                      440                                      445  
 Tyr Ile Asn Gly Gly Ser Ser Thr Ile Phe Tyr Ala Asn Ala Val Lys  
 450                                      455                                      460  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
  
 465                                      470                                      475                                      480  
 Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala  
 485                                      490                                      495  
 Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
 500                                      505                                      510  
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ala Ala Glu  
 515                                      520                                      525  
 Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu  
  
 530                                      535                                      540  
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 545                                      550                                      555                                      560  
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
 565                                      570                                      575

Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

580 585 590

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr

595 600 605

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

610 615 620

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser

625 630 635 640

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

645 650 655

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

660 665 670

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

675 680 685

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

690 695 700

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

705 710 715 720

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

725 730 735

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

740 745 750

Ser Leu Gly Lys

755

<210> 4

<211> 2271

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 4

gaagtgaac tgggtggagtc tggggggaggc ttagtgcagc ctggaggaag cttgagactc 60

tcctgtgcag ccctcggatt cactttcagt agctttggaa tgcactgggt tcgccaggct 120  
ccagggaagt gtctcgagtg ggtcgcatac attaatggtg gcagtagtac catcttctat 180

gcaaacgcag tgaagggccg attcaccatc tccagagata atgccaagaa caccctgtac 240  
ctgcaaatga attctctgag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagatatgct 300  
agttacggag ggggtgctat ggactattgg ggccaaggca ccctggtcac agtctcctca 360  
ggtggaggcg gttcaggcgg aggtggctct ggccgtggcg gatccggagg cggaggttcc 420  
ggaggtggcg gaagtacat tcagatgacc caatctccga gctctttgtc tgcgtctgta 480  
gggataggg tcactatcac ctgcagatct agtcagagca ttgtacataa tgatggaaac 540  
acctattttg aatggtacca acagaaacca ggaaaggcac ccaagcttct catctataaa 600  
gtttccaatc gatcttctgg tgtcccatcc aggttttagtg gcagtgggtc tgggacacac 660

ttcacctca ccatctcttc tctgcagccg gaggatttcg caacctatta ctgttttcaa 720  
ggttcatatg ttctctcac gttcggttgt ggcaccaagg tggaaatcaa agcttcaacc 780  
ggttcagaca ttcagatgac ccaatctccg agctctttgt ctgcgtctgt aggggatagg 840  
gtcactatca cctgcagatc tagtcagagc attgtacata atgatggaaa cacctatttt 900  
gaatggtacc aacagaaacc aggaaggca cccaagcttc tcactataa agtttccaat 960  
cgattttctg gtgtccatc caggtttagt ggcagtgggt ctgggacaca cttcacctc 1020  
accatctctt ctctgcagcc ggaggatttc gcaacctatt actgttttca aggttcatat 1080  
gttctctca cgttcggta aggcaccaag gtggaaatca aaggtggagg cggttcaggc 1140

ggaggtggct ctggcggagg cggatccgga ggccggagggt ccggagggtg cggaagtga 1200  
gtgcaactgg tggagtctgg gggaggctta gtgcagcctg gaggaagctt gagactctcc 1260  
tgtgcagcct ctggattcac ttccagtagc ttggaatgc actgggttcg ccaggtccca 1320  
gggaaggagc tcgagtgggt cgcatacatt aatggtggca gtagtaccat cttctatgca 1380  
aacgcagtga agggccgatt caccatctcc agagataatg ccaagaacac cctgtacctg 1440  
caaatgaatt ctctgagggc tgaggacacg gccgtgtatt actgtgcaag atatgctagt 1500  
tacggagggg gtgctatgga ctattggggc caaggcaccc tggtcacagt ctctcagga 1560  
ggcggagggt ccgcccgcgc agagtccaaa tatggtcccc catgcccacc atgccagca 1620

cttgagtcc tggggggacc atcagtcttc ctgttcccc caaaaccaa ggacactctc 1680  
atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc 1740  
gaggtccagt tcaactggtc cgtggatggc gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg 1800  
cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tcctcaccgt cctgcaccag 1860  
gactggctga acggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagccct cccgtctcc 1920



atcgagaaaa ccattctcaa agccaaaggg cagccccgag agccacaggt gtacaccctg 1980  
 ccccatccc aggaggagat gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc 2040  
 ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac 2100

aagaccacgc ctcccgctgt ggactccgac ggctccttct tcctctacag caggctaacc 2160  
 gtggacaaga gcaggtggca ggaggggaat gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct 2220  
 ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc tcctgtctc tgggtaaatg a 2271

<210> 5

<211> 756

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 5

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

1 5 10 15

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

20 25 30

Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

115 120 125

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

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

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

180 185 190

Ser Thr Ile Phe Tyr Ala Asn Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser

195 200 205

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

210 215 220

Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly

225 230 235 240

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

245 250 255

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

260 265 270

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

275 280 285

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly

290 295 300

Lys Cys Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asn Gly Gly Ser Ser Thr Ile

305 310 315 320

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

325 330 335

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

340 345 350

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

355 360 365

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

370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

385                      390                      395                      400  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser  
  
                     405                      410                      415  
 Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser  
                     420                      425                      430  
 Ser Gln Ser Ile Val His Asn Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr  
                     435                      440                      445  
 Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser  
                     450                      455                      460  
 Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly  
  
 465                      470                      475                      480  
 Thr His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala  
                     485                      490                      495  
 Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Cys  
                     500                      505                      510  
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ala Ala Glu  
                     515                      520                      525  
 Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu  
  
                     530                      535                      540  
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu  
 545                      550                      555                      560  
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser  
                     565                      570                      575  
 Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu  
                     580                      585                      590  
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr  
  
                     595                      600                      605  
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn  
                     610                      615                      620  
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser  
 625                      630                      635                      640

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

645 650 655

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

660 665 670

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

675 680 685

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

690 695 700

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

705 710 715 720

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

725 730 735

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

740 745 750

Ser Leu Gly Lys

755

<210> 6

<211> 2271

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 6

gacattcaga tgaccaaatc tccgagctct ttgtctgcgt ctgtagggga tagggtcact 60

atcacctgca gatctagtca gagcattgta cataatgatg gaaacaccta ttttgaatgg 120

taccaacaga aaccaggaaa ggcacccaag cttctcatct ataaagtttc caatcgattt 180

tctgggtgcc catccaggtt tagtggcagt gggtctggga cacacttcac cctcaccatc 240

tcttctctgc agccggagga ttctgcaacc tattactgtt ttcaaggttc atatgttcct 300

ctcacgttcg gttgtggcac caaggtggaa atcaaagtg gaggcggttc aggcggaggt 360

ggctctggcg gtggcggatc cggaggcggg ggttccggag gtggcgggaa tgaagtgcaa 420

ctggtggagt ctgggggagg cttagtgcag cctggaggaa gcttgagact ctctgtgca 480

gcctctggat tcactttcag tagctttgga atgcactggg ttcgccaggc tccagggaag 540

tgtctcgagt gggctgcata cattaatggt ggcagtagta ccatcttcta tgcaaacgca 600  
 gtgaagggcc gattcaccat ctccagagat aatgccaaga acaccctgta cctgcaaagt 660  
  
 aattctctga gggctgagga cacggccgtg tattactgtg caagatatgc tagttacgga 720  
 ggggggtgcta tggactattg gggccaaggc accctgggtca cagtctcctc agcttcaacc 780  
 ggttcagaag tgcaactggt ggagctggg ggaggcttag tgcagcctgg aggaagcttg 840  
 agactctcct gtgcagcctc tggattcact ttcagtagct ttggaatgca ctgggttcgc 900  
 caggctccag ggaagtgtct cgagtgggtc gcatacatta atggtggcag tagtaccatc 960  
 ttctatgcaa acgcagtga gggccgattc accatctcca gagataatgc caagaacacc 1020  
 ctgtacctgc aaatgaattc tctgagggtc gaggacacgg ccgtgtatta ctgtgcaaga 1080  
 tatgctagtt acggaggggg tgctatggac tattggggcc aaggcacctt ggtcacagtc 1140  
  
 tctcaggtg gaggcgggtc aggcggaggt ggctctggcg gtggcggatc cggaggcgga 1200  
 ggttcaggag gtggcggaag tgacattcag atgaccaat ctccgagctc tttgtctgcg 1260  
 tctgtagggg atagggtcac tatcacctgc agatctagtc agagcattgt acataatgat 1320  
 ggaaacacct atttgaatg gtaccaacag aaaccaggaa aggcacccaa gcttctcctc 1380  
 tataaagttt ccaatcgatt ttctggtgtc ccatccaggt ttagtggcag tgggtctggg 1440  
 acacacttca cctcaccat ctcttctctg cagccggagg atttcgaac ctattactgt 1500  
 tttaagggtt catatgttcc tctcacgttc ggttgtggca ccaaggtgga aatcaaagga 1560  
 ggcgagggtt ccgcggccgc agagtccaaa tatggtcccc catgcccacc atgcccgca 1620  
  
 cctgagttcc tggggggacc atcagtcttc ctgttccccc caaaacccaa ggacactctc 1680  
 atgatctccc ggaccctga ggtcacgtgc gtggtggtgg acgtgagcca ggaagacccc 1740  
 gaggtccagt tcaactgta cgtggatggc gtggaggtgc ataatgcaa gacaaagccg 1800  
 cgggaggagc agttcaacag cacgtaccgt gtggtcagcg tctcaccgt cctgcaccag 1860  
 gactggctga acggcaagga gtacaagtgc aaggtctcca acaaagcct cccgtcctcc 1920  
 atcgagaaaa ccatctcaa agccaaaggg cagccccgag agccacaggt gtacaccctg 1980  
 ccccatccc aggaggagat gaccaagaac caggtcagcc tgacctgcct ggtcaaaggc 2040  
 ttctacccca gcgacatcgc cgtggagtgg gagagcaatg ggcagccgga gaacaactac 2100  
  
 aagaccacgc ctcccgtgct ggactccgac ggctccttct tctctacag caggctaacc 2160  
 gtggacaaga gcagggtgga ggagggaat gtcttctcat gctccgtgat gcatgaggct 2220  
 ctgcacaacc actacacaca gaagagcctc tcctgtctc tgggtaaatg a 2271

<210> 7

<211> 486



<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 7

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Asn Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

180 185 190

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

195 200 205

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr

210

215

220

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

225

230

235

240

Gly Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile

245

250

255

Lys Ala Ser Thr Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr

260

265

270

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

275

280

285

Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Asn Asp Gly Asn Thr Tyr

290

295

300

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

305

310

315

320

Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

325

330

335

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

340

345

350

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

355

360

365

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

370

375

380

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

385

390

395

400

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

405

410

415

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

420

425

430

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

435

440

445

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

450                                      455                                      460  
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser

465                                      470                                      475                                      480  
Phe Asn Arg Gly Glu Cys

485

<210> 8

<211> 1461

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 8

gaagtgaac tggatggagtc tgggggaggc ttagtgcagc ctggaggaag cttgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctttggaa tgcactgggt tcgccaggct 120  
ccagggaagt gtctcgagtg ggtcgcatac attaatggtg gcagtagtac catcttctat 180  
gcaaacgcag tgaagggccg attcaccatc tccagagata atgccaagaa caccctgtac 240

ctgcaaatga attctctgag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagatatgct 300  
agttacggag ggggtgctat ggactattgg ggccaaggca ccctggtcac agtctcctca 360  
ggtggaggcg gttcaggcgg aggtggctct ggcggtggcg gatccggagg cggaggttcc 420  
ggagggtggcg gaagtgcatt tcagatgacc caatctccga gctctttgtc tgcgtctgta 480  
ggggataggg tcactatcac ctgcagatct agtcagagca ttgtacataa tgatggaaac 540  
acctattttg aatggtacca acagaaacca ggaaaggcac ccaagcttct catctataaa 600  
gtttccaatc gatcttctgg tgtcccatcc aggttttagtg gcagtgggtc tgggacacac 660  
ttcacctca ccatctcttc tctgcagccg gaggatttcg caacctatta ctgttttcaa 720

ggttcatatg ttctctcac gttcggttgt ggcaccaagg tggaaatcaa agcttcaacc 780  
ggttcaggag gtggcggaag tgacattcag atgaccaat ctccgagctc tttgtctgcg 840  
tctgtagggg atagggtcac tatcactgc agatctagtc agagcattgt acataatgat 900  
ggaaacacct attttgaatg gtaccaacag aaaccaggaa aggcacccaa gcttctcacc 960  
tataaagttt ccaatcgatt ttctggtgtc ccatccaggt ttagtggcag tgggtctggg 1020  
acacacttca cctcaccat ctcttctctg cagccggagg atttcgaac ctattactgt 1080  
tttcaagggt catatgttcc tctcacgttc ggtcaaggca ccaagggtga aatcaaacga 1140

actgtggctg caccatctgt cttcatcttc ccgccatctg atgagcagtt gaaatctgga 1200

actgcctctg ttgtgtgcct gctgaataac ttctatccca gagaggccaa agtacagtgg 1260

aaggtggata acgccctcca atcgggtaac tcccaggaga gtgtcacaga gcaggacagc 1320

aaggacagca cctacagcct cagcagcacc ctgacgctga gcaaagcaga ctacgagaaa 1380

cacaaagtct acgcctgcga agtcacccat cagggcctga gctcgcccgt cacaaagagc 1440

ttcaacaggg gagagtgtta g 1461

<210> 9

<211> 499

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 9

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

1 5 10 15  
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Asn

20 25 30  
Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala

35 40 45  
Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro

50 55 60  
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile

65 70 75 80  
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly

85 90 95  
Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110  
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu

115 120 125  
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe

130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln  
 145                      150                      155                      160  
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser  
                          165                      170                      175  
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu  
                          180                      185                      190  
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser  
  
                          195                      200                      205  
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser  
                          210                      215                      220  
 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu  
 225                      230                      235                      240  
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe  
                          245                      250                      255  
 Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys  
  
                          260                      265                      270  
 Cys Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asn Gly Gly Ser Ser Thr Ile Phe  
                          275                      280                      285  
 Tyr Ala Asn Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala  
                          290                      295                      300  
 Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr  
 305                      310                      315                      320  
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met  
  
                          325                      330                      335  
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly  
                          340                      345                      350  
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly  
                          355                      360                      365  
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser  
                          370                      375                      380  
 Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser



385                      390                      395                      400  
 Gln Ser Ile Val His Asn Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln  
                          405                      410                      415  
 Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn  
                          420                      425                      430  
 Arg Phe Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr  
                          435                      440                      445  
 His Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr

                         450                      455                      460  
 Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly  
 465                      470                      475                      480  
 Thr Lys Val Glu Ile Lys Ala Ala Ala His His His His His His His  
                          485                      490                      495  
 His His His

<210> 10

<211> 1500

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 10

gacattcaga tgacceaatc tccgagctct ttgtctgcgt ctgtagggga tagggtcact 60

atcacctgca gatctagica gagcattgta cataatgatg gaaacaccta ttttgaatgg 120

taccaacaga aaccaggaaa ggcacccaag cttctcatct ataaagtttc caatcgattt 180

tctgggtgcc catccaggtt tagtggcagt gggctctggga cacacttcac cctcaccatc 240

tcttctctgc agccggagga ttctgcaacc tattactggt ttcaaggttc atatgttctt 300

ctcacgttcg gtcaaggcac caaggtggaa atcaaacgaa ctgtggctgc accatctgtc 360

ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420

ctgaataact tctatccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa 480

tccggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540

agcagcacc tgacgtgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa 600

gtcacccatc agggcctgag ctgccccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgtggt 660  
 ggaggcgggt caggcggagg tggctctgaa gtgcaactgg tggagtctgg gggaggctta 720  
 gtgcagcctg gaggaagctt gagactctcc tgtgcagcct ctggattcac tttcagtagc 780  
 tttggaatgc actgggttcg ccaggctcca gggaagtgtc tcgagtgggt cgcatacatt 840  
 aatggtggca gtagtaccat cttctatgca aacgcagtga agggccgatt caccatctcc 900  
 agagataatg ccaagaacac cctgtacctg caaatgaatt ctctgagggc tgaggacacg 960  
 gccgtgtatt actgtgcaag atatgctagt tacggagggg gtgctatgga ctattggggc 1020

caaggcacc cgggtcacagt ctctcaggt ggaggcgggt caggcggagg tggctctggc 1080  
 ggtggcggat ccggaggcgg aggttccgga ggtggcggaa gtgacattca gatgacccaa 1140  
 tctccgagct ctttgtctgc gtctgtaggg gatagggtca ctatcacctg cagatctagt 1200  
 cagagcattg tacataatga tggaaacacc tatTTTgaat ggtaccaaca gaaaccagga 1260  
 aaggcaccca agcttctcat ctataaagtt tccaatcgat tttctggtgt cccatccagg 1320  
 tttagtggca gtgggtctgg gacacattc accctacca tctcttctct gcagccggag 1380  
 gatttcgcaa cctattactg ttttcaaggt tcatatgttc ctctcacgtt cggttgtggc 1440  
 accaaggtgg aaatcaaagc ggccgcacat catcatcatc atcaccacca ccaccactag 1500

<210> 11

<211> 447

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 11

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
 85 90 95  
 Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val  
 115 120 125  
 Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala  
 130 135 140  
 Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser  
 145 150 155 160  
 Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val  
 165 170 175  
 Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro  
 180 185 190  
 Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys  
 195 200 205  
 Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro  
 210 215 220  
 Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val  
 225 230 235 240  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 245 250 255  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu  
 260 265 270  
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 275 280 285  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 290 295 300  
 Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 305 310 315 320  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile

325                                      330                                      335  
 Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 340                                      345                                      350  
 Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 355                                      360                                      365  
 Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
  
 370                                      375                                      380  
 Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 385                                      390                                      395                                      400  
 Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 405                                      410                                      415  
 Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 420                                      425                                      430  
 His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

435                                      440                                      445

<210> 12

<211> 1344

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 12

gaagtgaac tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgcagc ctggaggaag ctgagactc 60  
 tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctttggaa tgcactgggt tcgccaggct 120  
 ccagggaagg gactcgagtg ggtcgcatatc attaatgggtg gcagtagtac catcttctat 180  
 gcaaacgcag tgaagggccg attcaccatc tccagagata atgccaagaa caccctgtac 240  
 ctgcaaatga attctctgag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagatatgct 300

agttacggag ggggtgctat ggactattgg ggccaaggca ccttggtcac agtctcctca 360  
 gcttccacca agggcccatc cgtcttcccc ctggcgccct gctccaggag cacctccgag 420  
 agcacagccg ccttgggctg cctgttcaag gactacttcc ccgaaccggt gacggtgtcg 480  
 tggaactcag gcgccctgac cagcggcgtg cacaccttcc cggtgtcct acagtcctca 540  
 ggactctact ccctcagcag cgtggtgacc gtgccctcca gcagcttggg cacgaagacc 600

tacacctgca acgtagatca caagcccagc aacaccaagg tggacaagag agttgagtcc 660  
 aaatatggtc ccccatgccc accatgccc gcacctgagt tcctgggggg accatcagtc 720  
 ttctgttcc ccccaaaacc caaggacact ctcatgatct cccggacccc tgaggtcacg 780

tgcgtggtgg tggacgtgag ccaggaagac cccgaggtcc agttcaactg gtacgtggat 840  
 ggcgaggagg tgataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagttcaa cagcacgtac 900  
 cgtgtggtca ggcctctcac cgctctgcac caggactggc tgaacggcaa ggagtacaag 960  
 tgcaaggtct ccaacaaagg cctcccgctc tccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1020  
 gggcagcccc gagagccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccaggagga gatgaccaag 1080  
 aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggctttctacc ccagcgacat cgccgtggag 1140  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1200  
 gacggctcct tcttctcta cagcaggcta accgtggaca agagcaggtg gcaggagggg 1260

aatgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac acagaagagc 1320  
 ctctccctgt ctctgggtaa atga 1344

<210> 13

<211> 364

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 13

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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



85

90

95

Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100

105

110

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

115

120

125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

130

135

140

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

145

150

155

160

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

165

170

175

Asn Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

180

185

190

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

195

200

205

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr

210

215

220

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

225

230

235

240

Gly Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile

245

250

255

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

260

265

270

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

275

280

285

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

290

295

300

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

305

310

315

320

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

325

330

335

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

340

345

350

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

355

360

<210> 14

<211> 1095

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 14

gaagtgaac tggatggagtc tgggggaggc ttagtgagc ctggaggaag ctgagactc 60  
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagt agctttggaa tgcactgggt tcgccaggct 120  
ccagggaagt gtctcgagtg ggtcgcatatc attaatgggt gcagtagtac catcttctat 180  
gcaaacgcag tgaaggcccg attcaccatc tccagagata atgccaagaa caccctgtac 240  
ctgcaaatga attctctgag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagatatgct 300

agttacggag ggggtgctat ggactattgg ggccaaggca ccttggtcac agtctcctca 360  
ggtggaggcg gttcaggcgg aggtggctct ggcgggtggcg gatccggagg cggaggttcc 420  
ggaggtggcg gaagtgcacat tcagatgacc caatctccga gctctttgtc tgcgtctgta 480  
ggggataggg tcactatcac ctgcagatct agtcagagca ttgtacataa tgatggaaac 540  
acctattttg aatggtagca acagaaacca ggaaaggcac ccaagcttct catctataaa 600  
gtttccaatc gattttctgg tgtcccatcc aggttttagtg gcagtgggtc tgggacacac 660  
ttcacctca ccactcttc tctgcagccg gaggatttcg caacctatta ctgttttcaa 720  
ggttcatatg ttctctcac gttegggtgt ggcaccaagg tggaaatcaa acgaactgtg 780

gtgcaccat ctgtcttcat ctteccgcca tctgatgagc agttgaaatc tggaaactgcc 840  
tctgttgtgt gcctgctgaa taacttctat ccagagagg ccaaagtaca gtggaagggtg 900  
gataacgcc tccaatcggg taactcccag gagagtgtca cagagcagga cagcaaggac 960  
agcacctaca gcctcagcag caccctgacg ctgagcaaag cagactacga gaaacacaaa 1020  
gtctacgct gcgaagtcac ccatcagggc ctgagctcgc ccgtcacaaa gagcttcaac 1080  
aggggagagt gtttag 1095

<210> 15

<211> 584

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 15

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110

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

115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

130 135 140

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

145 150 155 160

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

165 170 175

Asn Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys

180 185 190

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

195 200 205

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr  
210 215 220

Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln  
225 230 235 240

Gly Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile  
245 250 255

Lys Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser  
260 265 270

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp  
275 280 285

Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr  
290 295 300

Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr  
305 310 315 320

Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Lys  
325 330 335

Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp  
340 345 350

Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala  
355 360 365

Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro  
370 375 380

Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val  
385 390 395 400

Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val  
405 410 415

Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln  
420 425 430

Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln  
435 440 445

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

450                      455                      460  
 Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro  
 465                      470                      475                      480  
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr  
                          485                      490                      495  
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
                          500                      505                      510  
  
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
                          515                      520                      525  
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
                          530                      535                      540  
 Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe  
 545                      550                      555                      560  
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
                          565                      570                      575

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
                          580

<210> 16

<211> 1755

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 16

gaagtgaac tgggtggagtc tgggggaggc ttagtgcagc ctggaggaag cttagagactc 60  
 tcctgtgcag cccttgatt cactttcagt agctttggaa tgcactgggt tcgccaggct 120  
 ccagggaagt gtctcgagtg ggtcgcatatc attaatggtg gcagtagtac catcttctat 180  
 gcaaacgcag tgaagggccg attcaccatc tccagagata atgccaagaa caccctgtac 240  
 ctgcaaatga attctctgag ggctgaggac acggccgtgt attactgtgc aagatatgct 300

agttacggag ggggtgctat ggactattgg ggccaaggca ccctgggtcac agtctcctca 360  
 ggtggaggcg gttcaggcgg aggtggctct ggcgggtggcg gatccggagg cggaggttcc 420  
 ggaggtggcg gaagtgcacat tcagatgacc caatctccga gctctttgtc tgcgtctgta 480

ggggataggg tcactatcac ctgcagatct agtcagagca ttgtacataa tgatggaaac 540  
acctattttg aatggtacca acagaaacca ggaaaggcac ccaagcttct catctataaa 600  
gtttccaatc gattttctgg tgtcccatcc aggttttagtg gcagtgggtc tgggacacac 660  
ttcacctca ccatctcttc tctgcagccg gaggatttcg caacctatta ctgttttcaa 720  
ggttcatatg ttctctcac gttcggttgt ggcaccaagg tggaaatcaa agcttccacc 780

aagggcccat cegtcttccc cctggcgccc tgcctcagga gcacctccga gagcacagcc 840  
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 900  
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgtcc tacagtcttc aggactctac 960  
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 1020  
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gatttgagtc caaatatggt 1080  
cccccatgcc caccatgcc agcacctgag ttcttggggg gaccatcagt ctctctgttc 1140  
ccccaaaac ccaaggacac tctcatgac tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg 1200  
gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag 1260

gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc 1320  
agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc 1380  
tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag aaaaccatct ccaaagccaa agggcagccc 1440  
cgagagccac aggtgtacac cctgccccca tcccaggagg agatgaccaa gaaccaggtc 1500  
agcctgacct gcctggtcaa aggccttctac cccagcgaca tcgccgtgga gtgggagagc 1560  
aatgggcagc cggagaacaa ctacaagacc acgcctcccg tgctggactc cgacggctcc 1620  
ttcttctct acagcaggct aaccgtggac aagagcaggt ggcaggaggg gaatgtcttc 1680  
tcatgtccg tgatgatga ggctctgcac aaccactaca cacagaagag cctctccctg 1740

tctctgggta aatga 1755

<210> 17

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 17

Ser Phe Gly Met His

1 5

<210> 18



<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 18

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

1 5 10 15

Gly

<210> 19

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 19

Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 20

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 20

Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Asn Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu

1 5 10 15

<210> 21

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400

> 21

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 22

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 22

Phe Gln Gly Ser Tyr Val Pro Leu Thr

1 5

<210> 23

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 23

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

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ala Arg Tyr Ala Ser Tyr Gly Gly Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

100 105 110  
 Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser  
 115 120  
 <210> 24  
 <211> 112  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic Construct  
 <400> 24  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly  
 1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Ile Val His Asn  
 20 25 30  
 Asp Gly Asn Thr Tyr Phe Glu Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala  
 35 40 45  
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro  
 50 55 60  
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile  
 65 70 75 80  
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly  
 85 90 95  
 Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100 105 110  
 <210> 25  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220>  
 <223> Synthetic Construct  
 <400> 25  
 Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 26

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Ala Ala

1 5

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 27

Ala Ser Thr Gly Ser

1 5

<210> 28

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 28

Ala Ser Thr Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 29

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 29

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

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

65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn
Ser	Leu	Arg	Ala
Glu	Asp	Thr	Ala
Val	Tyr	Tyr	Cys
85	90	95	
Ala	Arg	Tyr	Ala
Ser	Tyr	Gly	Gly
Gly	Gly	Ala	Met
Asp	Tyr	Trp	Gly
Gln			
100	105	110	
Gly	Thr	Leu	Val
Thr	Val	Ser	Ser
115	120		

<210> 30

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 30

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

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

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr His Phe Thr Leu Thr Ile

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Tyr Val Pro Leu Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys

100 105 110

<210> 31

<211> 412

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 31

Met Pro Leu Gln Leu Leu Leu Leu Leu Ile Leu Leu Gly Pro Gly Asn

1 5 10 15

Ser Leu Gln Leu Trp Asp Thr Trp Ala Asp Glu Ala Glu Lys Ala Leu

20 25 30

Gly Pro Leu Leu Ala Arg Asp Arg Arg Gln Ala Thr Glu Tyr Glu Tyr

35 40 45

Leu Asp Tyr Asp Phe Leu Pro Glu Thr Glu Pro Pro Glu Met Leu Arg

50 55 60

Asn Ser Thr Asp Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gly Thr Pro Glu Ser

65 70 75 80

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

85 90 95

Gly Ala Val Thr Glu Leu Thr Thr Glu Leu Ala Asn Met Gly Asn Leu

100 105 110

Ser Thr Asp Ser Ala Ala Met Glu Ile Gln Thr Thr Gln Pro Ala Ala

115 120 125

Thr Glu Ala Gln Thr Thr Gln Pro Val Pro Thr Glu Ala Gln Thr Thr

130 135 140

Pro Leu Ala Ala Thr Glu Ala Gln Thr Thr Arg Leu Thr Ala Thr Glu

145 150 155 160

Ala Gln Thr Thr Pro Leu Ala Ala Thr Glu Ala Gln Thr Thr Pro Pro  
165 170 175

Ala Ala Thr Glu Ala Gln Thr Thr Gln Pro Thr Gly Leu Glu Ala Gln  
180 185 190

Thr Thr Ala Pro Ala Ala Met Glu Ala Gln Thr Thr Ala Pro Ala Ala  
195 200 205

Met Glu Ala Gln Thr Thr Pro Pro Ala Ala Met Glu Ala Gln Thr Thr  
210 215 220

Gln Thr Thr Ala Met Glu Ala Gln Thr Thr Ala Pro Glu Ala Thr Glu  
225 230 235 240

Ala Gln Thr Thr Gln Pro Thr Ala Thr Glu Ala Gln Thr Thr Pro Leu  
245 250 255

Ala Ala Met Glu Ala Leu Ser Thr Glu Pro Ser Ala Thr Glu Ala Leu  
260 265 270

Ser Met Glu Pro Thr Thr Lys Arg Gly Leu Phe Ile Pro Phe Ser Val  
275 280 285

Ser Ser Val Thr His Lys Gly Ile Pro Met Ala Ala Ser Asn Leu Ser  
290 295 300

Val Asn Tyr Pro Val Gly Ala Pro Asp His Ile Ser Val Lys Gln Cys  
305 310 315 320

Leu Leu Ala Ile Leu Ile Leu Ala Leu Val Ala Thr Ile Phe Phe Val  
325 330 335

Cys Thr Val Val Leu Ala Val Arg Leu Ser Arg Lys Gly His Met Tyr  
340 345 350

Pro Val Arg Asn Tyr Ser Pro Thr Glu Met Val Cys Ile Ser Ser Leu  
355 360 365

Leu Pro Asp Gly Gly Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ala Asn Gly Gly Leu  
370 375 380

Ser Lys Ala Lys Ser Pro Gly Leu Thr Pro Glu Pro Arg Glu Asp Arg  
385 390 395 400

Glu Gly Asp Asp Leu Thr Leu His Ser Phe Leu Pro



405 410

<210> 32

<211> 402

<212> PRT

<213> Homo Sapiens

<400> 32

Met Pro Leu Gln Leu Leu Leu Leu Leu Ile Leu Leu Gly Pro Gly Asn  
1 5 10 15

Ser Leu Gln Leu Trp Asp Thr Trp Ala Asp Glu Ala Glu Lys Ala Leu  
20 25 30

Gly Pro Leu Leu Ala Arg Asp Arg Arg Gln Ala Thr Glu Tyr Glu Tyr  
35 40 45

Leu Asp Tyr Asp Phe Leu Pro Glu Thr Glu Pro Pro Glu Met Leu Arg  
50 55 60

Asn Ser Thr Asp Thr Thr Pro Leu Thr Gly Pro Gly Thr Pro Glu Ser  
65 70 75 80

Thr Thr Val Glu Pro Ala Ala Arg Arg Ser Thr Gly Leu Asp Ala Gly  
85 90 95

Gly Ala Val Thr Glu Leu Thr Thr Glu Leu Ala Asn Met Gly Asn Leu  
100 105 110

Ser Thr Asp Ser Ala Ala Met Glu Ile Gln Thr Thr Gln Pro Ala Ala  
115 120 125

Thr Glu Ala Gln Thr Thr Pro Leu Ala Ala Thr Glu Ala Gln Thr Thr  
130 135 140

Arg Leu Thr Ala Thr Glu Ala Gln Thr Thr Pro Leu Ala Ala Thr Glu  
145 150 155 160

Ala Gln Thr Thr Pro Pro Ala Ala Thr Glu Ala Gln Thr Thr Gln Pro  
165 170 175

Thr Gly Leu Glu Ala Gln Thr Thr Ala Pro Ala Ala Met Glu Ala Gln  
180 185 190

Thr Thr Ala Pro Ala Ala Met Glu Ala Gln Thr Thr Pro Pro Ala Ala  
195 200 205

Met Glu Ala Gln Thr Thr Gln Thr Thr Ala Met Glu Ala Gln Thr Thr  
210 215 220

Ala Pro Glu Ala Thr Glu Ala Gln Thr Thr Gln Pro Thr Ala Thr Glu  
225 230 235 240

Ala Gln Thr Thr Pro Leu Ala Ala Met Glu Ala Leu Ser Thr Glu Pro  
245 250 255

Ser Ala Thr Glu Ala Leu Ser Met Glu Pro Thr Thr Lys Arg Gly Leu  
260 265 270

Phe Ile Pro Phe Ser Val Ser Ser Val Thr His Lys Gly Ile Pro Met  
275 280 285

Ala Ala Ser Asn Leu Ser Val Asn Tyr Pro Val Gly Ala Pro Asp His  
290 295 300

Ile Ser Val Lys Gln Cys Leu Leu Ala Ile Leu Ile Leu Ala Leu Val  
305 310 315 320

Ala Thr Ile Phe Phe Val Cys Thr Val Val Leu Ala Val Arg Leu Ser  
325 330 335

Arg Lys Gly His Met Tyr Pro Val Arg Asn Tyr Ser Pro Thr Glu Met  
340 345 350

Val Cys Ile Ser Ser Leu Leu Pro Asp Gly Gly Glu Gly Pro Ser Ala  
355 360 365

Thr Ala Asn Gly Gly Leu Ser Lys Ala Lys Ser Pro Gly Leu Thr Pro  
370 375 380

Glu Pro Arg Glu Asp Arg Glu Gly Asp Asp Leu Thr Leu His Ser Phe  
385 390 395 400

Leu Pro

<210> 33

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 33

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
20 25

<210> 34

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 34

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
1 5 10

<210> 35

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 35

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10

<210> 36

<211> 12

<212> PRT

<213>

> Artificial Sequence

<220>

<223> Synthetic Construct

<400> 36

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly  
1 5 10